

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 976 834**

51 Int. Cl.:

C05G 3/90 (2010.01)

C05G 3/80 (2010.01)

C09K 15/30 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.05.2021** **PCT/NZ2021/050085**

87 Fecha y número de publicación internacional: **02.12.2021** **WO21242122**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.05.2021** **E 21810907 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.03.2024** **EP 3990417**

54 Título: **Mejoras relacionadas con inhibidores de la nitrificación**

30 Prioridad:

25.05.2020 NZ 20764712

26.05.2020 NZ 20764783

29.05.2020 NZ 20764780

08.06.2020 NZ 20765203

08.06.2020 NZ 20765211

09.06.2020 NZ 20765239

14.12.2020 NZ 20771062

09.04.2021 NZ 21774851

12.04.2021 NZ 21774955

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
09.08.2024

73 Titular/es:

LINCOLN UNIVERSITY (100.0%)
C/- James & Wells Intellectual Property, Level 12,
KPMG Centre, 85 Alexandra Street
Hamilton, 3204, NZ

72 Inventor/es:

PODOLYAN, ANDRIY;
RENNISON, DAVID;
COOK, GREGORY;
DI, HONG JIE;
CAMERON, KEITH CRAIG;
BRIMBLE, MARGARET ANNE;
FERGUSON, SCOTT;
RONIMUS, ROBERT STARR y
CARBONE, VINCENZO

74 Agente/Representante:

DURAN-CORRETJER, S.L.P

ES 2 976 834 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

Mejoras relacionadas con inhibidores de la nitrificación

5 SECTOR TÉCNICO

La presente invención se refiere a mejoras relacionadas con inhibidores de la nitrificación.

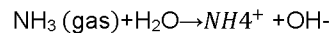
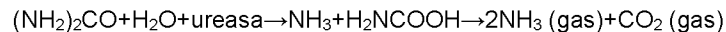
10 ESTADO DE LA TÉCNICA

La presente invención se refiere a un problema global referente a los efectos negativos sobre el medio ambiente que genera un subproducto de la agricultura moderna.

En particular, la lixiviación de nitratos (NO_3^-) que se produce como resultado de un uso intensivo de un terreno dedicado a la agricultura, tales como sistemas de producción ganadera, sistemas de cultivo y sistemas hortícolas intensivos, han mostrado ser una causa principal de la contaminación acuífera en aguas subterráneas, ríos y lago, y sin duda un gran problema medioambiental a nivel global.

Además, el óxido nitroso (N_2O) es un potente gas de efecto invernadero con un potencial para causar calentamiento global 298 veces más potente que el CO_2 .

En tierras de pastoreo la mayoría del N_2O y NO_3^- proviene del nitrógeno (N) devuelto a la tierra mediante excrementos, en particular orina de los animales de pastoreo que pueden tener una carga de N aproximadamente de 300 a 1000 kg N/ha. La mayoría del N en la orina animal es urea ($(\text{NH}_2)_2\text{CO}$) y tan pronto penetra en el suelo se hidroliza rápidamente a amonio disponible para las plantas (NH_4^+) a través de la enzima ureasa tal como se muestra en las ecuaciones siguientes (Tisdale *et al.* 1985):

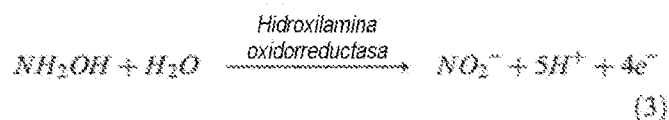
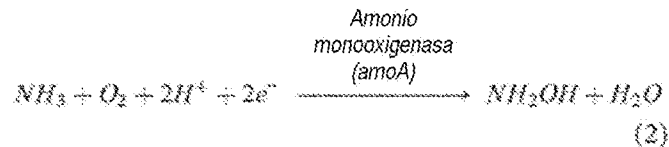


y a continuación ocurre la nitrificación mediante microbios, que incluyen especies del género *Nitrosomonas*, *Nitrosospira*, *Nitrosococcus*, *Nitrobacter* y *Nitrococcus*, donde el NH_3 es oxidado a hidroxilamina (NH_2OH) y luego a nitrito (NO_2^-) y nitrato (NO_3^-) para obtener energía (Di and Cameron 2016).

Manteniendo el N en forma de NH_4^+ también es beneficioso, ya que la capa superior de los coloides del suelo están cargados negativamente y, por tanto, ayudan a mantener a los iones NH_4^+ cargados positivamente *in situ*. Esto reduciría la lixiviación de nitrógeno. El nitrato que no está cargado negativamente no se encuentra retenido fuertemente por los coloides del suelo y, por tanto, son fácilmente lixiviados cuando hay drenaje a través del suelo (Di and Cameron 2016).

Además, mantener el nitrógeno en forma de amonio ralentizando el proceso de nitrificación también es beneficioso para la reducción de emisiones del gas de efecto invernadero óxido nitroso (N_2O), ya que el N_2O es producido de forma predominante a través de la nitrificación (oxidación del amonio a nitrato, conocida como nitrificación) y desnitrificación (reducción del nitrato a forma gaseosa, incluyendo N_2O).

Investigaciones previas han demostrado que la lixiviación de nitrato y las emisiones de óxido nitroso se pueden reducir a través de la inhibición del proceso de nitrificación (Di and Cameron, 2016).



Además, el NO_3^- en suelo agrícola también puede proceder de fertilizantes como la urea, la cual es hidrolizada en el suelo para producir amoníaco/amonio; el amonio procedente del fertilizante de nitrógeno puede ser nitrificado para producir nitrato en el suelo de una manera similar al amonio de la orina animal en el suelo.

Las investigaciones en las últimas 2 décadas han demostrado claramente que las emisiones de N_2O y la lixiviación de nitrato pueden ser reducidas de forma eficaz mediante el uso de inhibidores de la nitrificación para tratar las tierras de pastoreo donde se depositan los parches de orina de animales, o donde se aplican fertilizantes de nitrógeno (ver por ejemplo Di and Cameron, 2002; de Klein et al., 2011; Dai et al., 2013).

El documento de patente NZ 520549 da a conocer un método de tratamiento del suelo que aplica un inhibidor de la nitrificación en forma de solución y/o de suspensión de partículas finas para cubrir de forma sustancial la totalidad de los pastos para reducir entre otras cosas la lixiviación de nitrato y las emisiones de óxido nitroso.

En particular, la patente NZ520549 da a conocer el uso de diciandiamida (DCD) como inhibidor de la nitrificación para tratar el suelo. La DCD fue seleccionada como inhibidor de la nitrificación preferente para uso comercial agrícola -al igual que todos los otros inhibidores de la nitrificación conocidos-, la DCD era:

- parcialmente soluble y por tanto fácil y económicamente eficiente de aplicar al sistema de pastoreo; y
- de forma importante, no tóxico.

La DCD está clasificada como 10 veces menos tóxica que la sal común.

Por ejemplo, otro conocido inhibidor de la nitrificación usado comercialmente, el DMPP (fosfato de 3,4-dimetilpirazol) tiene una dosis letal oral (LD_{50}) en ratas en el rango de 300 a 2.000 mg/kg de peso, comparado con una LD_{50} oral mayor de 30.000 mg/kg de peso en ratas hembra en el caso de la DCD. Por tanto, la DCD fue el inhibidor de la nitrificación preferente en la patente NZ 520549.

Sin embargo, el uso de DCD como inhibidor de la nitrificación en Nueva Zelanda terminó en 2013 debido al riesgo de detección de DCD en productos lácteos y la falta de un estándar internacional para residuos de DCD en alimentos. Este riesgo fue, en parte, un resultado de la aplicación de dosis relativamente altas de DCD (por ejemplo 10 kg/ha) para conseguir los resultados medioambientales deseados.

Por tanto, se mantiene una necesidad clara de otros inhibidores de la nitrificación como alternativas para reemplazar la DCD, los cuales:

- sean poco tóxicos y con una alta eficacia (por tanto, bajas dosis de aplicación), y no presenten preocupaciones de seguridad en los alimentos, y
- puedan ser aplicados de forma fácil y económica a las tierras de cultivo, para reducir el impacto medioambiental adverso de los nitratos y el dióxido nitroso causado por la agricultura moderna, mencionado anteriormente.

Existe también una necesidad de inhibidores de la nitrificación que no sean volátiles (o con baja volatilidad); inflamables; por otra parte, no peligrosos; o seguros para su preparación o manejo.

Existe también una necesidad de nuevos inhibidores de nitrificación para ayudar a proteger contra la efectividad de inhibidores de la nitrificación conocidos que potencialmente disminuye debido a su uso continuado a largo plazo.

Adicionalmente, también existe una necesidad de diferentes inhibidores de la nitrificación, ya que algunos pueden ser más adecuados para diferentes suelos o diferentes condiciones ambientales.

Adicionalmente, existe una necesidad de nuevos compuestos que puedan funcionar como ingredientes activos en el sector de las formulaciones inhibidoras de la nitrificación.

De manera importante, para ayudar a alimentar la creciente población mundial, probablemente habrá un incremento en la agricultura, que incluye:

- el uso incrementado de fertilizantes de nitrógeno u otros abonos orgánicos como fuentes de nutrientes; y
- una cantidad mayor de animales de ganado en todo el mundo.

Por tanto, la necesidad de inhibidores de la nitrificación seguros y eficaces aumentará para poder así mitigar los impactos medioambientales.

Es un objeto de la presente invención abordar los problemas anteriores.

DEFINICIONES

5 El término "NNI", tal como se usa en la presente solicitud, se refiere a un nuevo inhibidor de la nitrificación de la presente invención el cual muestra inhibición de la nitrificación a la misma dosis que DCD, o preferentemente menor.

10 El término "cantidad suficiente", tal como se usa en la presente solicitud, se refiere a una dosis de un NNI para conseguir el porcentaje de inhibición de nitrificación deseado. Las figuras 2-5 enumeran posibles dosis, como ejemplos, para los diferentes NNIs allí descritos.

15 El término "cantidad de dosis", tal como se usa en la presente solicitud, se refiere a una cantidad definida de NNI que se corresponde con la cantidad necesaria a aplicar:

- a un área definida de tierra/plantación para reducir la nitrificación y/o aumentar la cantidad de nitrógeno disponible para las plantas;
- a una cantidad definida de fertilizante de nitrógeno para reducir la tasa de nitrificación del amonio del fertilizante de nitrógeno cuando se aplica al suelo;
- 20 - a un volumen determinado de líquido para asegurar que dicho líquido pueda inhibir el proceso de nitrificación en caso de que el líquido se aplique de nuevo al suelo y/o a las plantas.
- a un volumen determinado de efluentes agrícolas para inhibir el proceso de nitrificación en caso de que el líquido se aplique de nuevo al suelo y/o a las plantas.

25 Como un ejemplo meramente representativo, 1 kg de NNI es una cantidad de dosis para tratar 1 hectárea de tierra/plantación, donde el inhibidor de nitrificación está en forma de 2-etinil 1,3-diazina.

30 El término "eficiencia del nitrógeno", tal como se usa en la presente solicitud, se refiere a la capacidad del nitrógeno para permanecer en el suelo en una forma asimilable para las plantas.

35 El término "N" cuando se usa por sí solo como símbolo (por ejemplo, no como parte de una fórmula química de un compuesto) representa el elemento nitrógeno. Se recuerda que el NO_3^- únicamente se encuentra disponible para las plantas de forma temporal, ya que se encuentra sujeto a lixiviación de nitrato y, a diferencia del NH_4^+ , no se encuentra protegido por las superficies de intercambio cargadas negativamente del suelo.

40 El término "tierra agrícola", tal como se usa en la presente solicitud, se refiere a áreas de tierra utilizadas para propósitos agrícolas/hortícolas, que incluyen sin ser una limitación): tierras de pastoreo; o tierras de cultivo; en relación a las cuales la aplicación de nitrógeno es beneficiosa, u ocurre como consecuencia del uso agrícola de la tierra, por ejemplo por orina animal, o aplicación de fertilizante de nitrógeno.

45 El término "suelo urbano", tal como se usa en la presente solicitud, se refiere a áreas de tierra tales como parques, jardines, espacios de juego, campos de golf y similares, donde es deseable aplicar nitrógeno para fertilizar la hierba o plantas en cualquier etapa de crecimiento.

50 El término "parche urinario", tal como se usa en la presente invención, se refiere a un área del suelo que ha sido sujeta a una deposición urinaria animal. El término "parche urinario" puede incluir una zona específica de suelo sobre la cual la orina ha sido depositada por un animal que ha orinado, o puede cubrir un área definida de suelo por ejemplo un potrero, u otra zona cerrada/delimitada, donde los animales han sido colocados por un periodo de tiempo durante el cual uno o más de ellos puedan haber orinado.

55 El término "capa superficial del suelo", tal como se usa en la presente invención, se refiere a los 0-30 cm superiores del suelo con la mayor concentración de materia orgánica, y es donde ocurre la mayoría de la actividad biológica del suelo.

CARACTERÍSTICAS DE LA INVENCION

60 Después de conocer el destino del DCD (tal y como se explicó anteriormente), existe una necesidad encontrar nuevos inhibidores de la nitrificación seguros en el ámbito alimentario y medioambiental aptos para su comercialización para producir más alimentos para la creciente población mundial sin contaminar el planeta.

65 Por consiguiente, aunque las pruebas de laboratorio *in vitro* pueden proporcionar algunas indicaciones iniciales sobre posibles compuestos candidatos que puedan tener potencial como inhibidores de la nitrificación, esto no ofrece información sobre si el compuesto funcionará como un inhibidor de la nitrificación útil comercialmente en el campo.

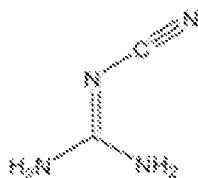
La realización de pruebas en el suelo es la única manera definitiva de discernir si alguno tiene el potencial de ser un inhibidor de la nitrificación. Por tanto, el ejercicio de encontrar nuevos inhibidores de nitrificación potencialmente comerciales es un ejercicio que requiere mucho tiempo y dinero.

Dependiendo del uso destinado del inhibidor de la nitrificación, ciertos atributos del mismo son preferidos sobre otros. Por ejemplo, un inhibidor de nitrificación soluble en agua será más fácil de utilizar en forma de una solución acuosa para aplicación en la tierra. Además, un inhibidor de nitrificación con una baja volatilidad es preferido sobre uno con una alta volatilidad porque la baja volatilidad mejora el almacenamiento y extiende la vida útil.

Inhibidores de la nitrificación conocidos y comercialmente aceptados

Pese a toda la investigación realizada en este sector hasta la fecha, sólo hay unos pocos inhibidores de la nitrificación que han tenido éxito comercialmente, los cuales incluyen:

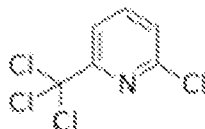
- DCD (también conocido como dicianamida)



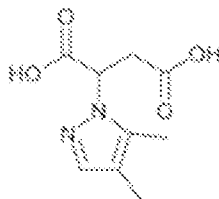
- DMPP (también conocido como fosfato de 3,4-dimetilpirazol)



- Nitrapirin (también conocido como 2-cloro-6-(triclorometil)piridina)



- DMPSA (también conocido como ácido 3.4-dimetilpirazol succínico)



La diversidad y el contraste en las estructuras químicas de estos conocidos inhibidores de la nitrificación utilizados comercialmente hace imposible predecir qué estructuras químicas tendrán las propiedades inhibidoras de nitrificación deseadas.

La invención se encuentra definida por las reivindicaciones independientes 1, 2 y 13. Realizaciones adicionales se encuentran indicadas en las reivindicaciones dependientes.

Según una primera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de un compuesto como un inhibidor de la nitrificación seleccionado del grupo que consiste en:

Fórmula 1



y

5 **Pirimidinas**

- donde X^1 y $X^5 = N$, X^2 y $X^4 = CH$, y $X^3 = C-R$; donde R puede seleccionarse entre H y OMe; o
- donde X^1 y $X^5 = CH$, X^2 y $X^4 = N$, y $X^3 = C-R$, donde R puede seleccionarse entre H y OMe; o
- donde X^1 y $X^3 = N$, y X^2 , X^4 y $X^5 = CH$;

10

o

Piridinas

- donde X^1 , X^4 y $X^5 = CH$, X^2 puede seleccionarse entre N y N=O, y $X^3 = C-R$; donde R puede seleccionarse entre H y OMe; o
- donde $X^1 = N$, X^2 , X^4 y $X^5 = CH$ y $X^3 = C-R$; donde R es OMe

15

o

Piridazinas

- donde X^1 y $X^2 = N$, $X^3 = C-R$, y donde X^4 y $X^5 = CH$; donde R puede seleccionarse entre H y OMe;

20

o

Pirazina

- donde X^1 y $X^4 = N$, X^2 y $X^5 = CH$, y $X^3 = C-R$, donde R puede seleccionarse entre H y OMe;

25

o

Bencenos

- donde X^1 , X^2 , X^4 y $X^5 = CH$, $X^3 = C-R$; donde R puede seleccionarse entre OMe, OEt y $C\equiv CH$.

30

Según una **segunda** parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para reducir la tasa de nitrificación en suelos agrícolas, caracterizado por las etapas de:

35

- utilizar al menos un compuesto seleccionado de entre el grupo que consiste en:

Fórmula 1



40

y

Pirimidinas

- donde X^1 y $X^5 = N$, X^2 y $X^4 = CH$, y $X^3 = C-R$; donde R puede seleccionarse entre H y OMe; o
- donde X^1 y $X^5 = CH$, X^2 y $X^4 = N$, y $X^3 = C-R$, donde R puede seleccionarse entre H y OMe; o
- donde X^1 y $X^3 = N$, y X^2 , X^4 y $X^5 = CH$;

45

o

Piridinas

- donde X^1 , X^4 y $X^5 = CH$, X^2 puede seleccionarse entre N y N = O, y $X^3 = C-R$; donde R puede seleccionarse entre H y OMe; o
- donde $X^1 = N$, X^2 , X^4 y $X^5 = CH$ y $X^3 = C-R$; donde R es OMe

50

o

Piridazinas

- donde X^1 y $X^2 = N$, $X^3 = C-R$, y donde X^4 y $X^5 = CH$; donde R puede seleccionarse entre H y OMe;

55

o

60

Pirazina

- donde X^1 y $X^4 = N$, X^2 y $X^5 = CH$, y donde $X^3 = C-R$, donde R puede seleccionarse entre H y OMe;

5

o

Bencenos

- donde X^1 , X^2 , X^4 y $X^5 = CH$, $X^3 = C-R$; donde R puede seleccionarse entre OMe, OEt y $C\equiv CH$.
como inhibidor de la nitrificación, o para la preparación de un inhibidor de nitrificación, para su aplicación
directa o indirecta sobre el suelo.

10

Preferentemente, la aplicación indirecta sobre el suelo implica que el compuesto se aplique sobre el suelo a través de un portador.

15

Preferentemente, el portador puede ser agua o efluente.

Preferentemente, el portador puede ser gránulos de fertilizante.

Preferentemente, los gránulos de fertilizante pueden estar en forma de urea.

20

Un método, sustancialmente tal como se ha descrito anteriormente, que puede reducir la lixiviación de nitrato o las emisiones de óxido nitroso.

Un método, sustancialmente tal como se ha descrito anteriormente, que puede incrementar la producción de los pastos o cultivos.

25

Uso o método, sustancialmente tal como se ha descrito anteriormente, en el que el compuesto se selecciona del grupo que consiste en:

30

- 2-etinil 1,3-diazina;
- 3-etinil 1,5-diazina;
- 4-etinilpirimidina;
- 2-etinil-5-metoxipirimidina;
- 5-etinil-2-metoxipirimidina;
- 35 - 2-etinil-5-metoxipiridina;
- 5-etinil-2-metoxipiridina;
- 1-óxido de 3-etinilpiridina;
- 2,5-dietinilpiridina;
- 3-etinilpiridazina;
- 40 - 3-etinil-6-metoxipiridazina;
- 2-etinilpirazina;
- 2-etinil-5-metoxipirazina;
- 4-etinilanol;
- 1-etoxi-4-etinilbenceno;
- 45 - 1,4-dietinilbenceno;

y tiene una tasa de dosis entre 1 kg/ha y 9 kg/ha.

Uso o método en el que el compuesto tiene una tasa de dosis de 2 kg/ha.

50

Uso o método, tal como se describió anteriormente, en el que el compuesto se selecciona del grupo que consiste en:

55

- 2-etinil 1,3-diazina;
- 3-etinil 1,5-diazina;
- 4-etinilpirimidina;
- 2-etinil-5-metoxipirimidina;
- 5-etinil-2-metoxipirimidina;
- 2-etinil-5-metoxipiridina;
- 60 - 1-óxido de 3-etinilpiridina;
- 3-etinilpiridazina;
- 3-etinil-6-metoxipiridazina;
- 2-etinil-5-metoxipirazina;
- 4-etinilanol;

65

y tiene una tasa de dosis de 1 kg/ha.

Uso o método, tal como se describió anteriormente, en el que el compuesto se selecciona del grupo que consiste en:

- 2-etinil 1,3-diazina;
- 3-etinil 1,5-diazina;
- 2-etinil-5metoxipirimidina;
- 1-óxido de 3-etinilpiridina;
- 3-etinilpiridazina;

y tiene una tasa de dosis de 0,5 kg/ha.

Según una tercera parte de la presente divulgación, se da a conocer un uso de un compuesto tal como se describió anteriormente para tratar un parche urinario.

Preferentemente, el compuesto puede ser aplicado al parche urinario a través de un vehículo pulverizador agrícola o un robot autónomo.

Preferentemente, el vehículo pulverizador agrícola o el robot autónomo tienen un aparato para detectar parches de orina.

Primero: 2-etinil 1,3-diazina (también conocido como 2-etinilpirimidina) (CAS 37992-24-0)

La presente parte de la divulgación da a conocer el uso de pirimidina 2-etinil 1,3-diazina con una estructura igual o sustancialmente similar a la indicada a la fórmula siguiente:



en relación a su aplicación para reducir la lixiviación de NO_3^- y las emisiones de N_2O a través de prevenir/inhibir la conversión del amonio a nitrato por parte de los microbios del suelo. La relación entre la inhibición de la nitrificación en el suelo y la reducción en la lixiviación de nitrato y las emisiones de óxido nitroso se muestran en la figura 1 (Di and Cameron 2016). Se ha demostrado de forma concluyente que tanto la lixiviación de nitrato como las emisiones de N_2O pueden ser reducidas inhibiendo el proceso de nitrificación con un inhibidor de la nitrificación (Di and Cameron, 2016).

Según una primera parte de la primera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil 1,3-diazina como inhibidor de la nitrificación.

Preferentemente, existe un uso de 2-etinil 1,3-diazina, tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de aplicación eficaz en kg/ha es significativamente inferior que la de DCD.

Según una segunda parte de la primera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil 1,3-diazina como ingrediente activo en una formulación inhibidora de la nitrificación.

Según una tercera parte de la primera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil 1,3-diazina en la preparación de un inhibidor de la nitrificación.

Según una cuarta parte de la primera parte de la presente divulgación, se da a conocer la distribución de 2-etinil 1,3-diazina como inhibidor de la nitrificación, o para su uso en la preparación de un inhibidor de la nitrificación.

Preferentemente, la distribución puede ser en una o múltiples dosis.

Según una quinta parte de la primera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil 1,3-diazina en la preparación y/o distribución de un tratamiento de suelo para realizar la inhibición de la nitrificación así como sus efectos asociados.

Preferentemente, un tratamiento de suelo para reducir nitrificación y/o incrementar la eficiencia de uso del nitrógeno por las plantas. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para comprender la invención.

Según una sexta parte de la primera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil 1,3-diazina, tal como se describió anteriormente, en el que el inhibidor de la nitrificación reduce uno o más de:

- emisiones de óxido nitroso;
- lixiviación de nitrato; o
- una combinación de los mismos;

5 del suelo.

Según una séptima parte de la primera parte de la presente divulgación, se da a conocer el tratamiento de suelo para realizar la inhibición de la nitrificación así como sus efectos asociados usando 2-etinil 1,3-diazina.

Según una octava parte de la primera parte de la presente divulgación, se da a conocer el tratamiento de suelo, tal como se describió anteriormente, en el que la 2-etinil 1,3-diazina se aplica simultáneamente con gránulos de urea u otros gránulos de fertilizantes que contienen nitrógeno.

Según una novena parte de la primera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil 1,3-diazina para recubrir gránulos de fertilizantes de urea, u otros gránulos de fertilizantes que contienen nitrógeno.

Según una décima parte de la primera parte de la presente divulgación, se da a conocer un gránulo de fertilizante de nitrógeno que está recubierto con 2-etinil 1,3-diazina.

Preferentemente, el gránulo de fertilizante de nitrógeno puede ser urea (u otras formas amoniacales de nitrógeno o un fertilizante de nitrógeno que libera amonio en el suelo).

Según una undécima parte de la primera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil 1,3-diazina como aditivo para fertilizantes líquidos que contienen nitrógeno.

Según una duodécima parte de la primera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil 1,3-diazina en forma líquida y/o de partícula como tratamiento para el suelo.

Según una decimotercera parte de la primera parte de la presente divulgación, se da a conocer la preparación y/o distribución de 2-etinil 1,3-diazina para recubrir fertilizantes de nitrógeno.

Según una decimocuarta parte de la primera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil 1,3-diazina para aumentar la eficiencia de uso del nitrógeno en sistemas de pasto/cultivo, o para aumentar la eficiencia de uso del nitrógeno de fertilizantes. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Según una decimoquinta parte de la primera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil 1,3-diazina para interrumpir el proceso de nitrificación microbiano del suelo.

Según una decimosexta parte de la primera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil 1,3-diazina para mejorar el crecimiento de pastos/plantas.

Según una decimoséptima parte de la primera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil 1,3-diazina como tratamiento para zonas de parches urinarios en un pasto.

Según una decimooctava parte de la primera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de la aplicación simultánea de 2-etinil 1,3-diazina y una fuente de nitrógeno a pastos o cultivos.

Según una decimonovena parte de la primera parte de la presente divulgación, se da a conocer la distribución de 2-etinil 1,3-diazina para un uso tal y como se describe anteriormente en relación a la 6ª, 7ª, 9ª, 11ª, 12ª, 15ª, 16ª, 17ª y 18ª partes de la primera parte de la presente divulgación.

Según una vigésima parte de la primera parte de la presente divulgación, se da a conocer un método de tratamiento de suelo agrícola u otro suelo con problemas de lixiviación de nitratos o de emisión de óxido nitroso que comprende la aplicación de 2-etinil 1,3-diazina de forma directa o indirecta. Esta realización no está dentro del alcance las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Según una vigesimoprimera parte de la primera parte de la presente divulgación, se da a conocer la aplicación simultánea de 2-etinil 1,3-diazina con un fertilizante de nitrógeno para inhibir la nitrificación en el suelo.

Según una vigesimosegunda parte de la primera parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar parches urinarios de origen animal aplicando 2-etinil 1,3-diazina antes, durante o después de la deposición de orina.

Según una vigesimotercera parte de la primera parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar el suelo aplicando 2-etinil 1,3-diazina a zonas del suelo que han sido o serán sometidas a urea, fertilizante, efluente u otra fuente de nitrógeno. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Según una vigesimocuarta parte de la primera parte de la presente divulgación, se da a conocer la aplicación de 2-etinil 1,3-diazina al suelo, tierras de cultivo o pastos.

Según una vigesimoquinta parte de la primera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil 1,3-diazina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de dosis se selecciona entre 0,5 kg/ha y 9 kg/ha.

Según una vigesimosexta parte de la primera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil 1,3-diazina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la la tasa de dosis es 0,5 kg/ha.

Según una vigesimoséptima parte de la primera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil 1,3-diazina para retrasar la corrosión de piedras de edificios o estatuas de piedra. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Según una vigesimooctava parte de la primera parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar suelo agrícola o suelo urbano comprendiendo la distribución de 2-etinil 1,3-diazina de una manera seleccionada entre una o más de:

- cantidad de dosis;
- tipo de formulación;
- aplicación simultánea con una fuente de nitrógeno; o
- una combinación de las mismas,

los cuales hacen a la 2-etinil 1,3-diazina apta para el tratamiento de suelos para reducir los impactos medioambientales de: la orina animal, fertilizantes de nitrógeno, abonos animales o efluentes. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Más información sobre la 2-etinil 1,3-diazina incluyendo distribuidores químicos puede ser encontrada en: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/802956>

Segundo: 3-etinil 1,5-diazina (también conocido como 5-etinilpirimidina) (CAS 153286-94-3)

La presente divulgación también da a conocer el uso de una pirimidina 3-etinil 1,5-diazina con una estructura igual o sustancialmente similar a la indicada a la fórmula siguiente:



en relación a su aplicación para reducir la lixiviación de NO_3^- y las emisiones de N_2O a través de prevenir/inhibir la conversión del amonio a nitrato por parte de los microbios del suelo. La relación entre la inhibición de la nitrificación en el suelo y la reducción en la lixiviación de nitrato y las emisiones de óxido nítrico se muestran en la figura 1 (Di and Cameron 2016). Se ha demostrado de forma concluyente que tanto la lixiviación de nitrato como las emisiones de N_2O pueden ser reducidas inhibiendo el proceso de nitrificación con un inhibidor de la nitrificación (Di and Cameron, 2016).

Según una primera parte de la segunda parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinil 1,5-diazina como inhibidor de la nitrificación.

Preferentemente, existe un uso de 3-etinil 1,5-diazina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de aplicación eficaz en kg/ha es significativamente inferior que la de DCD.

Según una segunda parte de la segunda parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinil 1,5-diazina como ingrediente activo en una formulación inhibidora de la nitrificación.

Según una tercera parte de la segunda parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinil 1,5-diazina en la preparación de un inhibidor de la nitrificación.

Según una cuarta parte de la segunda parte de la presente divulgación, se da a conocer la distribución de 3-etinil 1,5-diazina como inhibidor de la nitrificación, o para su uso en la preparación de un inhibidor de la nitrificación.

5

Preferentemente, la distribución puede ser en una o múltiples dosis.

Según una quinta parte de la segunda parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinil 1,5-diazina en la preparación y/o distribución de un tratamiento de suelo para realizar la inhibición de la nitrificación así como sus efectos asociados.

10

Preferentemente, un tratamiento de suelo para reducir nitrificación y/o incrementar la eficiencia de uso del nitrógeno por parte de las plantas. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para comprender la invención.

15

Según una sexta parte de la segunda parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinil 1,5-diazina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que el inhibidor de la nitrificación reduce uno o más de:

20

- emisiones de óxido nitroso;
- lixiviación de nitrato; o
- una combinación de las mismas

del suelo.

25

Según una séptima parte de la segunda parte de la presente divulgación, se da a conocer el tratamiento de suelo para realizar la inhibición de la nitrificación así como sus efectos asociados usando 3-etinil 1,5-diazina.

30

Según una octava parte de la segunda parte de la presente divulgación, se da a conocer el tratamiento de suelo, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que 3-etinil 1,5-diazina se aplica simultáneamente con gránulos de urea u otros gránulos de fertilizantes que contienen nitrógeno.

35

Según una novena parte de la segunda parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinil 1,5-diazina para recubrir gránulos de fertilizantes de urea, u otros gránulos de fertilizantes que contienen nitrógeno.

Según una décima parte de la segunda parte de la presente divulgación, se da a conocer un gránulo de fertilizante de nitrógeno que está recubierto con 3-etinil 1,5-diazina.

40

Preferentemente, el gránulo de fertilizante de nitrógeno puede ser urea (u otras formas amoniacaes de nitrógeno o un fertilizante de nitrógeno que libera amonio en el suelo).

Según una undécima parte de la segunda parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinil 1,5-diazina como aditivo para fertilizantes líquidos que contienen nitrógeno.

45

Según una duodécima parte de la segunda parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinil 1,5-diazina en forma líquida y/o de partícula como tratamiento para el suelo.

50

Según una decimotercera parte de la segunda parte de la presente divulgación, se da a conocer la preparación y/o distribución de 3-etinil 1,5-diazina para recubrir fertilizantes de nitrógeno.

Según una decimocuarta parte de la segunda parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinil 1,5-diazina para aumentar la eficiencia del uso de nitrógeno en sistemas de pasto/cultivo, o para aumentar la eficiencia del uso de nitrógeno de fertilizantes. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

55

Según una decimoquinta parte de la segunda parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinil 1,5-diazina para interrumpir el proceso de nitrificación microbiano del suelo.

60

Según una decimosexta parte de la segunda parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinil 1,5-diazina para mejorar el crecimiento de pastos/plantas.

Según una decimoséptima parte de la segunda parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinil 1,5-diazina como tratamiento para zonas de parches urinarios en un pasto.

65

Según una decimoctava parte de la segunda parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de la

aplicación simultánea de 3-etinil 1,5-diazina y una fuente de nitrógeno a pastos o cultivos.

Según una decimonovena parte de la segunda parte de la presente divulgación, se da a conocer la distribución de 3-etinil 1,5-diazina para un uso, tal como se describió anteriormente en relación a la 6ª, 7ª, 9ª, 11ª, 12ª, 14ª, 15ª, 16ª, 17ª y 18ª partes de la segunda parte de la presente divulgación.

Según una vigésima parte de la segunda parte de la presente divulgación, se da a conocer un método de tratamiento de suelo agrícola u otro suelo con problemas de lixiviación de nitratos o de emisión de óxido nitroso que comprende la aplicación de 3-etinil 1,5-diazina de forma directa o indirecta. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Según una vigesimoprimer parte de la segunda parte de la presente divulgación, se da a conocer la aplicación simultánea de 3-etinil 1,5-diazina con un fertilizante de nitrógeno para inhibir la nitrificación en el suelo.

Según una vigesimosegunda parte de la segunda parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar parches urinarios de origen animal aplicando 3-etinil 1,5-diazina antes, durante o después de la deposición de orina.

Según una vigesimotercera parte de la segunda parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar suelo aplicando 3-etinil 1,5-diazina a zonas de suelo las cuales han sido o serán sometidas a urea, fertilizante, efluente u otra fuente de nitrógeno. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Según una vigesimocuarta parte de la segunda parte de la presente divulgación, se da a conocer la aplicación de 3-etinil 1,5-diazina al suelo, tierras de cultivo o pastos.

Según una vigesimoquinta parte de la segunda parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinil 1,5-diazina, tal como se describió anteriormente, donde la tasa de dosis se selecciona entre 0,5 kg/ha y 9 kg/ha.

Según una vigesimosexta parte de la segunda parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinil 1,5-diazina tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de dosis es 0,5 kg/ha.

Según una vigesimoséptima parte de la segunda parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinil 1,5-diazina para retrasar la corrosión de piedras de edificios o estatuas de piedra. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Según una vigesimooctava parte de la segunda parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar suelo agrícola o suelo urbano comprendiendo la distribución de 3-etinil 1,5-diazina de una manera seleccionada entre una o más de:

- cantidad de dosis;
- tipo de formulación;
- aplicación simultánea con una fuente de nitrógeno; o
- una combinación de las mismas,

que hacen a la 3-etinil 1,5-diazina apta para el tratamiento de suelo para reducir los impactos medioambientales de: orina animal, fertilizante de nitrógeno, abonos animales o efluentes. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Más información sobre 3-etinil 1,5-diazina incluyendo distribuidores químicos puede ser encontrada en: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/802980>

Tercero: 4-etinilpirimidina (CAS 1196146-58-3)

La presente divulgación también da a conocer en una tercera parte el uso de una 4-etinilpirimidina con una estructura igual o sustancialmente similar a la indicada a la fórmula siguiente:



en relación a su aplicación para reducir la lixiviación de NO_3^- y las emisiones de N_2O a través de prevenir/inhibir la conversión del amonio a nitrato por parte de los microbios del suelo. La relación entre la inhibición de la nitrificación en el suelo y la reducción en la lixiviación de nitrato y las emisiones de óxido

nitroso se muestran en la figura 1 (Di and Cameron 2016). Se ha demostrado de forma concluyente que tanto la lixiviación de nitrato como las emisiones de N₂O pueden ser reducidas inhibiendo el proceso de nitrificación con un inhibidor de la nitrificación (Di and Cameron, 2016).

5 Según una primera parte de la tercera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 4-etinilpirimidina como inhibidor de la nitrificación.

Preferentemente, existe un uso de 4-etinilpirimidina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de aplicación eficaz en kg/ha es significativamente inferior que la de DCD.

10 Según una segunda parte de la tercera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 4-etinilpirimidina como ingrediente activo en una formulación inhibidora de la nitrificación.

15 Según una tercera parte de la tercera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 4-etinilpirimidina en la preparación de un inhibidor de la nitrificación.

Según una cuarta parte de la tercera parte de la presente divulgación, se da a conocer la distribución de 4-etinilpirimidina como inhibidor de nitrificación, o para su uso en la preparación de un inhibidor de nitrificación.

20 Preferentemente, la distribución puede ser en una o múltiples dosis.

Según una quinta parte de la tercera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 4-etinilpirimidina en la preparación y/o distribución de un tratamiento de suelo para realizar la inhibición de la nitrificación así como sus efectos asociados.

25 Preferentemente, un tratamiento de suelo para reducir la nitrificación y/o incrementar la eficiencia de uso del nitrógeno por parte de las plantas. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para comprender la invención.

30 Según una sexta parte de la tercera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 4-etinilpirimidina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que el inhibidor de nitrificación reduce uno o más de:

- 35 - emisiones de óxido nitroso;
- lixiviación de nitrato; o
- una combinación de los mismos

del suelo.

40 Según una séptima parte de la tercera parte de la presente divulgación, se da a conocer el tratamiento de suelo para realizar la inhibición de la nitrificación así como sus efectos asociados usando 4-etinilpirimidina.

45 Según una octava parte de la tercera parte de la presente divulgación, se da a conocer el tratamiento de suelo, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que 4-etinilpirimidina se aplica simultáneamente con gránulos de urea u otros gránulos de fertilizantes que contienen nitrógeno.

Según una novena parte de la tercera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 4-etinilpirimidina para recubrir gránulos de fertilizantes de urea, u otros gránulos de fertilizantes que contienen nitrógeno.

50 Según una décima parte de la tercera parte de la presente divulgación, se da a conocer un gránulo de fertilizante de nitrógeno el cual está recubierto con 4-etinilpirimidina.

55 Preferentemente, el gránulo de fertilizante de nitrógeno puede ser urea (u otras formas amoniacaes de nitrógeno o un fertilizante de nitrógeno que libera amonio en el suelo).

Según una undécima parte de la tercera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 4-etinilpirimidina como aditivo para fertilizantes líquidos que contienen nitrógeno.

60 Según una duodécima parte de la tercera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 4-etinilpirimidina en forma líquida y/o de partícula como tratamiento para el suelo.

Según una decimotercera parte de la tercera parte de la presente divulgación, se da a conocer la preparación y/o distribución de 4-etinilpirimidina para recubrir fertilizantes de nitrógeno.

65 Según una decimocuarta parte de la tercera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 4-

etnilpirimidina para aumentar la eficiencia de uso del nitrógeno en sistemas de pasto/cultivo, o para aumentar la eficiencia de uso del nitrógeno de fertilizantes. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

5 Según una decimoquinta parte de la tercera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 4-etnilpirimidina para interrumpir el proceso de nitrificación microbiano del suelo.

Según una decimosexta parte de la tercera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 4-etnilpirimidina para mejorar el crecimiento de pastos/plantas.

10 Según una decimoséptima parte de la tercera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 4-etnilpirimidina como tratamiento para zonas de parches urinarios en un pasto.

15 Según una decimoctava parte de la tercera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de la aplicación simultánea de 4-etnilpirimidina y una fuente de nitrógeno a pastos o cultivos.

Según una decimonovena parte de la tercera parte de la presente divulgación, se da a conocer la distribución de 4-etnilpirimidina para un uso, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en relación a la 6ª, 7ª, 9ª, 11ª, 12ª, 14ª, 15ª, 16ª, 17ª y 18ª partes de la tercera parte de la presente divulgación.

20 Según una vigésima parte de la tercera parte de la presente divulgación, se da a conocer un método de tratamiento de suelo agrícola u otro suelo con problemas de lixiviación de nitratos o de emisión de óxido nitroso que comprende la aplicación de 4-etnilpirimidina de forma directa o indirecta. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

25 Según una vigesimoprimera parte de la tercera parte de la presente divulgación, se da a conocer la aplicación simultánea de 4-etnilpirimidina con un fertilizante de nitrógeno para inhibir la nitrificación en el suelo.

30 Según una vigesimosegunda parte de la tercera parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar parches urinarios de origen animal aplicando 4-etnilpirimidina antes, durante o después de la deposición de orina.

35 Según una vigesimotercera parte de la tercera parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar suelo aplicando 4-etnilpirimidina a zonas de suelo las cuales han sido o serán sometidas a urea, fertilizante, efluente u otra fuente de nitrógeno. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Según una vigesimocuarta parte de la tercera parte de la presente divulgación, se da a conocer la aplicación de 4-etnilpirimidina al suelo, tierras de cultivo o pastos.

40 Según una vigesimoquinta parte de la tercera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 4-etnilpirimidina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de dosis se selecciona entre 1 kg/ha y 9 kg/ha.

45 Según una vigesimosexta parte de la tercera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 4-etnilpirimidina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de dosis es 1 kg/ha.

Según una vigesimoséptima parte de la tercera parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar suelo agrícola o suelo urbano comprendiendo la distribución de 4-etnilpirimidina de una manera seleccionada entre una o más de:

- cantidad de dosis;
- tipo de formulación;
- aplicación simultánea con una fuente de nitrógeno; o
- una combinación de las mismas,

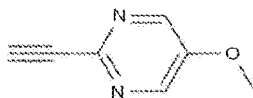
que hacen a la 4-etnilpirimidina apta para el tratamiento de suelo para reducir los impactos medioambientales de: orina animal, fertilizante de nitrógeno, abonos animales o efluentes. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Más información sobre 4-etnilpirimidina incluyendo distribuidores químicos puede ser encontrada en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4-Ethynylpyrimidine>

Cuarto: 2-etnil-5-metoxipirimidina (CAS 2400905-32-8)

La presente divulgación también da a conocer en una cuarta parte el uso de una 2-etnil-5-metoxipirimidina

con una estructura igual o sustancialmente similar a la indicada a la fórmula siguiente:



5 en relación a su aplicación para reducir la lixiviación de NO_3^- y las emisiones de N_2O a través de prevenir/inhibir la conversión del amonio a nitrato por parte de los microbios del suelo. La relación entre la inhibición de la nitrificación en el suelo y la reducción en la lixiviación de nitrato y las emisiones de óxido nítrico se muestran en la figura 1 (Di and Cameron 2016). Se ha demostrado de forma concluyente que tanto la lixiviación de nitrato como las emisiones de N_2O pueden ser reducidas inhibiendo el proceso de nitrificación
10 con un inhibidor de la nitrificación (Di and Cameron, 2016).

Según una primera parte de la cuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipirimidina como inhibidor de la nitrificación.

15 Preferentemente, existe un uso de 2-etinil-5-metoxipirimidina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de aplicación eficaz en kg/ha es significativamente inferior que la de DCD.

Según una segunda parte de la cuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipirimidina como ingrediente activo en una formulación inhibidora de la nitrificación.

20 Según una tercera parte de la cuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipirimidina en la preparación de un inhibidor de la nitrificación.

Según una cuarta parte de la cuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer la distribución de 2-etinil-5-metoxipirimidina como inhibidor de nitrificación, o para su uso en la preparación de un inhibidor de la nitrificación.

Preferentemente, la distribución puede ser en una o múltiples dosis.

30 Según una quinta parte de la cuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipirimidina en la preparación y/o distribución de un tratamiento de suelo para realizar la inhibición de la nitrificación así como sus efectos asociados.

35 Preferentemente, un tratamiento de suelo para reducir nitrificación y/o incrementar la eficiencia de uso del nitrógeno por parte de las plantas. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para comprender la invención.

Según una sexta parte de la cuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipirimidina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que el inhibidor de nitrificación reduce uno o más de:

- emisiones de óxido nítrico;
- lixiviación de nitrato; o
- una combinación de los mismos

45 del suelo.

Según una séptima parte de la cuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer el tratamiento de suelo para realizar la inhibición de la nitrificación así como sus efectos asociados usando 2-etinil-5-metoxipirimidina.

Según una octava parte de la cuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer el tratamiento de suelo, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que 2-etinil-5-metoxipirimidina se aplica simultáneamente con gránulos de urea u otros gránulos de fertilizantes que contienen nitrógeno.

55 Según una novena parte de la cuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipirimidina para recubrir gránulos de fertilizantes de urea, u otros gránulos de fertilizantes que contienen nitrógeno.

60 Según una décima parte de la cuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer un gránulo de fertilizante de nitrógeno el cual está recubierto con 2-etinil-5-metoxipirimidina.

Preferentemente, el gránulo de fertilizante de nitrógeno puede ser urea (u otras formas amoniacaes de

nitrógeno o un fertilizante de nitrógeno que libera amonio en el suelo).

Según una undécima parte de la cuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipirimidina como aditivo para fertilizantes líquidos que contienen nitrógeno.

Según una duodécima parte de la cuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipirimidina en forma líquida y/o de partícula como tratamiento para el suelo.

Según una decimotercera parte de la cuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer la preparación y/o distribución de 2-etinil-5-metoxipirimidina para recubrir fertilizantes de nitrógeno.

Según una decimocuarta parte de la cuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipirimidina para aumentar la eficiencia de uso del nitrógeno en sistemas de pasto/cultivo, o para aumentar la eficiencia de uso del nitrógeno de fertilizantes. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Según una decimoquinta parte de la cuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipirimidina para interrumpir el proceso de nitrificación microbiano del suelo.

Según una decimosexta parte de la cuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipirimidina para mejorar el crecimiento de pastos/plantas.

Según una decimoséptima parte de la cuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipirimidina como tratamiento para zonas de parches urinarios en un pasto.

Según una decimoctava parte de la cuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de la aplicación simultánea de 2-etinil-5-metoxipirimidina y una fuente de nitrógeno a pastos o cultivos.

Según una decimonovena parte de la cuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer la distribución de 2-etinil-5-metoxipirimidina para un uso, sustancialmente tal como se describió anteriormente en relación a la 6^a, 7^a, 9^a, 11^a, 12^a, 14^a, 15^a, 16^a, 17^a y 18^a partes de la cuarta parte de la presente divulgación.

Según una vigésima parte de la cuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer un método de tratamiento de suelo agrícola u otro suelo con problemas de lixiviación de nitratos o de emisión de óxido nitroso que comprende la aplicación de 2-etinil-5-metoxipirimidina de forma directa o indirecta. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Según una vigesimoprimera parte de la cuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer la aplicación simultánea de 2-etinil-5-metoxipirimidina con un fertilizante de nitrógeno para inhibir la nitrificación en el suelo.

Según una vigesimosegunda parte de la cuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar parches urinarios de origen animal aplicando 2-etinil-5-metoxipirimidina antes, durante o después de la deposición de orina.

Según una vigesimotercera parte de la cuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar suelo aplicando 2-etinil-5-metoxipirimidina a zonas de suelo las cuales han sido o serán sometidas a urea, fertilizante, efluente u otra fuente de nitrógeno. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Según una vigesimocuarta parte de la cuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer la aplicación de 2-etinil-5-metoxipirimidina al suelo, tierras de cultivo o pastos.

Según una vigesimoquinta parte de la cuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipirimidina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de dosis se selecciona entre 1 kg/ha y 9 kg/ha.

Según una vigesimosexta parte de la cuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipirimidina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de dosis es 1 kg/ha.

Según una vigesimoséptima parte de la cuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar suelo agrícola o suelo urbano comprendiendo la distribución de 2-etinil-5-metoxipirimidina de una manera seleccionada entre una o más de:

- cantidad de dosis;

- tipo de formulación;
- aplicación simultánea con una fuente de nitrógeno; o
- una combinación de las mismas,

5 que hacen a la 2-etinil-5-metoxipirimidina apta para el tratamiento de suelo para reducir los impactos medioambientales de: orina animal, fertilizante de nitrógeno, abonos animales o efluentes. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Más información sobre 2-etinil-5-metoxipirimidina incluyendo distribuidores químicos puede ser encontrada en:

10 <https://chem-space.com/search/text/2-Ethynyl-5-methoxypyrimidine/0b84d50603c89ce6fdb0f732e78b0105>

Quinto: 5-etinil-2-metoxipirimidina (CAS 1059705-07-5)

15 La presente divulgación también da a conocer en una quinta parte el uso de 5-etinil-2-metoxipirimidina con una estructura igual o sustancialmente similar a la indicada a la fórmula siguiente:



20 en relación a su aplicación para reducir la lixiviación de NO_3^- y las emisiones de N_2O a través de prevenir/inhibir la conversión del amonio a nitrato por parte de los microbios del suelo. La relación entre la inhibición de la nitrificación en el suelo y la reducción en la lixiviación de nitrato y las emisiones de óxido nítrico se muestran en la figura 1 (Di and Cameron 2016). Se ha demostrado de forma concluyente que tanto la lixiviación de nitrato como las emisiones de N_2O pueden ser reducidas inhibiendo el proceso de nitrificación con un inhibidor de la nitrificación (Di and Cameron, 2016).

25 Según una primera parte de la quinta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 5-etinil-2-metoxipirimidina como inhibidor de la nitrificación.

30 Preferentemente, existe un uso de 5-etinil-2-metoxipirimidina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de aplicación eficaz en kg/ha es significativamente inferior que la de DCD.

Según una segunda parte de la quinta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 5-etinil-2-metoxipirimidina como ingrediente activo en una formulación inhibidora de la nitrificación.

35 Según una tercera parte de la quinta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 5-etinil-2-metoxipirimidina en la preparación de un inhibidor de la nitrificación.

40 Según una cuarta parte de la quinta parte de la presente divulgación, se da a conocer la distribución de 5-etinil-2-metoxipirimidina como inhibidor de nitrificación, o para su uso en la preparación de un inhibidor de la nitrificación.

Preferentemente, la distribución puede ser en una o múltiples dosis.

45 Según una quinta parte de la quinta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 5-etinil-2-metoxipirimidina en la preparación y/o distribución de un tratamiento de suelo para realizar la inhibición de la nitrificación, así como sus efectos asociados.

50 Preferentemente, un tratamiento de suelo para reducir nitrificación y/o incrementar la eficiencia de uso del nitrógeno por parte de las plantas. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para comprender la invención.

Según una sexta parte de la quinta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 5-etinil-2-metoxipirimidina, sustancialmente tal como se describió anteriormente donde el inhibidor de nitrificación reduce uno o más de:

- emisiones de óxido nítrico;
- lixiviación de nitrato; o
- una combinación de los mismos

60 del suelo.

Según una séptima parte de la quinta parte de la presente divulgación, se da a conocer el tratamiento de suelo para realizar la inhibición de la nitrificación, así como sus efectos asociados, usando 5-etinil-2-metoxipirimidina.

- Según una octava parte de la quinta parte de la presente divulgación, se da a conocer el tratamiento de suelo sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que 5-etinil-2-metoxipirimidina se aplica simultáneamente con gránulos de urea u otros gránulos de fertilizantes que contienen nitrógeno.
- 5 Según una novena parte de la quinta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 5-etinil-2-metoxipirimidina para recubrir gránulos de fertilizantes de urea, u otros gránulos de fertilizantes que contienen nitrógeno.
- 10 Según una décima parte de la quinta parte de la presente divulgación, se da a conocer un gránulo de fertilizante de nitrógeno que está recubierto con 5-etinil-2-metoxipirimidina.
- Preferentemente, el gránulo de fertilizante de nitrógeno puede ser urea (u otras formas amoniacales de nitrógeno o un fertilizante de nitrógeno que libera amonio en el suelo).
- 15 Según una undécima parte de la quinta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 5-etinil-2-metoxipirimidina como aditivo para fertilizantes líquidos que contienen nitrógeno.
- 20 Según una duodécima parte de la quinta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 5-etinil-2-metoxipirimidina en forma líquida y/o de partícula como tratamiento para el suelo.
- Según una decimotercera parte de la quinta parte de la presente divulgación, se da a conocer la preparación y/o distribución de 5-etinil-2-metoxipirimidina para recubrir fertilizantes de nitrógeno.
- 25 Según una decimocuarta parte de la quinta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 5-etinil-2-metoxipirimidina para aumentar la eficiencia de uso de nitrógeno en sistemas de pasto/cultivo, o para aumentar la eficiencia de uso de nitrógeno de fertilizantes. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.
- 30 Según una decimoquinta parte de la quinta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 5-etinil-2-metoxipirimidina para interrumpir el proceso de nitrificación microbiano del suelo.
- Según una decimosexta parte de la quinta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 5-etinil-2-metoxipirimidina para mejorar el crecimiento de pastos/plantas.
- 35 Según una decimoséptima parte de la quinta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 5-etinil-2-metoxipirimidina como tratamiento para zonas de parches urinarios en un pasto.
- Según una decimooctava parte de la quinta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de la aplicación simultánea de 5-etinil-2-metoxipirimidina y una fuente de nitrógeno a pastos o cultivos.
- 40 Según una decimonovena parte de la quinta parte de la presente divulgación, se da a conocer la distribución de 5-etinil-2-metoxipirimidina para un uso, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en relación a la 6ª, 7ª, 9ª, 11ª, 12ª, 14ª, 15ª, 16ª, 17ª y 18ª partes de la quinta parte de la presente divulgación.
- 45 Según una vigésima parte de la quinta parte de la presente divulgación, se da a conocer un método de tratamiento de suelo agrícola u otro suelo con problemas de lixiviación de nitratos o de emisión de óxido nitroso que comprende la aplicación de 5-etinil-2-metoxipirimidina de forma directa o indirecta. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.
- 50 Según una vigesimoprimera parte de la quinta parte de la presente divulgación, se da a conocer la aplicación simultánea de 5-etinil-2-metoxipirimidina con un fertilizante de nitrógeno para inhibir la nitrificación en el suelo.
- 55 Según una vigesimosegunda parte de la quinta parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar parches urinarios de origen animal aplicando 5-etinil-2-metoxipirimidina antes, durante o después de la deposición de orina.
- Según una vigesimotercera parte de la quinta parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar suelo aplicando 5-etinil-2-metoxipirimidina a zonas de suelo las cuales han sido o serán sometidas a urea, fertilizante, efluente u otra fuente de nitrógeno. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.
- 60 Según una vigesimocuarta parte de la quinta parte de la presente divulgación, se da a conocer la aplicación de 5-etinil-2-metoxipirimidina al suelo, tierras de cultivo o pastos.
- 65

Según una vigesimoquinta parte de la quinta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 5-etinil-2-metoxipirimidina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de dosis se selecciona entre 1 kg/ha y 9 kg/ha.

5 Según una vigesimosexta parte de la quinta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 5-etinil-2-metoxipirimidina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de dosis es 1 kg/ha.

10 Según una vigesimoséptima parte de la quinta parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar suelo agrícola o suelo urbano comprendiendo la distribución de 5-etinil-2-metoxipirimidina de una manera seleccionada entre una o más de:

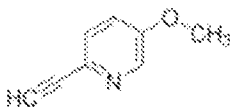
- cantidad de dosis;
- tipo de formulación;
- 15 - aplicación simultánea con una fuente de nitrógeno; o
- una combinación de las mismas,

que hacen a la 5-etinil-2-metoxipirimidina apta para el tratamiento de suelo para reducir los impactos medioambientales de: orina animal, fertilizante de nitrógeno, abonos animales o efluentes. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Más información sobre 5-etinil-2-metoxipirimidina incluyendo distribuidores químicos puede ser encontrada en: <https://www.achemblock.com/5-ethynyl-2-methoxypyrimidine.html>

25 **Sexto: 2-etinil-5-metoxipiridina (CAS 1196155-18-6)**

La presente divulgación también da a conocer en una sexta parte el uso de una 2-etinil-5-metoxipiridina con una estructura igual o sustancialmente similar a la indicada a la fórmula siguiente:



30

en relación a su aplicación para reducir la lixiviación de NO_3^- y las emisiones de N_2O a través de prevenir/inhibir la conversión del amonio a nitrato por parte de los microbios del suelo. La relación entre la inhibición de la nitrificación en el suelo y la reducción en la lixiviación de nitrato y las emisiones de óxido nitrroso se muestran en la figura 1 (Di and Cameron 2016). Se ha demostrado de forma concluyente que tanto la lixiviación de nitrato como las emisiones de N_2O pueden ser reducidas inhibiendo el proceso de nitrificación con un inhibidor de la nitrificación (Di and Cameron, 2016).

40 Según una primera parte de la sexta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipiridina como inhibidor de la nitrificación.

Preferentemente, existe un uso de 2-etinil-5-metoxipiridina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de aplicación eficaz en kg/ha es significativamente inferior que la de DCD.

45 Según una segunda parte de la sexta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipiridina como ingrediente activo en una formulación inhibidora de nitrificación.

Según una tercera parte de la sexta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipiridina en la preparación de un inhibidor de la nitrificación.

50

Según una cuarta parte de la sexta parte de la presente divulgación, se da a conocer la distribución de 2-etinil-5-metoxipiridina como inhibidor de la nitrificación, o para su uso en la preparación de un inhibidor de la nitrificación.

55 Preferentemente, la distribución puede ser en una o múltiples dosis.

Según una quinta parte de la sexta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipiridina en la preparación y/o distribución de un tratamiento de suelo para realizar la inhibición de la nitrificación, así como sus efectos asociados.

60

Preferentemente, un tratamiento de suelo para reducir nitrificación y/o incrementar la eficiencia de uso del nitrógeno por parte de las plantas. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para comprender la invención.

Según una sexta parte de la sexta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipiridina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que el inhibidor de nitrificación reduce uno o más de:

- emisiones de óxido nitroso;
- lixiviación de nitrato; o
- una combinación de los mismos

del suelo.

Según una séptima parte de la sexta parte de la presente divulgación, se da a conocer el tratamiento de suelo para realizar la inhibición de la nitrificación, así como sus efectos asociados, usando 2-etinil-5-metoxipiridina.

Según una octava parte de la sexta parte de la presente divulgación, se da a conocer el tratamiento de suelo sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que 2-etinil-5-metoxipiridina se aplica simultáneamente con gránulos de urea u otros gránulos de fertilizantes que contienen nitrógeno.

Según una novena parte de la sexta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipiridina para recubrir gránulos de fertilizantes de urea, u otros gránulos de fertilizantes que contienen nitrógeno.

Según una décima parte de la sexta parte de la presente divulgación, se da a conocer un gránulo de fertilizante de nitrógeno que está recubierto con 2-etinil-5-metoxipiridina.

Preferentemente, el gránulo de fertilizante de nitrógeno puede ser urea (u otras formas amoniacaes de nitrógeno o un fertilizante de nitrógeno que libera amonio en el suelo).

Según una undécima parte de la sexta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipiridina como aditivo para fertilizantes líquidos que contienen nitrógeno.

Según una duodécima parte de la sexta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipiridina en forma líquida y/o de partícula como tratamiento para el suelo.

Según una decimotercera parte de la sexta parte de la presente divulgación, se da a conocer la preparación y/o distribución de 2-etinil-5-metoxipiridina para recubrir fertilizantes de nitrógeno.

Según una decimocuarta parte de la sexta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipiridina para aumentar la eficiencia de uso de nitrógeno en sistemas de pasto/cultivo, o para aumentar la eficiencia de uso de nitrógeno de fertilizantes. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Según una decimoquinta parte de la sexta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipiridina para interrumpir el proceso de nitrificación microbiano del suelo.

Según una decimosexta parte de la sexta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipiridina para mejorar el crecimiento de pastos/plantas.

Según una decimoséptima parte de la sexta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipiridina como tratamiento para zonas de parches urinarios en un pasto.

Según una decimoctava parte de la sexta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de la aplicación simultánea de 2-etinil-5-metoxipiridina y una fuente de nitrógeno a pastos o cultivos.

Según una decimonovena parte de la sexta parte de la presente divulgación, se da a conocer la distribución de 2-etinil-5-metoxipiridina para un uso, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en relación a la 6ª, 7ª, 9ª, 11ª, 12ª, 14ª, 15ª, 16ª, 17ª y 18ª partes de la sexta parte de la presente divulgación.

Según una vigésima parte de la sexta parte de la presente divulgación, se da a conocer un método de tratamiento de suelo agrícola u otro suelo con problemas de lixiviación de nitratos o de emisión de óxido nitroso que comprende la aplicación de 2-etinil-5-metoxipiridina de forma directa o indirecta. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Según una vigesimoprimera parte de la sexta parte de la presente divulgación, se da a conocer la aplicación simultánea de 2-etinil-5-metoxipiridina con un fertilizante de nitrógeno para inhibir la nitrificación en el suelo.

Según una vigesimosegunda parte de la sexta parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar parches urinarios de origen animal aplicando 2-etinil-5-metoxipiridina antes, durante o después de la deposición de orina.

5 Según una vigesimotercera parte de la sexta parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar suelo aplicando 2-etinil-5-metoxipiridina a zonas de suelo las cuales han sido o serán sometidas a urea, fertilizante, efluente u otra fuente de nitrógeno. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

10 Según una vigesimocuarta parte de la sexta parte de la presente divulgación, se da a conocer la aplicación de 2-etinil-5-metoxipiridina al suelo, tierras de cultivo o pastos.

Según una vigesimoquinta parte de la sexta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipiridina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de dosis se selecciona entre 0,5 kg/ha y 9 kg/ha.

15 Según una vigesimosexta parte de la sexta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipiridina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de dosis es 0,5 kg/ha.

20 Según una vigesimoséptima parte de la sexta parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar suelo agrícola o suelo urbano comprendiendo la distribución de 2-etinil-5-metoxipiridina de una manera seleccionada entre una o más de:

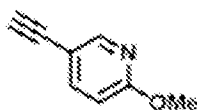
- 25
- cantidad de dosis;
 - tipo de formulación;
 - aplicación simultánea con una fuente de nitrógeno; o
 - una combinación de los mismos,

30 que hacen a la 2-etinil-5-metoxipiridina apta para el tratamiento de suelo para reducir los impactos medioambientales de: orina animal, fertilizante de nitrógeno, abonos animales o efluentes. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Más información sobre 2-etinil-5-metoxipiridina incluyendo distribuidores químicos puede ser encontrada en:
35 <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/cds023940>

Séptimo: 5-etinil-2-metoxipiridina (CAS 663955-59-7)

40 La presente divulgación también da a conocer en una séptima parte el uso de una 5-etinil-2-metoxipiridina con una estructura igual o sustancialmente similar a la indicada a la fórmula siguiente:



45 en relación a su aplicación para reducir la lixiviación de NO_3^- y las emisiones de N_2O a través de prevenir/inhibir la conversión del amonio a nitrato por parte de los microbios del suelo. La relación entre la inhibición de la nitrificación en el suelo y la reducción en la lixiviación de nitrato y las emisiones de óxido nítrico se muestran en la figura 1 (Di and Cameron 2016). Se ha demostrado de forma concluyente que tanto la lixiviación de nitrato como las emisiones de N_2O pueden ser reducidas inhibiendo el proceso de nitrificación con un inhibidor de la nitrificación (Di and Cameron, 2016).

50 Según una primera parte de la séptima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 5-etinil-2-metoxipiridina como inhibidor de la nitrificación.

55 Preferentemente, existe un uso de 5-etinil-2-metoxipiridina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de aplicación eficaz en kg/ha es significativamente inferior que la de DCD.

Según una segunda parte de la séptima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 5-etinil-2-metoxipiridina como ingrediente activo en una formulación inhibidora de la nitrificación.

60 Según una tercera parte de la séptima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 5-etinil-2-metoxipiridina en la preparación de un inhibidor de la nitrificación.

Según una cuarta parte de la séptima parte de la presente divulgación, se da a conocer la distribución de 5-

etnil-2-metoxipiridina como inhibidor de nitrificación, o para su uso en la preparación de un inhibidor de la nitrificación.

Preferentemente, la distribución puede ser en una o múltiples dosis.

5

Según una quinta parte de la séptima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 5-etnil-2-metoxipiridina en la preparación y/o distribución de un tratamiento de suelo para realizar la inhibición de la nitrificación, así como sus efectos asociados.

10

Preferentemente, un tratamiento de suelo para reducir nitrificación y/o incrementar la eficiencia de uso del nitrógeno por parte de las plantas. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para comprender la invención.

15

Según una sexta parte de la séptima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 5-etnil-2-metoxipiridina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que el inhibidor de nitrificación reduce uno o más de:

- emisiones de óxido nitroso;
- lixiviación de nitrato; o
- una combinación de los mismos

20

del suelo.

25

Según una séptima parte de la séptima parte de la presente divulgación, se da a conocer el tratamiento de suelo para realizar la inhibición de la nitrificación, así como sus efectos asociados, usando 5-etnil-2-metoxipiridina.

30

Según una octava parte de la séptima parte de la presente divulgación, se da a conocer el tratamiento de suelo, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que 5-etnil-2-metoxipiridina se aplica simultáneamente con gránulos de urea u otros gránulos de fertilizantes que contienen nitrógeno.

35

Según una novena parte de la séptima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 5-etnil-2-metoxipiridina para recubrir gránulos de fertilizantes de urea, u otros gránulos de fertilizantes que contienen nitrógeno.

40

Según una décima parte de la séptima parte de la presente divulgación, se da a conocer un gránulo de fertilizante de nitrógeno el cual está recubierto con 5-etnil-2-metoxipiridina.

45

Preferentemente, el gránulo de fertilizante de nitrógeno puede ser urea (u otras formas amoniacaes de nitrógeno o un fertilizante de nitrógeno que libera amonio en el suelo).

50

Según una undécima parte de la séptima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 5-etnil-2-metoxipiridina como aditivo para fertilizantes líquidos que contienen nitrógeno.

55

Según una duodécima parte de la séptima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 5-etnil-2-metoxipiridina en forma líquida y/o de partícula como tratamiento para el suelo.

60

Según una decimotercera parte de la séptima parte de la presente divulgación, se da a conocer la preparación y/o distribución de 5-etnil-2-metoxipiridina para recubrir fertilizantes de nitrógeno.

65

Según una decimocuarta parte de la séptima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 5-etnil-2-metoxipiridina para aumentar la eficiencia de uso de nitrógeno en sistemas de pasto/cultivo, o para aumentar la eficiencia de uso de nitrógeno de fertilizantes. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

70

Según una decimoquinta parte de la séptima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 5-etnil-2-metoxipiridina para interrumpir el proceso de nitrificación microbiano del suelo.

Según una decimosexta parte de la séptima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 5-etnil-2-metoxipiridina para mejorar el crecimiento de pastos/plantas.

Según una decimoséptima parte de la séptima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 5-etnil-2-metoxipiridina como tratamiento para zonas de parches urinarios en un pasto.

75

Según una decimoctava parte de la séptima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de la aplicación simultánea de 5-etnil-2-metoxipiridina y una fuente de nitrógeno a pastos o cultivos.

Según una decimonovena parte de la séptima parte de la presente divulgación, se da a conocer la distribución de 5-etinil-2-metoxipiridina para un uso, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en relación a la 6^a, 7^a, 9^a, 11^a, 12^a, 14^a, 15^a, 16^a, 17^a y 18^a partes de la séptima parte de la presente divulgación.

Según una vigésima parte de la séptima parte de la presente divulgación, se da a conocer un método de tratamiento de suelo agrícola u otro suelo con problemas de lixiviación de nitratos o de emisión de óxido nitroso que comprende la aplicación de 5-etinil-2-metoxipiridina de forma directa o indirecta. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Según una vigesimoprimer parte de la séptima parte de la presente divulgación, se da a conocer la aplicación simultánea de 5-etinil-2-metoxipiridina con un fertilizante de nitrógeno para inhibir la nitrificación en el suelo.

Según una vigesimosegunda parte de la séptima parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar parches urinarios de origen animal aplicando 5-etinil-2-metoxipiridina antes, durante o después de la deposición de orina.

Según una vigesimotercera parte de la séptima parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar suelo aplicando 5-etinil-2-metoxipiridina a zonas de suelo las cuales han sido o serán sometidas a urea, fertilizante, efluente u otra fuente de nitrógeno. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Según una vigesimocuarta parte de la séptima parte de la presente divulgación, se da a conocer la aplicación de 5-etinil-2-metoxipiridina al suelo, tierras de cultivo o pastos.

Según una vigesimoquinta parte de la séptima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 5-etinil-2-metoxipiridina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de dosis se selecciona entre 2 kg/ha y 9 kg/ha.

Según una vigesimosexta parte de la séptima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 5-etinil-2-metoxipiridina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de dosis es 2 kg/ha.

Según una vigesimoséptima parte de la séptima parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar suelo agrícola o suelo urbano comprendiendo la distribución de 5-etinil-2-metoxipiridina de una manera seleccionada entre una o más de:

- cantidad de dosis;
- tipo de formulación;
- aplicación simultánea con una fuente de nitrógeno; o
- una combinación de las mismas,

que hacen a la 5-etinil-2-metoxipiridina apta para el tratamiento de suelo para reducir los impactos medioambientales de: orina animal, fertilizante de nitrógeno, abonos animales o efluentes. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Más información sobre 5-etinil-2-metoxipiridina incluyendo distribuidores químicos puede ser encontrada en: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aidrich/rni00198>

8º: 1-óxido de 3-etinilpiridina (CAS 49836-11-5)

La presente divulgación también da a conocer en una octava parte el uso de 1-óxido de 3-etinilpiridina con una estructura igual o sustancialmente similar a la indicada a la fórmula siguiente:



en relación a su aplicación para reducir la lixiviación de NO_3^- y las emisiones de N_2O a través de prevenir/inhibir la conversión del amonio a nitrato por parte de los microbios del suelo. La relación entre la inhibición de la nitrificación en el suelo y la reducción en la lixiviación de nitrato y las emisiones de óxido nitroso se muestran en la figura 1 (Di and Cameron 2016). Se ha demostrado de forma concluyente que tanto la lixiviación de nitrato como las emisiones de N_2O pueden ser reducidas inhibiendo el proceso de nitrificación con un inhibidor de la nitrificación (Di and Cameron, 2016).

Según una primera parte de la octava parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1-óxido de 3-etinilpiridina como inhibidor de la nitrificación.

5 Preferentemente, existe un uso de 1-óxido de 3-etinilpiridina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de aplicación eficaz en kg/ha es significativamente inferior que la de DCD.

Según una segunda parte de la octava parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1-óxido de 3-etinilpiridina como ingrediente activo en una formulación inhibidora de la nitrificación.

10 Según una tercera parte de la octava parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1-óxido de 3-etinilpiridina en la preparación de un inhibidor de la nitrificación.

15 Según una cuarta parte de la octava parte de la presente divulgación, se da a conocer la distribución de 1-óxido de 3-etinilpiridina como inhibidor de nitrificación, o para su uso en la preparación de un inhibidor de la nitrificación.

Preferentemente, la distribución puede ser en una o múltiples dosis.

20 Según una quinta parte de la octava parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1-óxido de 3-etinilpiridina en la preparación y/o distribución de un tratamiento de suelo para realizar la inhibición de la nitrificación, así como sus efectos asociados.

25 Preferentemente, un tratamiento de suelo para reducir nitrificación y/o incrementar la eficiencia de uso del nitrógeno por parte de las plantas. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para comprender la invención.

30 Según una sexta parte de la octava parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1-óxido de 3-etinilpiridina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que el inhibidor de la nitrificación reduce uno o más de:

- emisiones de óxido nitroso;
- lixiviación de nitrato; o
- una combinación de los mismos

35 del suelo.

40 Según una séptima parte de la octava parte de la presente divulgación, se da a conocer el tratamiento de suelo para realizar la inhibición de la nitrificación, así como sus efectos asociados, usando 1-óxido de 3-etinilpiridina.

45 Según una octava parte de la octava parte de la presente divulgación, se da a conocer el tratamiento de suelo, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que 1-óxido de 3-etinilpiridina se aplica simultáneamente con gránulos de urea u otros gránulos de fertilizantes que contienen nitrógeno.

Según una novena parte de la octava parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1-óxido de 3-etinilpiridina para recubrir gránulos de fertilizantes de urea, u otros gránulos de fertilizantes que contienen nitrógeno.

50 Según una décima parte de la octava parte de la presente divulgación, se da a conocer un gránulo de fertilizante de nitrógeno el cual está recubierto con 1-óxido de 3-etinilpiridina.

55 Preferentemente, el gránulo de fertilizante de nitrógeno puede ser urea (u otras formas amoniacaes de nitrógeno o un fertilizante de nitrógeno que libera amonio en el suelo).

Según una undécima parte de la octava parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1-óxido de 3-etinilpiridina como aditivo para fertilizantes líquidos que contienen nitrógeno.

60 Según una duodécima parte de la octava parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1-óxido de 3-etinilpiridina en forma líquida y/o de partícula como tratamiento para el suelo.

Según una decimotercera parte de la octava parte de la presente divulgación, se da a conocer la preparación y/o distribución de 1-óxido de 3-etinilpiridina para recubrir fertilizantes de nitrógeno.

65 Según una decimocuarta parte de la octava parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1-óxido de 3-etinilpiridina para aumentar la eficiencia de uso de nitrógeno en sistemas de pasto/cultivo, o para

augmentar la eficiencia de uso de nitrógeno de fertilizantes. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

5 Según una decimoquinta parte de la octava parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1-óxido de 3-etinilpiridina para interrumpir el proceso de nitrificación microbiano del suelo.

Según una decimosexta parte de la octava parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1-óxido de 3-etinilpiridina para mejorar el crecimiento de pastos/plantas.

10 Según una decimoséptima parte de la octava parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1-óxido de 3-etinilpiridina como tratamiento para zonas de parches urinarios en un pasto.

Según una decimooctava parte de la octava parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de la aplicación simultánea de 1-óxido de 3-etinilpiridina y una fuente de nitrógeno a pastos o cultivos.

15 Según una decimonovena parte de la octava parte de la presente divulgación, se da a conocer la distribución de 1-óxido de 3-etinilpiridina para un uso, sustancialmente tal como se describió anteriormente en relación a la 6ª, 7ª, 9ª, 11ª, 12ª, 14ª, 15ª, 16ª, 17ª y 18ª partes de la octava parte de la presente divulgación.

20 Según una vigésima parte de la octava parte de la presente divulgación, se da a conocer un método de tratamiento de suelo agrícola u otro suelo con problemas de lixiviación de nitratos o de emisión de óxido nitroso que comprende la aplicación de 1-óxido de 3-etinilpiridina de forma directa o indirecta. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

25 Según una vigesimoprimera parte de la octava parte de la presente divulgación, se da a conocer la aplicación simultánea de 1-óxido de 3-etinilpiridina con un fertilizante de nitrógeno para inhibir la nitrificación en el suelo.

Según una vigesimosegunda parte de la octava parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar parches urinarios de origen animal aplicando 1-óxido de 3-etinilpiridina antes, durante o después de la deposición de orina.

Según una vigesimotercera parte de la octava parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar suelo aplicando 1-óxido de 3-etinilpiridina a zonas de suelo que han sido o serán sometidas a urea, fertilizante, efluente u otra fuente de nitrógeno. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Según una vigesimocuarta parte de la octava parte de la presente divulgación, se da a conocer la aplicación de 1-óxido de 3-etinilpiridina al suelo, tierras de cultivo o pastos.

40 Según una vigesimoquinta parte de la octava parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1-óxido de 3-etinilpiridina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de dosis se selecciona entre 0,5 kg/ha y 9 kg/ha.

Según una vigesimosexta parte de la octava parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1-óxido de 3-etinilpiridina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de dosis es de 0,5 kg/ha.

Según una vigesimoséptima parte de la octava parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar suelo agrícola o suelo urbano comprendiendo la distribución de 1-óxido de 3-etinilpiridina de una manera seleccionada entre una o más de:

- cantidad de dosis;
- tipo de formulación;
- aplicación simultánea con una fuente de nitrógeno; o
- una combinación de las mismas,

que hacen a la 1-óxido de 3-etinilpiridina apta para el tratamiento de suelo para reducir los impactos medioambientales de: orina animal, fertilizante de nitrógeno, abonos animales o efluentes. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Más información sobre el 1-óxido de 3-etinilpiridina incluyendo distribuidores químicos puede ser encontrada en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3-Ethynyl-pyridine-1-oxide>

9ª: 2,5-dietinilpiridina (CAS 137000-75-0)

La presente divulgación también se refiere en una novena parte al uso de 2,5-dietinilpiridina con una

estructura igual o sustancialmente similar a la indicada a la fórmula siguiente:



- 5 en relación a su aplicación para reducir la lixiviación de NO_3^- y las emisiones de N_2O a través de prevenir/inhibir la conversión del amonio a nitrato por parte de los microbios del suelo. La relación entre la inhibición de la nitrificación en el suelo y la reducción en la lixiviación de nitrato y las emisiones de óxido nitroso se muestran en la figura 1 (Di and Cameron 2016). Se ha demostrado de forma concluyente que tanto la lixiviación de nitrato como las emisiones de N_2O pueden ser reducidas inhibiendo el proceso de nitrificación con un inhibidor de la nitrificación (Di and Cameron, 2016).

Según una primera parte de la novena parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2,5-dietinilpiridina como inhibidor de la nitrificación.

- 15 Preferentemente, existe un uso de 2,5-dietinilpiridina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de aplicación eficaz en kg/ha es significativamente inferior que la de DCD.

Según una segunda parte de la novena parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2,5-dietinilpiridina como ingrediente activo en una formulación inhibidora de la nitrificación.

- 20 Según una tercera parte de la novena parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2,5-dietinilpiridina en la preparación de un inhibidor de la nitrificación.

- 25 Según una cuarta parte de la novena parte de la presente divulgación, se da a conocer la distribución de 2,5-dietinilpiridina como inhibidor de la nitrificación, o para su uso en la preparación de un inhibidor de la nitrificación.

Preferentemente, la distribución puede ser en una o múltiples dosis.

- 30 Según una quinta parte de la novena parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2,5-dietinilpiridina en la preparación y/o distribución de un tratamiento de suelo para realizar la inhibición de la nitrificación así como sus efectos asociados.

- 35 Preferentemente, un tratamiento de suelo para reducir nitrificación y/o incrementar la eficiencia de uso del nitrógeno por parte de las plantas. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para comprender la invención.

- 40 Según una sexta parte de la novena parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2,5-dietinilpiridina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que el inhibidor de nitrificación reduce uno o más de:

- emisiones de óxido nitroso;
- lixiviación de nitrato; o
- una combinación de los mismos

- 45 del suelo.

- 50 Según una séptima parte de la novena parte de la presente divulgación, se da a conocer el tratamiento de suelo para realizar la inhibición de la nitrificación, así como sus efectos asociados, usando 2,5-dietinilpiridina.

Según una octava parte de la novena parte de la presente divulgación, se da a conocer el tratamiento de suelo, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que 2,5-dietinilpiridina se aplica simultáneamente con gránulos de urea u otros gránulos de fertilizantes que contienen nitrógeno.

- 55 Según una novena parte de la novena parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2,5-dietinilpiridina para recubrir gránulos de fertilizantes de urea, u otros gránulos de fertilizantes que contienen nitrógeno.

- 60 Según una décima parte de la novena parte de la presente divulgación, se da a conocer un gránulo de fertilizante de nitrógeno el cual está recubierto con 2,5-dietinilpiridina.

Preferentemente, el gránulo de fertilizante de nitrógeno puede ser urea (u otras formas amoniacaes de nitrógeno o un fertilizante de nitrógeno que libera amonio en el suelo).

Según una undécima parte de la novena parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2,5-dietinilpiridina como aditivo para fertilizantes líquidos que contienen nitrógeno.

5 Según una duodécima parte de la novena parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2,5-dietinilpiridina en forma líquida y/o de partícula como tratamiento para el suelo.

Según una decimotercera parte de la novena parte de la presente divulgación, se da a conocer la preparación y/o distribución de 2,5-dietinilpiridina para recubrir fertilizantes de nitrógeno.

10 Según una decimocuarta parte de la novena parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2,5-dietinilpiridina para aumentar la eficiencia de uso de nitrógeno en sistemas de pasto/cultivo, o para aumentar la eficiencia de uso del nitrógeno de fertilizantes. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

15 Según una decimoquinta parte de la novena parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2,5-dietinilpiridina para interrumpir el proceso de nitrificación microbiano del suelo.

20 Según una decimosexta parte de la novena parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2,5-dietinilpiridina para mejorar el crecimiento de pastos/plantas.

Según una decimoséptima parte de la novena parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2,5-dietinilpiridina como tratamiento para zonas de parches urinarios en un pasto.

25 Según una decimooctava parte de la novena parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de la aplicación simultánea de 2,5-dietinilpiridina y una fuente de nitrógeno a pastos o cultivos.

30 Según una decimonovena parte de la novena parte de la presente divulgación, se da a conocer la distribución de 2,5-dietinilpiridina para un uso, sustancialmente tal como se describió anteriormente en relación a la 6ª, 7ª, 9ª, 11ª, 12ª, 14ª, 15ª, 16ª, 17ª y 18ª partes de la novena parte de la presente divulgación.

35 Según una vigésima parte de la novena parte de la presente divulgación, se da a conocer un método de tratamiento de suelo agrícola u otro suelo con problemas de lixiviación de nitratos o de emisión de óxido nitroso que comprende la aplicación de 2,5-dietinilpiridina de forma directa o indirecta. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Según una vigesimoprimera parte de la novena parte de la presente divulgación, se da a conocer la aplicación simultánea de 2,5-dietinilpiridina con un fertilizante de nitrógeno para inhibir la nitrificación en el suelo.

40 Según una vigesimosegunda parte de la novena parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar parches urinarios de origen animal aplicando 2,5-dietinilpiridina antes, durante o después de la deposición de orina.

45 Según una vigesimotercera parte de la novena parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar suelo aplicando 2,5-dietinilpiridina a zonas de suelo las cuales han sido o serán sometidas a urea, fertilizante, efluente u otra fuente de nitrógeno. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

50 Según una vigesimocuarta parte de la novena parte de la presente divulgación, se da a conocer la aplicación de 2,5-dietinilpiridina al suelo, tierras de cultivo o pastos.

55 Según una vigesimoquinta parte de la novena parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2,5-dietinilpiridina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de dosis se selecciona entre 2 kg/ha y 9 kg/ha.

Según una vigesimosexta parte de la novena parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2,5-dietinilpiridina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la dosificación es 2 kg/ha.

60 Según una vigesimoséptima parte de la novena parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar suelo agrícola o suelo urbano comprendiendo la distribución de 2,5-dietinilpiridina de una manera seleccionada entre una o más de:

- cantidad de dosis;
- tipo de formulación;
- 65 - aplicación simultánea con una fuente de nitrógeno; o
- una combinación de los mismas,

que hacen a la 2,5-dietinilpiridina apta para el tratamiento de suelo para reducir los impactos medioambientales de: orina animal, fertilizante de nitrógeno, abonos animales o efluentes. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Más información sobre el 2,5-dietinilpiridina incluyendo distribuidores químicos puede ser encontrada en: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.23500007.html>

10º: 3-etinilpiridazina (CAS 1017793-08-6)

La presente divulgación también se refiere en una décima parte al uso de 3-etinilpiridazina con una estructura igual o sustancialmente similar a la indicada a la fórmula siguiente:



en relación a su aplicación para reducir la lixiviación de NO_3^- y las emisiones de N_2O a través de prevenir/inhibir la conversión del amonio a nitrato por parte de los microbios del suelo. La relación entre la inhibición de la nitrificación en el suelo y la reducción en la lixiviación de nitrato y las emisiones de óxido nitroso se muestran en la figura 1 (Di and Cameron 2016). Se ha demostrado de forma concluyente que tanto la lixiviación de nitrato como las emisiones de N_2O pueden ser reducidas inhibiendo el proceso de nitrificación con un inhibidor de la nitrificación (Di and Cameron, 2016).

Aspectos de la invención

Según una primera parte de la décima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinilpiridazina como inhibidor de la nitrificación.

Preferentemente, existe un uso de 3-etinilpiridazina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de aplicación eficaz en kg/ha es significativamente inferior que la de DCD.

Según una segunda parte de la décima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinilpiridazina como ingrediente activo en una formulación inhibidora de la nitrificación.

Según una tercera parte de la décima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinilpiridazina en la preparación de un inhibidor de la nitrificación.

Según una cuarta parte de la décima parte de la presente divulgación, se da a conocer la distribución de 3-etinilpiridazina como inhibidor de la nitrificación, o para su uso en la preparación de un inhibidor de nitrificación.

Preferentemente, la distribución puede ser en una o múltiples dosis.

Según una quinta parte de la décima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinilpiridazina en la preparación y/o distribución de un tratamiento de suelo para realizar la inhibición de la nitrificación así como sus efectos asociados.

Preferentemente, un tratamiento de suelo para reducir nitrificación y/o incrementar la eficiencia de uso de nitrógeno por parte de las plantas. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para comprender la invención.

Según una sexta parte de la décima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinilpiridazina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que el inhibidor de nitrificación reduce uno o más de:

- emisiones de óxido nitroso;
- lixiviación de nitrato; o
- una combinación de los mismos

del suelo.

Según una séptima parte de la décima parte de la presente divulgación, se da a conocer el tratamiento de suelo para realizar la inhibición de la nitrificación, así como sus efectos asociados, usando 3-etinilpiridazina.

Según una octava parte de la décima parte de la presente divulgación, se da a conocer el tratamiento de suelo, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que 3-etinilpiridazina se aplica simultáneamente con gránulos de urea u otros gránulos de fertilizantes que contienen nitrógeno.

5 Según una novena parte de la décima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinilpiridazina para recubrir gránulos de fertilizantes de urea, u otros gránulos de fertilizantes que contienen nitrógeno.

10 Según una décima parte de la décima parte de la presente divulgación, se da a conocer un gránulo de fertilizante de nitrógeno el cual está recubierto con 3-etinilpiridazina.

Preferentemente, el gránulo de fertilizante de nitrógeno puede ser urea (u otras formas amoniacaes de nitrógeno o un fertilizante de nitrógeno que libera amonio en el suelo).

15 Según una undécima parte de la décima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinilpiridazina como aditivo para fertilizantes líquidos que contienen nitrógeno.

Según una duodécima parte de la décima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinilpiridazina en forma líquida y/o de partícula como tratamiento para el suelo.

20 Según una decimotercera parte de la décima parte de la presente divulgación, se da a conocer la preparación y/o distribución de 3-etinilpiridazina para recubrir fertilizantes de nitrógeno.

25 Según una decimocuarta parte de la décima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinilpiridazina para aumentar la eficiencia de uso de nitrógeno en sistemas de pasto/cultivo, o para aumentar la eficiencia de uso de nitrógeno de fertilizantes. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

30 Según una decimoquinta parte de la décima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinilpiridazina para interrumpir el proceso de nitrificación microbiano del suelo.

Según una decimosexta parte de la décima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinilpiridazina para mejorar el crecimiento de pastos/plantas.

35 Según una decimoséptima parte de la décima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinilpiridazina como tratamiento para zonas de parches urinarios en un pasto.

Según una decimoctava parte de la décima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de la aplicación simultánea de 3-etinilpiridazina y una fuente de nitrógeno a pastos o cultivos.

40 Según una decimonovena parte de la décima parte de la presente divulgación, se da a conocer la distribución de 3-etinilpiridazina para un uso, sustancialmente tal como se describió anteriormente en relación a la 6ª, 7ª, 9ª, 11ª, 12ª, 14ª, 15ª, 16ª, 17ª y 18ª partes de la décima parte de la presente divulgación.

45 Según una vigésima parte de la décima parte de la presente divulgación, se da a conocer un método de tratamiento de suelo agrícola u otro suelo con problemas de lixiviación de nitratos o de emisión de óxido nitroso que comprende la aplicación de 3-etinilpiridazina de forma directa o indirecta. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

50 Según una vigesimoprimera parte de la décima parte de la presente divulgación, se da a conocer la aplicación simultánea de 3-etinilpiridazina con un fertilizante de nitrógeno para inhibir la nitrificación en el suelo.

55 Según una vigesimosegunda parte de la décima parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar parches urinarios de origen animal aplicando 3-etinilpiridazina antes, durante o después de la deposición de orina.

60 Según una vigesimotercera parte de la décima parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar suelo aplicando 3-etinilpiridazina a zonas de suelo las cuales han sido o serán sometidas a urea, fertilizante, efluente u otra fuente de nitrógeno. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Según una vigesimocuarta parte de la décima parte de la presente divulgación, se da a conocer la aplicación de 3-etinilpiridazina al suelo, tierras de cultivo o pastos.

65 Según una vigesimoquinta parte de la décima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-

etinilpiridazina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de dosis se selecciona entre 0,5 kg/ha y 9kg/ha.

Según una vigesimosexta parte de la décima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinilpiridazina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de dosis es de 0,5 kg/ha.

Según una vigesimoséptima parte de la décima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinilpiridazina para retrasar la corrosión de piedras de edificios o estatuas de piedra. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Según una vigesimoctava parte de la décima parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar suelo agrícola o suelo urbano comprendiendo la distribución de 3-etinilpiridazina de una manera seleccionada entre una o más de:

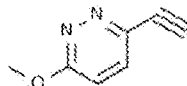
- cantidad de dosis;
- tipo de formulación;
- aplicación simultánea con una fuente de nitrógeno; o
- una combinación de las mismas,

que hacen a la 3-etinilpiridazina apta para el tratamiento de suelo para reducir los impactos medioambientales de: orina animal, fertilizante de nitrógeno, abonos animales o efluentes. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Más información sobre la 3-etinilpiridazina incluyendo distribuidores químicos puede ser encontrada en: <https://www.achemblock.com/3-ethynyl-pyridazine.html>

11º: 3-etinil-6-metoxipiridazina (CAS 1019331-16-8)

La presente divulgación también se refiere en una undécima parte al uso de una 3-etinil-6-metoxipiridazina con una estructura igual o sustancialmente similar a la indicada a la fórmula siguiente:



en relación a su aplicación para reducir la lixiviación de NO_3^- y las emisiones de N_2O a través de prevenir/inhibir la conversión del amonio a nitrato por parte de los microbios del suelo. La relación entre la inhibición de la nitrificación en el suelo y la reducción en la lixiviación de nitrato y las emisiones de óxido nitroso se muestran en la figura 1 (Di and Cameron 2016). Se ha demostrado de forma concluyente que tanto la lixiviación de nitrato como las emisiones de N_2O pueden ser reducidas inhibiendo el proceso de nitrificación con un inhibidor de la nitrificación (Di and Cameron, 2016).

Según una primera parte de la undécima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinil-6-metoxipiridazina como inhibidor de la nitrificación.

Preferentemente, existe un uso de 3-etinil-6-metoxipiridazina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de aplicación eficaz en kg/ha es significativamente inferior que la de DCD.

Según una segunda parte de la undécima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinil-6-metoxipiridazina como ingrediente activo en una formulación inhibidora de la nitrificación.

Según una tercera parte de la undécima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinil-6-metoxipiridazina en la preparación de un inhibidor de la nitrificación.

Según una cuarta parte de la undécima parte de la presente divulgación, se da a conocer la distribución de 3-etinil-6-metoxipiridazina como inhibidor de la nitrificación, o para su uso en la preparación de un inhibidor de la nitrificación.

Preferentemente, la distribución puede ser en una o múltiples dosis.

Según una quinta parte de la undécima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinil-6-metoxipiridazina en la preparación y/o distribución de un tratamiento de suelo para realizar la inhibición de la nitrificación así como sus efectos asociados.

Preferentemente, un tratamiento de suelo para reducir nitrificación y/o incrementar la eficiencia de uso del

nitrógeno por parte de las plantas. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para comprender la invención.

5 Según una sexta parte de la undécima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinil-6-metoxipiridazina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que el inhibidor de nitrificación reduce uno o más de:

- emisiones de óxido nitroso;
- lixiviación de nitrato; o
- 10 - una combinación de los mismos

del suelo.

15 Según una séptima parte de la undécima parte de la presente divulgación, se da a conocer el tratamiento de suelo para realizar la inhibición de la nitrificación, así como sus efectos asociados, usando 3-etinil-6-metoxipiridazina.

20 Según una octava parte de la undécima parte de la presente divulgación, se da a conocer el tratamiento de suelo, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que 3-etinil-6-metoxipiridazina se aplica simultáneamente con gránulos de urea u otros gránulos de fertilizantes que contienen nitrógeno.

25 Según una novena parte de la undécima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinil-6-metoxipiridazina para recubrir gránulos de fertilizantes de urea, u otros gránulos de fertilizantes que contienen nitrógeno.

Según una décima parte de la undécima parte de la presente divulgación, se da a conocer un gránulo de fertilizante de nitrógeno el cual está recubierto con 3-etinil-6-metoxipiridazina.

30 Preferentemente, el gránulo de fertilizante de nitrógeno puede ser urea (u otras formas amoniacales de nitrógeno o un fertilizante de nitrógeno que libera amonio en el suelo).

Según una undécima parte de la undécima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinil-6-metoxipiridazina como aditivo para fertilizantes líquidos que contienen nitrógeno.

35 Según una duodécima parte de la undécima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinil-6-metoxipiridazina en forma líquida y/o de partícula como tratamiento para el suelo.

40 Según una decimotercera parte de la undécima parte de la presente divulgación, se da a conocer la preparación y/o distribución de 3-etinil-6-metoxipiridazina para recubrir fertilizantes de nitrógeno.

Según una decimocuarta parte de la undécima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinil-6-metoxipiridazina para aumentar la eficiencia de uso de nitrógeno en sistemas de pasto/cultivo, o para aumentar la eficiencia de uso de nitrógeno de fertilizantes. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

45 Según una decimoquinta parte de la undécima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinil-6-metoxipiridazina para interrumpir el proceso de nitrificación microbiano del suelo.

50 Según una decimosexta parte de la undécima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinil-6-metoxipiridazina para mejorar el crecimiento de pastos/plantas.

Según una decimoséptima parte de la undécima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinil-6-metoxipiridazina como tratamiento para zonas de parches urinarios en un pasto.

55 Según una decimooctava parte de la undécima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de la aplicación simultánea de 3-etinil-6-metoxipiridazina y una fuente de nitrógeno a pastos o cultivos.

60 Según una decimonovena parte de la undécima parte de la presente divulgación, se da a conocer la distribución de 3-etinil-6-metoxipiridazina para un uso, sustancialmente tal como se describió anteriormente en relación a la 6^a, 7^a, 9^a, 11^a, 12^a, 14^a, 15^a, 16^a, 17^a y 18^a partes de la undécima parte de la presente divulgación.

65 Según una vigésima parte de la undécima parte de la presente divulgación, se da a conocer un método de tratamiento de suelo agrícola u otro suelo con problemas de lixiviación de nitratos o de emisión de óxido nitroso que comprende la aplicación de 3-etinil-6-metoxipiridazina de forma directa o indirecta. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la

invención.

Según una vigesimoprimera parte de la undécima parte de la presente divulgación, se da a conocer la aplicación simultánea de 3-etinil-6-metoxipiridazina con un fertilizante de nitrógeno para inhibir la nitrificación en el suelo.

Según una vigesimosegunda parte de la undécima parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar parches urinarios de origen animal aplicando 3-etinilpiridazina antes, durante o después de la deposición de orina.

Según una vigesimotercera parte de la undécima parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar suelo aplicando 3-etinil-6-metoxipiridazina a zonas de suelo las cuales han sido o serán sometidas a urea, fertilizante, efluente u otra fuente de nitrógeno. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Según una vigesimocuarta parte de la undécima parte de la presente divulgación, se da a conocer la aplicación de 3-etinil-6-metoxipiridazina al suelo, tierras de cultivo o pastos.

Según una vigesimoquinta parte de la undécima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinil-6-metoxipiridazina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de dosis se selecciona entre 2 kg/ha y 10 kg/ha.

Según una vigesimosexta parte de la undécima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinil-6-metoxipiridazina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de dosis es de 2 kg/ha.

Según una vigesimoséptima parte de la undécima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 3-etinil-6-metoxipiridazina para retrasar la corrosión de piedras de edificios o estatuas de piedra. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Según una vigesimooctava parte de la undécima parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar suelo agrícola o suelo urbano comprendiendo la distribución de 3-etinil-6-metoxipiridazina de una manera seleccionada entre una o más de:

- cantidad de dosis;
- tipo de formulación;
- aplicación simultánea con una fuente de nitrógeno; o
- una combinación de las mismas,

que hacen a la 3-etinil-6-metoxipiridazina apta para el tratamiento de suelo para reducir los impactos medioambientales de: orina animal, fertilizante de nitrógeno, abonos animales o efluentes. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Más información sobre el 3-etinil-6-metoxipiridazina incluyendo distribuidores químicos puede ser encontrada en:

<https://chem-space.com/CSSB00011011728-FA5855>
12º: 2-etinilpirazina (CAS 153800-11-4)

La presente divulgación también se refiere en una novena parte al uso de 2-etinilpirazina con una estructura igual o sustancialmente similar a la indicada a la fórmula siguiente:



en relación a su aplicación para reducir la lixiviación de NO_3^- y las emisiones de N_2O a través de prevenir/inhibir la conversión del amonio a nitrato por parte de los microbios del suelo. La relación entre la inhibición de la nitrificación en el suelo y la reducción en la lixiviación de nitrato y las emisiones de óxido nitroso se muestran en la figura 1 (Di and Cameron 2016). Se ha demostrado de forma concluyente que tanto la lixiviación de nitrato como las emisiones de N_2O pueden ser reducidas inhibiendo el proceso de nitrificación con un inhibidor de la nitrificación (Di and Cameron, 2016).

Según una primera parte de la duodécima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinilpirazina como inhibidor de la nitrificación.

Preferentemente, existe un uso de 2-etinilpirazina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de aplicación eficaz en kg/ha es significativamente inferior que la de DCD.

5 Según una segunda parte de la duodécima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinilpirazina como ingrediente activo en una formulación inhibidora de la nitrificación.

Según una tercera parte de la duodécima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinilpirazina en la preparación de un inhibidor de la nitrificación.

10 Según una cuarta parte de la duodécima parte de la presente divulgación, se da a conocer la distribución de 2-etinilpirazina como inhibidor de nitrificación, o para su uso en la preparación de un inhibidor de la nitrificación.

Preferentemente, la distribución puede ser en una o múltiples dosis.

15 Según una quinta parte de la duodécima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinilpirazina en la preparación y/o distribución de un tratamiento de suelo para realizar la inhibición de la nitrificación, así como sus efectos asociados.

20 Preferentemente, un tratamiento de suelo para reducir nitrificación y/o incrementar la eficiencia de uso del nitrógeno por parte de las plantas. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para comprender la invención.

25 Según una sexta parte de la duodécima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinilpirazina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que el inhibidor de nitrificación reduce uno o más de:

- emisiones de óxido nítrico;
- lixiviación de nitrato; o
- 30 - una combinación de los mismos

del suelo.

35 Según una séptima parte de la duodécima parte de la presente divulgación, se da a conocer el tratamiento de suelo para realizar la inhibición de la nitrificación, así como sus efectos asociados, usando 2-etinilpirazina.

Según una octava parte de la duodécima parte de la presente divulgación, se da a conocer el tratamiento de suelo, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que 2-etinilpirazina se aplica simultáneamente con gránulos de urea u otros gránulos de fertilizantes que contienen nitrógeno.

40 Según una novena parte de la duodécima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinilpirazina para recubrir gránulos de fertilizantes de urea, u otros gránulos de fertilizantes que contienen nitrógeno.

45 Según una décima parte de la duodécima parte de la presente divulgación, se da a conocer un gránulo de fertilizante de nitrógeno el cual está recubierto con 2-etinilpirazina.

Preferentemente, el gránulo de fertilizante de nitrógeno puede ser urea (u otras formas amoniacales de nitrógeno o un fertilizante de nitrógeno que libera amonio en el suelo).

50 Según una undécima parte de la duodécima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinilpirazina como aditivo para fertilizantes líquidos que contienen nitrógeno.

55 Según una duodécima parte de la duodécima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinilpirazina en forma líquida y/o de partícula como tratamiento para el suelo.

Según una decimotercera parte de la duodécima parte de la presente divulgación, se da a conocer la preparación y/o distribución de 2-etinilpirazina para recubrir fertilizantes de nitrógeno.

60 Según una decimocuarta parte de la duodécima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinilpirazina para aumentar la eficiencia de uso de nitrógeno en sistemas de pasto/cultivo, o para aumentar la eficiencia de uso de nitrógeno de fertilizantes. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

65 Según una decimoquinta parte de la duodécima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinilpirazina para interrumpir el proceso de nitrificación microbiano del suelo.

Según una decimosexta parte de la duodécima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinilpirazina para mejorar el crecimiento de pastos/plantas.

- 5 Según una decimoséptima parte de la duodécima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinilpirazina como tratamiento para zonas de parches urinarios en un pasto.

Según una decimoctava parte de la duodécima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de la aplicación simultánea de 2-etinilpirazina y una fuente de nitrógeno a pastos o cultivos.

- 10 Según una decimonovena parte de la duodécima parte de la presente divulgación, se da a conocer la distribución de 2-etinilpirazina para un uso, sustancialmente tal como se describió anteriormente en relación a la 6^a, 7^a, 9^a, 11^a, 12^a, 14^a, 15^a, 16^a, 17^a y 18^a partes de la duodécima parte de la presente divulgación.

- 15 Según una vigésima parte de la duodécima parte de la presente divulgación, se da a conocer un método de tratamiento de suelo agrícola u otro suelo con problemas de lixiviación de nitratos o de emisión de óxido nítrico que comprende la aplicación de 2-etinilpirazina de forma directa o indirecta. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

- 20 Según una vigesimoprimera parte de la duodécima parte de la presente divulgación, se da a conocer la aplicación simultánea de 2-etinilpirazina con un fertilizante de nitrógeno para inhibir la nitrificación en el suelo.

- 25 Según una vigesimosegunda parte de la duodécima parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar parches urinarios de origen animal aplicando 2-etinilpirazina antes, durante o después de la deposición de orina.

- 30 Según una vigesimotercera parte de la duodécima parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar suelo aplicando 2-etinilpirazina a zonas de suelo las cuales han sido o serán sometidas a urea, fertilizante, efluente u otra fuente de nitrógeno. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Según una vigesimocuarta parte de la duodécima parte de la presente divulgación, se da a conocer la aplicación de 2-etinilpirazina al suelo, tierras de cultivo o pastos.

- 35 Según una vigesimoquinta parte de la duodécima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinilpirazina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de dosis se selecciona entre 2 kg/ha y 9 kg/ha.

- 40 Según una vigesimosexta parte de la duodécima parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinilpirazina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de dosis es de 2 kg/ha.

Según una vigesimoséptima parte de la duodécima parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar suelo agrícola o suelo urbano comprendiendo la distribución de 2-etinilpirazina de una manera seleccionada entre una o más de:

- 45
- cantidad de dosis;
 - tipo de formulación;
 - aplicación simultánea con una fuente de nitrógeno; o
 - una combinación de las mismas,

- 50 que hacen a la 2-etinilpirazina apta para el tratamiento de suelo para reducir los impactos medioambientales de: orina animal, fertilizante de nitrógeno, abonos animales o efluentes. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

- 55 Más información sobre el 2-etinilpirazina incluyendo distribuidores químicos puede ser encontrada en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/15639205>

13º: 2-etinil-5-metoxipirazina (CAS 1374115-62-4)

- 60 La presente divulgación también se refiere en una decimotercera parte al uso de 2-etinil-5-metoxipirazina con una estructura igual o sustancialmente similar a la indicada a la fórmula siguiente:



en relación a su aplicación para reducir la lixiviación de NO_3^- y las emisiones de N_2O a través de prevenir/inhibir la conversión del amonio a nitrato por parte de los microbios del suelo. La relación entre la inhibición de la nitrificación en el suelo y la reducción en la lixiviación de nitrato y las emisiones de óxido nitroso se muestran en la figura 1 (Di and Cameron 2016). Se ha demostrado de forma concluyente que tanto la lixiviación de nitrato como las emisiones de N_2O pueden ser reducidas inhibiendo el proceso de nitrificación con un inhibidor de la nitrificación (Di and Cameron, 2016).

Según una primera parte de la decimotercera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipirazina como inhibidor de la nitrificación.

Preferentemente, existe un uso de 2-etinil-5-metoxipirazina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de aplicación efectiva en kg/ha es significativamente inferior que la de DCD.

Según una segunda parte de la decimotercera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipirazina como ingrediente activo en una formulación inhibidora de la nitrificación.

Según una tercera parte de la decimotercera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipirazina en la preparación de un inhibidor de la nitrificación.

Según una cuarta parte de la decimotercera parte de la presente divulgación, se da a conocer la distribución de 2-etinil-5-metoxipirazina como inhibidor de nitrificación, o para su uso en la preparación de un inhibidor de la nitrificación.

Preferentemente, la distribución puede ser en una o múltiples dosis.

Según una quinta parte de la decimotercera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipirazina en la preparación y/o distribución de un tratamiento de suelo para realizar la inhibición de la nitrificación, así como sus efectos asociados.

Preferentemente, un tratamiento de suelo para reducir nitrificación y/o incrementar la eficiencia de uso del nitrógeno por parte de las plantas. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para comprender la invención.

Según una sexta parte de la decimotercera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipirazina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que el inhibidor de nitrificación reduce uno o más de:

- emisiones de óxido nitroso;
- lixiviación de nitrato; o
- una combinación de los mismos

del suelo.

Según una séptima parte de la decimotercera parte de la presente divulgación, se da a conocer el tratamiento de suelo para realizar la inhibición de la nitrificación, así como sus efectos asociados, usando 2-etinil-5-metoxipirazina.

Según una octava parte de la decimotercera parte de la presente divulgación, se da a conocer el tratamiento de suelo, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que 2-etinil-5-metoxipirazina se aplica simultáneamente con gránulos de urea u otros gránulos de fertilizantes que contienen nitrógeno.

Según una novena parte de la decimotercera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipirazina para recubrir gránulos de fertilizantes de urea, u otros gránulos de fertilizantes que contienen nitrógeno.

Según una décima parte de la decimotercera parte de la presente divulgación, se da a conocer un gránulo de fertilizante de nitrógeno el cual está recubierto con 2-etinil-5-metoxipirazina.

Preferentemente, el gránulo de fertilizante de nitrógeno puede ser urea (u otras formas amoniacaes de nitrógeno o un fertilizante de nitrógeno que libera amonio en el suelo).

Según una undécima parte de la decimotercera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipirazina como aditivo para fertilizantes líquidos que contienen nitrógeno.

- 5 Según una duodécima parte de la decimotercera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipirazina en forma líquida y/o de partícula como tratamiento para el suelo.

Según una decimotercera parte de la decimotercera parte de la presente divulgación, se da a conocer la preparación y/o distribución de 2-etinil-5-metoxipirazina para recubrir fertilizantes de nitrógeno.

- 10 Según una decimocuarta parte de la decimotercera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipirazina para aumentar la eficiencia de uso de nitrógeno en sistemas de pasto/cultivo, o para aumentar la eficiencia de uso del nitrógeno de fertilizantes. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

- 15 Según una decimoquinta parte de la decimotercera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipirazina para interrumpir el proceso de nitrificación microbiano del suelo.

- 20 Según una decimosexta parte de la decimotercera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipirazina para mejorar el crecimiento de pastos/plantas.

Según una decimoséptima parte de la decimotercera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipirazina como tratamiento para zonas de parches urinarios en un pasto.

- 25 Según una decimooctava parte de la decimotercera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de la aplicación simultánea de 2-etinil-5-metoxipirazina y una fuente de nitrógeno a pastos o cultivos.

- 30 Según una decimonovena parte de la decimotercera parte de la presente divulgación, se da a conocer la distribución de 2-etinil-5-metoxipirazina para un uso, sustancialmente tal como se describió anteriormente en relación a la 6ª, 7ª, 9ª, 11ª, 12ª, 14ª, 15ª, 16ª, 17ª y 18ª partes de la decimotercera parte de la presente divulgación.

- 35 Según una vigésima parte de la decimotercera parte de la presente divulgación, se da a conocer un método de tratamiento de suelo agrícola u otro suelo con problemas de lixiviación de nitratos o de emisión de óxido nítrico que comprende la aplicación de 2-etinil-5-metoxipirazina de forma directa o indirecta. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

- 40 Según una vigesimoprimera parte de la decimotercera parte de la presente divulgación, se da a conocer la aplicación simultánea de 2-etinil-5-metoxipirazina con un fertilizante de nitrógeno para inhibir la nitrificación en el suelo.

- 45 Según una vigesimosegunda parte de la decimotercera parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar parches urinarios de origen animal aplicando 2-etinil-5-metoxipirazina antes, durante o después de la deposición de orina.

- 50 Según una vigesimotercera parte de la decimotercera parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar suelo aplicando 2-etinil-5-metoxipirazina a zonas de suelo las cuales han sido o serán sometidas a urea, fertilizante, efluente u otra fuente de nitrógeno. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

- Según una vigesimocuarta parte de la decimotercera parte de la presente divulgación, se da a conocer la aplicación de 2-etinil-5-metoxipirazina al suelo, tierras de cultivo o pastos.

- 55 Según una vigesimoquinta parte de la decimotercera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipirazina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de dosis se selecciona entre 2 kg/ha y 10 kg/ha.

- 60 Según una vigesimosexta parte de la decimotercera parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 2-etinil-5-metoxipirazina, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de dosis es de 2 kg/ha.

- Según una vigesimoséptima parte de la decimotercera parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar suelo agrícola o suelo urbano comprendiendo la distribución de 2-etinil-5-metoxipirazina de una manera seleccionada entre una o más de:

- 65 - cantidad de dosis;

- tipo de formulación;
- aplicación simultánea con una fuente de nitrógeno; o
- una combinación de las mismas,

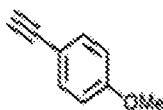
5 que hacen a la 2-etinil-5-metoxipirazina apta para el tratamiento de suelo para reducir los impactos medioambientales de: orina animal, fertilizante de nitrógeno, abonos animales o efluentes. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Más información sobre el 2-etinil-5-metoxipirazina incluyendo distribuidores químicos puede ser encontrada en:

10 <https://chem-space.com/CSSB00010369260-B1A2BE>

14º: 4-etinilanol (CAS 768-60-5)

15 La presente divulgación da a conocer en una decimocuarta parte el uso del 4-etinilanol (también conocido como 1-etinil-4-metoxibenceno) con una estructura igual o sustancialmente similar a la indicada a la fórmula siguiente:



20 en relación a su aplicación para reducir la lixiviación de NO_3^- y las emisiones de N_2O a través de prevenir/inhibir la conversión del amonio a nitrato por parte de los microbios del suelo. La relación entre la inhibición de la nitrificación en el suelo y la reducción en la lixiviación de nitrato y las emisiones de óxido nitroso se muestran en la figura 1 (Di and Cameron 2016). Se ha demostrado de forma concluyente que tanto la lixiviación de nitrato como las emisiones de N_2O pueden ser reducidas inhibiendo el proceso de nitrificación con un inhibidor de la nitrificación (Di and Cameron, 2016).

Según una primera parte de la decimocuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 4-etinilanol como inhibidor de la nitrificación.

30 Preferentemente, existe un uso de 4-etinilanol, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de aplicación efectiva en kg/ha es significativamente inferior que la de DCD.

Según una segunda parte de la decimocuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 4-etinilanol como ingrediente activo en una formulación inhibidora de la nitrificación.

35 Según una tercera parte de la decimocuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 4-etinilanol en la preparación de un inhibidor de la nitrificación.

40 Según una cuarta parte de la decimocuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer la distribución de 4-etinilanol como inhibidor de la nitrificación, o para su uso en la preparación de un inhibidor de nitrificación.

Preferentemente, la distribución puede ser en una o múltiples dosis.

45 Según una quinta parte de la decimocuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 4-etinilanol en la preparación y/o distribución de un tratamiento de suelo para realizar la inhibición de la nitrificación así como sus efectos asociados.

50 Preferentemente, un tratamiento de suelo para reducir nitrificación y/o incrementar la eficiencia de uso de nitrógeno por parte de las plantas. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para comprender la invención.

55 Según una sexta parte de la decimocuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 4-etinilanol, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que el inhibidor de nitrificación reduce uno o más de:

- emisiones de óxido nitroso;
- lixiviación de nitrato; o
- una combinación de los mismos

60 del suelo.

Según una séptima parte de la decimocuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer el tratamiento

de suelo para realizar la inhibición de la nitrificación, así como sus efectos asociados, usando 4-etinilanol.

Según una octava parte de la decimocuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer el tratamiento de suelo, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que 4-etinilanol se aplica simultáneamente con gránulos de urea u otros gránulos de fertilizantes que contienen nitrógeno.

Según una novena parte de la decimocuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 4-etinilanol para recubrir gránulos de fertilizantes de urea, u otros gránulos de fertilizantes que contienen nitrógeno.

Según una décima parte de la decimocuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer un gránulo de fertilizante de nitrógeno el cual está recubierto con 4-etinilanol.

Preferentemente, el gránulo de fertilizante de nitrógeno puede ser urea (u otras formas amoniacaes de nitrógeno o un fertilizante de nitrógeno que libera amonio en el suelo).

Según una undécima parte de la decimocuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 4-etinilanol como aditivo para fertilizantes líquidos que contienen nitrógeno.

Según una duodécima parte de la decimocuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 4-etinilanol en forma líquida y/o de partícula como tratamiento para el suelo.

Según una decimotercera parte de la decimocuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer la preparación y/o distribución de 4-etinilanol para recubrir fertilizantes de nitrógeno.

Según una decimocuarta parte de la decimocuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 4-etinilanol para aumentar la eficiencia de uso de nitrógeno en sistemas de pasto/cultivo, o para aumentar la eficiencia de uso de nitrógeno de fertilizantes. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Según una decimoquinta parte de la decimocuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 4-etinilanol para interrumpir el proceso de nitrificación microbiano del suelo.

Según una decimosexta parte de la decimocuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 4-etinilanol para mejorar el crecimiento de pastos/plantas.

Según una decimoséptima parte de la decimocuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 4-etinilanol como tratamiento para zonas de parches urinarios en un pasto.

Según una decimooctava parte de la decimocuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de la aplicación simultánea de 4-etinilanol y una fuente de nitrógeno a pastos o cultivos.

Según una decimonovena parte de la decimocuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer la distribución de 4-etinilanol para un uso, sustancialmente tal como se describió anteriormente en relación a la 6^a, 7^a, 9^a, 11^a, 12^a, 14^a, 15^a, 16^a, 17^a y 18^a partes de la decimocuarta parte de la presente divulgación.

Según una vigésima parte de la decimocuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer un método de tratamiento de suelo agrícola u otro suelo con problemas de lixiviación de nitratos o de emisión de óxido nítrico que comprende la aplicación de 4-etinilanol de forma directa o indirecta. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Según una vigesimoprimer parte de la decimocuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer la aplicación simultánea de 4-etinilanol con un fertilizante de nitrógeno para inhibir la nitrificación en el suelo.

Según una vigesimosegunda parte de la decimocuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar parches urinarios de origen animal aplicando 4-etinilanol antes, durante o después de la deposición de orina.

Según una vigesimotercera parte de la decimocuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar suelo aplicando 4-etinilanol a zonas de suelo las cuales han sido o serán sometidas a urea, fertilizante, efluente u otra fuente de nitrógeno. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Según una vigesimocuarta parte de la decimocuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer la aplicación de 4-etinilanol al suelo, tierras de cultivo o pastos.

Según una vigesimoquinta parte de la decimocuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 4-etinilanol, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de dosis se selecciona entre 1 kg/ha y 9 kg/ha.

- 5 Según una vigesimosexta parte de la decimocuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 4-etinilanol, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de dosis es 1 kg/ha.

- 10 Según una vigesimoséptima parte de la decimocuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 4-etinilanol para retrasar la corrosión de piedras de edificios o estatuas de piedra. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

- 15 Según una vigesimoctava parte de la decimocuarta parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar suelo agrícola o suelo urbano comprendiendo la distribución de 4-etinilanol de una manera seleccionada entre una o más de:

- cantidad de dosis;
- tipo de formulación;
- aplicación simultánea con una fuente de nitrógeno; o
- una combinación de los mismos,

- 20 que hacen a la 2-etinil-5-metoxipirazina apta para el tratamiento de suelo para reducir los impactos medioambientales de: orina animal, fertilizante de nitrógeno, abonos animales o efluentes. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

- 25 Más información sobre el 2-etinil-5-metoxipirazina incluyendo distribuidores químicos puede ser encontrada en: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/206490>

15º: 1-etoxi-4-etinilbenceno (CAS 79887-14-2)

- 30 La presente divulgación también da a conocer en una decimoquinta parte el uso de una 1-etoxi-4-etinilbenceno con una estructura igual o sustancialmente similar a la indicada a la fórmula siguiente:



- 35 en relación a su aplicación para reducir la lixiviación de NO_3^- y las emisiones de N_2O a través de prevenir/inhibir la conversión del amonio a nitrato por parte de los microbios del suelo. La relación entre la inhibición de la nitrificación en el suelo y la reducción en la lixiviación de nitrato y las emisiones de óxido nítrico se muestran en la figura 1 (Di and Cameron 2016). Se ha demostrado de forma concluyente que tanto la lixiviación de nitrato como las emisiones de N_2O pueden ser reducidas inhibiendo el proceso de nitrificación con un inhibidor de la nitrificación (Di and Cameron, 2016).

Según una primera parte de la decimoquinta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1-etoxi-4-etinilbenceno como inhibidor de nitrificación.

- 45 Preferentemente, existe un uso de 1-etoxi-4-etinilbenceno, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de aplicación efectiva en kg/ha es significativamente inferior que la de DCD.

Según una segunda parte de la decimoquinta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1-etoxi-4-etinilbenceno como ingrediente activo en una formulación inhibidora de nitrificación.

- 50 Según una tercera parte de la decimoquinta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1-etoxi-4-etinilbenceno en la preparación de un inhibidor de nitrificación.

- 55 Según una cuarta parte de la decimoquinta parte de la presente divulgación, se da a conocer la distribución de 1-etoxi-4-etinilbenceno como inhibidor de nitrificación, o para su uso en la preparación de un inhibidor de nitrificación.

Preferentemente, la distribución puede ser en una o múltiples dosis.

- 60 Según una quinta parte de la decimoquinta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1-etoxi-4-etinilbenceno en la preparación y/o distribución de un tratamiento de suelo para realizar la inhibición de la nitrificación así como sus efectos asociados.

Preferentemente, un tratamiento de suelo para reducir nitrificación y/o incrementar la eficiencia de uso de nitrógeno por parte de las plantas. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para comprender la invención.

- 5 Según una sexta parte de la decimoquinta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1-etoxi-4-etinilbenceno, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que el inhibidor de nitrificación reduce uno o más de:
- emisiones de óxido nitroso;
 - 10 - lixiviación de nitrato; o
 - una combinación de los mismos
- del suelo.
- 15 Según una séptima parte de la decimoquinta parte de la presente divulgación, se da a conocer el tratamiento de suelo para realizar la inhibición de la nitrificación así como sus efectos asociados usando 1-etoxi-4-etinilbenceno.
- 20 Según una octava parte de la decimoquinta parte de la presente divulgación, se da a conocer el tratamiento de suelo, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que 1-etoxi-4-etinilbenceno se aplica simultáneamente con gránulos de urea u otros gránulos de fertilizantes que contienen nitrógeno.
- 25 Según una novena parte de la decimoquinta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1-etoxi-4-etinilbenceno para recubrir gránulos de fertilizantes de urea, u otros gránulos de fertilizantes que contienen nitrógeno.
- Según una décima parte de la decimoquinta parte de la presente divulgación, se da a conocer un gránulo de fertilizante de nitrógeno el cual está recubierto con 1-etoxi-4-etinilbenceno.
- 30 Preferentemente, el gránulo de fertilizante de nitrógeno puede ser urea (u otras formas amoniacales de nitrógeno o un fertilizante de nitrógeno que libera amonio en el suelo).
- Según una undécima parte de la decimoquinta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1-etoxi-4-etinilbenceno como aditivo para fertilizantes líquidos que contienen nitrógeno.
- 35 Según una duodécima parte de la decimoquinta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1-etoxi-4-etinilbenceno en forma líquida y/o de partícula como tratamiento para el suelo.
- 40 Según una decimotercera parte de la decimoquinta parte de la presente divulgación, se da a conocer la preparación y/o distribución de 1-etoxi-4-etinilbenceno para recubrir fertilizantes de nitrógeno.
- Según una decimocuarta parte de la decimoquinta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1-etoxi-4-etinilbenceno para aumentar la eficiencia de uso de nitrógeno en sistemas de pasto/cultivo, o para aumentar la eficiencia de uso de nitrógeno de fertilizantes. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.
- 45 Según una decimoquinta parte de la decimoquinta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1-etoxi-4-etinilbenceno para interrumpir el proceso de nitrificación microbiano del suelo.
- 50 Según una decimosexta parte de la decimoquinta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1-etoxi-4-etinilbenceno para mejorar el crecimiento de pastos/plantas.
- Según una decimoséptima parte de la decimoquinta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1-etoxi-4-etinilbenceno como tratamiento para zonas de parches urinarios en un pasto.
- 55 Según una decimoctava parte de la decimoquinta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de la aplicación simultánea de 1-etoxi-4-etinilbenceno y una fuente de nitrógeno a pastos o cultivos.
- 60 Según una decimonovena parte de la decimoquinta parte de la presente divulgación, se da a conocer la distribución de 1-etoxi-4-etinilbenceno para un uso, sustancialmente tal como se describió anteriormente en relación a la 6ª, 7ª, 9ª, 11ª, 12ª, 14ª, 15ª, 16ª, 17ª y 18ª partes de la decimoquinta parte de la presente divulgación.
- 65 Según una vigésima parte de la decimoquinta parte de la presente divulgación, se da a conocer un método de tratamiento de suelo agrícola u otro suelo con problemas de lixiviación de nitratos o de emisión de óxido nitroso que comprende la aplicación de 1-etoxi-4-etinilbenceno de forma directa o indirecta. Esta realización

no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Según una vigesimoprimera parte de la decimoquinta parte de la presente divulgación, se da a conocer la aplicación simultánea de 1-etoxi-4-etinilbenceno con un fertilizante de nitrógeno para inhibir la nitrificación en el suelo.

Según una vigesimosegunda parte de la decimoquinta parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar parches urinarios de origen animal aplicando 1-etoxi-4-etinilbenceno antes, durante o después de la deposición de orina.

Según una vigesimotercera parte de la decimoquinta parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar suelo aplicando 1-etoxi-4-etinilbenceno a zonas de suelo las cuales han sido o serán sometidas a urea, fertilizante, efluente u otra fuente de nitrógeno. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Según una vigesimocuarta parte de la decimoquinta parte de la presente divulgación, se da a conocer la aplicación de 1-etoxi-4-etinilbenceno al suelo, tierras de cultivo o pastos.

Según una vigesimoquinta parte de la decimoquinta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1-etoxi-4-etinilbenceno, sustancialmente tal como se describió anteriormente en el que la tasa de dosis se selecciona entre 2 kg/ha y 10 kg/ha.

Según una vigesimosexta parte de la decimoquinta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1-etoxi-4-etinilbenceno tal como se describió anteriormente en el que la tasa de dosis es de 2 kg/ha.

Según una vigesimoséptima parte de la decimoquinta parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar suelo agrícola o suelo urbano comprendiendo la distribución de 1-etoxi-4-etinilbenceno de una manera seleccionada entre una o más de:

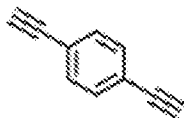
- cantidad de dosis;
- tipo de formulación;
- aplicación simultánea con una fuente de nitrógeno; o
- una combinación de los mismos,

que hacen al 1-etoxi-4-etinilbenceno apto para el tratamiento de suelo para reducir los impactos medioambientales de: orina animal, fertilizante de nitrógeno, abonos animales o efluentes. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Más información sobre el 1-etoxi-4-etinilbenceno incluyendo distribuidores químicos puede ser encontrada en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4-Ethoxyphenylacetylene>

16º: 1,4-dietinilbenceno (CAS 935-14-8)

La presente divulgación también da a conocer en una decimoquinta parte el uso de una 1,4-dietinilbenceno con una estructura igual o sustancialmente similar a la indicada a la fórmula siguiente:



en relación a su aplicación para reducir la lixiviación de NO_3^- y las emisiones de N_2O a través de prevenir/inhibir la conversión del amonio a nitrato por parte de los microbios del suelo. La relación entre la inhibición de la nitrificación en el suelo y la reducción en la lixiviación de nitrato y las emisiones de óxido nítrico se muestran en la figura 1 (Di and Cameron 2016). Se ha demostrado de forma concluyente que tanto la lixiviación de nitrato como las emisiones de N_2O pueden ser reducidas inhibiendo el proceso de nitrificación con un inhibidor de la nitrificación (Di and Cameron, 2016).

Según una primera parte de la decimosexta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1,4-dietinilbenceno como inhibidor de la nitrificación.

Preferentemente, existe un uso de 1,4-dietinilbenceno, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de aplicación efectiva en kg/ha es significativamente inferior que la de DCD.

Según una segunda parte de la decimosexta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1,4-

dietinilbenceno como ingrediente activo en una formulación inhibidora de la nitrificación.

Según una tercera parte de la decimosexta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1,4-dietinilbenceno en la preparación de un inhibidor de la nitrificación.

5

Según una cuarta parte de la decimosexta parte de la presente divulgación, se da a conocer la distribución de 1,4-dietinilbenceno como inhibidor de nitrificación, o para su uso en la preparación de un inhibidor de la nitrificación.

10

Preferentemente, la distribución puede ser en una o múltiples dosis.

Según una quinta parte de la decimosexta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1,4-dietinilbenceno en la preparación y/o distribución de un tratamiento de suelo para realizar la inhibición de la nitrificación así como sus efectos asociados.

15

Preferentemente, un tratamiento de suelo para reducir nitrificación y/o incrementar la eficiencia de uso de nitrógeno por parte de las plantas. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para comprender la invención.

20

Según una sexta parte de la decimosexta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1,4-dietinilbenceno, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que el inhibidor de nitrificación reduce uno o más de:

25

- emisiones de óxido nitroso;
- lixiviación de nitrato; o
- una combinación de los mismos;

del suelo.

30

Según una séptima parte de la decimosexta parte de la presente divulgación, se da a conocer el tratamiento de suelo para realizar la inhibición de la nitrificación así como sus efectos asociados usando 1,4-dietinilbenceno.

35

Según una octava parte de la decimosexta parte de la presente divulgación, se da a conocer el tratamiento de suelo, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que 1,4-dietinilbenceno se aplica simultáneamente con gránulos de urea u otros gránulos de fertilizantes que contienen nitrógeno.

40

Según una novena parte de la decimosexta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1,4-dietinilbenceno para recubrir gránulos de fertilizantes de urea, u otros gránulos de fertilizantes que contienen nitrógeno.

Según una décima parte de la decimosexta parte de la presente divulgación, se da a conocer un gránulo de fertilizante de nitrógeno el cual está recubierto con 1,4-dietinilbenceno.

45

Preferentemente, el gránulo de fertilizante de nitrógeno puede ser urea (u otras formas amoniacales de nitrógeno o un fertilizante de nitrógeno que libera amonio en el suelo).

Según una undécima parte de la decimosexta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1,4-dietinilbenceno como aditivo para fertilizantes líquidos que contienen nitrógeno.

50

Según una duodécima parte de la decimosexta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1,4-dietinilbenceno en forma líquida y/o de partícula como tratamiento para el suelo.

55

Según una decimotercera parte de la decimosexta parte de la presente divulgación, se da a conocer la preparación y/o distribución de 1,4-dietinilbenceno para recubrir fertilizantes de nitrógeno.

60

Según una decimocuarta parte de la decimosexta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1,4-dietinilbenceno para aumentar la eficiencia de uso de nitrógeno en sistemas de pasto/cultivo, o para aumentar la eficiencia de uso de nitrógeno de fertilizantes. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

Según una decimoquinta parte de la decimosexta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1,4-dietinilbenceno para interrumpir el proceso de nitrificación microbiano del suelo.

65

Según una decimosexta parte de la decimosexta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1,4-dietinilbenceno para mejorar el crecimiento de pastos/plantas.

Según una decimoséptima parte de la decimosexta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1,4-dietinilbenceno como tratamiento para zonas de parches urinarios en un pasto.

- 5 Según una decimooctava parte de la decimosexta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de la aplicación simultánea de 1,4-dietinilbenceno y una fuente de nitrógeno a pastos o cultivos.

- 10 Según una decimonovena parte de la decimosexta parte de la presente divulgación, se da a conocer la distribución de 1,4-dietinilbenceno para un uso, sustancialmente tal como se describió anteriormente en relación a la 6ª, 7ª, 9ª, 11ª, 12ª, 14ª, 15ª, 16ª, 17ª y 18ª partes de la decimosexta parte de la presente divulgación.

- 15 Según una vigésima parte de la decimosexta parte de la presente divulgación, se da a conocer un método de tratamiento de suelo agrícola u otro suelo con problemas de lixiviación de nitratos o de emisión de óxido nítrico que comprende la aplicación de 1,4-dietinilbenceno de forma directa o indirecta. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

- 20 Según una vigesimoprimera parte de la decimosexta parte de la presente divulgación, se da a conocer la aplicación simultánea de 1,4-dietinilbenceno con un fertilizante de nitrógeno para inhibir la nitrificación en el suelo.

- 25 Según una vigesimosegunda parte de la decimosexta parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar parches urinarios de origen animal aplicando 1,4-dietinilbenceno antes, durante o después de la deposición de orina.

- 30 Según una vigesimotercera parte de la decimosexta parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar suelo aplicando 1,4-dietinilbenceno a zonas de suelo las cuales han sido o serán sometidas a urea, fertilizante, efluente u otra fuente de nitrógeno. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

- Según una vigesimocuarta parte de la decimosexta parte de la presente divulgación, se da a conocer la aplicación de 1,4-dietinilbenceno al suelo, tierras de cultivo o pastos.

- 35 Según una vigesimoquinta parte de la decimosexta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1,4-dietinilbenceno, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de dosis se selecciona entre 2 kg/ha y 9 kg/ha.

- 40 Según una vigesimosexta parte de la decimosexta parte de la presente divulgación, se da a conocer el uso de 1,4-dietinilbenceno, sustancialmente tal como se describió anteriormente, en el que la tasa de dosis es de 2 kg/ha.

- 45 Según una vigesimoséptima parte de la decimosexta parte de la presente divulgación, se da a conocer un método para tratar suelo agrícola o suelo urbano comprendiendo la distribución de 1,4-dietinilbenceno de una manera seleccionada entre una o más de:

- cantidad de dosis;
- tipo de formulación;
- aplicación simultánea con una fuente de nitrógeno; o
- una combinación de las mismas,

- 50 que hacen al 1,4-dietinilbenceno apto para el tratamiento de suelo para reducir los impactos medioambientales de: orina animal, fertilizante de nitrógeno, abonos animales o efluentes. Esta realización no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero se considera útil para entender la invención.

- 55 Más información sobre el 1,4-dietinilbenceno incluyendo distribuidores químicos puede ser encontrada en: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/632090>

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

- 60 Otros aspectos de la presente invención serán evidentes a partir de la siguiente descripción, dada en forma de ejemplo y con referencia a los dibujos que se acompañan, en los cuales:

Antecedentes al conjunto de aspectos referidos de la presente invención

- 65 Figura 1 es un diagrama que muestra el proceso de nitrificación y cómo se produce la lixiviación del nitrato y el gas de efecto invernadero N₂O en el suelo, y cómo la inhibición de la nitrificación por parte de un inhibidor

de la nitrificación puede reducir tanto la lixiviación de nitrato como las emisiones de óxido nitroso (Di and Cameron, 2016)

Figura 2-1 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo al final de un proceso de 30 días de incubación, afectado por la aplicación de 2-etinil 1,3-diazina a 2 kg/ha, ilustrando la inhibición de la nitrificación altamente eficiente por parte de 2-etinil 1,3-diazina, como demuestran las bajas concentraciones de nitrato-N en suelo tratado con orina + 2-etinil 1,3-diazina en comparación con el control, que se trató solamente con orina o con orina + dimetilsulfóxido (DMSO). Las barras de error representan un error estándar de la media (SEM).

Figura 3-1 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo al final de un proceso de 30 días de incubación, afectado por la aplicación de 2-etinil 1,3-diazina a 1 kg/ha, ilustrando la inhibición altamente eficiente de la nitrificación por parte de 2-etinil 1,3-diazina, como demuestran las bajas concentraciones de nitrato-N en suelo tratado con orina + 2-etinil 1,3-diazina en comparación con el control, que se trató solamente con orina o con orina + dimetilsulfóxido (DMSO). Las barras de error representan un error estándar de la media (SEM).

Figura 4-1 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo al final de un proceso de 30 días de incubación, afectado por la aplicación de 2-etinil 1,3-diazina a 0,5 kg/ha, ilustrando la inhibición altamente eficiente de la nitrificación por parte de 2-etinil 1,3-diazina, como demuestran las bajas concentraciones de nitrato-N en suelo tratado con orina + 2-etinil 1,3-diazina en comparación con el control, que se trató solamente con orina o con orina + dimetilsulfóxido (DMSO). Las barras de error representan un error estándar de la media (SEM).

Figura 5-1 muestra la eficacia de 2-etinil 1,3-diazina en la reducción de emisiones de N_2O -N cuando la 2-etinil 1,3-diazina se pulverizó sobre la superficie del suelo de pasto en la zona que había recibido orina animal. Las emisiones de N_2O -N en suelo tratado con orina + 2-etinil 1,3-diazina fueron aproximadamente de un 96 % y un 91 % inferiores a aquellas que recibieron el tratamiento control con solamente orina, cuando la 2-etinil 1,3-diazina fue aplicada a 10 kg/ha y 2 kg/ha, respectivamente. Esto muestra la eficiencia de 2-etinil 1,3-diazina en la reducción de emisiones de N_2O en el suelo. Las reducciones de óxido nitroso por parte de 2-etinil 1,3-diazina fueron mayores que las conseguidas con DCD. Las barras de error representan un error estándar de la media (SEM).

Figura 2-2 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo al final de un proceso de 30 días de incubación, afectado por la aplicación de 3-etinil 1,5-diazina a 2 kg/ha, ilustrando la inhibición de la nitrificación altamente eficiente por parte de 3-etinil 1,5-diazina, como demuestran las bajas concentraciones de nitrato-N en suelo tratado con orina + 3-etinil 1,5-diazina en comparación con el control, que se trataba solamente de orina o de orina + dimetilsulfóxido (DMSO). Las barras de error representan un error estándar de la media (SEM).

Figura 3-2 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo al final de un proceso de 30 días de incubación, afectado por la aplicación de 3-etinil 1,5-diazina a 1 kg/ha, ilustrando la inhibición altamente eficiente de la nitrificación por parte de 3-etinil 1,5-diazina, como demuestran las bajas concentraciones de nitrato-N en suelo tratado con orina + 3-etinil 1,5-diazina en comparación con el control, que se trató solamente con orina o con orina + dimetilsulfóxido (DMSO). Las barras de error representan un error estándar de la media (SEM).

Figura 4-2 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo al final de un proceso de 30 días de incubación, afectado por la aplicación de 3-etinil 1,5-diazina a 0,5kg/ha, ilustrando la inhibición altamente eficiente de la nitrificación por parte de 3-etinil 1,5-diazina, como demuestran las bajas concentraciones de nitrato-N en suelo tratado con orina + 3-etinil 1,5-diazina en comparación con el control, que se trató solamente con orina o con orina + dimetilsulfóxido (DMSO). Las barras de error representan un error estándar de la media (SEM).

Figura 5-2 muestra la eficacia de 3-etinil 1,5-diazina en la reducción de emisiones de N_2O -N cuando la 3-etinil 1,5-diazina se pulverizó sobre la superficie del suelo de pasto en la zona que había recibido orina animal. Las emisiones de N_2O -N en suelo tratado con orina + 3-etinil 1,5-diazina fueron aproximadamente un 93 % inferiores a aquellas que recibieron el tratamiento control con solamente orina, cuando la 3-etinil 1,5-diazina fue aplicada a 10 kg/ha y 2 kg/ha. Esto muestra la eficiencia de 3-etinil 1,5-diazina en la reducción de emisiones de N_2O en el suelo. Las reducciones de óxido nitroso por parte de 2-3-etinil 1,5-diazina fueron mayores que las conseguidas con DCD. Las barras de error representan un error estándar de la media (SEM).

Figura 2-3 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo al final de un proceso de 30 días de incubación, afectado por la aplicación de 4-etinilpirimidina a 2 kg/ha, ilustrando la inhibición de la nitrificación altamente eficiente por parte de 4-etinilpirimidina, como demuestran las bajas concentraciones de nitrato-N en suelo tratado con orina + 4-etinilpirimidina en comparación con el control, que se trató solamente con orina o con orina + dimetilsulfóxido (DMSO). Las barras de error representan un error estándar de la media (SEM).

Figura 3-3 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo al final de un proceso de 30 días de incubación, afectado por la aplicación de 4-etinilpirimidina a 1 kg/ha, ilustrando la inhibición altamente eficiente de la nitrificación por parte de 4-etinilpirimidina, como demuestran las bajas concentraciones de nitrato-N en suelo

tratado con orina + 4-etilpirimidina en comparación con el control, que se trató solamente con orina o con orina + dimetilsulfóxido (DMSO). Las barras de error representan un error estándar de la media (SEM).

Figura 2-4 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo al final de un proceso de 30 días de incubación, afectado por la aplicación de 2-etinil-5-metoxipirimidina a 2 kg/ha, ilustrando la inhibición de la nitrificación altamente eficiente por parte de 2-etinil-5-metoxipirimidina, como demuestran las bajas concentraciones de nitrato-N en suelo tratado con orina + 2-etinil-5-metoxipirimidina en comparación con el control, que se trató solamente con orina o con orina + dimetilsulfóxido (DMSO). Las barras de error representan un error estándar de la media (SEM).

Figura 3-4 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo al final de un proceso de 30 días de incubación, afectado por la aplicación de 2-etinil-5-metoxipirimidina a 1 kg/ha, ilustrando la inhibición altamente eficiente de la nitrificación por parte de 2-etinil-5-metoxipirimidina, como demuestran las bajas concentraciones de nitrato-N en suelo tratado con orina + 2-etinil-5-metoxipirimidina en comparación con el control, que se trató solamente con orina o con orina + dimetilsulfóxido (DMSO). Las barras de error representan un error estándar de la media (SEM).

Figura 2-5 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo al final de un proceso de 30 días de incubación, afectado por la aplicación de 5-etinil-2-metoxipirimidina a 2 kg/ha, ilustrando la inhibición de la nitrificación altamente eficiente por parte de 5-etinil-2-metoxipirimidina, como demuestran las bajas concentraciones de nitrato-N en suelo tratado con orina + 5-etinil-2-metoxipirimidina en comparación con el control, que se trató solamente con orina o con orina + dimetilsulfóxido (DMSO). Las barras de error representan un error estándar de la media (SEM).

Figura 3-5 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo al final de un proceso de 30 días de incubación, afectado por la aplicación de 5-etinil-2-metoxipirimidina a 1 kg/ha, ilustrando la inhibición altamente eficiente de la nitrificación por parte de 5-etinil-2-metoxipirimidina, como demuestran las bajas concentraciones de nitrato-N en suelo tratado con orina + 5-etinil-2-metoxipirimidina en comparación con el control, que se trató solamente con orina o con orina + dimetilsulfóxido (DMSO). Las barras de error representan un error estándar de la media (SEM).

Figura 2-6 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo al final de un proceso de 30 días de incubación, afectado por la aplicación de 2-etinil-5-metoxipiridina a 2 kg/ha, ilustrando la inhibición de la nitrificación altamente eficiente por parte de 2-etinil-5-metoxipiridina, como demuestran las bajas concentraciones de nitrato-N en suelo tratado con orina + 2-etinil-5-metoxipiridina en comparación con el control, que se trató solamente con orina o con orina + dimetilsulfóxido (DMSO). Las barras de error representan un error estándar de la media (SEM).

Figura 3-6 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo al final de un proceso de 30 días de incubación, afectado por la aplicación de 2-etinil-5-metoxipiridina a 1 kg/ha, ilustrando la inhibición altamente eficiente de la nitrificación por parte de 2-etinil-5-metoxipiridina, como demuestran las bajas concentraciones de nitrato-N en suelo tratado con orina + 2-etinil-5-metoxipiridina en comparación con el control, que se trató solamente con orina o con orina + dimetilsulfóxido (DMSO). Las barras de error representan un error estándar de la media (SEM).

Figura 4-6 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo al final de un proceso de 30 días de incubación, afectado por la aplicación de 2-etinil-5-metoxipiridina a 0,5 kg/ha, ilustrando la inhibición altamente eficiente de la nitrificación por parte de 2-etinil-5-metoxipiridina, como demuestran las bajas concentraciones de nitrato-N en suelo tratado con orina + 2-etinil-5-metoxipiridina en comparación con el control, que se trató solamente con orina o con orina + dimetilsulfóxido (DMSO). Las barras de error representan un error estándar de la media (SEM).

Figura 5-6 muestra la eficacia de 2-etinil-5-metoxipiridina en la reducción de emisiones de N_2O -N cuando la 2-etinil-5-metoxipiridina se pulverizó sobre la superficie del suelo de pasto en la zona que había recibido orina animal. Las emisiones de N_2O -N en suelo tratado con orina + 2-etinil-5-metoxipiridina fueron aproximadamente de un 96 % y de un 91 % inferiores a aquellas que recibieron el tratamiento control con solamente orina, cuando la 2-etinil-5-metoxipiridina fue aplicada a 10 kg/ha y 2 kg/ha, respectivamente. Esto muestra la eficiencia de 2-etinil-5-metoxipiridina en la reducción de emisiones de N_2O en el suelo. Las reducciones de óxido nítrico por parte de 2-etinil-5-metoxipiridina fueron mayores que las conseguidas con DCD. Las barras de error representan un error estándar de la media (SEM).

Figura 2-7 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo al final de un proceso de 30 días de incubación, afectado por la aplicación de 5-etinil-2-metoxipiridina a 2 kg/ha, ilustrando la inhibición de la nitrificación altamente eficiente por parte de 5-etinil-2-metoxipiridina, como demuestran las bajas concentraciones de nitrato-N en suelo tratado con orina + 5-etinil-2-metoxipiridina en comparación con el control, que se trató solamente con orina o con orina + dimetilsulfóxido (DMSO). Las barras de error representan un error estándar

de la media (SEM).

Figura 2-8 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo al final de un proceso de 30 días de incubación, afectado por la aplicación de 1-óxido de 3-etinilpiridina a 2 kg/ha, ilustrando la inhibición de la nitrificación altamente eficiente por parte del 1-óxido de 3-etinilpiridina, como demuestran las bajas concentraciones de nitrato-N en suelo tratado con orina + 1-óxido de 3-etinilpiridina en comparación con el control, que se trató solamente con orina o con orina + dimetilsulfóxido (DMSO). Las barras de error representan un error estándar de la media (SEM).

Figura 3-8 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo al final de un proceso de 30 días de incubación, afectado por la aplicación del 1-óxido de 3-etinilpiridina a 1 kg/ha, ilustrando la inhibición altamente eficiente de la nitrificación por parte del 1-óxido de 3-etinilpiridina, como demuestran las bajas concentraciones de nitrato-N en suelo tratado con orina + 1-óxido de 3-etinilpiridina en comparación con el control, que se trató solamente con orina o con orina + dimetilsulfóxido (DMSO). Las barras de error representan un error estándar de la media (SEM).

Figura 4-8 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo al final de un proceso de 30 días de incubación, afectado por la aplicación de 1-óxido de 3-etinilpiridina a 0,5 kg/ha, ilustrando la inhibición altamente eficiente de la nitrificación por parte de 1-óxido de 3-etinilpiridina, como demuestran las bajas concentraciones de nitrato-N en suelo tratado con orina + 1-óxido de 3-etinilpiridina en comparación con el control, que se trató solamente con orina o con orina + dimetilsulfóxido (DMSO). Las barras de error representan un error estándar de la media (SEM).

Figura 5-8 muestra la eficacia de 1-óxido de 3-etinilpiridina en la reducción de emisiones de N_2O -N cuando la 1-óxido de 3-etinilpiridina se pulverizó sobre la superficie del suelo de pasto en la zona que había recibido orina animal. Las emisiones de N_2O -N en suelo tratado con orina + 1-óxido de 3-etinilpiridina fueron aproximadamente de un 96% y de un 91% inferiores a aquellas que recibieron el tratamiento control con solamente orina, cuando la 1-óxido de 3-etinilpiridina fue aplicada a 10kg/ha y 2kg/ha, respectivamente. Esto muestra la eficiencia de 1-óxido de 3-etinilpiridina en la reducción de emisiones de N_2O en el suelo. Las reducciones de óxido nítrico por parte de 1-óxido de 3-etinilpiridina fueron mayores que las conseguidas con DCD. Las barras de error representan un error estándar de la media (SEM).

Figura 2-9 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo al final de un proceso de 30 días de incubación, afectado por la aplicación de 2,5-dietinilpiridina a 2 kg/ha, ilustrando la inhibición de la nitrificación altamente eficiente por parte de 2,5-dietinilpiridina, como demuestran las bajas concentraciones de nitrato-N en suelo tratado con orina + 2,5-dietinilpiridina en comparación con el control, que se trató solamente con orina o con orina + dimetilsulfóxido (DMSO). Las barras de error representan un error estándar de la media (SEM).

Figura 2-10 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo al final de un proceso de 30 días de incubación, afectado por la aplicación de 3-etinilpiridazina a 2 kg/ha, ilustrando la inhibición de la nitrificación altamente eficiente por parte de 3-etinilpiridazina, como demuestran las bajas concentraciones de nitrato-N en suelo tratado con orina + 3-etinilpiridazina en comparación con el control, que se trató solamente con orina o con orina + dimetilsulfóxido (DMSO). Las barras de error representan un error estándar de la media (SEM).

Figura 3-10 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo al final de un proceso de 30 días de incubación, afectado por la aplicación de 3-etinilpiridazina a 1 kg/ha, ilustrando la inhibición altamente eficiente de la nitrificación por parte de 3-etinilpiridazina, como demuestran las bajas concentraciones de nitrato-N en suelo tratado con orina + 3-etinilpiridazina en comparación con el control, que se trató solamente con orina o con orina + dimetilsulfóxido (DMSO). Las barras de error representan un error estándar de la media (SEM).

Figura 4-10 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo al final de un proceso de 30 días de incubación, afectado por la aplicación de 3-etinilpiridazina a 0,5 kg/ha, ilustrando la inhibición altamente eficiente de la nitrificación por parte de 3-etinilpiridazina, como demuestran las bajas concentraciones de nitrato-N en suelo tratado con orina + 3-etinilpiridazina en comparación con el control, que se trató solamente con orina o con orina + dimetilsulfóxido (DMSO). Las barras de error representan un error estándar de la media (SEM).

Figura 2-11 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo al final de un proceso de 30 días de incubación, afectado por la aplicación de 3-etinil-6-metoxipiridazina a 2 kg/ha o 1 kg/ha, ilustrando la inhibición de la nitrificación altamente eficiente por parte de 3-etinil-6-metoxipiridazina, como demuestran las bajas concentraciones de nitrato-N en suelo tratado con orina + 3-etinil-6-metoxipiridazina en comparación con el control, que se trató solamente con orina o con orina + dimetilsulfóxido (DMSO). Las barras de error representan un error estándar de la media (SEM).

Figura 2-12 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo al final de un proceso de 30 días de incubación, afectado por la aplicación de 2-etinilpirazina a 2 kg/ha, ilustrando la inhibición de la nitrificación altamente eficiente por parte de 2-etinilpirazina, como demuestran las bajas concentraciones de nitrato-N en suelo

tratado con orina + 2-etinilpirazina en comparación con el control, que se trató solamente con orina o con orina + dimetilsulfóxido (DMSO). Las barras de error representan un error estándar de la media (SEM).

Figura 2-13 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo al final de un proceso de 30 días de incubación, afectado por la aplicación de 2-etinil-5-metoxipirazina a 2 kg/ha o 1 kg/ha, ilustrando la inhibición de la nitrificación altamente eficiente por parte de 2-etinil-5-metoxipirazina, como demuestran las bajas concentraciones de nitrato-N en suelo tratado con orina + 2-etinil-5-metoxipirazina en comparación con el control, que se trató solamente con orina o con orina + dimetilsulfóxido (DMSO). Las barras de error representan un error estándar de la media (SEM).

Figura 2-14 muestra que cuando 4-etinilanol fue aplicado en un amplio rango de concentraciones en un screening in vitro, de 1.56µM a 400µM, la tasa de producción de nitrato de *Nitrosomonas europaea* se reducía significativamente, indicando una inhibición eficaz del proceso de nitrificación por parte del 4-etinilanol. La lectura de la OD₅₁₉ (densidad óptica a 519 nanómetros) es un indicador de la concentración de nitrato en el líquido analizado; a mayor resultado, mayor es la concentración de nitrato.

Figura 3-14 muestra los cambios en la concentración de nitrato-N en el suelo, afectado por la aplicación de 4-etinilanol a diferentes valores. Las barras de error representan un error estándar de la media (SEM). La figura muestra un crecimiento significativamente más lento de la concentración de nitrato-N en el suelo tratado con orina + 4-etinilanol en comparación con el suelo tratado con orina (control), demostrando una inhibición significativa del proceso de nitrificación por parte del 4-etinilanol. Cuanto más baja la concentración de nitrato, menor el riesgo de lixiviación de nitrato y de emisiones de óxido nítrico.

Figura 4-14 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo al final de un proceso de 30 días de incubación, afectado por el tratamiento de 4-etinilanol a diferentes valores, ilustrando la inhibición altamente eficiente de la nitrificación por parte de 4-etinilanol, como demuestran las bajas concentraciones de nitrato-N en suelo tratado con orina + 4-etinilanol en comparación con el control, que se trató solamente con orina. Las barras de error representan un error estándar de la media (SEM).

Figura 5-14 muestra la concentración de nitrato en el suelo al final de un proceso de 60 días de incubación, afectado por el tratamiento de 4-etinilanol aplicado a una dosis equivalente a 10 kg/ha. La figura muestra que 4-etinilanol fue mucho más potente que DCD inhibiendo la producción de nitrato a partir de orina, inhibiendo el proceso de nitrificación. El disolvente (DMSO) no resultó en una reducción estadísticamente significativa en la concentración de nitrato comparado con el tratamiento solamente con orina ($P > 0.05$). Las barras de error representan un error estándar de la media (SEM).

Figura 6-14 muestra la eficacia de 4-etinilanol en la reducción de emisiones de N₂O-N cuando 4-etinilanol se pulverizó sobre la superficie del suelo que había recibido orina animal. Las emisiones de N₂O -N en suelo tratado con orina + 4-etinilanol fueron de un 93 % inferiores a aquellas que recibieron el tratamiento control con solamente orina. Esto muestra la eficiencia de 4-etinilanol en la reducción de emisiones de N₂O en el suelo. Las reducciones de óxido nítrico por parte de 4-etinilanol fueron mucho mayores que las conseguidas con DCD, la cual resultó en una reducción en emisiones de N₂O de 43,4%. Las barras de error representan un error estándar de la media (SEM).

Figura 7-14 muestra la concentración de nitrato en el suelo al final de un proceso de 60 días de incubación, afectado por el tratamiento de 4-etinilanol aplicado a una dosis equivalente a 1 kg/ha y 2 kg/ha. La figura muestra que 4-etinilanol aplicado a 1 kg/ha o 2 kg/ha fue mucho más potente que DCD a 10 kg/ha inhibiendo la producción de nitrato a partir de orina, inhibiendo el proceso de nitrificación. Las barras de error representan un error estándar de la media (SEM).

Figuras 8A-14, 8B-14 muestran que el consumo de oxígeno dependiente del amonio fue reducido a cero en presencia de 4-etinilanol (figura 8A-14), mientras que el consumo de oxígeno dependiente de la hidroxilamina (H₃NO) no fue afectado por 4-etinilanol (figura 8B-14), indicando que la enzima amonio monooxigenasa (AMO) de las bacterias oxidantes de amonio es potencialmente la diana de inhibición de 4-etinilanol y no la hidroxilamina oxidoreductasa.

Figura 2-15 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo al final de un proceso de 30 días de incubación, afectado por la aplicación de 1-etoxi-4-etinilbenceno a 2 kg/ha, ilustrando la inhibición de la nitrificación altamente eficiente por parte de 1-etoxi-4-etinilbenceno, como demuestran las bajas concentraciones de nitrato-N en suelo tratado con orina + 1-etoxi-4-etinilbenceno en comparación con el control, que se trató solamente con orina o con orina + dimetilsulfóxido (DMSO). Las barras de error representan un error estándar de la media (SEM).

Figura 2-16 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo al final de un proceso de 30 días de incubación, afectado por la aplicación de 1,4-dietinilbenceno a 2 kg/ha, ilustrando la inhibición de la nitrificación altamente eficiente por parte de 1,4-dietinilbenceno, como demuestran las bajas concentraciones de nitrato-N en suelo

tratado con orina + 1,4-dietinilbenceno en comparación con el control, que se trató solamente con orina o con orina + dimetilsulfóxido (DMSO). Las barras de error representan un error estándar de la media (SEM).

MEJORES FORMAS DE LLEVAR A CABO LA INVENCION

La figura 1 es un diagrama simplificado que muestra la orina animal-N como la fuente principal de emisiones de N_2O y pérdidas por lixiviación de NO_3^- en pastizales, así como el punto de intervención del inhibidor de la nitrificación. Si se aplican fertilizantes de nitrógeno al suelo en lugar de orina animal, tales como urea u otros fertilizantes que liberan amonio al suelo, entonces pueden ocurrir reacciones similares tal como se muestra en el diagrama. La orina animal es utilizada como ejemplo para ilustrar el proceso de nitrificación, fuentes de lixiviación de nitrato y de emisiones de óxido nitroso, y el punto de intervención usando inhibidores de la nitrificación para tratar el suelo que ha sido, o será, o o sustancialmente al mismo tiempo, sometido a orina animal, fertilizante de nitrógeno o efluente animal.

El problema a resolver por la presente invención es el de encontrar nuevos inhibidores de la nitrificación, que tengan las características deseadas, permitiendo que dichos inhibidores puedan ser utilizados en aplicaciones agrícolas en lugar de DCD para solucionar los problemas con el nitrógeno mencionados anteriormente.

Los inventores, buscando resolver el problema, examinaron más de 25.000 compuestos mediante análisis *in silico* contra una estructura modelada de la enzima amonio monooxigenasa.

A partir de aquí, fueron analizados *in vitro* unos 5000 compuestos utilizando un método de análisis fenotípico de alto rendimiento que había sido optimizado para la identificación de compuestos que inhiben específicamente la oxidación de amonio a nitrito. El análisis fenotípico involucró evaluar la potencia de inhibición de la nitrificación de los 5000 compuestos seleccionados contra una bacteria oxidante de amonio en particular, responsable de la oxidación de amonio en el suelo, *Nitrosomonas europaea*, en placas de 96 pocillos. Las células de *N. europaea* fueron cultivadas en presencia de una fuente de amonio, y se midió el potencial de que los inhibidores de nitrificación putativos inhibiesen la producción de nitrito (NO_2^-) en relación a las células sin tratar.

Algunas de las características deseadas clave del nuevo potencial compuesto inhibidor de la nitrificación incluyen:

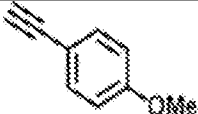
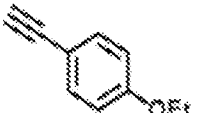
- potencia de inhibición de nitrificación alta a bajas tasas de aplicación (por ejemplo muy inferiores a los 10 kg/ha usados para DCD);
- baja toxicidad;
- de lo contrario, cumplir varios requerimientos o estándares regulatorios alimentarios y medioambientales.

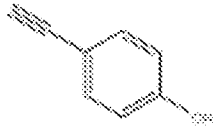
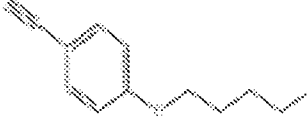
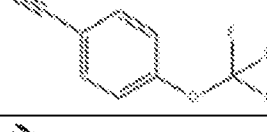
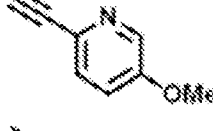
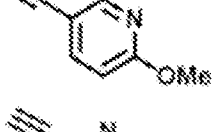
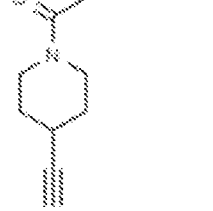
De los 5000 compuestos analizados, unos 150 mostraron propiedades inhibidoras contra *N. europaea in vitro*. Los compuestos que inhibieron nitrificación en el análisis fenotípico y cumplieron esos criterios fueron subsecuentemente seleccionados y analizados para comprobar su eficacia inhibiendo la nitrificación en el ensayo de suelo, de importancia crítica, y unos 30 mostraron suficiente inhibición en la nitrificación en el mismo.

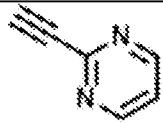
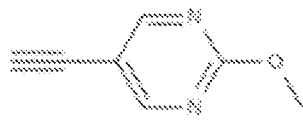
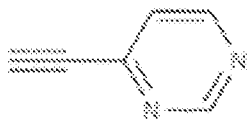
Los costes de analizar potenciales compuestos no fueron baratos y por ahora el programa de descubrimiento ha costado más de 3 millones de USD.

Un resumen de los compuestos seleccionados que inicialmente se encontró que funcionaban o no funcionaban como inhibidores de la nitrificación se muestra en detalle en la tabla 1.

Tabla 1

	Nombre IUPAC	Estructura	Inhibición (%)
Bencenos	1-etinil-4-metoxibenceno		100
	1-etoxi-4-etinilbenceno		100

	1,4-dietinilbenceno		100
	4-etinilfenol		0
	1-etinil-4-pentoxibenceno		2
	1-etinil-4-(trifluorometoxi)benceno		8
Piridinas (incluyendo N-óxido)	2-etinil-5-metoxipiridina		100
	5-etinil-2-metoxipiridina		100
	2,5-dietinilpiridina		100
	1-óxido de 3-etinilpiridina		100
	1-óxido de 4-etinilpiridina		18
	Hidrocloruro de 4-etinilpiperidina		0
	1-(4-etinil-1-piperidinil)etanona		0

Pirimidinas	2-etinilpirimidina		94
	5-etinil-1-metil-1H-imidazol		100
	2,5-dietinilpirimidina		60
	5-etinilpirimidina		95
	5-etinil-2-metoxipirimidina		100
	4-etinilpirimidina		100
	5-etinil-2,4(1H,3H)-pirimidinadiona		0

Ensayo de 2-etinil 1,3-diazina

Estudio 1-1

Se llevaron a cabo estudios de incubación en laboratorio para determinar la eficacia de 2-etinil 1,3-diazina inhibiendo la nitrificación en el suelo. Se utilizó un suelo franco arenoso de Templeton en este experimento. 500 gramos de suelo (considerado en seco) se envasaron en un recipiente. Se aplicaron al suelo 50 mL de orina sintética de vaca con una concentración de N de 7 gN/L (comprendiendo aproximadamente un 87% de N-urea y un 13% de N- glicina) (equivalente a 700 kgN/ha (p/p), asumiendo una densidad de 1 g/cm³ en los 10 cm superiores de suelo). La aplicación de 700 kgN/ha fue usada para estimular la tasa de aplicación de nitrógeno de la orina bajo un parche urinario de una vaca lechera típica en un pasto. Se añadieron al suelo con orina 5 mg de DCD disueltos en 0.9mL de DMSO para dar una concentración de 10 kg/ha y 1 mg de 2-etinil 1,3-diazina disuelta en 0.9mL de DMSO para dar una concentración de 2 kg/ha.

Los tratamientos control que se añadieron fueron:

- solamente orina (50mL);
- DMSO (equivalente a 0.9mL/500g de suelo) + orina (50mL) para determinar el efecto del DMSO en la tasa de nitrificación;
- solamente agua (50mL) (simulando zonas de suelo donde no se depositó orina).

Los tratamientos de orina, agua, DMSO, DCD y 2-etinil 1,3-diazina fueron aplicados a la superficie del suelo, el cual fue mezclado a conciencia. Los recipientes fueron cubiertos con tapas con agujeros para permitir el intercambio de gases durante la incubación. Los recipientes fueron incubados a 12°C. Se mantuvo el contenido de humedad del suelo a capacidad de campo ajustando en base al peso dos veces por semana.

Se recogieron muestras de suelo, las cuales fueron mezcladas a conciencia y de las cuales se extrajeron submuestras en una solución de cloruro de potasio para analizar para nitrógeno mineral. Se determinó también el contenido de humedad del suelo. Las muestras fueron recogidas 30 días tras el comienzo de la incubación.

La figura 2-1 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo en el día 30 de incubación, mostrando unas concentraciones de nitrato-N significativamente más bajas en el tratamiento con orina + (2-etinil 1,3-diazina disuelta en DMSO), demostrando así la capacidad de 2-etinil 1,3-diazina de inhibir nitrificación en el suelo a 2kg/ha. Estos resultados muestran que cuando 2-etinil 1,3-diazina se aplica para tratar parches urinarios en suelo a 2kg/ha se pueden obtener reducciones significativas en la tasa de nitrificación. En particular, 2-etinil 1,3-diazina a una concentración de tan solo 2kg/ha fue más eficaz reduciendo la tasa de nitrificación que DCD a una concentración de 10 kg/ha.

Estudio 2-1

Un segundo estudio de incubación en laboratorio fue llevado a cabo para determinar la eficacia de 2-etinil 1,3-diazina en inhibición de nitrificación cuando se aplica a una dosis inferior, de 1 kg/ha. Los procedimientos experimentales son los mismos que se describen en el estudio 1, exceptuando que la 2-etinil 1,3-diazina se aplicó a 1 kg/ha.

La figura 3-1 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo en el día 30 de incubación, afectado por la aplicación al suelo de 2-etinil 1,3-diazina a 1 kg/ha, ilustrando la altamente eficiente inhibición de nitrificación por parte de 2-etinil 1,3-diazina, tal y como se muestra por las bajas concentraciones de nitrato-N en el suelo tratado con orina + 2-etinil 1,3-diazina comparada con los tratamientos control de solamente orina o de orina + DMSO.

Estudio 3-1

Un tercer estudio de incubación en laboratorio fue llevado a cabo para determinar la eficacia de 2-etinil 1,3-diazina en inhibición de nitrificación cuando se aplicó a una dosis inferior, de 0,5 kg/ha. Los procedimientos experimentales son los mismos que se describen en el estudio 1, exceptuando que la 2-etinil 1,3-diazina se aplicó a 0,5 kg/ha.

La figura 4-1 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo en el día 30 de incubación, afectado por la aplicación al suelo de 2-etinil 1,3-diazina a 0,5kg/ha, ilustrando la altamente eficiente inhibición de la nitrificación por parte de 2-etinil 1,3-diazina a una dosis de aplicación tan baja, tal y como se muestra por las bajas concentraciones de nitrato-N en el suelo tratado con orina + 2-etinil 1,3-diazina comparada con los tratamientos control de solamente orina o de orina + DMSO.

Estudio 4-1

Para determinar el efecto del tratamiento del suelo con 2-etinil 1,3-diazina sobre las emisiones de óxido nitroso bajo condiciones de suelo de campo, se llevó a cabo un estudio usando un método de cámara de gas estática. Este estudio fue llevado a cabo en la Lincoln University Research Dairy Farm, y el suelo utilizado fue un suelo franco arenoso de Templeton con pastos establecidos de riegrás perenne (*Lolium perenne*) y tréboles blancos (*Trifolium repens*). Se insertaron aros metálicos (500 mm de diámetro y 200 mm de altura) en la tierra. Un abrevadero situado encima de los aros metálicos permitió la colocación de cámaras estáticas localizadas encima de los abrevaderos para proporcionar un sello hermético al gas que permita el muestreo de N₂O gaseoso.

Se aplicó orina sintética con una concentración de nitrógeno de 7 gN/L a las parcelas de suelo confinadas en los aros metálicos a una dosis equivalente a 700 kgN/ha. Se disolvieron 196,25 mg o 39,2 mg de 2-etinil 1,3-diazina en 2 mL de DMSO, luego fueron mezclados con 1000 mL de agua, y posteriormente pulverizados en las mini-parcelas a una dosis de 196 mg/parcela y 39,2 mg/parcela, equivalente a 10 kg/ha y 2 kg/ha, respectivamente. Las parcelas fueron irrigadas con agua de acuerdo a la práctica ganadera lechera local.

La cámara de gas (500 mm de diámetro y 120 mm de altura) fue construida a partir de un cilindro metálico aislado con espuma de poliestireno de 2,5 cm de grosor para evitar el calentamiento de la atmósfera de la cámara durante el muestreo. Durante los periodos de medida de N₂O, el borde de la cámara fue colocado dentro de un pequeño abrevadero el cual fue montado alrededor de la zona superior de cada uno de los aros metálicos para el muestreo de gases. A cada tiempo de muestreo, la cámara fue colocada encima del aro del suelo por un total de 40 minutos, y se tomaron 3 muestras utilizando una jeringuilla a través de un septum de goma encima de la cámara de gas, con un intervalo de 20 minutos entre ellas. Las muestras fueron tomadas dos veces por semana. Cada muestreo fue llevado a cabo durante el día, entre las 12.00h y las 14.00h (Di et al., 2007). La concentración de N₂O en las muestras fue analizada usando un cromatógrafo de gas (SRI8610C con un detector de captura de electrones (ECD) (SRI Instruments, EEUU) conectado a un

automuestreador Gilson 222XL (Gilson, Francia)).

La [figura 5-1](#) muestra la eficacia de 2-etinil 1,3-diazina en la reducción de emisiones de N_2O -N cuando la 2-etinil 1,3-diazina se pulverizó sobre la superficie del suelo de pasto en la zona que había recibido orina animal. Las emisiones de N_2O -N en suelo tratado con orina + 2-etinil 1,3-diazina fueron aproximadamente de un 96% y de un 91% inferiores a aquellas que recibieron el tratamiento control con solamente orina, cuando la 2-etinil 1,3-diazina fue aplicada a 10 kg/ha y 2 kg/ha, respectivamente. Esto muestra la eficiencia de 2-etinil 1,3-diazina en la reducción de emisiones de N_2O en el suelo. Las reducciones de óxido nítrico por parte de 2-etinil 1,3-diazina fueron mayores que las conseguidas con DCD.

El efecto de 2-etinil 1,3-diazina en concentraciones de nitrato y emisiones de óxido nítrico en los estudios 1-4 se muestran la tabla 1-1 a continuación:

NIC 93 Tabla 1-1.

Efecto de los nuevos inhibidores de nitrificación (IN) en concentraciones de nitrato o emisiones de óxido nítrico				
Estudio 1	Orina	Orina + 2-etinil 1,3-diazina (2kg/ha)	%reducción por IN	
Nitrato-N (mg N/kg suelo)	194,7	31,8	84%	
Estudio 2	Orina	Orina + 2-etinil 1,3-diazina (1kg/ha)	%reducción por IN	
Nitrato-N (mg N/kg suelo)	491,8	9,1	98%	
Estudio 3	Orina	Orina + 2-etinil 1,3-diazina (0,5kg/ha)	%reducción por IN	
Nitrato-N (mg N/kg suelo)	393,9	17,5	96%	
Estudio 4	Orina	Orina + 2-etinil 1,3-diazina (10kg/ha)	%reducción por IN	
Emisiones de N_2O (kg N_2O -N/ha)	13	0,33	96%	
	Orina	Orina + 2-etinil 1,3-diazina (2kg/ha)	%reducción por IN	
Emisiones de N_2O (kg N_2O -N/ha)	13	1,2	91%	

Ensayo de 3-etinil 1,5-diazina

Estudio 1-2

Se llevó a cabo un estudio de incubación en laboratorio para determinar la eficacia de 3-etinil 1,5-diazina en la inhibición de la nitrificación cuando se aplicó a una dosis de 2 kg/ha. Los procedimientos experimentales son los mismos que se describieron en el estudio 1-1.

La [figura 2-2](#) muestra la concentración de nitrato-N en el suelo en el día 30 de incubación, mostrando unas concentraciones de nitrato-N significativamente más bajas en el tratamiento con orina + (3-etinil 1,5-diazina disuelta en DMSO), demostrando así la capacidad de 3-etinil 1,5-diazina de inhibir la nitrificación en el suelo a 2 kg/ha. Estos resultados muestran que cuando se aplica 3-etinil 1,5-diazina para tratar parches urinarios en suelo a 2 kg/ha se pueden obtener reducciones significativas en la tasa de nitrificación. En particular, 3-etinil 1,5-diazina a una concentración de tan solo 2 kg/ha fue más eficaz reduciendo la tasa de nitrificación que DCD a una concentración de 10 kg/ha.

Estudio 2-2

Un segundo estudio de incubación en laboratorio fue llevado a cabo para determinar la eficacia de 3-etinil 1,5-diazina en la inhibición de la nitrificación cuando se aplicó a una dosis inferior de 1 kg/ha. Los procedimientos experimentales son los mismos que se describieron en el estudio 1-1.

La [figura 3-2](#) muestra la concentración de nitrato-N en el suelo en el día 30 de incubación, afectado por la aplicación al suelo de 3-etinil 1,5-diazina a 1 kg/ha, ilustrando la altamente eficiente inhibición de la nitrificación por parte de 3-etinil 1,5-diazina, tal como se muestra por las bajas concentraciones de nitrato-N en el suelo tratado con orina + 3-etinil 1,5-diazina comparada con los tratamientos control de solamente con orina o con orina + DMSO.

Estudio 3-2

Un tercer estudio de incubación en laboratorio fue llevado a cabo para determinar la eficacia de 3-etinil 1,5-diazina en la inhibición de la nitrificación cuando se aplicó a una dosis inferior de 0,5 kg/ha. Los procedimientos experimentales son los mismos que se describieron en el estudio 1-1.

La [figura 4-2](#) muestra la concentración de nitrato-N en el suelo en el día 30 de incubación, afectado por la aplicación al suelo de 3-etinil 1,5-diazina a 0,5kg/ha, ilustrando la altamente eficiente inhibición de la nitrificación por parte de 3-etinil 1,5-diazina a una dosis de aplicación tan baja, tal como se muestra por las

bajas concentraciones de nitrato-N en el suelo tratado con orina + 3-etinil 1,5-diazina comparada con los tratamientos control de solamente con orina o con orina + DMSO.

Estudio 4-2

Para determinar el efecto del tratamiento del suelo con 3-etinil 1,5-diazina sobre las emisiones de óxido nítrico bajo condiciones de suelo de campo, se llevó a cabo un estudio usando un método de cámara de gas estática. Este estudio fue llevado a cabo en la Lincoln University Research Dairy Farm, y el suelo utilizado fue un suelo franco arenoso de Templeton con pastos establecidos de riegros perenne (*Lolium perenne*) y tréboles blancos (*Trifolium repens*). Se insertaron aros metálicos (500mm de diámetro y 200mm de altura) en la tierra. Un abrevadero situado encima de los aros metálicos permitió la colocación de cámaras estáticas localizadas encima de los abrevaderos para proporcionar un sello hermético al gas que permita el muestreo de N₂O gaseoso.

Se aplicó orina sintética con una concentración de nitrógeno de 7 gN/L a las parcelas de suelo confinadas en los aros metálicos a una dosis equivalente a 700 kgN/ha. Se disolvieron 196,25 mg o 39,2 mg de 3-etinil 1,5-diazina en 2 mL de DMSO, luego fueron mezclados con 1000 mL de agua, y posteriormente pulverizados en las mini-parcelas a una dosis de 196 mg/parcela y 39,2 mg/parcela, equivalente a 10 kg/ha y 2 kg/ha, respectivamente. Las parcelas fueron irrigadas con agua de acuerdo a la práctica ganadera lechera local.

Se construyó una cámara de gas (500 mm de diámetro y 120 mm de altura) a partir de un cilindro metálico aislado con espuma de poliestireno de 2,5 cm de grosor para evitar el calentamiento de la atmósfera de la cámara durante el muestreo. Durante los periodos de medida de N₂O, el borde de la cámara fue colocado dentro de un pequeño abrevadero el cual fue montado alrededor de la zona superior de cada uno de los aros metálicos para el muestreo de gases. A cada tiempo de muestreo, la cámara fue colocada encima del aro del suelo por un total de 40 minutos, y se tomaron 3 muestras utilizando una jeringuilla a través de un septum de goma encima de la cámara de gas, con un intervalo de 20 minutos entre ellas. Las muestras fueron tomadas dos veces por semana. Cada muestreo fue llevado a cabo durante el día, entre las 12.00h y las 14.00h (Di et al., 2007). La concentración de N₂O en las muestras fue analizada usando un cromatógrafo de gas (SRI8610C con un detector de captura de electrones (ECD) (SRI Instruments, EEUU) conectado a un automuestreador Gilson 222XL (Gilson, Francia)).

La figura 5-2 muestra la eficacia de 3-etinil 1,5-diazina en la reducción de emisiones de N₂O-N cuando la 3-etinil 1,5-diazina se pulverizó sobre la superficie del suelo de pasto en la zona que había recibido orina animal. Las emisiones de N₂O-N en suelo tratado con orina + 3-etinil 1,5-diazina fueron aproximadamente de un 96 % y de un 91 % inferiores a aquellas que recibieron el tratamiento control con solamente orina, cuando la 3-etinil 1,5-diazina fue aplicada a 10 kg/ha y 2 kg/ha, respectivamente. Esto muestra la eficiencia de 3-etinil 1,5-diazina en la reducción de emisiones de N₂O en el suelo. Las reducciones de óxido nítrico por parte de 3-etinil 1,5-diazina fueron mayores que las conseguidas con DCD.

El efecto de 3-etinil 1,5-diazina en concentraciones de nitrato y emisiones de óxido nítrico en los estudios 1-4 se muestran la tabla 1-2:

Tabla 1-2.

Efecto de los nuevos inhibidores de nitrificación (IN) en concentraciones de nitrato o emisiones de óxido nítrico				
Estudio 1		Orina	Orina + 3-etinil 1,5-diazina (2kg/ha)	%reducción por IN
	Nitrato-N (mg N/kg suelo)	194,7	31,6	84%
Estudio 2		Orina	Orina + 3-etinil 1,5-diazina (1kg/ha)	
	Nitrato-N (mg N/kg suelo)	491,8	13,3	97%
Estudio 3		Orina	Orina + 3-etinil 1,5-diazina (0,5kg/ha)	
	Nitrato-N (mg N/kg suelo)	593,9	118,1	70%
Estudio 4		Orina	Orina + 3-etinil 1,5-diazina (10kg/ha)	
	Emisiones de N ₂ O (kg N ₂ O-N/ha)	13	0,92	93%
		Orina	Orina + 3-etinil 1,5-diazina (2kg/ha)	
	Emisiones de N ₂ O (kg N ₂ O-N/ha)	13	0,89	93%

Ensayo de 4-etinilpirimidina

Estudio 1-3

Se llevó a cabo un estudio de incubación en laboratorio para determinar la eficacia de 4-etinilpirimidina en la inhibición de la nitrificación cuando se aplicó a una dosis de 2 kg/ha. Los procedimientos experimentales son los mismos que se describieron en el estudio 1-1.

La figura 2-3 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo en el día 30 de incubación, mostrando unas concentraciones de nitrato-N significativamente más bajas en el tratamiento con orina + (4-etinilpirimidina disuelta en DMSO), demostrando así la habilidad de 4-etinilpirimidina de inhibir nitrificación en el suelo a 2 kg/ha. Estos resultados muestran que cuando 4-etinilpirimidina se aplica para tratar parches urinarios en suelo a 2 kg/ha se pueden obtener reducciones significativas en la tasa de nitrificación. En particular, 4-etinilpirimidina a una concentración de tan solo 2 kg/ha fue más eficaz reduciendo la tasa de nitrificación que DCD a una concentración de 10 kg/ha.

Estudio 2-3

Un segundo estudio de incubación en laboratorio fue llevado a cabo para determinar la eficacia de 4-etinilpirimidina en la inhibición de la nitrificación cuando se aplicó a una dosis inferior de 1 kg/ha. Los procedimientos experimentales son los mismos que se describieron en el estudio 1-1.

La figura 3-3 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo en el día 30 de incubación, afectado por la aplicación al suelo de 4-etinilpirimidina a 1kg/ha, ilustrando la altamente eficiente inhibición de nitrificación por parte de 4-etinilpirimidina, tal como se muestra por las bajas concentraciones de nitrato-N en el suelo tratado con orina + 4-etinilpirimidina comparada con los tratamientos control de solamente con orina o con orina + DMSO.

Ensayo de 2-etinil-5-metoxipirimidina

Estudio 1-4

Se llevó a cabo un estudio de incubación en laboratorio para determinar la eficacia de 2-etinil-5-metoxipirimidina en la inhibición de la nitrificación cuando se aplicó a una dosis de 2 kg/ha. Los procedimientos experimentales son los mismos que se describieron en el estudio 1-1.

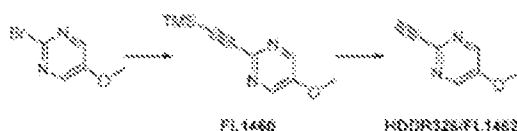
La figura 2-4 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo en el día 30 de incubación, mostrando unas concentraciones de nitrato-N significativamente más bajas en el tratamiento con orina + (2-etinil-5-metoxipirimidina disuelta en DMSO), demostrando así la capacidad de 2-etinil-5-metoxipirimidina de inhibir nitrificación en el suelo a 2 kg/ha. Estos resultados muestran que cuando 2-etinil-5-metoxipirimidina se aplica para tratar parches urinarios en suelo a 2 kg/ha se pueden obtener reducciones significativas en la tasa de nitrificación. En particular, 2-etinil-5-metoxipirimidina a una concentración de tan solo 2 kg/ha fue más eficaz reduciendo la tasa de nitrificación que DCD a una concentración de 10 kg/ha.

Estudio 2-4

Un segundo estudio de incubación en laboratorio fue llevado a cabo para determinar la eficacia de 2-etinil-5-metoxipirimidina en la inhibición de la nitrificación cuando se aplicó a una dosis inferior de 1 kg/ha. Los procedimientos experimentales son los mismos que se describieron en el estudio 1-1.

La figura 3-4 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo en el día 30 de incubación, afectado por la aplicación al suelo de 2-etinil-5-metoxipirimidina a 1 kg/ha, ilustrando la altamente eficiente inhibición de nitrificación por parte de 2-etinil-5-metoxipirimidina, tal como se muestra por las bajas concentraciones de nitrato-N en el suelo tratado con orina + 2-etinil-5-metoxipirimidina comparada con los tratamientos control de solamente con orina o con orina + DMSO.

Ruta hacia 2-etinil-5-metoxipirimidina



Una suspensión de 2-bromo-5-metoxipirimidina (1.57g, 8.3mmol, 1eq.), etiniltrimeilsilano (1.8mL, 12.5mmol, 1.5eq), trietilamina (5.8mL, 41.5mmol, 5.0eq), dicloruro de bis(trifenilfosina)paladio (II) (292mg, 0.42mmol, 0.05eq) y yoduro de cobre (I) (158mg, 0.84mmol, 0.1eq) en tetrahidrofurano anhidro desgasificado (30mL) se calentó a reflujo bajo argón durante 15 h.

La mezcla fue enfriada a temperatura ambiente, filtrada a través de Celite®; y el filtrado fue concentrado al vacío. Purificación mediante columna cromatográfica (éter de petróleo/acetato de etil 19:1) dio lugar a 5-metoxi-2-((trimetilsilil)etinil)pirimidina (FL1460) en forma de sólido blanquecino (1.68g, 98%), ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.27 (9H, s), 3.92 (3H, s), 8.34 (2H, s); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ -0.3 (CH₃), 56.2 (CH₃), 92.4 (C), 102.2 (C), 143.6 (CH), 145.3 (C), 152.5 (C).

Una mezcla de 5-metoxi-2-((trimetilsilil)etil)pirimidina (FL1460, 1.27g, 6.2mmol, 1eq) e hidróxido de potasio (345mg, 6.2mmol, 1eq) en metanol-agua (24mL, 5:1 v/v) fue agitada a temperatura ambiente durante 10 minutos.

La mezcla fue posteriormente diluida con acetato de etil (100mL) y agua (100mL). La capa acuosa separada fue extraída con acetato de etil (2 x 50mL) y los extractos orgánicos combinados fueron lavados con salmuera (100mL), secados sobre sulfato de sodio anhidro, filtrados y concentrados al vacío.

Una purificación por columna cromatográfica (éter de petróleo/acetato de etil 4:1) dio lugar a 2-etinil-5-metoxipirimidina (HDDR326/FL1462) en forma de sólido blanquecino (720mg, 87%). mp 56.2-57.2 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.01 (1H, s), 3.90 (3H, s), 8.32 (2H, s); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 56.2 (CH₃), 74.3 (CH), 81.6 (C), 143.6 (CH), 144.6 (C), 152.8 (C); HRMS (ESI+): N/A.

Ensayo de 5-etinil-2-metoxipirimidina

Estudio 1-5

Se llevó a cabo un estudio de incubación en laboratorio para determinar la eficacia de 5-etinil-2-metoxipirimidina en la inhibición de la nitrificación cuando se aplicó a una dosis de 2 kg/ha. Los procedimientos experimentales son los mismos que se describieron en el estudio 1-1.

La [figura 2-5](#) muestra la concentración de nitrato-N en el suelo en el día 30 de incubación, afectado por la aplicación al suelo de 5-etinil-2-metoxipirimidina a 2 kg/ha, ilustrando la altamente eficiente inhibición de nitrificación por parte de 5-etinil-2-metoxipirimidina, tal como se muestra por las bajas concentraciones de nitrato-N en el suelo tratado con orina + 5-etinil-2-metoxipirimidina comparada con los tratamientos control de solamente con orina o con orina + DMSO.

Estudio 2-5

Un segundo estudio de incubación en laboratorio fue llevado a cabo para determinar la eficacia de 5-etinil-2-metoxipirimidina en inhibición de nitrificación cuando se aplicó a una dosis inferior de 1 kg/ha. Los procedimientos experimentales son los mismos que se describieron en el estudio 1-1.

La [figura 3-5](#) muestra la concentración de nitrato-N en el suelo en el día 30 de incubación, afectado por la aplicación al suelo de 5-etinil-2-metoxipirimidina a 1kg/ha, ilustrando la altamente eficiente inhibición de nitrificación por parte de 5-etinil-2-metoxipirimidina, tal como se muestra por las bajas concentraciones de nitrato-N en el suelo tratado con orina + 5-etinil-2-metoxipirimidina comparada con los tratamientos control de solamente con orina o con orina + DMSO.

Ruta hacia 5-etinil-2-metoxipirimidina



Una suspensión de 5-bromo-2-metoxipirimidina (4.72g, 23.7mmol, 1eq.), etiniltrimetilsilano (4.9mL, 35.6mmol, 1.5eq), trietilamina (16.6mL, 118.5mmol, 5.0eq), dicloruro de bis(trifenilfosina)paladio (II) (832mg, 1.2mmol, 0.05eq) y yoduro de cobre (I) (451mg, 2.4mmol, 0.1eq) en tetrahidrofurano anhidro desgasificado (75mL) fue calentado a reflujo bajo argón durante 15h.

La mezcla fue enfriada a temperatura ambiente, filtrada a través de Celite®; y el filtrado fue concentrado al vacío. Purificación mediante columna cromatográfica (éter de petróleo/acetato de etil 49:1) dio lugar a 2-metoxi-5-((trimetilsilil)etil)pirimidina (**FL1457**) en forma de sólido blanquecino (3.97g, 81%), ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.24 (9H, s), 4.01 (3H, s), 8.56 (2H, s); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ -0.1 (CH₃), 55.3 (CH₃), 98.1 (C), 100.1 (C), 113.0 (CH), 161.9 (C), 164.1 (C).

Una mezcla de 2-metoxi-5-((trimetilsilil)etil)pirimidina (**FL1457**, 3.97g, 23.5mmol, 1eq) e hidróxido de potasio (1.08g, 23.5mmol, 1eq) en metanol-agua (96mL, 5:1 v/v) fue agitada a temperatura ambiente durante 30 minutos.

El metanol fue eliminado a baja presión y la mezcla bruta fue diluida con acetato de etil (200mL) y agua (200mL)

La capa acuosa separada fue extraída con acetato de etil (2 x 100mL) y los extractos orgánicos combinados fueron lavados con salmuera (200mL), secados sobre sulfato de sodio anhidro, filtrados y concentrados al vacío.

Una purificación por columna cromatográfica (éter de petróleo/acetato de etil 9:1) dio lugar a 5-etinil-2-metoxipirimidina (**/HDDR327/FL1459**) en forma de sólido blanquecino (1.07g, 34%). **mp** 82.3-83.1 °C (lit.³ mp 82°C); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.26 (1H, s), 4.01 (3H, s), 8.59 (2H, s); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 55.4 (CH₃), 77.2 (CH), 82.4 (C), 111.9 (CH), 162.1 (C), 164.4 (C); **HRMS** (ESI+): N/A.

Ensayo de 2-etinil-5-metoxipiridina

2-etinil-5-metoxipiridina es un compuesto comercialmente disponible el cual puede ser adquirido a través de muchos proveedores que pueden ser encontrados en línea utilizando (**1196155-18-6**), ver por ejemplo:

<https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/cds023940?1ang=en®ion=NZ>

Estudio 1-6

Se llevó a cabo un estudio de incubación en laboratorio para determinar la eficacia de 2-etinil-5-metoxipiridina en la inhibición de la nitrificación cuando se aplicó a una dosis de 2 kg/ha. Los procedimientos experimentales son los mismos que se describieron en el estudio 1-1.

La [figura 2-6](#) muestra la concentración de nitrato-N en el suelo en el día 30 de incubación, mostrando unas concentraciones de nitrato-N significativamente más bajas en el tratamiento con orina + (2-etinil-5-metoxipiridina disuelta en DMSO), demostrando así la capacidad de 2-etinil-5-metoxipiridina de inhibir nitrificación en el suelo a 2 kg/ha. Estos resultados muestran que cuando 2-etinil-5-metoxipiridina se aplica para tratar parches urinarios en suelo a 2 kg/ha se pueden obtener reducciones significativas en la tasa de nitrificación. En particular, 2-etinil-5-metoxipiridina a una concentración de tan solo 2 kg/ha fue más eficaz reduciendo la tasa de nitrificación que DCD a una concentración de 10 kg/ha.

Estudio 2-6

Un segundo estudio de incubación en laboratorio fue llevado a cabo para determinar la eficacia de 2-etinil-5-metoxipiridina en la inhibición de la nitrificación cuando se aplicó a una dosis inferior de 1 kg/ha. Los procedimientos experimentales son los mismos que se describieron en el estudio 1-1.

La [figura 3-6](#) muestra la concentración de nitrato-N en el suelo en el día 30 de incubación, afectado por la aplicación al suelo de 2-etinil-5-metoxipiridina a 1kg/ha, ilustrando la altamente eficiente inhibición de nitrificación por parte de 2-etinil-5-metoxipiridina, tal y como se muestra por las bajas concentraciones de nitrato-N en el suelo tratado con orina + 2-etinil-5-metoxipiridina comparada con los tratamientos control de solamente con orina o con orina + DMSO.

Estudio 3-6

Un segundo estudio de incubación en laboratorio fue llevado a cabo para determinar la eficacia de 2-etinil-5-metoxipiridina en la inhibición de la nitrificación cuando se aplicó a una dosis inferior de 0,5 kg/ha. Los procedimientos experimentales son los mismos que se describieron en el estudio 1-1.

La [figura 4-6](#) muestra la concentración de nitrato-N en el suelo en el día 30 de incubación, afectado por la aplicación al suelo de 2-etinil-5-metoxipiridina a 0,5kg/ha, ilustrando la altamente eficiente inhibición de nitrificación por parte de 2-etinil-5-metoxipiridina a una dosis de aplicación tan baja, tal como se muestra por las bajas concentraciones de nitrato-N en el suelo tratado con orina + 2-etinil-5-metoxipiridina comparada con los tratamientos control de solamente con orina o con orina + DMSO.

Estudio 4-6

Para determinar el efecto del tratamiento del suelo con 2-etinil-5-metoxipiridina sobre las emisiones de óxido nítrico bajo condiciones de suelo de campo, se llevó a cabo un estudio usando un método de cámara de gas estática. Este estudio fue llevado a cabo en la Lincoln University Research Dairy Farm, y el suelo utilizado fue un suelo franco arenoso de Templeton con pastos establecidos de riegrás perenne (*Lolium perenne*) y tréboles blancos (*Trifolium repens*). Se insertaron aros metálicos (500mm de diámetro y 200mm de altura) en la tierra. Un abrevadero situado encima de los aros metálicos permitió la colocación de cámaras estáticas localizadas encima de los abrevaderos para proporcionar un sello hermético al gas que permita el muestreo de N₂O gaseoso.

Se aplicó orina sintética con una concentración de nitrógeno de 7 gN/L a las parcelas de suelo confinadas en

los aros metálicos a una dosis equivalente a 700 kgN/ha. Se disolvieron 196,25 mg o 39,2 mg de 2-etinil-5-metoxipiridina en 2 mL de DMSO, luego fueron mezclados con 1000 mL de agua, y posteriormente pulverizados en las mini-parcelas a una dosis de 196 mg/parcela y 39,2 mg/parcela, equivalente a 10 kg/ha y 2 kg/ha, respectivamente. Las parcelas fueron irrigadas con agua de acuerdo a la práctica ganadera lechera local.

La cámara de gas (500 mm de diámetro y 120 mm de altura) fue construida a partir de un cilindro metálico aislado con espuma de poliestireno de 2.5 cm de grosor para evitar el calentamiento de la atmósfera de la cámara durante el muestreo. Durante los periodos de medida de N_2O , el borde de la cámara fue colocado dentro de un pequeño abrevadero el cual fue montado alrededor de la zona superior de cada uno de los aros metálicos para el muestreo de gases. A cada tiempo de muestreo, la cámara fue colocada encima del aro del suelo por un total de 40 minutos, y 3 muestras fueron tomadas utilizando una jeringuilla a través de un septum de goma encima de la cámara de gas, con un intervalo de 20 minutos entre ellas. Las muestras fueron tomadas dos veces por semana. Cada muestreo fue llevado a cabo durante el día, entre las 12.00h y las 14.00h (Di et al., 2007). La concentración de N_2O en las muestras fue analizada usando un cromatógrafo de gas (SRI8610C con un detector de captura de electrones (ECD) (SRI Instruments, EEUU) conectado a un automuestreador Gilson 222XL (Gilson, Francia)).

La [figura 5-6](#) muestra la eficacia de 2-etinil-5-metoxipiridina en la reducción de emisiones de N_2O -N cuando la 2-etinil-5-metoxipiridina fue pulverizada sobre la superficie del suelo de pasto en la zona que había recibido orina animal. Las emisiones de N_2O -N en suelo tratado con orina + 2-etinil-5-metoxipiridina fueron aproximadamente de un 85% inferiores a aquellas que recibieron el tratamiento control con solamente orina, cuando la 2-etinil-5-metoxipiridina fue aplicada a 10 kg/ha y 2 kg/ha. Esto muestra la eficiencia de 2-etinil-5-metoxipiridina en la reducción de emisiones de N_2O en el suelo. Las reducciones de óxido nítrico por parte de 2-etinil-5-metoxipiridina fueron mayores que las conseguidas con DCD.

El efecto de 2-etinil-5-metoxipiridina en concentraciones de nitrato y emisiones de óxido nítrico en los estudios 1-4 se muestran la tabla 1-6:

Tabla 1.6

Efecto de los nuevos inhibidores de nitrificación (IN) en concentraciones de nitrato o emisiones de óxido nítrico				
Estudio 1	Orina	Orina + 2-etinil-5-metoxipiridina (2kg/ha)	Reducción por IN	
Nitrato-N (mg N/kg suelo)	457,8	100	78%	
Estudio 2	Orina	Orina + 2-etinil-5-metoxipiridina (1kg/ha)		
Nitrato-N (mg N/kg suelo)	491,8	13,8	97%	
Estudio 3	Orina	Orina + 2-etinil-5-metoxipiridina (0,5kg/ha)		
Nitrato-N (mg N/kg suelo)	393,9	28,6	93%	
Estudio 4	Orina	Orina + 2-etinil-5-metoxipiridina (10kg/ha)		
Emisiones de N_2O (kg N_2O -N/ha)	13	2	85%	
	Orina	Orina + 2-etinil-5-metoxipiridina (2kg/ha)		
Emisiones de N_2O (kg N_2O -N/ha)	13	2	85%	

Ensayo de 5-etinil-2-metoxipiridina

Estudio 1-7

Se llevó a cabo un estudio de incubación en laboratorio para determinar la eficacia de 5-etinil-2-metoxipiridina en la inhibición de la nitrificación cuando se aplicó a una dosis de 2 kg/ha. Los procedimientos experimentales son los mismos que se describieron en el e1-1.

La [figura 2-7](#) muestra la concentración de nitrato-N en el suelo en el día 30 de incubación, afectado por la aplicación al suelo de 5-etinil-2-metoxipiridina a 2 kg/ha, ilustrando la altamente eficiente inhibición de nitrificación por parte de 5-etinil-2-metoxipiridina, tal como se muestra por las bajas concentraciones de nitrato-N en el suelo tratado con orina + 5-etinil-2-metoxipiridina comparada con los tratamientos control de solamente con orina o con orina + DMSO.

Ensayo de 1-óxido de 3-etinilpiridina

Estudio 1-8

Se llevó a cabo un estudio de incubación en laboratorio para determinar la eficacia del 1-óxido de 3-etinilpiridina en la inhibición de la nitrificación cuando se aplicó a una dosis de 2 kg/ha. Los procedimientos experimentales son los mismos que se describieron en el estudio 1-1.

La [figura 2-8](#) muestra la concentración de nitrato-N en el suelo en el día 30 de incubación, mostrando unas concentraciones de nitrato-N significativamente más bajas en el tratamiento con orina + (1-óxido de 3-etinilpiridina disuelta en DMSO), demostrando así la capacidad de 1-óxido de 3-etinilpiridina de inhibir nitrificación en el suelo a 2 kg/ha. Estos resultados muestran que cuando 1-óxido de 3-etinilpiridina se aplica para tratar parches urinarios en suelo a 2 kg/ha se pueden obtener reducciones significativas en la tasa de nitrificación. En particular, 1-óxido de 3-etinilpiridina a una concentración de tan solo 2 kg/ha fue más eficaz reduciendo la tasa de nitrificación que DCD a una concentración de 10 kg/ha.

Estudio 2-8

Un segundo estudio de incubación en laboratorio fue llevado a cabo para determinar la eficacia de 1-óxido de 3-etinilpiridina en la inhibición de la nitrificación cuando se aplicó a una dosis inferior de 1 kg/ha. Los procedimientos experimentales son los mismos que se describieron en el estudio 1-1.

La [figura 3-8](#) muestra la concentración de nitrato-N en el suelo en el día 30 de incubación, afectado por la aplicación al suelo de 1-óxido de 3-etinilpiridina a 1 kg/ha, ilustrando la altamente eficiente inhibición de nitrificación por parte 1-óxido de 3-etinilpiridina, tal como se muestra por las bajas concentraciones de nitrato-N en el suelo tratado con orina + 1-óxido de 3-etinilpiridina comparada con los tratamientos control de solamente con orina o con orina + DMSO.

Estudio 3-8

Un segundo estudio de incubación en laboratorio fue llevado a cabo para determinar la eficacia de 1-óxido de 3-etinilpiridina en la inhibición de la nitrificación cuando se aplicó a una dosis inferior de 0,5 kg/ha. Los procedimientos experimentales son los mismos que se describieron en el estudio 1-1.

La [figura 4-8](#) muestra la concentración de nitrato-N en el suelo en el día 30 de incubación, afectado por la aplicación al suelo de 1-óxido de 3-etinilpiridina a 0,5 kg/ha, ilustrando la altamente eficiente inhibición de nitrificación por parte de 1-óxido de 3-etinilpiridina a una dosis de aplicación tan baja, tal como se muestra por las bajas concentraciones de nitrato-N en el suelo tratado con orina + 1-óxido de 3-etinilpiridina comparada con los tratamientos control de solamente con orina o con orina + DMSO.

Estudio 4-8

Para determinar el efecto del tratamiento del suelo con 1-óxido de 3-etinilpiridina sobre las emisiones de óxido nitroso bajo condiciones de suelo de campo, se llevó a cabo un estudio usando un método de cámara de gas estática. Este estudio fue llevado a cabo en la Lincoln University Research Dairy Farm, y el suelo utilizado fue un suelo franco arenoso de Templeton con pastos establecidos de riegrás perenne (*Lolium perenne*) y tréboles blancos (*Trifolium repens*). Se insertaron aros metálicos (500 mm de diámetro y 200 mm de altura) en la tierra. Un abrevadero situado encima de los aros metálicos permitió la colocación de cámaras estáticas localizadas encima de los abrevaderos para proporcionar un sello hermético al gas que permita el muestreo de N₂O gaseoso.

Se aplicó orina sintética con una concentración de nitrógeno de 7 gN/L a las parcelas de suelo confinadas en los aros metálicos a una dosis equivalente a 700 kgN/ha. Se disolvieron 196,25 mg o 39,2 mg de 1-óxido de 3-etinilpiridina en 2 mL de DMSO, luego fueron mezclados con 1000mL de agua, y posteriormente pulverizados en las mini-parcelas a una dosis de 196 mg/parcela y 39,2 mg/parcela, equivalente a 10 kg/ha y 2 kg/ha, respectivamente. Las parcelas fueron irrigadas con agua de acuerdo a la práctica ganadera lechera local.

Se construyó una cámara de gas (500 mm de diámetro y 120 mm de altura) a partir de un cilindro metálico aislado con espuma de poliestireno de 2.5 cm de grosor para evitar el calentamiento de la atmósfera de la cámara durante el muestreo. Durante los periodos de medida de N₂O, el borde de la cámara fue colocado dentro de un pequeño abrevadero el cual fue montado alrededor de la zona superior de cada uno de los aros metálicos para el muestreo de gases. A cada tiempo de muestreo, la cámara fue colocada encima del aro del suelo por un total de 40 minutos, y 3 muestras fueron tomadas utilizando una jeringuilla a través de un septum de goma encima de la cámara de gas, con un intervalo de 20 minutos entre ellas. Las muestras fueron tomadas dos veces por semana. Cada muestreo fue llevado a cabo durante el día, entre las 12.00h y las 14.00h (Di et al., 2007). La concentración de N₂O en las muestras fue analizada usando un cromatógrafo de gas (SRI8610C con un detector de captura de electrones (ECD) (SRI Instruments, EEUU) conectado a un automuestreador Gilson 222XL (Gilson, Francia)).

La [figura 5-8](#) muestra la eficacia de 1-óxido de 3-etinilpiridina en la reducción de emisiones de N₂O-N cuando la 1-óxido de 3-etinilpiridina se pulverizó sobre la superficie del suelo de pasto en la zona que había recibido orina animal. Las emisiones de N₂O-N en suelo tratado con orina + 1-óxido de 3-etinilpiridina fueron aproximadamente de un 85% inferiores a aquellas que recibieron el tratamiento control con solamente orina,

cuando la 1-óxido de 3-etinilpiridina fue aplicada a 10 kg/ha y 2 kg/ha. Esto muestra la eficiencia de 1-óxido de 3-etinilpiridina en la reducción de emisiones de N_2O en el suelo. Las reducciones de óxido nítrico por parte de 1-óxido de 3-etinilpiridina fueron mayores que las conseguidas con DCD.

- 5 El efecto de 1-óxido de 3-etinilpiridina en concentraciones de nitrato y emisiones de óxido nítrico en los estudios 1-4 se muestran la tabla 1-8:

Tabla 1-8

Efecto de los nuevos inhibidores de nitrificación (IN) en concentraciones de nitrato o emisiones de óxido nítrico			
Estudio 1	Orina	Orina + 1-óxido de 3-etinilpiridina (2kg/ha)	Reducción por IN
Nitrato-N (mg N/kg suelo)	457,8	100	78%
Estudio 2	Orina	Orina + 1-óxido de 3-etinilpiridina (1kg/ha)	
Nitrato-N (mg N/kg suelo)	491,8	15,8	97%
Estudio 3	Orina	Orina + 1-óxido de 3-etinilpiridina (0,5kg/ha)	
Nitrato-N (mg N/kg suelo)	593,9	28,6	93%
Estudio 4	Orina	Orina + 1-óxido de 3-etinilpiridina (10kg/ha)	
Emisiones de N_2O (kg N_2O -N/ha)	13	2	85%
	Orina	Orina + 1-óxido de 3-etinilpiridina (2kg/ha)	
Emisiones de N_2O (kg N_2O -N/ha)	13	2	85%

Ensayo de 2,5-dietinilpiridina

Estudio 1-9

- 15 Se llevó a cabo un estudio de incubación en laboratorio para determinar la eficacia de 2,5-dietinilpiridina en la inhibición de la nitrificación cuando se aplicó a una dosis de 2 kg/ha. Los procedimientos experimentales son los mismos que se describieron en el estudio 1-1.

20 La figura 2-9 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo en el día 30 de incubación, afectado por la aplicación al suelo de 2,5-dietinilpiridina a 2 kg/ha, ilustrando la altamente eficiente inhibición de nitrificación por parte de 2,5-dietinilpiridina, tal como se muestra por las bajas concentraciones de nitrato-N en el suelo tratado con orina + 2,5-dietinilpiridina comparada con los tratamientos control de solamente con orina o con orina + DMSO.

Ensayo de 3-etinilpiridazina

3-etinilpiridazina es un compuesto comercialmente disponible el cual puede ser adquirido a través de muchos proveedores que pueden ser encontrados en línea utilizando (CAS 1017793-08-6), ver por ejemplo: https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB72570313.htm

Estudio 1-10

- 35 Se llevó a cabo un estudio de incubación en laboratorio para determinar la eficacia de 3-etinilpiridazina en la inhibición de la nitrificación cuando se aplicó a una dosis de 2 kg/ha. Los procedimientos experimentales son los mismos que se describieron en el estudio 1-1.

40 La figura 2-10 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo en el día 30 de incubación, mostrando unas concentraciones de nitrato-N significativamente más bajas en el tratamiento con orina + (3-etinilpiridazina disuelta en DMSO), demostrando así la capacidad de 3-etinilpiridazina de inhibir la nitrificación en el suelo a 2kg/ha. Estos resultados muestran que cuando se aplica 3-etinilpiridazina para tratar parches urinarios en suelo a 2 kg/ha se pueden obtener reducciones significativas en la tasa de nitrificación. En particular, 3-etinilpiridazina a una concentración de tan solo 2 kg/ha fue más eficaz reduciendo la tasa de nitrificación que DCD a una concentración de 10 kg/ha.

Estudio 2-10

- 45 Un segundo estudio de incubación en laboratorio fue llevado a cabo para determinar la eficacia de 3-etinilpiridazina en la inhibición de la nitrificación cuando se aplicó a una dosis inferior de 1 kg/ha. Los procedimientos experimentales son los mismos que se describieron en el estudio 1-1.

50 La figura 3-10 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo en el día 30 de incubación, afectado por la aplicación al suelo de 3-etinilpiridazina a 1 kg/ha, ilustrando la altamente eficiente inhibición de nitrificación por parte de 3-etinilpiridazina, tal como se muestra por las bajas concentraciones de nitrato-N en el suelo tratado con orina + 3-etinilpiridazina comparada con los tratamientos control de solamente con orina o con orina + DMSO.

Estudio 3-10

Un tercer estudio de incubación en laboratorio fue llevado a cabo para determinar la eficacia de 3-etinilpiridazina en la inhibición de la nitrificación cuando se aplicó a una dosis inferior de 0,5 kg/ha. Los procedimientos experimentales son los mismos que se describieron en el estudio 1-1.

La [figura 4-10](#) muestra la concentración de nitrato-N en el suelo en el día 30 de incubación, afectado por la aplicación al suelo de 3-etinilpiridazina a 0,5 kg/ha, ilustrando la altamente eficiente inhibición de nitrificación por parte de 3-etinilpiridazina a una dosis de aplicación tan baja, tal como se muestra por las bajas concentraciones de nitrato-N en el suelo tratado con orina + 3-etinilpiridazina comparada con los tratamientos control de solamente con orina o con orina + DMSO.

El efecto de 3-etinilpiridazina en concentraciones de nitrato y emisiones de óxido nitroso en los estudios 1-3 se muestran la tabla 1-10:

Tabla 1-10

Efecto de los nuevos inhibidores de nitrificación (IN) en concentraciones de nitrato en suelo				
Estudio 1	Orina	Orina + 3-etinilpiridazina (2kg/ha)	%reducción por IN	
Nitrato-N (mg N/kg suelo)	197,2	10,5	95%	
Estudio 2	Orina	Orina + 3-etinilpiridazina (1kg/ha)	%reducción por IN	
Nitrato-N (mg N/kg suelo)	491,8	10,5	98%	
Estudio 3	Orina	Orina + 3-etinilpiridazina (0,5kg/ha)	%reducción por IN	
Nitrato-N (mg N/kg suelo)	393,9	35,5	91%	

Ensayo de 3-etinil-6-metoxipiridazina**Estudio 1-11**

Se llevó a cabo un estudio de incubación en laboratorio para determinar la eficacia de 3-etinil-6-metoxipiridazina en la inhibición de la nitrificación cuando se aplicó a una dosis de 2 kg/ha y 1 kg/ha. Los procedimientos experimentales son los mismos que se describieron en el estudio 1-1.

La [figura 2-11](#) muestra la concentración de nitrato-N en el suelo en el día 30 de incubación, afectado por la aplicación al suelo de 3-etinil-6-metoxipiridazina a 2 kg/ha o 1 kg/ha, ilustrando la altamente eficiente inhibición de nitrificación por parte de 3-etinil-6-metoxipiridazina, tal como se muestra por las bajas concentraciones de nitrato-N en el suelo tratado con orina + 3-etinil-6-metoxipiridazina comparada con los tratamientos control de solamente con orina o con orina + DMSO.

Ruta hacia 3-etinil-6-metoxipiridazina

Una suspensión de 3-bromo-6-metoxipiridazina (3.00g, 15.9mmol, 1eq.), etiniltrimeilsilano (3.3mL, 23.8mmol, 1.5eq), trietilamina (11.1mL, 79.4mmol, 5.0eq), dicloruro de bis(trifenilfosina)paladio (II) (557mg, 0.79mmol, 0.05eq) y yoduro de cobre (I) (303mg, 1.6mmol, 0.1eq) en tetrahidrofurano anhidro desgasificado (50mL) fue calentada a reflujo bajo argón durante 18h.

La mezcla fue enfriada a temperatura ambiente, filtrada a través de Celite®; y el filtrado fue concentrado al vacío.

Purificación mediante columna cromatográfica (éter de petróleo/acetato de etil 19:1) dio lugar a 3-metoxi-6-((trimetilsilil)etinil)piridazina (**FL1521**) en forma de sólido marrón (560mg, 17%), ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.26 (9H, s), 4.13 (3H, s), 6.89 (1H, d, J = 9.3 Hz), 7.42 (1H, d, J = 8.8Hz); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ -0.2 (CH₃), 55.1 (CH₃), 98.4 (C), 100.8 (C), 116.6 (CH), 132.6 (CH), 143.5 (C), 163.5 (C).

Una mezcla de 3-metoxi-6-((trimetilsilil)etinil)piridazina (**FL1521**, 560mg, 2.7mmol, 1eq) y carbonato de potasio (750mg, 5.4mmol, 2eq) en dietil éter-metanol (13.5mL, 4:1 v/v) fue agitada a temperatura ambiente durante 2 horas.

La mezcla fue filtrada y el filtrado fue diluido con dietil éter (50mL) y solución acuosa de cloruro de amonio

saturada (50mL).

La capa acuosa separada fue extraída con dietil éter (2 x 30mL) y los extractos orgánicos combinados fueron secados sobre sulfato de sodio anhidro, filtrados y concentrados al vacío.

Una purificación por columna cromatográfica (hexanos/acetato de etil 19:1) dio lugar a 3-etinil-6-metoxipiridazina (/HDDR325/FL1525) en forma de sólido marrón (260 mg, 71%). **mp** 51.7-53.1 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.29 (1H, s), 4.12 (3H, s), 6.91 (1H, d, *J* = 9.4 Hz), 7.44 (1H, d, *J* = 9.4 Hz); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 55.2 (CH₃), 80.0 (C), 80.3 (CH), 116.6 (CH), 132.6 (CH), 142.7 (C), 163.8 (C); **HRMS** (ESI+): [M+Na]⁺ calculada para C₇H₆N₂NaO, 157.0372; bibliografiada, 157.0374.

Ensayo de 2-etinilpirazina

Estudio 1-12

Se llevó a cabo un estudio de incubación en laboratorio para determinar la eficacia de la 2-etinilpirazina en la inhibición de la nitrificación cuando se aplicó a una dosis de 2 kg/ha. Los procedimientos experimentales son los mismos que se describieron en el estudio 1-1.

La [figura 2-12](#) muestra la concentración de nitrato-N en el suelo en el día 30 de incubación, mostrando unas concentraciones de nitrato-N significativamente más bajas en el tratamiento con orina + (2-etinilpirazina disuelta en DMSO), demostrando así la capacidad de 2-etinilpirazina de inhibir la nitrificación en el suelo a 2 kg/ha. Estos resultados muestran que cuando se aplica 2-etinilpirazina para tratar parches urinarios en suelo a 2 kg/ha se pueden obtener reducciones significativas en la tasa de nitrificación. En particular, 2-etinilpirazina a una concentración de tan solo 2 kg/ha fue más eficaz reduciendo la tasa de nitrificación que DCD a una concentración de 10 kg/ha.

Ensayo de 2-etinil-5-metoxipirazina

Estudio 1-13

Se llevó a cabo un estudio de incubación en laboratorio para determinar la eficacia de 2-etinil-5-metoxipirazina en la inhibición de la nitrificación cuando se aplicó a una dosis de 2 kg/ha y 1 kg/ha. Los procedimientos experimentales son los mismos que se describieron en el estudio 1-1.

La [figura 2-13](#) muestra la concentración de nitrato-N en el suelo en el día 30 de incubación, afectado por la aplicación al suelo de 2-etinil-5-metoxipirazina a 2kg/ha o 1kg/ha, ilustrando la altamente eficiente inhibición de nitrificación por parte de 2-etinil-5-metoxipirazina, tal y como se muestra por las bajas concentraciones de nitrato-N en el suelo tratado con orina + 2-etinil-5-metoxipirazina comparada con los tratamientos control de solamente con orina o con orina + DMSO.

Ruta hacia la síntesis de 2-etinil-5-metoxipirazina



Una suspensión de 2-bromo-5-metoxipirazina (410 mg, 2.2 mmol, 1.0 eq), etiniltrimeilsilano (0.5 ml, 3.3 mmol, 1.5 eq), trietilamina (1.5 ml, 11.0 mmol, 5.0 eq), dicloruro de bis(trifenilfosina)paladio (II) (76 mg, 0.11 mmol, 0.05 eq) y yoduro de cobre (I) (41 mg, 0.22 mmol, 0.1 eq) en tetrahidrofurano anhidro desgasificado (8mL) fue calentada a reflujo bajo argón durante 1h.

La mezcla fue enfriada a temperatura ambiente, filtrada a través de Celite®; y el filtrado fue concentrado al vacío. Purificación mediante columna cromatográfica (hexanos/acetato de etil 49:1) dio lugar a 2-metoxi-((trimetilsilil)etinil)pirazina (FL1528) en forma de líquido amarillo pálido (295 mg, 66%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.27 (9H, s), 3.97 (3H, s), 8.16 (1H, d, *J* = 1.5 Hz), 8.22 (1H, d, *J* = 1.5 Hz); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ -0.1 (CH₃), 54.1 (CH₃), 96.8 (C), 100.9 (C), 131.5 (C), 135.6 (CH), 144.4 (CH), 159.3 (C).

Una mezcla de 2-metoxi-5-((trimetilsilil)etinil)pirazina (FL1528, 295 mg, 1.4 mmol, 1.0eq) y carbonato de potasio (395 mg, 2.8 mmol, 2.0 eq) en dietil éter-metanol (10mL, 4:1 v/v) fue agitada a temperatura ambiente durante 3 horas.

La mezcla fue filtrada y el filtrado fue diluido con dietil éter (30mL) y solución acuosa de cloruro de amonio saturada (30mL).

La capa acuosa separada fue extraída con dietil éter (2 x 15mL) y los extractos orgánicos combinados fueron secados sobre sulfato de sodio anhidro, filtrados y concentrados al vacío.

- 5 Una purificación por columna cromatográfica (n-pentano/dietil éter 49:1) dio lugar a 2-etinil-5-metoxipirazina (/HDDR328/FL1530) en forma de sólido blanco (140 mg, 73%). mp 41.3-42.7 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.20 (1H, s), 3.96 (3H, s), 8.16 (1H, d, J = 1.4 Hz), 8.24 (1H, d, J = 1.4 Hz); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 54.1 (CH₃), 79.0 (CH), 80.1 (C), 130.6 (C), 135.8 (CH), 144.5 (CH), 159.5 (C); HRMS (ESI+): N/A.

10 **Ensayo de 4-etinilanol**

Las figuras 2-14 muestran que cuando se aplicó 4-etinilanol en un amplio rango de concentraciones en análisis *in vitro*, en particular de 1,56 µM a 400 µM, la tasa de producción de nitrito de *Nitrosomonas europaea* se redujo significativamente, indicando una inhibición eficaz del proceso de nitrificación por parte de 4-etinilanol. La lectura de la OD₅₁₉ (densidad óptica a 519 nanómetros) es un indicador de la concentración de nitrito en el líquido analizado; a mayor resultado, mayor es la concentración de nitrito.

- 15 - La concentración mínima inhibitoria (CMI) de la producción de nitrito por parte de 4-etinilanol se determinó que era 25-50 µM. La IC₅₀ (la concentración del inhibidor a la cual la producción de nitrito se reduce a la mitad) se determinó que era un valor muy bajo, de 2,4 µM, demostrando la gran potencia de 4-etinilanol para la nitrificación.

20 **Estudio 1-14**

- 25 Se llevaron a cabo estudios de incubación en laboratorio para determinar la eficacia de 4-etinilanol inhibiendo la nitrificación en el suelo. Un suelo franco arenoso de Templeton fue utilizado en este experimento. 500 gramos de suelo (considerado en seco) fueron envasados en un recipiente. 50 mL de orina sintética de vaca con una concentración de N de 7 gN/L (comprendiendo aproximadamente un 87% de N de urea y un 13 % de N de glicina) fue aplicada al suelo (equivalente a 700 kgN/ha (p/p), asumiendo una densidad de 1g/ cm³ en los 10cm superiores de suelo). La aplicación de 700 kgN/ha fue usada para estimular la tasa de aplicación de nitrógeno de la orina bajo un parche urinario de una vaca lechar típica en un pasto. Se aplicó 4-etinilanol disuelto en DMSO al suelo en un rango de dosis: 0, 2, 5, 10 y 20 kg/ha. Los tratamientos control que se añadieron fueron:

- 35 - solamente orina (50 mL);
- DMSO (equivalente a 0,9 mL/500g de suelo) + orina (50mL) para determinar el efecto del DMSO en la tasa de nitrificación;
- 40 - solamente agua (50 mL) (simulando zonas de suelo donde no se ha depositado orina).

Los tratamientos de orina, agua, DMSO y 4-etinilanol fueron aplicados a la superficie del suelo, el cual fue mezclado a conciencia. Los recipientes fueron cubiertos con tapas con agujeros para permitir el intercambio de gases durante la incubación. Los recipientes fueron incubados a 12 °C. Se mantuvo el contenido de humedad del suelo a capacidad de campo ajustando en base al peso dos veces por semana.

Se recogieron muestras de suelo, las cuales fueron mezcladas a conciencia y de las cuales se extrajeron submuestras en una solución de cloruro de potasio para analizar para nitrógeno mineral. Se determinó también el contenido de humedad del suelo. Las muestras fueron recogidas en los días 1, 14 y 30.

La figura 3-14 muestra los cambios en la concentración en el tiempo del N-nitrato en el suelo según los diferentes tratamientos, mostrando inhibición significativa de la producción de nitrato en el suelo por parte de 4-etinilanol en un rango de dosis.

La figura 4-14 muestra la concentración de N-nitrato en el suelo en el día 30 de incubación, mostrando una concentración de N-nitrato significativamente baja en los tratamientos con orina + 4-etinilanol, demostrando así la capacidad del 4-etinilanol de inhibir la nitrificación en el suelo en un rango de dosis. Estos resultados muestran que cuando se aplica 4-etinilanol para tratar parches urinarios en un rango de dosis, de 2 a 20 kg/ha, se pueden conseguir reducciones significativas en la tasa de nitrificación. La tasa de aplicación requerida real dependerá del porcentaje de reducción de inhibición de nitrificación deseado y el coste de 4-etinilanol.

60 **Estudio 2-14**

Para determinar el efecto del tratamiento del suelo con 4-etinilanol con respecto a la tasa de nitrificación y las emisiones de óxido nitroso, se llevaron a cabo estudios de columnas de suelo con cámaras de gas

estáticas. El experimento fue llevado a cabo en contenedores cilíndricos de PVR (diámetro = 186 mm, altura = 240 mm). Los contenedores se llenaron con suelo hasta la mitad de la altura del contenedor (120 mm), dejando 120 mm libres arriba. El suelo utilizado fue un suelo franco arenoso de Templeton, recogido de la Lincoln University Research Dairy Farm. Se realizó un cribado utilizando un tamiz de 5 mm, se secó al aire hasta alcanzar los niveles de humedad requeridos y se empaquetó a una densidad a granel de 1 g/ cm³.

El experimento fue llevado a cabo bajo condiciones controladas. La temperatura de las columnas de suelo fue mantenida a unos 12°C utilizando un baño de agua para controlar la temperatura.

Los tratamientos incluyeron control (agua), control (orina animal), control (orina + DMSO), control (orina + DCD a 10 kg/ha) y orina + 4-etinilanol (10 kg/ha) en DMSO. Se aplicó orina sintética de vaca a 700 kgN/ha (comprendiendo aproximadamente un 87% de N de urea y un 13% de N de glicina) y 4-etinilanol a 10 kg/ha. Hubo dos series de núcleos para cada tratamiento, una serie fue introducida en las cámaras de gas estáticas con tapas desmontables para el muestreo de óxido nitroso, y la otra serie fue utilizada para el muestreo de suelo. La orina fue pulverizada sobre la superficie del suelo simulando una deposición de orina por parte de un animal de pastoreo; DMSO, DCD o 4-etinilanol mezclado con DMSO fue también pulverizado sobre los suelos tratados con orina para simular el tratamiento de parches urinarios. Estos tratamientos fueron seguidos de la medición de óxido nitroso gaseoso, tal y como se describe a continuación.

Los diferentes tratamientos fueron mezclados con el suelo para el muestreo del mismo, en aquellas columnas de suelo que se habían preparado para dicho muestreo para el análisis de nitrógeno mineral. La humedad del suelo se mantuvo al 100% de la capacidad de campo (FC) y mantenida entre el 80 y el 100% de la FC durante la duración del experimento.

El muestreo de óxido nitroso (N₂O) gaseoso fue llevado a cabo dos veces por semana utilizando el procedimiento estándar (Di et al., 2007). Los viales fueron evacuados antes del muestreo. Se tomaron tres muestras de gas con intervalos de 20 minutos entre muestra. La frecuencia del muestreo fue reducida a una vez por semana cuando los flujos de N₂O se redujeron en intensidad.

El muestreo del suelo fue llevado a cabo en los días 1, 7, 14, 30 y 60. Se analizó el nitrógeno mineral en las muestras de suelo.

La [figura 5-14](#) muestra la concentración de nitrato en el suelo al final de un proceso de 60 días de incubación, mostrando una concentración de nitrato-N significativamente inferior en los tratamientos con orina + 4-etinilanol, demostrando así la capacidad del 4-etinilanol de inhibir la nitrificación en el suelo. La [figura 5-15](#) muestra que 4-etinilanol fue mucho más potente que DCD inhibiendo la producción de nitrato a partir de orina, inhibiendo el proceso de nitrificación. El DMSO no resultó en una reducción estadísticamente significativa en la concentración de nitrato comparado con el tratamiento solamente con orina ($P > 0.05$).

La [figura 6-14](#) muestra la eficacia de 4-etinilanol en la reducción de emisiones de óxido nitroso (N₂O-N) cuando 4-etinilanol fue pulverizado sobre la superficie del suelo que había recibido orina animal. Las emisiones de N₂O-N en suelo tratado con orina + 4-etinilanol fueron un 93.3% inferiores a aquellas que recibieron el tratamiento control con solamente orina. Esto muestra la eficiencia de 4-etinilanol en la reducción de emisiones de N₂O en el suelo. Las reducciones de óxido nitroso por parte de 4-etinilanol (93.3%) fueron mucho mayores que las conseguidas con DCD, la cual resultó en una reducción en emisiones de N₂O de 43.4%.

Estudio 3-14

Para determinar el efecto del tratamiento del suelo con 4-etinilanol a dosis bajas, por ejemplo de 1 kg/ha y 2 kg/ha, se llevaron a cabo estudios de columnas de suelo. El experimento fue llevado a cabo en contenedores cilíndricos de PVR (diámetro = 186 mm, altura = 240 mm). Los contenedores se llenaron con suelo hasta la mitad de la altura del contenedor (120 mm), dejando 120 mm libres arriba. El suelo utilizado fue un suelo franco arenoso de Templeton, recogido de la Lincoln University Research Dairy Farm. Se realizó un cribado utilizando un tamiz de 5 mm, se secó al aire hasta alcanzar los niveles de humedad requeridos y se empaquetó a una densidad a granel de 1 g/ cm³.

El experimento fue llevado a cabo bajo condiciones controladas. La temperatura de las columnas de suelo fue mantenida a unos 12 °C utilizando un baño de agua para controlar la temperatura.

Los tratamientos incluyeron control (agua), control (orina animal), control (orina + DMSO), control (orina + DCD a 10 kg/ha) y orina + 4-etinilanol (1 kg/ha) en DMSO. Se aplicó orina sintética de vaca a 700 kgN/ha (comprendiendo aproximadamente un 87 % de N de urea y un 13 % de N de glicina) y 4-etinilanol a 1 kg/ha o 2 kg/ha. Los tratamientos fueron mezclados con el suelo. La humedad del suelo se mantuvo al 100 % de la capacidad de campo (FC) y mantenida entre el 80 y el 100 % de la FC durante la duración del experimento. El muestreo del suelo fue llevado a cabo en los días 1, 7, 14, 30 y 60. Se analizó el nitrógeno mineral en las

muestras de suelo.

La [figura 7-14](#) muestra la concentración de nitrato en el día 60 de incubación, mostrando una concentración de nitrato-N significativamente inferior en los tratamientos con orina + 4-etinilanol a 1 o 2 kg/ha, demostrando así la capacidad del 4-etinilanol de inhibir la nitrificación en el suelo a dosis bajas. La figura muestra que 4-etinilanol aplicado a 1 kg/ha o 2 kg/ha fue mucho más potente que DCD a una dosis superior de 10kg/ha inhibiendo la producción de nitrato a través de inhibir el proceso de nitrificación.

Estudio 4-14

Adicionalmente, los inventores también han determinado que 4-etinilanol inhibe el consumo de oxígeno del metabolismo basado en el amonio, pero no ocurre lo mismo con el metabolismo basado en hidroxilamina (ver figura 1).

Para comenzar a comprender el mecanismo de acción del 4-etinilanol, se midió la tasa de consumo de oxígeno utilizando un "Oroborus oxygraphy-2k" (Oroborus Instruments). Antes del experimento, se cultivaron células de *N. europaea* en medio ATCC 2265 durante 4 días. Tras este tiempo, las células de *N. europaea* fueron extensamente lavadas tal como se describió anteriormente y resuspendidas en un tampón de lavado de ATCC 2265 (sin amonio) para obtener una OD₆₀₀ de 0,25. Antes de empezar cada experimento con la adición de una fuente de energía metabolizable (amonio o hidroxilamina), se equilibró la concentración de oxígeno en la suspensión del ensayo (2 ml de células a una OD₆₀₀ de 0,25) durante 2-3 minutos con aire hasta que se obtuvo una señal estable. Bajo condiciones experimentales normales esto normalmente obtendría una concentración de oxígeno de aproximadamente 220 µM. Después de que la concentración de oxígeno se hubiese estabilizado en las celdas de reacción del Oroborus oxygraphy-2k, se insertaron tapones de goma para asegurar el cierre del sistema. Para iniciar la respiración se inyectó sulfato de amonio (12,5 mM) o hidroxilamina (6,25 mM) directamente en la suspensión de células de *N. europaea*. Una vez se consiguió una tasa de consumo de oxígeno constante en presencia de amonio o hidroxilamina, según correspondiera, se inyectó 4-etinilanol a través de los tapones de goma a las concentraciones indicadas. Todas las medidas fueron realizadas a 25 °C con una agitación a 750 rpm y una recogida de datos en el intervalo de 1 s⁻¹.

La [figura 8A-14](#) muestra que el consumo de oxígeno dependiente del amonio fue reducido a cero en la presencia de 4-etinilanol, mientras que el consumo de oxígeno dependiente de la hidroxilamina (H₂NO) no fue afectado por 4-etinilanol ([figura 8B-14](#)), indicando que la enzima amonio monooxigenasa (AMO) de las bacterias oxidantes de amonio es potencialmente la diana de inhibición de 4-etinilanol y no la hidroxilamina oxidorreductasa (ver ecuaciones 2 y 3 arriba).

Estudio 5-14

Además, los inventores han determinado que el 4-etinilanol no inhibe ninguna otra bacteria encontrada en el suelo.

Para determinar si 4-etinilanol se dirige específicamente a las bacterias oxidantes de amonio *N. europaea*, examinamos las propiedades antimicrobianas de 4-etinilanol ante especies bacterianas concretas. Las bacterias fueron cultivadas de forma rutinaria en caldo de Lisogenia (LB) (*E. coli* y *B. subtilis*), LB-Tween (*M. smegmatis*) o medio definido para Rhizobium (G RDM) (*M. loti* R7A). *E. coli*, *B. subtilis* y *M. smegmatis* fueron cultivados durante la noche (18h) a 37°C con agitación (200rpm), mientras que *M. loti* R7A fue cultivado durante 48h a 28°C de forma estática. Se utilizaron placas microtiter de 96 pocillos para el ensayo de susceptibilidad antimicrobiana, el cual fue configurado de la siguiente manera: 200 µl de medio (o tanto como fuera apropiado) fueron añadidos a la columna 1 (A-H) y 100 µl de media fue añadido a los pocillos restantes de la placa de poliestireno de 96 pocillos. Se añadió 4-etinilanol a la columna 1 a una concentración de 512 µM (o tal y como se requiriese) y se fue diluyendo a la mitad (transferencia de 100 µl) a los pocillos vecinos, asegurándose de descartar 100 µl del último pocillo. Así se obtuvo una dilución en serie de cada compuesto. Los cultivos de bacterias que habían crecido por la noche fueron diluidos en medio fresco antes de añadir 100 µl de cultivo a cada uno de los pocillos de la placa, para obtener un valor de CFU/ml de ~5·10⁵ en la placa del MIC. Las placas fueron incubadas a 37°C o 28°C y con o sin agitación, según requerido durante 18-48h antes de determinar el MIC; este fue determinado como la concentración más baja a la cual no hubo crecimiento.

Los resultados mostraron que 4-etinilanol no inhibió otras bacterias del suelo, como *Mycobacterium smegmatis*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* y *Mesorhizobium loti* R7A a concentraciones de 4-etinilanol usadas en suelo para inhibir la nitrificación para reducir la lixiviación de nitrato y reducir emisiones de óxido nítrico.

Ensayo de 1-etoxi-4-etinilbenceno**Estudio 1-15**

5 Se llevó a cabo un estudio de incubación en laboratorio para determinar la eficacia del 1-etoxi-4-etinilbenceno en la inhibición de la nitrificación cuando se aplicó a una dosis de 2 kg/ha. Los procedimientos experimentales son los mismos que se describieron en el estudio 1-1.

10 La figura 2-15 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo en el día 30 de incubación, mostrando unas concentraciones de nitrato-N significativamente más bajas en el tratamiento con orina + (1-etoxi-4-etinilbenceno disuelto en DMSO), demostrando así la capacidad de 1-etoxi-4-etinilbenceno de inhibir la nitrificación en el suelo a 2 kg/ha. Estos resultados muestran que cuando se aplica 1-etoxi-4-etinilbenceno para tratar parches urinarios en suelo a 2 kg/ha se pueden obtener reducciones significativas en la tasa de nitrificación. En particular, 1-etoxi-4-etinilbenceno a una concentración de tan solo 2 kg/ha fue más efectivo
15 reduciendo la tasa de nitrificación que DCD a una concentración de 10 kg/ha.

Ensayo de 1,4-dietinilbenceno**Estudio 1-16**

20 Se llevó a cabo un estudio de incubación en laboratorio para determinar la eficacia del 1,4-dietinilbenceno en la inhibición de la nitrificación cuando se aplicó a una dosis de 2 kg/ha. Los procedimientos experimentales son los mismos que se describieron en el estudio 1-1.

25 La figura 2-16 muestra la concentración de nitrato-N en el suelo en el día 30 de incubación, mostrando unas concentraciones de nitrato-N significativamente más bajas en el tratamiento con orina + (1,4-dietinilbenceno disuelto en DMSO), demostrando así la capacidad de 1,4-dietinilbenceno de inhibir nitrificación en el suelo a 2 kg/ha. Estos resultados muestran que cuando 1,4-dietinilbenceno se aplica para tratar parches urinarios en
30 suelo a 2 kg/ha se pueden obtener reducciones significativas en la tasa de nitrificación. En particular, 1,4-dietinilbenceno a una concentración de tan solo 2 kg/ha fue más eficaz reduciendo la tasa de nitrificación que DCD a una concentración de 10 kg/ha.

DESCRIPCIÓN ADICIONAL DE LA INVENCION Y FORMAS EN LAS QUE SE PUEDE IMPLEMENTAR

35 La preparación de un NNI según la presente invención puede implicar el empaquetamiento a granel o en recipientes de transporte en el lugar de fabricación.

Adicionalmente, el NNI puede ser empaquetado en una cantidad correspondiente a la dosis requerida para un tamaño particular del área de aplicación. Por ejemplo, g/m² o kg/ha.

40 En algunas realizaciones, los recipientes de almacenamiento/transporte pueden incluir cantidades en kg/ha (u otras cantidades superiores a 200 g) con instrucciones sobre cómo aplicar el producto a un área de tierra/plantas. Las instrucciones pueden incluir información sobre la cantidad/tipo de disolvente/soluto para conseguir la dosis y el método preferidos de aplicación.

45 La cantidad para uso urbano puede ser vendida generalmente en cantidades de 200 g para áreas de aproximadamente medio acre (sobre unos 2023 m²) o más pequeñas. Por ejemplo, vender dichas cantidades puede ser útil para áreas con césped como por ejemplo parques, los cuales requieren la aplicación de fertilizantes de nitrógeno durante ciertos periodos del año.

50 El NNI puede ser vendido en bolsas o contenedores disolubles para su facilidad a la hora de la preparación. La invención también se puede considerar que consiste a grandes rasgos en las partes, elementos y características indicadas o referidas en la descripción de la aplicación, de forma individual o en conjunto, en cualquiera o todas las combinaciones de dos o más de dichas partes, elementos o características.

55 De manera importante, los inventores han descubierto que el NNI puede ser aplicado al suelo utilizando un medio acuoso (como agua, DMSO o efluente) como portador en el cual el inhibidor de nitrificación se encuentra disuelto y/o suspendido. Por ejemplo, el NNI puede ser simplemente pulverizado en la superficie del suelo la cual ha recibido o recibirá orina animal, o añadido a una corriente de líquido en movimiento para
60 aplicar al suelo.

De manera alternativa, el NNI puede ser mezclado con un fertilizante de nitrógeno o recubierto sobre un fertilizante de nitrógeno, tal como se conoce en el estado de la técnica, y a continuación aplicado de forma simultánea al suelo.

65 De manera alternativa, en otro ejemplo, el NNI puede ser añadido en bolsas disolubles que contienen una

dosis en kg/ha para una adición de una fuente de agua como por ejemplo un sistema de irrigación o un estanque de efluente, mezclado con una bomba y entonces aplicado cuando el estanque se use para irrigar las tierras de cultivo.

5 Por tanto, el NNI aquí descrito realmente representa una alternativa al DCD, que es uno de los inhibidores de nitrificación más conocidos y utilizados comercialmente en todo el mundo.

El suelo puede ser tratado (impregnado) con un NNI de cualquier manera que sea conveniente, siempre teniendo en cuenta las propiedades del NNI en particular y del área a tratar.

10 Por ejemplo, dependiendo de las propiedades de un NNI (o de una formulación que contiene un NNI), puede ser:

- 15 - mezclado mecánicamente con la capa superior del suelo;
- aplicado a la superficie del suelo;
- aplicado a la superficie del suelo y a continuación introducido o mezclado físicamente con la capa superior del suelo (por ejemplo arado/picado o de otra forma movido/mezclado con el suelo o mediante irrigación de agua);
- 20 - recubierto en gránulos de fertilizante y aplicado simultáneamente al suelo/pasto;
- pulverizado directamente sobre el suelo a tratar;
- 25 - introducido en un sistema de irrigación de agua;
- granulado y aplicado a un área de la tierra a través de una tolva terrestre o aérea o similares;
- 30 - aplicando de forma específica el inhibidor o los inhibidores de nitrificación a un parche urinario, o a una zona específica de suelo (por ejemplo un potrero) poco tiempo después de que los animales pasten allí como parte de un programa de pastoreo rotacional.

35 Sin embargo, la lista anterior de cómo se puede aplicar el NNI para tratar el suelo no debería ser vista ni tratada como limitante.

A modo de ejemplo, si un NNI se aplicase directamente a un pasto, se corta la hierba o se pastorea para obtener una altura media de alrededor de 40 a 50 mm. Posteriormente, el pasto tratado requiere lluvia o irrigación, idealmente en menos de 24-48 horas, para lavar el NNI de la hierba y de la capa superior del suelo.

VENTAJAS DE LA PRESENTE INVENCION TAMBIÉN PUEDEN INCLUIR UNA O MÁS DE LAS SIGUIENTES:

- 45 - fácil de preparar y manejar
- proporciona un inhibidor de nitrificación alternativo al DCD;
- capacidad para ser formulado en forma de solución o suspensión para su pulverización directa sobre suelo y/o plantas;
- 50 - mayor eficacia de nitrificación sobre DCD a dosis (kg/ha) significativamente inferiores;
- capacidad para ser aplicado simultáneamente con fertilizantes;
- 55 - capacidad para ser aplicado simultáneamente con irrigación de agua;
- capacidad para ser aplicado simultáneamente con efluentes;
- 60 - capacidad para variar las dosis con el objetivo de cumplir ciertos objetivos regulatorios en relación a la lixiviación de nitrato o las emisiones de óxido nitroso;
- capacidad para reducir las dosis y ser aún al menos igual de eficaz que el DCD;
- 65 - capacidad para reducir las emisiones de N₂O más que el DCD;

- capacidad para reducir la lixiviación de NO_3^- más que el DCD;
- capacidad para ser aplicado a través de un portador acuoso;
- 5 - capacidad para ser aplicado con un vehículo pulverizador agrícola o un robot autónomo;
- capacidad para ser granulado y aplicado con una tolva;
- capacidad para ser mezclado con el suelo a través de medios mecánicos;
- 10 - capacidad para recubrir gránulos de fertilizantes;

Debe tenerse en cuenta que la lista anterior no pretende ser limitante, ya que pueden existir otras ventajas inherentes a la presente invención y a aspectos de la misma detallados en la presente solicitud.

15 REFERENCIAS

20 Dai, Y., Di, H.J., Cameron, K.C. and He, J.Z. (2013). Effects of nitrogen application rate and a nitrification inhibitor dicyandiamide on ammonia oxidizers and N_2O emissions in a grazed pasture soil. Science of the Total Environment. 465: 125-135.

Di, Hong Jie and Cameron, Keith C. (2016). Inhibition of nitrification to mitigate nitrate leaching and nitrous oxide emissions in grazed grassland: a review. J Soils Sediments (2016) 16:1401-1420.

25 Di H.J., Cameron KC (2002) The use of a nitrification inhibitor, dicyandiamide (DCD), to reduce nitrate leaching and nitrous oxide emissions in a simulated grazed and irrigated grassland. Soil Use Manag 18:395-403.

30 Di, H. J., Cameron, K.C. and R.R. Sherlock (2007). Comparison of the effectiveness of a nitrification inhibitor, dicyandiamide (DCD) in reducing nitrous oxide emissions in four different soils under different climatic and management conditions. Soil Use and Management 23: 1-9.

35 De Klein, C., Cameron, K.C., Di, H.J., Rys, G., Monaghan, R. and Sherlock, R.R. (2011). The effect of long-term use of the nitrification inhibitor DCD on reducing N_2O emissions from cow urine. Animal Feed Science and Technology 166- 167, 480- 491.

Griess, P. (1879). Bemerkungen zu der abhandlung der H.H. Weselsky und Benedikt "Lieber einige azoverbindungen." Chem. Ber. 12,426-8.

40 Tisdale, Samuel L.; Nelson, Werner L.; Beaton, James D. (1985), Soil fertility and fertilizers, New York: Macmillan, pp. 161-168, ISBN 0-02-420830-2

REIVINDICACIONES

1. Uso del compuesto de fórmula 1:



5

como inhibidor de la nitrificación;

- 10 - donde X^1 y $X^5 = N$, X^2 y $X^4 = CH$, y $X^3 = C-R$; donde R se selecciona entre H y OMe; o
- donde X^1 y $X^5 = CH$, X^2 y $X^4 = N$, y $X^3 = C-R$, donde R se selecciona entre H y OMe; o
- donde X^1 y $X^3 = N$, y X^2 , X^4 y $X^5 = CH$;
- 15 - donde X^1 , X^4 y $X^5 = CH$, X^2 se selecciona entre N y N=O, y donde $X^3 = C-R$; y donde si X^2 es N=O, R es H; y donde si X^2 es N entonces R es OMe; o
- donde $X^1 = N$, X^2 , X^4 y $X^5 = CH$ y $X^3 = C-R$; donde R es OMe;
- 20 - donde X^1 y $X^2 = N$, $X^3 = C-R$, y X^4 y $X^5 = CH$; donde R se selecciona entre H y OMe;
- donde X^1 y $X^4 = N$, X^2 y $X^5 = CH$, y $X^3 = C-R$, donde R se selecciona entre H y OMe;
- donde X^1 , X^2 , X^4 y $X^5 = CH$, $X^3 = C-R$; donde R se selecciona entre OMe, OEt y $C\equiv CH$.

2. Método para reducir la tasa de nitrificación en suelos agrícolas, **caracterizado por** las etapas de:

- a) utilizar al menos un compuesto seleccionado de la reivindicación 1; o
- b) preparar un compuesto seleccionado de la reivindicación 1;

como inhibidor de la nitrificación, para aplicar directa o indirectamente sobre el suelo.

3. Método, según la reivindicación 2, en el que la aplicación indirecta sobre el suelo implica que el compuesto sea aplicado a través de un portador.

4. Método, según la reivindicación 3, en el que el portador es agua o efluente.

5. Método, según la reivindicación 3, en el que el portador es un gránulo de fertilizante.

6. Método, según la reivindicación 5, en el que el gránulo de fertilizante es urea.

7. Método, según la reivindicación 2, para también reducir la lixiviación de nitrato o las emisiones de óxido nitroso.

8. Método, según la reivindicación 2 para también incrementar la producción de pastos o cultivos.

9. Uso, según la reivindicación 1, o método según la reivindicación 2, en el que el compuesto se selecciona del grupo que consiste en:

- 2-etinil 1,3-diazina;
- 3-etinil 1,5-diazina;
- 4-etinilpirimidina;
- 2-etinil-5-metoxipirimidina;
- 5-etinil-2-metoxipirimidina;
- 2-etinil-5-metoxipiridina;
- 5-etinil-2-metoxipiridina;
- 1-óxido de 3-etinilpiridina;
- 3-etinilpiridazina;
- 3-etinil-6-metoxipiridazina;
- 2-etinilpirazina;
- 2-etinil-5-metoxipirazina;
- 4-etinilanisol;
- 1-etoxi-4-etinilbenceno;
- 1,4-dietinilbenceno;

y tiene una tasa de dosis entre 1 kg/ha y 9 kg/ha.

10. Uso o método, según la reivindicación 9, en el que el compuesto tiene una tasa de dosis de 2 kg/ha.

5 11. Uso o método, según la reivindicación 9, en el que el compuesto se selecciona del grupo que consiste en:

- 2-etinil 1,3-diazina;
- 3-etinil 1,5-diazina;
- 4-etinilpirimidina;
- 10 - 2-etinil-5-metoxipirimidina;
- 5-etinil-2-metoxipirimidina;
- 2-etinil-5-metoxipiridina;
- 1-óxido de 3-etinilpiridina;
- 3-etinilpiridazina;
- 15 - 3-etinil-6-metoxipiridazina;
- 2-etinil-5-metoxipirazina;
- 4-etinilanol;

y tiene una tasa de dosis de 1kg/ha.

20

12. Uso o método, según la reivindicación 10, en el que el compuesto se selecciona del grupo que consiste en:

- 2-etinil 1,3-diazina;
- 25 - 3-etinil 1,5-diazina;
- 4-etinilpirimidina;
- 1-óxido de 3-etinilpiridina;
- 3-etinilpiridazina;

25

30 y tiene una tasa de dosis de 0,5 kg/ha.

30

13. Método para tratar un parche urinario que comprende la etapa de aplicar un compuesto seleccionado de la fórmula 1 en la reivindicación 1 a dicho parche urinario.

35 14. Método para tratar un parche urinario, según la reivindicación 13, en el que el compuesto se aplica al parche urinario a través de un vehículo pulverizador agrícola o un robot autónomo.

35

15. Método, según la reivindicación 14, en el que el vehículo pulverizador agrícola o robot autónomo tienen un aparato sobre el mismo para detectar parches urinarios.

40

Figura 1

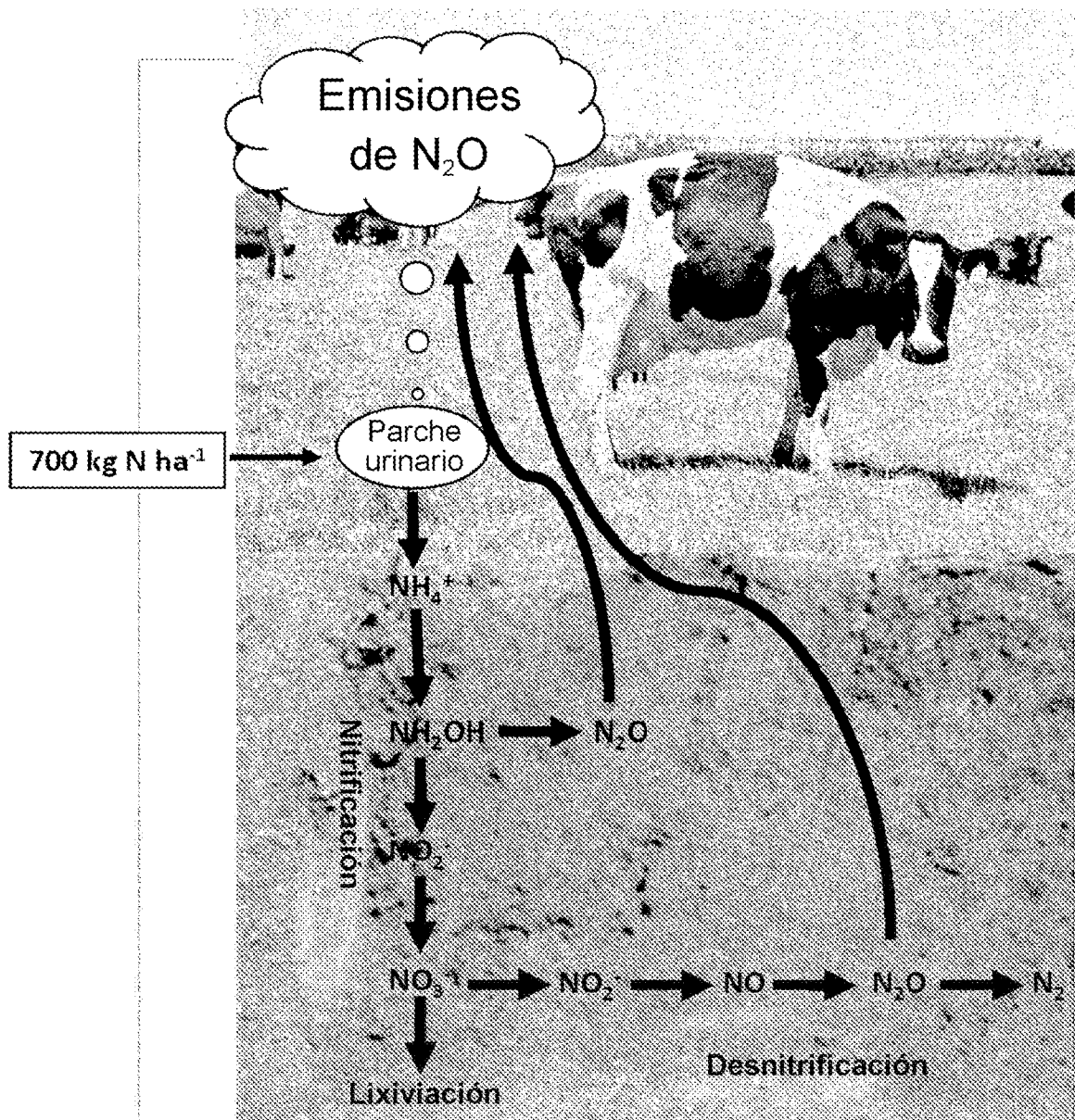


Figura 2-1

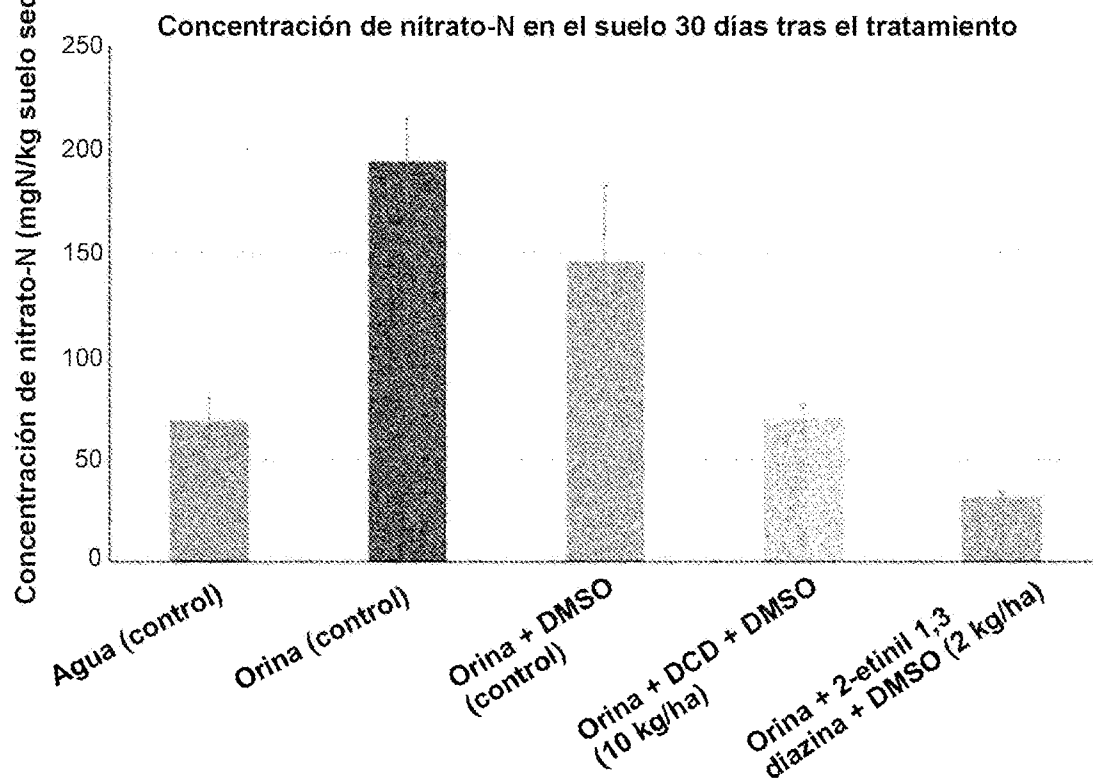


Figura 3-1

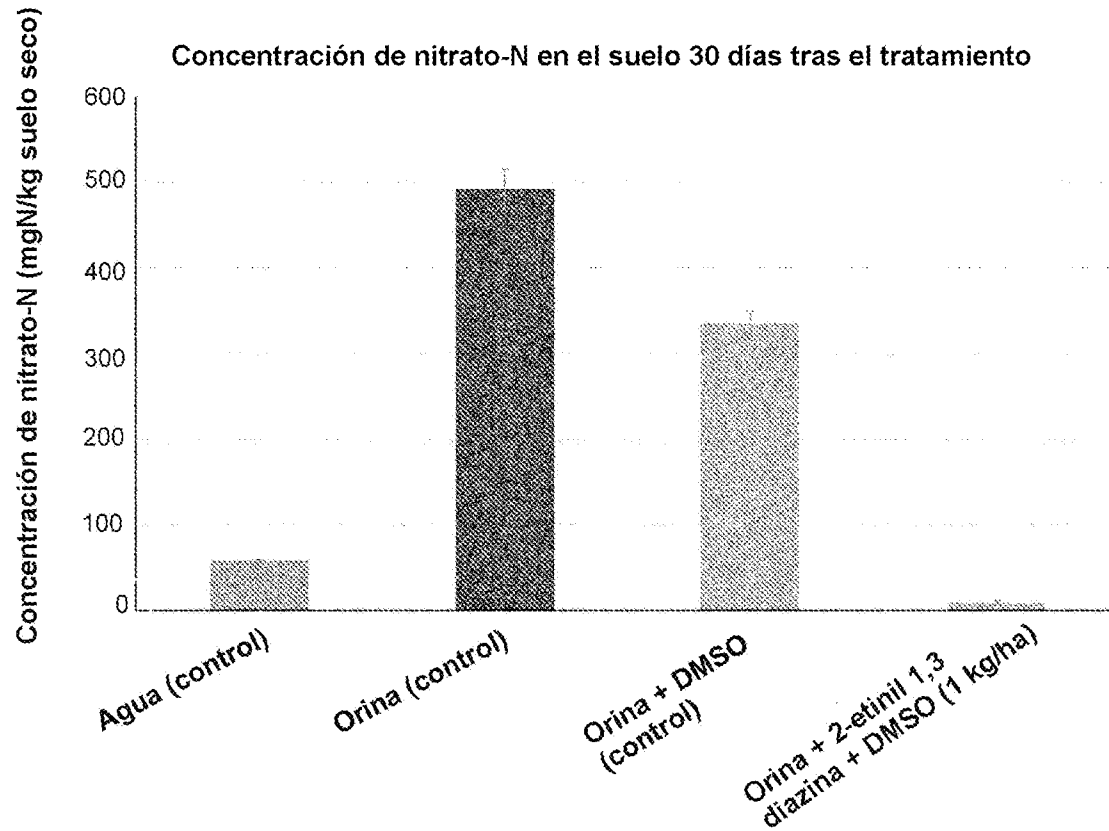


Figura 4-1

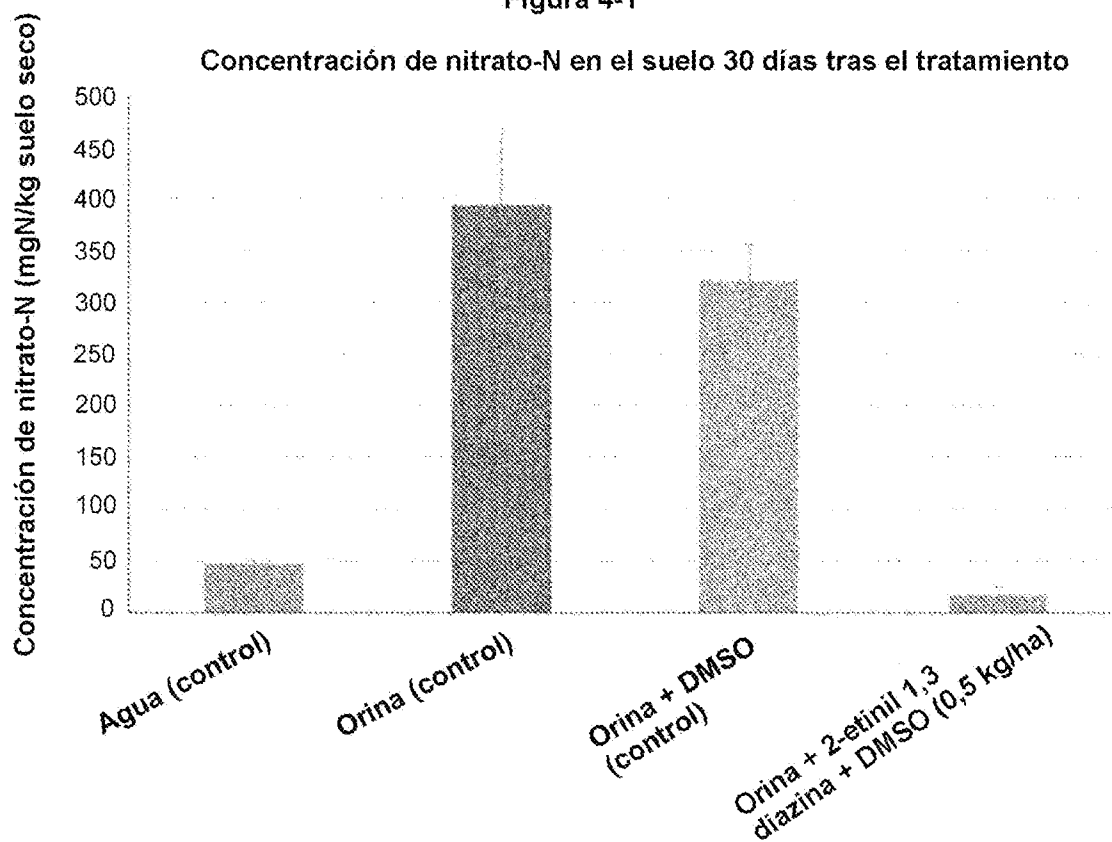


Figura 5-1

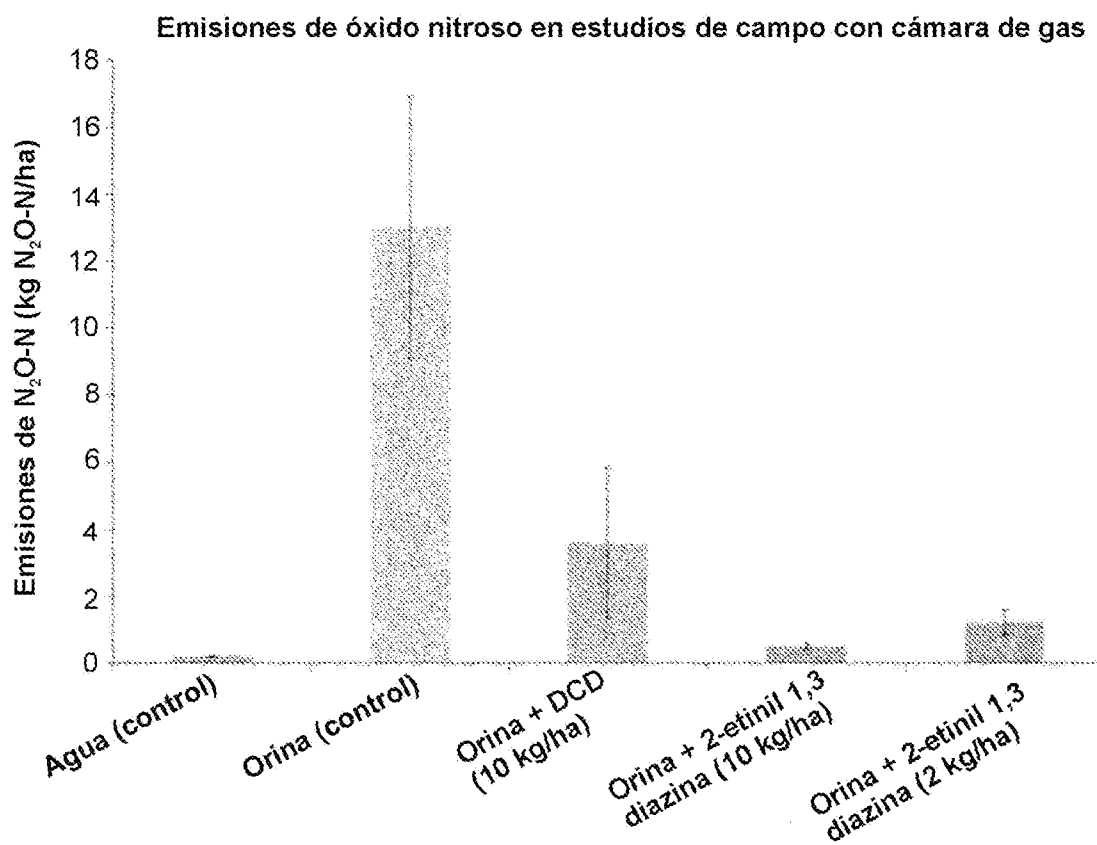


Figura 2-2

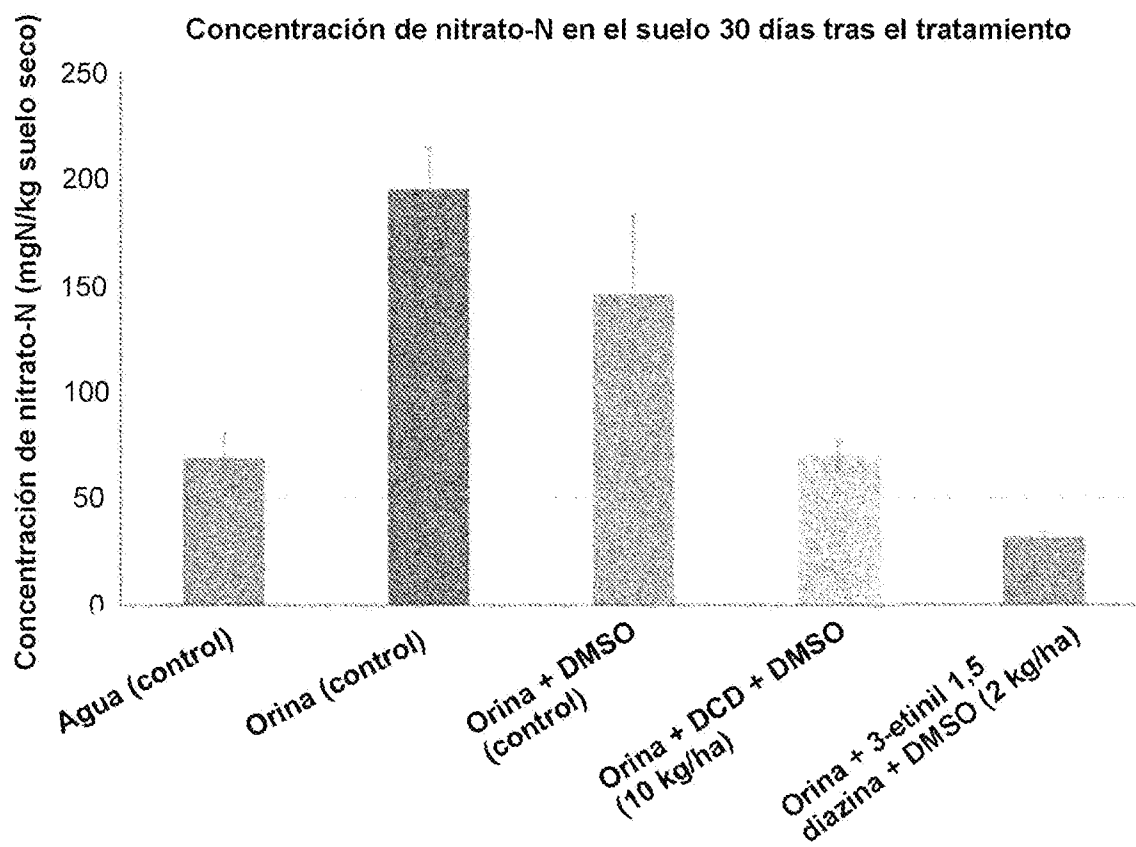


Figura 3-2

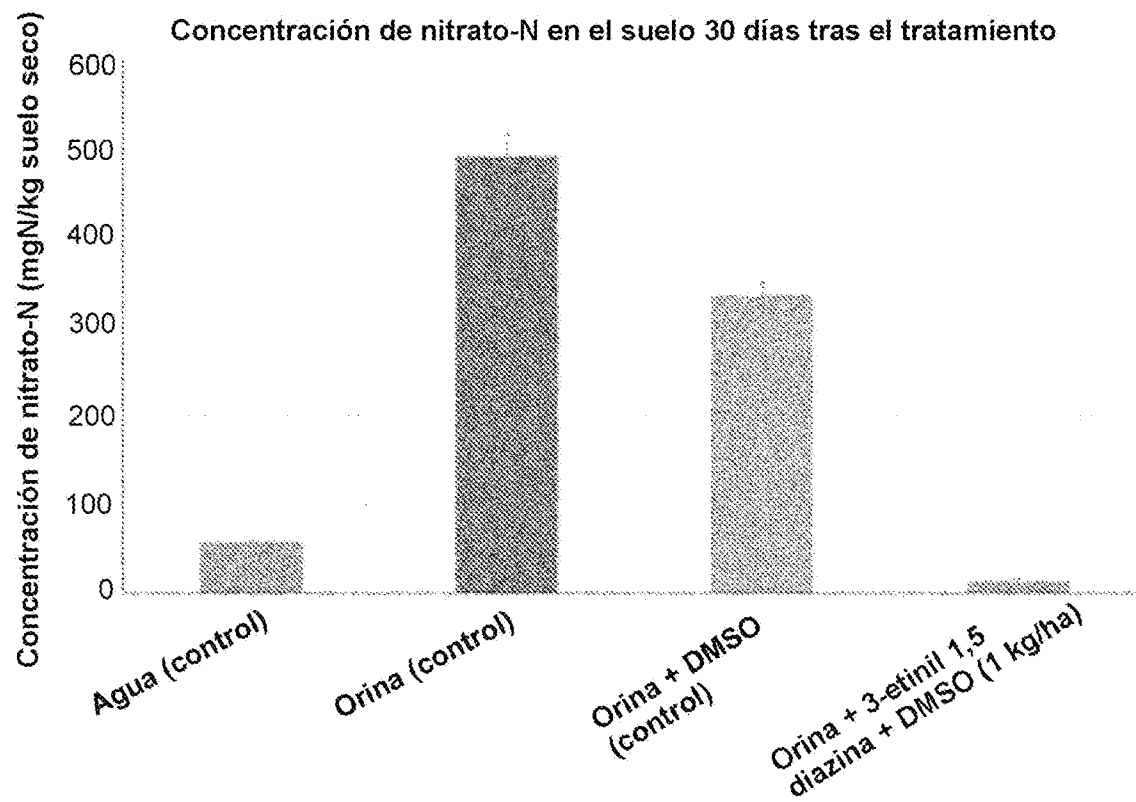


Figura 4-2

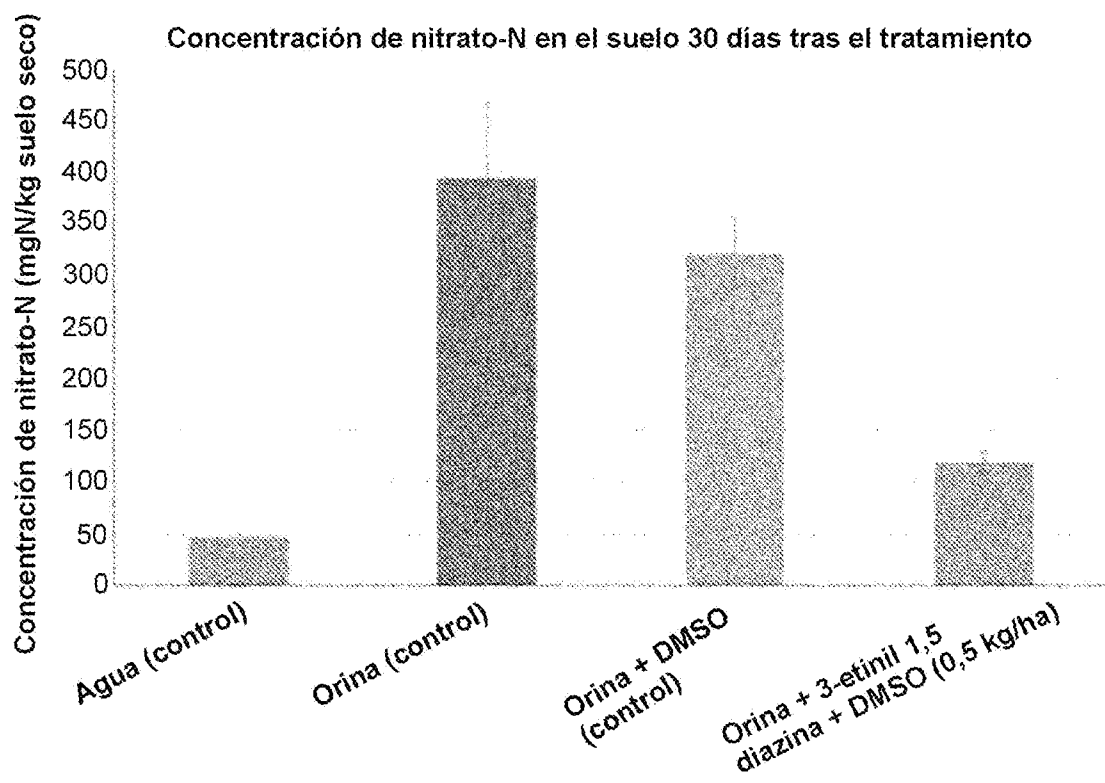


Figura 5-2

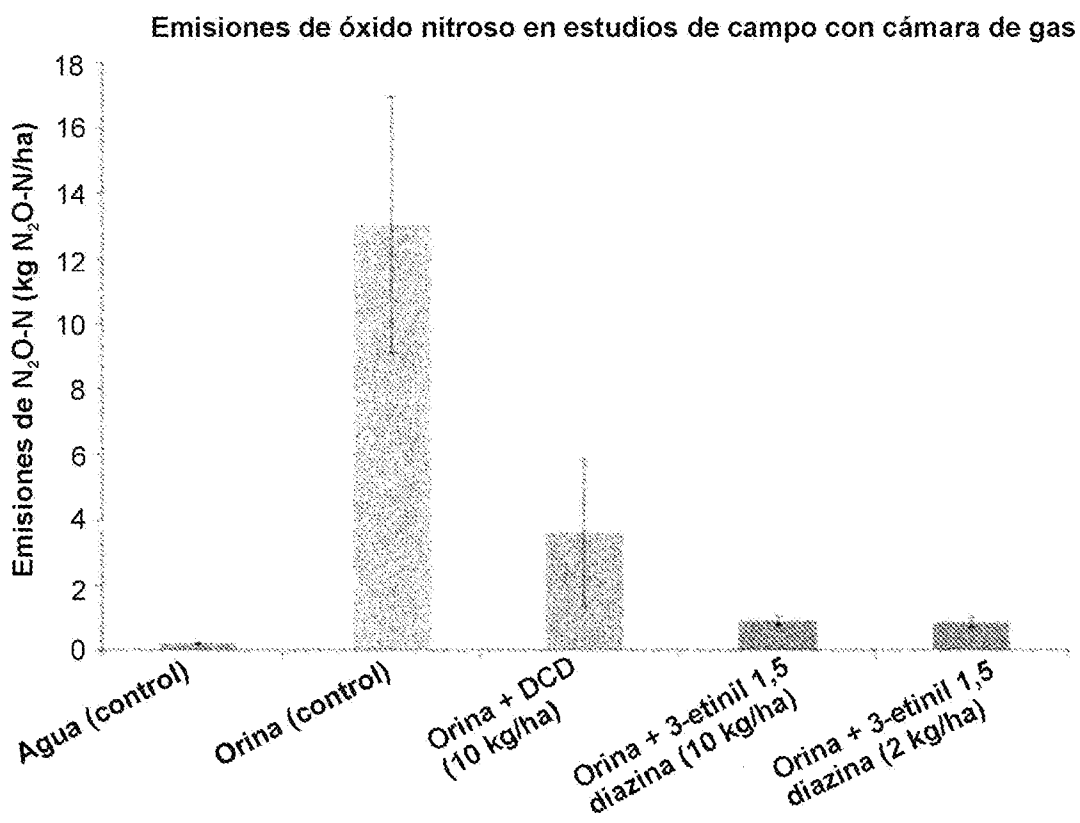


Figura 2-3

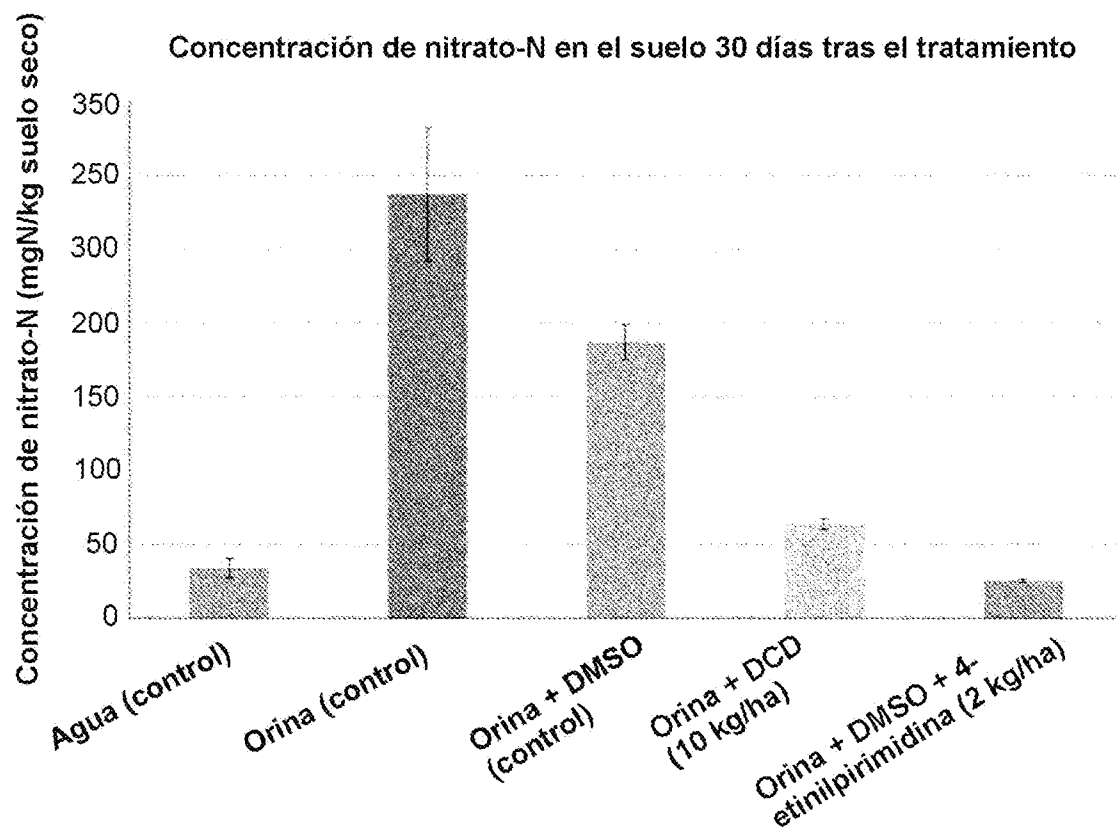


Figura 3-3

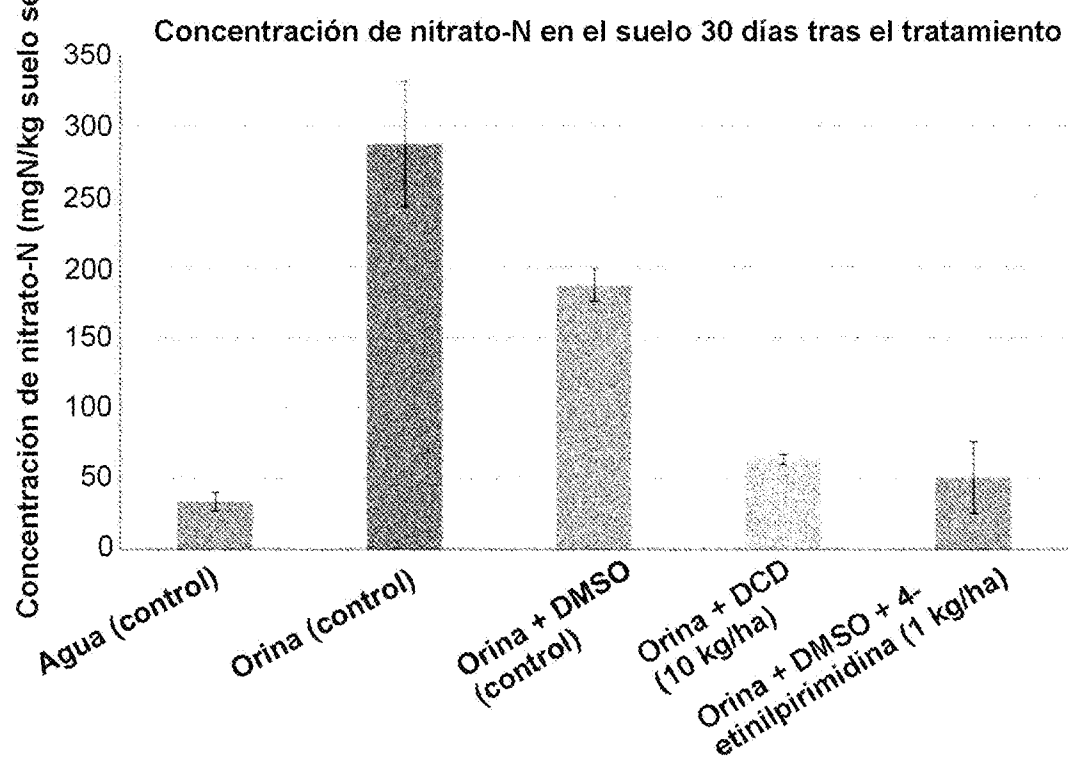


Figura 2-4

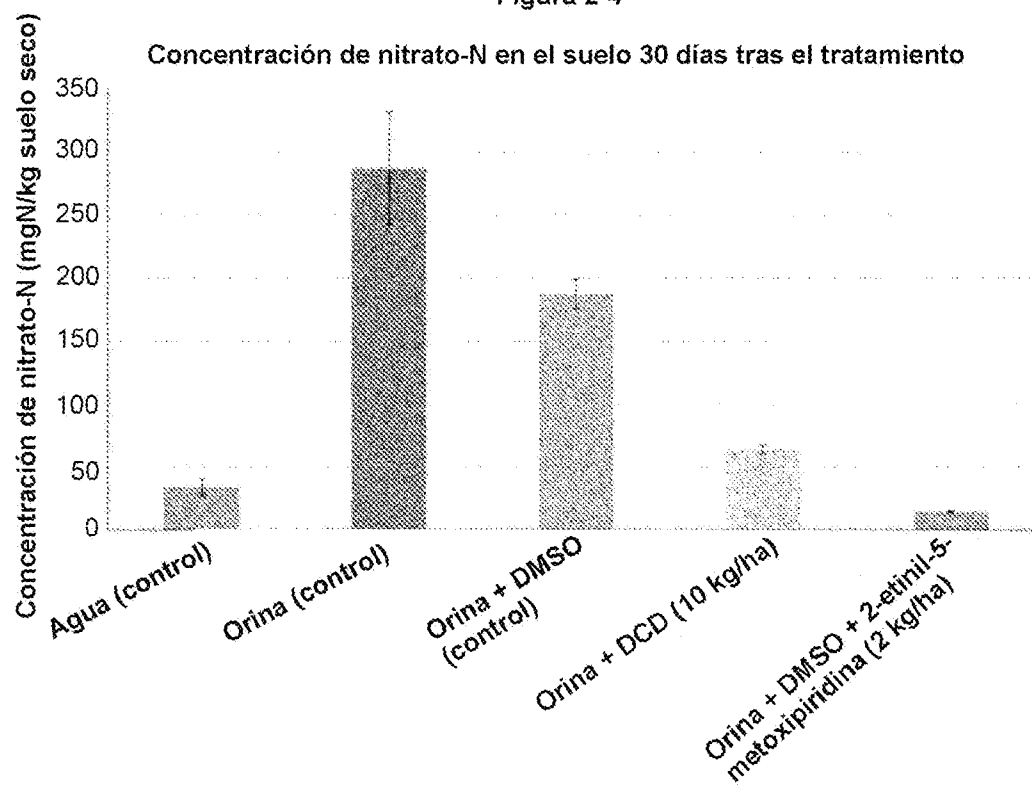


Figura 3-4

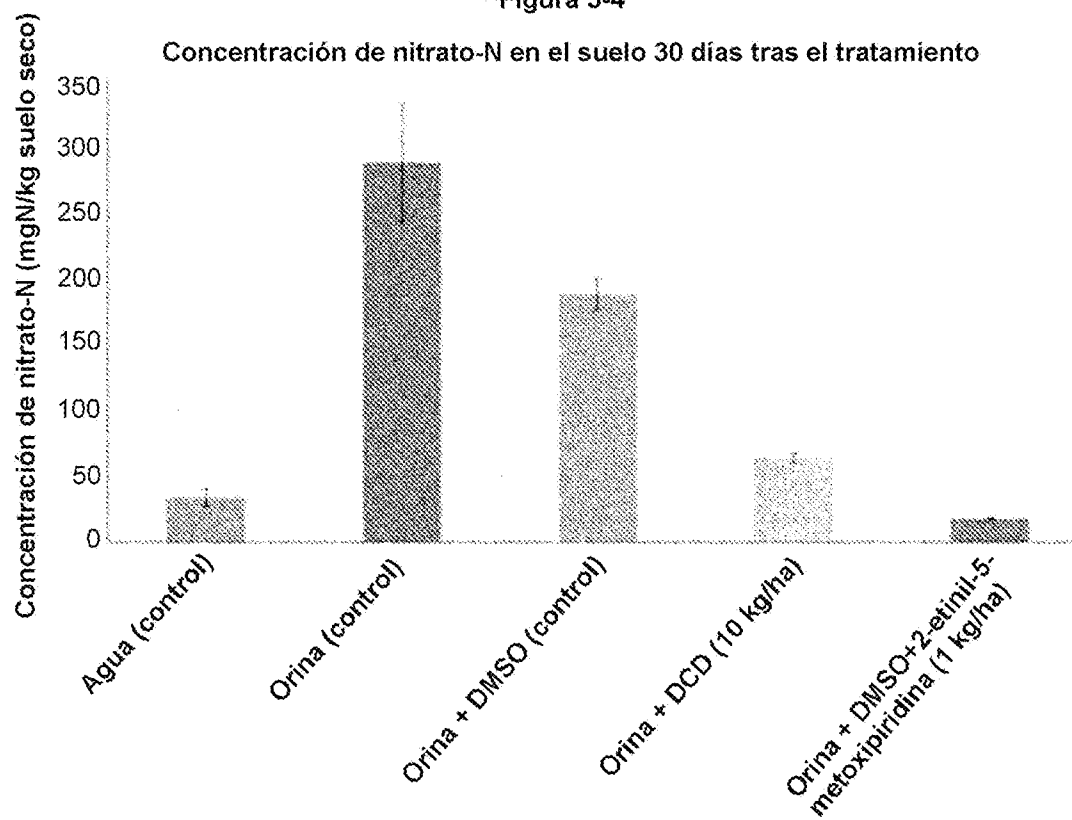


Figura 2-5

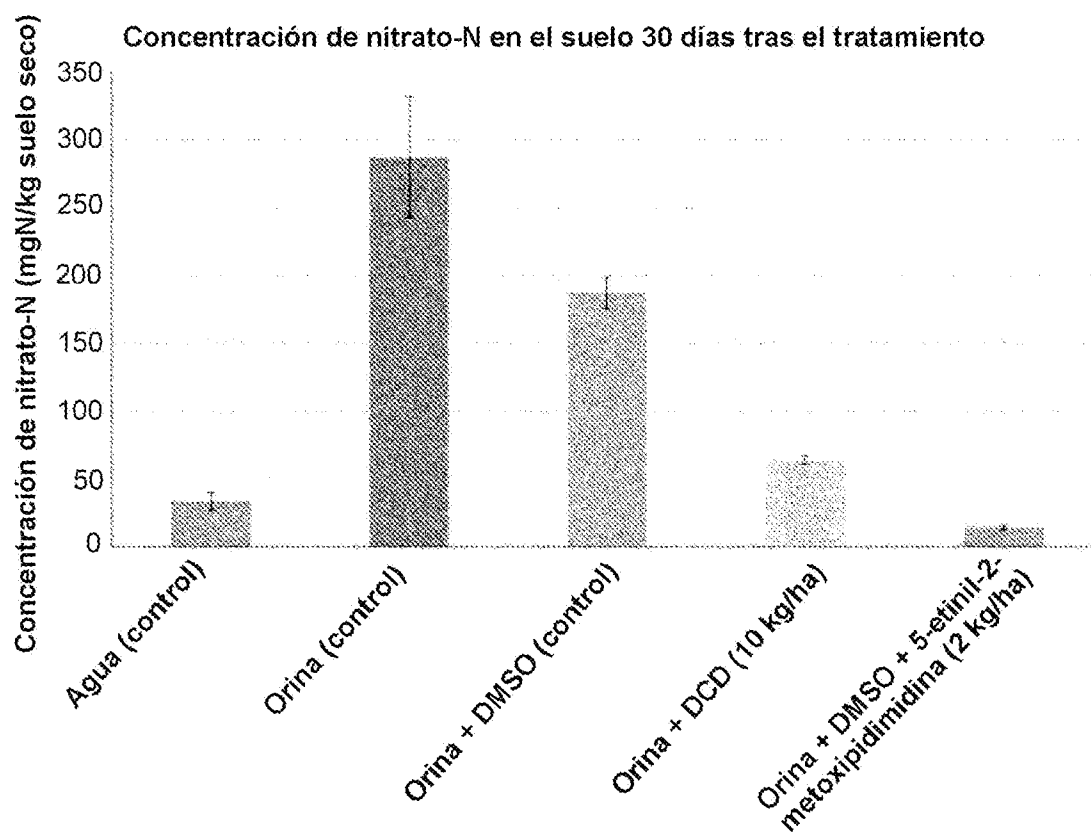


Figura 3-5

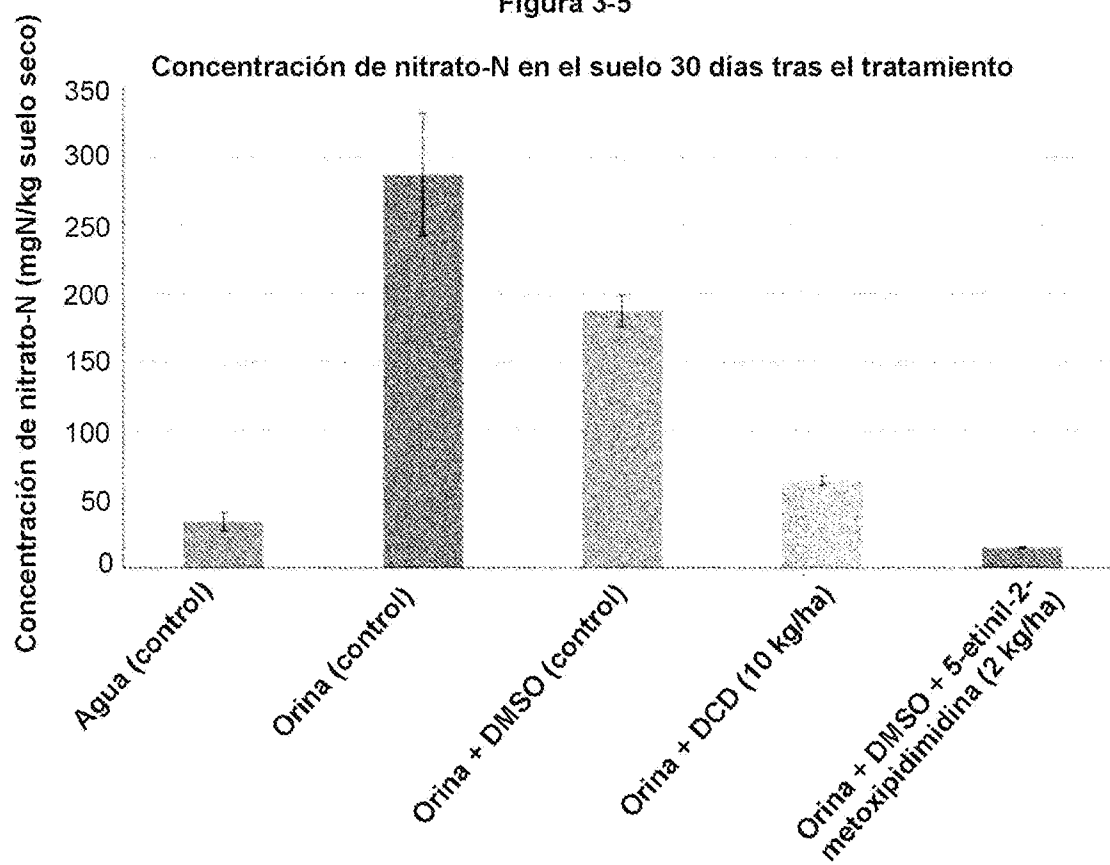


Figura 2-6

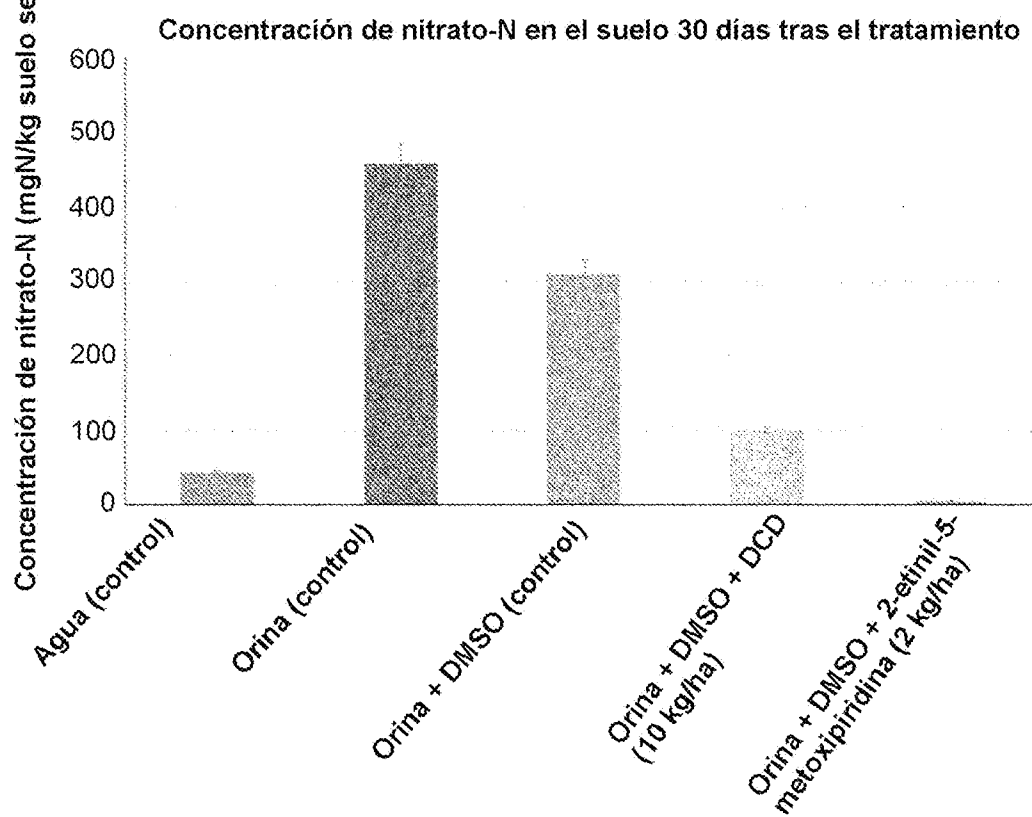


Figura 3-6

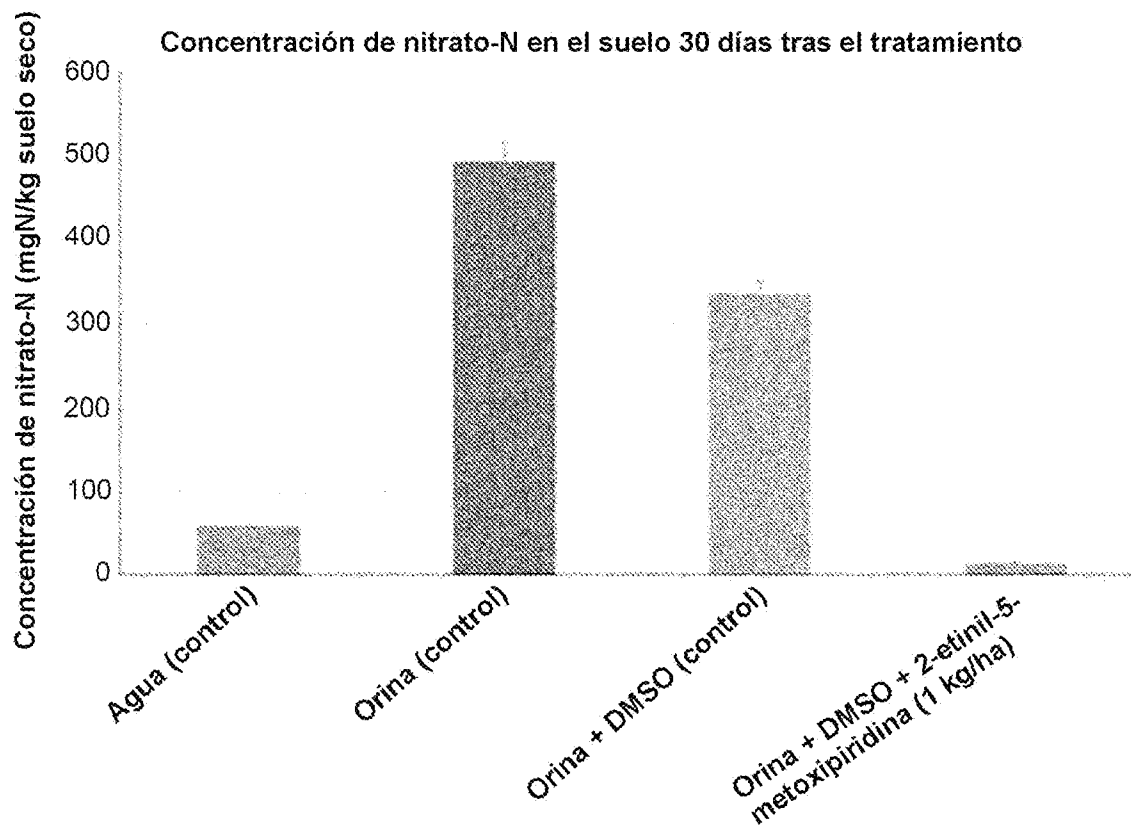


Figura 4-6

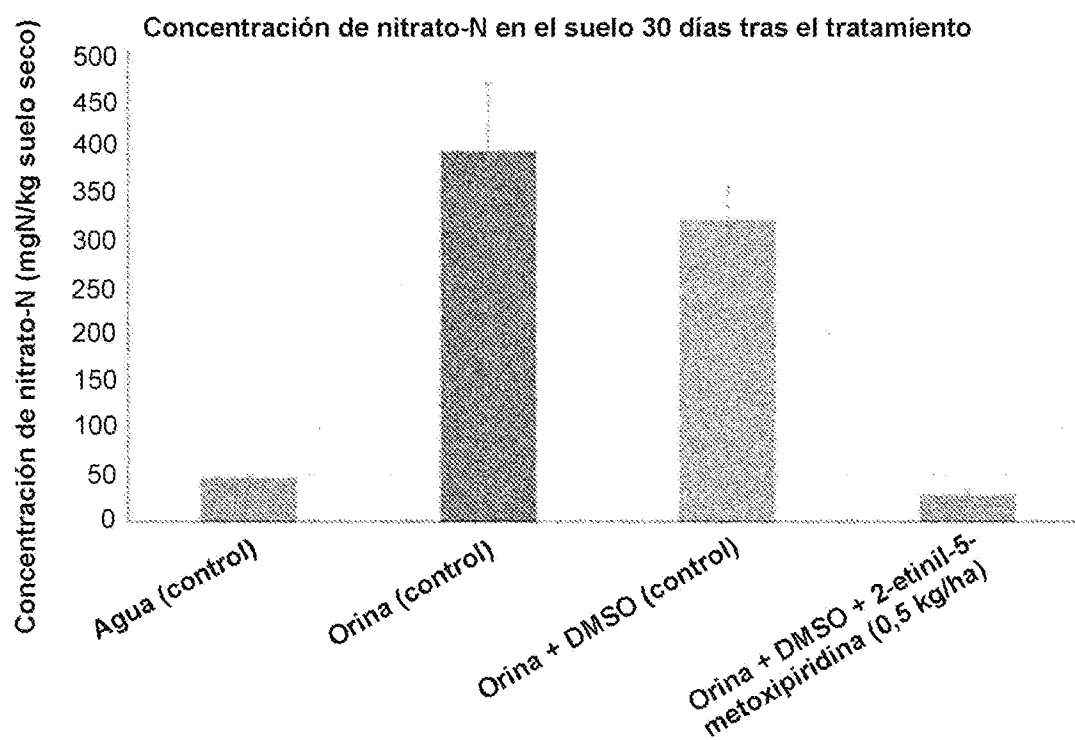


Figura 5-6

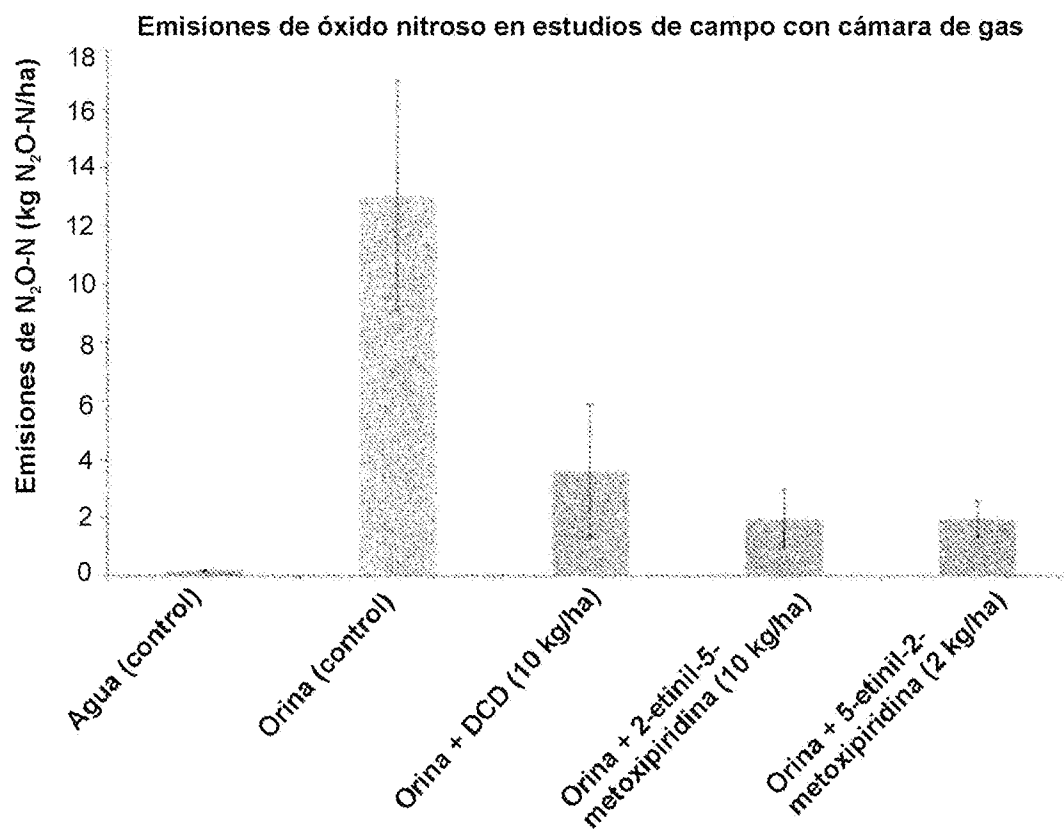


Figura 2-7

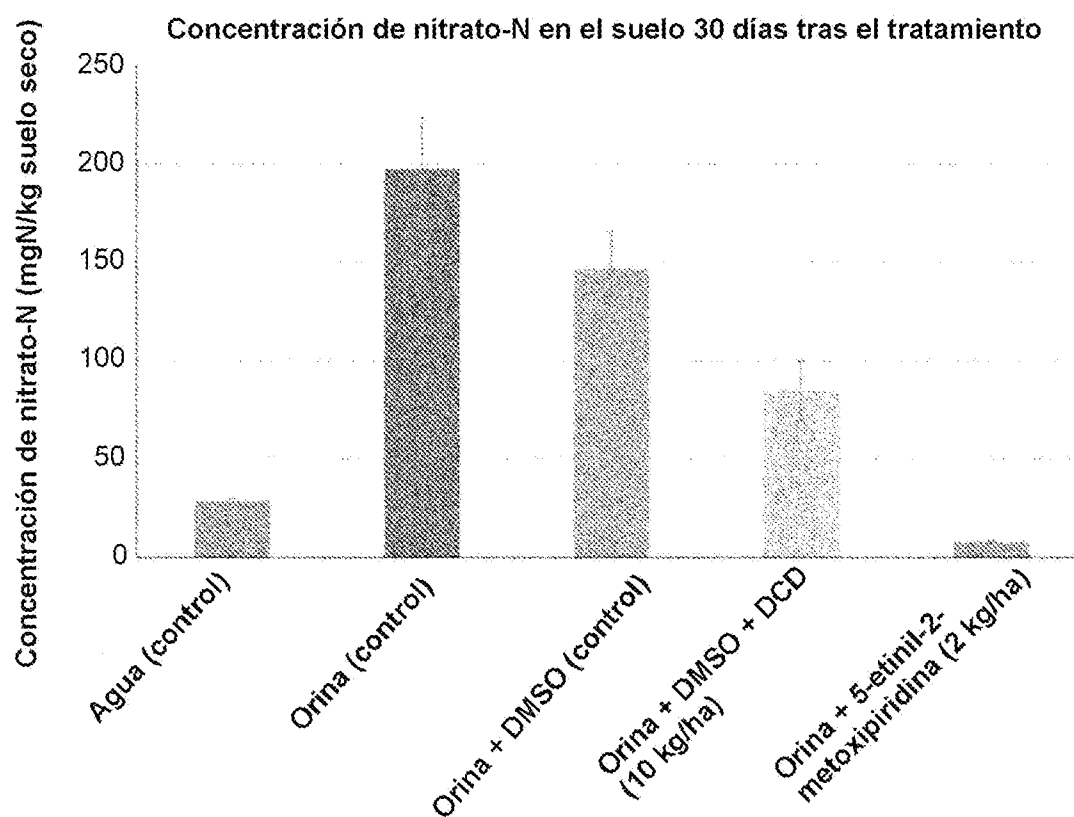


Figura 2-8

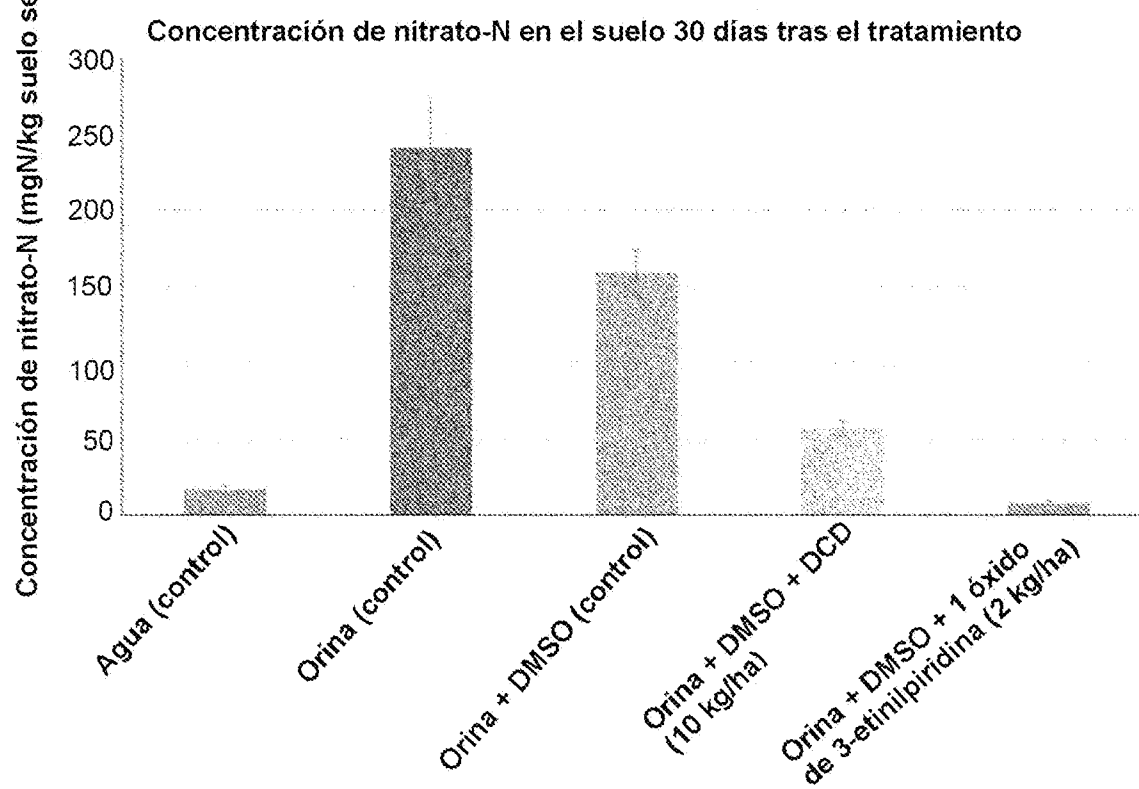


Figura 3-8

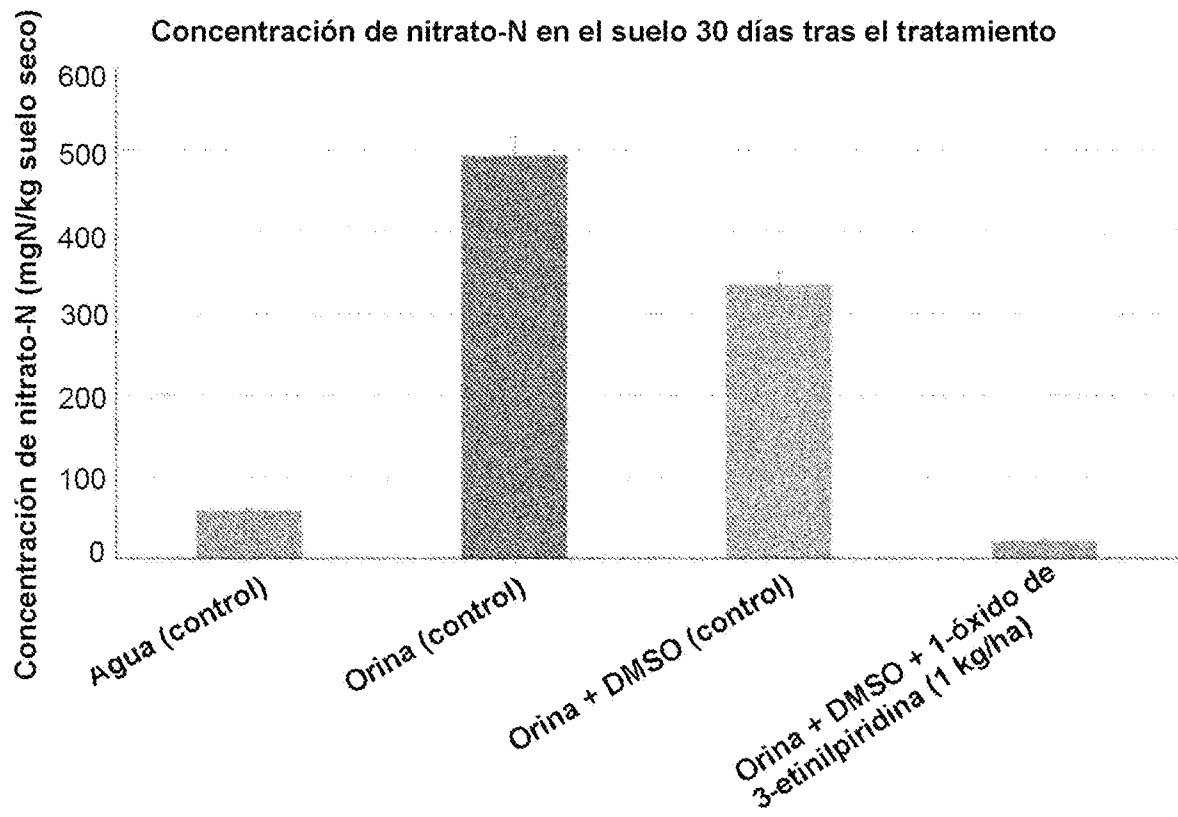


Figura 4-8

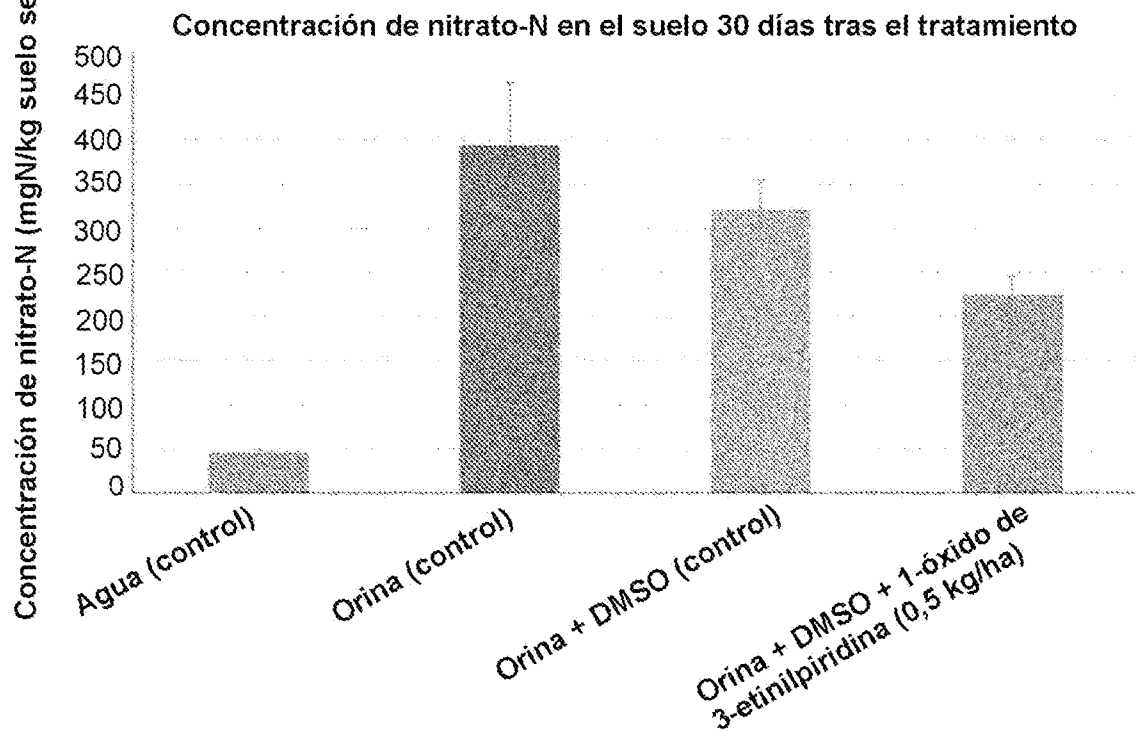


Figura 5-8

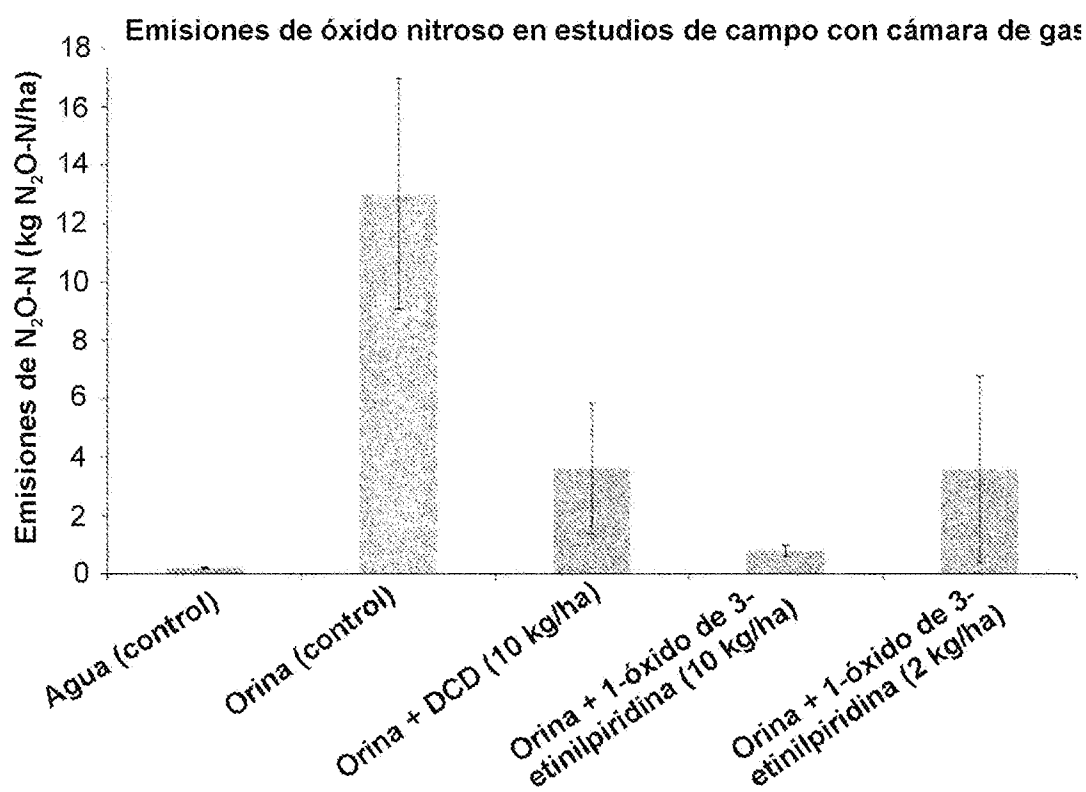


Figura 2-9

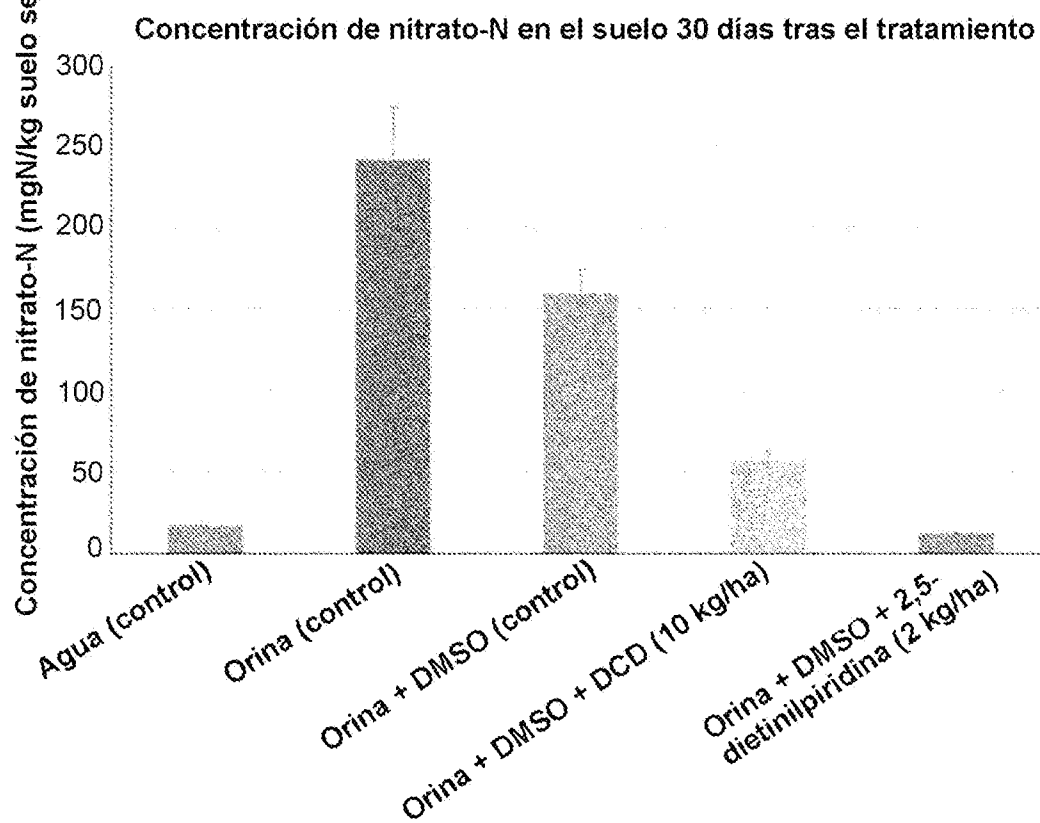


Figura 2-10

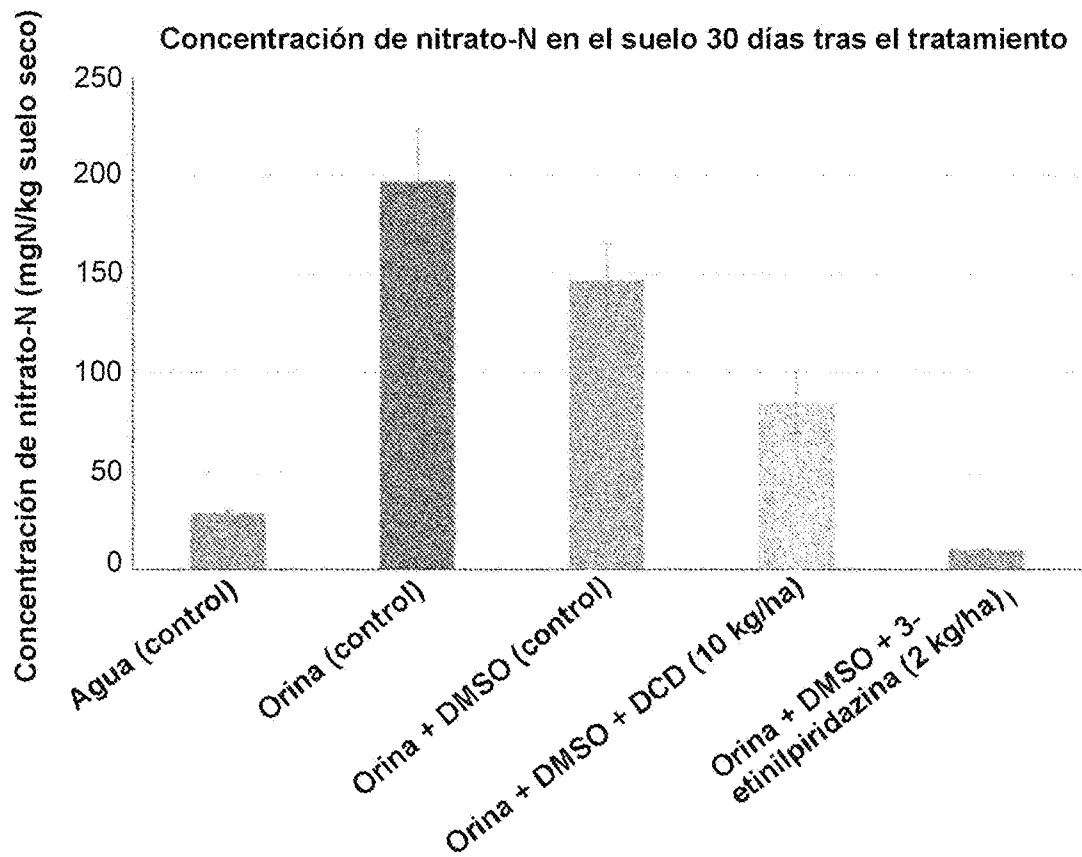


Figura 3-10

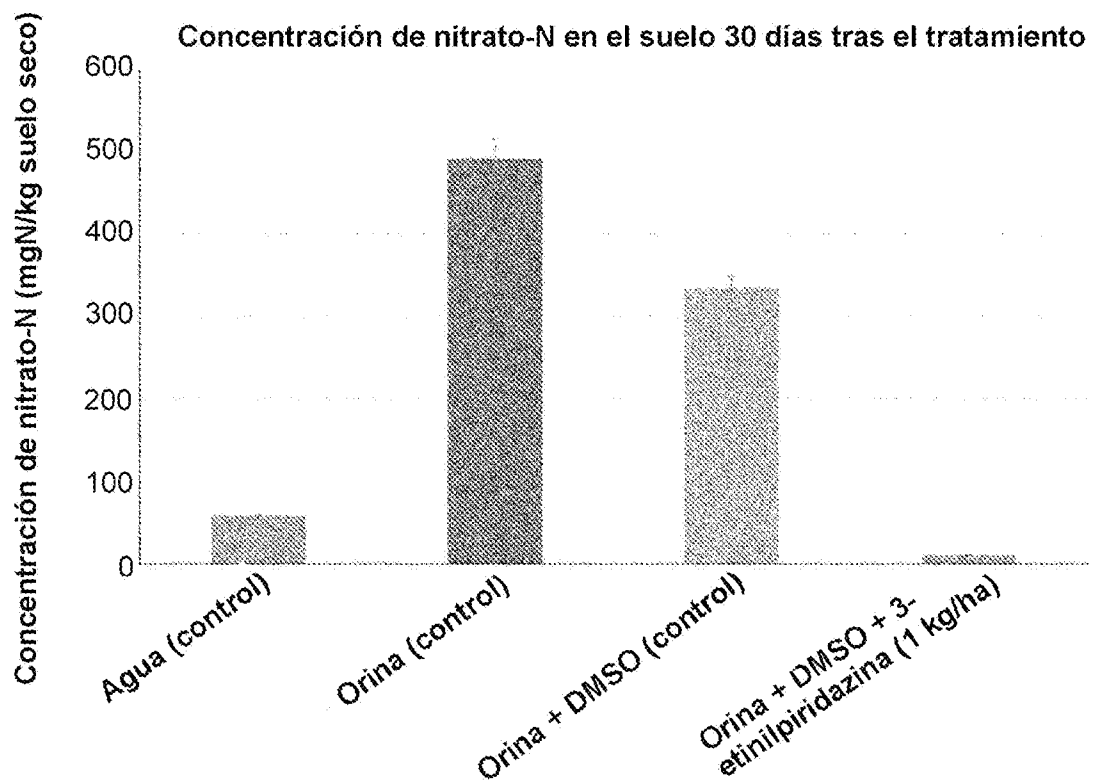


Figura 4-10

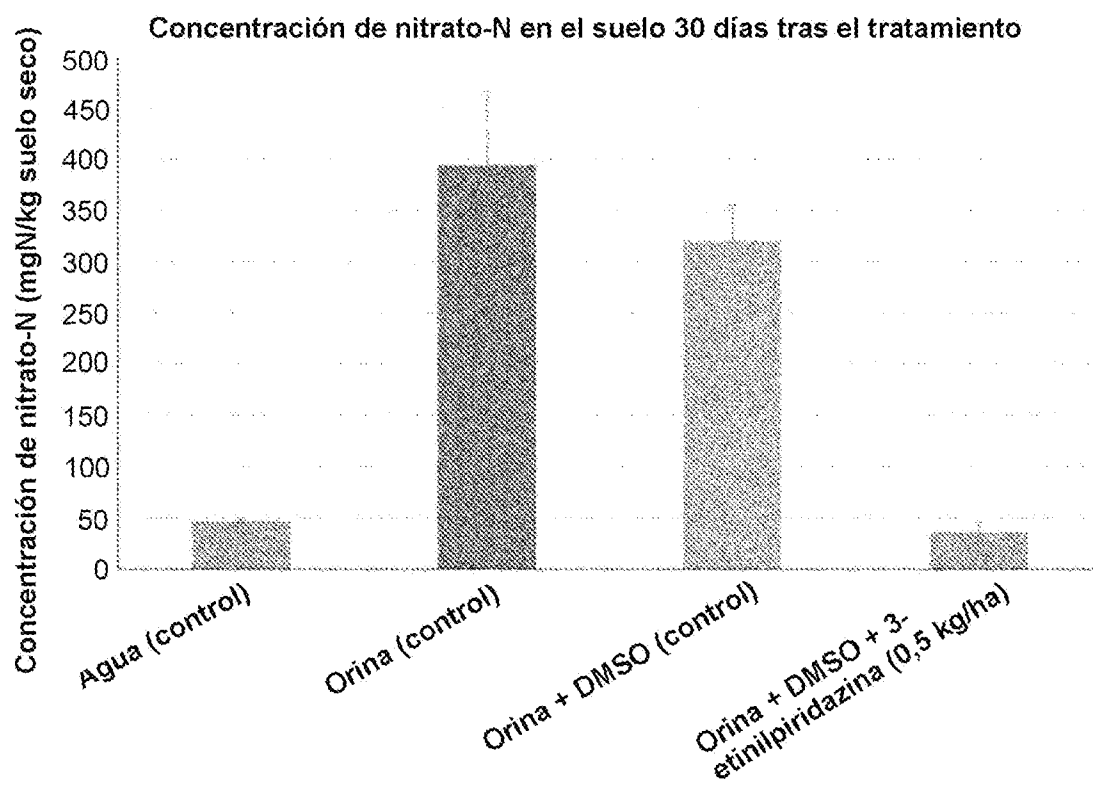


Figura 2-11

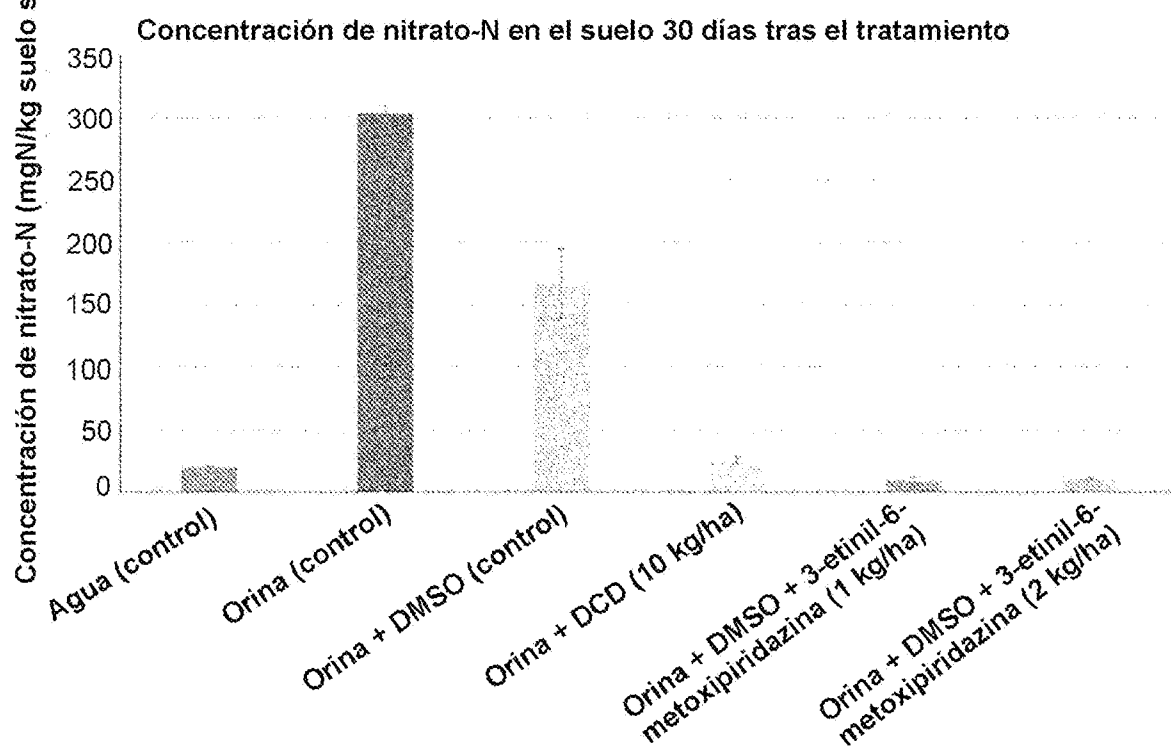


Figura 2-12

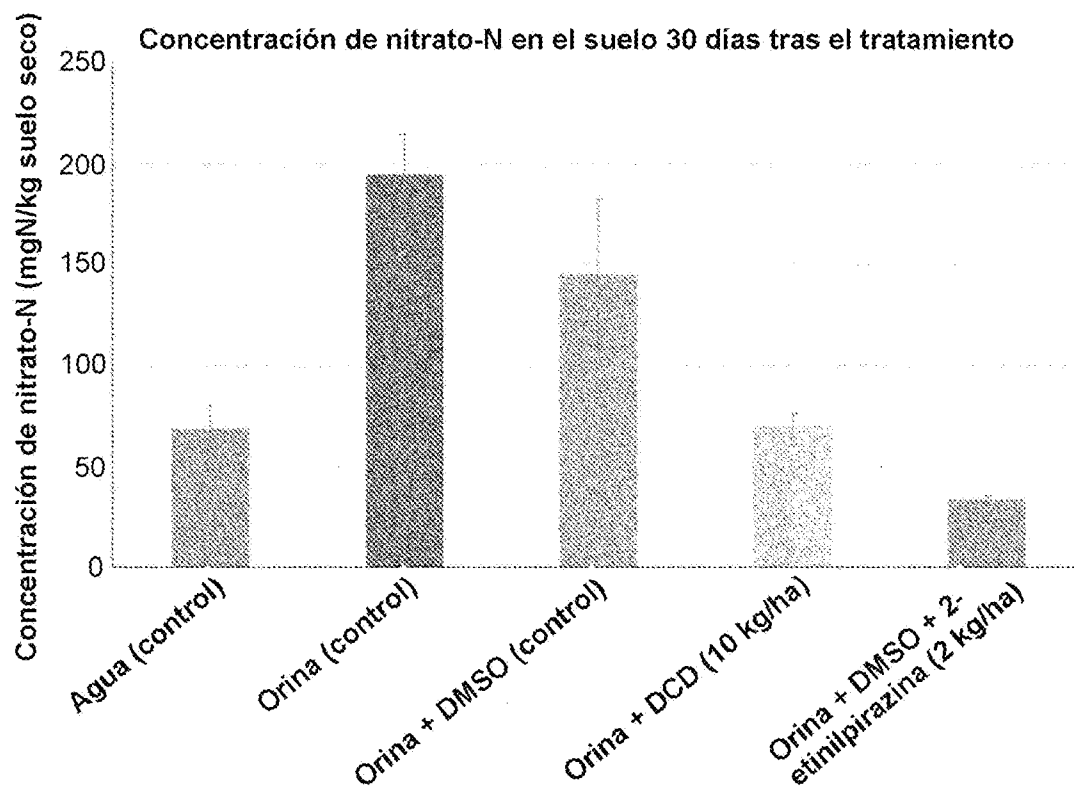


Figura 2-13

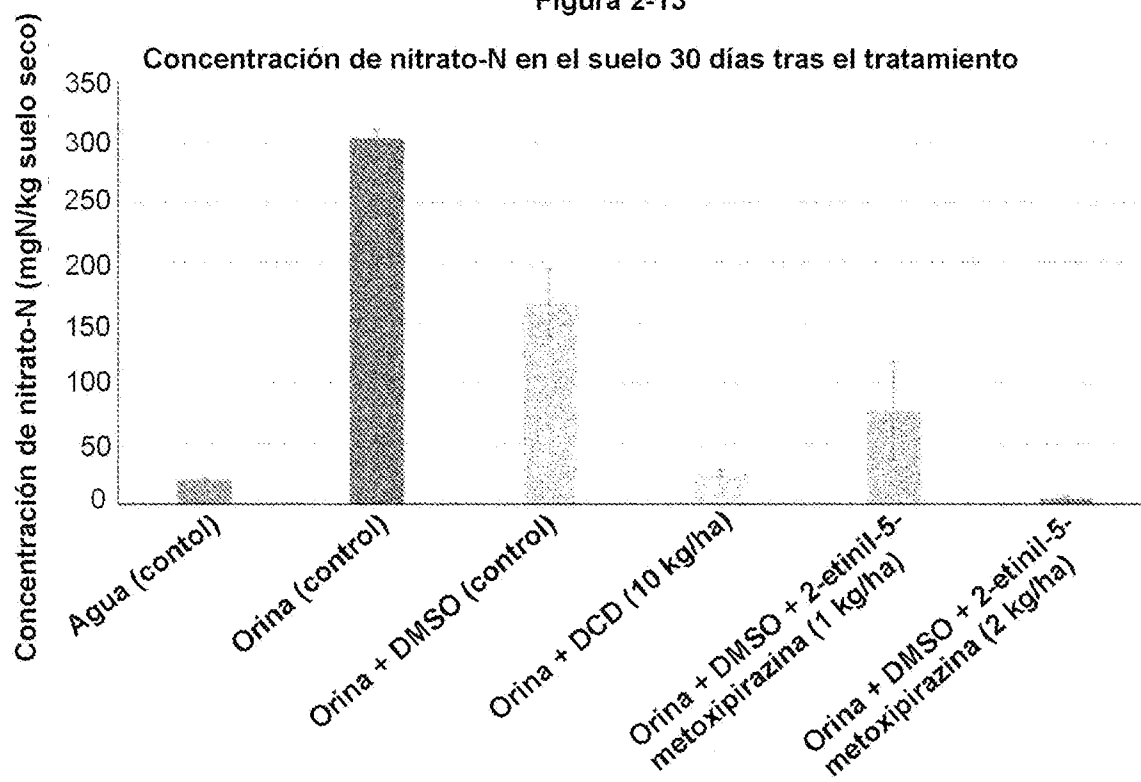


Figura 2-14

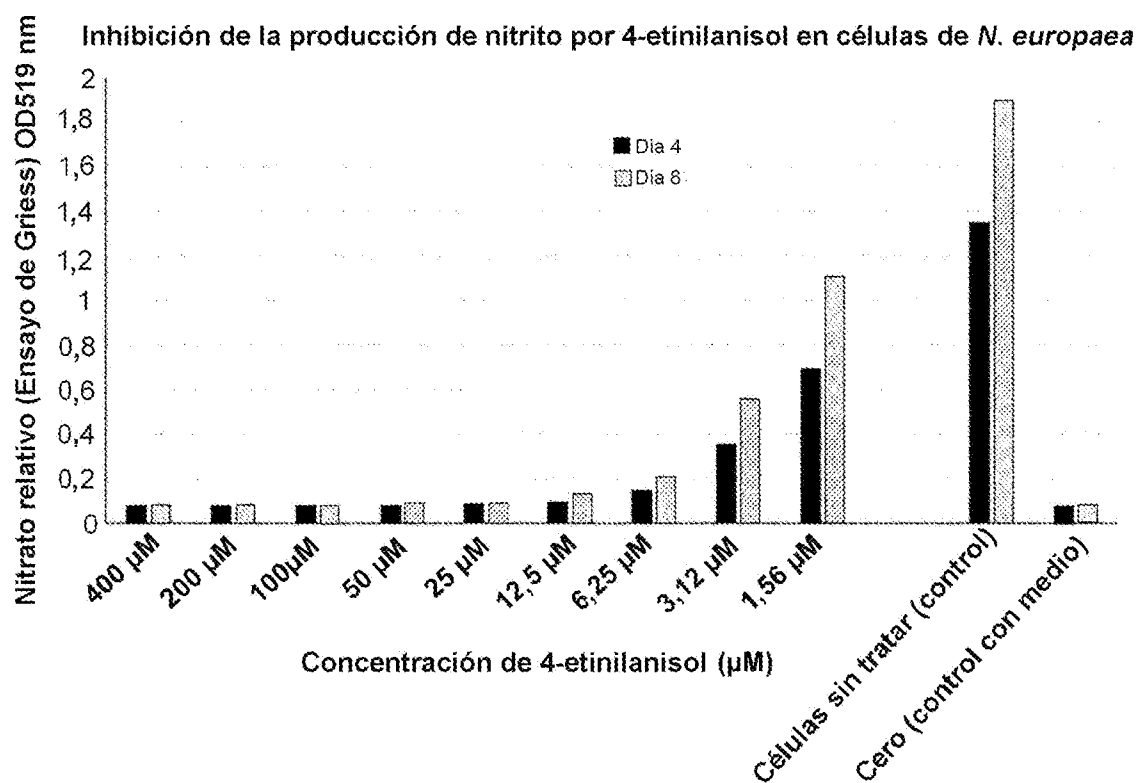


Figura 3-14

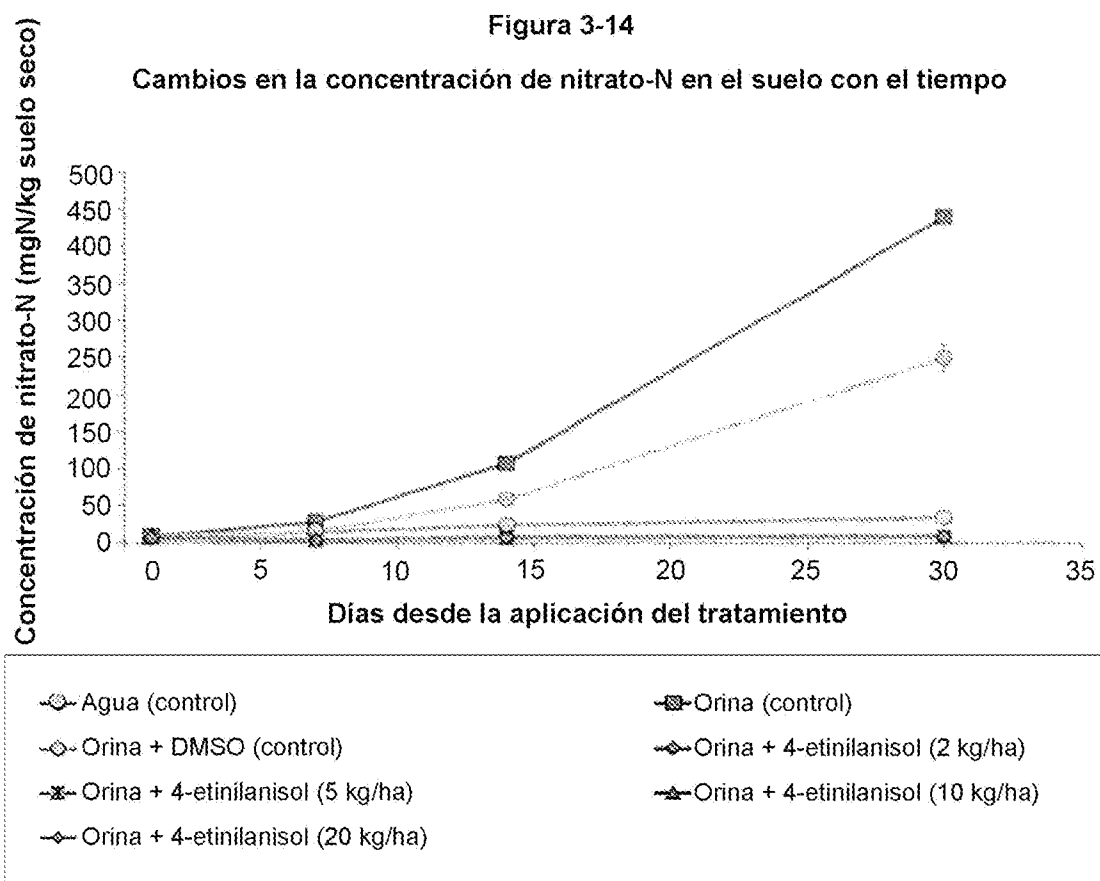


Figura 4-14

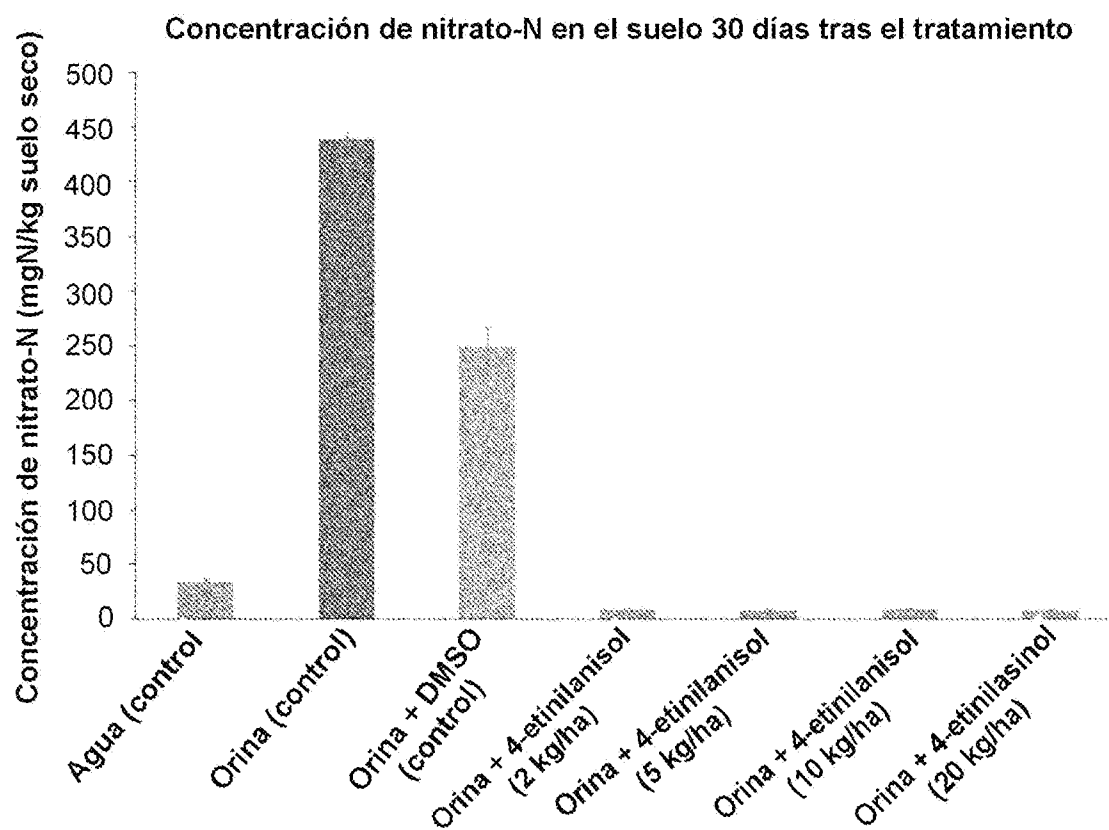


Figura 5-14

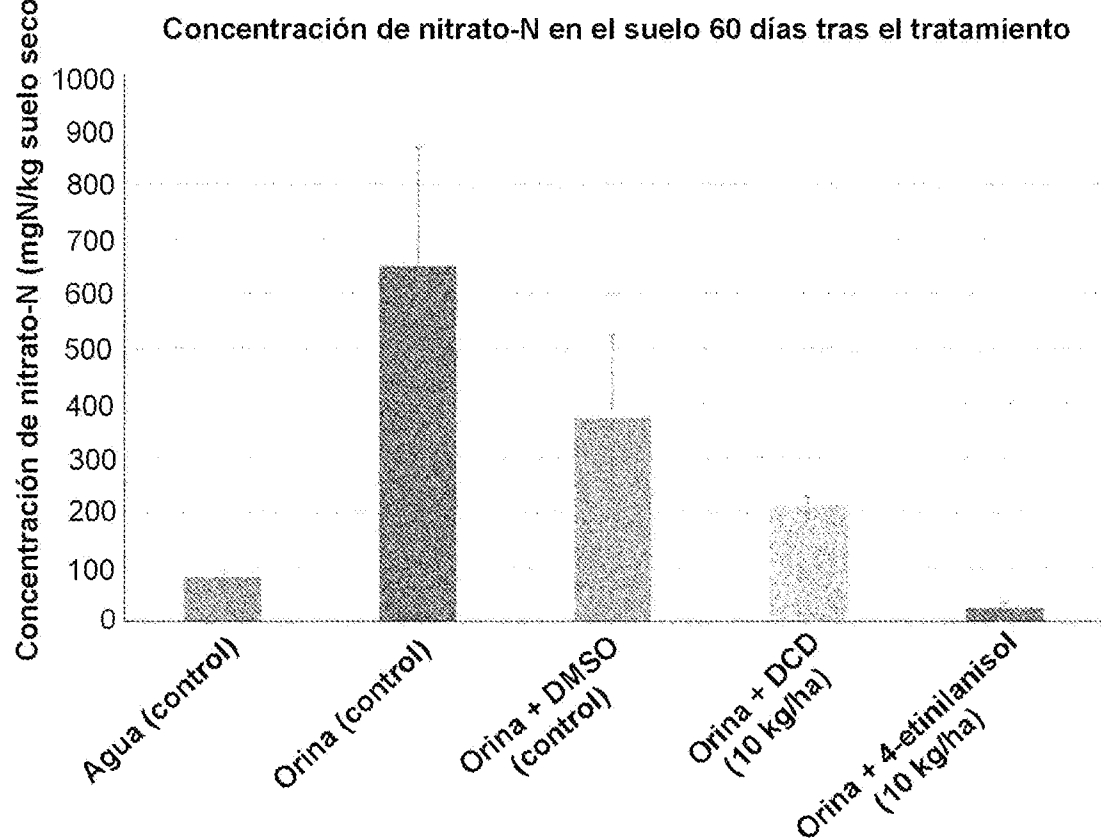


Figura 6-14

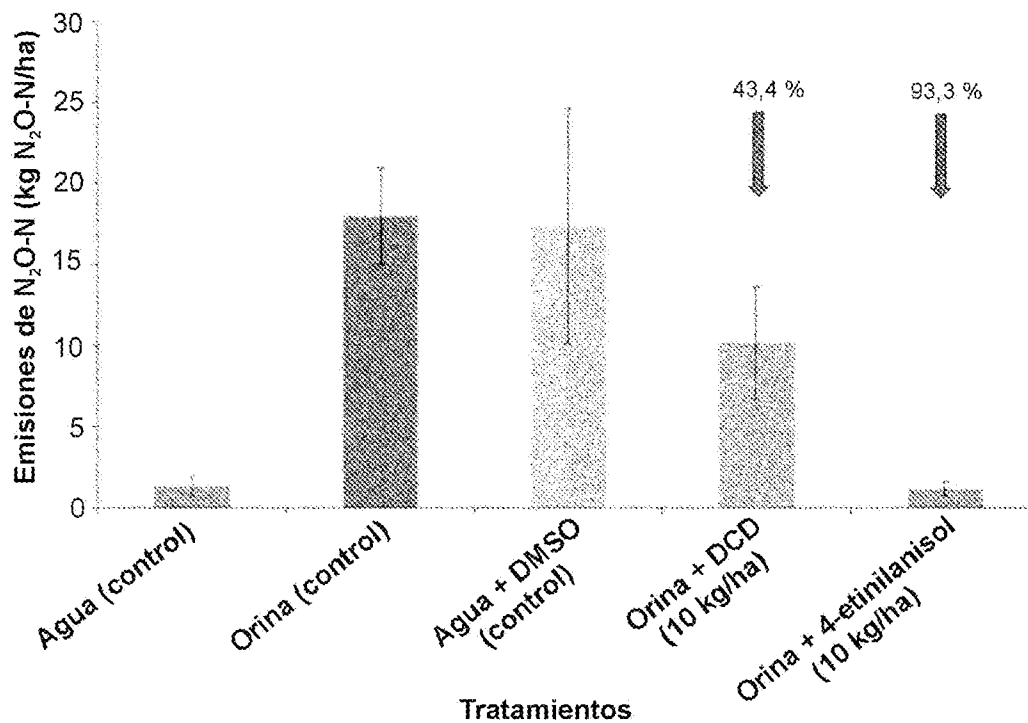
Emisiones de N_2O -N de columnas de suelo

Figura 7-14

Concentración de nitrato-N tras 60 días de incubación

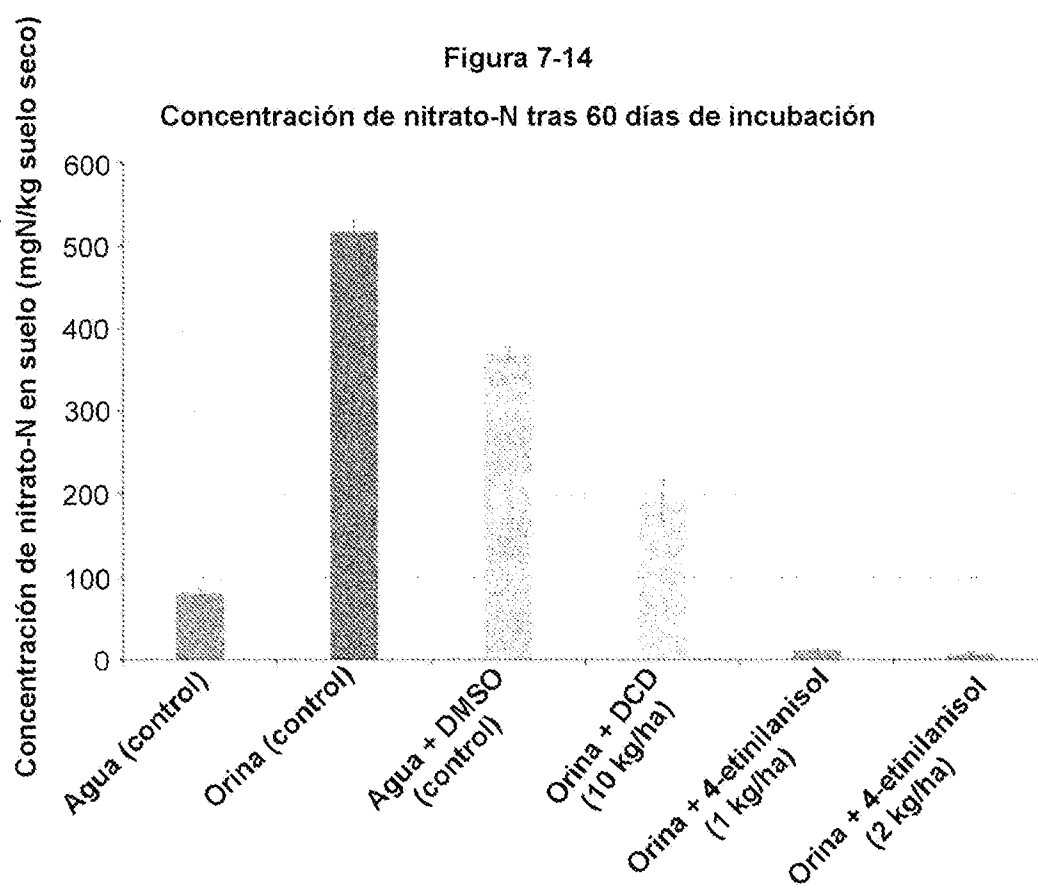


Figura 8A-14

4-etinilanol inhibe el consumo de oxígeno dependiente de amonio en células de *N. europaea*

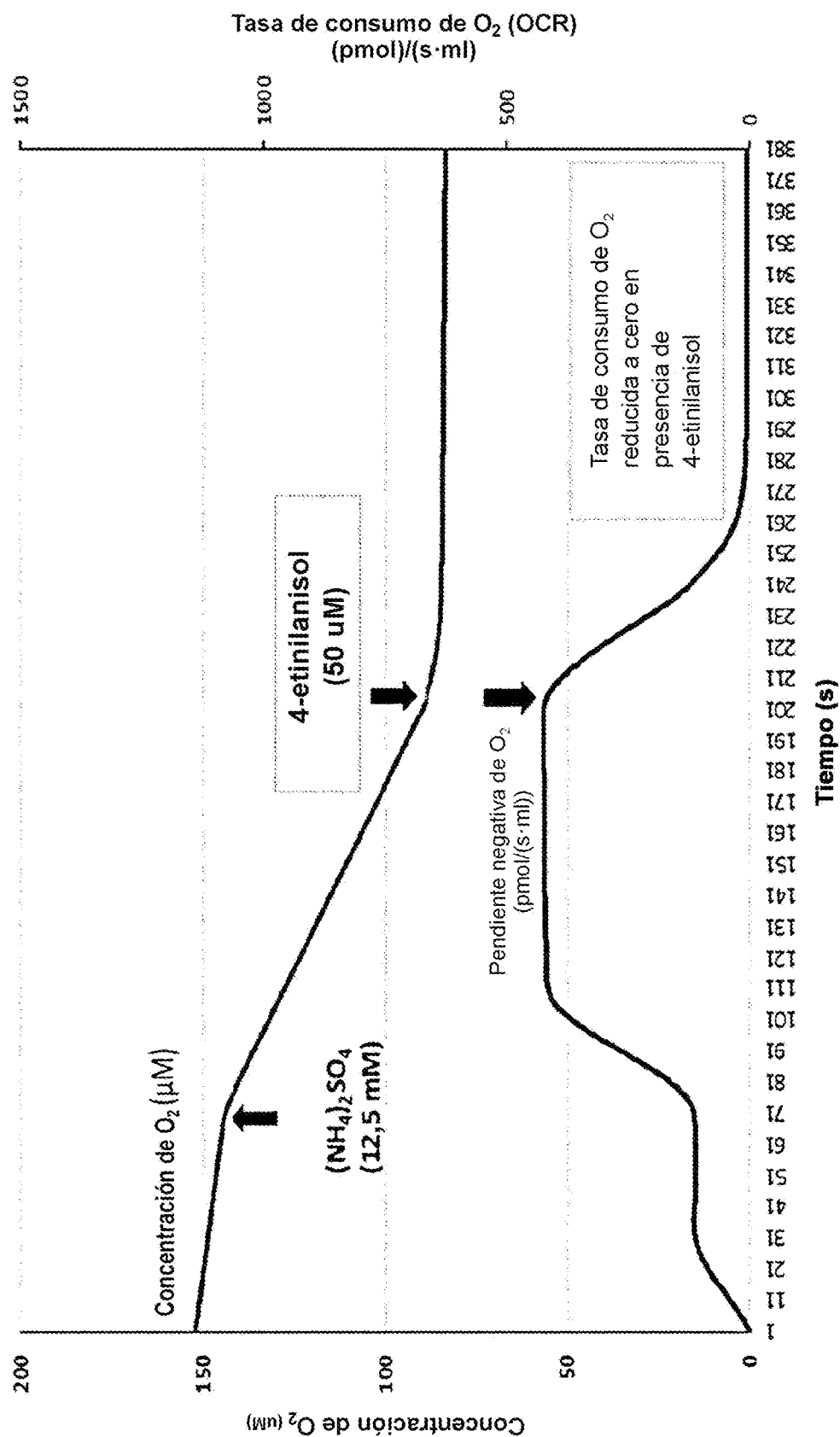


Figura 8B-14

4-etinilanol no inhibe el consumo de oxígeno dependiente de H_3NO
en células de *N. europaea*

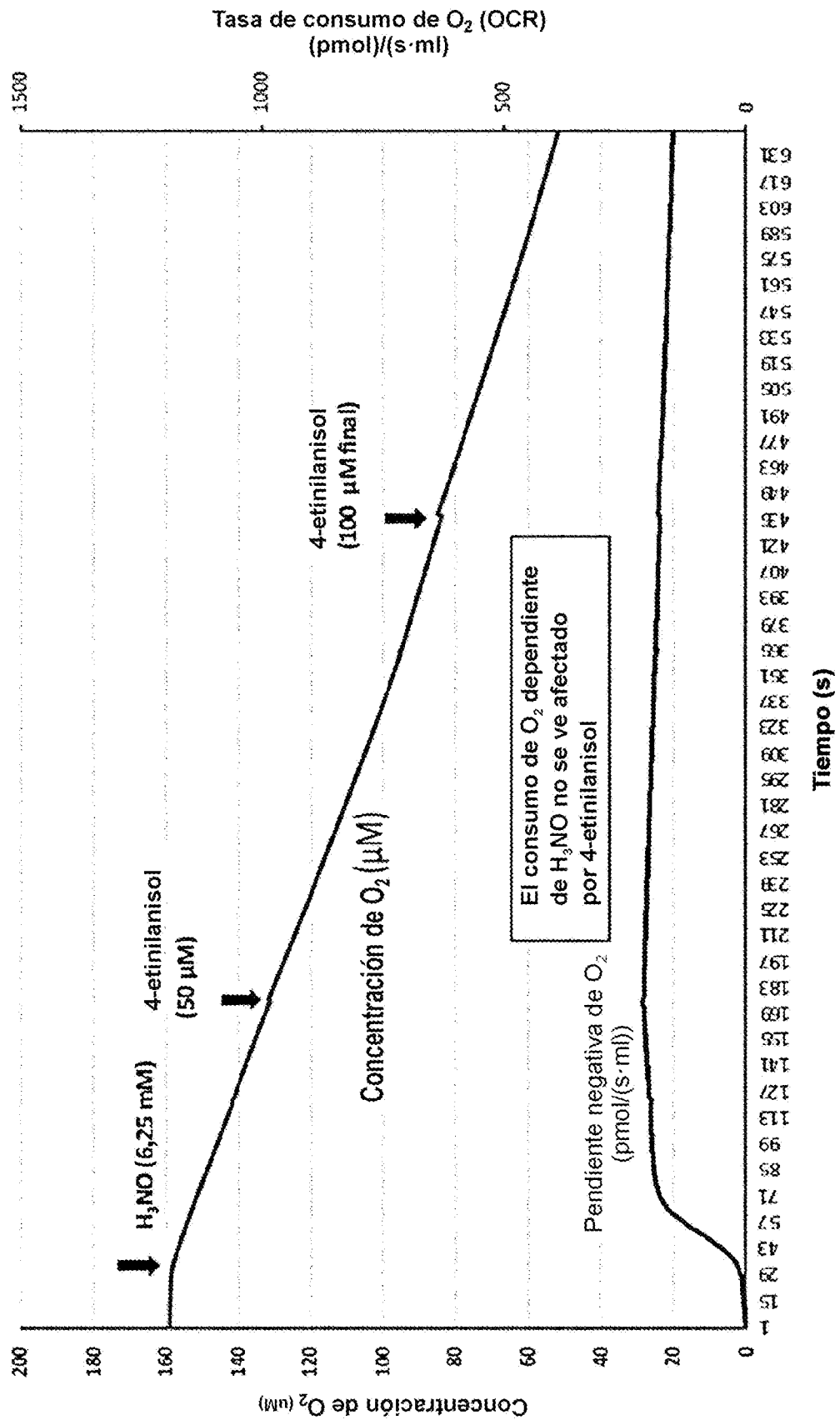


Figura 2-15

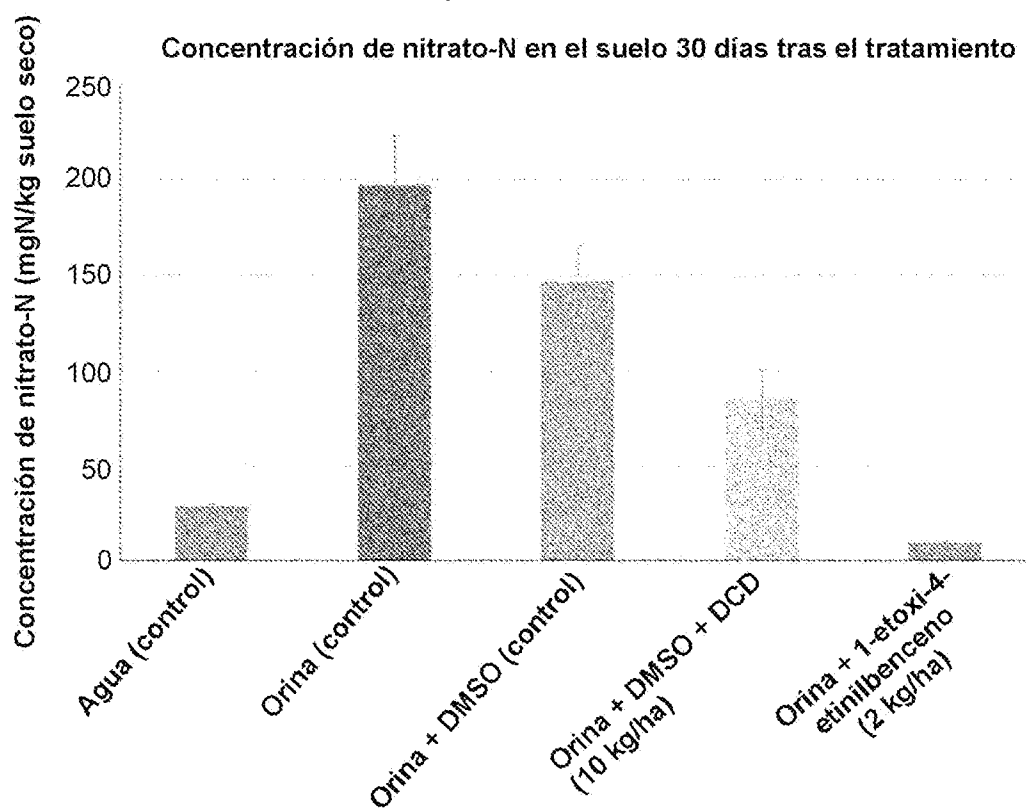
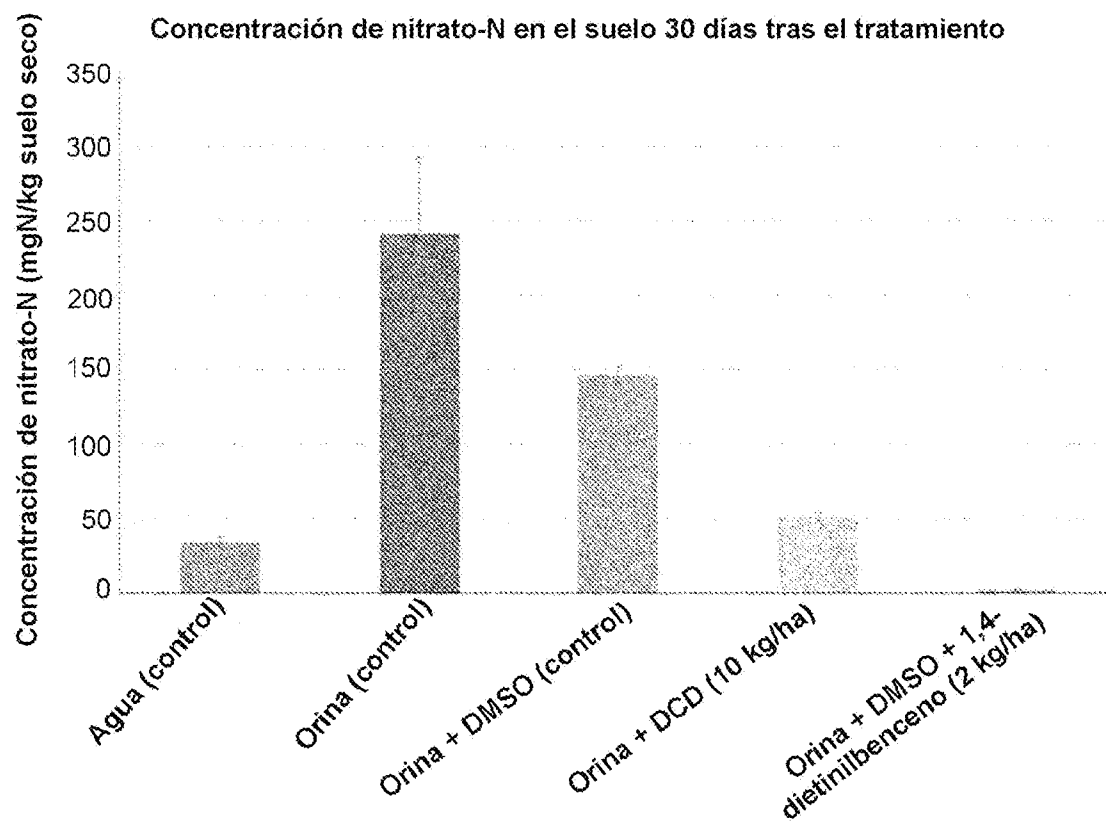


Figura 2-16



REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN

Esta lista de referencias citada por el solicitante es únicamente para mayor comodidad del lector. No forman parte del documento de la Patente Europea. Incluso teniendo en cuenta que la compilación de las referencias se ha efectuado con gran cuidado, los errores u omisiones no pueden descartarse; la EPO se exime de toda responsabilidad al respecto.

Literatura no patente citada en la descripción

- *CHEMICAL ABSTRACTS*, 1017793-08-6
- **DAI, Y; DI, H.J.; CAMERON, K.C.; HE, J.Z.** Effects of nitrogen application rate and a nitrification inhibitor dicyandiamide on ammonia oxidizers and N₂O emissions in a grazed pasture soil. *Science of the Total Environment.*, 2013, vol. 465, 125-135
- **DI, HONG; CAMERON, KEITH C.** Inhibition of nitrification to mitigate nitrate leaching and nitrous oxide emissions in grazed grassland: a review. *J Soils Sediments*, 2016, vol. 16, 1401-1420
- **DI HJ; CAMERON KC.** The use of a nitrification inhibitor, dicyandiamide (DCD), to reduce nitrate leaching and nitrous oxide emissions in a simulated grazed and irrigated grassland. *Soil Use Manag.*, 2002, vol. 18, 395-403
- **DI, H.J; CAMERON, K.C; R.R. SHERLOCK.** Comparison of the effectiveness of a nitrification inhibitor, dicyandiamide (DCD), in reducing nitrous oxide emissions in four different soils under different climatic and management conditions. *Soil Use and Management*, 2007, vol. 23, 1-9
- **DE KLEIN, C; CAMERON, K.C; DI, H.J.; RYS, G.; MONAGHAN, R.; SHERLOCK, R.R.** The effect of long-term use of the nitrification inhibitor DCD on reducing N₂O emissions from cow urine. *Animal Feed Science and Technology*, 2011, vol. 166- 167, 480-491
- **GRIESS, P.; H.H. WESELSKY; BENEDIKT.** Ueber einige azoverbindungen. *Chem. Ber.*, vol. 12, 426-8
- **TISDALE, SAMUEL L.; NELSON, WERNER L.; BEATON, JAMES D.** *Soil fertility and fertilizers*, 1985, ISBN 0-02-420830-2, 161-168