

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 981 545**

51 Int. Cl.:

C05D 9/02

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.05.2017 PCT/FR2017/051219**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.11.2017 WO17198962**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.05.2017 E 17731209 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.04.2024 EP 3458435**

54 Título: **Uso de silicio como estimulante de la absorción de nitrógeno en una planta**

30 Prioridad:

19.05.2016 FR 1654441

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

09.10.2024

73 Titular/es:

**AGRO INNOVATION INTERNATIONAL (100.0%)
18 avenue Franklin Roosevelt
35400 Saint-Malo, FR**

72 Inventor/es:

**YVIN, JEAN-CLAUDE y
ARKOUN, MUSTAPHA**

74 Agente/Representante:

ANGOLOTI BENAVIDES, Joaquín

ES 2 981 545 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 silicio como estimulante de la absorción de nitrógeno en una planta

5 Campo técnico

La invención se refiere a un nuevo uso del silicio para estimular la absorción de nitrógeno en una planta.

10 Antecedentes tecnológicos

Las plantas deben asimilar nutrientes para asegurarse un crecimiento normal. En particular, las plantas necesitan asimilar constituyentes esenciales para la síntesis de proteínas, como el nitrógeno. La mayoría de las plantas obtienen nitrógeno del suelo y utilizan este elemento para la síntesis de proteínas mediante mecanismos de absorción y de síntesis más o menos complejos. Así, el nitrógeno juega un papel determinante para los cultivos, tanto en el rendimiento como en la calidad de la producción. Por lo tanto, es indispensable proporcionar a las plantas nitrógeno en cantidad suficiente y en una forma fácilmente asimilable por la planta.

Una deficiencia de nitrógeno en la planta provoca un retraso en el crecimiento, tallos y hojas de pequeño formato, una coloración amarillenta de las hojas más viejas y a continuación una caída de las hojas. La floración y la fructificación también se ven afectadas, con frutos pequeños, de mala calidad y que maduran precozmente.

Para prevenir deficiencias de nitrógeno, la planta puede complementarse con una fuente de nitrógeno, en concreto mediante el suministro de composiciones fertilizantes que comprenden una fuente de nitrógeno. Las composiciones fertilizantes generalmente utilizadas suministrar a la planta la cantidad suficiente de nitrógeno para asegurar un crecimiento normal.

Los fertilizantes nitrogenados son de tres tipos, fertilizantes naturales de origen orgánico, fertilizantes minerales naturales o sintéticos y fertilizantes orgánicos sintéticos.

Los fertilizantes nitrogenados puestos a disposición de los agricultores se diferencian, en concreto, por su formulación (sólida, gaseosa o líquida). Algunos fertilizantes se componen de una sola forma de nitrógeno, como la urea (100 % nitrógeno ureico), el amoníaco anhidro (100 % NH_3) y el nitrato de potasio (100 % nitrógeno nítrico). Pero la mayoría de los fertilizantes tienen composiciones mixtas, es decir, comprenden varias formas de nitrógeno. Su composición influye mucho en la disponibilidad de nitrógeno para las plantas. En efecto, las formas amoniacal, nítrica y ureica se transforman a velocidades variables, determinadas por la actividad microbiológica del suelo. La urea sufre hidrólisis para asumir la forma amoniacal. Esta puede ser absorbida y retenida temporalmente en el complejo arcilloso-húmico del suelo o utilizada por los microorganismos del suelo que luego compiten con la planta. La forma amoniacal también puede evolucionar rápidamente hacia la forma nítrica tan pronto como la nitrificación esté activa en un suelo cálido, ventilado y húmedo. La forma nítrica se libera completamente en la solución del suelo y alimenta preferentemente a la planta.

Los fertilizantes nitrogenados orgánicos sintéticos son los más utilizados en la agricultura. Se comercializan varios tipos de fertilizantes nitrogenados orgánicos sintéticos, por ejemplo:

- 45 - sulfato de amonio que, cristalizado o granulado, da un abono llamado sulfato de amoníaco, a menudo dosificado con hasta un 21 % de nitrógeno;
- urea obtenida combinando amoníaco y dióxido de carbono formado durante la síntesis de amoníaco. Puede ser perlado o granulado y contiene hasta un 46 % de nitrógeno. La urea es la fuente de nitrógeno más utilizada en todo el mundo porque presenta un rendimiento de nitrógeno superior a las otras fuentes de nitrógeno;
- 50 - nitrato de amonio obtenido por reacción entre amoníaco y ácido nítrico. Este, mezclado con urea, permite obtener soluciones nitrogenadas habitualmente utilizadas en agricultura (la solución estándar se dosifica al 30 % de nitrógeno). Los amonitratos, los productos nitrogenados más utilizados en Francia y Europa, se obtienen a partir del nitrato de amonio con la adición más o menos significativa de una carga inerte (por ejemplo, carbonato de calcio o dolomita). Contienen del 21 al 33,5 % de nitrógeno total, del cual un 50 % de nitrógeno amoniacal y un
- 55 50 % de nitrógeno nítrico.

Los fertilizantes nitrogenados a menudo se combinan con productos azufrados. Mediante la adición de productos azufrados tales como el sulfato de amoníaco y/o el tiosulfato de amoníaco se obtienen fertilizantes nitrogenados azufrados cuyos títulos de nitrógeno y SO_3 se adaptan a las situaciones agronómicas. Por ejemplo, para los amonitratos, utilizando un alimento que contiene azufre (por ejemplo, sulfato de calcio y/o sulfato de magnesio) se obtienen amonitratos de azufre cuyos títulos de nitrógeno (N) y SO_3 se adaptan a las situaciones agronómicas.

También es fundamental que la planta pueda asimilar correctamente los nutrientes presentes en su entorno, en concreto el nitrógeno presente en las composiciones fertilizantes o presente de forma natural en el suelo. Así, una planta capaz de asimilar una mayor cantidad de nitrógeno será menos sensible a los riesgos de deficiencia y crecerá más rápidamente. Así, se pueden reducir las cantidades de nitrógeno en las composiciones fertilizantes, lo que puede

65 (i) presentar una ganancia financiera sustancial durante las campañas de fertilización y (ii) permitir reducir las pérdidas

de nitrógeno por lixiviación y disminuir, así, el impacto de las campañas de fertilización en el medio ambiente. SAJAL PATI ET AL: "Effect of Silicon Fertilization on Growth, Yield, and Nutrient Uptake of Rice", COMMUNICATIONS IN SOIL SCIENCE AND PLANT ANALYSIS., vol. 47, n.º 3, 4 de febrero de 2016, páginas 284-290, divulga la combinación de un abono estándar y tierra de diatomeas. D. YOGENDRA N. ET AL: "Effect of silicon on real time nitrogen management in a rice ecosystem", AFRICAN JOURNAL OF AGRICULTURAL RESEARCH, vol. 9, n.º 9, 27 de febrero de 2014, páginas 831-84, divulga la asociación de un abono que comprende nitrógeno (30 kg N ha^{-1}) en combinación con CaSiO_3 o gel de sílice.

Fawaz Kurdali ET AL: "Growth and Nitrogen Fixation in Silicon and/or Potassium Fed Chickpeas Grown under Drought and Well Watered Conditions", Journal of Stress Physiology & Biochemistry, 1 de agosto de 2013, páginas 385-406, divulga el suministro de nitrógeno en la forma de urea con silicio en forma de metasilicato de sodio.

Por lo tanto, existe una necesidad de desarrollar tratamientos que permitan estimular la absorción de nitrógeno, en concreto absorbido en forma de urea, en la planta.

Es en este contexto que el solicitante ha demostrado, y esto constituye la base de la presente invención, que el silicio permite estimular la absorción de nitrógeno, en concreto absorbido en forma de urea, en una planta.

Sumario de la invención

Así, la presente invención, que encuentra aplicación en el ámbito agrícola, tiene como objetivo proponer un nuevo uso del silicio como estimulante de la absorción de nitrógeno, en concreto absorbido en forma de urea en una planta.

De acuerdo con un primer aspecto, la invención se refiere al uso de silicio en asociación con urea, como estimulante de la absorción de nitrógeno en una planta.

De acuerdo con un segundo aspecto, la invención se refiere a un procedimiento para estimular la absorción de nitrógeno en una planta, caracterizado por que comprende el suministro a dicha planta o al suelo una cantidad eficaz de silicio en una composición fertilizante en asociación con urea.

Descripción detallada de la invención

La presente invención surge de las sorprendentes ventajas demostradas por los inventores del efecto estimulante del silicio sobre la absorción de nitrógeno, en concreto absorbido en forma de urea, en una planta.

La invención se refiere, en efecto, al uso de silicio como estimulante de la absorción de nitrógeno en una planta.

En el contexto de la presente invención, se entiende que la expresión "planta" designa la planta considerada en su conjunto, incluyendo su sistema radicular, su sistema vegetativo, granos, semillas y frutos.

El uso de silicio permite un mayor aumento (es decir, una estimulación) de la absorción de nitrógeno. Esta estimulación de la absorción permite mejorar la salud de la planta, satisfaciendo así las necesidades de crecimiento del cultivo que se expresará en concreto en términos de mejora del rendimiento y de la calidad de la cosecha. El uso del silicio de acuerdo con la invención permite también mejorar la eficacia de la fertilización reduciendo las cantidades de nitrógeno utilizadas en las composiciones fertilizantes.

En el contexto de la presente descripción, se entiende que la expresión "composición fertilizante" designa cualquier producto cuyo empleo esté destinado a asegurar o mejorar las propiedades físicas, químicas o biológicas de los suelos así como la nutrición de las plantas. Una composición de este tipo puede ser, por ejemplo, un abono aplicado por vía radicular o por vía foliar. Se sabe que los abonos se definen como materiales fertilizantes cuya función principal es aportar nutrientes (elementos fertilizantes principales, elementos fertilizantes secundarios y oligoelementos) a las plantas. El uso de composiciones fertilizantes, en concreto que contienen nitrógeno, en grandes cantidades plantea problemas en el plano ecológico. Una de las posibles respuestas a los efectos indeseables de la fertilización con nitratos (problema de lixiviación) o urea (problema de volatilización) consiste en mejorar la eficiencia de la absorción, en concreto del nitrógeno. Esto constituye una de las principales ventajas de la presente invención que resulta directamente de la estimulación de la absorción de nitrógeno, en concreto absorbido en forma de urea.

Para los fines de la invención, se entiende por "silicio" el elemento químico de símbolo Si en todas sus formas. Este comprende en concreto la sílice (también conocida con el término "óxido de silicio"), los silicatos (por ejemplo, SiO_3^{2-} y SiO_4^{4-}) y silicatos combinados. La sílice existe en estado libre en formas cristalinas o amorfas. En su forma cristalina, la sílice se presenta en forma de cristales no moleculares formados por motivos tetraédricos de SiO_4 unidos entre sí por átomos de oxígeno de manera regular, como en el cuarzo. En su forma amorfa, la sílice se presenta en forma de dióxido de sílice (SiO_2), como en el vidrio. La sílice es un óxido ácido que reacciona con óxidos básicos para dar silicatos, en concreto SiO_3^{2-} y SiO_4^{4-} . Los silicatos son capaces de combinarse con otros átomos metálicos, como por ejemplo aluminio (Al), hierro (Fe), magnesio (Mg), calcio (Ca), sodio (Na) y potasio (K). Los silicatos combinados así obtenidos son respectivamente silicato de aluminio (Al_2SiO_3), silicato de hierro (Fe_2SiO_3), silicato de magnesio (Mg_2SiO_3), silicato de calcio (Ca_2SiO_3), silicato de sodio (Na_2SiO_3) y silicato de potasio (K_2SiO_3). En una realización

ES 2 981 545 T3

particular, el silicio se suministra a la planta en forma de silicato de sodio (Na_2SiO_3), silicato de potasio (K_2SiO_3) y/o sus derivados. Los derivados comprenden, por ejemplo, las formas K_2SiO_4 y Na_2SiO_4 .

5 Ventajosamente, el silicio suministrado a la planta puede provenir de diferentes fuentes, por ejemplo sílice mineral sólida (es decir, tierra de diatomeas o arena), sílice mineral líquida (es decir, ácido ortosilícico, $\text{Si}(\text{OH})_4$), productos vítreos a base de silicio (por ejemplo, polvos o fibras de vidrio), y/o sílice orgánica.

10 Las diatomeas son microalgas marinas que secretan un esqueleto silíceo que se encuentra en canteras naturales en forma fosilizada. La tierra de diatomeas se extrae generalmente de estas canteras naturales ricas en diatomeas fosilizadas. La tierra de diatomeas está constituida esencialmente por dióxido de silicio (SiO_2).

15 Por productos vítreos a base de silicio se entiende cualquier material vítreo en polvo que comprende (i) uno o más elementos minerales, en concreto uno o más elementos minerales seleccionados entre potasio (K), fósforo (P), calcio (Ca), magnesio (Mg), azufre (S), hierro (Fe), boro (B), manganeso (Mn), cobre (Cu) y molibdeno (Mo) y (ii) silicio. Los elementos minerales están preferentemente en forma de óxidos.

20 La sílice orgánica corresponde al silanol ($\text{CH}_3\text{Si}(\text{OH})_3$). El sílice orgánico puede proceder en concreto de residuos de cultivo ricos en silicio, por ejemplo de plantas acumuladoras de silicio, como la caña de azúcar, el arroz, el bambú, el sorgo, el maíz, el trigo y los pastizales.

25 En la planta, el silicio generalmente se transporta siguiendo el flujo de transpiración desde las raíces hasta los órganos aéreos donde se acumula y precipita formando ópalos biogénicos, llamados fitolitos. La acumulación de silicio es más o menos significativa de acuerdo con la variedad de planta. En una realización particular, la planta es una planta acumuladora de silicio.

30 En el sentido de la invención, se entiende por "planta acumuladora de silicio" una planta que contiene más del 1 % de Si peso/peso (en adelante p/p) de la masa seca de la planta y una proporción molar Si/Ca > 1. Las plantas acumuladoras de silicio comprenden en concreto briófitas, gramíneas, ciperáceas y musáceas.

35 Las plantas consideradas como no acumuladoras son aquellas que contienen menos del 0,5 % de silicio (p/p de la masa seca de la planta). Las plantas no acumuladoras de silicio comprenden gimnospermas y dicotiledóneas.

40 En una realización particular, la planta se elige entre arroz, trigo, avena, caña de azúcar, cebada, soja, maíz, preferentemente arroz.

45 En el sentido de la invención, se entiende por "estimulante de la absorción" un aumento de la absorción y/o una mejora de los mecanismos de absorción. Por lo tanto, la presente invención se refiere al uso de silicio como estimulante de los mecanismos de absorción de nitrógeno, en concreto absorbido en forma de urea, en una planta. La presente invención también se refiere al uso de silicio para aumentar la absorción de nitrógeno en una planta.

50 En el contexto de la presente invención, se proporciona a la planta una cantidad eficaz de silicio para estimular la absorción de nitrógeno. Así, en una realización particular, el silicio se suministra a la planta en una cantidad eficaz para aumentar la absorción de nitrógeno por la planta en al menos un 10 %, al menos un 15 %, al menos un 20 %, al menos un 25 %, al menos un 30 %, ventajosamente en al menos un 30 %, al menos un 35 %, al menos un 40 %, al menos un 45 %, ventajosamente en al menos un 50 %, al menos un 55 %. En otras palabras, el silicio suministrado a la planta permite aumentar el contenido de nitrógeno en la planta en al menos un 10 %, al menos un 15 %, al menos un 20 %, al menos un 25 %, al menos un 30 %, ventajosamente en al menos un 30 %, al menos un 35 %, al menos un 40 %, al menos un 45 %, ventajosamente en al menos un 50 %, al menos un 55 %.

55 El aumento de la absorción se mide determinando el contenido de nitrógeno en la planta. El término "aumento" se entiende con respecto a la planta antes del suministro de silicio, por ejemplo con respecto a la planta que no había recibido ningún suministro de silicio. El "contenido" de nitrógeno se expresa en p/p de masa seca, lo que corresponde a la masa de nitrógeno contenida en una muestra de planta seca. La medición del contenido de nitrógeno se realiza mediante un procedimiento de análisis apropiado.

60 El silicio puede suministrarse a la planta por vía radicular o por vía foliar. En una realización particular, se suministra silicio a la planta:

- 65 – ya sea en forma líquida en soluciones nutritivas radiculares, por ejemplo en una cantidad que oscila entre 0,5 y 5 g/l, y preferentemente del orden de 1 g/l;
- ya sea en forma líquida en soluciones nutritivas foliares, por ejemplo en una cantidad que oscila entre 10 y 50 g/l, y preferentemente del orden de 30 g/l;
- ya sea en forma sólida, por ejemplo en abonos en polvo o granulados, por ejemplo en una cantidad que oscila entre 10 y 100 kg/Ton (T) y preferentemente del orden de 50 kg/Ton (T).

En una realización particular, el silicio se suministra a la planta en una cantidad que oscila entre 2 kg/ha

(kilogramos/hectárea) y 1000 kg/ha. En esta realización, el silicio se esparce ventajosamente de forma homogénea sobre un campo o un cultivo de plantas.

5 Así, el silicio puede utilizarse como complemento en composiciones fertilizantes, tales como abonos, como estimulante de la absorción de nitrógeno en una planta. El silicio se puede asociar con otras sustancias fertilizantes utilizadas convencionalmente en composiciones fertilizantes. En una realización particular de acuerdo con la invención, se utiliza una cantidad eficaz de silicio en una composición fertilizante en asociación con una o más sustancias fertilizantes. Las sustancias fertilizantes susceptibles de ser utilizadas en asociación con el silicio pueden ser de naturaleza variada y elegidas, por ejemplo, entre urea, sulfato de amonio, nitrato de amonio, fosfato natural, 10 cloruro de potasio, sulfato de amonio, nitrato de magnesio, nitrato de manganeso, nitrato de zinc, nitrato de cobre, ácido fosfórico, ácido bórico. Ventajosamente, la sustancia fertilizante utilizada en asociación con el silicio se elige entre urea, sulfato de amonio, nitrato de amonio, solución nitrogenada y/o nitrato de potasio.

15 El nitrógeno se absorbe en forma de urea. Así, la invención se refiere al uso del silicio como estimulante de la absorción de urea en una planta.

La invención también se refiere a un procedimiento para estimular la absorción de nitrógeno en una planta, caracterizado por que comprende el suministro a dicha planta o al suelo de una cantidad eficaz de silicio.

20 El silicio se puede suministrar a la planta por vía radicular o por vía foliar. En una realización particular, se suministra silicio a la planta:

- ya sea en forma líquida en soluciones nutritivas radiculares, por ejemplo en una cantidad que oscila entre 0,5 y 5 g/l, y preferentemente del orden de 1 g/l
- 25 – ya sea en forma líquida en soluciones nutritivas foliares, por ejemplo en una cantidad que oscila entre 10 y 50 g/l, y preferentemente del orden de 30 g/l,
- ya sea en forma sólida, por ejemplo en abonos en polvo o granulados, por ejemplo en una cantidad que oscila entre 10 y 100 kg/Ton (T) y preferentemente del orden de 50 kg/Ton (T).

30 En una realización particular, el silicio se suministra a la planta en una cantidad que oscila entre 2 kg/ha y 1.000 kg/ha. En esta realización, el silicio se esparce ventajosamente de forma homogénea sobre un campo o un cultivo de plantas. En una realización particular, el nitrógeno se absorbe en forma de urea. Así, la invención también se refiere a un procedimiento para estimular la absorción de urea en una planta, caracterizado por que comprende proporcionar a dicha planta o al suelo una cantidad eficaz de silicio.

35 La presente invención se ilustrará ahora mediante los siguientes ejemplos no limitantes.

En estos ejemplos, y salvo que se indique lo contrario, los porcentajes están expresados en peso y la temperatura es la temperatura ambiente.

40 Leyenda de las figuras

Figura 1: gráfico que representa la biomasa de una planta de arroz, es decir, la masa seca de una planta de arroz, (i) con una alimentación que comprende silicio (Na_2SiO_3), es decir, barra "+Si" y (ii) con una alimentación que no comprende silicio, es decir, barra "-Si". El gráfico muestra un aumento del 60 % en la biomasa de las plantas cuya alimentación comprende silicio con respecto a las plantas cuya alimentación no comprende silicio.

Figura 2: gráfico que representa la cantidad de urea en una planta de arroz (i) con una alimentación que comprende silicio (Na_2SiO_3), es decir, barra "+Si" y (ii) con una alimentación que no comprende silicio, es decir, barra "-Si". El gráfico muestra un aumento del 35 % en la cantidad de urea en plantas cuya alimentación comprende silicio con respecto a plantas cuya alimentación no comprende silicio. El gráfico muestra que el silicio estimula la absorción de urea.

Figura 3: gráfico que representa la cantidad de silicio en una planta de arroz (i) con una alimentación que comprende silicio (Na_2SiO_3), es decir, barra "+Si" y (ii) con una alimentación que no comprende silicio, es decir, barra "-Si". El gráfico muestra un aumento del 44 % en la cantidad de silicio en plantas cuya alimentación comprende silicio con respecto a plantas cuya alimentación no comprende silicio. El gráfico muestra que el silicio es absorbido por la planta.

60 Ejemplos

Ejemplo 1: Preparación del material vegetal

65 Las semillas de arroz, *Oryza sativa L. Var ADRET*, se colocaron a +4 °C la víspera de su germinación para asegurar una emergencia uniforme. A continuación se sembraron sobre una capa de perlita en tanques que contenían agua desmineralizada y se dejaron en la oscuridad durante 10 días, antes de sacarlas a la luz. Después de 7 días, las

ES 2 981 545 T3

plántulas se trasplantaron a tanques de 8 litros que contenían solución Hoagland (Tabla 1).

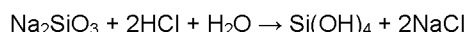
Tabla 1: composición de una solución de Hoagland

Macroelementos	[conc. final] mM
CO(NH ₂) ₂	1
KCl	0,1
CaCl ₂	0,18
KH ₂ PO ₄	0,3
MgSO ₄ , 7H ₂ O	0,27
EDTA, 2NaFe, H ₂ O	0,2
Microelementos	[conc. final] μM
H ₃ BO ₃	9,4
MnSO ₄ , H ₂ O	6,7
CuSO ₄ , 5H ₂ O	0,16
ZnSO ₄ , 7H ₂ O	0,15
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ , 4H ₂ O	0,015
CoCl ₂ , 6H ₂ O	0,1
NiCl ₂	0,04

5 Alimentación que comprende silicio (+Si)

Se suministró nitrógeno 2 mM a las plántulas en forma de urea [CO(NH₂)₂]. Se suministró silicio a 1,5 mM a las plántulas en forma de silicato de sodio (Na₂SiO₃) que se neutralizó con HCl (1 M, 30 ml para 8 l de solución nutritiva), con el fin de promover la formación de Si(OH)₄, de acuerdo con el siguiente esquema de reacción.

10



También se efectuó un suministro de níquel (40 nM) para favorecer la asimilación de urea por las plantas.

15 Se efectuó un cambio de solución nutritiva cada 2 días y se ajustó el pH entre 5,6 y 6. El experimento se llevó a cabo en una cámara de crecimiento a +22 °C con un fotoperiodo de 12 h/12 h bajo lámparas de neón (lumilux cool daylight, 36 W). Las plantas se cosecharon 14 días después de la aplicación de los tratamientos.

20 Alimentación que no comprende silicio (-Si)

Se suministró nitrógeno 2 mM a las plántulas en forma de urea [CO(NH₂)₂]. También se efectuó un suministro de níquel (40 nM) para favorecer la asimilación de urea por las plantas.

25 Se efectuó un cambio de solución nutritiva cada 2 días y se ajustó el pH entre 5,6 y 6. El experimento se llevó a cabo en una cámara de crecimiento a +22 °C con un fotoperiodo de 12 h/12 h bajo lámparas de neón (lumilux cool daylight, 36 W). Las plantas se cosecharon 14 días después de la aplicación de los tratamientos.

Ejemplo 2: Medición de parámetros fisiológicos de la planta

30 1. Determinación de biomasa foliares y radiculares

Para cada una de las condiciones de cultivo (+Si y -Si), se formaron cuatro lotes de tres plantas cosechadas en el ejemplo 1 (1 lote de 3 plantas = 1 repetición biológica). Las partes aéreas (hojas y tallos) y radiculares de cada planta se separaron, se pesaron (biomasa fresca) y a continuación se trituraron finamente en nitrógeno líquido. La medición de la biomasa de una planta completa se muestra en la figura 1.

35

Conclusión: las plantas tratadas con silicio muestran un aumento significativo en su biomasa (+60 %), lo que se traduce en un mejor crecimiento de la planta de arroz.

40 2. Análisis bioquímicos

Para cada una de las repeticiones biológicas, se separaron muestras de materia fresca triturada (obtenidas de acuerdo con el punto 1) en dos lotes (es decir, 2 lotes de raíces trituradas y 2 lotes de hojas trituradas). El primero se liofilizó durante 48 horas, sirvió para la determinación de la materia seca y el análisis del silicio (Si) mediante ICP-OES (Inductively Coupled Plasma - Optical Emission Spectroscopy). El segundo lote se sumergió inmediatamente en nitrógeno líquido y a continuación se conservó a -80 °C para la extracción y determinación cuantitativa de urea. Todos los tratamientos se realizaron de forma sistemática para cada una de las repeticiones biológicas, es decir por cuadruplicado. Los datos obtenidos se presentaron en forma de media y la variabilidad de los resultados se dio en forma del error estándar de la media para n=4. Un análisis estadístico de los resultados se realizó utilizando la prueba de la t de Student.

50

Determinación cuantitativa de urea

5 La extracción de urea se realizó de acuerdo con el método descrito en Arkoun et al., 2013. A Physiological and molecular study of the effects of nickel deficiency and Phenylphosphorodiamidate (PPD) application on urea metabolism in oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Plant and Soil*, 362:79-92. Brevemente, la extracción de urea y amonio necesitó 0,2 g de materia fresca (de hojas o de raíces), a la que se añadió 1 ml de agua pura. Los tubos se sumergieron inmediatamente en nitrógeno líquido y a continuación se colocaron en un baño de agua (80 °C) durante 5 minutos. Después de la centrifugación (2 min, 15.000 g a 4 °C), se recuperó el sobrenadante (Sobrenadante 1) y el sedimento se suspendió en 0,5 ml de agua pura, se agitó (con ayuda de un Vórtex) y se centrifugó. El sobrenadante (Sobrenadante 2) se recuperó y se añadió al Sobrenadante 1 y el sedimento se suspendió en 0,5 ml de agua pura, se agitó (con ayuda de un Vórtex) y se centrifugó. El sobrenadante (Sobrenadante 3) se recuperó y se añadió a los Sobrenadantes 1 y 2. Finalmente, se recuperaron 2 ml de extracto (en adelante "Extracto de urea"), se filtraron y a continuación se almacenaron a +20 °C.

15 La determinación cuantitativa de urea se realizó con ayuda del método desarrollado por Kyllingsbæk (1975), Extraction and colorimétrie détermination of urea in plants. *Acta Agricult Scand B Soil Plant Sci* 25:109-112. Brevemente, se tomaron 0,2 ml del Extracto de urea a los que se les añadieron 0,6 ml de reactivo. A continuación, las muestras se colocaron en un baño de agua a 85 °C durante 30 minutos y a continuación se colocaron a +4 °C durante 20 minutos para detener la reacción. La lectura se efectuó con ayuda de un espectrofotómetro a una longitud de onda de 545 nm y el contenido de urea se determinó a partir de una curva patrón. La determinación cuantitativa de urea se muestra en la figura 2.

Conclusión: las plantas tratadas con silicio muestran un aumento significativo en la absorción de urea (+35 %).

25 Determinación cuantitativa de silicio

La determinación del contenido de silicio (Si) de las muestras se realizó con ayuda de un ICP-OES (Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectroscopy, Thermo Elemental Co. Iris Intrepid II XDL). Fue precedida por la digestión de las muestras liofilizadas durante 48 h por microondas en medio ácido (8 ml de ácido nítrico concentrado y 2 ml de peróxido de hidrógeno por 0,1 g de materia seca).

La determinación cuantitativa de silicio se presenta en la figura 3.

35 Conclusión: una parte del silicio utilizado es absorbido por la planta.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Uso de silicio en una composición fertilizante en asociación con urea, como estimulante de la absorción de nitrógeno en una planta, **caracterizado por que** el nitrógeno se absorbe en forma de urea.
2. Uso de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado por que** la planta es una planta acumuladora de silicio.
- 10 3. Uso de acuerdo con la reivindicación 2, **caracterizado por que** la planta se elige entre arroz, trigo, avena, caña de azúcar, cebada, soja y maíz, preferentemente arroz.
4. Uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado por que** el silicio se suministra a la planta en forma de silicato de sodio (Na_2SiO_3), silicato de potasio (K_2SiO_3) y/o sus derivados.
- 15 5. Uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado por que** el silicio se suministra a la planta en forma de tierra de diatomeas, de vidrio soluble a base de silicio y/o de silicio orgánico.
- 20 6. Uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 5, **caracterizado por que** el silicio se suministra a la planta en una cantidad suficiente para aumentar la absorción de nitrógeno por la planta en al menos un 10 %, ventajosamente en al menos un 30 %, ventajosamente en al menos un 50 %.
- 25 7. Uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 6, **caracterizado por que** el silicio se suministra a la planta:
- ya sea en forma líquida en soluciones nutritivas radiculares, por ejemplo en una cantidad que oscila entre 0,5 y 5 g/l, y preferentemente del orden de 1 g/l
 - ya sea en forma líquida en soluciones nutritivas foliares, por ejemplo en una cantidad que oscila entre 10 y 50 g/l, y preferentemente del orden de 30 g/l.
 - ya sea en forma sólida, por ejemplo en abonos en polvo o granulados, por ejemplo en una cantidad que oscila entre 10 y 100 kg/T y preferentemente del orden de 50 kg/T.
- 30 8. Procedimiento para estimular la absorción de nitrógeno en una planta, **caracterizado por que** comprende el suministro a dicha planta o al suelo de una cantidad eficaz de silicio en una composición fertilizante en asociación con urea, **caracterizada por que** el nitrógeno se absorbe en forma de urea.
- 35 9. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8, **caracterizado por que** la planta es una planta acumuladora de silicio.
- 40 10. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 9, **caracterizado por que** la planta se elige entre arroz, trigo, avena, caña de azúcar, cebada, soja y maíz, preferentemente arroz.
- 45 11. Procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones 8 a 10, **caracterizado por que** el suministro a la planta se realiza por vía radicular o por vía foliar.
- 50 12. Procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones 8 a 11, **caracterizado por que** el silicio se suministra a la planta:
- ya sea en forma líquida en soluciones nutritivas radiculares, por ejemplo en una cantidad que oscila entre 0,5 y 5 g/l, y preferentemente del orden de 1 g/l;
 - ya sea en forma líquida en soluciones nutritivas foliares, por ejemplo en una cantidad que oscila entre 10 y 50 g/l, y preferentemente del orden de 30 g/l;
 - ya sea en forma sólida, por ejemplo en abonos en polvo o granulados, por ejemplo en una cantidad que oscila entre 10 y 100 kg/T y preferentemente del orden de 50 kg/T.

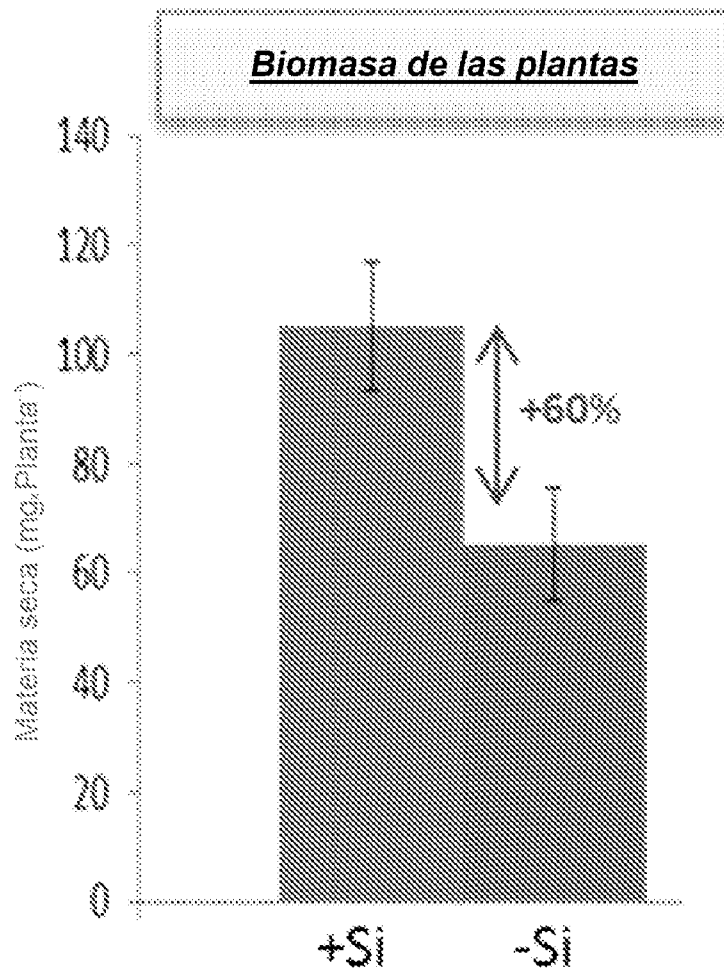


Figura 1

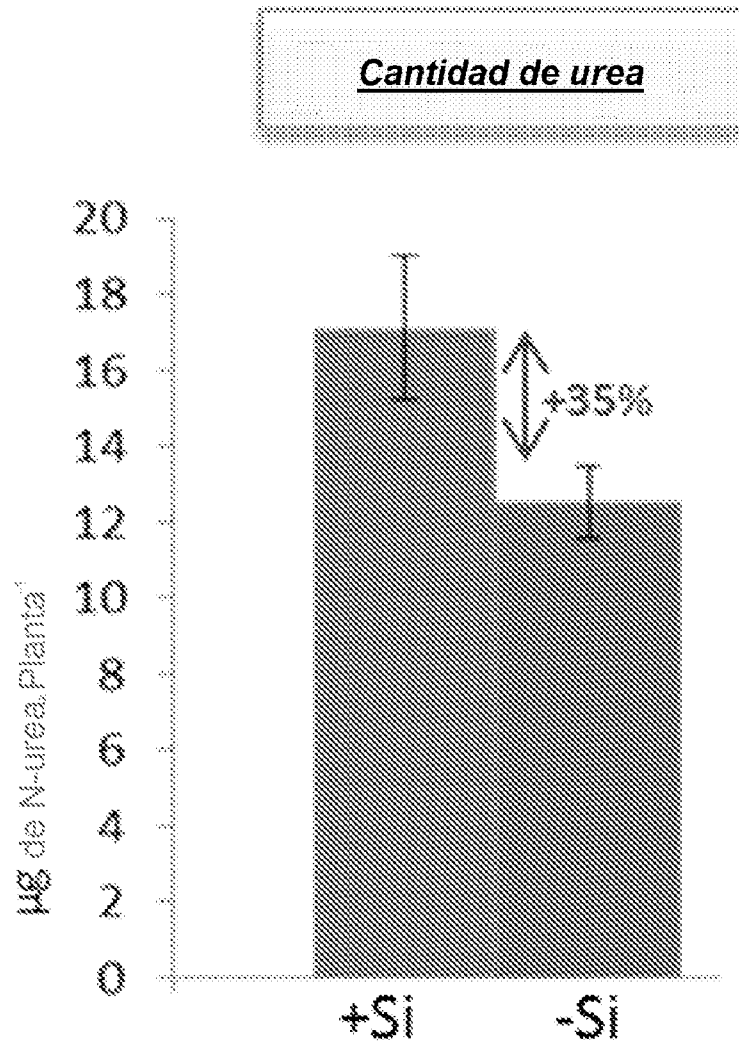


Figura 2

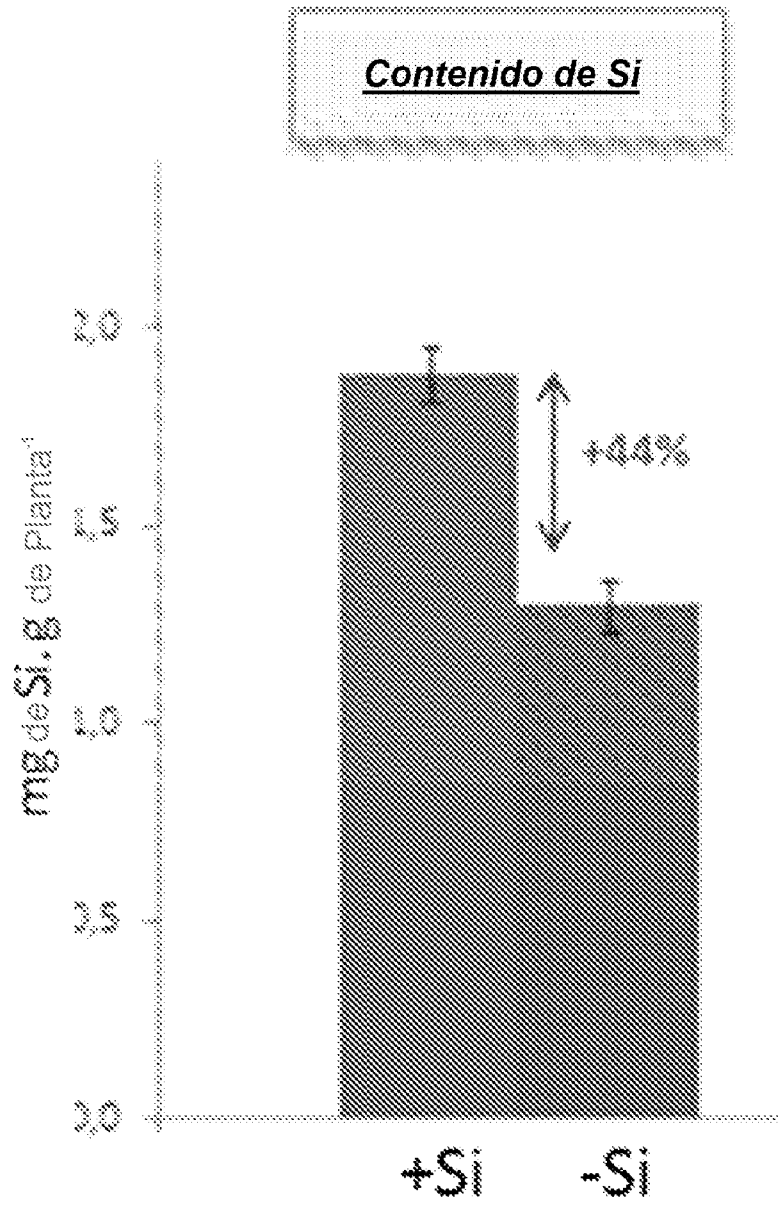


Figura 3