

Formulación Líquida con Triacontanol y Fitohormonas para Mejorar el Crecimiento Vegetal y Tolerancia al Estrés Abiótico

DESCRIPCIÓN

La presente invención se refiere a composiciones líquidas solubles de bioestimulantes diseñadas para potenciar el proceso fotosintético y mitigar el efecto de diferentes fuentes de estrés abiótico e hídrico en las plantas, así como métodos para la preparación y métodos para la utilización de la composición. Es un bioestimulante de aplicación foliar, formulado como solución líquida de alta solubilidad, diseñado para estimular el desarrollo fisiológico de las plantas, particularmente durante etapas de alta demanda metabólica como el llenado de frutos, así como para mitigar el impacto de estreses abióticos como sequía, salinidad o baja luminosidad.

Sinergia hormonal inédita: La formulación incorpora una combinación de tres fitohormonas sintéticas (auxinas, giberelinas y citoquininas) con triacontanol, un alcohol graso de cadena larga con actividad bioestimulante. Esta combinación no ha sido reportada comúnmente en productos comerciales y genera un efecto sinérgico sobre la división y elongación celular, la síntesis de clorofila, el transporte de asimilados y la regulación del balance hormonal en etapas críticas del desarrollo vegetal.

Concentraciones únicas y balanceadas: La selección y concentración específica de cada compuesto (por ejemplo, 0.2 al 2% de triacontanol, 0.03 al 0.3% de CPPU, 0.01 al 0.1% de AIB y 0.02 al 0.2% de GA₃) ha sido determinada experimentalmente para optimizar el rendimiento agrícola sin causar fitotoxicidad, lo que representa una composición novedosa y no evidente para un experto en la materia.

Acción multifuncional: La solución líquida actúa como bioestimulante del crecimiento, inductor del desarrollo reproductivo, y como modulador fisiológico en condiciones de estrés abiótico. Esto lo convierte en una herramienta versátil para diversos cultivos y sistemas productivos.

Mejora de absorción y bioactividad: La inclusión de extractos de algas marinas (3 al 10%) y aminoácidos libres (5 al 10%) no solo aporta nutrientes secundarios y compuestos orgánicos bioactivos, sino que también facilita la absorción foliar y sistémica de las hormonas y el triacontanol, promoviendo su movilidad dentro de la planta y potenciando su eficacia.

Plataforma tecnológica integrada: La formulación representa una plataforma tecnológica integral que combina regulación hormonal, bioestimulación por alcohol graso de cadena larga, aminoácidos funcionales y metabolitos derivados de algas, orientada a maximizar la productividad en condiciones tanto óptimas como adversas.

Campo de invención

La presente invención se enmarca en el campo de los bioestimulantes agrícolas, particularmente en composiciones líquidas aplicables por vía foliar o edáfica que mejoran el desarrollo vegetal y la tolerancia al estrés abiótico.

Problema técnico que resuelve:

En la agricultura moderna, los cultivos están frecuentemente expuestos a factores ambientales adversos como sequía, salinidad o baja luminosidad, que comprometen su desarrollo y productividad. Aunque existen productos basados en fitohormonas o triacontanol, estos generalmente se presentan de forma aislada o con combinaciones poco eficaces. No existe en el mercado una formulación líquida que combine, en proporciones óptimas, triacontanol, tres fitohormonas de síntesis, extractos de algas y aminoácidos bioactivos que actúen sinérgicamente para maximizar el rendimiento vegetal bajo condiciones normales o de estrés.

Estado del arte

Se conocen productos que contienen fitohormonas individuales (como el CPPU o el ácido giberélico), triacontanol o extractos de algas. Sin embargo, la mayoría carece de una integración efectiva de estas sustancias en una única formulación

optimizada. Las soluciones actuales no logran un equilibrio adecuado entre regulación hormonal, estimulación del crecimiento y mitigación del estrés abiótico, ni aprovechan la sinergia entre los componentes para garantizar su movilidad, absorción y eficacia. No se ha reportado en la literatura técnica o en patentes previas una formulación líquida con la composición y funcionalidad de la presente invención. Por otro lado, la funcionalidad individual y sinérgica de los compuestos en la formulación se han estudiado ampliamente.

El triacontanol (TR), un alcohol graso de cadena larga ($C_{30}H_{61}OH$), es conocido por su capacidad para promover el crecimiento de las plantas. Varios estudios han demostrado que su aplicación exógena aumenta significativamente los diversos parámetros de desarrollo, el peso seco y fresco, la altura de la planta, la ramificación, la longitud del tallo y la raíz, y el rendimiento general de la cosecha (Islam y Mohammad, 2020; Ismail y Younis, 2021; Sharma y Kapoor, 2023).

Además, el TR contribuye a mitigar los efectos de diversos factores de estrés, tanto bióticos como abióticos. En las plantas tratadas, se ha observado un aumento en la biomasa, el contenido de pigmentos de clorofila, los parámetros de intercambio gaseoso, la eficiencia cuántica fotosintética, la absorción de nutrientes minerales, la acumulación de solutos compatibles y la actividad del sistema de defensa antioxidante, tanto enzimático como no enzimático (Islam y Mohammad, 2020).

En plantas, se ha identificado un mensajero secundario del TR: la 9- β -L(+)-adenosina (también conocida como 9H-purina-6-amina, 9- β -L-ribofuranosil). El TR penetra rápidamente a través de la cutícula foliar y llega a la membrana plasmática de las células epidérmicas, donde induce la formación de L(+)-adenosina.

Este proceso eleva los niveles de calcio (Ca^{2+}) intracelular, que se une a proteínas sensoras como la calmodulina, y activa enzimas reguladoras como quinasas y fosfatasa. Estas, a su vez activan factores de transcripción que estimulan genes relacionados con la tolerancia al estrés, promoviendo mejoras en el crecimiento, fotosíntesis, contenido mineral, actividad antioxidante, acumulación de osmolitos y otros atributos relacionados con el rendimiento (Islam et al., 2021).

El TR ha sido patentado en EE.UU. (Patente N.º 4.150.970) por su eficacia como regulador del crecimiento vegetal, incluso aumentando el dulzor en frutos cítricos (Patente N.º 4.849.012).

Durante su desarrollo, las plantas pueden estar expuestas a diversos tipos de estrés, los cuales se clasifican en bióticos y abióticos. El estrés biótico está relacionado con factores vivos, como plagas, enfermedades o competencia con otras plantas. Por otro lado, el estrés abiótico se refiere a condiciones edafoclimáticas (relacionadas con el suelo y el clima) que pueden afectar negativamente el crecimiento y el rendimiento de los cultivos. Entre los principales factores abióticos se incluyen: temperaturas extremas (altas o bajas), salinidad del suelo, presencia de metales pesados en concentraciones tóxicas, déficit hídrico (estrés por sequía) y baja disponibilidad de luz solar, entre otros.

No obstante, existen varios estudios que asimismo avalan los efectos positivos del TR en el crecimiento y desarrollo de las plantas en condiciones ambientales desfavorables. Así, en el caso de las plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*) expuestas a los diferentes niveles de irradiancia, la aplicación exógena de TR activó la apertura de los estomas, lo cual llevó a un aumento de la concentración y síntesis de clorofila y a un aumento en el número y tamaño de los cloroplastos, la regulación positiva al nivel de la expresión génica y el aumento en la cantidad de nutrientes absorbidos (Ramos-Zambrano et al., 2021).

En condiciones de sequía, el tratamiento con TR en plantas de fresa (*Fragaria × ananassa*) resultó en un aumento significativo del contenido de clorofila, mejoras en parámetros de intercambio gaseoso (tasa fotosintética y conductancia estomática) y en la eficiencia en el uso del agua (WUE, por sus siglas en inglés). También se observaron incrementos en altura de planta, peso del fruto, biomasa total y rendimiento, el cual aumentó en un 12,7% con la aplicación de 1 ppm de TR frente al control (El-Beltagi et al., 2022). Asimismo, se ha reportado el uso efectivo de TR en la mitigación del estrés hídrico en cultivos como arroz, mostaza, girasol y canola (Ahmad et al., 2021; Alharbi et al., 2021; Ismail y Younis, 2021; Shahbaz et al., 2013).

Respecto al estrés salino, se ha documentado que este genera efectos como estrés osmótico, toxicidad iónica, alteraciones en la turgencia, desequilibrio metabólico, daño a membranas celulares y acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS), lo cual reduce significativamente el rendimiento de los cultivos. Bajo estas condiciones, el TR aplicado exógenamente ha demostrado aliviar dichos efectos tóxicos al promover el crecimiento vegetal, aumentar la masa seca, la concentración de pigmentos fotosintéticos, la tasa fotosintética, la acumulación de osmolitos compatibles y la actividad de enzimas antioxidantes (Islam et al., 2021; Jahan et al., 2023; Verma et al., 2022).

El TR también ha sido evaluado en el contexto de contaminación por metales pesados (Feng et al., 2023). En Arveja (*Pisum sativum*), la aplicación de soluciones de TR (10, 20 y 30 $\mu\text{mol/L}$) mitigó los efectos negativos del cromo (Cr) (Umar et al., 2023). Resultados similares se obtuvieron en brócoli (*Brassica oleracea* L.) bajo estrés por plomo (Pb), mediante el tratamiento de semillas con las mismas concentraciones (Ahmed, Ahmad, et al., 2023). En frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.), el TR mejoró la absorción de nutrientes y las respuestas morfofisiológicas en presencia de plomo (Pb) (Ahmed, Amjad, et al., 2023).

En tomate, se ha observado que el TR induce una floración temprana y más abundante sin afectar el crecimiento vegetativo, incrementando el número de frutos por planta y elevando el rendimiento total en aproximadamente un 20% (Manai et al., 2024). En sorgo, (*Sorghum bicolor* L.) la aplicación conjunta de TR (10 ppm) a los 30 días después de la siembra, junto con micronutrientes (Zn: 5 kg/ha y B: 2 kg/ha), mejoró significativamente el crecimiento y el rendimiento del follaje, observándose un efecto aditivo entre el TR y los micronutrientes (Rai et al., 2024).

Sinergia del TR con otros reguladores de crecimiento vegetal

El TR actúa sinérgicamente con otras fitohormonas, contribuyendo a la tolerancia, al estrés y al incremento del rendimiento agrícola (El-Beltagi et al., 2025). En frijol mungo (*Vigna radiata* L.) sometido a estrés térmico prolongado, la aplicación de TR antes y durante el estrés favoreció la acumulación de ácido abscísico (ABA) y ácido

jasmónico (JA), lo cual resultó en una mejora significativa del crecimiento, el contenido de nutrientes y la concentración de aminoácidos (Waqas et al., 2016).

Cantaro-Segura y Huaranga-Joaquín (2021) evaluaron el efecto de la interacción entre diferentes reguladores de crecimiento y TR en plantas de guisante (*Pisum sativum* L. cv. Rondo), con el objetivo de determinar el impacto de estos reguladores, tanto aplicados de forma individual como en combinación, sobre el crecimiento, desarrollo y componentes del rendimiento del cultivo. La combinación de TR ($0,5 \text{ mg/L}^{-1}$), auxinas (NAA $0,5 \text{ mg/L}^{-1}$), giberelinas (1 mg/L^{-1}) y citoquininas (1 mg/L^{-1}), resultó en un aumento del rendimiento del cultivo de hasta un 52,2% en comparación con los tratamientos individuales.

Se ha documentado una interacción (diafonía) entre el TR y otros reguladores de crecimiento vegetal, como el ácido salicílico (SA). En un estudio realizado por Reachman Baba et al. (2017), se evaluó la aplicación exógena de SA (2 mM) y TR ($10 \text{ } \mu\text{M}$) en plantas de fresa (*Fragaria x ananassa*), observándose un impacto significativo en diversas variables relacionadas con el crecimiento, la fructificación y el rendimiento, en comparación con el control. No obstante, la interacción entre ambos reguladores no fue significativa para todos los parámetros evaluados. A pesar de ello, tanto el SA como el TR incrementaron de manera significativa la floración y la fructificación.

Además, en plantas de maíz (*Zea mays*), la aplicación combinada de SA (1 mM) y TR ($25 \text{ } \mu\text{M}$) demostró ser útil para combatir el estrés inducido por plomo (Pb), a través de un aumento significativo en la actividad de enzimas antioxidantes relacionadas con la defensa de las plantas (Iqbal et al., 2023).

Una de las estrategias más prometedoras para incrementar la tolerancia de las plantas al estrés es el uso de fitohormonas, debido a los roles clave que estas desempeñan en la regulación del crecimiento y las respuestas fisiológicas ante condiciones adversas (Islam et al., 2021). Las hormonas vegetales constituyen un grupo reducido pero fundamental de moléculas de señalización que intervienen en procesos morfológicos, fotosintéticos, bioquímicos y de desarrollo en especies

cultivadas (Hagihara et al., 2019; Kumar et al., 2014; Lumba et al., 2010; Thu et al., 2017).

El tricontanol (TR), en particular, ha sido reportado como un mediador de las respuestas de defensa vegetal frente a condiciones de estrés, mediante su interacción con otras fitohormonas como el ácido jasmónico (JA), el ácido salicílico (SA) y el etileno (Jahan et al., 2023). Estas interacciones hormonales permiten activar rutas de señalización clave que favorecen la adaptación de las plantas a distintos tipos de estrés, tanto biótico como abiótico.

Las hormonas presentes en formulaciones bioestimulantes cumplen funciones específicas frente a distintas fuentes de estrés. Según Naser y Shani (2016), las auxinas desempeñan un papel relevante en la respuesta al estrés osmótico, ya que los gradientes de auxina inducidos por el estrés regulan mecanismos fisiológicos y de desarrollo como la apertura estomática, la actividad de acuaporinas y la distribución de raíces laterales.

Por su parte, las citoquininas (CK), además de su función clásica en el crecimiento y la división celular, han sido asociadas con una mayor tolerancia a la sequía (Hai et al., 2020), así como a condiciones de salinidad y temperaturas extremas (Li et al., 2021). Las giberelinas (GA), en cambio, han mostrado una relación inversa con la tolerancia al estrés abiótico: en cultivos como el arroz, la homeostasis de las GA se ajusta bajo condiciones adversas, observándose que niveles reducidos de esta hormona están correlacionados con una mayor resistencia al estrés (Castro-Camba et al., 2022).

La patente N.º 12.022.001.423 de México da a conocer un concentrado bioestimulante que consiste en agua purificada, un agente solubilizante, triacontanol (TR) y una variedad de brasinoesteroides seleccionados del grupo conformado por brasinólida, brasinona, dilholida, homobrasinólida y sus combinaciones. El concentrado se formula para estimular el crecimiento de la planta, así como para aumentar la resiliencia de la planta al estrés abiótico a través de la influencia

combinada del TR y los brasinoesteroides sobre diversos procesos fisiológicos de las plantas.

Compendio de la invención

La presente invención se refiere a una composición líquida soluble que contiene al menos un bioestimulante que es capaz de aumentar el proceso de fotosíntesis y al mismo tiempo mitigar los efectos de las diversas fuentes de estrés abiótico, tal como se describe en los ejemplos del producto formulado y en la reivindicación número 1. Asimismo, la invención abarca los métodos de preparación y uso de dicha composición.

En particular, la invención proporciona un método para estimular el proceso fotosintético, promover la síntesis de clorofila, incrementar la acumulación de masa seca y atenuar los efectos de distintos tipos de estrés abiótico e hídrico en las plantas, mediante la aplicación de la composición líquida a los tejidos aéreos.

Además, esta invención está dirigida a métodos para optimizar el desempeño fisiológico de los cultivos agrícolas, específicamente mediante la introducción de bioestimulantes, tales como fitohormonas, en los tejidos vegetales, conforme a lo establecido en las reivindicaciones 1 y 2. En dichos métodos, se incorpora al menos una hormona vegetal en una cantidad eficaz para lograr el efecto deseado frente a factores de estrés abiótico, presentándose la composición en una forma lista para su aplicación.

Descripción detallada de la invención

La composición líquida soluble descrita en la presente memoria incluye: a) una mezcla de bioestimulantes que incluye ácido indol-3-butírico en una concentración del 0,01% al 0,1% en peso, ácido giberélico en una concentración del 0,02% al 0,2% en peso, forclorfenuron (CPPU) en una concentración del 0,03% al 0,3% en peso, 1-TR en una concentración del 0,2% al 2% en peso, glicina betaína en una concentración del 10% al 20% en peso, manitol en una concentración del 0,05% al 0,5% en peso; b) algas marinas, en una concentración del 3% al 10% en peso y

aminoácidos libres en una concentración del 5% al 10% en peso; c) opcionalmente, al menos uno de los siguientes componentes: un mineral, un tensioactivo, un antiespumante, un modificador reológico, un anticongelante, un preservante, un ácido orgánico, un solvente orgánico polar, así como combinaciones de estos.

En la presente memoria también se describen métodos para preparar dicha composición líquida, así como métodos para potenciar el proceso fotosintético y mitigar los efectos de diferentes fuentes de estrés abiótico e hídrico en los cultivos de plantas mediante el uso de dicha composición. La presente invención incluye métodos a través de los cuales es posible potenciar el proceso fotosintético y reducir el impacto de diversas fuentes de estrés abiótico e hídrico en las plantas, mediante la aplicación de la composición líquida directamente sobre los tejidos vegetales.

Reguladores del crecimiento de las plantas / Fitohormonas

La auxina sintética descrita en la presente memoria es el ácido indol-3-butírico (IBA). La citoquinina utilizada es forclorfenurón (CPPU), mientras que la giberelina corresponde al ácido giberélico (GA3). El regulador de crecimiento TR descrito en esta memoria corresponde a 1-TR.

El ácido indol-3-butírico (IBA) está presente en la disolución acuosa en una concentración tal que la auxina se encuentra en un rango aproximado de 0,01% a 0,1% en peso. El ácido giberélico (GA3) se incorpora en la disolución acuosa en una cantidad tal que la giberelina está presente en una cantidad del 0,02% al 0,2% en peso, siendo preferiblemente de alrededor de 0,022% en peso. La citoquinina (CPPU) está presente en una concentración de 0,03% a 0,3% en peso, mientras que el TR está presente en una concentración de 0,2% a 2% en peso.

Como lo reportan Cantaro y Huaranga (2021), los mayores rendimientos de vainas verdes se obtuvieron con la aplicación combinada de TRIA con AUX, GA y CK, seguida por la aplicación de TRIA junto con AUX y CK. La aplicación trihormonal de TRIA mostró los mejores resultados en las variables evaluadas, debido a que

mantiene el equilibrio hormonal, evitando alteraciones asociadas con desequilibrios en las demás hormonas.

Según se establece en la Publicación Internacional WO 2012068473 (Stoller et al., 2012), el regulador de crecimiento vegetal puede formularse como una mezcla de dos hormonas vegetales: fitocinina y giberelina. Cuando se aplican en conjunto, la relación entre fitocinina y giberelina varía preferiblemente entre 1:10 a 1:300, siendo más preferible de 1:20 a 1:40, y más específicamente una proporción cercana a 1:30. No obstante, para lograr los mejores resultados, la cantidad absoluta de fitocininas y giberelinas debe ajustarse proporcionalmente al volumen/peso de las plantas tratadas y de sus frutos.

Algas y aminoácidos

Ingredientes adicionales incluidos/excluidos

Una realización preferida de la presente invención incluye la adición de tensioactivos, antiespumantes y/o conservantes conocidos por los expertos en la técnica. El tensioactivo puede incluir, entre otros, uno perteneciente al grupo que consiste en carboxilatos, sulfanatos, aceites naturales y etoxilados, alquilamidas, arilamidas, alquifenoles, arifenoles, alcoholes etoxilados, polietileno, ésteres carboxílicos, ésteres de polialquilglicol, anhidrosorbitoles, ésteres de glicol, amidas carboxílicas, monoalcanolamina, amidas de ácidos grasos de polietileno, polisorbatos, ciclodextrinas, alcoholes polialquilados a base de azúcar, a base de silicona y etoxilatos de alquilarilo.

La composición líquida, de manera opcional pero preferiblemente, incluye uno o más minerales que promueven el aumento de la fotosíntesis, dado que forman parte de la estructura de la clorofila (Tanaka y Tanaka, 2006) y/o complementan la acción de las hormonas vegetales. Los minerales preferidos incluyen nitrógeno, potasio, fósforo y/o magnesio. Preferiblemente, los metales incluyen, entre otros, nitratos metálicos y sales de potasio. Ejemplos representativos comprenden, entre otros, nitratos metálicos y sales de potasio. Cuando se incorporan, los minerales pueden

estar presentes en un intervalo de aproximadamente el 5% a aproximadamente 70,0% en peso, y preferiblemente entre aproximadamente el 5% a aproximadamente 50% en peso.

También, de forma preferible, la presente invención incluye al menos un ácido orgánico. Los ácidos orgánicos preferidos se seleccionan del grupo de ácidos carboxílicos que contienen entre aproximadamente 2 a 20 átomos de carbono.

La composición líquida, de manera opcional pero preferiblemente, incluye uno o más disolventes orgánicos. Se puede emplear una amplia variedad de disolventes orgánicos polares y semipolares, incluidos: etanol, n-propanol, iso-propanol, lactato de etilo, 3-hidroxi butirato (ésteres etílico y propílico), glicoles, glicerol, polietilenglicol, polipropilenglicol, carbonato de propileno, así como combinaciones de estos.

Método de preparación

La composición líquida generalmente se produce mediante el siguiente método. Primero, se prepara una solución ácida disolviendo al menos un ácido orgánico en agua. Luego, se agrega al menos un mineral. Por separado, se mezcla al menos un modificador reológico con al menos un anticongelante, y esta mezcla se incorpora a la solución principal. La solución restante es típicamente un gel translúcido viscoso. A continuación, se adiciona al menos un tensioactivo. Por separado, se disuelve al menos una fitohormona en al menos un disolvente orgánico polar, mezclando a temperatura ambiente, y esta solución se añade al tanque de mezcla. Finalmente, se incorporan al menos un antiespumante y al menos un preservante.

Aplicación a las plantas

Preferiblemente, la disolución acuosa se combina con agua antes de su aplicación a la planta, con el fin de proporcionar una composición diluida en agua. La cantidad de agua añadida a la disolución acuosa depende de la concentración requerida de los ingredientes activos necesarios para regular el crecimiento de las plantas, conforme a lo conocido por los expertos en la técnica.

Preferiblemente, una composición diluida en agua de la disolución acuosa del bioestimulante se aplica al follaje, flores o frutos de la planta después de la plantación. Aunque la aplicación se dirige principalmente a flores, frutos o follaje, esta puede generar los mejores resultados. Además, ayuda a mitigar los efectos ocasionados por diversas fuentes de estrés abiótico, como salinidad y déficit hídrico, entre otros. Al seleccionar el método de aplicación, se deben considerar el cultivo específico y el resultado deseado. La disolución acuosa y/o la composición diluida en agua, incluida la disolución, puede aplicarse mediante equipo de aspersión convencional.

El método incluye, preferiblemente, la aplicación de la disolución acuosa del bioestimulante al follaje y/o a las flores de las plantas en el momento del inicio de la floración o en fechas cercanas a este evento. La disolución acuosa también puede aplicarse a los frutos en formación o al follaje, empleando cualquier método adecuado, como aplicaciones dirigidas específicamente al órgano de interés o aplicaciones generalizadas sobre todo el cultivo. La aplicación de productos químicos agrícolas puede realizarse mediante diversas técnicas bien conocidas por los expertos en la técnica, incluyendo, entre otras, aplicaciones foliares. Preferiblemente, la disolución acuosa se prepara y se aplica al follaje, flores y/o frutos de la planta mediante aspersión general o dirigida.

La presente descripción incluye las flores y hojas (es decir, follaje) de las plantas, para obtener plantas que tienen dispersa sobre su superficie una mezcla de bioestimulantes, como TR con una o más fitohormonas, por ejemplo, auxinas u otro regulador de crecimiento, en una cantidad efectiva para alterar la respuesta fisiológica de la planta, tal como se explicó anteriormente, pero en una concentración insuficiente para afectar negativamente el crecimiento de los tejidos vegetales. Cuando se aplica como una disolución acuosa, la disolución acuosa que contiene el bioestimulante y regulador del crecimiento de las plantas, por ejemplo, auxinas u otro regulador de crecimiento, puede asperjarse sobre hojas y flores utilizando equipo de aspersión convencional.

La adición de TR podría promover el aumento de la concentración de carbohidratos, potasio, fósforo y nitrógeno en las hojas, siendo nitrógenos y potasio los que presentan mayor incremento. La aspersión foliar de TR en combinación con macronutrientes ha demostrado una mayor concentración de nutrientes en los tejidos y un desarrollo vegetativo superior, incluso bajo condiciones de estrés. Asimismo, la aplicación de TR ha mostrado un efecto aditivo cuando se aplica junto con nutrientes y otros reguladores de crecimiento, tal como se evidencia en el apartado de antecedentes de la invención.

En un primer paso, se prepara la disolución acuosa para su aplicación a las plantas que serán tratadas. La disolución acuosa diluida en agua se aplica preferiblemente a las plantas como una solución acuosa. Por lo tanto, la preparación de la disolución acuosa puede incluir una o más de las siguientes actividades: diluir la disolución acuosa en suficiente agua para alcanzar la concentración requerida de ingredientes activos necesarios para regular el crecimiento de las plantas, y calibrar el pulverizador o aplicador dosificador para medir la cantidad adecuada de la mezcla de la solución acuosa a aplicar en las plantas.

Los métodos descritos en la presente invención pueden aplicarse de manera general a la mayoría de las plantas, siendo especialmente útiles en plantas de cultivo tales como tomate, papa, aguacate, arroz, fresa, maíz, palma aceitera, rábano y similares.

Ejemplo 1

Efecto de la solución acuosa en plantas de rábano (*Raphanus sativus* L.) bajo estrés por sequía en etapa de llenado de raíz.

Objetivo: Determinar el efecto de la solución acuosa en plantas de rábano (*Raphanus sativus* L.) bajo estrés por sequía en etapa de llenado de raíz.

Metodología

Materia vegetal y condiciones experimentales

El experimento se estableció bajo condiciones de laboratorio en el municipio de Cota – Cundinamarca, a una altitud de 2580 m.s.n.m. El ensayo se realizó en materas de 10 x 10 x 10 cm (100 cm³). Se utilizaron plantas de rábano (*Raphanus sativus*), variedad Crimson Giant. Se sembraron de 2 a 3 semillas por matera, a una profundidad de 1.5 – 2 cm, manteniendo el sustrato húmedo. El raleo de plantas se efectuó 10 días después de la germinación. Se aplicó un diseño completamente al azar (DCA) con 6 repeticiones por tratamiento, considerando una planta como unidad experimental.

El medio de siembra fue Turba Mikskaar 300. A los 5 días después de siembra (DDS) se implementó fertirriego con una solución que contenía: 120 ppm de Nitrógeno, 80 ppm de Fósforo, 96 ppm de Potasio, 120 ppm de Calcio, 60 ppm de Azufre, 35 ppm de Magnesio, 0,4 ppm de Boro, 0,42 de Manganeso, 0,13 de Cobre, 0,63 de Zinc, 3 ppm de Cloro, 3 ppm de Hierro y 0,04 ppm de Molibdeno, para cumplir con los requerimientos nutricionales óptimos para las plantas de rábano. En cuanto al riego, las plantas se mantuvieron siempre a capacidad de matera hasta la aplicación de los tratamientos.

El riego se suspendió a los 38 días después de la siembra (DDS) para inducir estrés moderado en las plantas. Los niveles de estrés hídrico se establecieron con base en la reducción del contenido relativo de agua (CRA) en comparación con plantas bien regadas (BR), según Hsiao (1973): Leve con una reducción del CRA del 10%, Moderado entre 11% a 20%, y Severo cuando la reducción superó el 20%. Una vez que cada tratamiento alcanzó el nivel de estrés correspondiente, se restableció el suministro de agua hasta la cosecha.

Estado hídrico

Se determinó el contenido relativo de agua (CRA) midiendo entre la segunda y tercera hoja completamente expandida. Se registraron el peso fresco (PF), el peso turgente (PT) y el peso seco (PS) de la hoja. Posteriormente, se aplicó la fórmula descrita por Yiu et al. (2012):

$$CRA (\%) = \frac{Peso Fresco - Peso Seco}{Peso Turgente - Peso Seco} \times 100$$

Parámetros de crecimiento

La materia seca se determinó en gramos, secando las muestras de tejido en una estufa a 55°C hasta alcanzar peso constante. El área foliar se midió utilizando el Software ImageJ. El rendimiento se evaluó a partir del peso fresco de raíz por planta.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para determinar el efecto del estrés por sequía sobre las variables evaluadas. Las medias se compararon mediante la prueba de Tukey ($P < 0,05$), con un tamaño de muestra de $n=7$.

Tratamientos

La suspensión del riego se hace a los 39 días después de la siembra (DDS) y se rehidrata a los 43 DDS. Los tratamientos se aplican cuando la planta alcanza el nivel de estrés propuesto. Para determinar el tiempo necesario para inducir el estrés, se realizó un ensayo previo, estableciendo que 3 días sin riego son suficientes para inducir un estrés leve, evidenciado por una reducción de CRA entre el 11 y 20%.

Posteriormente, las plantas se rehidratan y se llevan hasta la cosecha. Se observó que, 4 días después de la suspensión del riego, el CRA disminuyó en un 24,69% en los tratamientos evaluados.

Tabla 1. Tratamientos aplicados a plantas de rábano sometidas a estrés moderado, con una reducción del CRA entre 11% y 20%.

No	Tratamiento	Dosis (cm ³ /200 L de agua)	cm ³ /L
0	Control	0	0

1	Solución acuosa	220	1,1
2	Solución acuosa	330	1,65
3	Solución acuosa	500	2,5
4	Solución acuosa	730	3,65

Variables de crecimiento:

La humedad relativa y la temperatura del lugar de cultivo se registran diariamente durante todo el ensayo utilizando un termohigrómetro. El registro se realiza diariamente durante todo el ensayo. Las evaluaciones de crecimiento se realizan durante en el momento de la cosecha e incluyen medición del peso fresco y peso seco de la raíz tuberosa (órgano de cosecha), así como el diámetro ecuatorial de la raíz. Además, se registra la altura de la planta, el número de hojas y el área foliar, estimada mediante el Software ImageJ. Se mide el peso fresco, el peso seco del material vegetal se obtiene secando las muestras en horno a 55 °C hasta alcanzar peso constante.

Resultados

La temperatura registrada durante el experimento osciló entre 17 y 23,7 °C, mientras que el porcentaje de humedad relativa (HR) fluctuó entre 40,8 y 66%.

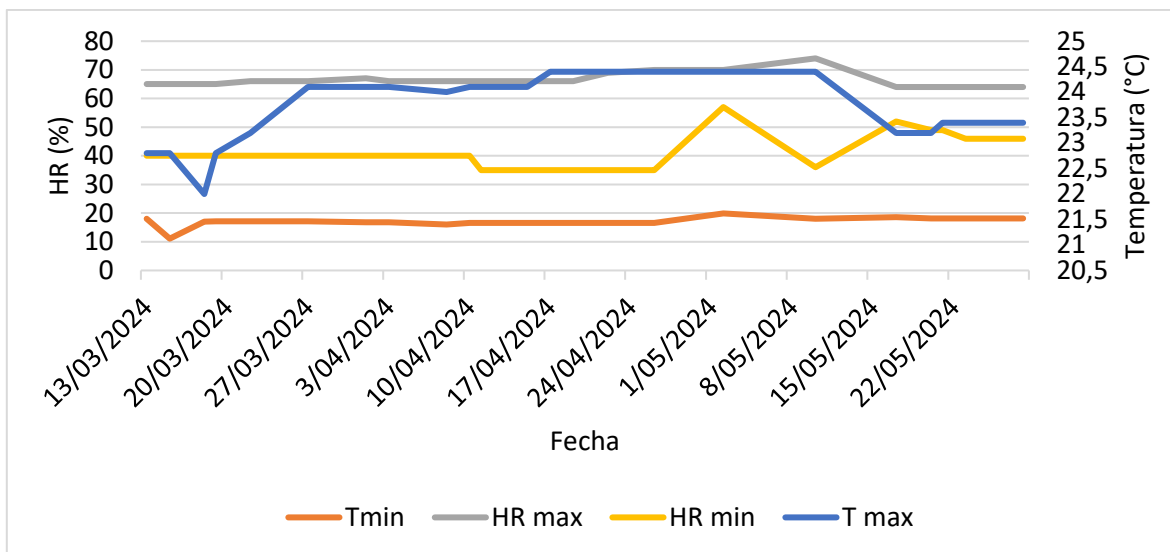


Figura 1. Datos climáticos registrados durante el experimento. Se midieron la temperatura y la humedad relativa a lo largo del periodo experimental. Tmin: temperatura mínima, Tmax: temperatura máxima, HR max: humedad relativa máxima, HR min: humedad relativa mínima.



Figura 2. Siembra en materas, aplicación de los tratamientos y estructura donde se llevó a cabo el experimento. Las imágenes se representan de izquierda a derecha en orden secuencial.

No se observaron efectos significativos de los tratamientos sobre el número de hojas ni sobre el peso fresco de las mismas; por tal razón, estos datos no se incluyen en los resultados. Las dosis de 220 a 500 cc/200 L de agua fueron las que generaron los mejores resultados en variables como la altura de las plantas, el área foliar, el grosor de las hojas y el peso fresco del rábano.

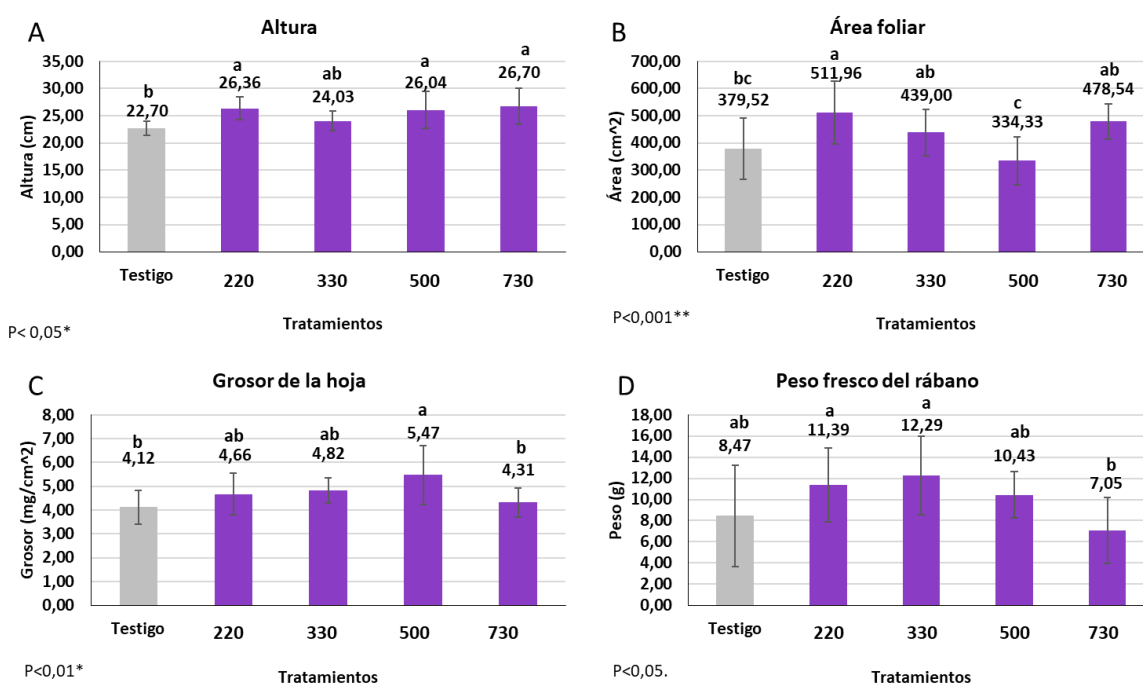


Figura 3. Efecto de la aplicación de la disolución acuosa sobre: a) altura de la planta, b) área foliar, c) grosor de la hoja y d) peso fresco del rábano (*R. sativus*) sometidas a condiciones de estrés hídrico severo, en relación con la reducción del CRA. Las barras verticales representan la desviación estándar de los datos. Las letras indican grupos de medias estadísticamente diferentes entre sí, según el análisis de Tukey aplicado con un nivel de significancia $p = 0,05$ y un tamaño de muestra de $n = 7$.

El grosor de la hoja fue mayor en el tratamiento de 500 cc/L de la disolución acuosa. No obstante, este tratamiento y el testigo no presentaron diferencias significativas

en el área foliar, lo cual podría explicar el aumento en el grosor de las hojas observadas en dicho tratamiento.

Cabe destacar que la dosis más alta de la disolución acuosa tuvo un efecto negativo sobre el peso fresco del rábano, en contraste con los demás tratamientos, que evidenciaron un efecto positivo en esta variable. En cuanto a la acumulación de masa seca en el rábano, las dosis de 220 y 330 cc mostraron los mejores resultados.

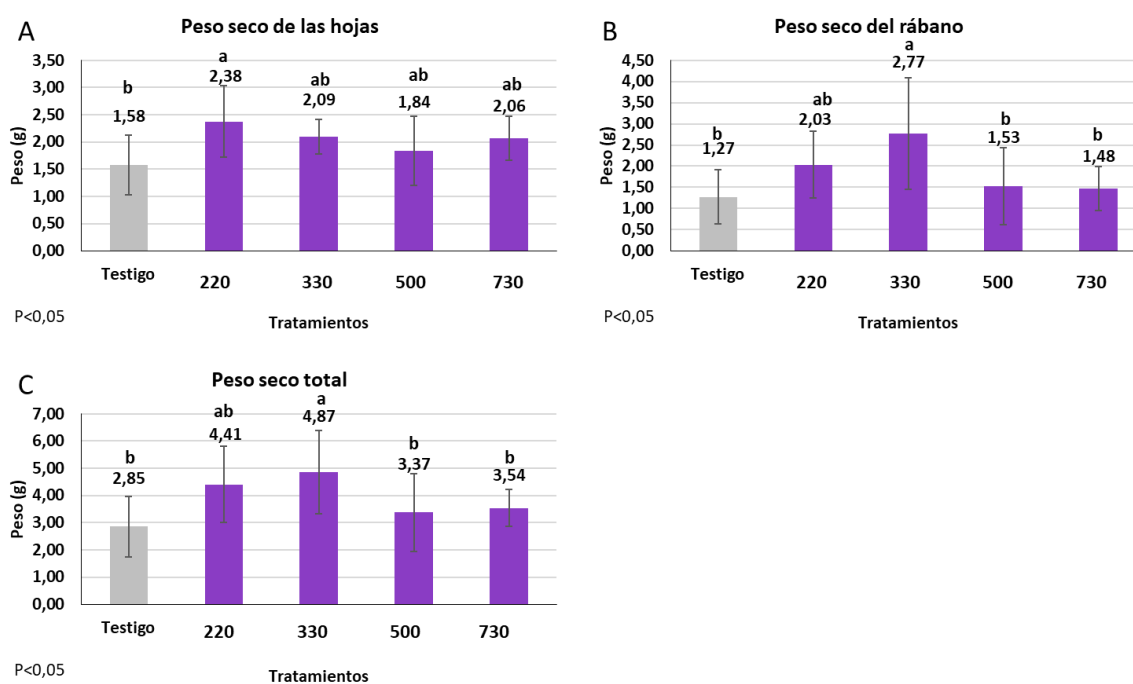


Figura 4. Efecto de la aplicación de la disolución acuosa sobre: a) peso seco de las hojas, b) peso seco del rábano y c) peso seco total en plantas de rábano (*R. sativus*) sometidas a condiciones de estrés hídrico severo, en relación con la reducción del CRA. Las barras verticales representan la desviación estándar de los datos. Las letras indican grupos de medias estadísticamente diferentes entre sí, según el análisis de Tukey aplicado con un nivel de significancia $p = 0,05$ y un tamaño de muestra de $n = 7$.

Conclusiones

En este ensayo, las dosis más efectivas de la solución acuosa en plantas de rábano (*Raphanus sativus* L.) sometidas a condiciones de estrés hídrico estuvieron en el rango de 220 a 500 cc/200 L de agua. Aunque algunos parámetros evaluados no presentaron diferencias significativas frente al control, es importante destacar que las plantas estaban bajo estrés hídrico, y estas dosis permitieron mitigar sus efectos en todos los parámetros medidos.

Los resultados evidencian que la disolución acuosa tiene la capacidad de reducir el impacto del estrés hídrico severo. En particular, la aplicación de la solución evitó la disminución del peso fresco del rábano, un indicador clave del efecto negativo del estrés.

La dosis de 500 cc generó un aumento de hasta un 54% en el peso seco del rábano, mientras que la dosis de 330 cc produjo un incremento del 41,48% en el peso seco total. Por su parte, la dosis de 220 cc produjo un aumento en la altura de la planta, del área foliar y del peso seco de las hojas de 14%, 26% y 34%, respectivamente.

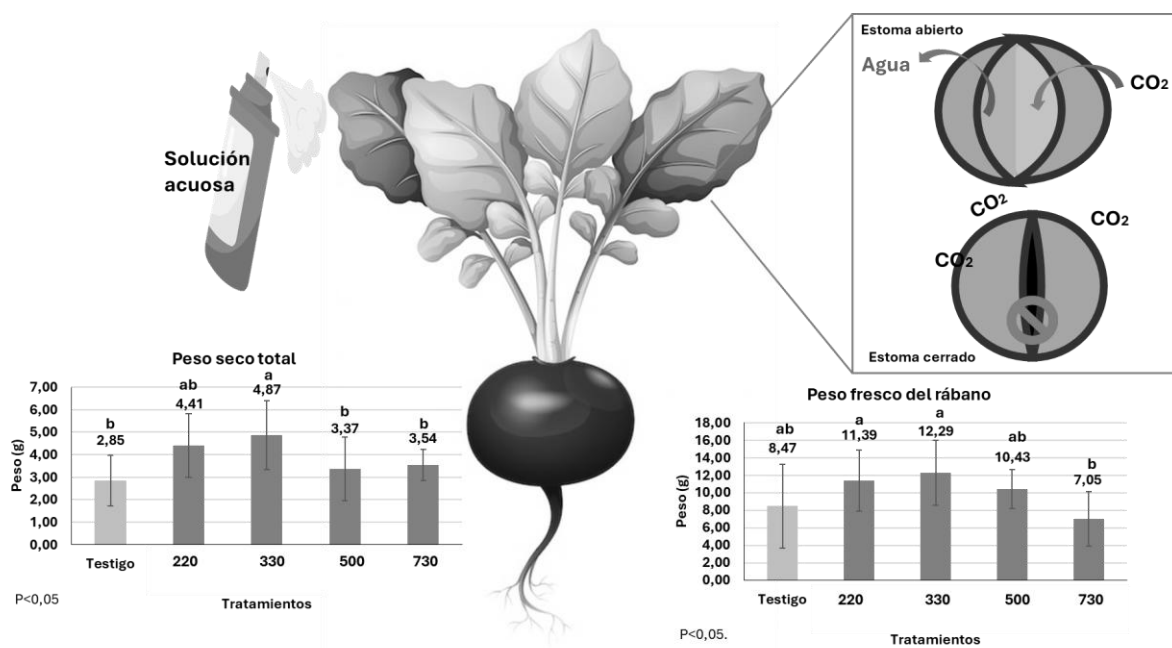


Figura 5. Aplicación foliar de la solución acuosa en concentraciones de 220, 330, 500 y 730 cm³ en 200 L de agua en plantas de rábano (*Raphanus sativus* L.) sometidas a condiciones de déficit hídrico. Este tratamiento promueve la apertura

estomática, mejora la eficiencia en el uso de agua y la fotosíntesis, lo cual se refleja en componentes de rendimiento y en la acumulación de masa seca, además de otros parámetros fisiológicos que evidencian el efecto positivo de la solución acuosa sobre la planta. Las barras verticales representan la desviación estándar de los datos. Las letras indican grupos de medias estadísticamente diferentes entre sí, según el análisis de Tukey aplicado con un nivel de significancia $p= 0,05$ y un tamaño de muestra de $n= 7$.

Ejemplo 2

Efecto de la solución acuosa en palma de aceite (*Elaeis guineensis*) para mitigar el estrés por déficit hídrico

Objetivo: Determinar el efecto de la solución acuosa en palma de aceite (*Elaeis guineensis*) para mitigar el estrés por déficit hídrico.

Metodología

Se realizaron mediciones de concentración de clorofila utilizando un clorofilómetro, expresadas en unidades SPAD. La primera medición se efectuó el 31 de enero de 2024 en plantas de palma de pocas semanas de trasplante. Ese mismo día se aplicó la solución acuosa inmediatamente después del muestreo, con una dosis de 4 cc por 0,363 L de agua.

Los siguientes muestreos se realizaron los días 19 y 26 de febrero. Las mediciones se efectuaron sobre la primera y la segunda hoja completamente expandida, tomando 10 repeticiones por hojas y 4 repeticiones por tratamiento.

Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente utilizando el Software RStudio.

Resultados

La tasa fotosintética aumentó en un 12,65% en comparación con el testigo a los 19 días después de la aplicación. Esta diferencia porcentual se mantuvo hasta los 26

días posteriores, con un valor del 11% (Figura 6). La ocurrencia de precipitaciones durante el ensayo favoreció un aumento en la tasa fotosintética del testigo: no obstante, las plantas tratadas con la disolución acuosa presentaron una mayor concentración de clorofila, lo que indica un efecto más sostenido del tratamiento frente al estrés hídrico.

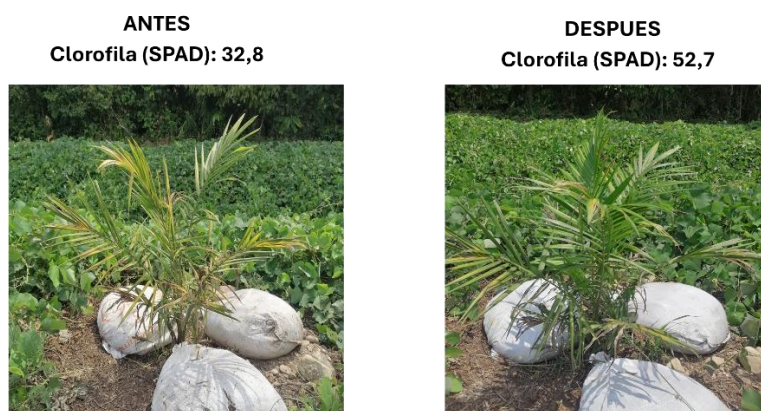


Figura 5. Efecto de la aplicación de la disolución acuosa sobre plantas de palma de aceite bajo condiciones de déficit hídrico y posterior precipitación.

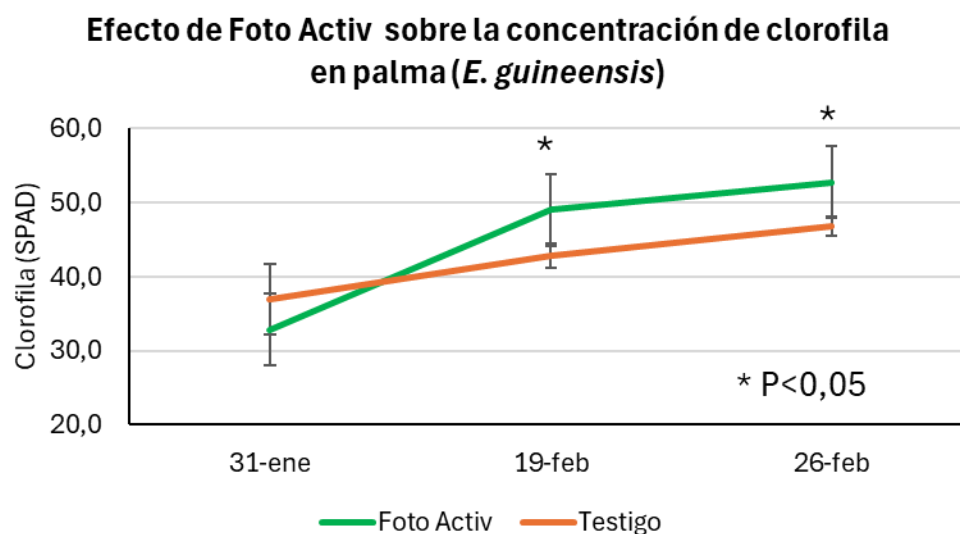


Figura 6. Efecto de la disolución acuosa sobre plantas jóvenes de palma de aceite bajo condiciones de estrés hídrico, evaluado a los 19 y 26 días después de la aplicación. * indica diferencias estadísticamente significativas entre pares de medias

según la prueba de Tukey ($\alpha = 0,05$). Las líneas verticales representan la desviación estándar para cada punto de muestreo ($n = 4$).

Conclusiones

La palma de aceite es un cultivo oleaginoso de alta productividad, caracterizado por su capacidad para almacenar grandes cantidades de aceite en el fruto. No obstante, presenta una alta sensibilidad al déficit hídrico, lo cual puede afectar significativamente su tasa fotosintética. En este estudio, se observó que el tratamiento con una disolución acuosa resultó en un incremento en la concentración de clorofila, lo que sugiere su potencial como estrategia eficaz para mitigar los efectos adversos del estrés hídrico en este cultivo.

Referencias bibliográficas

- Ahmad, J., Ali, A. A., Al-Huqail, A. A., & Qureshi, M. I. (2021). Triacontanol attenuates drought-induced oxidative stress in *Brassica juncea* L. by regulating lignification genes, calcium metabolism and the antioxidant system. *Plant Physiology and Biochemistry*, 166, 985–998. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.07.009>
- Ahmed, S., Ahmad, M., Sardar, R., & Ismail, M. A. (2023). Triacontanol priming as a smart strategy to attenuate lead toxicity in *Brassica oleracea* L. *International Journal of Phytoremediation*, 25(9), 1173–1188. <https://doi.org/10.1080/15226514.2022.2143478>
- Ahmed, S., Amjad, M., Sardar, R., Siddiqui, M. H., & Irfan, M. (2023). Seed Priming with Triacontanol Alleviates Lead Stress in *Phaseolus vulgaris* L. (Common Bean) through Improving Nutritional Orchestration and Morpho-Physiological Characteristics. *Plants*, 12(8), 1672. <https://doi.org/10.3390/plants12081672>
- Alharbi, B. M., Abdulmajeed, A. M., & Hassan, H. (2021). Biochemical and Molecular Effects Induced by Triacontanol in Acquired Tolerance of Rice to Drought Stress. *Genes*, 12(8), 1119. <https://doi.org/10.3390/genes12081119>
- Cantaro-Segura, H., & Huaranga-Joaquín, A. (2021). Interaction of triacontanol with other plant growth regulators on morphology and yield of field pea (*Pisum sativum* L.). *Agronomía Colombiana*, 39(2), 187–195. <https://doi.org/10.15446/agron.colomb.v39n2.94096>

- Castro-Camba, R., Sánchez, C., Vidal, N., & Vielba, J. (2022). Interactions of Gibberellins with Phytohormones and Their Role in Stress Responses. *Horticulturae*, 8(3), 241. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8030241>
- El-Beltagi, H. S., Gad, M., Abdel-Haleem, M., Shalaby, T. A., Rezk, A. A., & Hamdy Khedr, E. (2025). Triacantanol: a Multifunctional Growth Regulator for Enhancing Stress Tolerance. *Journal of Crop Health*, 77(2), 78. <https://doi.org/10.1007/s10343-025-01144-6>
- El-Beltagi, H. S., Ismail, S. A., Ibrahim, N. M., Shehata, W. F., Alkhateeb, A. A., Ghazzawy, H. S., El-Mogy, M. M., & Sayed, E. G. (2022). Unravelling the Effect of Triacantanol in Combating Drought Stress by Improving Growth, Productivity, and Physiological Performance in Strawberry Plants. *Plants*, 11(15), 1913. <https://doi.org/10.3390/plants11151913>
- Feng, D., Wang, R., Sun, X., Liu, L., Liu, P., Tang, J., Zhang, C., & Liu, H. (2023). Heavy metal stress in plants: Ways to alleviate with exogenous substances. *Science of The Total Environment*, 897, 165397. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.165397>
- Hagihara, S., Yamada, R., Itami, K., & Torii, K. U. (2019). Dissecting plant hormone signaling with synthetic molecules: perspective from the chemists. In *Current Opinion in Plant Biology* (Vol. 47, pp. 32–37). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2018.09.002>
- Hai, N. N., Chuong, N. N., Tu, N. H. C., Kisiala, A., Hoang, X. L. T., & Thao, N. P. (2020). Role and Regulation of Cytokinins in Plant Response to Drought Stress. *Plants*, 9(4), 422. <https://doi.org/10.3390/plants9040422>
- Hsiao, T. C. (1973). Plant Responses to Water Stress. *Annual Review of Plant Physiology*, 24(1), 519–570. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.24.060173.002511>
- Iqbal, H., Jahan, N., Ali, S., Shahzad, A., & Iqbal, R. (2023). Formulation of Moringa oleifera nanobiopesticides and their evaluation against Tribolium castaneum and Rhizopertha dominica. *Journal of Plant Diseases and Protection*. <https://doi.org/10.1007/s41348-023-00802-z>
- Islam, S., & Mohammad, F. (2020). Triacantanol as a dynamic growth regulator for plants under diverse environmental conditions. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 26(5), 871–883. <https://doi.org/10.1007/s12298-020-00815-0>

- Islam, S., Zaid, A., & Mohammad, F. (2021). Role of Triacantanol in Counteracting the Ill Effects of Salinity in Plants: A Review. *Journal of Plant Growth Regulation*, 40(1), 1–10. <https://doi.org/10.1007/s00344-020-10064-w>
- Ismail, H., & Younis, A. (2021). Triacantanol Foliar Spray Alleviated Drought Stress Effects by Maintaining Photosynthesis and Cellular Redox Balance in Sunflower Seedlings. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, H. Botany*, 12(2), 103–118. <https://doi.org/10.21608/eajbsh.2021.207875>
- Jahan, S., Rautela, S., Chishti, A. S., Shankhdhar, D., Shankhdhar, S. C., Srivastava, A., & Garg, S. K. (2023). Triacantanol is a potent alleviator of stress induced by salt and heavy metal contamination in plants. *Rhizosphere*, 28, 100822. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2023.100822>
- Kumar, R., Khurana, A., & Sharma, A. K. (2014). Role of plant hormones and their interplay in development and ripening of fleshy fruits. In *Journal of Experimental Botany* (Vol. 65, Issue 16, pp. 4561–4575). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru277>
- Li, S.-M., Zheng, H.-X., Zhang, X.-S., & Sui, N. (2021). Cytokinins as central regulators during plant growth and stress response. *Plant Cell Reports*, 40(2), 271–282. <https://doi.org/10.1007/s00299-020-02612-1>
- Lumba, S., Cutler, S., & McCourt, P. (2010). Plant nuclear hormone receptors: A role for small molecules in protein-protein interactions. In *Annual Review of Cell and Developmental Biology* (Vol. 26, pp. 445–469). <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-100109-103956>
- Manai, M., Fiorillo, A., Matuozzo, M., Li, M., D'Ambrosio, C., Franco, L., Scaloni, A., Fogliano, V., Camoni, L., & Marra, M. (2024). Phenotypical and biochemical characterization of tomato plants treated with triacantanol. *Scientific Reports*, 14(1), 12096. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-62398-0>
- Naser, V., & Shani, E. (2016). Auxin response under osmotic stress. *Plant Molecular Biology*, 91(6), 661–672. <https://doi.org/10.1007/s11103-016-0476-5>
- Rai, H., Tripathi, A., Mishra, H., Yadav, A., Kaushik, S., Singh, M., & Kumar, R. (2024). Effect of Plant growth regulators and micro-nutrient on growth and herbage yield of forage sorghum (*Sorghum bicolor* L.). *International Journal of Research in Agronomy*, 7(4), 97–100. <https://doi.org/10.33545/2618060X.2024.v7.i4b.531>
- Ramos-Zambrano, E., Juárez-Yáñez, T. E., Tapia-Maruri, D., Camacho-Díaz, B. H., Jiménez-Aparicio, A. R., & Martínez-Ayala, A. L. (2021). Effects of Triacantanol

and Light on Stomatal and Photochemical Responses in *Solanum lycopersicum* L. *Journal of Plant Growth Regulation*, 40(5), 2208–2220.
<https://doi.org/10.1007/s00344-020-10262-6>

Reachman Baba, T., Ali, A., Kumar, A., & Husain, M. (2017). Effect of exogenous application of salicylic acid and triacontanol on growth characters and yield of strawberry. *The Pharma Innovation Journal* 2, 6(11), 274–279.

Shahbaz, M., Noreen, N., & Perveen, S. (2013). Triacontanol modulates photosynthesis and osmoprotectants in canola (*Brassica napus* L.) under saline stress. *Journal of Plant Interactions*, 8(4), 350–359.
<https://doi.org/10.1080/17429145.2013.764469>

Sharma, A., & Kapoor, D. (2023). TRIACONTANOL: A VERSATILE PLANT GROWTH REGULATOR IN OVERCOMING ABIOTIC STRESSES A REVIEW. *PLANT ARCHIVES*, 23(Suppliment-1), 417–424.
<https://doi.org/10.51470/PLANTARCHIVES.2023.v23.no1.068>

Stoller, J., Liptay, A., & Salzman, R. (2012). *Plant growth enhancing mixture and method of applying same* (Patent WO2012068473). Stoller.

Tanaka, A., & Tanaka, R. (2006). Chlorophyll metabolism. *Current Opinion in Plant Biology*, 9(3), 248–255. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2006.03.011>

Thu, N. B. A., Hoang, X. L. T., Truc, M. T., Sulieman, S., Thao, N. P., & Tran, L. P. (2017). Cytokinin Signaling in Plant Response to Abiotic Stresses. In *Mechanism of Plant Hormone Signaling under Stress* (pp. 71–100). Wiley.
<https://doi.org/10.1002/9781118889022.ch4>

Umar, I., Ahmed, S., Yasin, N. A., Wahid, A., Alamri, S., Hamid, Y., & Sardar, R. (2023). Role of exogenously applied triacontanol in amelioration of chromium stress in *Pisum sativum* by enhanced nutrition orchestration, growth and proline content. *South African Journal of Botany*, 162, 96–107.
<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.09.002>

Verma, T., Bhardwaj, S., Singh, J., Kapoor, D., & Prasad, R. (2022). Triacontanol as a versatile plant growth regulator in overcoming negative effects of salt stress. In *Journal of Agriculture and Food Research* (Vol. 10). Elsevier B.V.
<https://doi.org/10.1016/j.jafr.2022.100351>

Waqas, M., Shahzad, R., Khan, A. L., Asaf, S., Kim, Y.-H., Kang, S.-M., Bilal, S., Hamayun, M., & Lee, I.-J. (2016). Salvaging effect of triacontanol on plant growth, thermotolerance, macro-nutrient content, amino acid concentration and

modulation of defense hormonal levels under heat stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 99, 118–125. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.12.012>

Yiu, J.-C., Tseng, M.-J., Liu, C.-W., & Kuo, C.-T. (2012). Modulation of NaCl stress in *Capsicum annuum* L. seedlings by catechin. *Scientia Horticulturae*, 134, 200–209. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.11.025>