

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 773 979**

51 Int. Cl.:

C05F 11/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.08.2014 PCT/FR2014/052123**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.03.2016 WO16030584**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.08.2014 E 14789312 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.12.2019 EP 3186213**

54 Título: **Uso de un extracto de planta para promover el desarrollo vegetal o radicular y procedimiento de aceleración del desarrollo de una planta**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
15.07.2020

73 Titular/es:

**MARTINEZ-BARBREAU, CHRISTELLE (100.0%)
Les Glabaredes
34270 Cazevieille, FR**

72 Inventor/es:

MARTINEZ-BARBREAU, CHRISTELLE

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 773 979 T3

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

DESCRIPCIÓN

Uso de un extracto de planta para promover el desarrollo vegetal o radicular y procedimiento de aceleración del desarrollo de una planta

Campo técnico de la invención

- 5 La presente invención se refiere a un bioestimulante, un uso de un extracto obtenido por extracción acuosa de al menos una parte de la planta de rúcula, por ejemplo del género *Eruca* (*Eruca sativa*; *Eruca vesicaria*,...), *Diplotaxis* (*Diplotaxis eruroides*, *Diplotaxis tenuifolia*, *Diplotaxis muralis*...), *Bunias* (*Bunias erucago*, *Bunias orientalis*,...) *Erucastrum* (*Erucastrum nasturtiifolium*, *Erucastrum incanum*...) o *Cakile* (*Cakile maritima*...) para promover el desarrollo vegetal o el desarrollo radicular y un método de aceleración del desarrollo de una planta.
- 10 La presente invención se aplica, en particular, para promover el desarrollo vegetal (aumento de la biomasa de las plantas en sentido general, y/o aumento del tamaño de las plantas, y/o aumento del tamaño de los frutos, y/o peso de los frutos), así como a la precocidad del desarrollo vegetal (floración temprana y/o la aparición de frutos, y/o etapas fisiológicas en general). La presente invención se aplica a la agricultura en general, jardinería, horticultura, arboricultura, etc.
- 15 La utilidad del producto resultante de la invención también se ha demostrado en condiciones de estrés para las plantas (ejemplo de estrés hídrico, etc.).

Estado de la técnica

Desde el final de la Segunda Guerra Mundial, la industria mundial de los plaguicidas ha sido uno de los principales factores que intervienen en el crecimiento de la productividad agrícola en el mundo.

- 20 Desde principios de la década de 1990, se asiste al cuestionamiento creciente del uso intensivo de productos químicos usados en la agricultura, tanto por el público en general como por las comunidades científicas. Surgen así serias preocupaciones relativas a los efectos a largo plazo de los productos usados en el medio ambiente: efectos en especies animales que no son objetivo, en sistemas acuáticos, y también en la cantidad de residuos en los productos tratados (frutas, hortalizas) a los que los consumidores van a estar expuestos.
- 25 Se plantea entonces también el problema de la exposición directa de los usuarios (agricultores) que van a estar en contacto directo durante años con los productos agrícolas cuyos efectos tóxicos a largo plazo no siempre se conocen.
Se observa así en los mercados en los que se desarrolla la economía, una demanda creciente de los alimentos llamados "biológicos" por parte de los consumidores.
- 30 Paralelamente a esta creciente conciencia y a este cambio en ciertas prácticas agrícolas, los ministerios de diferentes países europeos e incluso de todo el mundo inician una política seria de "reducción de los insumos químicos", con una vasta campaña de información y sensibilización sobre la necesidad de dejar de usar productos químicos de manera abusiva.
Paralelamente, se observa un fenómeno de "retirada del mercado" de ciertos productos químicos por parte de las autoridades europeas, debido a su toxicidad reconocida. Cabe señalar entonces que las moléculas retiradas a menudo no son reemplazadas por ninguna otra, dejando algunos problemas fitosanitarios sin respuestas ...
- 35 Un problema muy grave se refiere a toda la familia de productos fertilizantes, abonos, usados también de manera abusiva con el objetivo de aumentar, siempre más, los niveles de producción... El uso de los fertilizantes implica pues dos tipos de consecuencias que pueden implicar riesgos sanitarios (afecta a la salud humana) o riesgos ambientales (daños a los ecosistemas). El riesgo sanitario más conocido es el relativo al consumo de agua rica en nitrato (fertilización de nitrógeno) por el lactante.
- 40 El riesgo ambiental más citado es el de la contaminación del agua potable o la eutrofización del agua, cuando los fertilizantes, orgánicos o minerales, se extienden en cantidades demasiado grandes con respecto a las necesidades de las plantas y a la capacidad de retención de los suelos, y que los elementos solubles son arrastrados a la capa freática por infiltración, o a las corrientes de agua por escorrentía.
- 45 De forma más general, las consecuencias del uso intensivo de fertilizantes, que pueden implicar riesgos y están sujetos a críticas, son las siguientes: efectos sobre la calidad del suelo, su fertilidad, su estructura, el humus y la actividad biológica; efectos sobre la erosión; efectos relacionados con el ciclo del nitrógeno y la toxicidad de los nitratos; efectos relacionados con el ciclo del fósforo; efectos relacionados con la presencia de metales pesados (cadmio, arsénico, flúor), eutrofización de aguas dulces y marinas; contaminación emitida por la industria de fertilizantes ...
- 50 Los bioestimulantes son parte de una variedad de nuevos productos emergentes cuyo interés es promover una agricultura sostenible y segura. Esta nueva familia de productos debería permitir reducir el uso de insumos y fertilizantes convencionales, y por lo tanto reducir el impacto de los tratamientos agrícolas en el medio ambiente.

Con el objetivo de reemplazar el uso intensivo de fertilizantes contaminantes, un bioestimulante, aplicado en la planta o en la rizosfera, debe tener un impacto positivo en el crecimiento de una planta, permitiendo: o una mejor asimilación de nutrientes (actuando, por ejemplo, sobre el desarrollo del sistema radicular) favoreciendo así la eficacia de la nutrición, o una mejor resistencia a estreses abióticos, o una mejora en la calidad de la cosecha, independientemente de una función fertilizante. Se debe estimular el metabolismo de la planta con el fin de que esta pueda optimizar el uso de los recursos a su alcance, en lugar de proporcionarle un aporte intensivo de fertilizantes.

Entre los productos existentes en el mercado, se conocen varias categorías de bioestimulantes: el uso de inóculo microbiano (IM) es una práctica que ha tenido un interés creciente en los últimos diez años (Hayat, et al. 2010). Estos productos contienen microorganismos vivos que, cuando se aplican a las semillas, a las plantas o al suelo durante la germinación, contribuyen al desarrollo de las plantas. Los IM pueden contener microorganismos vivos de tipo bacterianos, fúngicos u hongos micorrízicos arbusculares (AMF, por sus siglas en inglés *Arbuscular mycorrhizal fungi*) (Vessey, 2003; Adesemoye y Kloepper, 2009; Berg, 2009) que se pueden aislar del suelo, de residuos de plantas (o de plantas vivas), del agua o también del estiércol compostado, etc. Entre los bioestimulantes que se han estudiado ampliamente se encuentran las bacterias del suelo (bacterias promotoras del crecimiento vegetal, PGPB (por sus siglas en inglés, *Plant growth-promoting bacteria*)) y las rizobacterias (rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal, PGPR (por sus siglas en inglés *Plant growth-promoting rhizobacteria*)) que promueven el crecimiento de las plantas. Todas estas formas de bacterias se han aislado de la rizosfera (Bashan et al., 2014).

También se conocen las sustancias húmicas (SH). En el suelo, las HS pueden tener varias funciones, tales como la mejora de la disponibilidad de elementos nutritivos. Además de estas funciones, las SH pueden inducir cambios en la fisiología de la planta y la composición de microorganismos de la rizosfera (Varanini y Pinton, 2000). La actividad de estas sustancias depende en gran medida de sus características estructurales (Berbara y García, 2014).

Se ha registrado estimulación del desarrollo y la tolerancia a diferentes estreses bióticos y abióticos en plantas después de su tratamiento con productos basados en hidrolizados de proteínas y aminoácidos libres. Este efecto estimulante y protector no parece ser la consecuencia de una mejor alimentación nitrogenada (Ertani et al., 2009). Los bioestimulantes basados en proteínas se pueden clasificar en dos grandes categorías: (i) hidrolizados de proteínas (HP), constituidos por péptidos o aminoácidos de origen animal o vegetal, y (ii) aminoácidos libres (AAL) tales como glutamato, glutamina, prolina y glicina.

Las algas marinas también se han usado durante mucho tiempo para mejorar la fertilidad del suelo y aumentar la productividad de los grandes cultivos (Craigie, 2011). Después del desarrollo de procedimientos técnicos de extracción líquida en los años cincuenta (Milton, 1952), se comercializa una gran variedad de productos de extractos de algas (EA) en todo el mundo y sirven de insumo para la agricultura (Craigie, 2011). Inicialmente, estos extractos se describieron como quelantes que mejoran el uso de elementos minerales y la aireación del suelo (Milton, 1964). Hoy en día, los extractos de algas son conocidos por sus funciones bioestimulantes en la activación de varios procesos tales como la germinación, el crecimiento vegetativo, la floración y la respuesta al estrés biótico y abiótico, lo cual mejora los rendimientos y el desarrollo de la cosecha (Norrie y Keathley, 2005; Mancuso et al. 2006; Hong et al. 2007; Rayorath et al. 2008; Craigie, 2011; Mattner, et al., 2013). En el mercado, una gran proporción de EA se fabrica a partir de algas (marinas) pardas tales como *Ascophyllum nodosum*, *Fucus*, *Laminaria*, *Sargassum* y *Turbinaria* spp. (Hong et al. 2007; Sharma et al. 2012). A menudo usadas en dosis bajas (diluidas 1:1000 o más) en la agricultura, muchos científicos descartan un efecto fertilizante (Khan et al., 2009).

Los extractos de algas pueden contener un amplio espectro de moléculas orgánicas, de minerales e incluir complejos de polisacáridos ausentes en las plantas terrestres como laminarina, fucoidan, alginatos y hormonas (Rioux et al., 2007, Khan et al., 2009). Los fertilizantes verdes basados en plantas del género *Eruca sativa* ya se han descrito, en particular por Koron Darinka et al: "Effects of non-chemical soil fumigant treatments on root colonisation with arbuscular mycorrhizal fungi and strawberry fruit production", CROP PROTECTION, vol. 55, páginas 35-41, ISSN: 0261-2194, DOI: 10.1016/J.CROPRO.2013.09.009, por Anvers et al.: "Biological control of soil nematodes associated with linseed", CABA o en la publicación WO 2004/017739 A1.

Además, también se han estudiado los extractos vegetales obtenidos por extracción de plantas del género *Eruca sativa* en medicina, por Helana Naguib Michael et al.: "Studies on the chemical constituents of fresh leaf of *Eruca sativa* extract and its biological activity as anticancer agent in vitro", Journal of Medicinal Plant Research, Academic Journals, Ng, vol. 5, no. 7, 4 de abril 2011 (2011-04-04), páginas 1184-1191, ISSN: 1996-0875.

Por el contrario, se conocen muy pocos extractos vegetales para actuar como bioestimulantes o estimuladores del desarrollo de las plantas, así como de su sistema radicular.

Objeto de la invención

La presente invención tiene por objeto encontrar una solución eficaz para estimular el crecimiento de las plantas y su desarrollo radicular, gracias a un extracto vegetal basado en plantas del género *Eruca*, que no presenta ningún perfil toxicológico de riesgo, y respeta el medio ambiente y todas las formas de vida.

Para este fin, según un primer aspecto, la presente invención se dirige a un bioestimulante objeto de la reivindicación 1, un uso de un extracto objeto de la reivindicación 9 y a un procedimiento de aceleración del desarrollo de una planta objeto de la reivindicación 10.

5 Se recuerda aquí que la rúcula ("*Eruca sativa*") es una planta anual de la familia Brassicaceae (o crucíferas), con flores blancas o amarillentas veteadas de marrón o moradas, cuyas hojas son generalmente alargadas, recortadas y dentadas, y tienen un sabor picante y de pimienta. Según las regiones, también se llama también rúgula, arúgula, roqueta u oruga blanca. La oruga blanca es una forma silvestre de la rúcula con hojas pequeñas y muy sabrosas. Otras plantas cercanas, del género *Diplotaxis*, llevan el nombre de rúcula. Cuando es necesario diferenciarlas, las *Diplotaxis* se llaman "rúcula silvestre" y las *Eruca* "rúcula doméstica". La presente invención no se limita a estas
10 especies de rúculas y se extiende más allá de *Eruca sativa*. La descripción de la rúcula también puede diferir dependiendo de su origen y de las regiones. Se observa que los nombres comunes de las plantas rúcula también incluyen ruca y arúgula.

Preferiblemente, la rúcula implementada por la presente invención es del género *Eruca* (*Eruca sativa*; *Eruca vesicaria*...), *Diplotaxis* (*Diplotaxis eruroides*, *Diplotaxis tenuifolia*, *Diplotaxis muralis*...), *Bunias* (*Bunias erucago*, *Bunias orientalis*...) o *Erucastrum* (*Erucastrum nasturtiifolium*, *Erucastrum incanum*...), o también *Cakile* (*Cakile maritima*...). En el sentido de la presente invención, la rúcula comprende el conjunto de estas plantas, opcionalmente mezcladas. Estas plantas de rúcula mencionadas forman parte del orden de Capparales y forman parte de la familia
15 Brassicaceae...

También se recuerda que el ingrediente activo, o la sustancia activa, de un producto para promover el desarrollo de una planta es el conjunto de ingredientes de este producto que tienen un efecto favorable en el desarrollo de una
20 planta.

El desarrollo vegetal implica el crecimiento vegetal, incluido el radicular y la precocidad de la planta considerada.

El crecimiento vegetal, de una planta es el conjunto de cambios cuantitativos irreversibles de la planta que ocurren con el transcurso del tiempo. El crecimiento es un dato que se puede expresar en unidad de longitud por unidad de
25 tiempo o en unidad de masa por unidad de tiempo. El crecimiento comprende en particular el alargamiento de los entrenudos y las raíces, la multiplicación de las células y/o su alargamiento, así como el crecimiento de las hojas.

La precocidad es el hecho de que un organismo vivo alcance su estado de madurez más rápidamente que el promedio de la especie en las mismas condiciones (estaciones, parámetros medioambientales, etc.). En las plantas, la precocidad inducida por el uso de triturado objeto de la presente invención se puede medir/cuantificar observando la
30 aparición de las diferentes etapas fisiológicas (primeras hojas, primeras flores, primeros frutos, etc.) de las plantas tratadas, en comparación con las etapas fisiológicas de plantas de la misma especie no tratadas mediante el uso de triturado objeto de la invención.

La estimulación del desarrollo radicular se caracteriza por una modificación del sistema radicular (acortamiento o alargamiento de la raíz primaria, acortamiento o alargamiento de las raíces secundarias, aparición de pelos
35 absorbentes, etc.). Esta estimulación por el uso del triturado objeto de la presente invención se puede medir por comparación del sistema radicular de plantas tratadas y no tratadas.

Dicha composición puede consistir en un extracto total bruto obtenido por extracción de la planta del género *Eruca*, en una fracción enriquecida en el(los) compuesto(s) activo(s) de dicho extracto total, o en uno o una pluralidad de compuestos activos en una mezcla. Dicha composición permite ventajosamente, cuando está presente en una
40 cantidad eficaz, acelerar el desarrollo vegetal, en particular de lechugas, hortalizas y otras plantas destinadas a la alimentación humana o animal, así como plantas ornamentales, árboles o arbustos.

En realizaciones, al menos un ingrediente activo se obtiene a partir de hojas de plantas de género de la rúcula.

Los autores de la invención han descubierto que las hojas de plantas de género de la rúcula contenían ingredientes activos particularmente eficaces para promover el desarrollo vegetal.

45 En realizaciones, al menos un ingrediente activo se obtiene a partir de semillas de plantas de género de la rúcula.

En realizaciones, al menos un ingrediente activo se obtiene a partir de flores de plantas de género de la rúcula.

En realizaciones, al menos un ingrediente activo se obtiene por trituración de al menos una parte de plantas de género de la rúcula.

50 En realizaciones, el ingrediente activo se obtiene por extracción acuosa, extracción de tortas o pastas. Se recuerda en la presente memoria que las tortas son los residuos sólidos obtenidos después de extracción del aceite de semillas o frutos oleaginosos.

En realizaciones, la composición objeto de la presente invención se formula en forma de polvo, en gránulos, en gránulos dispersables o en gránulos de difusión lenta.

En realizaciones, la composición objeto de la presente invención se formula en forma líquida.

Según un segundo aspecto, la presente invención se dirige a un uso de una composición objeto de la presente invención para promover el desarrollo vegetal o la estimulación del desarrollo radicular.

5 Según un tercer aspecto, la presente invención se dirige a un procedimiento de aceleración del desarrollo de una planta, que comprende la aplicación en dicha planta de una composición objeto de la presente invención.

En realizaciones, la aplicación en la planta se hace por pulverización foliar, riego del suelo, goteo, uso de cultivos hidropónicos, tratamiento de semillas y/o recubrimiento de semillas.

10 Según un cuarto aspecto, la presente invención se dirige a un procedimiento de producción de composición que comprende una etapa de trituración de al menos una parte de plantas de género de la rúcula para proporcionar un triturado y filtración de las partes sólidas de dicho triturado para obtener un líquido.

Dado que las ventajas, objetivos y características particulares de este uso y de estos procedimientos son similares a los de la composición objeto de la presente invención, no se recuerdan aquí.

Breve descripción de las figuras

15 Otras ventajas, objetivos y características de la presente invención surgirán de la siguiente descripción, con un propósito explicativo y no limitante con referencia a los dibujos adjuntos, en los que:

- la figura 1 representa, en forma de diagrama de flujo, las etapas de una realización particular del procedimiento de fabricación y uso del triturado objeto de la presente invención y

- las figuras 2 a 10 representan, en forma de gráficas, comparaciones de resultados obtenidos con el uso del triturado objeto de la presente invención,

20 - las figuras 11 a 19 representan, en forma de fotografías, raíces de plantas tratadas sin y con el uso del triturado objeto de la presente invención,

- la figura 20 representa, en forma de diagrama temporal, un desarrollo de ensayo del uso y el procedimiento objetos de la presente invención en el maíz,

25 - la figuras 21 y 22 representan, en forma de tablas, mediciones de diferentes parámetros ecofisiológicos durante el uso y el procedimiento objetos de la presente invención y

- las figuras 23A a 23F representan, en forma de fotografías, raíces de plantas tratadas con el uso y el procedimiento objetos de la presente invención.

Descripción de ejemplos de realización de la invención

30 De forma general, la presente invención se refiere al uso de triturados de al menos una parte de plantas de "rúcula" para:

- la estimulación del desarrollo radicular de las plantas,

- la estimulación del crecimiento vegetal,

- la precocidad del desarrollo vegetal,

- el aumento de la producción de flores y/o semillas, y/o frutos y/o

35 - la resistencia de las plantas sometidas a un estrés hídrico.

El extracto o triturado, que sirve para proporcionar el bioestimulante objeto de la presente invención, se puede usar por pulverización foliar o riego del suelo.

40 Como se ilustra en la figura 1, el procedimiento de fabricación y uso del triturado objeto de la presente invención comprende una etapa 105 de extracción de un extracto de rúcula. Por ejemplo, esta extracción se realiza según el siguiente procedimiento:

- durante una etapa de trituración 110, las hojas de rúcula se Trituran finamente con agua corriente, durante quince minutos, en un mezclador adecuado, para obtener un triturado homogéneo;

- durante una etapa de filtrado 115, el triturado se filtra con el fin de separar los restos de hojas y obtener un líquido de color verde sin residuos de hojas, que constituye un triturado usado como bioestimulante.

45 Al menos un ingrediente activo del triturado se obtiene por extracción acuosa.

Alternativamente, al menos un ingrediente activo del triturado se obtiene por extracción de tortas o pastas de rúcula.

Para el uso de este triturado, durante una etapa 120, este triturado líquido se pulveriza a nivel foliar sobre las plantas que se van a tratar o usar para regar el suelo.

5 Los autores de la invención han descubierto, en efecto, que el uso del triturado tiene un efecto significativo en el desarrollo de las plantas.

Se observa que el triturado líquido obtenido al final de la etapa 115 se puede formular para facilitar su uso. Por ejemplo, se usa en forma líquida, de polvo, en gránulos, en gránulos dispersables o en gránulos de difusión lenta, dependiendo de la formulación elegida y de los usos previstos. Las formulaciones se hacen a partir del triturado de la etapa de extracción 105.

10 Opcionalmente puede tener lugar una purificación, de cualquier forma, de las fracciones activas para facilitar la formulación. Se pueden añadir diferentes etapas de extracción para mejorar su calidad.

El triturado se puede diluir en agua dependiendo de la dosis requerida en el momento de usar.

15 En lo que se refiere al uso y la formulación del triturado, el producto terminado, o bioestimulante, que se forma a partir de este triturado, se puede aplicar en cualquier forma (formulación líquida, polvo, polvo soluble, en gránulos, en gránulos dispersables, en gránulos de dispersión lenta, etc.) según los usos y la formulación elegida. El uso del triturado objeto de la presente invención se puede hacer por pulverización foliar, riego del suelo, goteo, uso en cultivos hidropónicos, o también en tratamiento de semillas, recubrimiento de semillas, etc.

20 El triturado se puede usar con una frecuencia comprendida entre un día y ciento veinte días, o de manera continua, o según las etapas clave del desarrollo de la planta, de acuerdo con las buenas prácticas agrícolas y los calendarios de tratamiento para cada especie vegetal. El triturado se puede mezclar con otros productos (productos fitosanitarios, sustratos de cultivo y materia fertilizante, abono o cualquier otro producto destinado a la agricultura). Las dosis de aplicación y las frecuencias de aplicación se adecúan a los usos y modelos vegetales. Las dosis de aplicación están comprendidas, por ejemplo, entre 0.01 g/l y 12 g/l.

25 El triturado se puede usar como estimulador del crecimiento radicular y para estimular el desarrollo vegetal. El triturado, usado en el riego del suelo o por pulverización foliar o en el tratamiento de semillas, o el recubrimiento de semillas, permite aumentar el desarrollo radicular (desarrollo de raíces secundarias, producción de pelos absorbentes, etc.) y estimula el desarrollo de la planta (aumento del número de frutos, así como de su tamaño, precocidad de cosecha, aumento del crecimiento foliar, etc.).

30 A continuación, se proporcionan elementos de demostración de la eficacia de la composición objeto de la presente invención.

35 Tratamientos estadísticos de los datos: se realizó un análisis de varianza en los resultados de cada evaluación. Para cada evaluación, los análisis se realizaron sin el testigo incluido. Cuando se respetan las hipótesis del análisis de varianza, se realiza una comparación de las medias según la prueba de Newman y Keuls en el umbral del 5%. La clasificación resultante de esta prueba se presenta con los resultados en forma de letras (a, b, c). Las medias seguidas de la misma letra no son diferentes, de forma significativa.

1/ Tomate

40 El producto terminado derivado del triturado de rúcula (*Eruca sativa*), aplicado con una frecuencia de diez días, permite aumentar significativamente el número de tomates por planta, así como el peso total de la cosecha. El uso del triturado objeto de la presente invención (aquí codificado "FERTI01") es más eficaz que el uso de la referencia elegida, Osiry!, marca registrada, estimulador del crecimiento radicular, aprobado en Francia con el número de AMM nº 1030003, llamado, en lo sucesivo, la referencia.

Para el tomate, los modos de aplicación incluyen regar el suelo usando una formulación líquida. La Tabla 1 representa la eficiencia del uso del triturado objeto de la presente invención en el tomate, para una planta testigo, una planta tratada con la referencia.

45 Tabla 1: Eficacia en el tomate (20 plantas/modalidad)

Cultivo	Evaluación	Fechas	Testigo	Referencia	FERTI 01
Tomate <i>Lycopersicon esculentums</i> MILL.	Número medio de tomates por planta a lo largo de la cosecha	Recogidos del 02/07/11 al 30/07/11	9a	11.25 ab	14.50 b
	Peso total de la cosecha (kg) por modalidad		25.65 a	31.75 ab	43.80b

La figura 2 ilustra el número medio de tomates por planta, por modalidad, resultante de la Tabla 1. Se observa el número medio de tomates por planta testigo, 205, el número medio de tomates por planta tratada con la referencia, 210 y el número medio de tomates por planta tratada con el producto terminado derivado del triturado, 215.

5 La figura 3 ilustra el peso total (en kg) de tomates recolectados por modalidad a lo largo de la duración de la cosecha, resultante de la tabla 1. Se observa el peso total de tomates recolectados en la modalidad de plantas testigo, 220, el peso total de tomates recolectados en la modalidad de plantas tratadas con la referencia, 225 y el peso total de tomates recolectados en la modalidad de plantas tratadas con el producto terminado derivado del triturado, 230.

10 En las condiciones experimentales, se ha demostrado así la eficacia del uso del triturado objeto de la presente invención en el tomate, en comparación con el producto de referencia aprobado en Francia que es estimulador del crecimiento radicular.

Para este ensayo, se realizaron siete aplicaciones, con intervalos de diez días. Se anotaron las observaciones de los tomates recolectados, en un período de cosecha de 28 días.

15 Los resultados muestran que el número medio de tomates por planta de las parcelas tratadas usando el triturado objeto de la presente invención (14.50 tomates/planta) es mayor en comparación con el número medio de tomates por planta en las parcelas no tratadas o tratadas con la referencia (9 y 11.25 tomates/planta, respectivamente) (tabla 1 y figura 2).

20 Las observaciones también muestran que el peso total de la cosecha de las parcelas tratadas usando el triturado de la presente invención (43.80 kg) es mayor en comparación con el peso total de la cosecha en las parcelas no tratadas y tratadas con la referencia (25.65 y 31.75 kg, respectivamente) (tabla 1 y figura 3).

Siete aplicaciones, con intervalos de diez días, del producto terminado derivado del triturado permiten aumentar significativamente el número de tomates por planta, así como el peso total de la cosecha de plantas de tomate tratadas.

Finalmente, se observa que los resultados de este ensayo se obtuvieron durante un período corto de cosecha (28 días).

25 2/ Lechuga

El producto terminado derivado del triturado de rúcula (*Eruca sativa*) (aquí codificado "FERTI01"), aplicado con una frecuencia de diez días, permite aumentar significativamente los diámetros de las lechugas, así como el peso de las lechugas tratadas. El uso del triturado objeto de la presente invención es estadísticamente más eficaz que el uso de la referencia Osiryl, citada antes.

30 Para la lechuga, los modos de aplicación del producto terminado derivado del triturado incluyen regar el suelo usando una formulación líquida. La Tabla 2 representa la eficiencia del uso del triturado objeto de la presente invención en la lechuga, para una planta testigo, una planta tratada con la referencia, y la lechuga tratada mediante usando el triturado objeto de la presente invención.

Tabla 2: Eficacia en la lechuga (10 plantas/modalidad)

Cultivo	Evaluación	Fechas	Testigo	Referencia	FERTI 01
Lechuga <i>Lactuca sativa</i>	Diámetro medio de las lechugas (cm)	En la cosecha: 12/03/11	20.1 a	21.2 a	25.33 b
	Peso medio de las lechugas (g)		280.5 a	283.1 a	295.3 b

35 La figura 4 ilustra el diámetro medio de las lechugas, por modalidad, resultado de la tabla 2. Se observa el diámetro medio de las lechugas testigo, 300, el diámetro medio de las lechugas tratadas con la referencia, 305 y el diámetro medio de las lechugas tratada usando el triturado objeto de la presente invención, 310.

40 La figura 5 ilustra el peso medio de las lechugas, por modalidad, resultado de la tabla 2. Se observa el peso medio de las lechugas testigo, 315, el peso medio de las lechugas tratadas con la referencia, 320 y el peso medio de las lechugas tratadas usando el triturado objeto de la presente invención, 325.

Para este ensayo, se realizaron siete aplicaciones en intervalos de diez días. Se anotaron las observaciones de las lechugas recolectadas.

En las condiciones experimentales, las observaciones muestran que el peso medio de las lechugas es estadísticamente mayor para las lechugas tratadas usando el triturado objeto de la presente invención (295.3 g/lechuga) que para las lechugas no tratadas y tratadas con la referencia aprobada en Francia como estimulador del desarrollo radicular (280.5 y 283.10 g/lechuga, respectivamente) (tabla 2 y figura 5).

- 5 Siete aplicaciones, con intervalos de diez días, del triturado permiten aumentar el diámetro y el peso de las lechugas. El uso de triturado objeto de la presente invención es estadísticamente más eficaz que el uso del producto de referencia.

3/ Pepino

- 10 El producto terminado derivado del triturado de rúcula (*Eruca sativa*) (aquí codificado "FERTI01"), aplicado con una frecuencia de diez días, permite aumentar significativamente el número de pepinos por planta, así como el peso total de la cosecha de las plantas tratadas. El uso del triturado objeto de la presente invención es estadísticamente más eficaz que el uso de la referencia descrita antes.

Para el pepino, los modos de aplicación del producto terminado derivado del triturado incluyen el riego del suelo usando una formulación líquida.

- 15 La tabla 3 representa la eficiencia del uso del triturado objeto de la presente invención en el pepino, para una planta testigo, una planta tratada con la referencia aprobada en Francia y una planta tratada con el triturado.

Tabla 3: Eficacia en el pepino (20 plantas por modalidad)

Cultivo	Evaluación	Fechas	Testigo	Referencia	FERTI 01
Pepino <i>Cucumis sativus</i> L. (CUMSA)	Número medio de pepinos recolectados por planta	Recogidos del 11/06/11 al 30/07/11	4.10 a	7.20 b	10.12 c
	Peso total de la cosecha (kg)		10.25 a	22.22 b	29.15 c

- 20 La figura 6 ilustra el número medio de pepinos por planta, por modalidad, resultado de la tabla 3. Se observa el número medio de pepinos por planta testigo, 330, el número medio de pepinos por planta tratada con la referencia, 335 y el número medio de pepinos por planta tratada usando el triturado objeto de la presente invención, 340.

La figura 7 ilustra el peso total (en kg) de pepinos por planta, por modalidad, proveniente de la tabla 3. Se observa el peso total de pepinos por planta testigo, 345, el peso total de pepinos por planta tratada con la referencia, 350 y el peso total de pepinos por planta tratada usando el triturado objeto de la presente invención, 355.

- 25 Para este ensayo, se realizaron ocho aplicaciones con intervalos de diez días. Se anotaron las observaciones sobre los pepinos recolectados, en un período de cosecha de 40 días.

- 30 Los resultados muestran que el número medio de pepinos por planta durante el tiempo de la cosecha en las parcelas tratadas usando el triturado objeto de la presente invención (10.12 pepinos/planta) es estadísticamente mayor en comparación con las parcelas no tratadas y tratadas con el producto de referencia aprobado en Francia (4.10 y 7.20 pepinos/planta, respectivamente) (tabla 3 y figura 6).

Las observaciones también muestran que el peso total de los pepinos recolectados de las parcelas tratadas usando el triturado objeto de la presente invención (29.15 kg) es estadísticamente más pesado en comparación con las parcelas no tratadas y tratadas con la referencia (10.25 y 22.22 kg, respectivamente) (tabla 3 y figura 7).

- 35 Ocho aplicaciones, con intervalos de diez días, del producto terminado derivado del triturado permiten aumentar significativamente el número de pepinos por planta, así como el peso total de la cosecha de las plantas tratadas. Además, el uso del triturado objeto de la presente invención es estadísticamente más eficaz que el uso de la referencia.

4/ Pepino

- 40 El producto terminado derivado del triturado de rúcula (*Eruca sativa*) (aquí codificado "FERTI01"), aplicado con una frecuencia de diez días, permite aumentar significativamente el peso total de la cosecha de las plantas tratadas. El uso del triturado objeto de la presente invención es estadísticamente más eficaz que el uso de la referencia descrita antes.

El uso del triturado objeto de la presente invención también permite aumentar significativamente el número de flores fértiles. Además, el uso del triturado objeto de la presente invención es estadísticamente más eficaz que el uso de la referencia descrita antes.

45

Para el pepino, los modos de aplicación del producto terminado derivado del triturado incluyen regar el suelo usando una formulación líquida.

5 La Tabla 4 representa, en las condiciones experimentales, la eficiencia del uso del triturado objeto de la presente invención en el pepino, para una planta testigo, una planta tratada con la referencia y una planta tratada usando el triturado objeto de la presente invención.

Tabla 4: Eficacia en el pepino (10 plantas por modalidad)

Cultivo	Evaluación	Fechas	Testigo	Referencia	FERTI 01
<i>Cucumis sativus</i>	Número medio de flores fértiles por planta	Antes de la cosecha del 15/09 al 07/10	12.25 a	10.10 a	16.12 b
	Número medio de pepinos recolectados por planta	En las cosechas del 08/10 al 31/10	3.5 a	5.1 ab	8.5 b
	Peso total de la cosecha en el periodo (kg)	En las cosechas del 08/10 al 31/10	3.9 a	6.1 a	10.2 b

10 La figura 8 ilustra el número medio de flores fértiles por planta, por modalidad, resultado de la tabla 4. Se observa el número medio de flores fértiles por planta testigo, 360, el número medio de flores fértiles por planta tratada con la referencia, 365 y el número medio de flores fértiles por planta tratada usando el triturado objeto de la presente invención, 370.

15 La figura 9 ilustra el número medio de pepinos recolectados por planta, por modalidad, resultado de la tabla 4. Se observa el número medio de pepinos recolectados por planta testigo, 235, el número medio de pepinos recolectados por planta tratada con la referencia, 240 y el número medio de pepinos recolectados por planta tratada usando el triturado objeto de la presente invención, 245.

La figura 10 ilustra el peso total de pepinos recolectados durante el periodo, por modalidad, resultado de la tabla 4. Se observa el peso total de pepinos en la modalidad de plantas testigo, 375, el peso total de pepinos en la modalidad de plantas tratadas con la referencia, 380 y el peso total de pepinos en la modalidad de plantas tratadas usando triturado objeto de la presente invención, 385.

20 Para este ensayo, se realizaron cuatro aplicaciones de los productos ensayados con intervalos de diez días. Se anotaron las observaciones de los pepinos recolectados, en un período de cosecha de 23 días.

Los resultados muestran que el número medio de flores fértiles por planta de las parcelas tratadas usando el triturado objeto de la presente invención (16.12 flores/planta) es estadísticamente mayor en comparación con las parcelas no tratadas y tratadas con el producto de referencia (12.25 y 10.10 flores/planta, respectivamente) (tabla 4 y figura 8).

25 Las observaciones también muestran que el peso total de la cosecha de las parcelas tratadas usando el triturado objeto de la presente invención (10.2 kg) es estadísticamente más elevado en comparación con las parcelas no tratadas y tratadas con la referencia (3.9 y 6.1 kg, respectivamente) (tabla 4 y figura 10).

30 Cuatro aplicaciones, con intervalos de diez días, del producto terminado derivado del triturado permiten aumentar significativamente el número de flores fértiles por planta, así como el peso total de la cosecha de las plantas de pepino tratadas. Además, el uso del triturado objeto de la presente invención es estadísticamente más eficaz que el uso de la referencia.

Cabe señalar que los resultados de este ensayo se obtuvieron durante un período corto de cosecha (23 días).

35 Se llevó a cabo un estudio in vitro del pepino en laboratorio con el fin de apoyar la hipótesis de que el triturado se podría clasificar en la categoría de estimuladores del crecimiento radicular. En este estudio, el uso del triturado objeto de la presente invención se comparó con el uso del producto de referencia Osiryl, marca registrada, estimulador del crecimiento radicular, aprobado en Francia con el número de AMM nº 1030003.

40 Los productos ensayados se incluyeron en el medio de cultivo Murashige y Skoog (0.5X) al comienzo del estudio. Las semillas de pepino se esterilizaron con una disolución de lejía y después se lavaron tres veces con agua. Las semillas esterilizadas se colocaron en el medio de cultivo y las placas de Petri se pusieron en una sala de crecimiento de cultivo in vitro durante 15 días.

Las observaciones se realizaron siete días y catorce días después de la siembra. Los resultados obtenidos se presentan a continuación.

Figuras 11, 12 y 13: fotos de una observación de los productos ensayados en cultivo in vitro en el pepino siete días después de la siembra. La figura 11 representa el testigo 405, la figura 12, la planta tratada con la referencia, 410, y el figura 13 la planta tratada usando el triturado objeto de la presente invención, 415.

5 Figuras 14, 15 y 16: fotos de una observación de los productos ensayados en cultivo in vitro en el pepino catorce días después de la siembra. La figura 14 representa el testigo 420, la figura 15, la planta tratada con la referencia, 425, y la figura 16 la planta tratada usando el triturado objeto de la presente invención, 430.

Figuras 17, 18 y 19: fotos de una observación de los productos ensayados en cultivo in vitro en el pepino catorce días después de la siembra. La figura 17 representa al testigo 435, la figura 18, la planta tratada con la referencia, 440, y la figura 19 la planta tratada usando el triturado objeto de la presente invención, 445.

10 El estudio in vitro del pepino se realizó en Francia, para ensayar el producto terminado derivado del triturado en comparación con el producto de referencia Osiryl.

15 Las observaciones permiten mostrar que el sistema radicular está más desarrollado cuando se incluye el producto terminado derivado del triturado en el medio de cultivo, en comparación con el testigo y la referencia. En efecto, el número y el tamaño de las raíces laterales y las raíces secundarias son mayores con el uso del triturado objeto de la presente invención que para el testigo y con el uso de la referencia (figuras 11 a 16).

Además, 14 días después de la siembra, solo se observan pelos absorbentes en las placas de Petri que contienen el producto terminado derivado del triturado (figuras 17 a 19).

20 Las observaciones de este estudio in vitro muestran que las semillas de pepino que han germinado en un medio de cultivo en el que se ha añadido el producto terminado derivado del triturado, presentan un sistema radicular mucho más desarrollado que las semillas germinadas en el medio "testigo".

5/ Trigo blando de invierno

25 En este ensayo preliminar experimental al aire libre, el producto terminado derivado del triturado de rúcula (Eruca sativa) codificado aquí "FERTI01", aplicado en las etapas fisiológicas clave en el trigo blando de invierno (espiga de 1 cm, 2 nudos, GFT/brote, estambres), permite aumentar significativamente el peso total de la cosecha de las plantas tratadas con respecto a las parcelas no tratadas (testigo convencional).

La Tabla 5 representa la eficacia del uso del triturado objeto de la presente invención en la cosecha de trigo y el contenido de proteínas de la cosecha, para una parcela de plantas testigo convencionales no tratadas, y una parcela de plantas tratadas con la presente invención.

Tabla 5: Eficacia en el trigo blando de invierno

Cultivo	Evaluaciones Rendimiento	Fechas	Testigo	FERTI01
Trigo blando de invierno	Qx/Ha	Julio 2010	74.9 a	78.8 b
	Proteínas		10.8 a	11.3 b

30 Las observaciones generales son:

a/ Ninguna fitotoxicidad observada, en particular no hay quemado de hojas, como se observa con frecuencia con el uso de triazoles.

b/ Observación de etapas uno poco más precoces de uno a dos días, en particular en la formación de la espiga,

35 c/ La diferencia del peso de la cosecha ha sido significativamente mayor (cuatro quintales adicionales de semillas por hectárea) para la modalidad tratada usando el triturado objeto de la presente invención.

d/ El nivel de proteínas, criterio determinante en el mercado del trigo para pan, por ejemplo, también es significativamente mayor en la cosecha de las parcelas tratadas usando el triturado objeto de la presente invención.

40 Las condiciones experimentales de este ensayo preliminar se mejorarán con el fin de optimizar los efectos del uso del triturado objeto de la presente invención.

Para el trigo, los modos de aplicación del producto terminado derivado del triturado comprenden la pulverización foliar usando una formulación líquida.

6/ Maíz

Se realizó un ensayo en el maíz en plantas jóvenes, en sala de cultivo, durante un período de 52 días (desde la siembra hasta la última evaluación).

Se describen en lo sucesivo, ensayos relativos al uso del producto terminado derivado del triturado de rúcula (*Eruca sativa*), y al procedimiento objeto de la presente invención.

5 La figura 20 representa el curso del ensayo del triturado en el maíz. Se llevaron a cabo cuatro tratamientos semanales (triángulos 505), por pulverización o por riego, en plántulas a partir de la etapa de tres hojas 15 días después de la siembra (triángulo 510). El primer tratamiento coincide con DM0J, fecha de las primeras mediciones ecofisiológicas (triángulos 515), 13 de junio. Las primeras cuatro mediciones (DM0J, DM4J, DM11J, DM15J) se refieren a la parte aérea. El final del ensayo (DM34J, triángulo 520) ha permitido hacer también mediciones fisiológicas en la parte
10 radicular (PR).

La materia vegetal y las condiciones de cultivo del maíz se presentan a continuación.

15 La arena de granulometría de 0.2 a 5 mm (Arena para filtración, Castorama, marca registrada) se enjuagó cuatro veces con agua destilada y después se secó durante la noche en el horno a 105°C. Se usaron aproximadamente 100 g de arena seca para llenar más de 60 cubiletes de plástico de polipropileno pequeños (30 cl), después se empaparon con 40 ml de una disolución nutritiva preparada según el protocolo del fabricante (fertilizante GHE). En cada uno de los cubiletes, se puso a germinar una semilla de maíz a un cm de la superficie. Los cubiletes a continuación se ponen en la cámara de cultivo en condiciones controladas, con un fotoperíodo de 16 horas, un PPF (por sus siglas en inglés "photosynthetic photon flux density" o densidad de flujo de fotones fotosintéticos) aproximadamente igual a 250 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, un grado de higrometría de 75% \pm 5% y una temperatura de 24°C \pm 2°C de día y 20°C \pm 2°C de noche.

20 Al cabo de diez días, alcanzando la etapa de tres hojas, las plántulas jóvenes se transfieren a macetas de plástico de dos litros llenas de arena. Después de tres días de aclimatación, las macetas se dividieron homogéneamente en tres grupos de 20 plantas para el inicio de los tratamientos.

25 Quince días separan la siembra y el primer tratamiento. Al final de este período, las 60 plantas de maíz obtenidas se repartieron en tres modalidades; una modalidad de testigo (C) y dos tipos de tratamiento por el bioestimulante derivado del triturado, por riego (A) y por pulverización (P).

Un extracto acuoso suministrado inicialmente por los autores de la invención se diluye ocho veces. Se aplicaron cien mililitros de esta dilución a las plantas de maíz, añadiéndola directamente a la maceta para la modalidad A o pulverizándola sobre las plantas para la modalidad P. Para la modalidad C, se vertió una cantidad de 100 ml de agua en las macetas.

30 El primer tratamiento se realizó el 13 de junio de 2014. Se programaron otros tres tratamientos semanalmente (Figura 20).

35 Durante los tratamientos, se llevaron a cabo mediciones relacionadas con el crecimiento vegetativo y radicular en las plantas de cada una de las modalidades A, P y C. Se incluyeron un total de cuatro fechas de mediciones, el día del primer tratamiento (DM0J), 4 (DM4J), 8 (DM8J), 11 (DM11J), 16 (DM16J) y 34 (DM34J) días después (Figura 20). Se midió el conjunto de los siguientes parámetros fisiológicos:

A/ Tamaño medio de las plantas:

El tamaño de la planta corresponde a la distancia que separa la base del coleóptilo y el extremo de la hoja más desarrollada de la planta. Se calcula una media para las 20 plantas de cada modalidad.

B/ Velocidad media de crecimiento:

40 La velocidad media de crecimiento se calculó a partir de DM4J. Corresponde a la diferencia de tamaño entre dos fechas de medición adyacentes, en el número de días que las separan. Después se calcula una media diaria para cada modalidad.

C/ Número medio de hojas:

Se realizó un recuento manual del número total de hojas en DM34J.

45 D/ Diámetro medio del tallo:

Esta medición es la media de los diámetros de tallo que corresponden a las 20 plantas de cada modalidad (A, P o C). Las mediciones comenzaron en DM11J, fecha en la que el tallo era lo suficientemente grueso como para realizar la medición. El diámetro se midió usando un pie de rey.

E/ Medición del peso medio de la parte aérea y del número de hojas:

50 Estas mediciones se realizaron al final del ensayo (DM34j) en plantas de 44 días de edad. La parte aérea se disocia

de las raíces y se pesa con la balanza. Se calcula el peso medio de las 20 plantas de cada modalidad. El número de hojas se cuenta manualmente.

F/ Medición del peso medio del sistema radicular

5 Primero de todo se sacaron las raíces de la maceta y se enjuagaron con agua. El peso fresco de la parte radicular se mide con una balanza de precisión. Se calcula una media de las 20 plantas para todos estos parámetros.

G/ Índices medios de clorofila y flavonoles:

10 Los índices de clorofila y flavonoles se registran automáticamente con una pinza foliar portátil Dualex (Cerovic, Masdoumier et al., 2012). El dispositivo está equipado con un sensor de luz infrarroja portátil que permite realizar mediciones no destructivas en tiempo real de la clorofila y flavonoles en la epidermis foliar después de su excitación. En DM0J, la hoja nº 3 partiendo de la base del coleóptilo estaba lo suficientemente desarrollada como para realizar estas mediciones. Para garantizar una lectura uniforme, la pinza se coloca a dos cm a partir de la punta de la hoja. Los valores se expresan en unidades Dualex. En DM34J, después de la senescencia de la mayoría de estas terceras hojas, la medición no tuvo lugar.

15 Todas las pruebas estadísticas presentadas se llevaron a cabo en el programa R (Pinheiro, Bates et al., 2011). Para calcular las diferencias estadísticas entre las muestras, se realizó una prueba de Tukey para comparar las medias por pares de cada una de las modalidades. El orden siguiendo diferentes letras se realizó manualmente.

La tabla representada en la figura 21 representa las mediciones de diferentes parámetros ecofisiológicos durante los tratamientos mediante el uso y el procedimiento objetos de la presente invención.

20 Para cada una de las fechas de medición (DM4J, DM11J, DM34J), los resultados representan las medias de los valores registrados en 20 individuos (n = 20), después de los tratamientos de las plantas de maíz con el producto terminado derivado del triturado por riego (A), en comparación con las plantas testigo (C). Las medias están marcadas con una letra diferente cuando son estadísticamente diferentes a P <0.05.

25 La tabla representada en la figura 22 representa mediciones de diferentes parámetros ecofisiológicos (índice de clorofila e índice de flavonoles) durante los tratamientos usando el producto terminado derivado del triturado. Para cada una de las fechas de medición (DM4J, DM8J, DM15J), los resultados representan las medias de los valores obtenidos de 20 plantas (n = 20), después de los tratamientos de las plantas de maíz con el producto terminado derivado del triturado por riego (A), por pulverización (P) en comparación con las plantas testigo (C). Las medias están marcadas con una letra diferente cuando son estadísticamente diferentes a P <0.05.

30 Las figuras 23A a 23F ilustran la estimulación del desarrollo radicular bajo el efecto del producto terminado derivado del triturado. Las fotos comparan los sistemas radiculares de la modalidad de testigo (Figuras 23C y 23F) con las modalidades de tratamiento por riego (Figuras 23A y 23D) y las modalidades por pulverización (Figuras 23B y 23E)

35 La Tabla 6 a continuación expresa el efecto estimulante del tratamiento por el uso y el procedimiento objetos de la presente invención, en el peso medio de la parte radicular de las plantas de maíz. Los resultados representan las medias de 20 plantas (n = 20) de las modalidades de tratamiento por riego (A) y por pulverización (P) en comparación con la modalidad de testigo (C). Los valores están marcados con una letra diferente si son estadísticamente diferentes a P <0.05.

Tabla 6

	C	A	P
Peso medio del sistema radicular (g)	13.6	17.3	15.7
	a	b	b

40 El seguimiento de los parámetros ecofisiológicos (Figura 21) relacionados con el crecimiento vegetativo permitió apreciar cambios inmediatos que surgen después de la aplicación del producto terminado derivado del triturado. Solo cuatro días después del primer tratamiento (DM4J), los autores de la invención observaron que la aplicación del producto terminado derivado del triturado por riego (A) produce un aumento significativo del tamaño de las plantas. A lo largo del ensayo, las plantas de la modalidad A mantienen un tamaño significativamente mayor que el de la modalidad de testigo (C).

45 Los valores de la velocidad media de crecimiento de la modalidad A permanecen significativamente más altos que los de los testigos, y esto para todas las fechas de medición.

Al igual que para el tamaño medio, los valores registrados para el diámetro medio de las plantas que corresponden a la modalidad A son significativamente mayores que los valores de la modalidad C.

Al final de los tratamientos, las mediciones de las biomásas aéreas muestran un avance significativo de la modalidad A en relación con el testigo.

Los índices de clorofila y flavonoles (Figura 22) muestran una evolución positiva a lo largo de todo el ensayo.

5 Como para los parámetros de crecimiento vegetativo, estos dos índices registran un aumento en los valores para las 2 modalidades A y P, con una diferencia significativa para la modalidad P, a partir del 4^º día después del tratamiento. Hasta DM8J, es decir, un día después del segundo tratamiento, el índice de clorofila y flavonoles se mantuvo a favor de las plantas de la modalidad P, con un aumento significativo en comparación con las plantas testigo. En el tiempo DM15J, el índice de clorofila muestra una diferencia significativa para la modalidad A, en comparación con los valores registrados para la modalidad testigo. Al mismo tiempo, el índice de flavonol proporcionaba valores que continúan mostrando una diferencia significativa para la modalidad P. De forma general, los dos índices muestran una evolución positiva en el tiempo para las modalidades A y P, aunque las diferencias no son significativas para cada observación.

15 La inspección visual del sistema radicular (Figura 23A a 23F) ha permitido percibir cambios muy claros en el fenotipo radicular entre diferentes modalidades. En efecto, la primera constatación es el color rojo-violeta muy pronunciado y extendido de la región en la base del mesocotilo para las modalidades tratadas con el producto terminado derivado del triturado para las modalidades A (Figuras 23A y 23D) y P (Figuras 23B y 23E). La segunda constatación, se refiere a los sistemas radiculares de las modalidades A y P, que aparecen a simple vista, más desarrolladas que los de las plantas testigo, lo que se ha confirmado por pesada del sistema radicular (Tabla 6).

20 Según los resultados obtenidos, parece de forma muy evidente que los dos tipos de tratamientos por riego y por pulverización producen un aumento de los parámetros de crecimiento vegetativo en el maíz. Esta mejora que se produce de forma muy temprana después del primer tratamiento, es decir, después de cuatro días, muestra una ventaja significativa para las plantas tratadas con el producto derivado de la invención, que se mantiene durante todo el ensayo.

25 Un parámetro importante que está indudablemente más desarrollado, en las plantas regadas con el producto terminado derivado del triturado, es el sistema radicular. Además de su función de entintado, el sistema radicular tiene una función importante en la absorción de nutrientes presentes en el suelo. Se han descrito en varios estudios correlaciones entre el desarrollo del volumen radicular, después de tratamientos bioestimulantes, y un mejor uso de micro y macronutrientes del suelo (Vessey 2003; Fan et al. 2006; Canellas et al. 2011; Khan et al. 2013). Por lo tanto, las mejoras constatadas en el desarrollo de las plantas tratadas con el producto terminado derivado del triturado de rúcula pueden ser una consecuencia indirecta del aumento del volumen radicular que mejora la eficacia del uso de los recursos del suelo. El color rojo-violeta muy pronunciado en la base del mesófilo de la raíz en las plantas tratadas usando el triturado probablemente se deba a la supuesta acumulación de compuestos fenólicos. La acumulación de estos compuestos, de momento de naturaleza desconocida, puede dar una idea preliminar de uno, entre varios, de los efectos fisiológicos del producto terminado derivado del triturado en la planta.

35 De hecho, la acumulación de compuestos fenólicos en los órganos vegetales a menudo es una respuesta reactiva a los estímulos ambientales, que permite visualizar aquí una reacción metabólica concreta de las plantas de maíz después del tratamiento con el producto objeto de esta patente.

40 En el experimento descrito a continuación, las plantas de maíz de 20 días de edad se trataron con diferentes triturados de rúcula. Un grupo de plantas se trató en condiciones normales, mientras que otro grupo de plantas se sometió a un estrés hídrico durante todo su desarrollo. Las plantas se sometieron a dos tratamientos por pulverización con los productos terminados derivados del triturado de tres plantas de género de la rúcula (*Eruca sativa*, *Diplotaxis erucoides* y *Bunias erucago*) con una frecuencia de diez días. Las plantas testigo en ambas condiciones se sometieron al mismo tratamiento con agua.

45 Se llevaron a cabo las siguientes mediciones: Mediciones del peso medio de la parte aérea de las plantas de maíz en las diferentes condiciones, sometidas a un estrés hídrico o no, y tratadas con los productos terminados derivados de los triturados.

En la Tabla 7, para cada una de las mediciones (t = 20 días), los resultados representan las medias de los valores registrados en 14 individuos por modalidad (n = 14), después del tratamiento de las plantas de maíz con los productos terminados derivados del triturado por riego (A), por pulverización (P) en comparación con las plantas testigo (C). Las medias están marcadas con una letra diferente cuando son estadísticamente diferentes en P < 0.05.

50 Tabla 7

Condiciones normales	C	P	A
Peso medio (g) de la parte aérea de las plantas de maíz después de tratamiento con <i>Eruca sativa</i>	19.3 b	23.9 a	24.8 a
Peso medio (g) de la parte aérea de las plantas de maíz después de tratamiento con <i>Diplotaxis erucoides</i>	17.2 b	25.2 a	24.6 a

Peso medio (g) de la parte aérea de las plantas de maíz después de tratamiento con <i>Bunias erucago</i>	18.5 b	23.5 a	23.8 a
Estrés hídrico	C	P	A
Peso medio (g) de la parte aérea de las plantas de maíz después de tratamiento con <i>Eruca sativa</i>	3.8 b	10.6 a	10.8 a
Peso medio (g) de la parte aérea de las plantas de maíz después de tratamiento con <i>Diplotaxis erucoides</i>	2.5 b	9.5 a	8.5 a
Peso medio (g) de la parte aérea de las plantas de maíz después de tratamiento con <i>Bunias erucago</i>	3.2 b	10.2 a	9.8 a

5 En las llamadas condiciones normales de experimentación (condiciones óptimas de cultivo), los tres triturados derivados de los tres géneros de rúcula (*Eruca sativa*, *Diplotaxis erucoides* y *Bunias erucago*) permiten a las plantas de maíz un mejor desarrollo foliar, de forma significativa, independientemente de que el tratamiento sea por riego del suelo, o por pulverización foliar. En condiciones de estrés hídrico, como se observa, el peso medio de la parte aérea es muy bajo, dada la alta deshidratación de las plantas (muchas hojas secas). Sin embargo, las plantas tratadas presentan un vigor y una tasa de hidratación significativamente superiores a las plantas testigo, independientemente de los géneros de rúcula usados.

10 La aplicación del producto descrito antes muestra un efecto positivo en la tolerancia a la falta de agua y nutrientes. Pulverizados sobre las plantas, ambos tipos de aplicación mejoran el aspecto de la planta y su riqueza en agua. Esta propiedad podría ser el resultado de una mejora en la biomasa radicular (Marulanda et al. 2009; Anjum et al. 2011), la liberación en el suelo de fitohormonas como ABA o Cks (Zhang y Ervin 2004; Arkhipova et al. 2007; Cohen et al.; 2008; Marulanda et al., 2009) o la degradación del etileno (Arshad et al. 2008).

15 La lista de ensayos, dados a modo de ejemplos, no es exhaustiva, y de ninguna manera representa un límite para el uso del triturado objeto de la presente invención. Este triturado puede ser eficaz en muchos otros modelos de plantas no descritos antes.

Demostración de la eficacia in vitro: el uso del triturado objeto de la presente invención estimula el crecimiento de los pelos absorbentes y el desarrollo radicular. Los efectos sobre el desarrollo de las plantas observados son mayores que los efectos observados durante los tratamientos realizados con la referencia descrita antes.

20 La presente invención se aplica, en particular a la bioestimulación de una de las siguientes plantas:

- tomate,
- lechuga,
- pepino,
- trigo,

25 - trigo blando,

- maíz o

-cereales en sentido amplio.

Lista de referencias bibliográficas

Adesemoye, A. O. y J. W. Kloepper (2009). "Plant-microbes interactions in enhanced fertilizer-use efficiency ." Applied Microbiology and Biotechnology 85(1): 1-12.

Anjum, S. A., et al. (2011). "Fulvic Acid Application Improves the Maize Performance under Well - watered and Drought Conditions." Journal of Agronomy and Crop Science 197(6): 409-417.

Arkhipova, T. N., *et al.* (2007). "Cytokinin producing bacteria enhance plant growth in drying soil." Plant and Soil 292(1-2): 305-315.

Arshad, M., *et al.* (2008). "Inoculation with *Pseudomonas* spp. Containing ACC-Deaminase Partially Eliminates the Effects of Drought Stress on Growth, Yield, and Ripening of Pea (*Pisum sativum* L.)." Pedosphere 18(5): 611-620.

Bashan, Y., *et al.* (2014). "Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998–2013)." Plant and Soil 378(1-2): 1-33.

Berbara, R. L. L. y A. C. García (2014). Humic substances and plant defense metabolism. Physiological Mechanisms and Adaptation Strategies in Plants Under Changing Environment, Springer: 297-319.

Berg, G. (2009). "Plant–microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture." Applied Microbiology and Biotechnology 84(1): 11-18.

Canellas, L. P., *et al.* (2011). "Probing the hormonal activity of fractionated molecular humic components in tomato auxin mutants." Annals of Applied Biology 159(2): 202-211.

Cohen, A. C., *et al.* (2008). "Azospirillum brasilense Sp 245 produces ABA in chemically-defined culture medium and increases ABA content in *Arabidopsis* plants." Plant growth regulation 54(2): 97-103.

Craigie, J. S. (2011). "Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture." Journal of Applied Phycology 23(3): 371-393.

Ertani, A., *et al.* (2009). "Biostimulant activity of two protein hydrolyzates in the growth and nitrogen metabolism of maize seedlings." Journal of plant nutrition and soil science 172(2): 237-244.

Fan, X., *et al.* (2006). "Glutamine transport and feedback regulation of nitrate reductase activity in barley roots leads to changes in cytosolic nitrate pools." Journal of Experimental Botany 57(6): 1333-1340.

Hayat, R., *et al.* (2010). "Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review." Annals of Microbiology 60(4): 579-598.

Hong, D. D., *et al.* (2007). "Seaweeds from Vietnam used for functional food, medicine and biofertilizer." Journal of Applied Phycology 19(6): 817-826.

Khan, W., *et al.* (2013). "*Ascophyllum nodosum* Extract and Its Organic Fractions Stimulate *Rhizobium* Root Nodulation and Growth of *Medicago sativa* (Alfalfa)." Communications in Soil Science and Plant Analysis 44(5): 900-908.

Khan, W., *et al.* (2009). "Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development." Journal of Plant Growth Regulation 28(4): 386-399.

Mancuso, S., *et al.* (2006). "Marine bioactive substances (IPA extract) improve foliar ion uptake and water stress tolerance in potted *Vitis vinifera* plants." Advances in Horticultural Science 20(2): 156-161.

Marulanda, A., *et al.* (2009). "Stimulation of plant growth and drought tolerance by native microorganisms (AM fungi and bacteria) from dry environments: mechanisms related to bacterial effectiveness." Journal of Plant Growth Regulation 28(2): 115-124.

Mattner, S. W., *et al.* (2013). "The effect of kelp extract on seedling establishment of broccoli on contrasting soil types in southern Victoria, Australia." Biological Agriculture & Horticulture 29(4): 258-270.

Milton, R. F. (1952). "Improvements in or relating to horticultural and agricultural fertilizers." British Patent 664989.

Milton, R. F. (1964). Liquid seaweed as a fertilizer. Proc Int Seaweed Symp.

Norrie, J. y J. P. Keathley (2005). Benefits of ascophyllum nodosum marine-plant extract applications to Thompson Seedless grape production. X International Symposium on Plant Bioregulators in Fruit Production 727.

Rayorath, P., *et al.* (2008). "Rapid bioassays to evaluate the plant growth promoting activity of *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. using a model plant, *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh." Journal of Applied Phycology 20(4): 423-429.

Rioux, L. E., *et al.* (2007). "Characterization of polysaccharides extracted from brown seaweeds." Carbohydrate polymers 69(3): 530-537.

Sharma, S. H. S., *et al.* (2012). "Biostimulant activity of brown seaweed species from Strangford Lough: compositional analyses of polysaccharides and bioassay of extracts using mung bean (*Vigna mungo* L.) and pak choi (*Brassica rapa chinensis* L.)." Journal of Applied Phycology 24(5): 1081-1091.

Varanini, Z. y R. Pinton (2000). "Direct versus indirect effects of soil humic substances on plant growth and nutrition." The Rhizosphere. Biochemistry and organic substances at the soilplant interface.(eds. R Pinton: 141-157.

Vessey, J. K. (2003). "Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers." Plant and Soil 255(2): 571-586.

Zhang, X. y E. H. Ervin (2004). "Cytokinin-containing seaweed and humic acid extracts associated with creeping bentgrass leaf cytokinins and drought resistance." Crop science 44(5): 1737-1745.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Bioestimulante, caracterizado por que comprende un extracto obtenido por extracción acuosa de al menos una parte de las plantas de rúcula, por ejemplo del género *Eruca* (*Eruca sativa*; *Eruca vesicaria*...), *Diplotaxis* (*Diplotaxis eruroides*, *Diplotaxis tenuifolia*, *Diplotaxis muralis*...), *Bunias* (*Bunias erucago*, *Bunias orientalis*...), *Erucastrum* (*Erucastrum nasturtiifolium*, *Erucastrum incanum*...) o *Cakile*, para promover el desarrollo vegetal o el desarrollo radicular.
2. Bioestimulante según la reivindicación 1, en el que el extracto se obtiene a partir de hojas de plantas del género *Eruca*, *Diplotaxis*, *Bunias*, *Erucastrum* o *Cakile*.
- 10 3. Bioestimulante según una de las reivindicaciones 1 o 2, en el que el extracto se obtiene a partir de semillas de plantas del género *Eruca*, *Diplotaxis*, *Bunias*, *Erucastrum* o *Cakile*.
4. Bioestimulante según una de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el extracto se obtiene a partir de flores de plantas del género *Eruca*, *Diplotaxis*, *Bunias*, *Erucastrum* o *Cakile*.
5. Bioestimulante según una de las reivindicaciones 1 a 4, en el que al menos un ingrediente activo se obtiene por extracción acuosa.
- 15 6. Bioestimulante según una de las reivindicaciones 1 a 5, en el que al menos un ingrediente activo se obtiene por extracción de tortas o pastas.
7. Bioestimulante según una de las reivindicaciones 1 a 6, en el que una composición obtenida a partir del extracto de al menos una parte de plantas de rúcula se formula en forma de polvo, en gránulos, en gránulos dispersables o en gránulos de difusión lenta.
- 20 8. Bioestimulante según una de las reivindicaciones 1 a 7, en el que una composición obtenida a partir del extracto de al menos una parte de plantas de rúcula se formula en forma líquida.
9. Uso de un extracto obtenido por extracción acuosa de al menos una parte de plantas de rúcula, por ejemplo del género *Eruca* (*Eruca sativa*; *Eruca vesicaria*...), *Diplotaxis* (*Diplotaxis eruroides*, *Diplotaxis tenuifolia*, *Diplotaxis muralis*...), *Bunias* (*Bunias erucago*, *Bunias orientalis*...), *Erucastrum* (*Erucastrum nasturtiifolium*, *Erucastrum incanum*...) o *Cakile*, para promover el desarrollo vegetal o el desarrollo radicular.
- 25 10. Procedimiento de aceleración del desarrollo de una planta, caracterizado por que comprende la aplicación en dicha planta de una composición obtenida a partir de un extracto obtenido por extracción acuosa de al menos una parte de plantas de rúcula, por ejemplo del género *Eruca* (*Eruca sativa*; *Eruca vesicaria*...), *Diplotaxis* (*Diplotaxis eruroides*, *Diplotaxis tenuifolia*, *Diplotaxis muralis*...), *Bunias* (*Bunias erucago*, *Bunias orientalis*...), *Erucastrum* (*Erucastrum nasturtiifolium*, *Erucastrum incanum*...) o *Cakile*.
- 30 11. Procedimiento de aceleración del desarrollo de una planta según la reivindicación 10, en el que dicho extracto se obtiene a partir de al menos una parte de plantas del género *Eruca* (*Eruca sativa*; *Eruca vesicaria*...), *Diplotaxis* (*Diplotaxis eruroides*, *Diplotaxis tenuifolia*, *Diplotaxis muralis*...), *Bunias* (*Bunias erucago*, *Bunias orientalis*...), *Erucastrum* (*Erucastrum nasturtiifolium*, *Erucastrum incanum*...) o *Cakile*.
- 35 12. Procedimiento según una de las reivindicaciones 10 u 11, en el que la aplicación en la planta se hace por pulverización foliar, riego del suelo, goteo, uso en cultivos hidropónicos.
13. Procedimiento según una de las reivindicaciones 10 a 12, en el que la aplicación en la planta se hace por tratamiento de semillas y/o recubrimiento de semillas.
- 40 14. Procedimiento según una de las reivindicaciones 10 a 13, que comprende una etapa (110) de trituración de al menos una parte de plantas del género *Eruca*, *Diplotaxis*, *Bunias*, *Erucastrum* o *Cakile* para proporcionar un triturado, y una etapa (115) de filtrado de partes sólidas de dicho triturado para obtener un líquido.
15. Procedimiento según una de las reivindicaciones 10 a 14, en el que dicha planta es una de las siguientes plantas:
 - tomate,
 - lechuga,
 - 45 - pepino,
 - trigo,
 - trigo blando,
 - maíz o
 - cereal en sentido amplio.

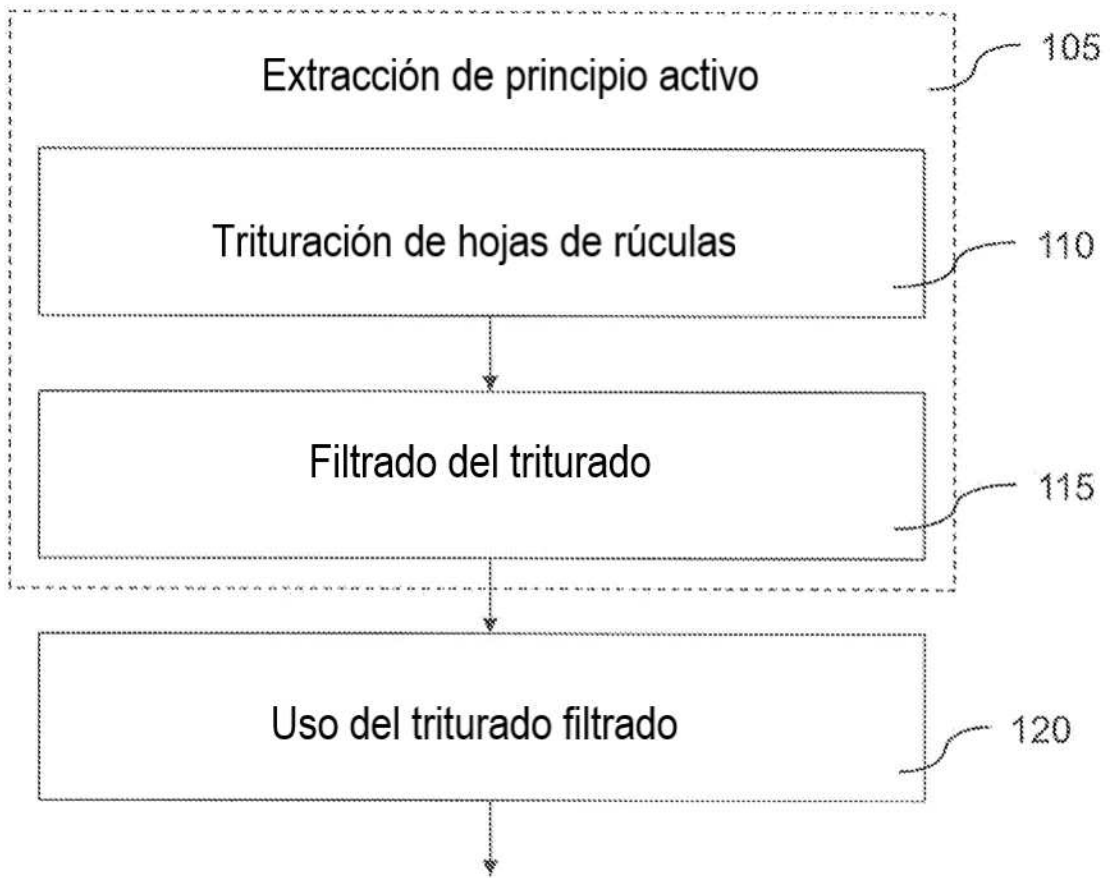


Figura 1

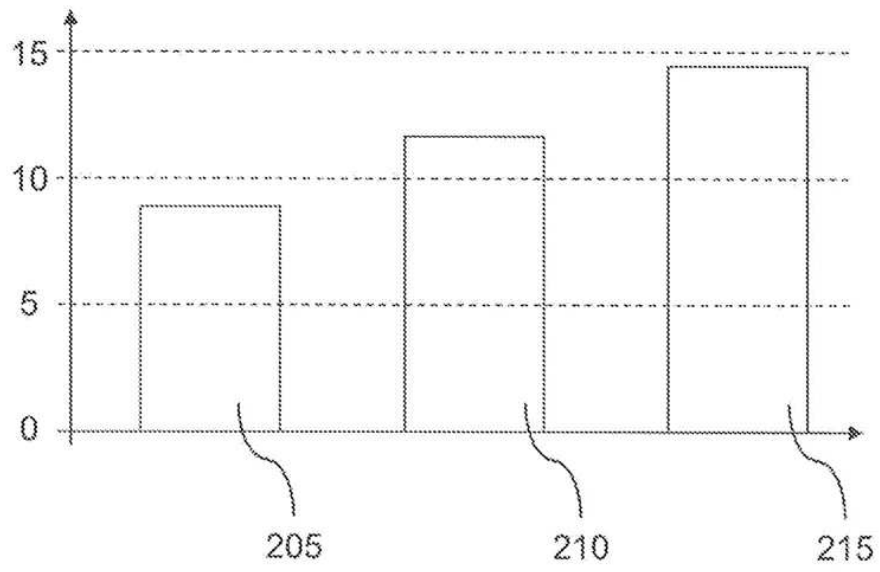


Figura 2

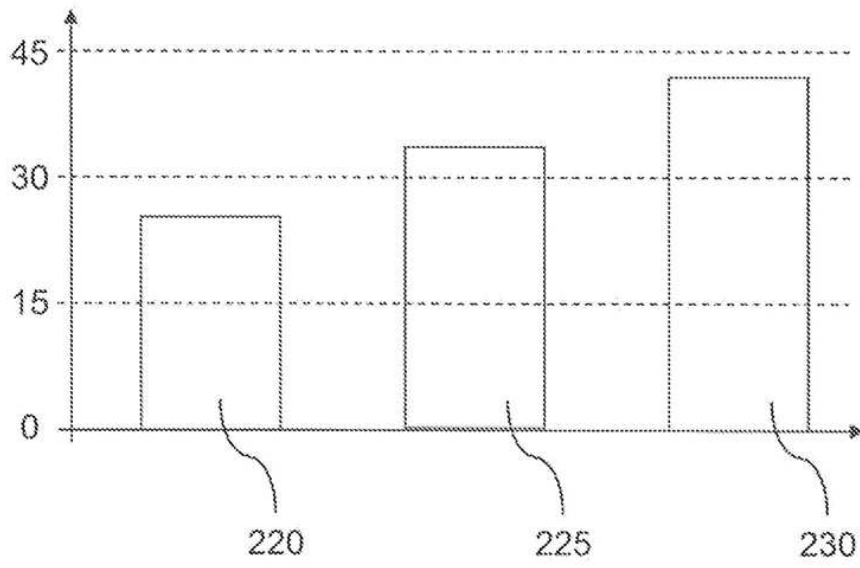


Figura 3

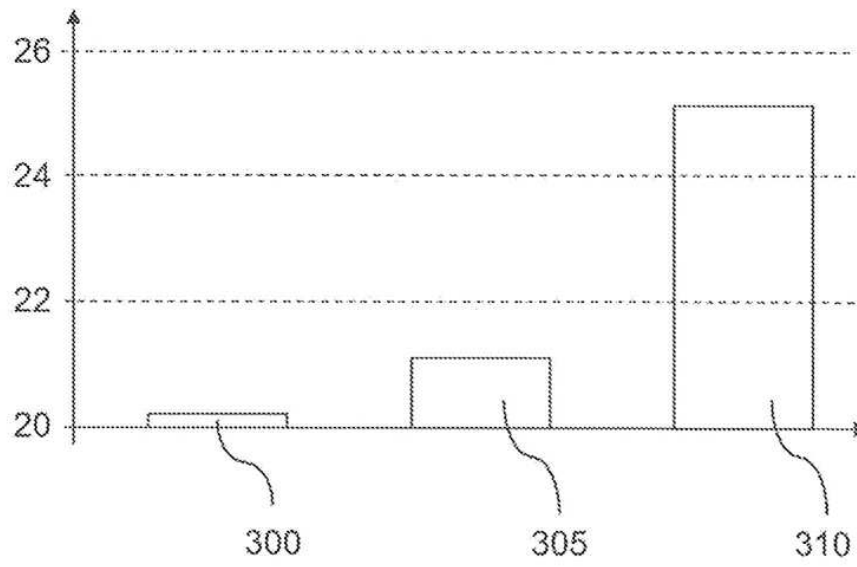


Figura 4

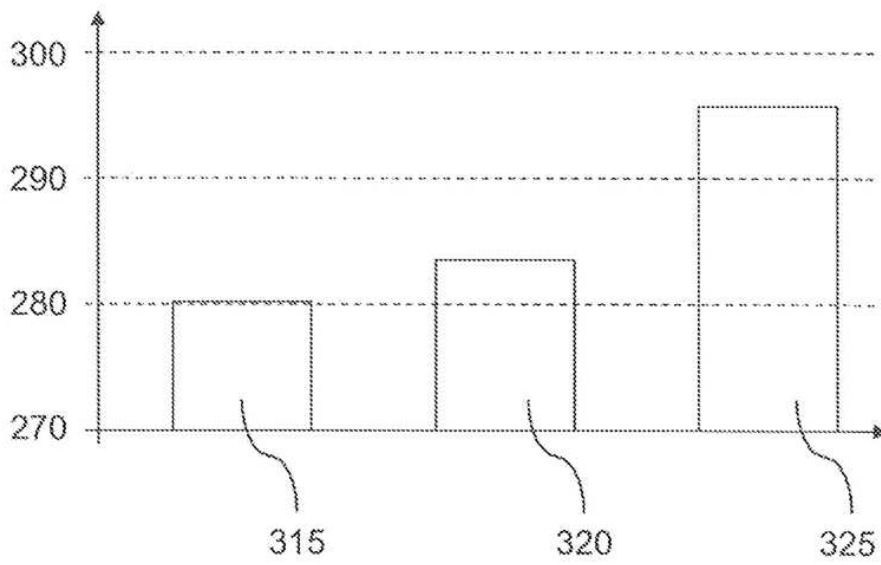


Figura 5

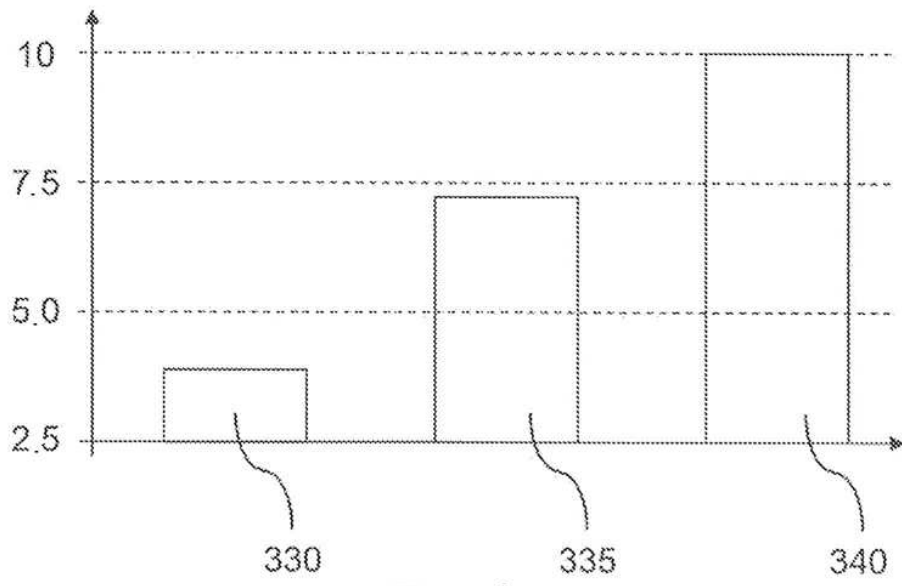


Figura 6

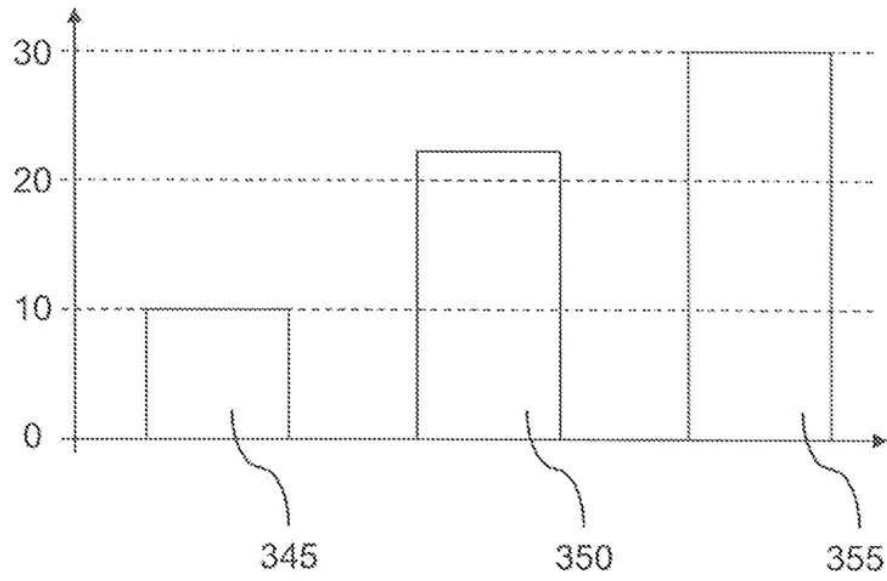


Figura 7

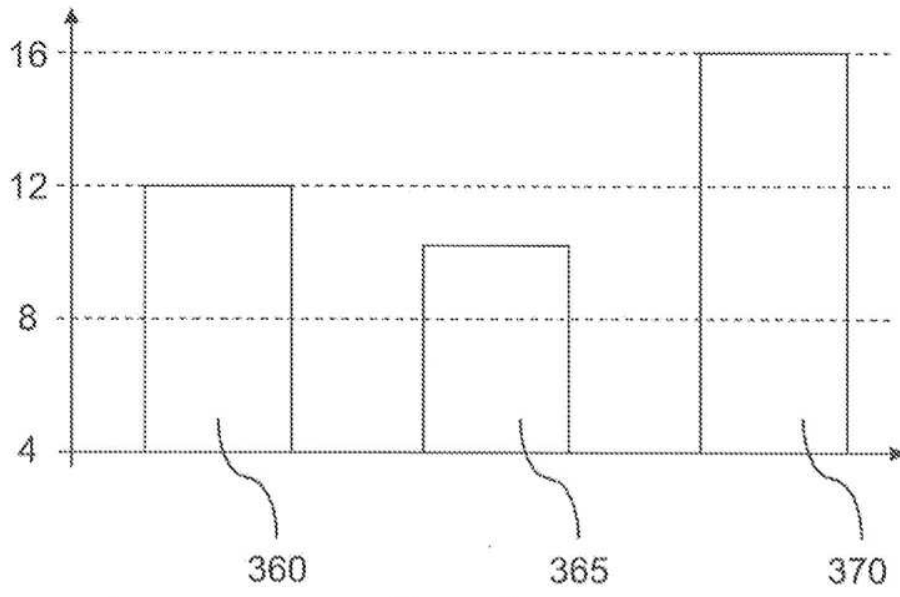


Figura 8

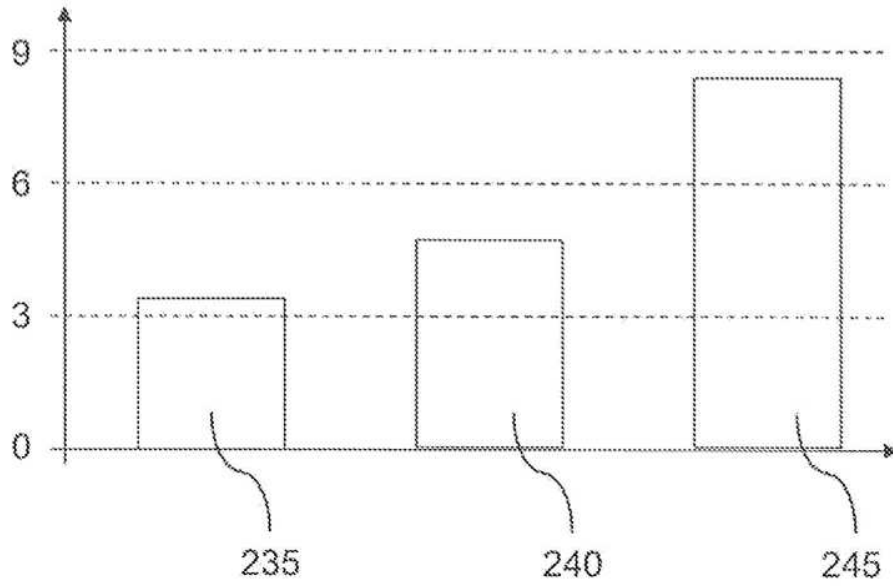


Figura 9

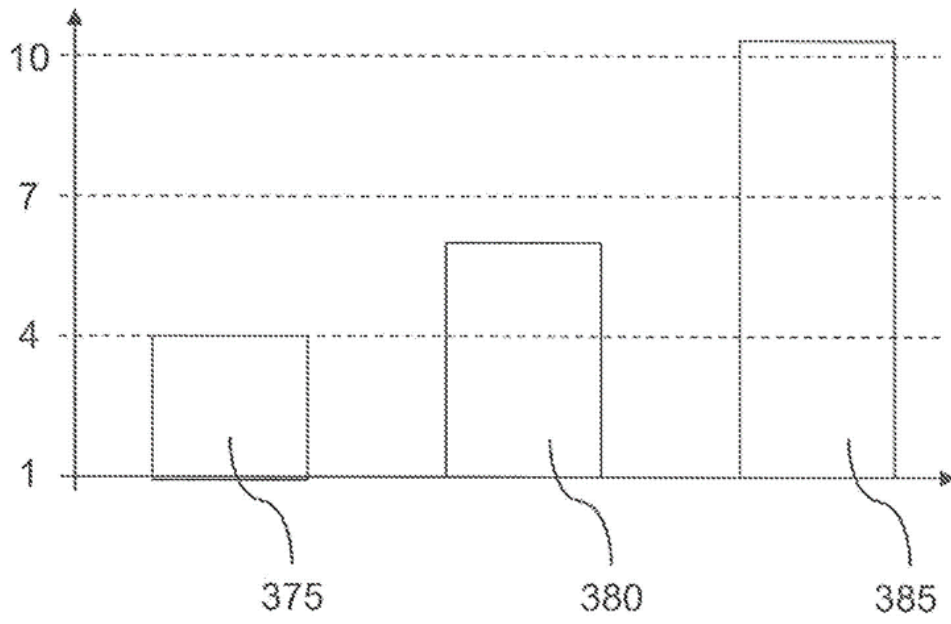


Figura 10

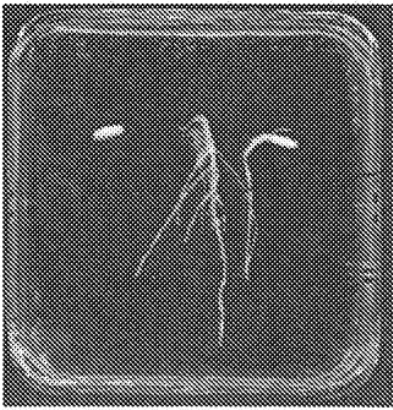


Figura 11

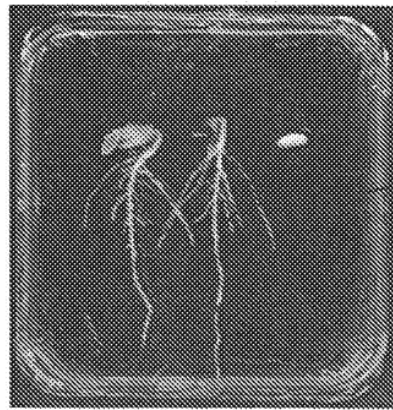


Figura 12

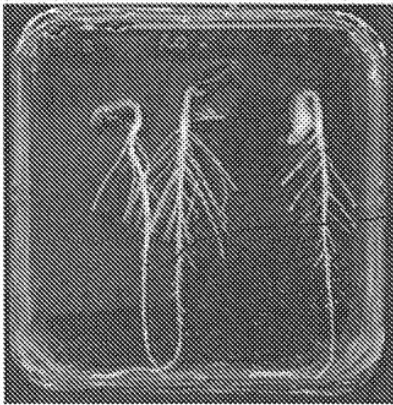


Figura 13

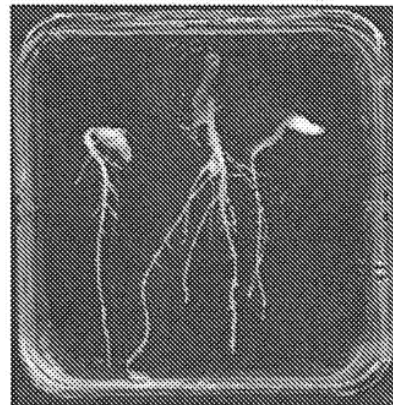


Figura 14

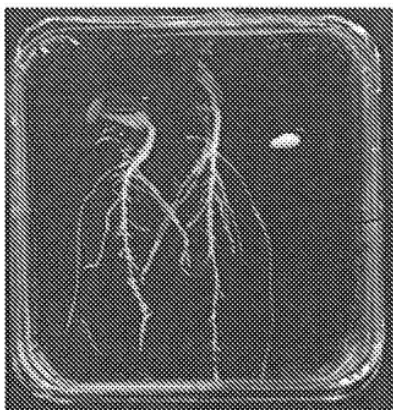


Figura 15

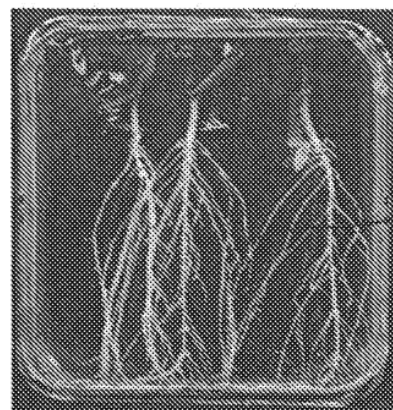


Figura 16

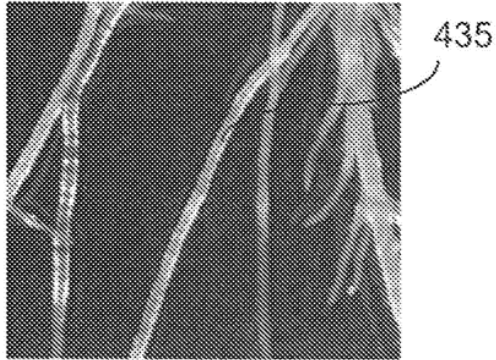


Figura 17

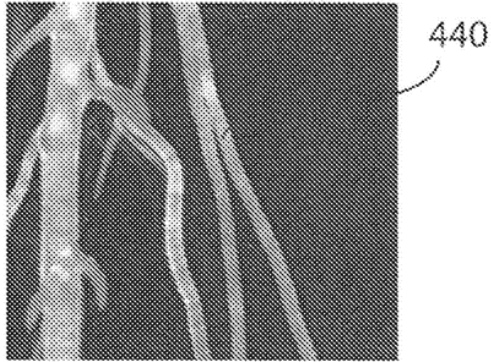


Figura 18

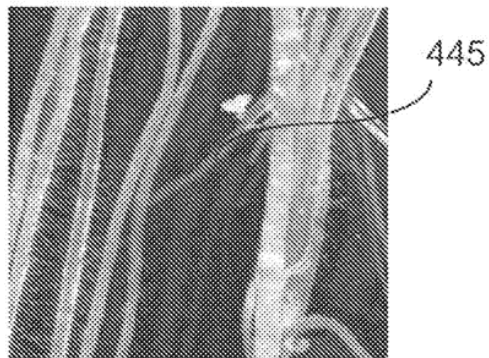


Figura 19

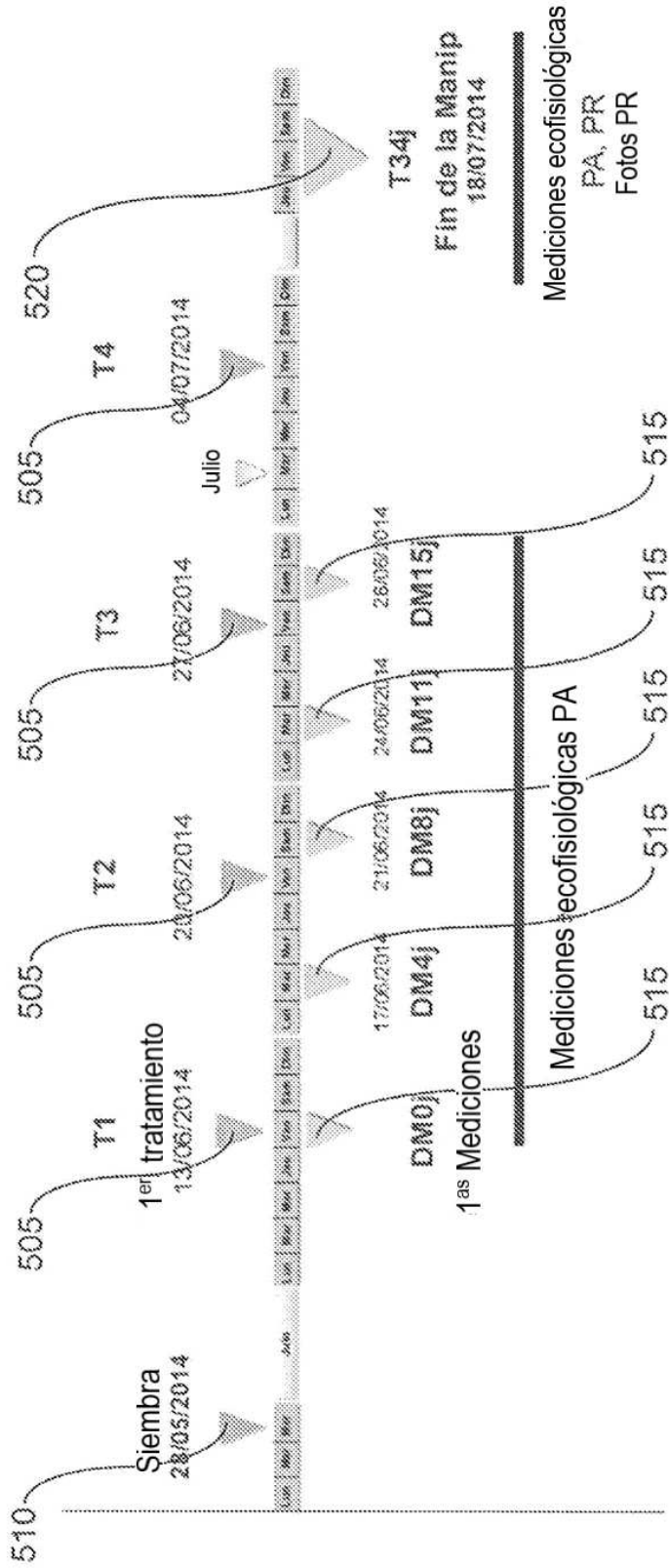


Figura 20

	DM4J	DM11J	DM34J
Tamaño medio de la parte aérea (cm)	C=31.42 b A=37.14 a	C=57.14 b A=64.28 a	C=110 b A=119.14 a
Velocidad media de crecimiento (cm.día ⁻¹)	C=1.32 b b A=2.32 a	C=2.64 b b A=3.08 a	C=2.4 b b A=2.6 a
Diámetro medio del tallo (cm)	- -	C=5.41 b T=6 a	C=5.5 b T=6.25 a
Peso de la parte aérea (g)	- -	- -	C= 30 b A= 35.5 a

Figura 21

	DM4J	DM8j	DM15j
Índice de clorofila unidades Dualex	C=26.87 b	C=30.62 b	C=34.37 b
	A=28.12 a,b	A=33.12 a,b	A=37.87 a
	P=29.37 a	P=33.75 a	P=35 b
Índice de flavonoles unidades Dualex	C=0.64 b	C=0.77 b	C=0.71 b
	A=0.83 a,b	A=0.81 a,b	A=0.78 a,b
	P=0.93 a	P=0.91 a	P=0.88 a

Figura 22

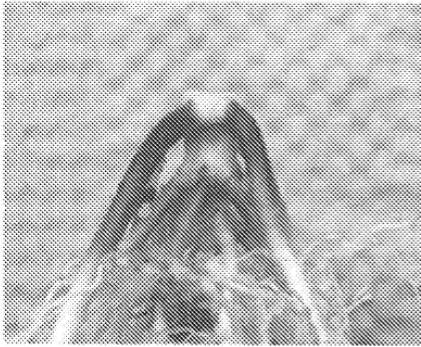


Figura 23A

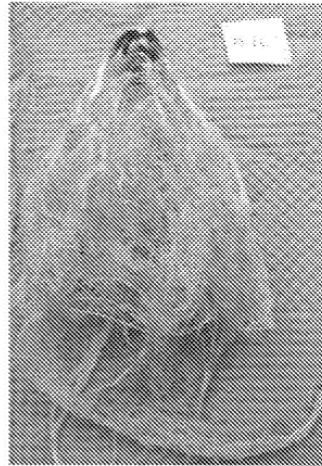


Figura 23D

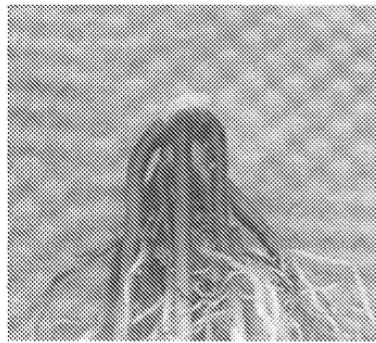


Figura 23B

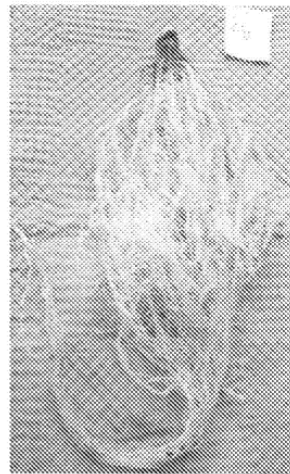


Figura 23E



Figura 23F

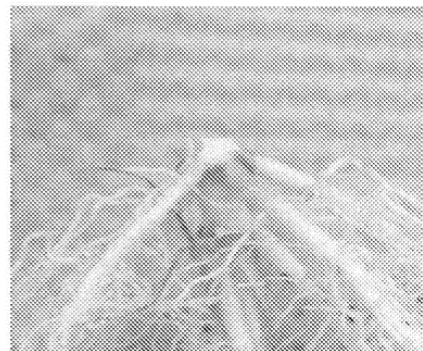


Figura 23C