

Composición de recubrimiento de semillas que comprende un ácido orgánico

Descripción

Campo de la invención

La presente invención hace referencia a composiciones de recubrimiento, particularmente, para semillas de cultivos de leguminosas.

Antecedentes de la invención

En el arte previo es bien conocida la práctica agrícola de cubrir semillas y se lleva a cabo por diversas razones.

El tratamiento de semillas para combatir plagas y enfermedades se ha practicado desde hace cientos de años, comenzando con el uso de sustancias inorgánicas simples como el arsénico, el sulfato de cobre y el azufre para controlar las enfermedades fúngicas en los cultivos de cereales. La primera prueba de la actividad del sulfato de cobre contra el tizón del trigo fue reportada por Schulthess en 1761. El primer fungicida orgánico de amplio espectro, Thiram (Tisdale y Flenner) se introdujo en 1942 y el primer tratamiento insecticida orgánico para semillas, γ -hexaclorociclohexano (Slade) en 1945.

Los primeros productos para el tratamiento de semillas eran polvos, pero las formulaciones modernas tienden a ser líquidas porque son más seguras de utilizar y tienen propiedades de aplicación mejoradas. Los tratamientos para protección con líquidos para semillas están disponibles en muchos tipos de formulaciones, como soluciones, emulsiones, concentrados en suspensión y suspensiones en cápsulas. Las formulaciones líquidas pueden estar basadas en disolventes orgánicos o en agua.

También se conoce en la técnica anterior el recubrimiento de semillas con nutrientes o fertilizantes para plantas. El fósforo es un nutriente interesante para suministrar a las semillas porque favorece el crecimiento de las raíces, lo que aumenta la capacidad de la planta para absorber nutrientes del suelo.

En el caso de cultivos de leguminosas como la soja (*Glycine max*), alfalfa (*Medicago sativa*), trébol (*Trifolium*), avejas (*Pisum sativum*), garbanzos (*Cicer arietinum*), habichuelas (*Phaseolus vulgaris*), lentejas (*Lens culinaris*), lupinos (*Lupinus Alba*, *Lupinus Angustifolius*) y maní (*Arachis hipogaea*), es una práctica común recubrir las semillas con inoculantes de rizobios.

Las leguminosas pueden formar relaciones simbióticas con las bacterias rizobias dentro de los nódulos de las raíces, que pueden fijar el nitrógeno atmosférico, convirtiéndolo en formas que luego la planta puede utilizar.

La aplicación de inoculante de rizobios a semillas de legumbres puede mejorar este proceso y mejorar la productividad. Las composiciones inoculantes de uso comercial están disponibles en preparaciones secas a base de turba, como las descritas en el documento CA512197, o como formulaciones líquidas.

El documento RU2753584C1 (2021) describe una mezcla que comprende sales inorgánicas, lignohumato y ácido succínico, que se disuelve en agua y se pulveriza como fertilizante foliar.

El documento KR102082251B1 (Kim Keun Tae, 2020) describe composiciones fertilizantes líquidas que comprenden 0,05 % en peso de fosfato de magnesio, cloruro de manganeso, bórax, sulfato de hierro, cloruro de cobre, sulfato de zinc y molibdato de amonio, y 4 % en peso de ácido cítrico. Las composiciones se pulverizan sobre los cultivos como fertilizante foliar.

El documento WO2020245586 (Yara UK, 2020) divulga una composición de recubrimiento para semillas de leguminosas que comprende fósforo, monoetanolamina, molibdeno y vitamina B12. Estas composiciones aumentan la formación de nódulos de rizobios en las raíces de los cultivos.

Se llevaron a cabo investigaciones adicionales para encontrar otros compuestos que también podrían aumentar la formación de nódulos en estos cultivos de leguminosas.

Resumen de la invención

Se descubrió que la adición de ácidos dicarboxílicos C₄ a las composiciones de recubrimiento de semillas aumentaba la formación de nódulos en cultivos de leguminosas.

En su aspecto más amplio, la presente divulgación proporciona una composición líquida para recubrir semillas, comprendiendo la composición del 0,1 al 10 % en peso de un compuesto seleccionado del grupo que consiste en ácido succínico, ácido málico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido fumárico, cualquier sal de estos, y cualquier mezcla de estos.

En una realización, la presente divulgación proporciona una composición líquida para recubrimiento de semillas que comprende de 10 a 250 g/l de molibdeno, del 0,001 al 1,0 % en peso de una vitamina B12 y del 0,1 al 10 % en peso de un compuesto seleccionado del grupo que consiste en ácido succínico, ácido málico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido fumárico, cualquier sal de estos y cualquier mezcla de estos.

En otra realización, la presente divulgación proporciona una composición líquida que comprende ácido fosfórico, una etanolamina y del 0,1 al 10 % en peso de un compuesto seleccionado del grupo que consiste en ácido succínico, ácido málico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido fumárico, cualquier sal de estos, y cualquier mezcla de estos.

En otra realización, la presente divulgación proporciona una composición líquida que comprende cobalto, molibdeno y del 0,1 al 10 % en peso de un compuesto seleccionado del grupo que consiste en ácido succínico, ácido málico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido fumárico, cualquier sal de estos, y cualquier mezcla de estos.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un método para preparar semillas de cultivos de leguminosas que comprende los siguientes pasos: a) recubrir las semillas con una composición líquida de acuerdo con la presente divulgación, b) recubrir las semillas con una composición que comprende un inoculante de rizobios, y c) secar las semillas recubiertas con ambas composiciones.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona el uso de una composición líquida de acuerdo con la presente divulgación para el recubrimiento de semillas de cultivos de leguminosas, en particular para aumentar la formación de nódulos.

Descripción detallada de la invención

A menos que se defina lo contrario, todos los términos utilizados en la divulgación de la presente invención, incluyendo los términos técnicos y científicos, tienen el mismo significado que comúnmente entiende un experto en la técnica a la que esta invención pertenece. A modo de orientación adicional, se incluyen definiciones de términos para apreciar mejor las enseñanzas de la presente invención.

Todas las referencias citadas en esta descripción se consideran incorporadas en su totalidad a modo de referencia.

Tal como se utilizan en este documento, los siguientes términos tienen los siguientes significados:

"Un", "una", "el", "la", "los", "las", tal como se utilizan en este documento, se refieren a referentes tanto en singular como en plural, a menos que el contexto indique claramente lo contrario. A modo de ejemplo, "un compartimento" se refiere a uno o más de un compartimento.

"Aproximadamente", como se utiliza en el presente documento y se refiere a un valor medible tal como un parámetro, una cantidad, una duración temporal y similares, pretende abarcar variaciones de $\pm 20\%$ o menos, en particular $\pm 10\%$ o menos más en particular $\pm 5\%$ o menos, incluso más en particular $\pm 1\%$ o menos, y aún más en particular $\pm 0,1\%$ o menos del valor especificado, en la medida en que tales variaciones sean apropiadas de realizar en la invención divulgada. Sin embargo, debe entenderse que el valor al que se refiere el modificador "aproximadamente" también se divulga específicamente.

"Comprenden", "que comprende", y "comprende" y "compuesto por" como se utilizan en el presente documento son sinónimos de "incluir", "que incluye", "incluye" o "contienen", "que contiene", "contiene" y son inclusivos o términos abiertos que especifican la presencia de lo que sigue, p.ej., un componente, y no excluyen ni impiden la presencia de componentes, características, elementos, elementos o pasos adicionales no mencionados, conocidos en la técnica o divulgados en la misma.

La mención de rangos numéricos mediante criterios de valoración incluye todos los números y fracciones incluidos dentro de ese rango, así como los criterio de valoración mencionados.

La expresión "porcentaje en peso" o "% en peso", aquí y en toda la descripción, a menos que se defina lo contrario, se refiere al peso relativo del componente respectivo basado en el peso total de la formulación.

En el contexto de esta divulgación, rizobios se refiere al grupo de bacterias que es capaz de nodular en las raíces de las leguminosas, también denominadas cultivos de leguminosas. El grupo de los rizobios no incluye el grupo de las rizobacterias, en particular el grupo de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR por sus siglas en inglés), tal como lo definen Kloepper y

Schroth en M. N. en Proc 4th int. Conf. Plant Pathogenic Bacteria vol. 2 (ed. Station de Pathologie Végétale et Phytobactériologie) 879-882 (Gibert-Clarey, Tours, 1978). Las PGPR son bacterias que pueden crecer cerca de las raíces de los cultivos, pero no forman nódulos en las raíces de los cultivos.

En su aspecto más amplio, la presente divulgación proporciona una composición líquida para recubrir semillas, comprendiendo la composición del 0,1 al 10 % en peso de un compuesto seleccionado del grupo que consiste en ácido succínico, ácido málico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido fumárico, cualquier sal de estos, y cualquier mezcla de estos.

En una primera realización, la presente divulgación proporciona una composición líquida que comprende cobalto, molibdeno y del 0,1 al 10 % en peso de un compuesto seleccionado del grupo que consiste en ácido succínico, ácido málico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido fumárico, cualquier sal de estos y cualquier mezcla de estos. El grupo que consta de ácido succínico, ácido málico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido fumárico, cualquiera de sus sales y cualquier mezcla de estos, es el grupo formado por ácido succínico, ácido málico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido fumárico, cualquier sal de ácido succínico, cualquier sal de ácido málico, cualquier sal de ácido maleico, cualquier sal de ácido tartárico, cualquier sal de ácido fumárico y cualquier mezcla que comprende dos o más de los componentes, ácidos y sales citados en el presente documento.

En una segunda realización, la presente divulgación proporciona una composición líquida que comprende ácido fosfórico, una etanolamina y del 0,1 al 10 % en peso de un compuesto seleccionado del grupo que consiste en ácido succínico, ácido málico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido fumárico, cualquier sal de estos y cualquier mezcla de estos.

Como se usa en el presente documento, ácido fosfórico se refiere a una composición seleccionada del grupo que consiste en ácido ortofosfórico, cualquier ácido oligofosfórico, cualquier ácido polifosfórico y mezclas de estos. El término genérico, ácido fosfórico, se refiere al grupo de compuestos que comprenden uno o más átomos de fósforo, en donde uno o más átomos de fósforo están en el estado de oxidación +5, y uno o más átomos de fósforo están unidos a átomos de oxígeno. H_3PO_4 , también llamado ácido ortofosfórico, es la molécula más pequeña de este grupo. Pero puede reaccionar consigo mismo para formar sus polímeros, como el ácido pirofosfórico, $\text{H}_4\text{P}_2\text{O}_7$, y el ácido trifosfórico, $\text{H}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$. Los ácidos oligofosfóricos lineales y los ácidos polifosfóricos tienen la fórmula general $\text{H}_{n+2}\text{P}_n\text{O}_{3n+1}$, donde n es un número entero. Los ácidos oligofosfóricos y polifosfóricos también pueden tener ciclos m en su estructura, en la que m es un número entero. La fórmula general de los ácidos oligofosfóricos y polifosfóricos lineales o cíclicos es $\text{H}_{n+2-2m}\text{P}_n\text{O}_{3n+1-m}$, donde n y m son números enteros. Los ácidos oligofosfóricos se refieren a polímeros en los que n es igual o menor que 10; Los ácidos polifosfóricos se refieren a los polímeros en los que n es mayor que 10.

En una realización, la composición comprende ácido ortofosfórico. El ácido ortofosfórico es una fuente de fósforo adecuada y bien conocida para usos agrícolas. Está ampliamente disponible y bien absorbido por las plantas.

Se descubrió que la adición de ácidos dicarboxílicos C_4 a composiciones de recubrimiento de semillas que comprenden ácido fosfórico y una etanolamina aumentaba la formación de nódulos en cultivos de leguminosas.

En su aspecto más amplio, un compuesto se selecciona del grupo que consiste en ácido succínico, ácido málico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido fumárico, cualquier sal de estos y cualquier mezcla de estos. Estas moléculas son metabolitos conocidos de los rizobios y fuentes de carbono que los rizobios pueden asimilar y utilizar para su desarrollo. Se imaginó que proporcionar a las semillas uno o más de estos ácidos o sales aumentaría la nodulación temprana de los rizobios.

El ácido dicarboxílico C_4 también se puede añadir a la composición en forma de sal. Las composiciones líquidas para recubrimiento de semillas suelen tener un pH de aproximadamente de 7, por ejemplo de 6,0 a 7,5. A este pH, el ácido carboxílico puede estar en su forma carboxilato. Así, el ácido dicarboxílico C_4 puede ser cualquier sal monovalente o bivalente de los compuestos citados anteriormente. Por ejemplo, la sal puede ser una sal de sodio, una sal de calcio, una sal de potasio o una sal de litio.

En una realización, la composición comprende una sal potásica de ácidos fosfóricos. El ácido puede ser ácido ortofosfórico o un ácido polifosfórico. El potasio es un nutriente para las plantas, por lo que puede ser una ventaja suministrarlo a las semillas para ayudar en la fase temprana de crecimiento. Es compatible con los demás componentes de la composición líquida y no afecta el desarrollo de los rizobios.

En una realización, la composición comprende del 1 al 45 % en peso, en particular del 5 al 45, más en particular del 10 al 40, incluso más en particular del 15 al 40 % en peso de ácido ortofosfórico.

En una realización, la composición comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 250 g/l, en particular de aproximadamente 50 a aproximadamente 200 g/l de fósforo, expresado como P_2O_5 . Es ventajoso tener una concentración alta de fósforo en la composición líquida. Esto permite proporcionar a la semilla una elevada cantidad de fósforo sin utilizar una gran cantidad de la composición. Sin embargo, no es deseable y/o posible utilizar una composición con una concentración mayor ya que esto conduce a problemas de estabilidad y también podría dañar las semillas.

Es conocido en el campo de la agricultura recubrir semillas con una composición que comprende fósforo. El fósforo (P) contribuye, entre otras cosas, al crecimiento de las raíces. Recubrir una semilla con una fuente disponible de fósforo garantiza que la semilla tenga suficiente fósforo

para la primera etapa de crecimiento y permite que crezcan raíces fuertes y largas que podrán absorber los nutrientes necesarios del suelo, una vez que los nutrientes que recubren las semillas se hayan consumido.

Un criterio importante para las composiciones que van a recubrir las semillas, especialmente semillas de leguminosas, es el pH de las composiciones de recubrimiento. De hecho, las semillas de los cultivos de leguminosas suelen rociarse con un inoculante de rizobios. Los rizobios son bacterias capaces de fijar el gas nitrógeno de la atmósfera en una forma disponible para las plantas, por ejemplo, iones de amonio, que posteriormente pueden transformarse en nitratos, que están aún más disponibles para las plantas que el amonio. Los rizobios prefieren un ambiente con un pH neutro. Un valor de pH de 6,0 a 7,5 se considera ideal para el crecimiento de los rizobios. Los rizobios necesitan un huésped para crecer y fijar gas nitrógeno y se ha observado que crecen particularmente bien en los nódulos de las raíces de los cultivos de leguminosas. Por eso inocular las semillas de estos cultivos con la bacteria se ha convertido en una práctica común. Esto reduce la cantidad de fertilizante que contiene nitrógeno que se debe suministrar a los cultivos y mejora la calidad del suelo.

Sin embargo, las composiciones líquidas que comprenden fósforo pueden ser bastante ácidas, especialmente si la fuente de fósforo es un ácido fosfórico, por ejemplo ácido ortofosfórico o ácidos polifosfóricos. Y se ha observado que las composiciones para el tratamiento de semillas que comprenden una fuente de amonio, nitrato y/o urea retrasan o inhiben la formación de nódulos, por lo que es deseable evitar compuestos que contengan estas fuentes de nitrógeno en la composición para el tratamiento de semillas. Por consiguiente, no se recomiendan las fuentes comunes de fósforo para fertilizantes, como el fosfato amónico, el fosfato diamónico, el fosfato de urea y el polifosfato amónico, aunque tienen un pKa mucho más alto que el ácido fosfórico.

Gracias al documento WO2019106338A1 (Yara, 2019), se conoce la preparación de soluciones líquidas que comprenden un alto contenido de fósforo, en donde la composición líquida no contiene nitrato, amonio o urea, y el pH de la solución líquida está alrededor del punto neutro $\text{pH} = 7$. Se descubrió que el pH de la composición podía elevarse hasta el nivel deseado añadiendo monoetanolamina (número CAS = 141-43-5). La monoetanolamina es una pequeña molécula bidentada con dos sitios funcionales, una amina primaria y un alcohol primario. Agregarlo a la composición aumenta el pH, pero también estabiliza los aniones fosfato. La monoetanolamina no contiene nitrógeno fácilmente disponible para la planta, por lo que no se observó ningún efecto perjudicial para el crecimiento de nódulos. En lugar de monoetanolamina se pueden utilizar otros compuestos pertenecientes a la familia de las etanolaminas, como la dietanolamina (número CAS = 111-42-2) o la trietanolamina (número CAS = 102-71-6).

Como se usa en el presente documento, una etanolamina se refiere a un compuesto seleccionado del grupo que consiste en monoetanolamina, dietanolamina y trietanolamina. El disolvente para la composición líquida puede ser esencialmente agua, esto significa que el agua es el componente principal del disolvente, pero puede contener pequeñas cantidades o trazas de otros productos químicos presentes de forma natural en la fuente de agua o añadidos a la fuente de agua. El disolvente también puede ser una mezcla de disolventes que comprende agua y otros disolventes adecuados para su uso en agricultura tales como alcoholes, glicoles y sus derivados, tales como los éteres. El disolvente o mezcla de disolventes debe ser capaz de solubilizar los diferentes componentes de la composición líquida a temperatura ambiente. Además, debe presentar un riesgo limitado para la salud para facilitar su uso por parte de los agricultores u operadores. En una realización, el disolvente es esencialmente agua.

En una realización, la composición comprende del 1 al 20% en peso de una etanolamina. En una realización, la composición comprende del 2 al 20 % en peso, en particular del 5 al 20 % en peso, más en particular del 5 al 15 % en peso, incluso más en particular del 10 al 15 % en peso, de una etanolamina.

En una realización, la composición comprende del 1 al 20% en peso de monoetanolamina. En una realización, la composición comprende del 2 al 20 % en peso, en particular del 5 al 20, más en particular del 5 al 15, incluso más en particular del 10 al 15 % en peso, de monoetanolamina.

En una realización, la proporción en peso entre monoetanolamina y ácido ortofosfórico oscila entre 1:5 y 1:1, en particular entre 1:3 y 1:1. Es necesario ajustar la proporción en peso de monoetanolamina a ácido ortofosfórico para optimizar las características de la composición. Si se agrega muy poca monoetanolamina, es posible que la solución no sea lo suficientemente estable, que el pH no sea lo suficientemente alto y que los rizobios no estén en condiciones óptimas. Si se usa demasiada monoetanolamina, el costo de la composición aumentará innecesariamente, el pH podría aumentar demasiado y el contenido de nutrientes disminuirá ya que la monoetanolamina no contiene ningún nutriente que esté fácilmente disponible para la planta.

En una realización, el pH de la composición es de 6,0 a 7,5. Los rizobios prefieren un ambiente con un pH neutro. Un valor de pH de 6,0 a 7,5 se considera ideal para el crecimiento de los rizobios.

En una realización, la composición comprende del 0,5 al 10 % en peso, del 1,0 al 10 % en peso, del 0,1 al 8,0 % en peso, del 0,5 al 8,0 % en peso, del 1, 0 al 8,0% en peso, del 0,1 a 6,0 % en peso, del 0,5 al 6,0 % en peso o del 1, 0 al 6,0% en peso del ácido dicarboxílico C₄.

En una realización, el ácido dicarboxílico C₄ es ácido málico. Se encontró que Málico era particularmente adecuado para usarse en las composiciones de acuerdo con la presente divulgación.

El ácido málico está disponible comercialmente en varios proveedores a un costo razonable y no es tóxico. Es estable en la composición y aumenta la nodulación de los rizobios.

En una realización, la composición comprende del 0,5 al 10 % en peso, del 1,0 al 10 % en peso, del 0,1 al 8,0 % en peso, del 0,5 al 8,0 % en peso, del 1, 0 al 8,0 % en peso, del 0,1 al 6,0 % en peso, del 0,5 al 6,0 % en peso o del 1, 0 al 6,0 % en peso de ácido málico.

El molibdeno (Mo) es un micronutriente requerido por las plantas y se sabe que participa en una variedad de procesos biológicos en las plantas. Por ejemplo, es necesario para la síntesis y para la actividad de la enzima nitrato reductasa, que reduce el nitrógeno nitrato en la planta. El Mo también es importante para la fijación simbiótica de nitrógeno por las bacterias Rhizobia en los nódulos de las raíces de las leguminosas, que depende de la actividad de la enzima nitrogenasa bacteriana dependiente del Mo.

En una realización, la composición comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 250 g/l, en particular de aproximadamente 50 a aproximadamente 200 g/l, de molibdeno. Es ventajoso tener una alta concentración de molibdeno en la composición líquida. Esto permite proporcionar a la semilla una gran cantidad de molibdeno sin utilizar una gran cantidad de la composición.

En una realización, la composición comprende molibdeno en forma de molibdato de sodio. El molibdato de sodio es una fuente adecuada conocida de molibdeno para composiciones de recubrimiento de semillas. Está disponible comercialmente y tiene un perfil de seguridad razonable para que pueda utilizarse en la producción industrial.

En una realización, la composición comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 250 g/l, de aproximadamente 50 a aproximadamente 200 g/l, o de aproximadamente 10 a aproximadamente 200 g/l de molibdato de sodio.

El cobalto también desempeña un papel en la fijación simbiótica de nitrógeno y es complementario del Mo. En una realización, la composición líquida comprende un compuesto seleccionado del grupo que consiste en vitamina B12, una sal de cobalto, un quelato de cobalto y mezclas de estos. El cobalto puede estar presente en la composición como vitamina B12, sal de cobalto o quelato de cobalto.

El cobalto está presente en la vitamina B12, que participa en varios procesos bioquímicos y es vital para el crecimiento y desarrollo de la bacteria Rhizobia. Las composiciones para el tratamiento de semillas normalmente comprenden una sal o quelato de cobalto como fuente de cobalto. Las sales de cobalto adecuadas para uso agrícola incluyen sulfato de cobalto, cloruro de cobalto y nitrato de cobalto.

En una realización, la composición líquida comprende vitamina B12. Se sabe que al menos una parte del cobalto absorbido por los rizobios se transforma en vitamina B12. Entonces, se pensó

que suministrar directamente vitamina B12 a la semilla aumentaría la eficiencia de la nutrición con cobalto.

En una realización, la vitamina B12 está presente como uno o más de cobalamina, cianocobalamina, hidroxocobalamina, metilcobalamina y adenosilcobalamina. La vitamina B12 también se conoce como cobalamina, y es un complejo metálico con un átomo de cobalto en el centro rodeado por un anillo de corrina. Un anillo de corrina es un macrociclo de 15 miembros que comprende una pirrolidina y tres anillos de dihidropirrol. El complejo metálico formado por el metal y el anillo de corrina no es estable y requiere un ligando adicional, que puede ser un grupo cianuro, un hidroxilo, un metilo o un 5'-desoxiadenosilo.

En una realización, la composición líquida comprende del 0,001 al 1,0 % en peso, del 0,001 al 0,05 % en peso, del 0,005 al 1,0 % en peso o del 0,005 al 0,1 % en peso de una vitamina B12. Se descubrió que una cantidad muy pequeña de vitamina B12 era suficiente para aumentar la nodulación de rizobios en los cultivos.

Los compuestos de molibdeno y cobalto también se pueden añadir a la segunda realización de la composición líquida que comprende ácido fosfórico, una etanolamina y un compuesto seleccionado del grupo que consiste en ácido succínico, ácido málico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido fumárico, cualquier sal de estos y cualquier mezcla de estos.

Asimismo, se pueden agregar ácido fosfórico y etanolamina a la primera realización descrita anteriormente que comprende cobalto y molibdeno.

Los componentes opcionales que se describen a continuación se pueden agregar tanto a la primera como a la segunda realización de la presente invención.

En una realización, la composición líquida comprende un componente quelato de hierro. En una realización, el componente quelato de hierro es un complejo quelato férrico de un agente quelante, en el que el agente quelante es un aminoalcohol o un ácido aminopolicarboxílico, en particular seleccionado del grupo de etilendiamina-N,N'-bis(2-ácido hidroxifenilacético) (EDDHA), ácido etilendiamina-N,N'-di[(orto-hidroxifenil)acético], ácido etilendiamina-N-[(orto-hidroxifenil)acético]-N'-[ácido(para-hidroxifenil)acético], ácido etilendiamina-N,N'-di[orto-hidroximetilfenil]acético], ácido etilendiamina-N-[orto-hidroximetilfenil]acético]-N'-[ácido(para-hidroximetilfenil)acético] o ácido N,N'-di(2-hidroxibencil)etilendiamino-N,N'-diacético, ácido etilendiaminotetraacético y mezclas de estos. Los quelatos de hierro están disponibles en el mercado en una amplia gama de compuestos. Se encontró que aquellos que comprenden un aminoalcohol o un ácido aminopolicarboxílico son particularmente adecuados para el presente agente acondicionador. Por lo general, no son tóxicos para las plantas y tienen una alta solubilidad en un amplio rango de disolventes orgánicos, incluyendo los disolventes de glicol y éter de glicol. Los complejos férricos de los siguientes compuestos: ácido etilendiamina-N, N'-di[(orto-hidroxifenil)acético], ácido

etilendiamina-N-[(orto-hidroxifenil)acético]-N'-[ácido (para-hidroxifenil)acético], ácido etilendiamina-N,N'-di[orto-hidroximetilfenil]acético], ácido etilendiamina-N-[orto-hidroximetilfenil]acético]-N'-[ácido (para-hidroximetilfenil)acético], ácido etilendiaminotetraacético o ácido N,N'-di(2-hidroxibencil)etilendiamino-N,N'-diacético, son ácidos aminopolicarboxílicos y se sabe que son fuentes de hierro adecuadas para fuentes agrícolas. Cada uno de ellos es estable en un rango específico de pH. El agente quelante garantiza que el catión de hierro permanezca en su forma soluble disponible para las plantas y no se oxide formando óxido de hierro, que no es soluble en agua y las plantas no lo absorben.

En una realización, la composición líquida comprende un inoculante de rizobios. Los inoculantes de *Rhizobium* son composiciones que comprenden una o más especies de bacterias *Rhizobium*. Se pueden añadir a la composición líquida de modo que se pueda añadir una única composición a las semillas y proporcionar tanto las bacterias como los nutrientes.

En una realización, la composición líquida comprende un agente anticongelante, en particular seleccionado del grupo que consiste en glicerina, monopropilenglicol, monoetilenglicol, azúcares, alcoholes de azúcar y cualquier mezcla de estos. Por razones de estabilidad durante el almacenamiento en condiciones climáticas variadas, resulta ventajoso incorporar un agente anticongelante en la composición de tratamiento de semillas. El componente anticongelante debe ser aceptable en la agricultura y no tener ningún efecto perjudicial sobre las bacterias rizobios. Los aditivos anticongelantes adecuados son glicerina, monopropilenglicol, monoetilenglicol, azúcares y alcoholes de azúcar, como por ejemplo, el sorbitol.

En una realización, la composición comprende un agente bioestático, en particular, seleccionado del grupo de propionato de sodio, ácido láctico, benzoato de sodio y cualquier mezcla de estos. En una realización, la composición comprende propionato de sodio y ácido láctico. Se ha descubierto que las composiciones líquidas como las descritas anteriormente son susceptibles de deterioro biológico, por ejemplo, por el crecimiento de moho. Por tanto, es ventajoso incorporar un conservante a la composición. Sin embargo, el uso de biocidas típicos de amplio espectro como el 2-metil-2H-isotiazolin-3-ona (MIT) o el 1,2-bencisotiazol-(2H)-ona (BIT) no es deseable ya que podrían tener un efecto nocivo sobre las bacterias *Rhizobium* si la composición se aplicase conjuntamente a la semilla con el inoculante. Por lo tanto, se ha descubierto que el uso de agentes bioestáticos tales como propionato de sodio o ácido láctico es más adecuado, ya que protegen la composición del deterioro pero no destruyen las bacterias del rizobio cuando se mezclan en un tratamiento de semillas coaplicado.

En una realización, la composición líquida comprende del 0,1 al 1,0 % en peso, del 0,1 al 0,5 % en peso, del 0,2 al 0,5 % de un extracto bioestimulante, tal como un extracto de algas marinas,

ácido húmico, aminoácido o extracto de los mismos. El extracto bioestimulante puede aliviar el estrés abiótico potencial de la semilla en su entorno.

En una realización, la composición comprende ácido fosfórico, monoetanolamina, cobalto, molibdeno y del 0,1 al 10 % en peso de un compuesto seleccionado del grupo que consiste en ácido succínico, ácido málico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido fumárico, cualquier sal de estos, y cualquier mezcla de estos.

En una realización, la composición comprende ácido fosfórico, monoetanolamina, cobalto, molibdeno y del 0,1 al 10 % en peso de ácido málico.

En una realización, la composición comprende ácido fosfórico, monoetanolamina, vitamina B12, molibdeno y del 0,1 al 10 % en peso de ácido málico.

En una realización, la composición comprende ácido fosfórico, monoetanolamina, una vitamina B12, molibdeno y del 0,1 al 10 % en peso de un compuesto seleccionado del grupo que consiste en ácido succínico, ácido málico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido fumárico, cualquier sal de estos, y cualquier mezcla de estos.

En una realización, la composición comprende ácido fosfórico, monoetanolamina, cobalto, molibdato de sodio y de 0,1 al 10 % en peso de ácido málico.

En una realización, la composición comprende ácido fosfórico, monoetanolamina, cobalto, molibdato de sodio y del 0,1 al 10 % en peso de un compuesto seleccionado del grupo que consiste en ácido succínico, ácido málico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido fumárico, cualquier sal de estos, y cualquier mezcla de estos.

En una realización, la composición comprende ácido ortofosfórico, monoetanolamina, del 0,1 al 10 % en peso de ácido málico, EDDHA con hierro, molibdato de sodio, cianocobalamina, glicerina, propionato de sodio, ácido láctico y agua.

En una realización, la composición comprende ácido ortofosfórico, monoetanolamina, del 0,1 al 10 % en peso de ácido málico, EDTA con hierro, molibdato de sodio, cianocobalamina, monopropilenglicol, propionato de sodio, benzoato de sodio, ácido láctico y agua.

En una realización, la composición comprende ácido ortofosfórico, monoetanolamina, ácido málico, EDTA de hierro, molibdato de sodio, cianocobalamina, monoetilenglicol, propionato de sodio, benzoato de sodio, ácido láctico y agua.

En una realización, la composición comprende ácido ortofosfórico, monoetanolamina, ácido málico, EDDHA con hierro, molibdato de sodio, cianocobalamina, monoetilenglicol, propionato de sodio, benzoato de sodio, ácido láctico y agua.

En una realización, la composición comprende ácido ortofosfórico, monoetanolamina, ácido málico, EDDHA con hierro, molibdato de sodio, cianocobalamina, glicerina, propionato de sodio, benzoato de sodio, ácido láctico y agua.

En una realización, la composición comprende del 1 al 45 % en peso de ácido ortofosfórico, del 1 al 20 % en peso de monoetanolamina, del 0,1 al 10 % en peso de ácido málico, del 0,1 al 1,0 % en peso de EDDHA con hierro, del 1 al 25 % en peso de molibdato de sodio, del 0,001 al 1,0 % en peso de cianocobalamina, en particular del 0,001 al 0,1 % en peso de cianocobalamina, del 1 al 15 % en peso de glicerina, del 0,01 al 1,0 % en peso de propionato de sodio, del 0,01 al 1,0 % en peso % de ácido láctico, del 0,1 al 1,0 % de benzoato de sodio y del 40 al 80 % en peso de agua.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un método para preparar semillas de cultivos de leguminosas que comprende los pasos de: a) recubrir las semillas con una composición que comprende un inoculante de rizobios; b) recubrir las semillas con la composición líquida de acuerdo con la presente divulgación; y c) secar las semillas recubiertas con ambas composiciones.

Las dos composiciones de recubrimiento, es decir, una que comprende ácido málico y otra que comprende un inoculante de rizobios, se pueden añadir consecutiva o simultáneamente a las semillas.

Los pasos a) y b) se pueden realizar simultáneamente mezclando previamente ambas composiciones o aplicando ambas composiciones al mismo tiempo, por ejemplo utilizando múltiples medios de recubrimiento, tales como pulverizadores o boquillas.

La composición que comprende un inoculante de rizobios puede ser una composición líquida, en particular una composición líquida acuosa.

En una realización, la composición líquida que comprende un inoculante de rizobios se reviste primero sobre las semillas, luego la composición líquida de acuerdo con la presente divulgación que comprende del 0,1 al 10 % en peso de un compuesto seleccionado del grupo que consiste en ácido succínico, ácido málico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido fumárico, cualquier sal de estos y cualquier mezcla de estos.

En una realización, la composición líquida que comprende un rizobio y la composición líquida de acuerdo con la presente divulgación que comprende del 0,1 al 10 % en peso de un compuesto seleccionado del grupo que consiste en ácido succínico, ácido málico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido fumárico, cualquier sal de estos y cualquier mezcla de estos se mezclan y luego se recubren las semillas. En una realización, el método comprende el paso de mezclar la composición líquida que comprende un inoculante de rizobios y la composición líquida de acuerdo con la presente divulgación; y los pasos a) y b) se realizan de manera simultánea.

El inoculante de rizobios puede ser cualquier inoculante conocido en la técnica. En particular, el inoculante de rizobios puede ser un inoculante a base de turba o un inoculante a base de líquido.

En una realización, las semillas se recubren con la composición líquida de acuerdo con la presente divulgación a una tasa de 1 a 3,5 l/t, de 1 a 3 l/t o de 1 a 2,5 l/t.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona una semilla de leguminosa que comprende una primera capa de recubrimiento de la composición líquida de acuerdo con la presente divulgación, y una segunda capa de recubrimiento que comprende un inoculante de rizobios. Como se utilizan en el presente documento, los términos "primera capa de recubrimiento" y "segunda capa de recubrimiento" no presuponen el orden de las capas de recubrimiento en la semilla, sino que solo se usan para distinguir las dos capas de recubrimiento entre sí.

La semilla de leguminosa que comprende dos capas de recubrimiento se puede preparar mediante el método descrito anteriormente.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona el uso de una composición líquida de acuerdo con la presente divulgación para el recubrimiento de semillas de cultivos de leguminosas, en particular para aumentar la formación de nódulos.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona el uso de una composición líquida de acuerdo con la presente divulgación para la aplicación al suelo. La composición líquida de acuerdo con la presente divulgación también se puede aplicar al suelo o a los semilleros antes o después de plantar las semillas.

Ejemplo 1

El ejemplo a continuación muestra la formulación requerida para hacer 1 litro de una composición de recubrimiento de semillas líquida de acuerdo con la presente invención. Los grados de materia prima que se utilizaron son los siguientes: Ácido ortofosfórico: alta pureza (calidad alimentaria); monoetanolamina al 90 %: obtenida mediante dilución de monoetanolamina al 99 % de alta pureza; EDDHA con hierro – grado técnico, ensayo 86 %; molibdato de sodio: dihidrato de molibdato de disodio de alta pureza, mínimo 39,5 % p/p de Mo; cianocobalamina: ensayo de grado cristalino puro mínimo 96 %; glicerina - grado técnico con una pureza mínima del 99,5 %; propionato de sodio - grado alimenticio; benzoato de sodio – grado alimenticio; ácido láctico - grado alimenticio 80 %.

Agua:	601,025 g
Ácido ortofosfórico 75 %:	235,25 g
Monoetanolamina 90 %:	150,00 g
Ácido málico:	30,00 g
EDDHA con hierro:	6,00 g
Molibdato de sodio:	163,50 g
Cianocobalamina:	0,125 g
Glicerina:	80,00 g
Propionato de sodio:	1,00 g
Ácido láctico 80 %:	1,00 g

Benzoato de sodio	5,10 g
Extracto de alga marina:	3,00 g

El método utilizado para elaborar la composición fue el siguiente:

Se colocó agua (500 mL) en un recipiente de vidrio equipado con un agitador de impulsor. Bajo agitación se agregaron los componentes en el siguiente orden, asegurando la completa disolución de cada uno antes de pasar al siguiente: ácido ortofosfórico 75 %, molibdato de sodio, ácido láctico, ácido málico, monoetanolamina 90%, glicerina, propionato de sodio, benzoato de sodio. , cianocobalamina (disuelta previamente en 50 mL de agua), EDDHA CON hierro y extracto de algas. Finalmente se añadió el agua restante hasta completar el volumen hasta 1 litro.

El producto resultante fue una solución roja transparente con las siguientes características físicoquímicas:

Densidad:	1,28 kg/l
pH:	6,0-7,0

El producto permaneció estable durante al menos 8 semanas cuando se almacenó a temperatura ambiente, 0 °C y 45°C.

Se llevó a cabo una prueba con la formulación en las instalaciones de investigación de YaraVita en Pocklington, Reino Unido (latitud 53°55' 34.8431"N; longitud 0° 48' 1.778"W) en condiciones controladas en un invernadero (temperatura 18°C en la noche/ 20 °C en el día, humedad relativa 70-85 %) entre el 17 de noviembre de 2020 y el 18 de diciembre de 2020.

Las semillas de Soja (*Glycine max* cv. 'Siverka') se trataron con un inoculante (Verdesian "N-take") a una dosis de 2 l/t y el producto de recubrimiento de semillas a dosis crecientes (1 y 2). En el experimento también se utilizaron tres conjuntos de semillas de control: un conjunto de control recibió sólo el tratamiento de inoculante a la misma tasa de 2 l/t; un segundo conjunto de control se recubrió con el inoculante (a una tasa de 2 l/t) y un producto comercial que contenía 62,5 g/l de Mo y 12,5 g/l de Co (derivado de molibdato de sodio y sulfato de cobalto (II)); y un tercer conjunto de control se recubrió con el inoculante (a una tasa de 3 l/t), y la composición del ejemplo 1 donde se omitió el ácido málico. Luego, las semillas se sembraron en macetas de PVC (28 cm de diámetro, 10 L) llenas con una mezcla de abono estándar (Jamieson's Brothers "Cumbria mix multiPurpose free-peat") y arena de río lavada (Sibelco RHT en bolsa seca) en una proporción de 2:1. Inicialmente se sembraron quince semillas por maceta, y cada tratamiento estuvo conformado por 5 macetas. La germinación se llevó a cabo en una cabina de crecimiento (Weiss-Technik 'Fitotron'), manteniendo una temperatura constante de 24 °C en el día/20 °C en la noche, con un régimen de 16h en el día/8h en la noche y una humedad relativa del 80 %. Se agregó agua desionizada diariamente en las

mañanas a la superficie del suelo durante la duración del estudio. Durante los primeros 10 días después de la siembra, se contó diariamente la germinación registrando el número de semillas germinadas por maceta, y las mateas se colocaron aleatoriamente en la cámara de crecimiento. El décimo día, las plantas se entresacaron de modo que solo quedaran para crecer las 4 plantas más grandes por maceta durante el resto de la prueba. Además, ese día las macetas se transfirieron a una banca en un cuarto de crecimiento más grande en el que la temperatura se mantuvo a 24 °C en el día/20 °C en la noche y se utilizó iluminación adicional para crear una duración del día de 16 h. Las macetas se reorganizaron en una banca cada dos días para garantizar la aleatorización entre los tratamientos. 29 días después de la siembra se tomaron fotografías de todas las plantas. Se enjuagaron cuidadosamente las raíces con agua desionizada para remover la tierra y se tomó otra juego de fotografías. El número de nódulos se registró para cada raíz y se presenta en la tabla 1 a continuación. Los cuatro sistemas de raíces de cada maceta (incluyendo los nódulos) se combinaron en una muestra (“muestra de raíces”), y los cuatro brotes de cada maceta representaron la otra muestra (“muestra de brotes”). Se registró el peso recién tomado de cada muestra y se tomaron los pesos secos después de dejar las muestras en un horno de secado durante 30 horas a 60 °C. El análisis de nutrientes se realizó utilizando un ICP después de la digestión completa de la muestra en los laboratorios Lancrop Laboratories, Pocklington. A partir de los datos del análisis, se calculó el contenido de nutrientes para cada muestra de nitrógeno, fósforo, zinc y cobalto. La evaluación de los datos se realizó para los valores de la media $\pm$ DS para la tasa de germinación, concentración de nutrientes, contenido de nutrientes, producción de materia fresca y seca y conteo de nódulos.

Muestra	Recuento de nódulos por maceta	Desviación Estándar
Control (solo inoculante)	6,5	$\pm 2,52$
Comercial Co/Mo + inoculante	3,6	$\pm 2,41$
Ejemplo 1 sin ácido málico + inoculante	3,0	$\pm 1,22$
Ejemplo 1 (1 l/t) + inoculante	9,8	$\pm 5,17$
Ejemplo 1 (2 l/t) + inoculante	8,4	$\pm 2,3$

Tabla 1

La presencia de ácido málico muestra un aumento significativo en el número de nódulos en las macetas tratadas con la composición de acuerdo con la presente divulgación.