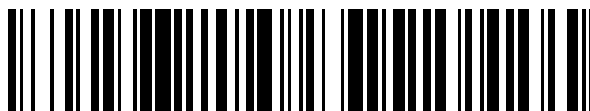


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 687 690**

51 Int. Cl.:

A01G 7/06 (2006.01)

A01N 25/00 (2006.01)

A01P 21/00 (2006.01)

A01N 37/38 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.03.2012** **PCT/JP2012/059121**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.10.2012** **WO12133907**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.03.2012** **E 12763344 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.08.2018** **EP 2690954**

54 Título: **Método para estimular el crecimiento de una planta**

30 Prioridad:

30.03.2011 JP 2011074570

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
26.10.2018

73 Titular/es:

SUMITOMO CHEMICAL COMPANY, LIMITED
(100.0%)

27-1 Shinkawa 2-chome, Chuo-ku
Tokyo 104-8260, JP

72 Inventor/es:

MATSUSHIMA, YUTAKA y
TAMAKI, HIROAKI

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 687 690 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

Método para estimular el crecimiento de una planta

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a un método para estimular el crecimiento de plantas.

10 **Antecedentes en la técnica**

Se conoce que algunas sustancias químicas muestran un efecto de estimulación del crecimiento de plantas, cuando las plantas se tratan con tal sustancia (véase, por ejemplo, Applied Microbial Biotechnology, vol. 58, pág. 23-29 (2002)). Se conoce que los derivados del ácido benzoxi-fenilacético y otros compuestos de estrobilurina, tales como kresoxim-metilo muestran un efecto de estimulación del crecimiento de las plantas (véase, por ejemplo el documento de Patente WO2008/059053 A1 o K. Grossmann *et al.* en J. Plant Physiol. 1999, 154, 805-808).

Los presentes compuestos reivindicados se conocen, por ejemplo, del documento de Patente WO2010/061940, para controlar enfermedades de plantas.

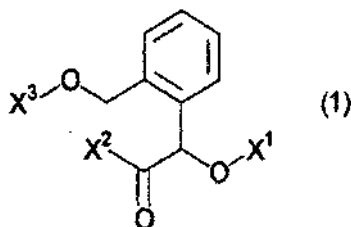
20 **Divulgación de la invención**

Un objetivo de la presente invención es proporcionar un método excelente para estimular el crecimiento de plantas, entre otros.

25 La presente invención se basa en el descubrimiento de que el tratamiento de una planta con un compuesto particular conduce a la estimulación del crecimiento de la planta.

Más específicamente, la presente invención proporciona:

30 [1] Un método para estimular el crecimiento de una planta, que comprende tratar la planta con una cantidad eficaz de un compuesto representado por la siguiente fórmula (1) (denominado en lo sucesivo en el presente documento "el presente compuesto"):



35 en la que X¹ representa un grupo metilo, un grupo difluorometilo o un grupo etilo; X² representa un grupo metoxi o un grupo metilamino; y X³ representa un grupo fenilo, un grupo 2-metilfenilo o un grupo 2,5-dimetilfenilo;
 [2] El método de acuerdo con [1], en el que la planta ha sido expuesta o se va a exponer a un estrés abiótico;
 40 [3] El método de acuerdo con [1] o [2], en el que el presente compuesto es un compuesto seleccionado entre el siguiente grupo A de compuestos:
 <Grupo A de compuestos>

- (1) N-metil-2-[2-(2,5-dimetilfenoxi)metil]fenil-2-metoxiacetamida, y
 45 (2) N-metil-2-[2-(2,5-dimetilfenoxi)metil]fenil-(2R)-2-metoxiacetamida;

[4] El método de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [3], en el que el tratamiento de la planta es tratamiento de pulverización, tratamiento del suelo, tratamiento de semillas o tratamiento hidropónico;
 [5] El método de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [3], en el que el tratamiento de la planta es tratamiento de semillas;
 50 [6] El método de acuerdo con [5], en el que el tratamiento de semillas es tratar semillas con 10 g o más y 50 g o menos del presente compuesto por 100 kg de semillas;
 [7] El método de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [6], en la que la planta es arroz, maíz, colza oleaginosa, trigo, albahaca, soja, sorgo o judía común;
 [8] El método de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [7], en el que la planta es una planta transgénica;
 55 [9] El método de acuerdo con uno cualquiera de [2] a [8], en el que el estrés abiótico es estrés por alta temperatura;
 [10] El método de acuerdo con uno cualquiera de [2] a [8], en la que el estrés abiótico es estrés por baja

temperatura;

(En lo sucesivo en el presente documento, los métodos que se describen en [1] a [10] se pueden denominar de forma colectiva "el método de la presente invención") y

[11] Uso del presente compuesto para estimular el crecimiento de una planta.

El método de la presente invención permite la provisión de un método excelente para estimular el crecimiento de una planta.

Modo de realizar la invención

En la presente invención, "estimulación del crecimiento de una planta" (denominado en lo sucesivo en el presente documento "estimulación del crecimiento") se refiere a un aumento en la tasa de establecimiento de plantones, el número de hojas sanas, la longitud de la planta, el peso del cuerpo de la planta, el área de las hojas, el número o el peso de las semillas o frutos, o el número de flores o frutos producidos.

La estimulación del crecimiento se puede cuantificar usando los siguientes parámetros:

(1) Tasa de establecimiento de plantones

Se siembran semillas de plantas, por ejemplo, en el suelo, en un papel de filtro, en un medio de cultivo de agar o en tierra, y a continuación se permite que experimenten cultivo durante un periodo de tiempo determinado. Durante el periodo de cultivo total o parcial, se aplica estrés por temperatura, y se examina el porcentaje de plantones que sobreviven.

(2) Número (o proporción) de hojas sanas

Con respecto a cada una de las plantas, se cuenta el número de hojas sanas y se examina el número total de hojas sanas. Alternativamente, se examina la proporción del número de hojas sanas con respecto al número de todas las hojas de las plantas.

(3) Longitud de la planta

Con respecto a cada una de las plantas, se mide la longitud desde la base del tallo de la parte por encima de tierra hasta las ramas y hojas en la punta.

(4) Peso del cuerpo de la planta

La parte por encima de tierra de cada una de las plantas se corta y se mide el peso para determinar un peso reciente de las plantas. Alternativamente, la muestra cortada se seca y se mide el peso para determinar el peso seco de las plantas.

(5) Área foliar

Se toma una fotografía de las plantas con una cámara digital y se determina el área de la parte verde de la fotografía mediante software de análisis de imagen, por ejemplo, Win ROOF (fabricado por MITANI CORPORATION) para obtener el área foliar de las plantas.

(6) Color de las hojas

Después de haber tomado muestras de las hojas de las plantas, se mide el contenido de clorofila usando un calibre de clorofila (por ejemplo, SPAD-502, fabricado por Konica Minolta Holdings, Inc.) para determinar el color de las hojas. Las plantas se fotografían con una cámara digital y a continuación se mide el área verde en la fotografía mediante extracción de color para cuantificación y usando software de análisis de imagen, tal como Win ROOF (fabricado por MITANI CORPORATION).

(7) Número o peso de semillas o frutos

Se hacen crecer las plantas hasta que alcanzan fructificación o maduración de semillas o frutos, y a continuación se cuenta el número de frutos por planta o se mide el peso total de frutos por planta. Después de cultivar plantas hasta que las semillas experimenten maduración, se examinan los elementos que constituyen el rendimiento, tal como el número de espigas, la tasa de maduración y el peso de mil núcleos.

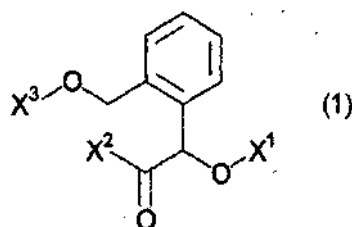
(8) Tasa de producción de flores, tasa de producción de frutos, proporción de producción de semilla y tasa de relleno de semilla

Después de cultivar plantas hasta que portan frutos, se cuentan el número de flores producidas y el número de frutos

producidos para calcular la tasa en % de producción de frutos ($100 \times \text{número de frutos producidos} / \text{número de flores producidas}$). Después de que maduren las semillas, se cuentan los números de semillas producidas y de semillas rellenas para calcular la tasa (%) de producción de semilla ($(\text{Número de semillas producidas} / \text{Número de flores producidas}) \times 100$) y la tasa (%) de relleno de semilla ($(\text{Número de semillas rellenas} / \text{Número de semillas producidas}) \times 100$).

En el método de la presente invención, cuando se trata una planta con el presente compuesto, la planta puede ser una planta completa o una parte de la misma (por ejemplo, tallo y hoja, brote, flor, fruto, panícula, semilla, bulbo, tubérculo y raíz). Además, la planta puede estar en cualquiera de los diversos estadios de crecimiento de la planta (por ejemplo, el periodo de germinación, incluyendo el tiempo de presembrado, el tiempo de siembra, y el periodo antes y después de la aparición del plantón después de la siembra; el periodo de crecimiento vegetativo, incluyendo el periodo de vivero, el tiempo de trasplante de plantón, el tiempo de plantación o esquejes de vivero y el periodo de crecimiento después de la plantación en el campo; el periodo de crecimiento reproductivo, incluyendo los periodos antes, durante y después de la floración, inmediatamente antes del encabezamiento o el periodo de encabezamiento; y el periodo de cosecha, incluyendo un periodo antes de la fecha esperada de cosecha, un periodo después de la fecha esperada de maduración y el tiempo de inicio de la coloración del fruto). Como se usa en el presente documento, el término bulbo se refiere a bulbo escamoso, cormo, rizoma, tubérculo de raíz y rizóforo. Los plantones pueden incluir esquejes y esquejes de tallo de caña de azúcar.

El presente compuesto usado en la presente invención es un compuesto representado por la siguiente fórmula (1):



en la que X^1 representa un grupo metilo, un grupo difluorometilo o un grupo etilo; X^2 representa un grupo metoxi o un grupo metilamino; y X^3 representa un grupo fenilo, un grupo 2-metilfenilo o un grupo 2,5-dimetilfenilo.

Por ejemplo, las realizaciones de los presentes compuestos representados por la fórmula (1) incluyen los siguientes compuestos:

- Un compuesto de la fórmula (1), en la que X^1 es un grupo metilo, difluorometilo o etilo;
- Un compuesto de la fórmula (1), en la que X^1 es un grupo metilo;
- Un compuesto de la fórmula (1), en la que X^2 es un grupo metoxi o metilamino;
- Un compuesto de la fórmula (1), en la que X^1 es un grupo metilo y X^2 es un grupo metoxi;
- Un compuesto de la fórmula (1), en la que X^1 es un grupo metilo y X^2 es un grupo metilamino;
- Un compuesto de la fórmula (1), en la que X^3 es un grupo fenilo, 2-metilfenilo o 2,5-dimetilfenilo;
- Un compuesto de la fórmula (1), en la que X^3 es un grupo fenilo o 2,5-dimetilfenilo;
- Un compuesto de la fórmula (1), en la que X^1 es un grupo metilo, X^2 es un grupo metoxi, y X^3 es un grupo 2,5-dimetilfenilo;
- Un compuesto de la fórmula (1), en la que X^1 es un grupo metilo, X^2 es un grupo metilamino, y X^3 es un grupo fenilo; y
- Un compuesto de la fórmula (1), en la que X^1 es un grupo metilo, X^2 es un grupo metilamino, y X^3 es un grupo 2,5-dimetilfenilo.

Algunos ejemplos específicos de compuesto representado por la fórmula (1) se muestran posteriormente.

En los compuestos de la fórmula (1), X^1 , X^2 y X^3 son una cualquiera de las combinaciones de los sustituyentes que se muestran en Tabla 1.

Tabla 1

X^1	X^2	X^3
CH ₃	OCH ₃	Ph
CH ₃	OCH ₃	2-CH ₃ Ph
CH ₃	OCH ₃	2,5-(CH ₃) ₂ Ph
CH ₃	NHCH ₃	Ph

CH ₃	NHCH ₃	2-CH ₃ Ph
CH ₃	NHCH ₃	2,5-(CH ₃) ₂ Ph
CHF ₂	OCH ₃	Ph
CHF ₂	OCH ₃	2-CH ₃ Ph
CHF ₂	OCH ₃	2,5-(CH ₃) ₂ Ph
CHF ₂	NHCH ₃	Ph
CHF ₂	NHCH ₃	2-CH ₃ Ph
CHF ₂	NHCH ₃	2,5-(CH ₃) ₂ Ph
C ₂ H ₅	OCH ₃	Ph
C ₂ H ₅	OCH ₃	2-CH ₃ Ph
C ₂ H ₅	OCH ₃	2,5-(CH ₃) ₂ Ph
C ₂ H ₅	NHCH ₃	Ph
C ₂ H ₅	NHCH ₃	2-CH ₃ Ph
C ₂ H ₅	NHCH ₃	2,5-(CH ₃) ₂ Ph

El compuesto representado por la fórmula (1) puede tener estereoisómeros tales como isómeros ópticos basados en los átomos de carbono asimétricos, e isómeros tales como tautómeros. En la presente invención, cualquier isómero puede estar contenido y usado, ya sea solo o en cualquier proporción de isómeros.

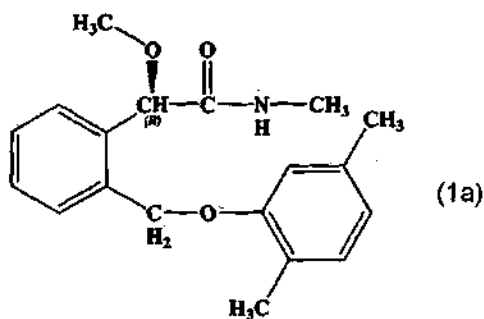
El compuesto representado por la fórmula (1) puede tomar la forma de un solvato (por ejemplo, un hidrato). En la presente invención, el compuesto se puede usar en forma de un solvato.

El compuesto representado por la fórmula (1) puede tomar la forma de un material cristalino y/o un material amorfo. En la presente invención, el compuesto se puede usar en cualquier forma.

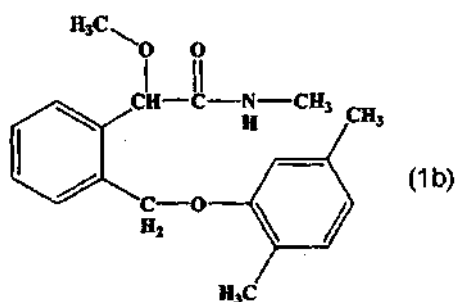
Los compuestos de la fórmula (1) son los que se describen en el documento de Patente WO 95/27.693. Estos documentos se pueden sintetizar usando, por ejemplo, el método que se describe en el panfleto.

Específicamente, algunos ejemplos del compuesto representado por la fórmula (1) incluyen los que están representados por las fórmulas (1a) y (1b), que son preferentes en términos de estimulación eficaz del crecimiento de las plantas tratadas.

El compuesto (1a) es N-metil-2-[2-(2,5-dimetilfenoxi)metil]fenil-(2R)-2-metoxiacetamida (n.º de registro CAS 394657-24-0), un compuesto de la fórmula (1) en la que X¹ es un grupo metilo, X² es un grupo metilamino, y X³ es un grupo 2,5-dimetilfenilo. Este compuesto está representado por la siguiente fórmula (1a):



El compuesto (1b) es N-metil-2-[2-(2,5-dimetilfenoxi)metil]fenil-2-metoxiacetamida racémica (n.º de registro CAS 173662-97-0), un compuesto de la fórmula (1) en la que X¹ es un grupo metilo, X² es un grupo metilamino, y X³ es un grupo 2,5-dimetilfenilo. Este compuesto está representado por la siguiente fórmula (1b):



Cuando se usa en el método de la presente invención, el presente compuesto se puede usar solo o formulado con diversos componentes inertes, como se describe a continuación.

Algunos ejemplos del vehículo sólido usado en formulación incluyen polvos finos o gránulos tales como minerales tales como arcilla caolín, arcilla atapulgita, bentonita, montmorillonita, arcilla blanca ácida, pirofilita, talco, tierra de diatomeas y calcita; materiales orgánicos naturales tales como polvo de raquis y polvo de cáscara de nuez; materiales orgánicos sintéticos tales como urea; sales tales como carbonato de calcio y sulfato de amonio; y materiales inorgánicos sintéticos tales como óxido de silicio hidratado sintético; y como vehículo líquido, hidrocarburos aromáticos tales como xileno, alquilbenceno y metilnaftaleno; alcoholes tales como 2-propanol, etilenglicol, propilenglicol, y etilenglicol monoetil éter; cetonas tales como acetona, ciclohexanona e isoforona; aceites vegetales tales como aceite de soja y aceite de semilla de algodón; hidrocarburos alifáticos del petróleo, ésteres, dimetilsulfóxido, acetonitrilo y agua.

Algunos ejemplos del tensioactivo incluyen tensioactivos aniónicos tales como sales de ésteres de alquil sulfato, sales de alquilaril sulfonato, sales de dialquil sulfosuccinato, sales de ésteres de polioxietileno alquilaril éter fosfato, sales de lignosulfonato y policondensados de naftaleno sulfonato formaldehído; tensioactivos no iónicos tales como polioxietileno alquil aril éteres, copolímeros en bloque de polioxietileno alquilpolioxipropileno y ésteres ácidos grasos de sorbitán; y tensioactivos catiónicos tales como sales de alquiltrimetilamonio.

Algunos ejemplos de otros agentes auxiliares de formulación incluyen polímeros solubles en agua tales como alcohol polivinílico y polivinilpirrolidona, polisacáridos tales como goma arábica, ácido alginico y las sales del mismo, CMC (carboximetilcelulosa), goma de xantano, materiales inorgánicos tales como silicato de aluminio y magnesio y sol de alúmina, conservantes, agentes colorantes y agentes de estabilización tales como PAP (fosfato ácido de isopropilo) y BHT.

Cuando las plantas se tratan con el presente compuesto en el método de la presente invención, el tratamiento se lleva a cabo por tratamiento de las plantas o sus áreas de cultivo con una cantidad eficaz del presente compuesto. En el tratamiento de las plantas o sus áreas de cultivo, el presente compuesto se aplica en una aplicación individual o en aplicaciones múltiples.

Específicamente, algunos ejemplos de aplicaciones en el método de la presente invención incluyen tratamiento de las hojas, órganos florales o panículas, tal como pulverización foliar; tratamiento del suelo (áreas de cultivo) antes o después de la plantación; tratamiento de las semillas, tal como esterilización, empapado o revestimiento de las semillas; tratamiento de los plantones; y tratamiento de los bulbos.

Específicamente, algunos ejemplos de tratamiento de las hojas, los órganos florales o las panículas en el método de la presente invención incluyen el tratamiento de la superficie de las plantas, tal como pulverización de las hojas y pulverización del tronco. Además, algunos ejemplos de los tratamientos incluyen tratamiento de pulverización de los órganos florales o las plantas enteras en el estado de floración incluyendo antes, durante y después de la floración. Para plantas de cultivo y similares, algunos ejemplos de los tratamientos incluyen tratamiento de pulverización de las panículas o las plantas enteras en la etapa de encabezamiento.

Algunos ejemplos del método de tratamiento de suelo en el método de la presente invención incluyen pulverización sobre el suelo, incorporación al suelo, y perfusión de un líquido químico en el suelo (irrigación del líquido químico, inyección al suelo, y goteo del líquido químico). Algunos ejemplos del lugar que se trata incluyen agujero de plantación, surco, alrededor de un agujero de plantación, alrededor de un surco, superficie completa de las tierras de cultivo, partes entre el suelo y la planta, área entre las raíces, área debajo del tronco, surco principal, suelo de crecimiento, maceta de cría del plantón, bandeja de cría del plantón y semillero. Algunos ejemplos del período de tratamiento incluyen antes la siembra, en el momento de la siembra, inmediatamente después de la siembra, en el periodo de cría, antes de la plantación establecida, en el momento de la plantación establecida, y el periodo de crecimiento después de la plantación establecida. En el tratamiento del suelo, se puede aplicar al suelo un fertilizante sólido, tal como un fertilizante en pasta, que contenga el presente compuesto. Además, el presente compuesto se puede mezclar en un líquido de irrigación y algunos ejemplos del mismo incluyen inyección en

instalaciones de irrigación (tubo de irrigación, tubería de irrigación, aspersor, etc.), mezcla en el líquido de inundación entre surcos, mezcla en un medio hidropónico y similar. Alternativamente, se puede mezclar un líquido de irrigación con el presente compuesto con antelación y, por ejemplo, usarse para tratar mediante un método de irrigación apropiado incluyendo el método de irrigación que se ha mencionado anteriormente y otros métodos tales como aspersión e inundación.

El tratamiento de las semillas en el método de la presente invención se refiere a un proceso para tratar semillas, bulbos y similares de plantas de interés con el presente compuesto; algunos ejemplos específicos del tratamiento incluyen un tratamiento de pulverización mediante el cual se atomiza una suspensión del presente compuesto para que se pulverice sobre la superficie de semillas o bulbos; un tratamiento de manchado mediante el cual el presente compuesto en forma de un polvo humedecible, una emulsión, un agente fluido o similar se aplica, directamente o después de añadirse a una pequeña cantidad de agua, sobre semillas o bulbos; y un tratamiento de empapado en el que las semillas se empapan en una solución del presente compuesto durante cierto periodo de tiempo; un tratamiento de revestimiento de película; y un tratamiento de revestimiento de microgránulo.

Algunos ejemplos del tratamiento de plantones en el método de la presente invención incluyen tratamiento por pulverización de los plantones completos de una dilución que tiene una concentración apropiada de ingredientes activos preparada por dilución del presente compuesto con agua, tratamiento por inmersión de los plantones en la dilución, y tratamiento por revestimiento de adhesión del presente compuesto formulado en una formulación de polvo a los plantones completos. Algunos ejemplos del método de tratamiento de suelo antes o después de sembrar los plantones incluyen un método de pulverización de una dilución que tiene una concentración apropiada de los ingredientes activos preparada por dilución del presente compuesto con agua a los plantones o al suelo alrededor de los plantones después de sembrar los plantones, y un método de pulverización del presente compuesto formulado en una formulación sólida tal como un gránulo al suelo alrededor de los plantones después de sembrar los plantones.

El presente compuesto se puede mezclar con un medio hidropónico en cultivo hidropónico, o también se puede usar en forma de uno de los componentes del medio de cultivo en cultivo tisular. Cuando el presente compuesto se usa para cultivo hidropónico, se puede disolver o suspender en un medio de cultivo usado habitualmente para cultivo hidropónico, tal como fórmula ENSHI, a una concentración dentro de un intervalo de 3 ppm a 30 ppm. Cuando el presente compuesto se usa en el momento de cultivo tisular o cultivo celular, se puede disolver o suspender en un medio de cultivo usado convencionalmente para cultivo tisular de plantas, tal como un medio de cultivo MS, a una concentración dentro de un intervalo de 3 ppm a 30 ppm. En este caso, de acuerdo con un método habitual, se pueden añadir de forma apropiada sacáridos como fuente de carbono, diversas fitohormonas y similares.

Cuando el presente compuesto se usa para el tratamiento de plantas o sitios de crecimiento de plantas, la cantidad de tratamiento puede variar de acuerdo con el tipo de plantas que se tratan, la forma de formulación, el periodo de tratamiento y las condiciones meteorológicas, pero está habitualmente dentro del intervalo de 0,1 g a 1000 g, y preferentemente de 100 g a 250 g, en términos de la cantidad de ingrediente activo por 10.000 m². Cuando el presente compuesto se incorpora al suelo completo, la cantidad de tratamiento está habitualmente dentro del intervalo de 0,1 g a 1000 g, y preferentemente de 100 g a 250 g, en términos de la cantidad de ingrediente activo por 10.000 m².

En este momento, se usan habitualmente una emulsión, un polvo humedecible, un agente fluido y una microcápsula para el tratamiento por pulverización después de dilución con agua. En este caso, la concentración del ingrediente activo está habitualmente dentro de un intervalo de 0,1 ppm a 10.000 ppm, y preferentemente de 10 ppm a 100 ppm. Se usan habitualmente una formulación de polvo y un gránulo para el tratamiento como tales sin dilución.

En el tratamiento de semillas, la cantidad de tratamiento del presente compuesto es generalmente de 5 g a 1000 g y preferentemente de 10 g a 50 g por 100 kg de semillas. Por ejemplo, la cantidad de tratamiento del presente compuesto es preferentemente de 25 mg a 125 mg por un grano de maíz.

Las plantas a las que se puede aplicar el método de la presente invención incluyen las siguientes:

Cultivos: maíz, arroz, trigo, cebada, centeno, avena, sorgo, algodón, soja, cacahuete, trigo sarraceno, remolacha, colza, girasol, caña de azúcar, tabaco, lúpulo, etc. ;

Vegetales: verduras solanáceas (berenjena, tomate, patata, pimiento, pimentón, etc.), vegetales cucurbitáceos (pepino, calabaza, calabacín, sandía, melón, melón oriental, etc.), vegetales crucíferos (rábano japonés, nabo, rábano picante, colirrábano, repollo chino, repollo, mostaza de hoja, brócoli, coliflor, etc.), vegetales asteráceos (bardana, *Chrysanthemum coronarium*, alcachofa, lechuga, etc.), vegetales liliáceos (cebolla verde, cebolla, ajo, espárragos, etc.), hortalizas apiáceas (zanahoria, perejil, apio, chirivía, etc.), vegetales quenopodáceos (espinacas, acelgas, etc.) vegetales Labiados (albahaca japonesa, menta, albahaca, etc.), vegetales leguminosos (guisantes, judía común, judía azuki, haba, chickbean, etc.), fresa, boniato, ñame japonés, ñame, Amorphophallus konjac, jengibre, okra, etc. ;

Frutas: frutas de pepita (manzana, pera, pera japonesa, membrillo chino, membrillo, etc.), frutas carnosas de hueso (melocotón, ciruela, nectarina, prunus mume, cereza, albaricoque, ciruela, etc.), frutas cítricas (Citrus unshiu, naranja, limón, rime, pomelo, etc.), frutos secos (castañas, nueces, avellanas, almendra, pistacho, anacardos, nueces de macadamia, etc.), bayas (arándano azul, arándano rojo, mora, frambuesa, etc.), uva, caqui, aceituna, ciruela japonesa, plátano, café, palmera datilera, cocos, palma de aceite, etc.;

Árboles que no sean árboles frutales: té, morera, árboles con flor (*Rhododendron indicum*, camelia, hidrangea, sasanqua, skimmia, cereza, Liriodendron, Lagerstroemia, naranja osmanthus, etc.), árboles de carretera (fresno, abedul, cerezo silvestre, eucalipto, ginkgo biloba, lilo, arce, roble, álamo, cercis, liquidámbar, sicómoro, zelkova, árbol de la vida japonés, abeto, abeto de cicuta, enebro, pino, abeto, tejo, olmo, castaño, etc.), *Viburnum awabuki*, *Podocarpus macrophyllus*, cedro, ciprés, crotón, huso japonés, fotinia japonesa, etc.;

Hierbas: hierbas Zoysia (*Z. japonica*, *Z. pacifica*, etc.), gramas (hierba bermuda, etc.), hierbas dobladas (hierba roja, agrostis, agrostis colonial, etc.), poas (poa de Kentucky, poa rugosa), festucas (festuca alta, festuca de masticación, festuca roja rastrera), raigrás (cizaña, hierba de centeno, etc.), hierba de huerto, hierba timotea, etc.; y

Otras plantas: flores ornamentales (rosa, clavel, crisantemo, eustoma, gypsophila, gerbera, caléndula, salvia, petunia, verbena, tulipán, áster, genciana, lirio, pensamiento, ciclamen, orquídea, lirio de los valles, lavanda, Mathiola, repollo ornamental, primula, poinsetia, gladiolo, cattleya, margarita, cymbidium, begonia, etc.), plantas de biocombustible (Jatrofa, cártamo, camelias, hierba varilla, miscantos, carrizo, caña gigante, kenaf, mandioca, sauce, etc.), plantas ornamentales, etc.

Preferentemente, los ejemplos de las plantas a las que se puede aplicar el método de la presente invención incluyen: té, manzana, pera, uva, cereza, melocotón, nectarina, caqui, ciruela japonesa, ciruela, soja, lechuga, repollo, tomate, berenjena, pepino, sandía, judía común, guisante, judía azuki, hierba, colza, fresa, almendra, maíz, sorgo, haba, col china, patata, cacahuete, arroz, trigo, ñame, Amorphophallus konjac, boniato japonés, rábano japonés, nabo, perejil, melón oriental, okra, jengibre, limón, naranja, pomelo, lima, arándano, castaña, lúpulo y albahaca. Más preferentemente, los ejemplos de las plantas incluyen arroz, maíz, colza, trigo, albahaca, soja, sorgo y judía común.

Las "plantas" que se han descrito anteriormente incluyen plantas a las que se confiere resistencia a los siguientes agentes usando un método de cruzamiento clásico o una técnica de ingeniería genética: inhibidores de la 4-hidroxifenilpiruvato-dioxigenasa, tales como isoxaflutol; inhibidores de la acetolactato sintetasa (denominada en lo sucesivo en el presente documento ALS), tales como imazetapir y tifensulfurón-metilo; inhibidores de la 5-enolpiruvilsikimato-3-fosfato sintasa (denominados en lo sucesivo en el presente documento EPSPS) tales como glifosato; inhibidores de la glutamina sintetasa, tales como glufosinato; inhibidores de la acetil-CoA carboxilasa, tales como setoxidim; inhibidores de la protoporfirinógeno oxidasa, tales como flumioxazina; dicamba; herbicidas de auxina, tales como 2,4-D; y herbicidas tales como bromoxinil.

Algunos ejemplos de una "planta" a la que se ha conferido resistencia mediante un método de cruzamiento clásico incluyen colza oleaginosa, trigo, girasol y arroz resistentes a herbicidas inhibidores de ALS de imidazolinona tales como imazetapir, que ya están disponibles en el mercado con el nombre de producto de Clearfield (marca comercial registrada). De forma análoga, existe soja a la que se ha conferido resistencia a herbicidas inhibidores de ALS de sulfonilurea tales como tifensulfurón-metilo mediante un método de cruzamiento clásico, que ya está disponible en el mercado con el nombre de producto de soja STS. De forma análoga, algunos ejemplos a los que se ha conferido resistencia a inhibidores de la acetil-CoA carboxilasa tales como herbicidas de triona oxima o ácido ariloxi fenoxipropiónico mediante un método de cruzamiento clásico incluyen maíz SR.

La planta a la que se ha conferido resistencia a los inhibidores de la acetil-CoA carboxilasa se describe en Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 87, pág. 7175-7179 (1990)).

Algunos ejemplos de una "planta" a la que se ha conferido resistencia mediante técnicas de ingeniería genética incluyen variedades resistentes al glifosato de maíz, soja, algodón, colza oleaginosa, remolacha azucarera que tiene un gen EPSPS resistente a los inhibidores de EPSPS. Estas variedades ya están disponibles en el mercado con los nombres de producto de RoundupReady (marca comercial registrada), Agrisure (marca comercial registrada) GT, Gly-Tol, etc. De forma análoga, existen maíz, soja, algodón y colza oleaginosa que se han hecho resistentes al glufosinato mediante técnicas de ingeniería genética, que ya están disponibles en el mercado con el nombre de producto de LibertyLink (marca comercial registrada). Del mismo modo, un algodón hecho resistente al bromoxinil mediante técnicas de ingeniería genética ya está disponible en el mercado con el nombre de producto de BXN. De forma análoga, existen variedades de algodón y soja que son resistentes tanto al glifosato como a los inhibidores de ALS, y se ha anunciado que entran en el mercado con el nombre de Optimum (marca comercial registrada) GAT (marca comercial registrada). Además, se ha anunciado que una variedad de soja resistente a imazapir producida mediante técnicas de ingeniería genética entra en el mercado con el nombre de Cultivance (marca comercial registrada).

Se informan acetil CoA carboxilasas mutantes que son resistentes a los inhibidores de acetil-CoA carboxilasa, por ejemplo, en Weed Science, vol. 53, pág. 728-746 (2005). Una planta con resistencia a los inhibidores de la acetil-CoA carboxilasa se puede producir por introducción de tal gen mutante de acetil-CoA carboxilasa en la planta mediante técnicas de ingeniería genética o mediante la introducción de una mutación asociada a la resistencia en una acetil-CoA carboxilasa de cultivo. Además, una planta con resistencia a los inhibidores de la acetil-CoA carboxilasa y/o los inhibidores de ALS se puede producir por introducción de mutagénesis dirigida al sitio para sustituciones de aminoácidos en el gen de acetil-CoA carboxilasa y/o el gen de ALS de la planta, por medio de la introducción de un ácido nucleico mutante que tiene sustituciones de nucleótidos en una célula de la planta mediante el uso de una técnica representada por la técnica de quimeroplastia (Science vol. 285, pág. 316-318 (1999)).

Una planta de cultivo, tal como soja, con resistencia a dicamba se puede producir por introducción de un gen que codifica una enzima de degradación de dicamba, incluyendo dicamba monooxigenasa aislada de *Pseudomonas maltophilia* (Science vol. 316, pág. 1185-1188 (2007)).

Una planta de cultivo con resistencia a los sistemas de herbicida de fenoxi, ácido piridina oxiacético, y ácido ariloxifenoxipropiónico mencionados posteriormente se pueden producir por introducción de un gen que codifica una ariloxialcanoato dioxigenasa: herbicidas de fenoxi, tales como 2,4-D, MCPA, diclorprop y mecoprop, herbicidas de ácido piridina oxiacético, tales como fluroxipir y triclorpir, y herbicidas de ácido ariloxifenoxipropiónico, tales como quizalofop-P-etilo, haloxifop-P-metilo, fluazifop-P-butilo, diclofop, fenoxaprop-P-etilo, metamifop, cihalofop-butilo y clodinafop-propargilo (documentos de Patente WO 05/107437, WO 07/053482, WO 08/141154). La planta de cultivo resultante se denomina planta de cultivo DHT.

Una planta de cultivo con resistencia a los inhibidores de HPPD se puede producir por introducción de un gen que codifica HPPD que muestra resistencia a los inhibidores de HPPD (documento de Patente US2004/0058427). Mediante la introducción de genes que permiten la síntesis de ácido homogentísico, que se produce a partir de HPPD a través de otra ruta metabólica incluso cuando se inhibe HPPD mediante un inhibidor de HPPD, se puede producir una planta de cultivo resistente a los inhibidores de HPPD (documento de Patente WO 02/036787). Una planta con resistencia a los inhibidores de HPPD se puede producir mediante la introducción de un gen que sobreexpresa HPPD de un modo tal que se puede producir HPPD a un nivel suficiente para el crecimiento de la planta incluso en presencia de los inhibidores de HPPD (documento de Patente WO 96/38567). Mediante la introducción de un gen que codifica pefenato deshidrogenasa para aumentar la producción de p-hidroxifenilpiruvato, un sustrato de HPPD, además de la introducción de un gen para sobre expresar HPPD, se puede producir una planta con resistencia a los inhibidores de HPPD (Plant Physiol., vol. 134, pág. 92-100 (2004)).

Las "plantas" que se han descrito anteriormente incluyen plantas a las que se confiere resistencia a los nemátodos y pulgones usando un método de cruzamiento clásico. Algunos ejemplos de tales plantas incluyen la planta de soja en la que se introduce el gen RAG1 (gen 1 de resistencia a pulgón, *Resistance Aphid Gene 1*), que confiere resistencia al pulgón.

Las "plantas" mencionadas anteriormente incluyen plantas modificadas por ingeniería genética producidas usando técnicas de ingeniería genética tales que, por ejemplo, son capaces de sintetizar toxinas selectivas como se conoce en el género *Bacillus*.

Algunos ejemplos de toxinas expresadas en tales plantas modificadas por ingeniería genética incluyen: proteínas intersticiales obtenidas a partir de *Bacillus cereus* o *Bacillus popilliae*; δ -endotoxinas tales como Cry1Ab, Cry1Ac, Cry1F, Cry1Fa2, Cry2Ab, Cry3A, Cry3Bb1 o Cry9C, obtenidas a partir de *Bacillus thuringiensis*; proteínas insecticidas tales como VIP1, VIP2, VIP3, o VIP3A; proteínas insecticidas obtenidas a partir de nemátodos; toxinas generadas por animales, tales como toxina de escorpión, toxina de araña, toxina de abeja, neurotoxinas específicas de insectos; toxinas de hongos; lectina de plantas; aglutinina; inhibidores de proteasa tales como un inhibidor de tripsina, un inhibidor de serina proteasa, patatina, cistatina, o un inhibidor de papaína; proteínas de inactivación de ribosomas (RIP) tales como licina, maíz-RIP, abrina, lufina, saporina, o briodina; enzimas que metabolizan esteroides tales como 3-hidroxiesteroide oxidasa, ecdiesteroide-UDP-glucosil transferasa, o colesterol oxidasa; un inhibidor de ecdisona; HMG-COA reductasa; inhibidores de los canales de iones tales como un inhibidor del canal de sodio o un inhibidor del canal de calcio; hormona esterasa juvenil; un receptor de hormona diurética; estilbena sintasa; bibencilo sintasa; quitinasa; y glucanasa.

Algunos ejemplos de toxinas expresadas en tales plantas modificadas por ingeniería genética incluyen también: toxinas híbridas de proteínas de δ -endotoxina tales como Cry1Ab, Cry1Ac, Cry1F, Cry1Fa2, Cry2Ab, Cry3A, Cry3Bb1, Cry9C, Cry34Ab o Cry35Ab y proteínas insecticidas tales como VIP1, VIP2, VIP3 o VIP3A; toxinas parcialmente suprimidas; y toxinas modificadas. Tales toxinas híbridas se producen a partir de una nueva combinación de los diferentes dominios de tales proteínas, usando técnicas de ingeniería genética. En lo que se refiere a una toxina parcialmente suprimida, se conoce Cry1Ab que comprende una supresión de una parte de una secuencia de aminoácidos. Una toxina modificada se produce por sustitución de uno o múltiples aminoácidos de las toxinas naturales.

Algunos ejemplos de tales toxinas y plantas modificadas por ingeniería genética capaces de sintetizar tales toxinas se describen en los documentos de Patente EP-A-0 374 753, WO 93/07278, WO 95/34656, EP-A-0 427 529, EP-A-451 878, WO 03/052073, etc.

- 5 Las toxinas contenidas en tales plantas modificadas por ingeniería genética son capaces de conferir resistencia particularmente a plagas de insectos que pertenecen a coleópteros, hemípteros, dípteros, lepidópteros, y nemátodos, a las plantas.

Las plantas modificadas por ingeniería genética, que comprenden uno o múltiples genes resistentes a plagas insecticidas y que expresan una o múltiples toxinas, ya se conocen, y algunas de tales plantas modificadas por ingeniería genética ya se encuentran en el mercado. Algunos ejemplos de tales plantas modificadas por ingeniería genética incluyen YieldGard (marca comercial registrada) (una variedad de maíz que expresa la toxina Cry1Ab), YieldGard Rootworm (marca comercial registrada) (una variedad de maíz que expresa la toxina Cry3Bb1), YieldGard Plus (marca comercial registrada) (una variedad de maíz que expresa las toxinas Cry1Ab y Cry3Bb1), Herculex I (marca comercial registrada) (una variedad de maíz que expresa fosfinotricina N-acetil transferasa (PAT) de un modo tal que confiere resistencia a la toxina Cry1Fa2 y al glufosinato), NuCOTN33B (marca comercial registrada) (una variedad de algodón que expresa la toxina Cry1Ac), Bollgard I (marca comercial registrada) (una variedad de algodón que expresa la toxina Cry1Ac), Bollgard II (marca comercial registrada) (una variedad de algodón que expresa las toxinas Cry1Ac y Cry2Ab), VIPCOT (marca comercial registrada) (una variedad de algodón que expresa la toxina VIP), NewLeaf (marca comercial registrada) (una variedad de patata que expresa la toxina Cry3A), NatureGard (marca comercial registrada) Agrisure (marca comercial registrada) GT Advantage (rasgo de resistencia al glifosato GA21), Agrisure (marca comercial registrada) CB Advantage (rasgo frente al barrenador del maíz (CB) Bt11), y Protecta (marca comercial registrada).

- 25 Las "plantas" mencionadas anteriormente también incluyen plantas producidas usando una técnica de ingeniería genética, que tienen la capacidad de generar sustancias antipatógenas que tienen acción selectiva.

Se conoce una proteína PR y similar como tales sustancias antipatógenas (PRP, documento de Patente EP-A-0 392 225). Tales sustancias antipatógenas y las plantas modificadas por ingeniería genética que las generan se describen en los documentos de Patente EP-A-0 392 225, WO 95/33818, EP-A-0 353 191, etc.

Algunos ejemplos de sustancias antipatógenas que se expresan en las plantas modificadas por ingeniería genética incluyen: inhibidores de los canales de iones tales como un inhibidor del canal de sodio o un inhibidor del canal de calcio (se conocen las toxinas KP1, KP4 y KP6, etc., que son producidas por virus); estilbeno sintasa; bibencilo sintasa; quitinasa; glucanasa; una proteína PR; y sustancias antipatógenas generadas por microorganismos, tales como un antibiótico peptídico, un antibiótico que tiene un anillo heterocíclico, un factor de proteína asociado a la resistencia a enfermedades de plantas (que se denomina gen resistente a enfermedades de plantas y se describe en el documento de Patente WO 03/000906). Estas sustancias antipatógenas y las plantas modificadas por ingeniería genética que producen tales sustancias se describen en los documentos de Patente EP-A-0392225, WO95/33818, EP-A-0353191, etc. Una variedad de papaya recombinante producida por introducción del gen de proteína de revestimiento del virus de la mancha en forma de anillo de la papaya (PRSV) ya está disponible en el mercado con el nombre de producto de Rainbow Papaya (marca comercial registrada).

La "planta" que se ha mencionado anteriormente incluye plantas a las que se han conferido mediante tecnología de ingeniería genética rasgos ventajosos tales como rasgos mejorados en los ingredientes de producción de aceite o rasgos que tienen un refuerzo en el contenido de aminoácidos. Algunos ejemplos de las mismas incluyen VISTIVE (marca comercial registrada) (soja de bajo contenido de linolénico que tiene una reducción en el contenido de linolénico) o maíz de alto contenido de lisina (alto contenido de aceite) (maíz con un aumento en el contenido de lisina o aceite).

También se incluyen variedades de acumulación en las que se combinan una pluralidad de rasgos ventajosos tales como los rasgos de herbicida clásicos que se han mencionado anteriormente o genes de tolerancia a herbicidas, genes de resistencia a insectos perjudiciales, genes para la producción de sustancias antipatógenas, rasgos mejorados en ingredientes de producción de aceite o rasgos que tienen un refuerzo en el contenido de aminoácidos.

El método de la presente invención permite la mejora en la estimulación del crecimiento de una planta que se trata con el presente compuesto, incluso si la planta se ha expuesto o se va a exponer a un estrés abiótico. Como se usa en el presente documento, un "estrés abiótico" se define como un estrés que conduce a una inhibición en el crecimiento de una planta, cuando la planta se expone a unas condiciones de estrés, debido a la reducción en la función fisiológica de las células de la planta y al deterioro del estado fisiológico de la planta. Tal estrés se puede cuantificar como la "intensidad de estrés" de acuerdo con la ecuación que se muestra continuación. El valor de intensidad puede ser de 105 a 200, preferentemente de 110 a 180, y más preferentemente de 120 a 160.

Ecuación (I): "Intensidad de estrés" = $100 \times \frac{\text{"uno cualquiera de los fenotipos de las plantas en las plantas que no están expuestas a un estrés abiótico"}}{\text{"el fenotipo de las plantas en las plantas que están expuestas al estrés abiótico"}}$

El estrés abiótico puede ser estrés por temperatura, es decir, estrés por temperatura alta o baja, estrés por sal, estrés por agua, es decir, estrés por sequía o estrés por humedad excesiva. El estrés por alta temperatura se refiere a un estrés que las plantas experimentan cuando se exponen a una temperatura que excede de la temperatura adecuada para su crecimiento o germinación. De forma específica, el estrés por alta temperatura puede estar causado por condiciones en las que la temperatura media de crecimiento es 25 °C o superior, más duramente 30 °C o superior, e incluso más duramente 35 °C o superior en el entorno en el que se cultivan las plantas. El estrés por baja temperatura se refiere a un estrés que experimentan las plantas cuando se exponen a una temperatura menor que la temperatura adecuada para su crecimiento o germinación. De forma específica, el estrés por baja temperatura puede estar causado por condiciones en las que la temperatura media de crecimiento es 15 °C o inferior, más duramente 10 °C o inferior, e incluso más duramente 5 °C o inferior en el entorno en el que se cultivan las plantas. El estrés por sequía se refiere a un estrés que experimentan las plantas cuando se exponen a un entorno de humedad que retarda su crecimiento por prevención de la absorción de agua debido a una reducción en el contenido de agua del suelo causada por la escasez de agua de precipitaciones o irrigación. De forma específica, el estrés por sequía puede estar causado por condiciones en las que el contenido de agua en el suelo en el que crecen las plantas es un 15 % en peso o menos, más duramente un 10 % en peso o menos, e incluso más duramente un 7,5 % en peso o menos, aunque estos valores pueden variar dependiendo del tipo del suelo, o en las que el valor de pF del suelo en el que crecen las plantas es 2,3 o más, más duramente 2,7 o más, e incluso más duramente 3,0 o más, aunque estos valores pueden variar dependiendo del tipo de suelo. El estrés por humedad excesiva se refiere a un estrés que experimentan las plantas cuando se exponen a un entorno de humedad en el que el contenido de agua en el suelo es excesivamente alto, de un modo tal que se inhibe el crecimiento de las plantas. De forma específica, el estrés por humedad excesiva puede estar causado por condiciones en las que el contenido de agua en el suelo en el que crecen las plantas es un 30 % en peso o más, más duramente un 40 % en peso o más, e incluso más duramente un 50 % en peso o más, aunque estos valores pueden variar dependiendo del tipo de suelo, o en las que el valor de pF del suelo en el que crecen las plantas es 1,7 o menos, más duramente 1,0 o menos, e incluso más duramente 0,3 o menos, aunque estos valores pueden variar dependiendo del tipo de suelo. El valor de pF del suelo se puede determinar de acuerdo con el "método para la medición del valor de pF" de las páginas 61 y 62 de "Dojyo, Shokubutsu Eiyo, Kankyo Jiten (Encyclopedia of Soil, Plant Nutrition and Environment)" (TAIYOSHA Co., Ltd., 1994, Matsuzaka *et al.*). El estrés por sal se refiere a un estrés que experimentan las plantas cuando se exponen a un entorno que retarda su crecimiento por prevención de la absorción de agua debido a un aumento en la presión osmótica causado por la acumulación de sales contenidas en el suelo o la solución hidropónica en los que se cultivan las plantas. De forma específica, el estrés por sal puede estar causado por condiciones en las que el potencial de presión osmótica debido a las sales contenidas en el suelo o la solución hidropónica es 0,2 MPa (una concentración de NaCl de 2400 ppm) o superior, duramente 0,25 MPa o superior, y más duramente 0,30 MPa o superior. La presión osmótica en el suelo se puede calcular de acuerdo con la ecuación de Raoult, que se muestra a continuación, por dilución del suelo con agua y análisis del sobrenadante para la concentración de sal:

Ecuación de Raoult: $\pi \text{ (atm)} = cRT$

$R = 0,082 \text{ (l·atm/mol·K)}$

$T = \text{temperatura absoluta (K)}$

$c = \text{concentración molar de iones (mol/l)}$

$1 \text{ atm} = 0,1 \text{ MPa}$

Ejemplos

Aunque la presente invención se describirá en lo sucesivo de forma más específica por medio de ejemplos de formulación, ejemplos de tratamiento de semillas y ejemplos de ensayo, la presente invención no está limitada a los siguientes ejemplos. En los siguientes ejemplos, las partes representan partes en peso a menos que se especifique de otro modo.

Ejemplo de Formulación 1

Se mezclan completamente 3,75 partes del compuesto (1b), 14 partes de polioxietileno estirilfenil éter, 6 partes de dodecil benceno sulfonato de calcio y 76,25 partes de xileno, de un modo tal que se obtengan emulsiones.

Ejemplo de Formulación 2

Se obtiene una suspensión pulverizada por vía húmeda por mezcla de 75 partes del compuesto (1b), 15 partes de propilenglicol (fabricado por Nacalai Tesque), 15 partes de Soprophor FLK (fabricado por Rhodia Nicca), 0,6 partes de Antifoam C Emulsion (fabricado por Dow Corning) y 120 partes de agua de intercambio iónico, seguido de pulverización por vía húmeda de la suspensión. Se obtiene una solución acuosa de espesante por mezcla de 0,3 partes de Kelzan S (fabricado por Kelco), 0,6 partes de Veegum en gránulos (fabricado por R.T. Vanderbilt) y 0,6 partes de Proxel GXL (fabricado por Arch chemicals) con 72,9 partes de agua de intercambio iónico. Se obtiene una formulación fluida por mezcla de 75,2 partes de la suspensión pulverizada por vía húmeda y 24,8 partes de la solución acuosa de espesante.

Ejemplo de Formulación 3

Se mezclan quince (15) partes del compuesto (1b), 1,5 partes de trioleato de sorbitán y 28,5 partes de una solución acuosa que contiene 2 partes de alcohol polivinílico, y la mezcla se somete a una molienda fina de acuerdo con un método de molienda por vía húmeda. Después de eso, se añaden 45 partes de una solución acuosa que contiene 0,05 partes de goma de xantano y 0,1 partes de silicato de aluminio y magnesio a la mezcla resultante, y además se añaden a ello 10 partes de propilenglicol. La mezcla obtenida se mezcla por agitación, de un modo tal que se obtengan formulaciones fluidas.

Ejemplo de Formulación 4

Se mezclan cuarenta y cinco (45) partes del compuesto (1b), 5 partes de propilenglicol (fabricado por Nacalai Tesque), 5 partes de Soprophor FLK (fabricado por Rhodia Nikka), 0,2 partes de Antifoam C Emulsion (fabricado por Dow Corning), 0,3 partes de Proxel GXL (fabricado por Arch Chemicals) y 49,5 partes de agua de intercambio iónico de un modo tal que se obtenga una suspensión en bruto. Se ponen ciento cincuenta (150) partes de perlas de vidrio (diámetro = 1 mm) en 100 partes de la suspensión, y la suspensión se muele durante 2 horas mientras se refrigera con agua de refrigeración. Después de la molienda, el producto resultante se filtra para retirar las perlas de vidrio y se obtienen formulaciones fluidas.

Ejemplo de Formulación 5

Para obtener una mezcla previa de Al se mezclan 50,5 partes del compuesto (1b), 38,5 partes de arcilla de caolín NN (fabricada por Takehara Chemical Industrial), 10 partes de Morwet D425 y 1,5 partes de Morwer EFW (fabricado por Akzo Nobel Corp.). Esta mezcla previa se muele con un molino de inyección de un modo tal que se obtengan formulaciones en polvo.

Ejemplo de Formulación 6

Se muelen completamente y se mezclan cinco (5) partes del compuesto (1b), 1 parte de óxido de silicio hidratado sintético, 2 partes de lignina sulfonato de calcio, 30 partes de bentonita y 62 partes de arcilla de caolín, y a la mezcla resultante se añade agua y se amasa completamente, y a continuación se somete a granulación y secado de un modo tal que se obtengan formulaciones de gránulos.

Ejemplo de Formulación 7

Se obtienen formulaciones en polvo por mezcla de 3 partes del compuesto (1b), 87 partes de arcilla de caolín y 10 partes de talco.

Ejemplo de Formulación 8

Se muelen completamente y se mezclan veintidós (22) partes del compuesto (1b), 3 partes de lignina sulfonato de calcio, 2 partes de lauril sulfato de sodio y 73 partes de óxido de silicio hidratado sintético de un modo tal que se obtengan polvos humedecibles.

Ejemplo de Tratamiento de Semillas 1

Una emulsión preparada como en el Ejemplo de Formulación 1 se usa para tratamiento de manchado en una cantidad de 100 ml por 10 kg de semillas de sorgo secas usando una máquina de tratamiento de semillas rotatoria (desinfectadora de semillas, producida por Hans-Ulrich Hege GmbH) de un modo tal que se obtengan semillas tratadas.

Ejemplo de Tratamiento de Semillas 2

Una formulación fluida preparada como en el Ejemplo de Formulación 2 se usa para tratamiento de manchado en una cantidad de 5 ml por 10 kg de semillas de soja secas usando una máquina de tratamiento de semillas rotatoria (desinfectadora de semillas, producida por Hans-Ulrich Hege GmbH) de un modo tal que se obtengan semillas tratadas.

Ejemplo de Tratamiento de Semillas 3

Una formulación fluida preparada como en el Ejemplo de Formulación 3 se usa para tratamiento de manchado en una cantidad de 20 ml por 10 kg de semillas de maíz secas usando una máquina de tratamiento de semillas rotatoria (desinfectadora de semillas, producida por Hans-Ulrich Hege GmbH) de un modo tal que se obtengan semillas tratadas.

Ejemplo de Tratamiento de Semillas 4

Se mezclan cinco (5) partes de una formulación fluida preparada como en el Ejemplo de Formulación 4, 5 partes de pigmento BPD6135 (fabricado por Sun Chemical) y 35 partes de agua para preparar una mezcla. La mezcla se usa para tratamiento de manchado en una cantidad de 60 ml por 10 kg de semillas de algodón secas usando una máquina de tratamiento de semillas rotatoria (desinfectadora de semillas, producida por Hans-Ulrich Hege GmbH) de un modo tal que se obtengan semillas tratadas.

Ejemplo de Tratamiento de Semillas 5

Una formulación en polvo preparada como en el Ejemplo de Formulación 5 se usa para tratamiento de revestimiento de polvo en una cantidad de 5 g por 10 kg de semillas de maíz secas de un modo tal que se obtengan semillas tratadas.

Ejemplo de Tratamiento de Semillas 6

Una formulación en polvo preparada como en el Ejemplo de Formulación 7 se usa para tratamiento de revestimiento de polvo en una cantidad de 400 g por 100 kg de semillas de arroz secas de un modo tal que se obtengan semillas tratadas.

Ejemplo de Tratamiento de Semillas 7

Una formulación fluida preparada como en el Ejemplo de Formulación 2 se usa para tratamiento de manchado en una cantidad de 5 ml por 10 kg de semillas de soja secas usando una máquina de tratamiento de semillas rotatoria (desinfectadora de semillas, producida por Hans-Ulrich Hege GmbH) de un modo tal que se obtengan semillas tratadas.

Ejemplo de Tratamiento de Semillas 8

Una formulación fluida preparada como en el Ejemplo de Formulación 3 se usa para tratamiento de manchado en una cantidad de 20 ml por 10 kg de semillas de trigo secas usando una máquina de tratamiento de semillas rotatoria (desinfectadora de semillas, producida por Hans-Ulrich Hege GmbH) de un modo tal que se obtengan semillas tratadas.

Ejemplo de Tratamiento de Semillas 9

Se mezclan cinco (5) partes de una formulación fluida preparada como en el Ejemplo de Formulación 4, 5 partes de pigmento BPD6135 (fabricado por Sun Chemical) y 35 partes de agua y la mezcla resultante se usa para tratamiento de manchado en una cantidad de 70 ml por 10 kg de tubérculos de patata usando una máquina de tratamiento de semillas rotatoria (desinfectadora de semillas, producida por Hans-Ulrich Hege GmbH) de un modo tal que se obtengan semillas tratadas.

Ejemplo de Tratamiento de Semillas 10

Se mezclan cinco (5) partes de una formulación fluida preparada como en el Ejemplo de Formulación 4, 5 partes de pigmento BPD6135 (fabricado por Sun Chemical) y 35 partes de agua y la mezcla resultante se usa para tratamiento de manchado en una cantidad de 70 ml por 10 kg de semillas de girasol usando una máquina de tratamiento de semillas rotatoria (desinfectadora de semillas, producida por Hans-Ulrich Hege GmbH) de un modo tal que se obtengan semillas tratadas.

Ejemplo de Tratamiento de Semillas 11

Una formulación en polvo preparada como en el Ejemplo de Formulación 5 se usa para tratamiento de revestimiento de polvo en una cantidad de 4 g por 10 kg de semillas de remolacha azucarera secas de un modo tal que se obtengan semillas tratadas.

Ejemplo de Ensayo 1

Se preparó una solución de suspensión de blanco que contenía un 5 % (V/V) de revestimiento de color rojo (Becker Underwood, Inc.), un 5 % (V/V) de CF-Clear (Becker Underwood, Inc.) y un 0,4 % de Maxim XL (Syngenta). Se preparó una solución de suspensión por disolución del compuesto (1b) en la solución de suspensión de blanco de un modo tal que se aplicaron de 10 a 50 g del compuesto 1b a cada 100 kg de semillas de maíz (variedad de cultivo: Kuromochi). En un tubo de centrífuga de 50 ml (fabricado por BD Japan), se pusieron 0,48 ml de la solución de suspensión por cada 20 g de semillas de maíz (variedad de cultivo: Kuromochi) y se agitó hasta que la solución se secó, mediante lo cual se revistieron las semillas. A modo de control, las semillas se revistieron con la solución de suspensión de blanco y se usaron como las semillas para un grupo no tratado.

Se sembraron dos semillas de maíz tratadas en la tierra de cultivo (AISAI) en cada maceta de plástico (55 mm de diámetro x 58 mm de altura) y se dejaron crecer durante 18 días en las siguientes condiciones: temperatura, 27 °C; iluminancia, aproximadamente 5000 lx; duración del día, 16 horas. Se midió el peso reciente de la parte por encima del suelo de las plantas. El experimento se llevó a cabo con cuatro duplicados para cada una de las condiciones de tratamiento y se calculó el peso medio por individuo.

Tabla 2

	Cantidad de compuesto (g/10 kg de semillas)	Peso medio fresco de la parte por encima del suelo (g)	Valor relativo (%)
Compuesto (1b)	0	4,2	100
	10	4,4	105
	12,5	4,4	105
	25	5,0	119
	50	4,5	107

Como resultado, el peso fresco de la parte por encima del suelo aumentó en el grupo tratado con el compuesto (1b) (dentro de una cantidad que varía de 10 g a 50 g por 100 kg de semillas), en comparación con el grupo de control.

Ejemplo de Ensayo 2

Se trataron por separado semillas de maíz (variedad de cultivo: Hughes 5813) con 25 µg o 125 µg de compuesto (1b) por cada semilla. La cantidad del compuesto requerida para el tratamiento se determinó mediante un cálculo que supuso 4000 granos por kg de semillas. Las semillas se revistieron usando la máquina de tratamiento de semillas HEGE11 (producida por Hans-Ulrich Hege). Todos los tratamientos de semillas incluyeron Maxim XL (0,167 onzas/100 libras), Thiram 42S (2,5 onzas/libra), y Cruiser (que contenía 0,25 mg/semilla de tiametoxam) y polímero CF-Clear con una concentración de 0,5 onzas/libra.

Las semillas tratadas se sembraron y se dejaron crecer durante 226 días, y las plantas de maíz se cosecharon para obtener los granos. El grupo en el que se sembraron las semillas tratadas de la misma forma excepto en que la solución de revestimiento no contenía el compuesto (1b) se usó como el grupo no tratado. Durante el ensayo, no se observó ninguna enfermedad que afectara al rendimiento en el grupo tratado con presente compuesto y en el grupo no tratado.

En comparación con el grupo no tratado, la cantidad de los granos cosechados en cada grupo tratado aumentó en un 11 % y un 9 %, respectivamente, en los grupos sembrados con las semillas tratadas con 25 µg y 125 µg de compuesto (1b).

Ejemplo de Ensayo 3

Cada una de las soluciones en dimetilsulfóxido (DMSO) concentradas 1000 veces de compuesto (1b) se diluyó 1000 veces con agua para preparar una solución de compuesto (1b) a la concentración de ensayo. La solución se dispensó en alícuotas de 30 ml en placas de Petri de 90 cm de diámetro, en las que se empaparon semillas de plantas de maíz (variedad de cultivo: Koshu) y se incubaron durante 16 horas a 24 °C en la oscuridad. Las semillas de maíz (variedad de cultivo: Koshu) se sembraron en tierra de cultivo (AISAI) en macetas de plástico (55 mm de diámetro x 58 mm de altura), y se dejaron crecer los plantones de maíz durante 18 días en las siguientes condiciones: temperatura, 27 °C; iluminancia, aproximadamente 5000 lx; duración del día, 16 horas. A modo de control, se preparó una solución acuosa de DMSO al 0,1 %, y las semillas se empaparon en esta solución y a continuación se sembraron y se dejaron crecer en plantones de la misma forma que se ha descrito anteriormente. Este grupo se usó como el grupo no tratado.

Se midió el peso fresco de la parte por encima del suelo de los plantones de maíz obtenidos. El experimento se llevó a cabo con cuatro duplicados para cada planta individual con cada una de las concentraciones de tratamiento y se calculó el peso medio por individuo.

Como resultado, el peso fresco de la parte por encima del suelo aumentó en el grupo tratado con el compuesto (1b) para una concentración de 3 ppm, en comparación con el grupo no tratado.

Tabla 3

	Concentración	Peso medio fresco de la parte por encima del suelo (g)
Compuesto (1b)	0 ppm (Grupo no tratado)	4,47
	3 ppm	6,60

Ejemplo de Ensayo 4

- 5 Se sembraron semillas de maíz (variedad de cultivo: DeKalb 61-69) a 33.684 semillas por acre y se dejaron crecer. Cada parcela en el campo para tratamiento midió 10 pies (3,05 m) de ancho y 15,5 pies (4,72 m) de altura. Los tratamientos se dispusieron usando el método de diseño en bloque completo randomizado con ocho duplicados para cada tratamiento. Los grupos tratados con la formulación sin compuesto (1b) se usaron como los grupos no tratados, en los que se cultivó el maíz de la misma forma que en los grupos tratados con el presente compuesto. La formulación fluida preparada como se ha descrito en el Ejemplo de Formulación 2 se aplicó mediante pulverización foliar 111 días después de la siembra, en la etapa de desarrollo R3 del maíz.

15 El porcentaje de hojas verdes entre las hojas superiores a la mazorca de maíz más inferior se determinó para cada grupo tratado con formulación 143 días después de la siembra, en la etapa de desarrollo R6 del maíz. Como resultado, los porcentajes fueron de un 41,3 % y un 45,6 % en promedio, respectivamente, en los grupos tratados con 100 g y 300 g por hectárea de compuesto (1b), mientras que el porcentaje fue de un 23,8 % en promedio en los grupos no tratados.

Ejemplo de Ensayo 5

- 20 Se sembraron semillas de colza oleaginosa (*Brassica napus*) y se dejaron crecer. En el día 253 después de la siembra, en la etapa de crecimiento 65, de acuerdo con la escala Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt y Chemical Industry (BBCH), la formulación fluida preparada como se ha descrito en el Ejemplo de Formulación 2 que contenía el compuesto (1b) se aplicó en una cantidad de 250 g por hectárea. Una parcela para el tratamiento midió 6 m x 10 m. Esta parcela fue el grupo tratado con el presente compuesto. Una parcela tratada con la formulación sin el compuesto (1b) se usó como el grupo no tratado, en el que las plantas se cultivaron de la misma forma que en el grupo tratado con el presente compuesto.

30 En el día 323 después de la siembra, cuando casi todas las plantas entraron en la etapa de crecimiento 85, de acuerdo con la escala BBCH, se examinó el porcentaje de vainas que permanecían verdes entre las vainas de las plantas y se determinó tanto en el grupo tratado con el presente compuesto como en el grupo no tratado.

35 Como resultado, el porcentaje de vainas verdes en el grupo tratado con el presente compuesto fue de un 22,25 %, mientras que fue de un 12,75 % en el grupo no tratado.

Ejemplo de Ensayo 6

- 40 Se preparó una solución de suspensión de blanco que contenía un 5 % (V/V) de revestimiento de color rojo (Becker Underwood, Inc.), un 5 % (V/V) de CF-Clear (Becker Underwood, Inc.) y un 0,4 % de Maxim XL (Syngenta). Se preparó una solución de suspensión por disolución del compuesto (1b) en la solución de suspensión de blanco de un modo tal que se aplicaran de 10 g a 50 g de compuesto (1b) a cada 100 kg de semillas de maíz (variedad de cultivo: Kuromochi). En un tubo de centrífuga de 50 ml (fabricado por BD Japan), se pusieron 0,48 ml de la solución de suspensión por cada 20 g de semillas de maíz (variedad de cultivo: Kuromochi) y se agitó hasta que la solución se secó, mediante lo cual se revistieron las semillas. Como control, se revistieron semillas con la solución de suspensión de blanco y se usaron para un grupo no tratado.

50 Se sembraron dos semillas de maíz tratadas en la tierra de cultivo (AISAI) en cada maceta de plástico (55 mm de diámetro x 58 mm de altura) y se dejaron crecer durante 4 días en las siguientes condiciones: temperatura, 27 °C; iluminancia, 5000 lx; duración del día, 16 horas. Estas se sometieron al ensayo.

55 Las macetas en el día 4 después de la siembra se pusieron en un fitotrón en las siguientes condiciones con el fin de exponer las plantas a un estrés por baja temperatura durante 7 días. Condiciones: "temperatura, 3 ± 2 °C; duración del día, 16 horas; y luminancia, aproximadamente 5000 lx; humedad, de un 35 a un 80 %".

60 Las plantas se dejaron crecer durante otros 7 días en las siguientes condiciones de temperatura: temperatura, 27 °C; humedad, de un 50 a un 75 %, iluminancia, aproximadamente 5000 lx; duración del día, 16 horas. A continuación, se midió el peso fresco de la parte por encima del suelo de las plantas. El experimento se llevó a cabo con cuatro duplicados para cada una de las condiciones de tratamiento y se calculó el peso medio por individuo.

Como resultado, también se observó un aumento en el peso fresco de la parte por encima del suelo en las plantas expuestas a estrés por baja temperatura en el grupo tratado con el compuesto (1b) (dentro de una cantidad que varía de 10 g a 50 g por 100 kg de semillas), en comparación con el grupo de control.

5

Tabla 4

	Cantidad de compuesto (g/10 kg de semillas)	Peso medio fresco de la parte por encima del suelo (g)	Valor relativo (%)
Compuesto (1b)	0	1,18	100
	10	1,33	113
	12,5	1,34	114
	25	1,30	110
	50	1,29	109

Ejemplo de Ensayo 7

En una placa de Petri, se sumergió una esponja hidropónica (1 cm x 1 cm x 0,2 cm) con media concentración de medio de Murashige y Skoog (medio de cultivo MS: que contiene MES 2,5 mM, sacarosa al 1 % y solución al 0,1 % de vitamina Gamborg G1019 (Sigma-Aldrich)). Sobre esta esponja, se sembraron de forma aséptica de 4 a 5 semillas de *Arabidopsis thaliana* (ecotipo Columbia). Después del tratamiento a baja temperatura (a 4 °C durante 2 a 4 días), las plantas se dejaron crecer durante 6 días en las siguientes condiciones para obtener plantones de *Arabidopsis*: temperatura, 23 °C, humedad, 45 %; iluminancia, 3500 lx, duración del día, 16 horas.

15

Se dispensaron cada 0,5 ml de media concentración de medio MS en una placa de 24 pocillos (SUMILON MS-80240; fabricada por Sumitomo Bakelite), a la que se añadieron 5 µl de una solución en DMSO concentrada 1000 veces del compuesto (1b) para preparar medio que contenía el compuesto (1b) a una concentración de 30 ppm. Después del adelgazamiento de los plantones de *Arabidopsis* a 2 plantas por esponja, los plantones se trasplantaron en el medio que contenía el compuesto (1b) a cada pocillo de la placa de 24 pocillos, junto con la esponja y a continuación se dejaron crecer durante una noche. Como control, se preparó media concentración de medio MS complementado con DMSO al 0,1 % y se usó como el grupo no tratado.

20

Posteriormente, la placa de 24 pocillos en la que se pusieron los plantones de *Arabidopsis* se cerró herméticamente con Parafilm, y se puso en un baño de agua a 45 °C durante 60 minutos para exponer las plantas a un estrés por alta temperatura.

25

Las plantas se dejaron crecer durante otros 8 días en las siguientes condiciones: temperatura, 23 °C; iluminancia, 3500 lx, duración del día, 16 horas. Cada pocillo se fotografió con una cámara digital y el área verde de la fotografía se midió usando el software de análisis de imagen Win ROOF (fabricado por MITANI CORPORATION), mediante el que se cuantifican las áreas de las hojas de las plantas.

30

Un día después de la exposición al estrés por alta temperatura, se midió la fluorescencia de clorofila (Fv/Fm) en cada pocillo usando un fluorómetro de clorofila de modulación de pulso (IMAGING-PAM; fabricado por WALZ).

35

Tabla 5

	Concentración	Área media de las hojas de las plantas
Compuesto (1b)	0 ppm (Grupo no tratado)	3,4 mm ²
	30 ppm	12,6 mm ²

Ejemplo de Ensayo 8

Se sembraron semillas de maíz (variedad de cultivo: PIONEER 31N27) en la tierra de cultivo (AISAI) en macetas de plástico (55 mm de diámetro x 58 mm de altura) y se hicieron crecer durante una semana en las siguientes condiciones para obtener plantones de maíz: temperatura, de 20 a 25 °C; humedad, de un 50 a un 75 %; iluminancia, aproximadamente 5000 lx; duración del día, 16 horas.

40

Se obtuvo una formulación fluida del compuesto (1b) por adición de 120 mg de una mezcla de carbón blanco y sal de amonio de polioxi-etileno alquil éter sulfato (proporción en peso de 1:1) y 300 µl de agua a 0,5 mg del compuesto (1b), seguido de molienda fina mediante un método de molienda por vía húmeda. Esta formulación fluida se diluyó con 50 ml de agua, a la que se añadió RINO (fabricado por NIHON NOHYAKU) como adherente con una dilución de 5000 veces, mediante lo cual se obtuvo una solución de pulverización. Se aplicó una cantidad suficiente de solución

45

de pulverización a los plántones de maíz mediante el uso de una máquina de pulverización automática. Como control, se preparó una formulación fluida sin el compuesto (1b) y a continuación se pulverizó al grupo no tratado.

Posteriormente, los plántones de maíz tratados con la solución de pulverización se pusieron en un fitotrópico en las siguientes condiciones con el fin de exponer las plantas a estrés por baja temperatura durante 5 días.

Condiciones: "temperatura, 2 ± 2 °C; horas de iluminación, 16 horas; iluminancia, aproximadamente 5000 lx; humedad, de un 35 a un 80 %".

A continuación, las plantas se dejaron crecer durante otros 4 días en las siguientes condiciones: temperatura, de 25 a 28 °C; humedad, de un 50 a un 75 %, iluminancia, aproximadamente 5000 lx; duración del día, 16 horas. A continuación se midió el peso fresco de la parte por encima del suelo de las plantas. El experimento se llevó a cabo con cuatro duplicados para cada una de las condiciones de tratamiento y se calculó el peso medio por individuo.

El peso fresco de la parte por encima del suelo aumentó en las plantas expuestas a estrés por baja temperatura en el grupo tratado con el compuesto (1b) (dentro del intervalo de concentración de 10 ppm a 100 ppm), en comparación con el grupo no tratado.

Tabla 6

	Concentración	Peso medio fresco de la parte por encima del suelo (g)
Compuesto (1b)	0 ppm (Grupo no tratado)	0,79
	10 ppm	0,89
	30 ppm	0,94
	100 ppm	0,90

Ejemplo de Ensayo 9

Cada una de las soluciones en dimetilsulfóxido (DMSO) concentradas 1000 veces de compuesto (1b) se diluyó 1000 veces con agua para preparar una solución de compuesto (1b) a la concentración de ensayo. La solución se dispensó en alícuotas de 30 ml en placas de Petri de 90 cm de diámetro, en las que se empaparon semillas de plantas de maíz (variedad de cultivo: Koshu) y se incubaron durante 16 horas a 24 °C en la oscuridad. Las semillas de maíz (variedad de cultivo: Koshu) se sembraron en tierra de cultivo (AISAI) en macetas de plástico (55 mm de diámetro x 58 mm de altura), y se dejaron crecer los plántones de maíz durante 4 días en las siguientes condiciones: temperatura, 27 °C; iluminancia, aproximadamente 5000 lx; duración del día, 16 horas. A modo de control, se preparó una solución acuosa de DMSO al 0,1 %, y las semillas se empaparon en esta solución y a continuación se sembraron y se dejaron crecer en plántones de la misma forma que se ha descrito anteriormente. Este grupo se usó como el grupo no tratado.

Los plántones de maíz se pusieron en un fitotrópico en las siguientes condiciones con el fin de exponer las plantas a estrés por baja temperatura durante 7 días.

Condiciones: "temperatura, 3 ± 2 °C; duración del día, 16 horas; iluminancia, aproximadamente 5000 lx; humedad, de un 35 a un 80 %".

A continuación, las plantas se dejaron crecer durante otros 7 días en las siguientes condiciones: temperatura, 27 °C; humedad, de un 50 a un 75 %, iluminancia, aproximadamente 5000 lx; duración del día, 16 horas. A continuación, se midió el peso fresco de la parte por encima del suelo de las plantas. El experimento se llevó a cabo con cuatro duplicados para cada planta individual con cada una de las concentraciones de tratamiento y se calculó el peso medio por individuo.

Como resultado, el peso fresco de la parte por encima del suelo aumentó en las plantas expuestas al estrés por baja temperatura en el grupo tratado con el compuesto (1b) dentro del intervalo de concentración de 3 ppm a 30 ppm, en comparación con el grupo no tratado.

Tabla 7

	Concentración	Peso medio fresco de la parte por encima del suelo (g)
Compuesto (1b)	0 ppm (Grupo no tratado)	1,18
	3 ppm	1,49
	10 ppm	2,25
	30 ppm	1,35

Ejemplo de Ensayo 10

Se sembraron semillas de albahaca (variedad de cultivo: Sweet Basil; Takii) en la tierra de cultivo (AISAI) en macetas de plástico (55 mm de diámetro x 58 mm de altura) y se dejaron crecer durante 24 días en las siguientes condiciones para obtener un plantón de albahaca por maceta: temperatura, 27 °C; humedad, de un 50 a un 75 %; iluminancia, aproximadamente 6000 lx; duración del día, 16 horas.

Se disolvió el compuesto (1b) en dimetilsulfóxido (DMSO) para obtener una solución en DMSO del compuesto (1b) a una concentración de 1000 veces con respecto a la concentración de ensayo. Esta solución en DMSO del compuesto (1b) se diluyó 1000 veces con agua. A continuación, se añadió Triton X-100 como tensioactivo a una concentración final de un 0,1 %. La solución de pulverización preparada de ese modo se aplicó en una cantidad suficiente (15 ml por 3 macetas) por medio de un pulverizador manual.

A modo de control, se preparó una solución de pulverización sin el compuesto (1b) y a continuación se pulverizó al grupo no tratado. Las plantas se dejaron crecer durante un periodo adicional de 1 día en las siguientes condiciones: temperatura, 27 °C; humedad, de un 50 a un 75 %; iluminancia, aproximadamente 6000 lx; duración del día, 16 horas.

Posteriormente, los plantones de albahaca se pusieron en un fitotrón en las siguientes condiciones, para exponer las plantas a estrés por baja temperatura. Condiciones: "temperatura, 3,0 °C; iluminancia, 800 lx; humedad, de un 50 a un 80 %".

Las plantas se dejaron crecer adicionalmente durante otros 2 días en las siguientes condiciones: temperatura, 27 °C; humedad, de un 50 a un 75 %, iluminancia, aproximadamente 6000 lx; duración del día, 16 horas.

El porcentaje del área de las hojas de las partes de las hojas verdaderas de los plantones de albahaca que sobrevivieron sin dañarse se puntuó como sigue a continuación: completamente muerto con un 0 % de área de hojas con supervivencia con respecto al área total de hojas: 0; supervivencia sin ningún daño con un 100 % de área de hojas con supervivencia con respecto al área total de hojas: 100; y se puntuó de 0 a 100 en incrementos de 1 mediante observación visual. Se promediaron las puntuaciones de tres plantas para determinar la puntuación de daño. La parte aérea de los plantones de albahaca se retiró para medir el peso fresco de la parte por encima del suelo. Se registró el peso medio de tres individuos como el peso fresco de la parte por encima del suelo.

Tabla 8

	Concentración	Peso fresco de la parte por encima del suelo (g)	Puntuación de daño
Grupo no tratado	0 ppm	0,34	17
Compuesto (1b)	10 ppm	0,62	30
	30 ppm	0,72	38
	100 ppm	0,92	81
	250 ppm	0,94	68

Ejemplo de Ensayo 11

Se sembraron semillas de colza oleaginosa (*Brassica napus*) a 5,5 kg de semillas por hectárea y se dejaron crecer. En el día 240 después de la siembra, en la etapa de crecimiento 63, de acuerdo con la escala Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt y Chemical Industry (BBCH), la formulación fluida preparada como se ha descrito en el Ejemplo de Formulación 2 que contenía el compuesto (1b) se aplicó en una cantidad de 250 g por hectárea. Un grupo para el tratamiento midió 2 m x 12 m. Este grupo fue el grupo tratado con el presente compuesto. Se usó un grupo tratado con la formulación sin el compuesto (1b) como el grupo no tratado, en el que las plantas se cultivaron de la misma forma que en el grupo tratado.

En el día 334 después de la siembra, se evaluó el rendimiento de las semillas. Como resultado, el rendimiento calculado suponiendo un contenido de agua de la semilla de un 9 % fue de 4,55 t/hectárea en el grupo tratado con el presente compuesto, mientras que fue de 4,25 t/hectárea en el grupo no tratado. Durante el ensayo, no se observó ninguna enfermedad que afectara al rendimiento en el grupo tratado con el presente compuesto o en el grupo no tratado.

Ejemplo de Ensayo 12

Se preparó una solución de suspensión de blanco que contenía un 5 % (V/V) de revestimiento de color rojo (Becker Underwood, Inc.), un 5 % (V/V) de CF-Clear (Becker Underwood, Inc.) y un 0,4 % de Maxim XL (Syngenta). Se

prepara una solución de suspensión por disolución del compuesto (1b) en la solución de suspensión de blanco de un modo tal que se aplicaran de 0,05 a 0,25 mg de compuesto (1b) por 1 g de semillas (variedad de cultivo: Apogee). Se usa una máquina de tratamiento de semillas HEGE11 (producida por Hans-Ulrich Hege) para mezclar 1,3 ml de la solución de suspensión por 50 g de semillas de trigo para revestir las semillas. A continuación, las semillas se secan. A modo de control, las semillas se revisten con la solución de suspensión de blanco y se usan para un grupo no tratado. Se siembran cinco semillas de trigo revestidas en la tierra de cultivo (AISAI) en cada maceta de plástico (55 mm de diámetro x 58 mm de altura) y se dejan crecer durante 3 semanas a 18 °C. Las plantas se adelgazan para seleccionar 3 plantones que muestren un buen crecimiento.

En la semana 3 después de la siembra, los plantones se dejan crecer durante 7 días en las siguientes condiciones para exponer las plantas a estrés por alta temperatura: temperatura, 36 °C (día)/32 °C (noche), humedad, de un 60 a un 70 %; iluminancia, aproximadamente 6000 lx; duración del día, 12 horas. Después de la exposición al estrés por alta temperatura, las plantas se dejan crecer durante una semana en unas condiciones de una temperatura de 18 °C, una iluminancia de aproximadamente 6000 lx y una duración del día de 16 horas. Se examina el peso fresco de la parte por encima del suelo de las plantas de ensayo con 8 duplicados de 3 plantones/maceta.

Ejemplo de Ensayo 13

Se siembran semillas de maíz (variedad de cultivo: PIONEER 120 31P41) en la tierra de cultivo (AISAI) en macetas de plástico (55 mm de diámetro x 58 mm de altura) y se dejan crecer durante 7 días en las siguientes condiciones: temperatura, de 20 a 25 °C; humedad, de un 50 a un 75 %; iluminancia, aproximadamente 5000 lx; duración del día, 16 horas.

Se diluye una solución en DMSO del compuesto (1b) hasta una concentración de 1000 veces con respecto a cada concentración de ensayo con agua destilada para preparar una solución de ensayo. Se aplican veinte (20) ml de la solución de ensayo obtenida alrededor de la base de cada planta por irrigación del suelo, y a continuación las plantas se dejan crecer durante dos días en las siguientes condiciones: temperatura, 27 °C, humedad, de un 50 a un 75 %; iluminancia, aproximadamente 5000 lx; duración del día, 16 horas. Este grupo es el grupo tratado con el presente compuesto. El grupo al que se aplican 20 ml de una solución acuosa al 0,1 % de DMSO mediante irrigación del suelo en lugar de la solución en DMSO del compuesto (1b) se usa como el grupo no tratado.

Las plantas sometidas a la irrigación del suelo se dejan crecer durante 5 días en las siguientes condiciones, para exponer las plantas a estrés por baja temperatura: temperatura, de 2 a 4 °C; humedad, de un 40 a un 70 %, iluminancia, aproximadamente 5000 lx; duración del día, 16 horas en un fitotrón. Después de la exposición al estrés por baja temperatura, las plantas se dejan crecer durante 4 días en unas condiciones de una temperatura de 20 a 25 °C, una humedad de un 50 a un 75 %, una iluminancia de aproximadamente 5000 lx, y una duración del día de 16 horas. A continuación se miden el peso de la planta y la longitud de las hojas verdaderas. Además, después de la exposición a estrés por baja temperatura, las plantas se dejan crecer durante 1 día en unas condiciones de una temperatura de 20 a 25 °C, una humedad de un 50 a un 75 %, una iluminancia de aproximadamente 5000 lx, y una duración del día de 16 horas. A continuación, se mide la fluorescencia de clorofila (Fv/Fm) usando un fluorómetro de clorofila de modulación de pulso (MAXI-IMAGING-PAM, WALZ). El contenido de clorofila se mide usando un patrón de clorofila (SPAD-502; fabricado por KONICA MINOLTA).

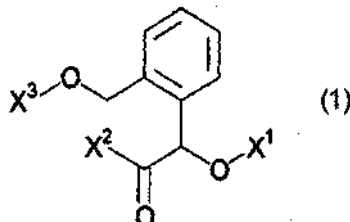
En comparación con el grupo no tratado, la longitud de las hojas verdaderas y el peso de la planta aumentan en los grupos tratados con el presente compuesto, y se observa una estimulación del crecimiento de las partes aéreas de las plantas. Además, en comparación con el grupo no tratado, se observan aumentos en la fluorescencia de clorofila y el contenido de clorofila en los grupos tratados con el presente compuesto.

Aplicabilidad industrial

El uso del método de la presente invención permite una estimulación eficaz del crecimiento de las plantas.

REIVINDICACIONES

1. Método para estimular el crecimiento de una planta, que comprende tratar la planta con una cantidad eficaz de un compuesto representado por la siguiente fórmula (1):



en la que X^1 representa un grupo metilo, un grupo difluorometilo o un grupo etilo; X^2 representa un grupo metoxi o un grupo metilamino; y X^3 representa un grupo fenilo, un grupo 2-metilfenilo o un grupo 2,5-dimetilfenilo.

2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la planta se ha expuesto o se va a exponer a un estrés abiótico.

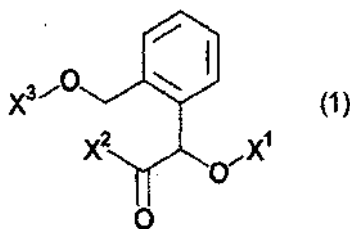
3. El método de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, en el que el compuesto representado por la fórmula (1) es un compuesto seleccionado entre el siguiente grupo A de compuestos:
<Grupo A de compuestos>

- (1) N-metil-2-[2-(2,5-dimetilfenoxi)metil]fenil-2-metoxiacetamida, y
- (2) N-metil-2-[2-(2,5-dimetilfenoxi)metil]fenil-(2R)-2-metoxiacetamida.

4. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el tratamiento de la planta es tratamiento por pulverización, tratamiento del suelo, tratamiento de las semillas o tratamiento hidropónico.

5. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el tratamiento de la planta es tratamiento de las semillas.

6. El método de acuerdo con la reivindicación 5, en el que el tratamiento de las semillas es tratar las semillas con 10 g o más y 50 g o menos, por 100 kg de semillas, de un compuesto representado por la siguiente fórmula (1):



en la que X^1 representa un grupo metilo, un grupo difluorometilo o un grupo etilo; X^2 representa un grupo metoxi o un grupo metilamino; y X^3 representa un grupo fenilo, un grupo 2-metilfenilo o un grupo 2,5-dimetilfenilo.

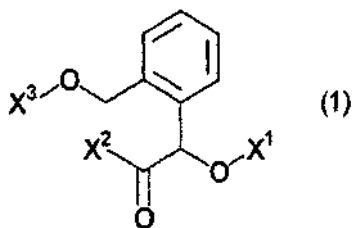
7. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que la planta es arroz, maíz, colza oleaginosa, trigo, albahaca, soja, sorgo o judía común.

8. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que la planta es una planta transgénica.

9. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que el estrés abiótico es estrés por alta temperatura.

10. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que el estrés abiótico es estrés por baja temperatura.

11. Uso de un compuesto representado por la siguiente fórmula (1):



- 5 en la que X^1 representa un grupo metilo, un grupo difluorometilo o un grupo etilo; X^2 representa un grupo metoxi o un grupo metilamino; y X^3 representa un grupo fenilo, un grupo 2-metilfenilo o un grupo 2,5-dimetilfenilo; para estimular el crecimiento de una planta.