

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 789 649**

51 Int. Cl.:

A01N 65/03 (2009.01)
C05F 11/00 (2006.01)
C08B 37/00 (2006.01)
C08L 5/00 (2006.01)
A01P 21/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.05.2016 PCT/IN2016/050133**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **17.11.2016 WO16181411**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.05.2016 E 16792318 (4)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.02.2020 EP 3294066**

54 Título: **Una formulación bioestimulante para mejorar el crecimiento vegetal y usos de la misma**

30 Prioridad:

10.05.2015 IN 2364CH2015

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
26.10.2020

73 Titular/es:

**SEA6 ENERGY PVT. LTD. (100.0%)
Center for Cellular and Molecular Platforms
(C-CAMP) NCBS/GKVK post Bellary Road
Karnataka Bangalore 560 065, IN**

72 Inventor/es:

**NORI, SRI SAILAJA;
KUMAR, SAWAN;
KHANDELWAL, SACHIN y
SURYANARAYAN, SHRIKUMAR**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 789 649 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

Una formulación bioestimulante para mejorar el crecimiento vegetal y usos de la misma

5 Campo de la invención

La presente divulgación se refiere al campo de la biología vegetal. La presente divulgación proporciona una formulación bioestimulante obtenida de jugo y pulpa extraída de jugo de al menos una especie de alga marina que es útil en la promoción del crecimiento vegetal.

10

Antecedentes de la invención

Los bioestimulantes basados en algas marinas para mejorar el crecimiento de las plantas se conocen desde hace mucho tiempo. Los extractos y suspensiones de algas marinas han logrado un uso y un mercado más amplios que las algas y la harina de algas. Las especies de algas usadas son en su mayoría templadas, que crecen en aguas más frías. Varias revisiones han cubierto el uso de extractos de algas marinas para la agricultura (Khan et al. J. Plant Growth Regu.I (2009) 28:386-399; Craigie et al - J Appl Phycol (2011) 23:371-393).

Los bioestimulantes actualmente están hechos principalmente de algas marrones, aunque la especie varía entre países. Algunos se hacen por extracción alcalina de las algas y cualquier cosa que no se disuelva se retira por filtración (por ejemplo, Maxicrop y Seasol). Otros son suspensiones de partículas muy finas de algas (Goemill y Kelpak 66). Para Goemill, el alga (*Ascophyllum*) se enjuaga, se congela a -25 °C, se tritura en partículas muy finas y se homogeneiza; el resultado es un producto cremoso con partículas de 6-10 micrómetros; todo del alga está en el producto. Pueden añadirse otros productos químicos para mejorar el producto para aplicaciones particulares. Kelpak apareció por primera vez en 1983 y los creadores dicen que está hecho de *Ecklonia maxima* mediante un procedimiento de estallido celular que no implica el uso de calor, productos químicos o deshidratación. Las plantas frescas se recolectan cortando de las rocas en el estípite (tallo) y después se reducen progresivamente en tamaño de partícula usando equipos de molienda en húmedo. Estas pequeñas partículas finalmente pasan a una presión extremadamente alta a una cámara de baja presión para que se cizallen y se disgreguen, dando un concentrado líquido. (McHugh, D. 2003. A guide to the seaweed industry página 92).

La patente de EE.UU. N.º 6.893.479 y su equivalente indica un proceso por el cual las algas rojas frescas *Kappaphycus alvarezii* pueden usarse para producir un biofertilizante usando la parte del jugo de las algas rojas como estimulante del crecimiento. La parte sólida de las algas se seca y se convierte en carragenano. Esta patente no contempla el uso del residuo sólido (carragenano) como bioestimulante. Otras formulaciones que promueven el crecimiento de las plantas que comprenden el jugo de las algas rojas *Kappaphycus alvarezii* se conocen de Rathore et al., South African J Botany 2009, 75, 351-355, Zodape et al, Int J Plant Prod 2009, 97-101 y Kosalaraman et al, J. Agri Sci Techn 2014, 4, 621-631.

El documento US 2010/173779 A1, el documento US2011/0099898 A1 y sus equivalentes indican un proceso donde se ha demostrado que los polímeros de oligo carragenano de aproximadamente 20 unidades de galactosa sulfatada obtenidas a partir de carragenano derivado de especies de algas marinas tienen efectos promotores del crecimiento y de defensa contra los patógenos.

45 Sumario de la invención

En un aspecto de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante para mejorar el crecimiento vegetal que comprende a) jugo obtenido de al menos una especie de alga marina; y b) hidrolizado obtenido de al menos una pulpa de especie de alga marina, en donde el hidrolizado se obtiene de la pulpa después de que se haya extraído el jugo de la pulpa.

En un aspecto de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante que comprende a) jugo obtenido de al menos una especie de alga marina; y b) hidrolizado obtenido de al menos una pulpa de especie de alga marina, en donde el hidrolizado se obtiene de la pulpa después de que se haya extraído el jugo de la pulpa, comprendiendo dicho método las etapas de: i) obtener al menos una especie de alga marina; ii) procesar dicha especie de alga para obtener jugo y pulpa de algas, en donde la pulpa se obtiene después de extraer el jugo; iii) someter la pulpa a hidrólisis para obtener un hidrolizado, comprendiendo dicha hidrólisis las etapas de: (1) diluir la pulpa con al menos un diluyente para obtener sólidos en suspensión que tienen un porcentaje en peso en el intervalo del 5-15 %; (2) ajustar el pH de los sólidos en suspensión a un intervalo de 1-3,5; (3) ajustar la temperatura a un intervalo de 60 °C-140 °C a una velocidad de 1-5 °C por minuto en agitación constante; y (4) mantener la temperatura durante 5-300 minutos para obtener dicho hidrolizado; iv) concentrar el hidrolizado hasta un brix final en el intervalo de 17-24 Bx; y v) mezclar dicho jugo e hidrolizar para obtener una formulación bioestimulante.

En un aspecto de la presente divulgación, se proporciona un método de tratamiento de plantas para promover el crecimiento, comprendiendo dicho método las etapas de: a) obtener una formulación bioestimulante que comprende i) jugo obtenido de al menos una especie de alga marina; y ii) hidrolizado obtenido de al menos una pulpa de especie

de alga marina, en donde el hidrolizado se obtiene de la pulpa después de que se haya extraído el jugo de la pulpa, y b) poner en contacto dicha formulación bioestimulante con una planta o parte de la misma, incluyendo semillas, en donde dicho método promueve el crecimiento vegetal.

5 En un aspecto de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante que comprende a) jugo obtenido de al menos una especie de alga marina; y b) hidrolizado obtenido de al menos una pulpa de especie de alga marina, en donde el hidrolizado se obtiene de la pulpa después de que se haya extraído el jugo de la pulpa para el hidrolizado obtenido de al menos una pulpa de especie de alga marina, en donde el hidrolizado se obtiene de la pulpa después de que se haya extraído el jugo de la pulpa.

10 Estos y otros rasgos, aspectos y ventajas de la presente materia objeto se entenderán mejor con referencia a la siguiente descripción y reivindicaciones adjuntas. Este sumario se proporciona para presentar una selección de conceptos en una forma simplificada. Este sumario no pretende identificar rasgos clave o rasgos esenciales de la materia objeto reivindicada, ni pretende que se use como limitante del alcance de la materia objeto reivindicada.

15 Breve descripción de los dibujos adjuntos

Los siguientes dibujos forman parte de la presente memoria descriptiva y se incluyen para ilustrar adicionalmente aspectos de la presente divulgación. La divulgación puede entenderse mejor haciendo referencia a los dibujos en combinación con la descripción detallada de las realizaciones específicas presentadas en el presente documento.

20 La Figura 1 representa el cromatograma de hidrolizado obtenido de la hidrólisis controlada de jugo de algas extraídas de pulpa de *Kappaphycus alvarezii* (*cottonii*), de acuerdo con una realización de la presente divulgación.

25 La Figura 2 representa la representación gráfica del efecto de una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento en la longitud de la raíz de las plántulas de maíz, de acuerdo con una realización de la presente divulgación.

30 La Figura 3 representa la representación gráfica del efecto de una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento sobre la longitud del brote de semillas de gramo de caballo, de acuerdo con una realización de la presente divulgación.

35 La Figura 4 representa la representación gráfica del efecto de una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento en la expansión del cotiledón de pepino, de acuerdo con una realización de la presente divulgación.

40 La Figura 5 representa la representación gráfica del efecto de una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento sobre la longitud del brote de plántula de maíz, de acuerdo con una realización de la presente divulgación.

45 La Figura 6 representa el cromatograma de hidrolizado obtenido de la hidrólisis controlada de jugo extraído de pulpa de *Eucheuma denticulatum* (*spinosum*), de acuerdo con una realización de esta divulgación.

Descripción detallada de la invención

Definiciones

50 Por conveniencia, antes de una descripción adicional de la presente divulgación, se recogen aquí determinados términos empleados en la memoria descriptiva y ejemplos. Estas definiciones deben leerse a la luz del resto de la divulgación y entenderse por un experto en la materia. Los términos utilizados en este documento tienen los significados reconocidos y conocidos por los expertos en la materia, sin embargo, por conveniencia e integridad, los términos particulares y sus significados se exponen a continuación.

55 Los artículos "un", "uno/una" y "el/la" se usan para hacer referencia a uno o más de uno (es decir, al menos uno) del objeto gramatical del artículo.

Los términos "comprender" y "que comprende" se utilizan en el sentido inclusivo, abierto, lo que significa que pueden incluirse elementos adicionales. No pretenden interpretarse como "consiste solo en".

60 A lo largo de toda la presente memoria descriptiva, a menos que el contexto requiera lo contrario, la palabra "comprender" y variaciones tales como "comprende" y "que comprende", se entenderá que implica la inclusión de un elemento citado o de etapa, o grupo de elementos o de etapas, pero no la exclusión de ningún otro elemento integrante o etapa, o grupo de elementos o de etapas.

65 El término "incluyendo" se utiliza para significar "incluyendo pero no limitado a". "Incluyendo" e "incluyendo pero no limitado a" se usan indistintamente.

5 A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que el que entiende comúnmente una persona normalmente experta en la materia a la cual pertenece la presente divulgación. Aunque puede usarse cualquier método y material similar o equivalente a aquellos descritos en el presente documento en la práctica o ensayo de la presente divulgación, ahora se describen los métodos y materiales preferidos.

10 Una composición que comprende "actividad sinérgica" o una "composición sinérgica" es una combinación de compuestos que exhibe una actividad biológica o funcional aumentada como un múltiplo no lineal de la actividad biológica o funcional de los compuestos individuales. En otras palabras, la actividad biológica o funcional combinada de dos o más compuestos que se prueban es significativamente mayor que el resultado esperado en función de los efectos independientes de los compuestos cuando se prueban por separado. La sinergia puede ser evidente solo en algunos intervalos o concentraciones. También, la combinación sinérgica de los compuestos puede ser diferente para los diferentes tipos de efectos biológicos que se están probando, por ejemplo, aumento de la longitud del brote, aumento de la longitud de la raíz o expansión o rendimiento de la hoja, etc.

20 La frase "pulpa extraída de jugo" se refiere a la pulpa de algas que queda después de que el jugo ha sido extraído de las algas por cualquiera o una combinación de procesos o procesos convencionales como se describe en la presente memoria descriptiva.

El alcance de la presente divulgación no debe limitarse a las realizaciones específicas descritas en el presente documento, que pretenden destinarse solamente para fines de ejemplificación.

25 En una realización de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante para mejorar el crecimiento de las plantas que comprende: a) jugo obtenido de al menos una especie de alga marina; y b) hidrolizado obtenido de al menos una pulpa de especie de alga marina, en donde el hidrolizado se obtiene de la pulpa después de que se haya extraído el jugo de la pulpa.

30 En una realización de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicha especie de alga es un alga roja.

35 En una realización de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicha alga marina se selecciona del grupo que consiste en *Kappaphycus striatus*, *Euचेuma cottonii*, *Euचेuma denticulatum (spinosum)*, *Halymenia durvillaea*, *Kappaphycus alvarezii*, *Chondrus crispus*, *Halymenia durvillei*, *Porphyra purpurea*, *Euचेuma denticulatum*, *Euचेuma isiforme*, *Hypnea musciformis*, *Solieria filiformis*, *Mastocarpus stellatus*, *Porphyra capensis*, *Gracillaria sp.* y combinaciones de los mismos.

40 En una realización de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicha alga marina es *Halymenia durvillaea*.

En una realización de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicha alga marina es *Kappaphycus alvarezii*.

45 En una realización de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicha alga marina es *Chondrus crispus*.

En una realización de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicha alga marina es *Halymenia durvillei*.

50 En una realización de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicha alga marina es *Porphyra purpurea*.

55 En una realización de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicha alga marina es *Euचेuma denticulatum*.

En una realización de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicha alga marina es *Euचेuma isiforme*.

60 En una realización de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicha alga marina es *Hypnea musciformis*.

En una realización de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicha alga marina es *Solieria filiformis*.

65 En una realización de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicha alga marina es *Mastocarpus stellatus*.

En una realización de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicha alga marina es *Porphyra capensis*.

5 En una realización de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicha alga marina es *Kappaphycus striatus*.

En una realización de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicha alga marina es *Euचेuma cottonii*.

10 En una realización de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicha alga marina es *Euचेuma spinosum*.

15 En una realización de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicha alga marina es una combinación de *Euचेuma denticulatum* y *Kappaphycus striatus*.

20 En una realización de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicha alga marina es una combinación de algas marinas seleccionadas del grupo que consiste en *Kappaphycus striatus*, *Euचेuma cottonii*, *Euचेuma spinosum*, *Halymenia durvillaea*, *Kappaphycus alvarezii*, *Chondrus crispus*, *Halymenia durvillei*, *Porphyra purpurea*, *Euचेuma denticulatum*, *Euचेuma isiforme*, *Hypnea musciformis*, *Solieria filiformis*, *Mastocarpus stellatus*, *Porphyra capensis árida*, especies de *Gracillaria*.

25 En una realización de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicho intervalo brix del jugo es de 15-27 Bx.

En una realización de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicho intervalo brix del jugo es de 20-27 Bx.

30 En una realización de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicho brix del jugo es 25 Bx.

35 En una realización de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde en dicha formulación, la relación p/p de iones de potasio (K) a sodio (Na) está en el intervalo de 1,5: 1 a 15: 1.

40 En una realización de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde en dicha formulación, la relación p/p de iones de potasio (K) a sodio (Na) es al menos 2: 1

En una realización de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde en dicha formulación, la relación p/p de iones de potasio (K) a sodio (Na) es 2,7: 1.

45 En una realización de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde en dicha formulación, la relación p/p de iones de potasio (K) a sodio (Na) es 4,8: 1.

50 En una realización de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicho hidrolizado comprende galacto-oligosacáridos sulfatados solubles que tienen un peso molecular que varía de 400-1000 Da.

En una realización de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicho hidrolizado comprende galacto-oligosacáridos sulfatados solubles que tienen un peso molecular que varía de 400-5000 Da.

55 En una realización de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicho hidrolizado comprende galacto-oligosacáridos sulfatados solubles que tienen un grado de polimerización en el intervalo de 2 a 16.

60 En una realización de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicho brix de la formulación bioestimulante está en el intervalo de 10-25 Bx.

65 En una realización de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicha concentración de carbohidrato total de formulación de bioestimulante está en el intervalo de 5-100 mg/ml.

En una realización de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante como se describe en el

presente documento, en donde la proporción de jugo a hidrolizado p/p en dicha formulación está en el intervalo de 1: 1-9: 1.

5 En una realización de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde la relación p/p de jugo a hidrolizado en dicha formulación es 4: 1.

En una realización de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, que comprende además vehículos, diluyentes y excipientes adecuados.

10 En una realización de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dichos vehículos, diluyentes y excipientes adecuados, pueden ser, pero no se limitan a sales tales como cloruro potásico, sulfato potásico, citrato potásico, sulfato sódico, metabisulfito sódico, citrato sódico, carbonato cálcico, fosfato cálcico, maltodextrina, yeso, bentonita, agua, azúcar, benzoato sódico, sorbato potásico, etanol, butanol, alcohol isopropílico, ácido acético, ácido láctico y combinaciones de los mismos.

15 En una realización de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicha formulación está en forma de un líquido.

20 En una realización de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicha formulación está en forma de polvo.

25 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, comprendiendo dicho método las etapas de: a) obtener al menos una especie de alga marina; b) procesar dicha especie de alga para obtener jugo y pulpa de algas, en donde la pulpa se obtiene después de extraer el jugo; c) someter la pulpa a hidrólisis para obtener un hidrolizado, comprendiendo dicha hidrólisis las etapas de: (i) diluir la pulpa con al menos un diluyente para obtener sólidos en suspensión que tienen un porcentaje en peso en el intervalo del 5-15 %; (ii) ajustar el pH de los sólidos en suspensión a un intervalo de 1-3,5; (iii) ajustar la temperatura a un intervalo de 60 °C-140 °C a una velocidad de 1-5 °C por minuto en agitación constante; y (iv) mantener la temperatura durante 5-300 minutos para obtener dicho hidrolizado; d) concentrar el hidrolizado hasta un brix final en el intervalo de 17-24 Bx; y e) mezclar dicho jugo e hidrolizar para obtener una formulación bioestimulante.

35 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicha especie de alga es un alga roja.

40 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicha especie de alga marina se selecciona del grupo que consiste en *Kappaphycus striatus*, *Euचेuma cottonii*, *Euचेuma spinosum*, *Halymenia durvillaea*, *Kappaphycus alvarezii*, *Chondrus crispus*, *Halymenia durvillei*, *Porphyra purpurea*, *Euचेuma denticulatum*, *Euचेuma isiforme*, *Hypnea musciformis*, *Solieria filiformis*, *Mastocarpus stellatus*, *Porphyra capensis* y combinaciones de los mismos.

En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicha especie de alga marina es *Kappaphycus striatus*.

45 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicha especie de alga marina son *Euचेuma cottonii*.

En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicha especie de alga marina es *Euचेuma spinosum*.

50 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicha alga marina es *Halymenia durvillaea*.

55 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicha alga marina es *Kappaphycus alvarezii*.

En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicha alga marina es *Chondrus crispus*.

60 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicha alga marina es *Halymenia durvillei*.

En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicha alga marina es *Porphyra purpurea*.

65 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante

como se describe en el presente documento, en donde dicha alga marina es *Eucheuma denticulatum*.

En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicha alga marina es *Eucheuma isiforme*.

5 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicha alga marina es *Hypnea musciformis*.

10 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicha alga marina es *Solieria filiformis*.

En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicha alga marina es *Mastocarpus stellatus*.

15 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicha alga marina es *Porphyra capensis*.

20 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicha alga marina es una combinación de *Eucheuma denticulatum* y *Kappaphycus striatus*.

En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde la concentración de jugo está en el intervalo de 15-27 Bx.

25 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde la concentración de jugo está en el intervalo de 20-27 Bx.

En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde la concentración de jugo es 25 Bx.

30 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde la concentración de sólidos en suspensión está en el intervalo del 5-15 %.

35 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde la concentración de sólidos suspendidos es del 10 %.

En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde el pH de los sólidos en suspensión es inferior a 4.

40 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde el pH de los sólidos en suspensión es inferior a 3.

45 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde el pH de los sólidos en suspensión está en el intervalo de 1,5-2.

50 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde la temperatura de mantenimiento de los sólidos en suspensión está en el intervalo de 90 °C-95 °C.

En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde la temperatura de mantenimiento de los sólidos en suspensión es 140 °C.

55 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde la temperatura de mantenimiento de los sólidos en suspensión es 60 °C.

60 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde la temperatura de los sólidos suspendidos se eleva a la temperatura de mantenimiento a una velocidad de 1 -5 °C/minuto.

65 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde la temperatura inicial de los sólidos en suspensión está en el intervalo de 20-25 °C.

- 5 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde los sólidos suspendidos a 120 °C se mantienen durante 20 minutos a un pH de 2,8.
- 10 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde los sólidos suspendidos a 90-95 °C se mantienen durante 120 minutos a un pH de 3,2.
- 15 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde los sólidos suspendidos a 60 °C se mantienen durante 180 minutos a un pH inferior a 3,5.
- 20 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicho al menos un diluyente se selecciona del grupo que consiste en agua blanda, agua dura, agua de mar y combinaciones de las mismas.
- 25 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicho al menos un diluyente es agua blanda.
- 30 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicho al menos un diluyente es agua dura.
- 35 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicho al menos un diluyente es agua de mar.
- 40 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicho al menos un diluyente es una mezcla de agua blanda, agua dura y agua de mar.
- 45 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicho hidrolizado comprende galacto-oligosacáridos sulfatados solubles que tienen un peso molecular que varía de 400-10000 Da.
- 50 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicho hidrolizado comprende galacto-oligosacáridos sulfatados solubles que tienen un peso molecular que varía de 400-5000 Da.
- 55 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicho hidrolizado comprende galacto-oligosacáridos sulfatados solubles que tienen un grado de polimerización en el intervalo de 2-16.
- 60 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde la relación p/p de jugo a hidrolizado está en el intervalo de 1:9-15:1.
- 65 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde la relación p/p jugo a hidrolizado 4: 1.
- 70 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método para preparar una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento, en donde dicha formulación bioestimulante comprende además vehículos, diluyentes y excipientes adecuados.
- 75 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método de tratamiento de plantas para promover el crecimiento, comprendiendo dicho método: (a) obtener una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento; y (b) poner en contacto dicha formulación bioestimulante con una planta o partes de la misma, incluyendo semillas, en donde dicho método promueve el crecimiento vegetal.
- 80 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método de tratamiento de plantas para promover el crecimiento, en donde dicho método aumenta el rendimiento.
- 85 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método de tratamiento de plantas para promover el crecimiento, en donde dicho método aumenta la longitud de la raíz.
- 90 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método de tratamiento de plantas para promover el crecimiento, en donde dicho método aumenta la longitud del brote.

En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método de tratamiento de plantas para promover el crecimiento, en donde dicho método aumenta el área foliar.

- 5 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un método de tratamiento de plantas para promover el crecimiento, en donde dicho método acelera la maduración de la planta.

10 En una realización de la presente divulgación, se proporciona una formulación bioestimulante como se describe en el presente documento para su uso en la promoción del crecimiento vegetal, dicho crecimiento vegetal puede ser rendimiento aumentado, longitud de la raíz aumentada, área foliar aumentada, crecimiento de los brotes aumentado, maduración temprana y combinaciones de los mismos.

15 Aunque la materia objeto se ha descrito con considerable detalle con referencia a ciertas realizaciones preferidas de la misma, son posibles otras realizaciones.

Ejemplos

20 La divulgación se ilustrará ahora con ejemplos funcionales, que pretenden ilustrar el funcionamiento de la divulgación y no pretende tomarse restrictivamente para implicar ninguna limitación en el alcance de la presente divulgación. A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que el que entiende normalmente un experto habitual en la materia a la que pertenece esta divulgación. Aunque pueden usarse métodos y materiales similares o equivalentes a aquellos descritos en el presente documento en la práctica de los métodos y composiciones desvelados, los métodos, dispositivos y materiales ejemplares se describen en el presente documento. Debe entenderse que la presente divulgación no se limita a métodos ni condiciones experimentales particulares descritos, ya que dichos métodos y condiciones pueden variar.

Ejemplo 1

30 Separación de alga marina *Kappaphycus striatus* (sacol) en jugo y pulpa extraída de jugo

35 1 kg de alga *Kappaphycus striatus* (sacol) fresca se obtuvo de la isla de Makassar en Indonesia y se procesó a través de un exprimidor centrífugo de laboratorio. El exprimidor centrífugo está equipado con un recipiente rotativo perforado con dientes afilados. Las algas enteras entran en contacto con el recipiente giratorio y se separan inmediatamente en jugo y pulpa extraída del jugo sin formar una suspensión intermedia. La pulpa extraída del jugo de algas marinas y el jugo de algas marinas se recogieron por separado de manera continua de dos salidas diferentes del equipo. La cantidad recogida de pulpa extraída de jugo fue de 350 g y la cantidad recogida de jugo fue de 650 g. El contenido de humedad de la pulpa extraída del jugo fue del 80 % y el Brix del jugo fue del 5 %.

Ejemplo 2

40 Separación de alga *Spinsum* en jugo y pulpa extraída de jugo

45 1 kg de *Euचेuma denticulatum* (*Spinsum*) se obtuvo de la isla de Zanzibar en Tanzania empaquetada en una bolsa de plástico transparente y expuesta al sol durante 4-1 Oh. El jugo lixiviado de la biomasa se recogió en una bolsa, dejando intactas algas enteras y sin formar ninguna suspensión. A partir de 1 kg de *Spinsum* fresco, se obtuvieron 800 g de pulpa extraída de jugo y 200 g de jugo.

Ejemplo 3

50 Concentración de jugo de algas (SWJ, del inglés "seaweed juice")

55 Se concentraron 150 ml de jugo de alga marina *Spinsum* fresca del Ejemplo 2 (aproximadamente 4,5 Bx) usando un evaporador rotativo mantenido al vacío de 680 mm de Hg a aproximadamente 30 ml. El matraz de evaporación se mantuvo a 65 °C y el condensador vertical se mantuvo a 4 °C haciendo circular agua a través del refrigerador. El Brix del jugo concentrado final fue de 22 Bx. En otro experimento similar, 1 kg de alga *Kappaphycus alvarezii* (*cottonii*) se separó en jugo y pulpa por los métodos en el Ejemplo 1. Se concentraron 250 ml de jugo (aprox. 5 Bx) en un evaporador rotatorio de vacío hasta un Bx final de 25.

60 Los jugos concentrados de *spinsum* y *cottonii* se enviaron para un análisis elemental que mostró la siguiente composición como se muestra a continuación en la Tabla 1 (g/kg).

Tabla 1

Variedad de algas	Spinosum		Cottonii	
	Conc g/kg	Relación K/Elemento	Conc g/kg	Relación K/Elemento
Potasio (K)	36,00	1	37,5	1
Sodio	13,10	2,7	7,8	4,8
Calcio	1,90	18,9	2,0	18,6
Magnesio	3,00	12	1,6	23,4
Fósforo	0,34	105,9	0,18	208,3
Azufre	4,0	9	7,5	5
Hierro	0,02	1800	0,01	3750

Del análisis anterior puede verse que, independientemente de las especies de algas, el potasio es el elemento más abundante presente en el jugo concentrado. También puede verse que la relación de potasio es más de 2 veces la del siguiente elemento más abundante, sodio.

Ejemplo 4

Estabilidad del concentrado de jugo

Tanto el jugo de concentración única (5 Bx) como el jugo concentrado (25 Bx) del Ejemplo 3 se dividieron en alícuotas en 100 ml de matraz Erlenmeyer con tapa de rosca. Los matraces se incubaron a 25 °C en un agitador rotativo ajustado a 100 rpm. Después de una semana de incubación, se observó que el jugo de concentración única tenía un olor desagradable que indicaba su deterioro debido a la contaminación microbiana. Sin embargo, el jugo concentrado no tenía mal olor, indicando que era estable.

Ejemplo 5

Hidrólisis controlada de pulpa extraída de jugo

1 kg de fresco *Kappaphycus alvarezii* (cottonii) obtenido de la isla Makassar en Indonesia se procesó como se describe en el Ejemplo 1. La pulpa obtenida después de la extracción del jugo se mezcló con agua para obtener sólidos en suspensión con una concentración del 10 %. El pH de la pulpa de alga se redujo usando ácido a 2,5, y la temperatura se aumentó gradualmente a aproximadamente 121 °C usando un autoclave de manera paso a paso. La mezcla se mantuvo entre 120-122 °C durante aproximadamente 15 minutos en condiciones de agitación constante. La hidrólisis se detuvo enfriando la mezcla de reacción. Se inyectó una muestra en la HPLC y se obtuvo un patrón en escala de oligosacáridos como se muestra en la Figura 1.

En otro experimento, se preparó una suspensión equivalente al 10 % de sólidos secos de pulpa (después de la extracción del jugo) de *Eucheuma denticulatum* (Spinosum) obtenido como se describe en el ejemplo 2. El pH de la suspensión se redujo usando HCL 0,05 M a 3,5 y la suspensión se calentó gradualmente a 93 °C y se mantuvo durante 5 h entre 90 y 95 °C. Se tomaron muestras de la mezcla a intervalos de tiempo regulares y se ensayaron usando un sistema de HPLC. La hidrólisis se detuvo enfriando la mezcla de reacción. Se detectó un patrón en escala de oligosacáridos como se muestra en la Figura 6.

Ejemplo 6

Procedimiento analítico para verificar el hidrolizado de pulpa de algas (jugo extraído)

Las muestras obtenidas del proceso de hidrólisis como se describió anteriormente en el Ejemplo 5 se centrifugaron y el sobrenadante se analizó usando un sistema HPLC (Infinity 1200, Agilent Technologies) equipado con una columna de filtración en gel (TSKgel G2000SWXL, Tosho Bioscience) y un detector de índice de refracción. La fase móvil, acetato de amonio 0,2 M (pH 5,0) se usó a un caudal de 0,5 ml/min. Se obtuvo un patrón en escala de oligosacáridos como se muestra en la Figura 1. Este patrón corresponde a series de picos a intervalos regulares de 19 minutos a 24 minutos bajo las condiciones del análisis por HPLC. Los picos representan una longitud de cadena creciente de oligosacáridos que varía de un grado de polimerización alto a bajo.

Para la determinación del peso molecular de los oligosacáridos, la columna fue calibrada se calibró con los patrones Dextrano GPC (Sigma, n.º de Cat. 31416, 31417 y 31418). La precisión de la curva patrón se probó utilizando oligosacáridos sulfatados (sal de Neocarrabiosa-4-O-sulfato sódico; sal de Neocarratetraosa-41,43-di-O-sulfato sódico, obtenidos de Dextra UK) de peso molecular conocido. El peso molecular derivado usando la curva patrón fue preciso en aproximadamente $\pm 15\%$. Se observó que todos los picos significativos en el cromatograma se producen después de 20 minutos, lo que indica que el peso molecular es inferior a 8.500 Da.

Ejemplo 7

Concentración de hidrolizado de pulpa extraída de jugo de alga (SWO)

5 Se concentraron 300 ml de hidrolizado que contiene oligosacárido obtenido del Experimento 5 (típicamente 7 Bx) usando un evaporador rotativo mantenido bajo un vacío de 680 mm de Hg a aproximadamente 100 ml. El matraz de evaporación se mantuvo a 65 °C y el condensador vertical se mantuvo a 4 °C haciendo circular agua a través del refrigerador. El Brix del hidrolizado concentrado fue de 21 Bx.

10 Ejemplo 8

Bioensayo de longitud de raíz de plántulas de maíz

15 Las plántulas de maíz se trataron con una mezcla de jugo concentrado de algas marinas (SWJ) e hidrolizado de pulpa de alga marina a la que se ha extraído el jugo concentrado (SWO) en una proporción p/p de 4: 1 (concentración de jugo de 0,8 ml/l y concentración de hidrolizado de 0,2 ml/l), o individualmente con jugo concentrado de algas (0,8 ml/l) o jugo concentrado extraído de pulpa de algas hidrolizado (0,8 ml/l). Se usó agua como control. Los resultados se dan a continuación en la Tabla 2 en formato tabulado y en formato gráfico en la Figura 2.

20

Tabla 2

Tratamiento	relación p/p	Longitud de la raíz (cm)	Concentración (ml/l)	
			SWJ	SWO
Control	-	18,45±3,18 (0 %)	0	0
SWJ: SWO 4: 1 25,5±3,06 (38,21 %) 0,8 0,2				
SWJ - 19 ± 4,74 (2,98 %) 0,8 0 swo - 22,4 ± 3,34 (21,41 %) 0 0,8				

25 Como se observa en la Figura 2 y la Tabla 2, el aumento en la longitud media de la raíz sobre el control fue significativamente mayor cuando se usaron SWJ y SWO en una mezcla (38,21 %) en comparación con el efecto de SWJ o SWO solos. SWJ solo dio un aumento del 2,98 % sobre el control, mientras que SWO dio un aumento del 21,41 % sobre el control. El efecto aditivo de ambos componentes teóricamente habría sido del 24,39 %, que es mucho menor que el efecto obtenido cuando ambos se usan juntos como se observa, lo que significa de esta manera un efecto sinérgico sorprendente e inesperado.

30 Ejemplo 9

Bioensayo de longitud de brote de semilla de gramo de caballo

35 Las semillas de gramo de caballo se trataron con una mezcla de jugo concentrado de algas marinas (SWJ) e hidrolizado de pulpa de alga marina a la que se ha extraído el jugo concentrado (SWO) en una proporción p/p de 4: 1 (concentración de jugo de 0,8 ml/l y concentración de hidrolizado de 0,2 ml/l), o individualmente con jugo concentrado de algas (0,8 ml/l) o jugo concentrado extraído de pulpa de algas hidrolizado (0,8 ml/l). Se usó agua como control. Los resultados se dan a continuación en la Tabla 3 en formato tabulado y en formato gráfico en la Figura 3.

Tabla 3

Tratamiento	relación p/p	longitud del brote (cm)	Concentración (ml/l)	
			SWJ	SWO
Control	-	6,71±0,86 (0 %)	0	0
SWJ:SWO	4:1	7,32±0,95 (9,13 %)	0,8	0,2
SWJ	-	6,68±1,06 (-0,45 %)	0,8	0
SWO	-	6,93±1,54 (3,34 %)	0	0,8

40 Como se observa en la Figura 3 y la Tabla 3, el aumento en la longitud media del brotes obre el control fue significativamente mayor cuando se usaron SWJ y SWO en una mezcla (9,13 %) en comparación con el efecto de SWJ o SWO solos. SWJ solo dio un aumento negativo del 0,45 % sobre el control, mientras que SWO dio un aumento del 3,34 % sobre el control. El efecto aditivo de ambos componentes teóricamente habría sido del 2,89 %, que es mucho menor que el efecto obtenido cuando ambos se usan juntos como se observa, lo que significa de esta manera un efecto sinérgico sorprendente e inesperado.

45 Ejemplo 10

50 Bioensayo de expansión de cotiledón de pepino

Los cotiledones de pepino se trataron con una mezcla de jugo concentrado de algas marinas (SWJ) e hidrolizado de

pulpa de alga marina a la que se ha extraído el jugo concentrado (SWO) en una proporción p/p de 4: 1 (concentración de jugo de 0,8 ml/l y concentración de hidrolizado de 0,2 ml/l), o individualmente con jugo concentrado de algas (0,8 ml/l) o jugo concentrado extraído de pulpa de algas hidrolizado (0,8 ml/l). Se usó agua como control. Los resultados se dan a continuación en la Tabla 4 en formato tabulado y en formato gráfico en la Figura 4.

5

Tabla 4

Tratamiento	relación p/p	Expansión del cotiledón (cm ²)	Concentración (ml/l)	
			SWJ	SWO
Control	-	0,83±0,14 (0 %)	0	0
SWJ:SWO	4:1	1,58±0,23 (90,36 %)	0,8	0,2
SWJ	-	0,96±0,07 (15,66 %)	0,8	0
SWO	-	1,26±0,10 (51,81 %)	0	0,8

Como se observa en la Figura 4 y la Tabla 4, el aumento en el cotiledón medio sobre el control fue significativamente mayor cuando se usaron SWJ y SWO en una mezcla (90,36 %) en comparación con el efecto de SWJ o SWO solos. SWJ solo dio un aumento del 15,66 % sobre el control, mientras que SWO dio un aumento del 51,81 % sobre el control. El efecto aditivo de ambos componentes teóricamente habría sido del 67,47 %, que es mucho menor que el efecto obtenido cuando ambos se usan juntos como se observa, lo que significa de esta manera un efecto sinérgico sorprendente e inesperado.

Ejemplo 11

Secado por pulverización para obtener un producto bioestimulante en polvo

El jugo concentrado de *Eucheuma cottonii* de Indonesia (con un Brix de 23) se convirtió en forma de polvo usando el secador por pulverización de forma alta FT-80 en las siguientes condiciones: Temperatura de entrada 174 °C y temperatura de salida 84 °C.

Las formulaciones bioestimulantes se prepararon mezclando SWJ y SWO en las proporciones de peso apropiadas (1: 1-9: 1) y el secado por pulverización se llevaría a cabo en las condiciones similares mencionadas anteriormente para obtener las formulaciones bioestimulantes sólidas.

Ejemplo 12

Bioensayo de longitud de raíz de germinación de gramo de caballo

Las semillas de gramo de caballo se trataron con una mezcla de jugo concentrado de algas marinas (SWJ) e hidrolizado de pulpa de alga marina a la que se ha extraído el jugo concentrado (SWO) en una proporción p/p de 12: 1 (concentración de jugo de 4,0 ml/l y concentración de hidrolizado de 0,33 ml/l), o individualmente con jugo concentrado de algas marinas (4,0 ml/l) o jugo concentrado extraído de hidrolizado de pulpa de algas marinas (0,33 ml/l). Se usó agua como control. Los resultados se dan a continuación en la Tabla 5 en formato tabulado y en formato gráfico en la Figura 5.

Tabla 5

Tratamiento	relación p/p	Longitud de la raíz (cm)	Concentración (ml/l)	
			SWJ	SWO
Control	-	11,06±1,25 (0 %)	0	0
SWJ:SWO	12:1	12,88±1,37 (16,4 %)	4,0	0,33
SWJ	-	11,26±1,54 (1,8 %)	4,0	0
SWO	-	12,43±1,60 (12,4 %)	0	0,33

Como se observa en la Figura 5 y la Tabla 5, el aumento en la longitud media del brote sobre el control fue mayor cuando se usaron SWJ y SWO en una mezcla (16,4 %) en comparación con el efecto de SWJ o SWO solos. SWJ solo dio un aumento del 1,8 % sobre el control, mientras que SWO dio un aumento del 12,4 % sobre el control. El efecto aditivo de ambos componentes teóricamente habría sido del 14,2 %, que es mucho menor que el efecto obtenido cuando ambos se usan juntos como se observa, lo que significa de esta manera un efecto sinérgico sorprendente e inesperado.

Ejemplo 13

Resultados de la prueba de campo de arroz

50

Se llevó a cabo una prueba de campo con SWJ y SWO y mezclas de SWJ y SWO en diversas proporciones. Las semillas de arroz germinaron en un vivero durante 21 días y las plántulas cultivadas se trasplantaron a parcelas de campo preparadas y se rociaron con los Bioestimulantes a intervalos de 30 días y 60 días después del trasplante. Los resultados típicamente obtenidos se dan a continuación en la tabla 6.

5

Tabla 6

Tratamiento	relación p/p	Rendimiento de grano toneladas/kilómetro cuadrado (quintales/acre)	Concentración (ml/l)	
			SWJ	SWO
Control	-	437,62 [17,71 (0 %)]	0	0
SWJ:SWO	2:1	585,88 [23,71 (33,9 %)]	10	5
SWJ	-	465,29 [18,83 (6,3 %)]	10	0
SWO	-	516,69 [20,91 (18,1 %)]	0	5

Estos resultados nuevamente sirven para demostrar la sorprendente sinergia que se obtiene en el efecto bioestimulante mediante el uso del jugo de algas (SWJ) y los oligosacáridos de algas (SWO) simultáneamente en lugar de por separado. El SWJ solo da un aumento de aproximadamente el 6,3 % de aumento de rendimiento sobre el control. El SWO solo da aproximadamente el 18,1 % de aumento de rendimiento sobre el control. El efecto aditivo esperado debería haber sido del 24,1 %, pero sorprendentemente, se obtuvo un aumento del 33,9 %.

10

Ejemplo 14

15

Mezcla de SWJ de una especie con SWO de otra especie.

El jugo de *Kappaphycus striatus* (saccol) del ejemplo 1 se concentró siguiendo el método del ejemplo 3 para obtener un concentrado de jugo de algas (SWJ). Simultáneamente, el hidrolizado que contiene oligosacáridos obtenido por hidrólisis controlada de la pulpa extraída del jugo de *Eucheuma denticulatum* (spinosum) como se explica en el Ejemplo 5 se concentró como se explica en el ejemplo 7 para obtener un hidrolizado concentrado (SWO). El SWJ y el SWO se combinaron en una proporción de 1: 1 para obtener un producto Bioestimulante. El SWJ y el SWO individuales, así como la combinación, se probaron en una prueba de maceta usando plantas de tomate como cultivo de prueba. Una vez más se descubrió que el rendimiento obtenido mediante el uso de una mezcla hecha de SWJ de saccol y SWO de spinosum fue significativamente mejor que el rendimiento de los componentes individuales, una vez más demostrando el efecto sinérgico obtenido al combinar SWJ y SWO.

20

25

En general, la presente divulgación proporciona una formulación bioestimulante obtenida de al menos una especie de algas marinas que sorprendente e inesperadamente muestra un efecto sinérgico en la promoción del crecimiento de la planta cuando se aplica a la planta o partes de la misma, incluyendo las semillas. La sinergia observada se debe en parte a la composición de dicha formulación, que comprende jugo de algas marinas e hidrolizado de pulpa de algas marinas extraídas de jugo mezclado a proporciones p/p particulares. La inesperada sinergia no se ve con el tratamiento con jugo o hidrolizado solo, ni se informa previamente una combinación en la técnica anterior.

30

REIVINDICACIONES

1. Una formulación bioestimulante para mejorar el crecimiento vegetal que comprende:
- 5 a. jugo obtenido de al menos una especie de alga marina; y
b. hidrolizado obtenido de al menos una pulpa de especie de alga marina, en donde el hidrolizado se obtiene de la pulpa después de que se haya extraído el jugo de la pulpa; y en donde dicha especie de alga marina es un alga roja.
- 10 2. La formulación bioestimulante como se reivindica en la reivindicación 1, en donde dicha alga roja se selecciona del grupo que consiste en *Kappaphycus striatus*, *Eucheuma cottonii*, *Eucheuma spinosum*, *Halymenia durvillea*, *Kappaphycus alvarezii*, *Chondrus crispus*, *Halymenia durvillei*, *Porphyra purpurea*, *Eucheuma denticulatum*, *Eucheuma isiforme*, *Hypnea musciformis*, *Solieria filiformis*, *Mastocarpus stellatus*, *Porphyra capensis* y combinaciones de los mismos.
- 15 3. El bioestimulante como se reivindica en la reivindicación 2, en donde dicha alga roja es una combinación de *Eucheuma denticulatum* y *Kappaphycus striatus*.
- 20 4. La formulación bioestimulante como se reivindica en la reivindicación 1, en donde dicho intervalo brix del jugo es de 15-27 Bx.
5. La formulación bioestimulante como se reivindica en la reivindicación 1, en donde dicho hidrolizado comprende galacto-oligosacáridos sulfatados solubles que tienen un peso molecular que varía de 400-10000 Da.
- 25 6. La formulación bioestimulante como se reivindica en la reivindicación 1, en donde dicho hidrolizado comprende galacto-oligosacáridos sulfatados solubles que tienen un grado de polimerización en el intervalo de 2-16.
7. La formulación bioestimulante como se reivindica en la reivindicación 1, en donde dicho brix de la formulación bioestimulante está en el intervalo de 10-25 Bx.
- 30 8. La formulación bioestimulante como se reivindica en la reivindicación 1, en donde dicha concentración de carbohidrato de formulación de bioestimulante está en el intervalo de 5-100 mg/ml.
- 35 9. La formulación bioestimulante como se reivindica en la reivindicación 1, en donde la proporción de jugo a hidrolizado p/p en dicha formulación está en el intervalo de 1:9-15:1.
10. La formulación bioestimulante como se reivindica en la reivindicación 1, que comprende además vehículos, diluyentes y excipientes adecuados.
- 40 11. Un método para preparar una formulación bioestimulante como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 - 9, comprendiendo dicho método las etapas de:
- 45 a. obtener al menos una especie de alga roja;
b. procesar dicha especie de alga para obtener jugo y pulpa de algas, en donde la pulpa se obtiene después de extraer el jugo;
c. someter la pulpa a hidrólisis para obtener un hidrolizado, comprendiendo dicha hidrólisis las etapas de:
- 50 i. diluir la pulpa con al menos un diluyente para obtener sólidos en suspensión que tienen un porcentaje en peso en el intervalo del 5-15 %;
ii. ajustar el pH de los sólidos en suspensión a un intervalo de 1-3,5;
iii. ajustar la temperatura a un intervalo de 60 °C-140 °C a una velocidad de 1-5 °C por minuto en agitación constante; y
iv. mantener la temperatura durante 5-300 minutos para obtener dicho hidrolizado;
- 55 d. concentrar el hidrolizado hasta un brix final en el intervalo de 17-24 Bx; y
e. mezclar dicho jugo e hidrolizar para obtener una formulación bioestimulante.
- 60 12. Un método para preparar una formulación bioestimulante como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 - 10, comprendiendo dicho método:
- 65 a. llevar a cabo un método como se reivindica en la reivindicación 11 para obtener una formulación bioestimulante;
y
b. poner en contacto vehículos, diluyentes y excipientes adecuados para con dicha formulación bioestimulante, en donde dicho diluyente se selecciona del grupo que consiste en agua dura, agua blanda, agua de mar y combinaciones de las mismas.

13. Un método de tratamiento de plantas para promover el crecimiento vegetal, comprendiendo dicho método las etapas de:

- 5 a. obtener una formulación bioestimulante como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1-10; y
 b. poner en contacto dicha formulación bioestimulante con una planta o parte de la misma, incluyendo semillas, en donde dicho método promueve el crecimiento vegetal.

10 14. Un uso de formulación bioestimulante como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1-10 para promover el crecimiento vegetal, dicho crecimiento vegetal puede ser rendimiento aumentado, longitud de la raíz aumentada, área foliar aumentada, crecimiento de los brotes aumentado, maduración temprana y combinaciones de los mismos.

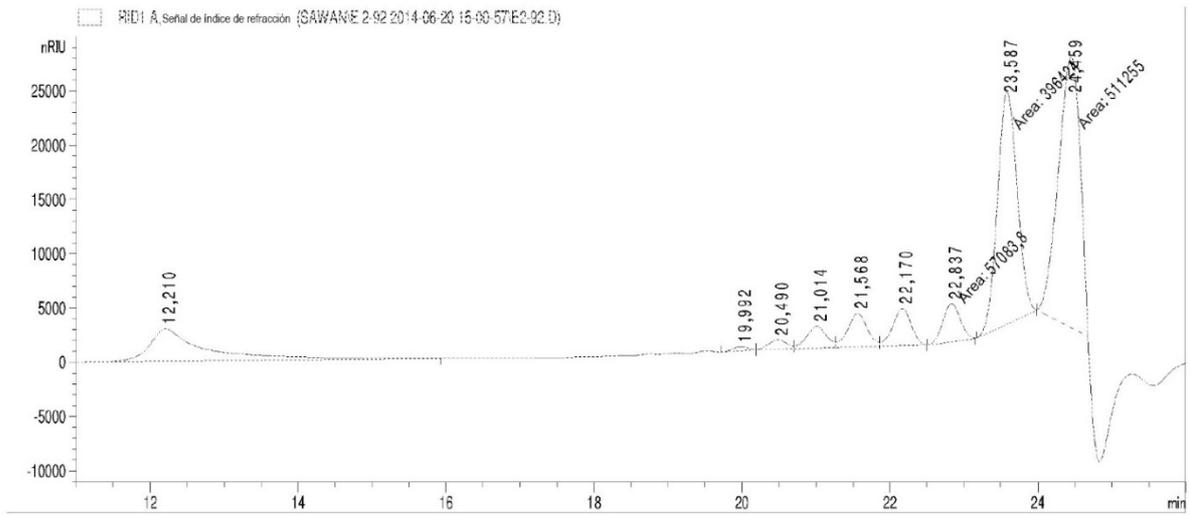


FIGURA 1

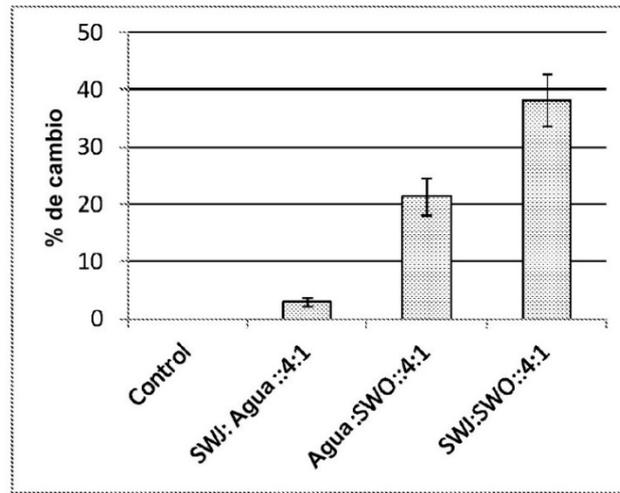


FIGURA 2

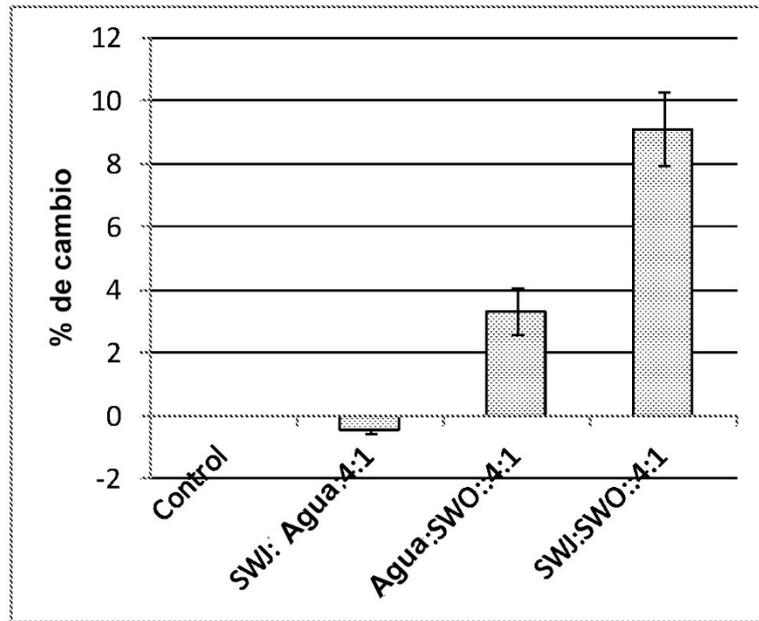


FIGURA 3

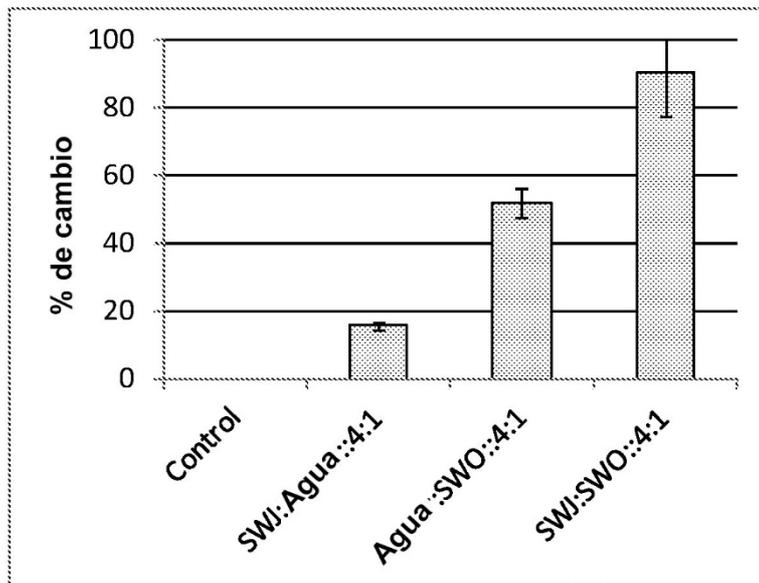


FIGURA 4

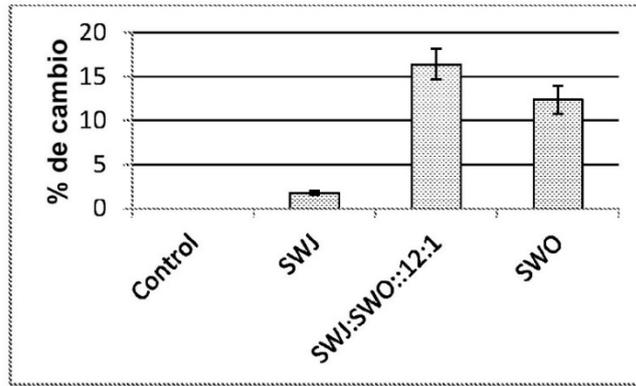


FIGURA 5

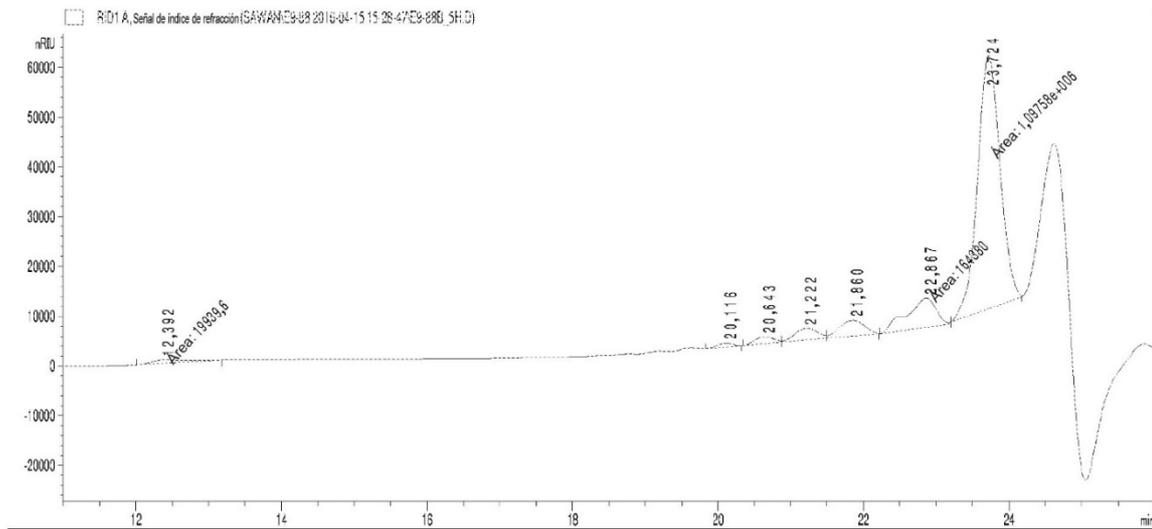


FIGURA 6