

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



EFFECTO DEL BIOESTIMULANTE DE EXTRACTO COMERCIAL DE
Ascophyllum nodosum SOBRE EL VALOR NUTRITIVO DE ALFALFA

Tesis

Que presenta IVÁN GERARDO MONTALVO MENDOZA

como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

Torreón, Coahuila

Noviembre 2022

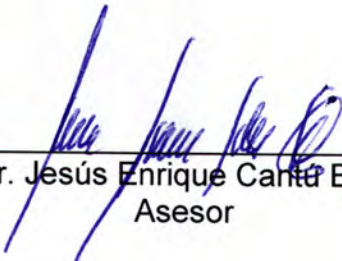
EFFECTO DEL BIOESTIMULANTE DE EXTRACTO COMERCIAL
DE *Ascophyllum nodosum* SOBRE EL VALOR NUTRITIVO DE
ALFALFA

Tesis


Que presenta IVÁN GERARDO MONTALVO MENDOZA como requisito parcial
para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Producción Agropecuaria con
la supervisión y aprobación del Comité de Asesoría



Dr. Alejandro Moreno Reséndez
Director de Tesis



Dr. Jesús Enrique Cantú Brito
Asesor



Dr. Ramiro González Avalos
Asesor



Dr. José Antonio Hernández Herrera
Asesor



Dra. Dalia Ivette Carrillo Moreno
Jefe del Departamento de Postgrado



Dr. Antonio Flores Navega
Subdirector de Postgrado

AGRADECIMIENTOS

A la **UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**, por haberme recibido en su seno y haberme formado a nivel maestría.

Al **CONACYT** por el apoyo becario que me otorgó durante mis estudios de maestría.

Al **Dr. Alejandro Moreno Reséndez**, por haberme dado la oportunidad de participar en esta investigación y su apoyo infinito.

Al **Dr. Jesús Enrique Cantú Brito**, por su apoyo y acertadas sugerencias en la presente tesis.

Al **Dr. Ramiro González Avalos**, por su disposición y acertadas sugerencias para el presente trabajo de investigación.

Al **Dr. José Antonio Hernández Herrera**, por su disposición y acertadas sugerencias para el presente trabajo de investigación.

Índice General

RESUMEN.....	vii
ABSTRACT	ix
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. OBJETIVOS	5
2.1. Objetivo general	5
2.2. Hipótesis	5
III. REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
3.1. Bioestimulantes.....	6
3.1.1 Generalidades	6
3.1.2 Clasificación de bioestimulantes	8
3.1.3 Efectos de los bioestimulantes.....	12
3.1.4 Bioestimulantes a base de algas.....	14
3.1.5 Extractos de algas	16
3.1.6 Efectos de los bioestimulantes en las plantas	17
3.1.7 Bioestimulantes en el suelo	19
3.1.8 Obtención de extractos de algas.....	19
3.1.10 Principales componentes de bioestimulantes en ANE	22
3.1.11. Efectos de ANE sobre las plantas.....	23
3.2. Cultivo de alfalfa.....	24
3.2.1. Generalidades	24
3.2.2. Cultivo de alfalfa en México	25
3.2.3. Importancia de la Alfalfa en la Región Lagunera	27
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	29
4.1. Ubicación del experimento y condiciones ambientales.....	29
4.2. Tratamientos	29
4.3. Muestreo	30
4.4. Análisis de forraje.....	30
4.5. Análisis estadístico.....	31
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
5.1. Proteína cruda (PC)	33
5.2 Fibra detergente ácida (FDA)	35

5.3 Fibra detergente neutro (FDN)	37
5.4 Carbohidratos no fibrosos (CNF).....	38
5.5 Total de nutrientes digestibles (TND)	40
VI. CONCLUSIONES.....	41
VII. REFERENCIAS.....	42

Lista de Cuadros

Cuadro 1. Superficie sembrada y valor de producción de alfalfa en el Distrito Laguna, Coahuila (SIAP, 2020)	27
Cuadro 2. Resultados de calidad nutritiva de los muestreos en alfalfa forrajera de segundo año en el periodo junio - noviembre de 2016 con bioestimulante ANE y testigo comercial del productor en la Región Lagunera.	32

Lista de Figuras

Figura 1. Principales productores de alfalfa en México.....	26
Figura 2. Volumen de producción de alfalfa en México.....	27
Figura 3. Resultados obtenidos para Proteína cruda (%), en alfalfa de segundo año, periodo junio-noviembre de 2016, con y sin bioestimulante ANE bajo manejo comercial del productor en la Región Lagunera.....	35
Figura 4. Comportamiento de FDA en los diferentes muestreos del cultivo de alfalfa, con y sin bioestimulante ANE, bajo manejo comercial de productor, en la Región Lagunera.	36
Figura 5. Comportamiento de porcentaje de contenido de Fibra Detergente Neutro (FDN), en las diferentes fechas de muestreo de alfalfa, con y sin bioestimulante ANE.	38
Figura 6. Contenido de carbohidratos no fibrosos en alfalfa de segundo año, en diferentes fechas de corte, con y sin aplicación de ANE, en la Región Lagunera.	39
Figura 7. Contenido Total de Nutriente Digestibles en alfalfa de segundo año, en diferentes fechas de corte, con y sin aplicación de ANE, en la Región Lagunera.	41

RESUMEN

EFFECTO DEL BIOESTIMULANTE DE EXTRACTO COMERCIAL DE
Ascophyllum nodosum SOBRE EL VALOR NUTRITIVO DE ALFALFA

IVÁN GERARDO MONTALVO MENDOZA

Maestro en Ciencias en Producción Agropecuaria

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

Dr. Alejandro Moreno Reséndez

Director de tesis

La alfalfa es la leguminosa forrajera más importante a nivel mundial debido a su gran rendimiento en biomasa, se considera que tiene alto valor nutritivo por varios factores incluyendo la concentración de proteína, los tipos de fibra, la digestibilidad del forraje y la relación hoja tallo. El objetivo fue evaluar el efecto de las aplicaciones periódicas de extracto de *Ascophyllum nodosum* en la calidad nutritiva de la alfalfa. El experimento fue en el Ejido La Partida, municipio de Matamoros, Coahuila, México. El experimento se realizó en una superficie total de 20 hectáreas con un diseño experimental completamente al azar con dos tratamientos, se aplicó el producto (T1) extracto de alga marina Acadia Suelo® con dosis de 1 litro por hectárea y testigo sin aplicación de producto (T2), se consideraron seis repeticiones. Se recolectaron 150 g de material vegetal, sumando 100 muestras, se enviaron al laboratorio de análisis de forrajes Agrolab se determinaron: proteína cruda (PC), fibra detergente ácido (FDA), fibra detergente neutro (FDN), carbohidratos no fibrosos (CNF) y nutrientes digestibles totales (TND). Los datos se sometieron a análisis de varianza (ANOVA). De las variables evaluadas en ninguna existe diferencia significativa (<0.05), esto puede deberse al poco tiempo de evaluación. Por lo tanto, el uso del extracto no tiene

una respuesta rápida en el cultivo probablemente se requiera realizar estudios a largo plazo que permita identificar y observar los efectos de las aplicaciones.

Palabras clave: *Medicago*, ANE, estrés biótico, estrés abiótico, fitohormonas.

ABSTRACT

EFFECT OF APPLICATION OF COMMERCIAL *Ascophyllum nodosum* EXTRACT IN ALFALFA NUTRITIONAL QUALITY

IVÁN GERARDO MONTALVO MENDOZA

Master Science in Agricultural Production

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

Dr. Alejandro Moreno Reséndez

Advisor

Abstract

Alfalfa is the most important forage legume worldwide due to its high biomass yield. It is considered to have a high nutritional value due to several factors including protein concentration, fiber types, forage digestibility, and the leaf-stem relationship. The objective was to evaluate the effect of periodic applications of *Ascophyllum nodosum* extract on the nutritional quality of alfalfa. The experiment was in the Ejido La Partida, municipality of Matamoros, Coahuila, Mexico. The experiment was carried out in a total area of 20 hectares with a completely randomized experimental design with two treatments. The product (T1) extract of seaweed Acadia Soil® was applied with a dose of 1 liter per hectare and control without product application (T2), six repetitions were considered. 150 g of plant material were collected, adding 100 samples, they were sent to the Agrolab forage analysis laboratory and the following were determined: crude protein (CP), acid detergent fiber (ADF), neutral detergent fiber (NDF), non-structural carbohydrates (NCS) and Total Digestible Nutrients (TND). The data were subjected to analysis of variance (ANOVA). Of the variables evaluated, there is no significant difference (<0.05). This may be due to the short evaluation time. Therefore, the use of the extract does not have a rapid response in the crop, probably requiring long-term studies to identify and observe the effects of the applications.

Keywords: Medicago, ANE, biotic stress, abiotic stress, phytohormones.

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, el enfoque principal de la mejora agrícola es la calidad de los productos, la sustentabilidad, al mismo tiempo que la reducción de costos de producción (Bulgari *et al.*, 2014; Eckardt *et al.*, 2009), con la meta de reducir el impacto ambiental del aprovechamiento de los recursos agua y suelo.

La disponibilidad de nutrientes en el suelo, para algunos cultivos, no garantiza grandes resultados en la productividad, en contraparte, la presencia de nutrientes específicos en exceso como el Nitrógeno, puede ser causa de presencia o susceptibilidad para el ataque de patógenos al cultivo. La aplicación de grandes cantidades de fertilizantes tiene un impacto negativo al ambiente y en la salud humana, ya que generalmente los nutrientes se lixivian al subsuelo, pudiendo llegar a mantos acuíferos y afectar los ecosistemas acuáticos (Bulgari *et al.*, 2014).

Derivado de lo anterior, en décadas recientes existe mayor conciencia sobre el impacto que la agricultura intensiva en el ambiente (Abou-Chehade *et al.*, 2017; Bulgari *et al.*, 2014; Ochoa-Espinosa *et al.*, 2018). En el presente, la agricultura convencional enfrenta el reto de desarrollar sistemas de producción amigables con el ambiente y sostenibles, con capacidad para generar alimentos para una población creciente, que se espera alcance los 8,900 millones en año 2050 (Ochoa-Espinosa *et al.*, 2018). Los productos que se generen también se espera que sean de alta calidad nutricional principalmente, por lo que se enfrenta al desafío de obtener un alto rendimiento y mantener una nutrición adecuada de las plantas (Abou-Chahade *et al.*, 2017; Povero *et al.*, 2016).

Para enfrentar este desafío, la agricultura convencional, ha optado por utilizar diversos productos, como los bioestimulantes que son como una alternativa innovadora (Mohamed-Abbas, 2013), principalmente por los múltiples beneficios que ofrecen a la planta y además son de origen natural (Abou-Chehade *et al.*, 2017; Alam *et al.*, 2013; Eckardt *et al.*, 2009). En diversos estudios sobre las

funciones bioestimulantes del extracto comercial de (*Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jolis) se reportan reducciones en el uso de fertilizantes sin mermar los rendimientos de los cultivos (Cantú-Brito y Moreno-Reséndez, 2017; Mohamed-Abbas, 2013).

Numerosos estudios sobre bioestimulantes han reportado diferentes efectos benéficos sobre los cultivos tales como incrementos en cantidad y volumen de raíces, mayor crecimiento de brotes, tolerancia a estrés, eficiencia en la absorción de agua, incrementos en el rendimiento, menor pérdida de hojas, aumentos en la cantidad de clorofila e incluso aumentos en la calidad nutritiva (Abdalla, 2013; Povero *et al.*, 2016).

Los efectos que los extractos de algas pueden tener sobre los contenidos nutricionales de las plantas han sido demostrados en diversos estudios, de acuerdo con Mohamed-Abbas (2013), que reportó que al aplicar extracto de algas Oligo-X en plantas de *Vicia faba* los contenidos de carbohidratos totales se incrementaron en los brotes y en las raíces. Por su parte Abdalla (2013), al estudiar los efectos estimulantes del extracto botánico a base de moringa (*Moringa oleífera* Lam. 1783) sobre Arúcula (*Eruca vesicaria* ssp. *sativa* (P. Mill.) Thellung) comprobó la presencia de acumulaciones significativas en los contenidos de azúcares totales y de proteína. Así mismo Bulgari y colaboradores, (2014), reportaron que los efectos bioestimulantes de los extractos de algas pueden incrementar el contenido de proteína en *V. faba*, estos crecimientos están asociados a agregados en la concentración de carbohidratos en las hojas.

Fan *et al.* (2013), reportaron incrementos de los contenidos de proteína en espinaca (*Spinacia oleracea* L.) al aplicarse un extracto comercial de *A. nodosum*. Finalmente, Ertani *et al.* (2018), registraron diferencias en los contenidos de azúcares simples en hojas y raíces de maíz al aplicar cinco diferentes tipos de extractos de *A. nodosum*. A pesar de todas las investigaciones existe una clara necesidad de mejorar el entendimiento de las funciones

bioestimulantes. Es con base en esta evidencia científica que se espera que al aplicar el ANE sobre el cultivo de alfalfa se incremente la calidad nutritiva.

La calidad de forraje es el potencial que tienen los alimentos para producir una respuesta deseada en el animal en función del consumo y la utilización de los nutrientes y la energía disponible, por lo tanto, es resultado de consumo voluntario, nutrientes digestibles totales y energía digestible del forraje (DePeters, 2012). Particularmente en alfalfa (*Medicago sativa* (L.) Mill.) donde la calidad se sustenta en parámetros clave como: proteína cruda, fibra detergente ácida, fibra detergente neutra y digestibilidad, concretamente la calidad del cultivo de alfalfa puede ser afectada por estrés abiótico, especialmente por la falta de agua, a través de efectos directos e indirectos en la morfología y en la fisiología de la planta (Biazzi *et al.*, 2017).

El valor nutritivo del forraje puede ser determinado por varios factores incluyendo la concentración de proteína, el total de fibra y los tipos de fibra, la digestibilidad del forraje y la relación hoja tallo. En particular la concentración de fibra detergente neutro (FDN) presenta correlación negativa definida con el consumo de los animales. La fibra detergente ácido (FDA) y la lignina están relacionadas negativamente con la digestibilidad. Y por otra parte la digestibilidad del FDN determina la eficiencia de la utilización del forraje por los animales. Y en cuanto a la proteína en el forraje de alfalfa es deseable aumentarla pues así se pueden reducir la suplementación y por consiguiente reducir los costos de alimentación (Biazzi *et al.*, 2017).

Por otro lado, la replicación y extrapolación de resultados de investigación de experimentos realizados en entornos controlados como laboratorio y llevarlos a campo ha sido difícil de lograr, sin embargo, es un paso necesario para determinar la efectividad de los bioestimulantes en la fisiología de los cultivos (Kauffman *et al.*, 2007). Los estudios experimentales en campo brindan un panorama más completo del comportamiento de los productos, y específicamente de la acción de los ingredientes activos al momento de aplicar,

ya que su efecto directo en las plantas puede incrementar por interacción con variables del entorno, pero igual, pueden ser contrarrestados por otras variables que no se pueden controlar como se hace en un laboratorio (Zhang y Ervin, 2004). Adicionalmente la transferencia de resultados de laboratorio a campo, da oportunidad de desarrollar nuevas técnicas para una agricultura sostenible que garantice rendimientos y más estables, capaz de satisfacer la demanda global de alimentos, lo cual es un reto que requiere de nuevos recursos (Kauffman *et al.*, 2007; Zhang y Ervin, 2004).

En este ámbito, los bioestimulantes por los diferentes beneficios determinados en diversos estudios de laboratorio, y de campo, pueden ser considerados como un recurso clave en la mejora para el desarrollo de una agricultura ecológica y sostenible (Rouphael *et al.*, 2015).

Con herramientas como los bioestimulantes, la agricultura tiene mayor posibilidad de enfrentar los retos de producir mayor volumen de alimentos y a la vez, minimizar los daños de contaminación al ambiente durante el proceso agrícola (Rouphael *et al.*, 2015). Para ello en relación a los bioestimulantes se ha destacado que tienen la capacidad de modificar o estimular diferentes procesos en el sistema agroecológico, sin necesidad de aplicar agroquímicos de alto impacto, como lo destacan Zhang *et al.* (2016), al aplicar un bioestimulante bacteriano en alfalfa los contenidos de lignina se incrementaron, esto como resultado de la posible respuesta de defensa de las plantas a la invasión de bacterias. Esta lignina, es una sustancia de defensa que es diferente a la lignina de desarrollo, la cual es inducida por otros tipos de estrés. Los contenidos de lignina están negativamente correlacionados con la digestibilidad debido a su influencia negativa en rumiantes.

En base a lo anterior, en este trabajo se propuso como objetivo evaluar el efecto de aplicaciones periódicas de extractos de *A. nodosum*, sobre la calidad nutritiva de la alfalfa en su segundo año productivo.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de las aplicaciones periódicas de extracto de *A. nodosum* en la calidad nutritiva del cultivo de alfalfa en su segundo año productivo, establecido en la Región Lagunera.

2.2. Hipótesis

La aplicación de forma regular de extracto de alga marina comercial (*A. nodosum*), al cultivo de alfalfa en la Región Lagunera, en su segundo año productivo no tendrá un efecto positivo en diferentes características nutritivas.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. Bioestimulantes

3.1.1 Generalidades

En décadas pasadas se ha observado un incremento de bioestimulantes en la agricultura (Brown y Saa, 2015), ganando importancia a nivel mundial (Aremu *et al.*, 2015) siendo Europa el mercado más importante, aunado a esto un gran número de publicaciones citadas para cada categoría de bioestimulantes demuestra que hay una creciente evidencia científica que apoya su uso como insumo agrícola en diversos cultivos (Calvo *et al.*, 2014). En los últimos años, los bioestimulantes se han considerado cada vez más como una herramienta en la producción agrícola (Bulgari *et al.*, 2014). Aun cuando funcionan de manera diferentes a los fertilizantes (Calvo *et al.*, 2014), se apuesta por su uso en prácticas agronómicas, como una alternativa para mejorar la nutrición de los cultivos (Ertani *et al.*, 2015). Su función principal es activar o estimular rutas metabólicas en las plantas, igualmente incentivan el acondicionamiento del suelo (Bulgari *et al.*, 2014).

Según Du Jardin (2015), el término bioestimulante, fue acuñado por especialistas en horticultura y definido por primera vez en la literatura científica por Kauffman en el 2007. En este mismo sentido se han hecho grandes esfuerzos para definir el concepto de bioestimulantes (Vargas-Hernández *et al.*, 2017), y en el primero congreso mundial de uso de bioestimulantes en la agricultura, llevado a cabo en el 2013, en Strasboun, Francia, se definió lo que son los bioestimulantes (Ertani *et al.*, 2014).

Sin embargo, debido a que no existe un estatus regulatorio para los bioestimulantes, la industria ha sido una pieza clave en la promoción y definición del concepto y el Consejo Europeo de la Industria de Bioestimulantes (EBIC, por sus siglas en inglés) los define como sustancias y/o microorganismos cuya

función, cuando se aplican a las plantas o a la rizosfera, es estimular los procesos naturales para mejorar-beneficiar la absorción de nutrimentos, la eficiencia de nutrimentos, la tolerancia al estrés abiótico y la calidad del cultivo. Los bioestimulantes no tienen acción directa contra las plagas, por lo tanto, no caen dentro del marco regulatorio de los pesticidas (EBIC, 2017).

Por su parte, Yakhin *et al.* (2017), definen los bioestimulantes como “...un producto formulado de origen biológico que mejora la productividad de la planta como consecuencia de las propiedades novedosas o emergentes del complejo de los constituyentes, y no como consecuencia exclusiva de la presencia de nutrientes esenciales para plantas, reguladores del crecimiento de la planta o compuestos protectores de la planta conocidos...”. Adicionalmente, Du Jardin (2015), propone que los bioestimulantes son “...cualquier sustancia o microorganismo aplicado a las plantas, cuyo objetivo es mejorar la eficiencia nutricional, mejorar la tolerancia a estreses bióticos y abióticos, mejorar la calidad del cultivo, independientemente de su contenido de nutrientes”. Sin embargo, el término bioestimulante ha seguido en evolución a medida que se descubre y se adquiere más conocimientos sobre su origen, usos y efectos, además del establecimiento de un estatus regulatorio para nuevas sustancias (Calvo *et al.*, 2014).

En este sentido, los bioestimulantes se consideran como una o mezcla de varias sustancias o microorganismos (Abou-Chehade *et al.*, 2017; Mohamed-Abbas, 2013), de origen diversa, orgánica (Bulgari *et al.*, 2014), y ecológicamente viables (Yakhin *et al.*, 2017), de comportamiento seguro y amigable con el ambiente (Aremu *et al.*, 2015), los cuales pueden ser aplicados en bajas concentraciones, teniendo como resultado respuestas fisiológicas que desencadenan el crecimiento y el desarrollo de las plantas, así como mejoras en diferentes procesos fisiológicos (Aremu *et al.*, 2015). Y se diferencian de los biofertilizantes debido a que éstos son exclusivamente inoculantes bacterianos o fúngicos que tienen el propósito de incrementar la disponibilidad y utilización de los nutrientes por las plantas, sin importar el contenido de nutrientes en el inoculante. En otras

palabras, son microbios que mejoran la eficiencia nutricional de las plantas (Du Jardin, 2015).

La dependencia del uso de los fertilizantes sintéticos, como fuente de nutrientes, en la producción de agrícola genera altos costos, degradación de suelos, contaminación del ambiente (Abdalla, 2013), además de otros problemas. Esta situación ha fomentado el desarrollo de innovaciones tecnológicas a fin de mejorar la sostenibilidad de los cultivos, para lo cual el uso de bioestimulantes es una herramienta prometedora y efectiva (Rouphael *et al.*, 2015), ya que éstos mejoran el aprovechamiento de nutrientes, se reduce su pérdida e incrementa su absorción, lo cual beneficia el ambiente (Calvo *et al.*, 2014), y reduce el uso excesivo de fertilizantes inorgánicos y la posible contaminación, derivada de su aplicación a los cultivos (Ertani *et al.*, 2015).

La composición química de extractos y bioestimulantes disponibles hoy en día en el mercado varían de acuerdo a la marca comercial, así como sus efectos, por lo que se sugiere que son distintos a una función nutricional directa (Calvo *et al.*, 2014), así mismo, cambia su efectividad de acuerdo al tipo de extracto y cantidad involucrado, la composición química y al tipo de estrés que esté sometido la planta (Chrysargyris *et al.*, 2018).

3.1.2 Clasificación de bioestimulantes

Kauffman *et al.* (2007), propusieron una primera clasificación de las sustancias bioestimulantes, de acuerdo a su origen y composición. El sistema de clasificación se agrupa por sustancias húmicas, contenido hormonal y contenido de aminoácidos, principalmente.

Du Jardin (2015), propuso la siguiente clasificación de los bioestimulantes:

Bacterias benéficas

Se identifican modos y mecanismos de acción diverso, desde cambios en el nivel de producción hormonal, producción de compuestos volátiles, incremento de disponibilidad de nutrientes en el suelo o mejoramiento a la tolerancia al estrés abiótico (Ruzzi y Aroca, 2015).

De entre los diversos efectos y modos de acción de las bacterias, algunas todavía desconocidas, el efecto bioestimulante de éstos son innegables (Ruzzi y Aroca, 2015), son capaces de inducir efectos benéficos a través de varios mecanismos; mantenimiento de la fertilidad del suelo, fijación de nitrógeno, induciendo la elongación de la raíz, y solubilizando nutrimentos del suelo, estimulan la división y la elongación de las células, además de mejorar la síntesis proteica (Mohamed-Abbas, 2013). También, fomentan alteraciones en la composición de la pared celular y la habilidad de la planta para acumular solutos solubles, lo que permite incrementar la retención de agua e incrementar la tolerancia al estrés iónico y osmótico, promueven el crecimiento de los cultivos, esto asociado a mayores niveles de ácido indolacético, el cual ha sido probado que además alivia el estrés por salinidad (Van Oosten *et al.*, 2017), modifican el estado hormonal de las plantas, pues pueden sintetizar fitohormonas como: auxina, cito quinina, giberelina, y etileno, la cuales regulan múltiples procesos fisiológicos (enraizamiento, elongación de la raíz y formación de pelos absorbentes) (Calvo *et al.*, 2014). Además, algunos microorganismos como el *Penicillium citrinum* producen una enzima capaz de degradar enzimas esenciales para la biosíntesis del etileno en las especies vegetales, compuesto reconocido como una hormona del estrés y de la senescencia de las plantas (Calvo *et al.*, 2014).

Ácidos húmicos y fúlvicos

El uso de estas sustancias surge como una tecnología de sostenibilidad con el propósito de hacer los sistemas agrícolas más eficientes y productivos, sin perjudicar el ambiente (Canellas *et al.*, 2015). Las sustancias húmicas son macromoléculas químicas y biológicas, resultado de la acción de fenómenos bióticos y abióticos sobre tejidos animales y vegetales, con características

orgánicas específicas (Abou-Chehade *et al.*, 2017; Canellas *et al.*, 2015), y con efecto bioestimulante sobre la fisiología de las plantas se atribuyen a los compuestos con acción parecidas a fitohormonas (Abou-Chehade *et al.*, 2017). Las sustancias húmicas también inducen diferentes efectos que dependan de la especie vegetal, el estado fenológico, el modo y la cantidad aplicada, el origen de la sustancia húmica, las condiciones de manejo, y el ambiente donde se aplica (Canellas *et al.*, 2015).

Un efecto importante de los ácidos húmicos y fúlvicos, es la estimulación del crecimiento, principalmente en los brotes, las raíces (Canellas *et al.*, 2015), y sobre el metabolismo primario, a través de la activación de diversos mecanismos bioquímicos (Abou-Chehade *et al.*, 2017). Los ácidos húmicos han demostrado, en diversos estudios, que pueden estimular el crecimiento de las plantas y con esto el rendimiento, mediante mecanismos relacionados con la respiración celular, fotosíntesis, síntesis proteica y absorción de agua y nutrientes (Mohamed-Abbas, 2013).

Para mejorar la fertilidad de un suelo o elevar la disponibilidad de nutrientes, una estrategia importante que se recomienda implementar es la adición de ácidos húmicos y fúlvicos, lo cual, favorecerá la disponibilidad de nutrientes convirtiéndolos en formas asimilables para las plantas (Akinci *et al.*, 2009). Éstas sustancias ayudan a regular la disponibilidad de nutrientes, la respiración del suelo, el intercambio de carbono y oxígeno, entre suelo y atmósfera, lo cual promueve el crecimiento de raíces, la absorción de nutrientes, con lo que estimula el incremento de la tasa fotosintética y por ende el rendimiento total (Shehata *et al.*, 2017).

La bio actividad de las sustancias húmicas puede reducir las dosis de fertilización, mejorar la eficiencia del uso de nutrientes, reemplazar reguladores sintéticos en las plantas, mejorar la calidad de los frutos, incrementar la tolerancia al estrés, aminorar la incidencia de enfermedades, acortar la madurez y floración, mientras

su composición química puede favorecer el desarrollo de microorganismos benéficos en el suelo (Canellas *et al.*, 2015).

Extracto de algas y extractos vegetales

Las algas que muestran un efecto bioestimulante contienen sustancias con efecto similar a las fitohormonas, tales como, las cito quininas y las auxinas, además de otras sustancias (Bulgari *et al.*, 2014), por otro lado, los extractos de plantas como de la moringa, también pueden incrementar cantidad de azúcares y proteínas totales, con efecto bioestimulante (Abdalla, 2013). En diversos estudios se ha demostrado, que la aplicación de extractos de algas marinas tiene efectos positivos en el desarrollo y crecimiento de las raíces, principalmente, además de, incrementar la cantidad de fitohormonas endógenas, como la cito quinina, tanto en la parte aérea como en las raíces de las plantas (Aremu *et al.*, 2015), lo anterior, da como resultado la mejora de varios aspectos en los cultivos (Crouch y Van Staden, 2008).

Otras sustancias con efecto bioestimulante

Los aminoácidos, el quitosano y algunos elementos químicos se destacan por realizar actividades bioestimulantes. Los aminoácidos para la producción de bioestimulantes son obtenidos mediante síntesis química, a partir de las proteínas de las plantas, así como de proteínas de origen animal mediante hidrolisis química o enzimática, y el efecto que tienen en los cultivos es mejorar el rendimiento, además de incrementar el contenido de nutrientes como N y Ca, y micronutrientes como Cu y Mo en la planta (Popko *et al.*, 2018).

El efecto fisiológico del quitosano en las plantas como bioestimulante se debe a la concentración de sustancias de celulares, de algunos de fácil asimilación, tales como: componentes del ADN, membranas plasmáticas y constituyentes de la pared celular, y además unirse a receptores específicos de la membrana involucrados en la activación de genes de defensa. Lo que lo hace ideal para ser

usado en la agricultura como protección contra hongos patógenos y diferentes tipos de estrés (Du Jardin, 2015).

Algunos elementos químicos, como Aluminio, Sodio, Selenio, Silicio, entre otros, también se les considera bioestimulantes, ya que promueven el crecimiento de las plantas y pueden ser esenciales para algunas especies, pero no requerido por todos, son llamados elementos benéficos. Se han reportado muchos efectos benéficos, mejoras en el crecimiento, mejoras en la calidad de los productos, y tolerancia a estrés biótico y abiótico. Esto, mediante su influencia en la osmosis, homeostasis del pH, señalización hormonal, y enzimas relacionadas con la respuesta a estrés (Du Jardin, 2015).

3.1.3 Efectos de los bioestimulantes

A inicios de la década de los 1990, se identificaron múltiples beneficios por parte de los bioestimulantes sobre incrementos en el rendimiento de los cultivos, mayor absorción de nutrientes, debido al cambios en la raíz y composición del tejido de la planta, incrementos en la resistencia al congelamiento, aumento de la resistencia al ataque por hongos, insectos y nematodos, aumento de la vida de anaquel de la fruta y mejoramiento de la germinación de las semillas (Crouch y Van Staden, 2008). Los efectos mencionados son desencadenados a partir de diversas acciones fisiológicas directas de la planta, o a través de mejorar de las condiciones del suelo o alteraciones positivas en su micoflora (Bulgari *et al.*, 2014).

El aumento del uso de bioestimulantes se debe principalmente a los efectos positivos sobre el estrés biótico y abiótico, como congelamiento, sequia, tolerancia a la salinidad, resistencia al ataque de hongos, bacterias y virus (Bulgari *et al.*, 2014), que induce a través de diferentes mecanismos (Brown y Saa, 2015). Sus efectos también se extienden a la mejora de la actividad microbiana del suelo, incremento en la síntesis de reguladores del crecimiento de

los microorganismos y de las plantas, incluyendo la parte radicular (Ertani *et al.*, 2014), esto también ayuda en el aprovechamiento de los nutrientes (Akinci *et al.*, 2009).

A nivel fisiológico existe un amplio rango de respuestas obtenidas con la aplicación de bioestimulantes, lo que implica que existe un gran número de compuestos bioactivos presentes en estos productos (Aremu *et al.*, 2015). El contenido de reguladores de crecimiento vegetal en los bioestimulantes incluye auxinas, giberelinas, brasinoesteroides y moléculas elicitoras, como oligómeros y polisacáridos (Aremu *et al.*, 2015). Los cuales influyen sobre el metabolismo de las plantas, mediante la interacción en procesos bioquímicos y mecanismos fisiológicos (Ertani *et al.*, 2015), mejorando con ello, el metabolismo, induciendo así incremento en el rendimiento y la calidad de los cultivos, la tolerancia y recuperación a estreses bióticos y abióticos, también facilitan la asimilación y translocación de nutrientes, obteniendo mejores atributos de calidad de los productos, incluyendo mejoras en el contenido de azúcar (Calvo *et al.*, 2014).

En otras palabras, los bioestimulantes están relacionados con alteraciones en los balances hormonales de la planta, que a su vez influyen en otros procesos fisiológicos que incluyendo el rendimiento metabólico (Kauffma *et al.*, 2007). Estas alteraciones del metabolismo afectan procesos en las plantas como la respiración, fotosíntesis, síntesis de ácidos nucleicos y absorción de iones (Mohamed-Abbas, 2013), y estos efectos a su vez repercuten en las concentraciones de proteína (Abdalla, 2013; Bulgari *et al.*, 2014; Fan *et al.*, 2013; Mohamed-Abbas, 2013), carbohidratos simples (Abdall, 2013; Bulgari *et al.*, 2014; Ertani *et al.*, 2018), y en general del valor nutritivo (Zarzecka y Marek, 2018).

Los bioestimulantes activan numerosas rutas metabólicas (Ertani *et al.*, 2014), sin embargo, es difícil identificar estos mecanismos biológicos, por tanto, siguen bajo investigación (Aremu *et al.*, 2015; Bulgari *et al.*, 2014). A menudo es desconocido la composición del producto final del extracto, debido principalmente

a la heterogeneidad de las materias primas utilizadas para su elaboración, al igual, queda en la incógnita la cantidad y tipo de moléculas presentes en los extractos. Las diferentes moléculas presentes, afectan o activan muchas rutas a un tiempo, trabajando en sinergia, lo cual, da y refleja la misma cantidad de resultados (Bulgari *et al.*, 2014; Ertani *et al.*, 2015). Por otra parte, el aprovechamiento de los bioestimulantes como parte de plan nutricional y como estrategia nutricional de los cultivos se ha investigado solo recientemente (Abou-Chehade *et al.*, 2017), esto con el fin de mejorar la eficiencia nutricional y la calidad de los productos (Bulgari *et al.*, 2014).

3.1.4 Bioestimulantes a base de algas

Las algas han sido utilizadas desde hace siglos (Crouch y Van Staden, 2008), incluso los antiguos romanos ya estaban familiarizados con las propiedades de fertilizantes de las algas (Battacharyya *et al.*, 2015; Chrysargyris *et al.*, 2018). En regiones costeras se aplicaba de forma directa o en compost como enmienda para la mejorar las condiciones químico orgánicas del suelo y la productividad agrícola (Chrysargyris *et al.*, 2018), con ello se aprovechaba los beneficios de los bioestimulantes contenidos en las algas (Aremu *et al.*, 2015; Rayorath *et al.*, 2008). En las aplicaciones directas de las algas, los beneficios se registraban apenas después de presentarse la descomposición e iniciaba la integración de sus componentes al suelo, de cual depende de cada especie, así como la aportación y beneficio que hace al suelo donde se utilizan (Du Jardin, 2015).

Del total de especies de algas solo una pequeña proporción son de importancia para la agricultura, las cuales pueden ser clasificadas como verdes, rojas o marrones, y dentro de éstas, las algas marrones, con más de 2 000 especies (Khan *et al.*, 2009), son de las más comúnmente utilizadas para la elaboración de productos aplicables a la agricultura, principalmente en la horticultura. Específicamente las principales especies utilizadas para la elaboración de extractos comerciales son *A. nodosum*, *Ecklonia máxima* Osbeck, *Macrocytis*

pylifera (L.) C. Agardh, 1820 y *Durvillea potatotum* (Labillardière) Areschoug 1854 (Battacharyya *et al.*, 2015).

Por otro lado, el uso de los extractos comerciales de algas se inició hace apenas unas décadas. Inicialmente las formularon extractos líquidos de algas para la producción orgánica en Europa y Estados Unidos, se incluía toda la planta (Sharma *et al.*, 2011), esta práctica dio paso a la elaboración de productos comerciales de extractos para aplicaciones mucho más específicas (Battavharyya *et al.*, 2015), se comercializaron por varios años como fertilizante (Jeannin *et al.*, 1991). El desarrollo de extractos ha facilitado el transporte dándole una mayor aceptación y reconocimiento como bioestimulante (Battavharyya *et al.*, 2015). Sin embargo, su estudio y aceptación de forma amplia se inició apenas hace unos 25 años (Stirk y Van Staden, 2009), y sus efectos bioestimulantes solo han sido reconocidos recientemente (Du Jardin, 2015). Los primeros informes de la ineficiencia se derivaron principalmente de la observación hechas en tratamientos en campos e invernaderos utilizando Maxicrop®, como un aditivo del suelo (Craigie, 2011).

Debido a los múltiples beneficios de los bioestimulantes provenientes de algas marinas registrados por sus componentes (Alm *et al.*, 2013), hace que cada vez más gane popularidad su uso, principalmente en la agricultura orgánica y sostenible (Craigie, 2011), ya que evitan el uso excesivo de fertilizantes sintéticos o inorgánicos, además de mejorar las propiedades físicas y químicas del suelo (Dhargalkar y Pereira, 2004).

Los extractos derivados de las algas marinas ofrecen ventajas sobresalientes sobre los fertilizantes sintéticos o inorgánicos, ya que, son biodegradables, no son tóxicos, no contaminan y no representan peligro alguno para el ser humano u otros animales (Dhargalkar y Pereira, 2004), y su efecto estimulador puede atribuirse a acciones únicas, aditivas y sinérgicas de sus componentes (Alam *et al.*, 2013). Las algas marinas como bioestimulantes tienen efecto sobre el metabolismo de las plantas (Ertani *et al.*, 2018), en la mejora de la germinación y

el establecimiento de las semillas, mejorando el crecimiento de las plantas, el rendimiento, el conjunto de flores y la producción, aumento de la resistencia al estrés biótico y abiótico. Diversos estudios reportan efectos benéficos de extractos de algas sobre el crecimiento de brotes y el rendimiento de los cultivos. En otros estudios más recientes se ha demostrado un mayor crecimiento y rendimiento en cultivos agrícolas y hortícolas (Calvo *et al.*, 2014; Battacharyya *et al.*, 2015). El efecto de los bioestimulantes en la formación de raíces laterales, incrementa el volumen y longitud total de raíces, es resultado de la concentración de fitohormonas, principalmente, auxinas y cito quininas presentes en los extractos de algas marinas. Estos extractos, también estimularon la absorción de nutrientes minerales en cultivos de lechuga, uva, soya, tomate y col de invierno, en que se registró aumento en la acumulación de macronutrientes (N, P, K, Ca, S) y micronutrientes (Mg, Zn, Mn, Fe). El aumento del crecimiento de las raíces, la eficiencia de absorción de nutrientes y agua, también pueden aumentar el crecimiento y el rendimiento de cultivos en campo abierto, así como la resistencia a las tensiones abióticas y bióticas (Calvo *et al.*, 2014; Khan *et al.*, 2013).

3.1.5 Extractos de algas

Hoy en día, la disponibilidad de extractos es muy alta, principalmente en la producción hortícola (MacDonald *et al.*, 2012), los cuales son elaborados principalmente por algas marrón como: *A. nodosum*, *Laminaria* spp., *E. máxima*, *Sargasum* spp., y *Durvillaea* spp. (Chrysargyris *et al.*, 2018). Pero para facilitar su uso se ha requerido del desarrollo de métodos de preparación que faciliten el transporte a través de grandes distancias, uno de estos métodos fue publicado hace más de 150 años (Jannin *et al.*, 2013), pero el primer método efectivo para licuar algas con fines de uso agronómico fue desarrollado en 1949 (Chrysargyris *et al.*, 2018), y más recientemente se han desarrollado técnicas para obtener extractos de algas como la preparación alcalina, o la molienda a baja temperatura (Jannin *et al.*, 2013). Los extractos proveen una respuesta inmediata de la planta similar a la aplicación de compost de algas (Chrysargyris *et al.*, 2018), esto se ha

demostrado mediante la realización de varios estudios para comprender su potencial y modos de acción (Jannin *et al.*, 2013).

En la actualidad hay una gran variedad de extractos de algas y de efectos estudiados, los efectos dependen principalmente del tipo de alga utilizada y de los métodos aplicados de extracción (Jeannin *et al.*, 1991). Los extractos muestran actividades de estimulación del crecimiento, y el uso de fórmulas de algas como bioestimulante en la producción de cultivos está bastante clara (Khan *et al.*, 2009), además, son una fuente económica de reguladores del crecimiento para plantas, que se producen de forma natural, por lo que se pueden utilizar con éxito en la agricultura y horticultura sostenibles (Michalak *et al.*, 2016).

3.1.6 Efectos de los bioestimulantes en las plantas

Los modos y mecanismos de acción de las algas aún no han sido descritos del todo (Crouch y Van Staden, 2008), y se acepta que los efectos fisiológicos de los extractos de algas son principalmente mediados por los compuestos promotores de crecimiento que contienen (Battacharyya *et al.*, 2015). El tipo de alga es factor importante para el resultado a obtener de los extractos, así como, el manejo en pos cosecha, la época de recolecta, el método de extracción, estas variantes dan como resultado que incluso extractos de la misma especie de alga presenten diferentes resultados al aplicarlos en los cultivos (Battacharyya *et al.*, 2015).

Inicialmente la comercialización de los extractos de algas fue como fertilizantes (Jeannin *et al.*, 1991), sin embargo, estudios posteriores reportaron que las concentraciones de nutrientes presentes en los extractos no son suficientes para promover un crecimiento adecuado, como se observa después de su aplicación en los cultivos (Khan *et al.*, 2009), además, otros estudios sobre diversos extractos de algas y su composición química, también demuestran que los nutrimentos presentes son insuficientes para inducir una respuesta fisiológica, esto al ser aplicados en las concentraciones en que se usa (Battacharyya *et al.*,

2015), puesto que efectos bioestimulantes se hacen presentes a muy bajas concentraciones (1:1000 o más) (Khan *et al.*, 2009; Calvo *et al.*, 2014).

Por otra parte, aunque la detección de compuestos bioactivos en los extractos de algas puede ser algo difícil (Rayorath *et al.* 2007), se ha determinado que contienen una variedad de compuestos, que pueden inducir el crecimiento vegetativo y mejorar el rendimiento, e incrementar la extracción de nutrientes como N, P, K, Ca, Mg y S, así como Zn, Fe, Mn, Cu, Mo y Co, del suelo por parte de las plantas, así como la presencia de reguladores de crecimiento, tal como las poliamidas, enzimas, carbohidratos, proteínas y vitaminas (Mohamed-Abbas, 2013), así como, auxinas, ácido abscísico ABA, ácido giberélico, ácido salicílico y brasinoesteroides (Battacharyya *et al.*, 2015; Calvo *et al.*, 2014), además de compuestos con actividades similares a fitohormonas que inducen la síntesis endógena de metabolitos secundarias en las plantas tratadas; pero la principal reportada en los extractos de algas es la cito quinina, seguida de las auxinas (Calvo *et al.*, 2014).

Las sustancias contenidas en los extractos también inducen la expresión de genes bajo condiciones naturales, los cuales solo son expresados bajo estrés de la planta, además intervienen en la producción de moléculas de estrés (cito quinina, prolina, antioxidantes y enzimas antioxidantes). Otro efecto sobre la expresión génica se da al inducir genes relacionados con la fijación de carbono, lo que incrementa la cantidad de almidón en la planta (Calvo *et al.*, 2014).

Los extractos de algas, al igual que los demás bioestimulantes, son capaces de inducir una serie de respuestas fisiológicas (Battacharyya *et al.*, 2015), y con ello efectos benéficos como la estimulación de la germinación, el crecimiento y establecimiento de la plántula, producción de flores de mejor calidad y fertilidad, mejor desempeño en rendimiento, productos con mayor vida de anaquel (Craigie, 2011; Khan *et al.*, 2009), y de excelente contenido nutricional (Battacharyya *et al.*, 2015). Los extractos de algas también influyen en la absorción y metabolismo de macronutrientes, principalmente del elemento nitrógeno; en condiciones

naturales estimula el crecimiento de brotes, generación de nuevas hojas, y por tanto el incremento del área foliar (Brown y Saa, 2015).

3.1.7 Bioestimulantes en el suelo

En el suelo los bioestimulantes desencadenan la proliferación de microorganismos benéficos, y con ello la secreción de sustancias acondicionadoras (Khan *et al.*, 2009), también inducen el crecimiento y desarrollo de hongos que colonizan las raíces, mediante la acción del ácido algínico, principal promotor de crecimiento de hifas y elongación de las micorrizas arbusculares, este crecimiento conlleva a un incremento en la disponibilidad de fósforo para la planta (Battacharyya *et al.*, 2015). Así mismo, en otros estudios los bioestimulantes se ha visto que induce la resistencia a condiciones ambientales desfavorables, reduce la incidencia de hongo, insectos y parásitos (Jeannin *et al.*, 1991), y aunque el incremento en la tolerancia al estrés no es bien conocido, se cree que la cito quinina y la betaína juegan un papel importante (Calvo *et al.*, 2014), por lo que la sugerencia de Battacharyya *et al.* (2015) es que sean aplicados cuando el cultivo se encuentre en una situación de estrés que pudiera afectar su potencial productivo.

3.1.8 Obtención de extractos de algas

El proceso de extracción es determinante en el nivel de actividad biológica, tanto que los productos obtenidos de la misma especie de alga pueden presentar diferentes resultados en su uso, debido a la variación en el método de extracción (Battacharyya *et al.*, 2015). Los métodos de obtención de extractos de algas son raramente publicados, la información de los procesos es generalmente retenida por considerarse confidencial, principalmente para las empresas que las desarrollan, otro paso que optan por quienes desarrollan un método de extracción es el patentado (Craigie, 2011). Sin embargo, un paso importante en la extracción

es la ruptura de las estructuras celulares para liberar todos los componentes benéficos en los extractos (Battacharyya *et al.*, 2015), en general para este paso se vale del uso de agua, ácidos o bases, o alteraciones físicas, como la molienda a baja temperatura, para obtener una suspensión micronizada de partículas finas (Aremu *et al.*, 2015; Calvo *et al.*, 2014; Craigie, 2011), y posteriormente de estos procesos las células de las algas se rompen a alta presión y los componentes de citosol son recuperados en el líquido filtrado. Pero, el proceso más utilizado involucra calentar las algas con sodio alcalino o soluciones de potasio, en donde la temperatura debe ser elevada mediante condiciones de alta presión (Craigie, 2011).

Como se indica, las propiedades y características de los extractos dependerá en gran medida de los métodos de preparación (Alam *et al.*, 2013). Con este objetivo, Ertani *et al.* (2018), aplicó diferentes métodos de extracción de *A. nodosum*, lo cual, obtuvo variaciones importantes en la composición química de los extractos. Éstos se aplicaron en cultivo de maíz para determinar cambios morfológicos relacionados al método de extracción aplicado, en el que se identificaron cambios importantes en raíz, crecimiento, nivel de nutrición de la planta completa y acumulación de azúcares. En estas pruebas, se determinó que los extractos con mayor contenido de ácido indolacético promovían cambios morfológicos importantes en la raíz, los extractos con mayor contenido de fenol promovían la absorción de nutrientes, mientras que algunos otros promovían más el crecimiento de raíces, pero no influía en la absorción de nutrientes. Lo anterior, proporciona elementos para inferir posibles resultados a obtener de algún extracto cuando se conoce su composición química.

El proceso de producción del extracto de algas para *A. nodosum* dependerá de los bioactivos específicos que se desea obtener, y los propósitos para los que se destinará el extracto. Los métodos y procesos varían en mezclas de solventes, pH, temperatura y eventualmente en enzimas que dirijan el proceso, incluso para regular el proceso para modificar el desempeño del extracto, y su rendimiento en los cultivos aplicados (Povero *et al.*, 2016).

3.1.9 Extracto de *A. nodosum* (ANE)

A. nodosum es una de las algas más estudiadas (Abkhoo y Sabbagth, 2015; Povero *et al.*, 2016; Chrysargyris *et al.*, 2018), y la más utilizada para la elaboración de extractos comerciales (Stirk y Van Staden, 2009). Los extractos a base de *A. nodosum* o ANE se ha analizado cada vez más, principalmente sus usos y aplicaciones, los efectos, y modos de acción (MacDonald *et al.*, 2018), descifrar los efectos en el crecimiento de las plantas y su influencia con la interacción con algunas enfermedades (Chrysargyris *et al.*, 2018), optimizando el crecimiento de las plantas, el rendimiento, el desarrollo de la inflorescencia y la producción, aumentando la resistencia a diferentes tipos de estrés (Ali *et al.*, 2016).

En varios cultivos se han reportado respuestas positivas a la aplicación de extracto de *A. nodosum* (MacDonald *et al.*, 2012), de manera global se retrasa significativamente el marchitamiento, reduce el uso de agua, incremento en el contenido de agua en las hojas, mejora la recuperación del marchitamiento por sequía, en césped induce la sobrevivencia bajo condiciones de salinidad (Battacharyya *et al.*, 2015), en las hojas propicia el incremento del contenido de clorofila a las plantas tratadas (Jannin *et al.*, 2015), en hojas de tomate aumentó, significativamente en el contenido clorofila, respecto al control. Un mayor contenido de clorofila es resultado de un incremento en la degradación de la clorofila, lo que puede ser efecto de la presencia de betaína en los extractos (Khan *et al.*, 2009). También se observó un número mayor de plantas que entraron a la senescencia y un incremento en la expresión de genes relacionadas a la fotosíntesis, respuesta al estrés, e incremento de azufre y nitrógeno en las plantas tratadas (Battacharyya *et al.*, 2015). También mejora la nodulación y el crecimiento de las plantas de alfalfa (Khan *et al.*, 2012), y las hormonas como las auxinas y cito quininas presentes inducen cambios en la formación de raíces laterales, volumen total de la raíz y elongación de la raíz (Calvo *et al.*, 2014).

3.1.10 Principales componentes de bioestimulantes en ANE

La composición química de los extractos depende en gran medida del método de extracción de los contenidos celulares aplicados, también puede influir los químicos utilizados en el proceso de extracción (Battacharyya *et al.*, 2015). Los extractos de *A. nodosum* son ricos en varios compuestos bioactivos (Ertani *et al.*, 2018). El contenido de polisacáridos presente en el extracto es de 30 a 40 % de la base seca, propio de las algas (Battacharyya *et al.*, 2015; Du Jardin, 2015). Otros compuestos o sustancias presentes en los extractos que contribuyen en el crecimiento de las plantas son:

Polisacáridos.

Como alginatos, fucoidan, laminarina, glucano y fucosa (Jeannin *et al.*, 1991), promueven principalmente el crecimiento vegetal la laminarina, en específico funciona como un elicitador induciendo respuestas de defensa contra hongos y bacterias patógenas. Los compuestos fenólicos son producidos bajo condiciones como de estrés para proteger las células y sus componentes. Donde el manitol, es un osmolito que brinda protección ante estrés salino e hídrico, se produce en respuesta al estrés abiótico, además de ser conocido como un agente quelante (Battacharyya *et al.*, 2015).

Compuestos nitrogenados y aminoácidos.

Betaínas. Funcionan como un soluto que alivia el estrés osmótico inducido por el estrés por salinidad o sequía además tiene el efecto de incrementar la cantidad de clorofila en las hojas, esto por una reducción en degradación de la clorofila. Cabe mencionar que los ANE contienen varios tipos de betaína y compuestos parecidos a la betaína (Khan *et al.*, 2009).

Vitaminas y precursores de vitaminas. Interactúan de una manera sinérgica para potenciar el crecimiento de las plantas.

Fitohormonas. Auxinas, giberelinas, sustancias con actividades parecidas a las cito quininas, cito quininas, ácido abscísico y precursores del etileno (Jeannin *et al.*, 1991). Las cito quininas son un amplio grupo de reguladores de crecimiento de las plantas, que tiene la capacidad de inducir la división celular, después de su síntesis de la raíz son transportadas por el xilema hacia los demás órganos de la planta donde tienen efectos sobre la división celular, el crecimiento de las hojas y la senescencia. Las giberelinas están principalmente relacionadas con la regulación de la división celular y la elongación, por lo tanto, tienen influencia en casi todos los estados de crecimiento de la planta incluyendo germinación, crecimiento de hojas y tallos, inducción de la floración y crecimiento del fruto (Calvo *et al.*, 2014). Las auxinas por otra parte inducen el crecimiento y elongación de la raíz primaria (Battacharyya *et al.*, 2015).

3.1.11. Efectos de ANE sobre las plantas

Los efectos de ANE claramente están asociados principalmente a sus componentes fitohormonales, que son la mayor causa de sus efectos estimulantes sobre las plantas (Du Jardin, 2015; Kauffman *et al.*, 2007). Varios estudios muestran que la cantidad de fitohormonas presentes en los extractos de *A. nodosum*, y cuando se aplican a los cultivos son demasiado bajas como para inducir una respuesta fisiológica directa. En estudios realizados en 12 extractos comerciales de *A. nodosum* para determinar las concentraciones de fitohormonas presentes, se concluyó que las concentraciones se encuentran muy por debajo de una dosis normal para inducir respuestas fisiológicas significativas principalmente, cuando se aplica en dosis recomendada por los fabricantes (Wally *et al.*, 2012). Esto sugiere que los efectos registrados no son solamente resultado de las fitohormonas, sino también de la participación de las moléculas elicitoras presentes en el extracto (Battacharyya *et al.*, 2015). Las fitohormonas y otros bioactivos con la misma actividad a las hormonas presentes en los extractos, tienen la capacidad de provocar cambios en la concentración de las hormonas endógenas (Kauffman *et al.*, 2007), los cambios o alteraciones que inducen puede ser por modificaciones en el metabolismo de las fitohormonas, tasa

de biosíntesis, inactivación, degradación y transporte por medio de la regulación de genes relacionados en el metabolismo de las fitohormonas (Aremu *et al.*, 2015; Battacharyya *et al.*, 2015). Estos resultados apuntan que los efectos están más relacionados con la regulación de genes, que con los efectos directos de contenido de hormonas (Du Jardin, 2015).

El uso de bioestimulantes a base de *A. nodosum* en plantas de pepino, se ha mostrado incremento en el peso seco total, e inducir resistencia al ataque de enfermedades de la raíz (Abkhoo y Sabbagth, 2015; Jannin *et al.*, 2013), además, estimula el crecimiento de las plántulas y la acumulación de biomasa, particularmente en raíces y tallos, esto lo atribuyeron a una mayor capacidad de penetración de las raíces en el suelo y por consiguiente una mayor disponibilidad de nutrimentos (Jeannin *et al.*, 1991). Sin embargo, en cultivo de vid (*Vitis vinífera* L.) no se observó ningún beneficio acumulado después de la aplicación anual de ANE sobre las plantas evaluadas (Norrie y Keathley, 2006).

La raíz es la estructura que refleja mayores efectos positivos, principalmente en su desarrollo (Jeannin *et al.*, 1991), y como se ha reportado, los extractos de *A. nodosum* no aporta nutrimentos por sí mismo, solo estimula la absorción (Van Oosten *et al.*, 2017). La correlación entre el crecimiento, desarrollo de raíz y absorción de algunos nutrientes, está bien documentado en diferentes estudios de investigación (Akinici *et al.*, 2009).

3.2. Cultivo de alfalfa

3.2.1. Generalidades

La alfalfa es la leguminosa forrajera más importante a nivel mundial debido a su gran rendimiento en biomasa y a su adecuada calidad nutritiva (Jia *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2016). Esta especie pertenece al género *Medicago*, que comprende alrededor de 83 especies (Small, 2010), se usa principalmente henificado o ensilado y es una importante fuente de proteína (Khan *et al.*, 2012). Su

producción está principalmente enfocada a la alimentación de la vaca lechera y su valor nutritivo puede ser determinado mediante algunos parámetros clave como son proteína cruda, fibra detergente ácido, fibra detergente neutra y digestibilidad. Y esta calidad del forraje de alfalfa puede ser afectada por estreses abióticos, especialmente por la falta de agua, a través de efectos directos e indirectos en la morfología y en la fisiología de la planta (Biazzi *et al.*, 2017).

No obstante, dado su alto rendimiento el potencial de producción está en función de la interacción de factores climáticos y edáficos, con las características fisiológicas de la alfalfa. El principal factor climático que determina el potencial productivo es la temperatura, así pues, los lugares con mayor potencial productivo son aquellos donde la temperatura media anual es de 19 °C. Al igual que los mejores suelos son aquellos de textura franco arenoso a franco arcilloso, con un pH entre 6.5 y 7.5, y los suelos menos adecuados son los de textura arenosa o arcillosa (Santamaría, 2001). De igual manera la calidad del forraje de la alfalfa puede ser afectada por diferentes factores como el estrés abiótico, especialmente sequía, a través de efectos directos e indirectos sobre la morfología y fisiología de la planta (Battacharyya *et al.*, 2015). Sin embargo, a pesar de ser uno de los forrajes más importantes a nivel mundial, y aunque el rendimiento y la calidad de alfalfa han sido mejorados a través de la selección fenotípica, la mejora genética de la calidad nutritiva es relativamente baja en comparación con otros cultivos, esto se debe a que las características genéticas de la productividad en la especie no se transmite de manera regular, principalmente por una arquitectura genética compleja, y la alta interacción del genotipo con el ambiente (Biazzi *et al.*, 2017; Jia *et al.*, 2018).

3.2.2. Cultivo de alfalfa en México

El cultivo de alfalfa ocupa el 8° lugar en la generación de valor agrícola a nivel nacional, en 2020 alcanzó \$ 20.18 mil millones. Su siembra se asocia al desarrollo de la ganadería lechera estabulada, debido a su importante uso como forraje de aporte proteico. Se encuentra en la décima posición a nivel nacional

en cuanto a superficie destinada a la producción agrícola, esto es 392,198.7 hectáreas, con rendimiento nacional de 88.7 UDM/ha, para el año 2020 (Figura 1). La producción se ha incrementado a una tasa de 1.7 % anual en los últimos diez años, alcanzando actualmente 34.8 millones de toneladas (SIAP-SAGARPA, 2020).

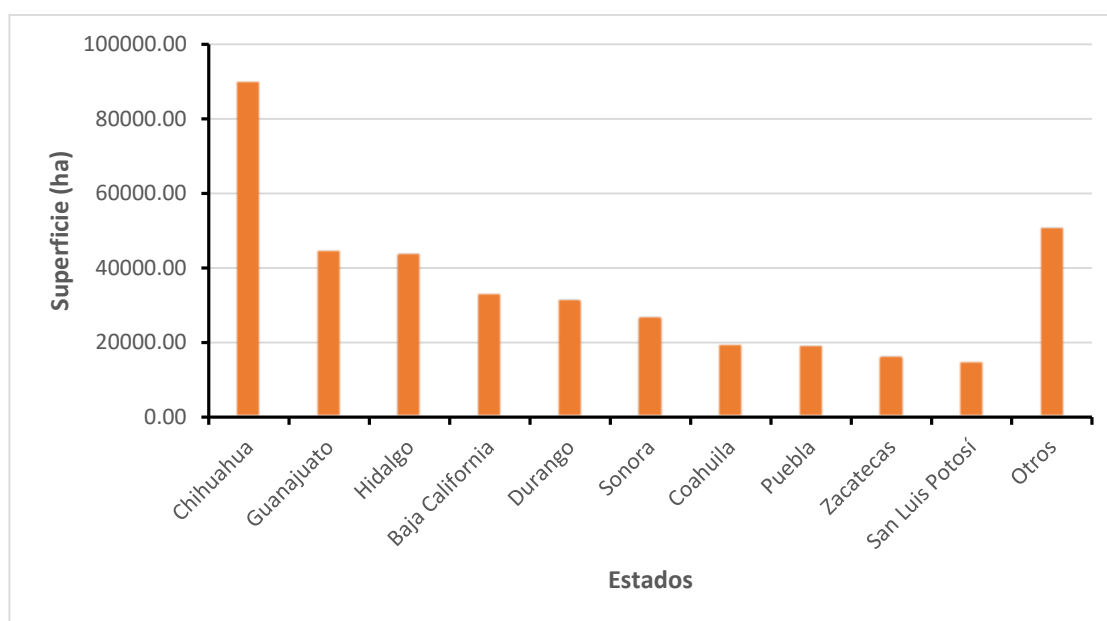


Figura 1. Principales productores de alfalfa en México.

Fuente: Elaboración propia con datos de SIAP, 2020.

En México donde los principales estados productores de alfalfa en el año 2020, fueron Chihuahua con 90,181 hectáreas, Guanajuato con 44,877 hectáreas e Hidalgo con 43,996 hectáreas, con una producción nacional de 34,819,286 toneladas de forraje (Figura 2) (SIAP, 2020).

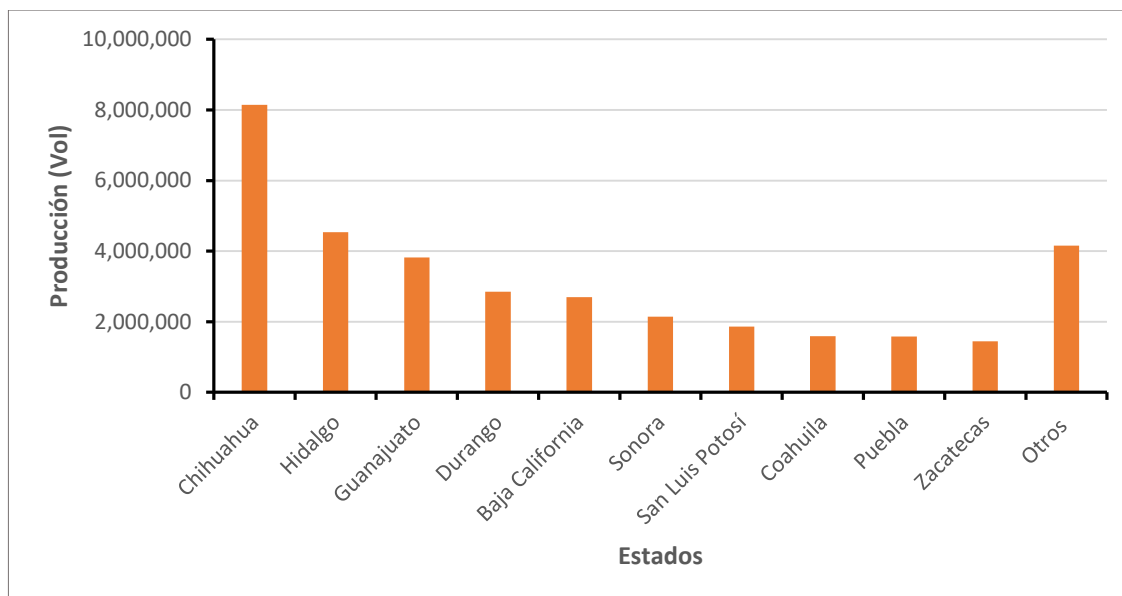


Figura 2. Volumen de producción de alfalfa en México.

Elaboración propia con datos de SIAP, 2020.

3.2.3. Importancia de la Alfalfa en la Región Lagunera

La producción de alfalfa en la Región Lagunera genera una importante derrama económica y se utiliza para satisfacer la demanda de los establos lecheros y demás sistemas de producción pecuaria en los estados de Coahuila y Durango; por lo tanto, además de la producción local hay necesidad de los forrajes provenientes principalmente del estado de Chihuahua en particular de Delicias y Camargo (Najera-Grijalba, 2017).

Cuadro 1. Superficie sembrada y valor de producción de alfalfa en el Distrito Laguna, Coahuila (SIAP, 2020)

Municipio	Superficie (ha)	Producción (Miles de Pesos)
Francisco I. Madero	18,379.46	799,272.15
Matamoros	18,973.50	1,334,323.12
San Pedro	25,081.45	1,398,765.81

Torreón	4,552.80	441,502.20
Viesca	6,211.60	593,371.56
Total	73,198.81	4,567,234.83

En la Región Lagunera, para el año 2020, se sembraron 73,198.8 hectáreas, con una producción total de 3.9 millones de toneladas de forraje verde. De esta producción 15,000 hectáreas pertenecían al distrito Laguna de Coahuila, con una producción de 1,296,265.00 toneladas y un rendimiento de 86.35 toneladas/hectárea y 24,091 hectáreas sembradas en el Distrito Laguna del Estado de Durango, con una producción de \$2,112,277.16 pesos, y un rendimiento de 87.68 toneladas/hectárea (SIAP-SAGARPA, 2017).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Ubicación del experimento y condiciones ambientales

El experimento se realizó en el Ejido La Partida, municipio de Matamoros, Coahuila, México. Localizado en 25° 37' 45.131" latitud Norte y 103° 14' 46.712" longitud Oeste y altitud de 1,120 m. Las condiciones ambientales que prevalecen caracterizan un clima semiárido; con precipitación media anual de 227 mm, donde los meses de febrero, marzo y abril, comprenden el periodo de baja precipitación, con registros de entre 5 a 10 mm de lluvia mensual promedio. Posteriormente, presenta un periodo de mayor precipitación de la región, con valores, entre 20 y 45 mm de promedio mensual. El experimento se realizó entre los meses de junio a noviembre de 2016. La temperatura media anual es de 22.5 °C, con media máxima de 29.9 °C, y media mínima de 15.3 °C (CONAGUA, 2020).

Las condiciones del suelo presentan una profundidad superior de 100 centímetros, buen drenaje, con pH de 7.5, salinidad baja, y conductividad de 5 dS/m. Por tanto, las condiciones son óptimas para obtener una productividad media a alta (Núñez y Quiroga, 2000; Lara y Jurado, 2014).

4.2. Tratamientos

El experimento se realizó en una superficie total de 20 hectáreas, divididas en dos parcelas de 10 hectáreas. Al momento de la realización del experimento, el cultivo contaba con dos años en producción bajo esquema comercial, es decir, no se modificó el calendario de riegos, de cortes o formulación de la fertilización, solamente se evaluó el efecto de los tratamientos durante junio a noviembre de 2016.

La aplicación de cada tratamiento se llevó a cabo en dos parcelas, con superficie de 10 hectáreas en cada uno. Para evitar el efecto orilla se descartó una porción de 1.5 metros a partir de la orilla de cada tabla.

El producto utilizado para el tratamiento fue un extracto de alga marina *A. nodosum*, con nombre de Acadia Suelo®, formulado para aplicación en suelo, con propiedades de estimulación en crecimiento y desarrollo de raíz en diferentes cultivos. Las aplicaciones del extracto se realizaron en cada riego, en base a las recomendaciones. El extracto de alga marina se aplicó en dosis de 1 litro por hectárea, con una frecuencia de cada 30 días.

Se implementó el diseño experimental completamente al azar con dos tratamientos, que consistió en la aplicación del producto (T1), y testigo sin aplicación de producto (T2), se consideraron seis repeticiones que correspondieron a cada cosecha o corte de forraje.

4.3. Muestreo

Las muestras se obtuvieron en cada periodo de cosecha, que consistió en recolectar 150 g de material vegetal antes de cada corte. Los cortes se realizaron cada 30 días.

En cada parcela se colectaron 100 muestras al azar en la parte central, para evitar el efecto orilla en los resultados. Las muestras se homogenizaron para obtener una muestra final de 100 g de material vegetal, almacenado en bolsas de papal estraza, debidamente etiquetadas y resguardadas en hieleras portátiles.

4.4. Análisis de forraje

Las muestras obtenidas se identificaron de acuerdo a cada tratamiento, y posteriormente se enviaron al laboratorio de análisis de forrajes AGROLAB® México, en sus instalaciones de Gómez Palacio, Durango, México.

Para el análisis de calidad del forraje, se aplicó el método de espectroscopia por infrarrojo cercano (NIRS), donde se determinó la calidad nutritiva del forraje, y materia seca. Para cada muestra se obtuvieron datos de: Porcentaje de proteína cruda en base seca (PC), Porcentaje de fibra detergente

ácido en base seca (FDA), Porcentaje de fibra detergente neutro (FDN), carbohidratos no fibrosos (CNF) y Nutrientes digestibles totales (TND).

4.5. Análisis estadístico

Se evaluaron cinco variables: proteína cruda (PC), porcentaje de fibra detergente ácido (FDA), porcentaje de fibra detergente neutro (FDN), contenido de carbohidratos no fibrosos (CNF) y total de nutrientes digestibles (TND).

Los datos obtenidos se sometieron a análisis de varianza (ANOVA), y comparación de medias con DMS $\alpha = 0.05$, utilizando el programa estadístico de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León (Olivares-Sáenz, 2012).

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para la evaluación de la calidad del forraje de alfalfa fue necesario seleccionar las variables para que cubra los requerimientos cuando se utiliza para la alimentación del ganado, tales como proteína cruda (PC), porcentaje de fibra detergente ácido (FDA), porcentaje de fibra detergente neutro (FDN), contenido de carbohidratos no fibrosos (CNF) y total de nutrientes digestibles (TND).

Cuadro 2. Resultados de calidad nutritiva de los muestreos en alfalfa forrajera de segundo año en el periodo junio - noviembre de 2016 con bioestimulante ANE y testigo comercial del productor en la Región Lagunera.

Tratamiento		PC	FDA	FDN	CNF	TND
		%				
Fertilización comercial más aplicación de ANE (T ₁)	Media	25.0 _a	23.75 _a	29.46 _a	37.45 _a	63.83 _a
	EE	0.53	1.59	1.02	1.62	0.9
Testigo (T ₂)	Media	25.05 _a	23.46 _a	30.08 _a	35.55 _a	64.00 _a
	EE	0.94	0.97	1.69	1.44	0.51

ANE = Extracto de *A. nodosum* PC = porcentaje de proteína cruda en base seca, FDA = porcentaje de fibra detergente ácido en base seca, FDN: porcentaje de fibra detergente neutro, CNF= carbohidratos no fibrosos, TND= nutrientes digestibles totales.

Los resultados datos obtenidos en el análisis de varianza (ANOVA) para determinar el valor nutritivo de la alfalfa, en base seca, en el **Cuadro 2** de las variables evaluadas en ninguna hay diferencia significativa (<0.05).

Las diferencias son numéricas en las variables, en este caso no existió una respuesta sobresaliente en las variables sin embargo, se ha analizado en otros estudios que los efectos de los bioestimulantes tienen impactos en otros aspectos de las plantas, como el aumento de sistema radicular e incremento de rendimiento en forraje verde (Cantú-Brito y Moreno-Reséndez, 2017), así como

el sistema de defensas frente a organismos potencialmente patógenos (Espinosa-Coronel *et al.*, 2020), que en este estudio no se realizó la evaluación de biomasa y por lo tanto no se pudo determinar si existieron otros beneficios indirectos.

Aunado a otros aspectos, como en los estudios de diferentes cultivos en el caso particular de pepino en invernadero, aplicando un extracto comercial de alga *A. nodosum*, a concentraciones de 0.5 a 1 %, dos veces a intervalo de 10 días, fue una reducción significativa en cuanto al desarrollo de enfermedades causado por los agentes: *Phytophthora melonis* (Abkhoo y Sabbagh, 2015), *Alternaria cucumerinum*, *Didymella applanata*, *Fusarium oxysporum* y *Botrytis cinérea* (Jayaraman *et al.*, 2011), además, se observó incremento de sustancias relacionadas con las defensas de plantas contra ataques de patógenos (Abkhoo y Sabbagh, 2015; Jayaraman *et al.*, 2011).

De acuerdo con Cantú-Brito y Moreno-Reséndez (2017) en maíz forrajero aplicando extractos de *A. nodosum*, en presentación de Acadian Suelo y Simplex foliar, de manera combinada con inoculación en semillas, además de la aplicación a través del riego y fertilización foliar, comprobaron un incremento significativo en el desarrollo radicular, aumento de rendimiento en forraje verde y materia seca, además que la aplicación de los extractos fue suficiente para complementar los requerimientos nutricionales del maíz durante el ciclo productivo, y mostrar mayor vigor frente al testigo manejado bajo esquema de fertilización convencional.

5.1. Proteína cruda (PC)

En el **Cuadro 2**, se muestran los resultados obtenidos de PC (%) no hay diferencias significativas para ésta variable ($p < 0.05$), de acuerdo con Berti *et al.*, 2021 donde evaluó una parcela de alfalfa tampoco encontró diferencias

significativas cuando se hacen los análisis al forraje de alfalfa en los primeros años, por lo tanto, es necesario evaluar a un lapso superior a los 4 años de establecida la siembra de alfalfa para que se pueda distinguir los efectos de los tratamientos.

El promedio obtenido de las muestras provenientes del lote tratado fue de $25 \pm 0.52\%$, reportando valores mínimos y máximos de 22.7 y 26.3, respectivamente. Por otro lado, los resultados obtenidos para el lote testigo el promedio obtenido fue de $25.05 \pm 0.94 \%$, reportando valores mínimos y máximos de 21.21 y 27.4 (Figura 3). Aun cuando en los tratamientos no hay diferencias significativas en PC ni en fibra, son los dos aspectos más importantes en cuanto a la calidad de los forrajes y particularmente en la alfalfa de acuerdo con Hojilla-Evangelista *et al.*, 2017, por lo tanto, la proteína cruda es el valor nutricional y la fibra es la palatabilidad y los nutrientes digeribles totales (Hu *et al.*, 2021).

Generalmente en la alfalfa deshidratada donde la PC se encuentra en las hojas, donde su contenido con valores de 25 a 30% y en el tallo con 6 a 10% de PC (Undersander, 2021). En nuestro estudio los valores de proteína cruda determinados en el experimento fueron superiores en comparación con otros estudios, por ejemplo, Vázquez-Vázquez *et al.*, (2010) y Capacho-Mogollón *et al.*, (2018) determinaron valores de 23.8 %. Se considera que el contenido de los tratamientos del estudio se encuentra dentro del rango del contenido de PC.

En cuanto al comportamiento de la PC durante el periodo de junio a noviembre, en la Figura 3 se observa una mayor presencia de PC durante los meses de verano con contenido cercano al 28% y una disminución en otoño alrededor de 23%, de acuerdo con Soufan *et al.*, (2021) encontró que los valores de digestibilidad y por lo tanto el rendimiento y los contenidos de PC fueron bajos en otoño. La cosecha de la biomasa de alfalfa en otoño para evitar la afectación por heladas o nieve es una práctica habitual entre los productores, donde no afecta el rendimiento y tampoco se ve afectada la calidad del forraje de acuerdo con Berti *et al.*, 2021, se considera que un corte en otoño a fechas posteriores a 15

de octubre tiene afectaciones en la supervivencia de las plantas (McDonald et al.,2021), pero en noviembre se incrementan los valores de PC.

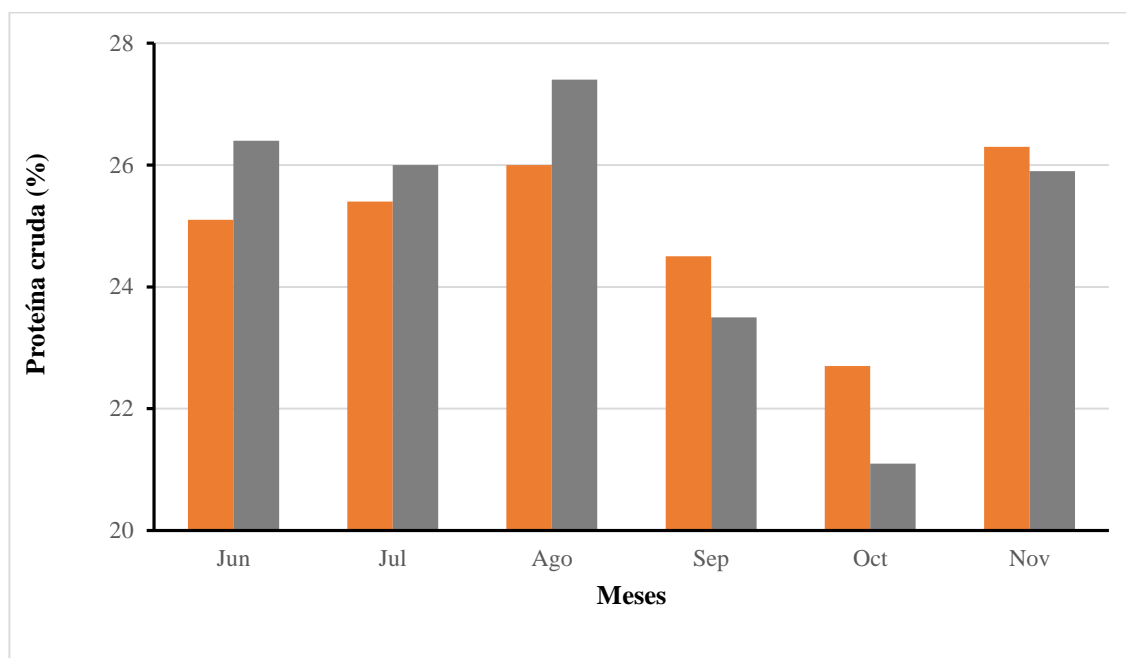


Figura 3. Resultados obtenidos para Proteína cruda (%), en alfalfa de segundo año, periodo junio-noviembre de 2016, con y sin bioestimulante ANE bajo manejo comercial del productor en la Región Lagunera.

5.2 Fibra detergente ácida (FDA)

Las determinaciones de FDA, no hay diferencia significativa ($p > 0.05$) entre los tratamientos como se observa en el Cuadro 2, donde el lote tratado tuvo una media de 23.75 ± 1.59 , y el lote testigo de 23.46 ± 0.93 . Se considera que la fibra detergente ácida es un indicador indirecto del nivel de digestibilidad de forraje, por lo tanto, entre más alto el contenido de FDA el alimento es menos digestible para los animales y se encuentra en función del contenido de celulosa y lignina (Palmonari et al., 2014). La FDA es uno de los parámetros que refleja la calidad de forraje, además, presenta mayor interacción con las condiciones ambientales (Dalla-Fontana et al., 2013).

El comportamiento FDA del lote tratado (Figura 4), durante los meses de verano hay mayor producción de biomasa reflejado en el aumento de los folíolos de alfalfa, donde el FDA su contenido es bajo, mientras que en otoño se incrementa el porcentaje de tallos igual que los contenidos de FDA, por lo tanto es importante que se incremente la relación hoja/tallo para la reducción de la lignina y también que los cortes sean cada 45 días que no permita la maduración de la planta para evitar la lignificación de tallos y hojas (Grey et al., 2017) y finalmente Dalla-Fontana *et al.* (2007), reportan que las altas temperaturas del verano influyen de manera directa en la maduración y calidad del forraje de alfalfa.

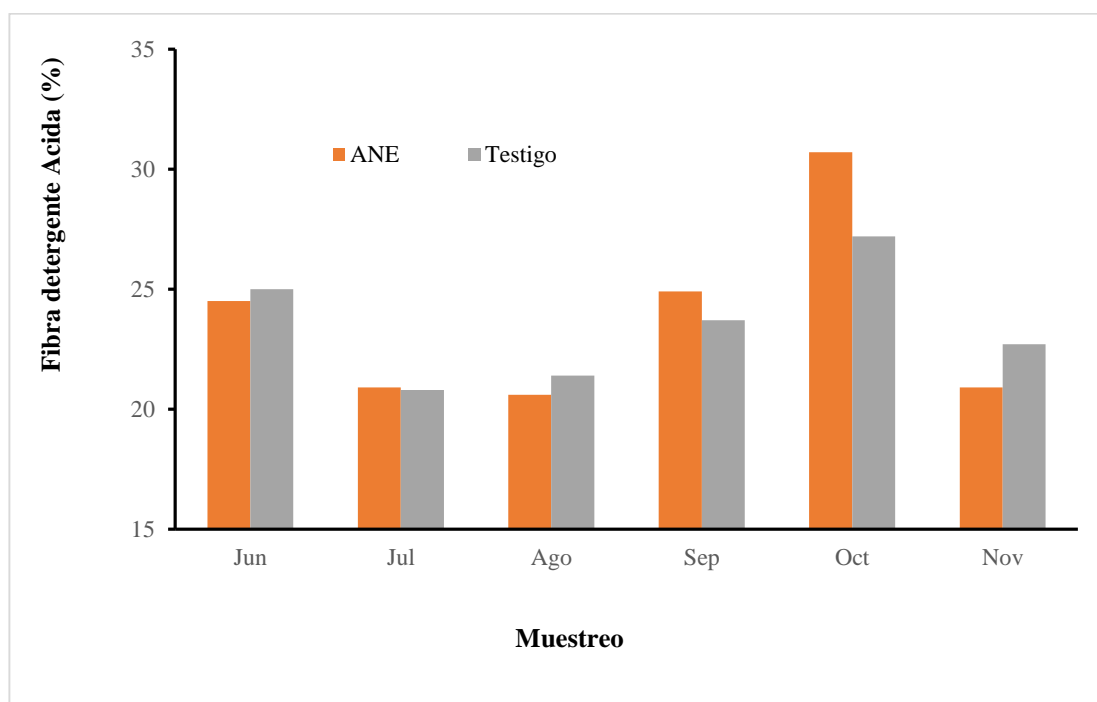


Figura 4. Comportamiento de FDA en los diferentes muestreos del cultivo de alfalfa, con y sin bioestimulante ANE, bajo manejo comercial de productor, en la Región Lagunera.

5.3 Fibra detergente neutro (FDN)

La variable FDN representa el contenido de hemicelulosa, celulosa y lignina, se considera que un contenido mayor de FDN fomenta un consumo voluntario menor de materia seca por el ganado, además de la digestibilidad y la fermentación ruminal (Pinho et al., 2018).

El contenido de FDN en el forraje de alfalfa es un indicativo de la calidad nutritiva, además se considera que estimula la actividad masticatoria y favorece la degradación del forraje en el rumen (White et al., 2017). En el presente experimento, el FDN fue de 29.4 % del lote tratado y de 30.08 del testigo, contenidos inferiores a los resultados de Grev *et al.* (2017), evaluando diferentes días de corte en diferentes variedades, en el que obtuvieron la máxima calidad a los 30 días, con valores de 34.3 a 39.2 % de FDN, mientras que, los tratamientos con más días a la cosecha, la calidad nutritiva del forraje disminuía considerablemente; donde la cosecha se realizó después de los 45 días aumentó el contenido de fibra detergente neutra.

Se considera que el contenido de FDN en el forraje, es una posible respuesta a las condiciones de aumento de temperatura ambiental, por lo que, en época de verano los intervalos de corte deben ser menores a 30 días. El incremento de FDN en alfalfa está directamente relacionado con el incremento de contenido de lignina, que es una respuesta de la planta (Khan *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2016). Lo anterior explica lo observado en este experimento, ya que, el lote tratado con extracto de *A. nodosum*, donde el incremento de FDN es menor que en el testigo en época de verano (**Figura 5**), esto podría un efecto de la aplicación del tratamiento con extractos, que es uno de los atributos del producto comercial donde se menciona que ayuda a proteger el sistema radicular y estimular la actividad simbiótica (Khan *et al.*, 2012).

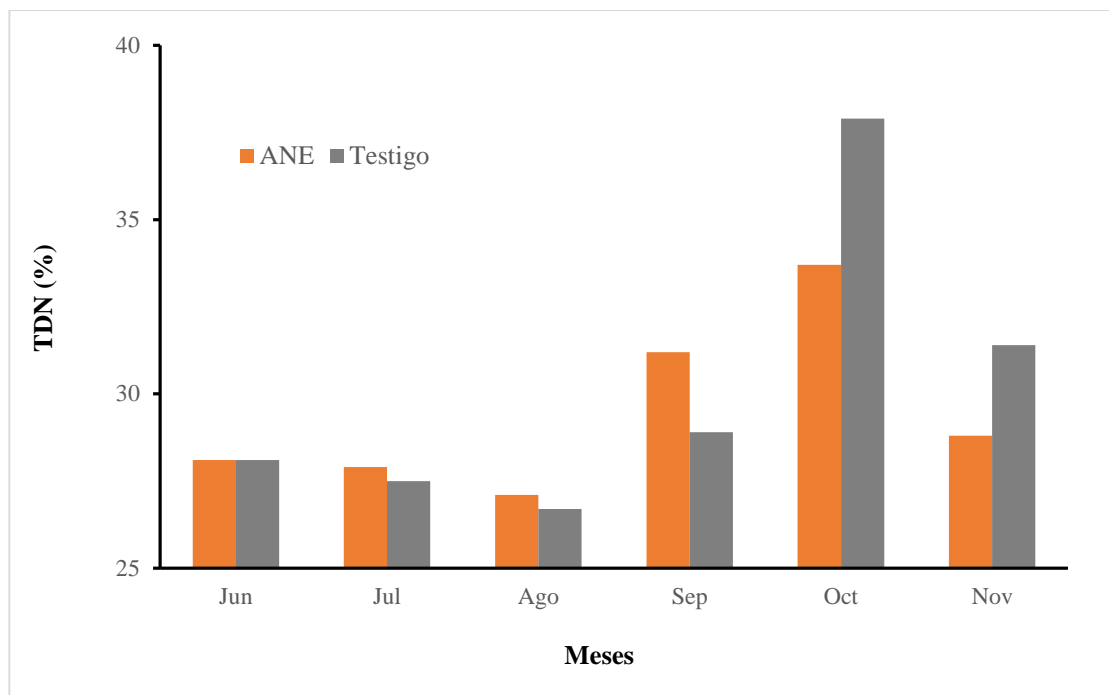


Figura 5. Comportamiento de porcentaje de contenido de Fibra Detergente Neutro (FDN), en las diferentes fechas de muestreo de alfalfa, con y sin bioestimulante ANE.

5.4 Carbohidratos no fibrosos (CNF)

Los carbohidratos no fibrosos también llamados carbohidratos no estructurales son polisacáridos que se encuentran en los forrajes, generalmente son almidones y azúcares que tiene la cualidad de proporcionar energía para las bacterias favoreciendo una rápida fermentación en el rumen (Pelletier *et al.*, 2010).

En el experimento no hay diferencias significativas en los tratamientos (Cuadro 2), para la variable CNF en el lote tratado con ANE se obtuvo una media de 37.45, mientras que el testigo alcanzó una media de 35.55. En este caso los valores obtenidos, concuerdan con los estándares requeridos en la alimentación de vacas productoras de leche que oscilan de 36 a 40 % (NRC, 2001), en el mismo sentido, Chase y Sniffen (1991) sugieren que la proporción de CNF se encuentre entre 30 y 40 %, en este experimento los resultados nos indican que están en el rango de calidad requerida; mientras que para Núñez *et al.* (2003), indican la

alfalfa de primera calidad contiene en promedio 29.1 % y para segunda calidad de 28.9 % de CNF. Por lo tanto, en los datos del experimento nos indica que la alfalfa producida contiene cantidades adecuadas de CNF y que puede ser una probable respuesta del genotipo establecido en la siembra de alfalfa.

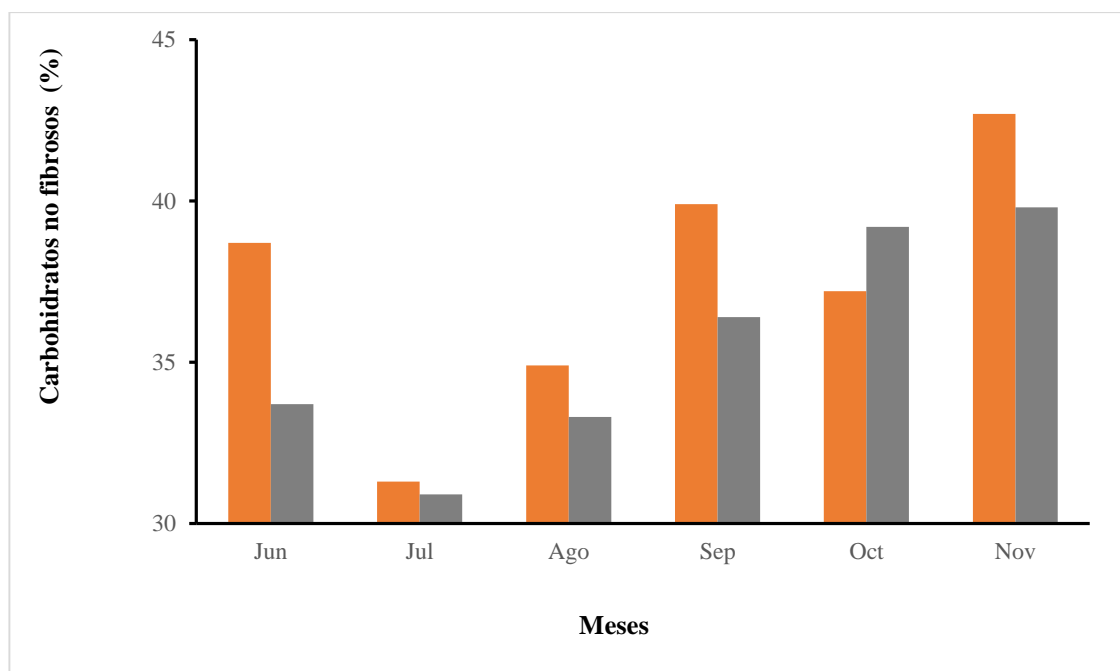


Figura 6. Contenido de carbohidratos no fibrosos en alfalfa de segundo año, en diferentes fechas de corte, con y sin aplicación de ANE, en la Región Lagunera.

En cuanto al comportamiento del contenido de carbohidratos no fibrosos, los menores contenidos fueron durante julio y se incrementaron constantemente a partir de agosto alcanzado su mayor contenido en noviembre, se considera que el contenido de CNF esta influenciado por la temperatura, de acuerdo con Lauzon *et al.*, (2019) se considera que las temperaturas templadas a frías incrementan las concentraciones de CNF, que es similar al comportamiento observado en la Figura 6, por lo tanto la época de otoño favorece la acumulación de almidones y azúcares que incrementan la calidad del forraje.

5.5 Total de nutrientes digestibles (TND)

Se determinó el contenido de Porcentaje Total de Nutrientes Digestibles (TDN, %) en el cultivo de alfalfa, en lotes con y sin *aplicación* de ANE; no hay diferencia estadísticamente significativa ($p>0.05$). donde los resultados observados son muy similares entre el lote tratado y el testigo. En el caso del lote tratado con el extracto se obtuvo un promedio de $63.83 \pm 0.90\%$. Mientras para el lote sin tratamiento, es decir, manejado bajo esquema comercial, el promedio es de $64 \pm 0.51\%$, con valores mínimos.

En cuanto al contenido de TND es de gran importancia porque representa el contenido energético del forraje para un animal, esta variable disminuye aproximadamente en 6% de contenidos TND cuando los periodos de corte son menores a los 28 días de acuerdo con Min, (2016), en nuestro experimento los cortes se realizaron cada 30 días se muestra en la Figura 7 un comportamiento homogéneo oscilando entre 62 y 66 % de TDN durante junio a noviembre.

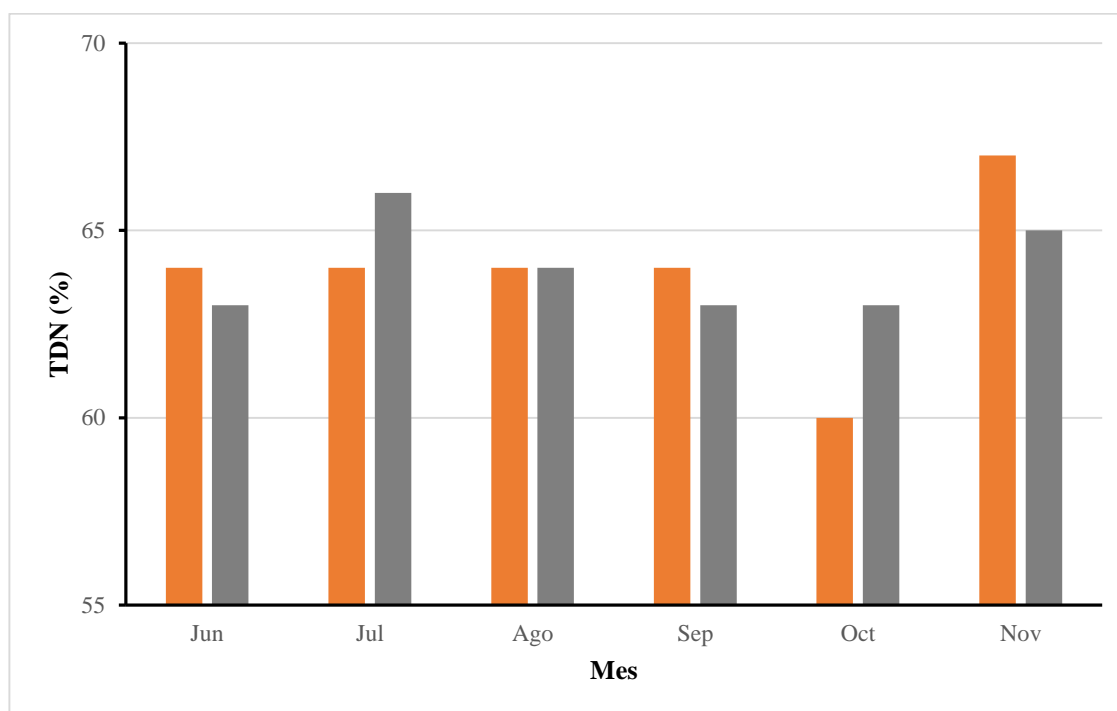


Figura 7. Contenido Total de Nutriente Digestibles en alfalfa de segundo año, en diferentes fechas de corte, con y sin aplicación de ANE, en la Región Lagunera.

La calidad del forraje, principalmente en la proporción aprovechable está en función de la época del año, en los meses más cálidos la madurez del forraje se alcanza rápidamente, mientras que la calidad decrece rápidamente (Zaragoza *et al.*, 2009). Por lo tanto, una estrategia para mantener la calidad en épocas cálidas o regiones con elevadas temperaturas, es realizar cortes más frecuentes (Zaragoza *et al.*, 2009). Una opción es el uso de bioestimulantes que ayuden a la planta a estabilizar los niveles metabólicos ante diferentes tipos de estrés (Khan *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2016; Borroel y Zermeño, 2014), aunque en el presente estudio no se vio reflejado el efecto de los bioestimulantes a base de extractos de algas.

De manera general la aplicación de forma regular de extracto de alga marina comercial de *A. nodosum* en la Región Lagunera no tuvo ningún efecto positivo en diferentes características nutritivas del cultivo de alfalfa

VI. CONCLUSIONES

Las aplicaciones periódicas de extracto de algas marinas en formulación comercial, Acadian Suelo®, en cultivo de alfalfa, en su segundo año productivo, no presento efectos significativos en las variables de calidad de forraje de alfalfa, por lo tanto el uso del extracto no tiene una respuesta rápida en el cultivo probablemente se requiera realizar estudios a largo plazo que permita identificar y observar los efectos de las aplicaciones y por lo tanto se pueda producir un forraje de mejor calidad en los parámetros requeridos para alimentación del ganado vacuno.

VII. REFERENCIAS

- Abdalla, Mona. (2013). The potential of *Moringa oleifera* extract as a biostimulant in enhancing the growth, biochemical and hormonal contents in rocket (*Eruca vesicaria* subsp. *Sativa*) plants. *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry*. 5. 42-49. 10.5897/IJPPB2012.026.
- Abkhoo, J., Sabbagh, S.K. Control of *Phytophthora melonis* damping-off, induction of defense responses, and gene expression of cucumber treated with commercial extract from *Ascophyllum nodosum*. *J Appl Phycol* 28, 1333–1342 (2016). <https://doi.org/10.1007/s10811-015-0693-3>
- Abou-Chehade, L.; Al-Chami.Z.; De-Pascali, S.A.; Cavoski, I. and F., Paolo-Fanizzi. 2017. Biostimulants from food processing by-products: agronomic, quality and metabolic impacts on organic tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Journal Science Food Agricultural*. 2017(1). DOI: 10.1002/jsfa.8610.
- Akinci, S., Tamer, B., Eroglu, A., Erdogan, B. (2009). The Effect of Humic Acid on Nutrient Composition in Broad Bean (*Vicia faba* L.) Roots. *Notulae Scientia Biologicae*. 1. 10.15835/nsb.1.1.3489.
- Alam, M. Z., Braun, G., Norrie, J., & Hodges, D. M. (2013). Effect of *Ascophyllum* extract application on plant growth, fruit yield and soil microbial communities of strawberry. *Canadian Journal of Plant Science*, 93(1), 23-36. doi: 10.4141/cjps2011-260
- Ali, N., Ramkissoon, A., Ramsubhag, A., & Jayaraj, J. (2016). *Ascophyllum* extract application causes reduction of disease levels in field tomatoes grown in a tropical environment. *Crop Protection*, 83, 67-75. doi: 10.1016/j.cropro.2016.01.016
- Aremu, A.O.; Placková, L.; Gruz, J.; Bíba, O.; Novak, O.; Stirk, W.A.; Dolezal, K. and J., Van Staden. 2015. Seaweed-derived biostimulant (Kelpak®) influences endogenous cytokinins and bioactive compounds in hydroponically grown *Eucomis autumnalis*. *J. Plant Growth Regul.* DOI: 10.1007/s00344-015-9515-8.

- Battacharyya, D.; Zamani B., M.; Rathor, P. and B., Prithiviraj. 2015. Seaweed extracts as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*. 196: 39-48. DOI: 10.1016/j.scienta.2015.09.012.
- Berti, M., Nudell, R., & Meyer, D. W. (2012). Fall harvesting of alfalfa in North Dakota impacts plant density, yield, and nutritive value. *Forage & Grazinglands*, 10(1), 1-10.
- Biazzi, E., Nazzicari, N., Pecetti, L., Brummer, E. C., Palmonari, A., Tava, A., & Annicchiarico, P. (2017). Genome-Wide Association Mapping and Genomic Selection for Alfalfa (*Medicago sativa*) Forage Quality Traits. *PLoS One*, 12(1), e0169234-e0169234. doi: 10.1371/journal.pone.0169234
- Borroel-García, V.J. y H., Zermeño-González. 2014. Rendimiento de maíz forrajero bajo la adición de ácido húmico y algaenzimas. In: Vázquez-Navarro, J.M.; Puentes-Gutiérrez, J.; Martínez-Ríos, J.J.; López-Calderón, M.J.; Vázquez-Navarro, M.J.; Camacho-Rodríguez, S.Y. y R., Santana-Rodríguez. 26 semana Internacional de Agronomía. Memorias. Gómez Palacio, Durango, México. ISBN 215790.
- Brown, P. and S., Saa. 2015. Biostimulants in agriculture. Mini review. *Frontiers In Plant Science*. 6: 671. DOI: 10.3389/fpls.2015.00671.
- Bulgari, R., Cocetta, G., Trivellini, A., Vernieri, P., & Ferrante, A. (2015). Biostimulants and crop responses: a review. *Biological Agriculture & Horticulture*, 31(1), 1-17. doi: 10.1080/01448765.2014.964649
- Calvo, P. Nelson, L and J., W. Kloepper. 2014. Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant Soil*. 383(1-2), 3-41. DOI: 10.1007/s11104-014-2131-8.
- Canellas, L. P., Olivares, F. L., Aguiar, N. O., Jones, D. L., Nebbioso, A., Mazzei, P., & Piccolo, A. (2015). Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196, 15-27. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.013>
- Cantú-Brito, J.E. y A., Moreno-Reséndez. 2017. Comportamiento de maíz forrajero aplicando abonos de origen marino como alternativa a la

- fertilización sintética. Notas de investigación-INIFAP. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 8(7).
- Chase, L.E. & C.1., Sniffen. 1991. Balancing dairy rations to optimize rumen fermentation and milk production. In: Professional Dairy Management Seminar. Dubuque, IA, U.S.A. 5 p.
- Chrysargyris, A., Xylia, P., Anastasiou, M., Pantelides, I., & Tzortzakis, N. (2018). Effects of *Ascophyllum nodosum* seaweed extracts on lettuce growth, physiology and fresh-cut salad storage under potassium deficiency. *Journal of the science of food and agriculture*, 98(15), 5861–5872. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9139>
- CONAGUA. (2020). Normales climatológicas por estado. Consulta: 04 mayo 2020. Disponible en: <https://smn.conagua.gob.mx/>
- Craigie, J.S. Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. *J Appl Phycol* 23, 371–393 (2011). <https://doi.org/10.1007/s10811-010-9560-4>
- Crouch, I. J., & Van Staden, J. (1993). Commercial seaweed products as biostimulants in horticulture. *Journal of Home & Consumer Horticulture*, 1(1), 19-76.
- Crouch, I. J., & Van Staden, J. (2008). Commercial Seaweed Products as Biostimulants in Horticulture. *Journal of Home & Consumer Horticulture*, 1(1), 19-76. doi: 10.1300/J280v01n01_03
- DePeters, E. (2012, December). Forage Quality: Important attributes & changes on the horizon. In the Proceedings of California Alfalfa and Grains Symposium, Sacramento, CA, USA (Vol. 1012).
- Dhargalkar, V.K. & Pereira, Nadja. (2004). Seaweed: Promising Plant of the Millennium. *Sci and Cult*. 71.
- Du Jardin, P. (2015). Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia horticultrae*, 196, 3-14.
- EBIC. (2017). What are biostimulants benefits. Consulta: 1 noviembre 2019. Disponible en: <http://www.biostimulants.eu/about/what-are-biostimulants-benefits/>.

- Eckardt, N.A.; Cominelli, E.; Galbiati, M. & Tonelli, C. 2009. The future of science: food and water for life. *The Plant Cell*. 21(2): 368-372. DOI: 10.1105/tpc.109.066209.
- Ertani, A., Sambo, P., Nicoletto, C., Santagata, S., Schiavon, M., & Nardi, S. (2015). The use of organic biostimulants in hot pepper plants to help low input sustainable agriculture. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 2(1), 1-10.
- Ertani, A.; Francioso, O.; Tinti, A.; Schiavon, M.; Pizzeghello, D. and S. Nardi. 2018. Evaluation of seaweed extracts from *Laminaria* and *Ascophyllum nodosum* spp. as biostimulants in *Zea mays* L. using a combination of chemical, biochemical and morphological approaches. *Frontiers in Plant Science*. 9: 428. DOI: 103389/fpls.2018.00428.
- Ertani, A.; Pizzaghello, D.; Francioso, O.; Sambo, P.; Sanchez-Cortes, S. and S., Nardi. 2014. *Capsicum chinensis* L. growth and nutraceutical properties are enhanced by biostimulants in a long-term period: chemical and metabolomic approaches. *Frontiers in Plant Science*. 5(375): 1-12. DOI: 10.3389/fpls.2014.00375.
- Espinosa-Coronel, A.L.; Franco-Ochoa, D.A.; Fajardo-Espinoza, P.G.; Real-Goya, G.E.; R.A., Pincay-Ganchozo. 2020. Crecimiento y rendimiento de *Clitoria ternatea* con la aplicación de fertilizantes biológicos. *Nexo Agropecuario*. 8(2): 43-51.
- Fan, D., Hodges, D. M., Critchley, A. T., & Prithviraj, B. (2013). A commercial extract of brown macroalga (*Ascophyllum nodosum*) affects yield and the nutritional quality of spinach in vitro. *Communications in soil science and plant analysis*, 44(12), 1873-1884.
- Fontana, L. D., Nescier, I. d. I. M., Pennisi, D., Longoni, M., & Contini, L. (2007). Efecto de la Fertilización sobre la Calidad de Plantas de Alfalfa (*Medicago Sativa* L.) a Través del Ciclo de Producción. *Revista FAVE - Sección Ciencias Veterinarias*, 6(1/2)

- Grev, A. M., Wells, M. S., Samac, D. A., Martinson, K. L., & Sheaffer, C. C. (2017). Forage accumulation and nutritive value of reduced lignin and reference alfalfa cultivars. *Agronomy Journal*, 109(6), 2749-2761.
- Hernández, Gregorio & Rodriguez-Hernandez, Karla & Granados-Niño, Jorge & Salgado, Antonio & Figueroa-Viramontes, Uriel. (2014). Calidad nutricional y utilización de forrajes en explotaciones lecheras en la Región Lagunera. Forage Quality And Utilization In Dairy Farms In The Region Lagunera. 14. 33-41.
- Hojilla-Evangelista, M. P., Selling, G. W., Hatfield, R., & Digman, M. (2017). Extraction, composition, and functional properties of dried alfalfa (*Medicago sativa* L.) leaf protein. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(3), 882-888.
- Hu, Y., Kang, S., Ding, R., & Zhao, Q. (2021). A crude protein and fiber model of alfalfa incorporating growth age under water and salt stress. *Agricultural Water Management*, 255, 107037.
- Jannin, L., Arkoun, M., Etienne, P., Laîné, P., Goux, D., Garnica, M., ... & Ourry, A. (2013). Brassica napus growth is promoted by *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. seaweed extract: microarray analysis and physiological characterization of N, C, and S metabolisms. *Journal of plant growth regulation*, 32(1), 31-52.
- Jayaraman, J., Norrie, J. & Z.K., Punja. 2011. Commercial extract from the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* reduces fungal diseases in greenhouse cucumber. *Journal of Applied Phycology*. 23: 353–361. DOI: 10.1007/s10811-010-9547-1.
- Jeannin, I. & Lescure, J. & Morot-Gaudry, Jean. (1991). The Effects of Aqueous Seaweed Sprays on the Growth of Maize. *Botanica Marina - BOT MAR*. 34. 469-474. 10.1515/botm.1991.34.6.469.
- Jia, C., Zhao, F., Wang, X., Han, J., Zhao, H., Liu, G., & Wang, Z. (2018). Genomic prediction for 25 agronomic and quality traits in alfalfa (*Medicago sativa*). *Frontiers in plant science*, 9, 1220.

- Kauffman, G. L., Kneivel, D. P., & Watschke, T. L. (2007). Effects of a biostimulant on the heat tolerance associated with photosynthetic capacity, membrane thermostability, and polyphenol production of perennial ryegrass. *Crop science*, 47(1), 261-267.
- Khan, W., Rayirath, U. P., Subramanian, S., Jithesh, M. N., Rayorath, P., Hodges, D. M., ... & Prithiviraj, B. (2009). Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *Journal of plant growth regulation*, 28(4), 386-399.
- Khan, W., Zhai, R., Souleimanov, A., Critchley, A. T., Smith, D. L., & Prithiviraj, B. (2012). Commercial extract of *Ascophyllum nodosum* improves root colonization of alfalfa by its bacterial symbiont *Sinorhizobium meliloti*. *Communications in soil science and plant analysis*, 43(18), 2425-2436.
- Khan, W., Palanisamy, R., Critchley, A. T., Smith, D. L., Papadopoulos, Y., & Prithiviraj, B. (2013). *Ascophyllum nodosum* Extract and Its Organic Fractions Stimulate *Rhizobium* Root Nodulation and Growth of *Medicago sativa* (Alfalfa). *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 44(5), 900-908. doi: 10.1080/00103624.2012.744032
- Lara-Macias C. R. y P. Jurado-Guerra. 2014. Paquete tecnológico para producir alfalfa en el estado de Chihuahua. Primera edición. INIFAP-CIRNOC-La Campana. Aldama, Chihuahua. ISBN: 978-607-37-0277-5.
- Lauzon, J., Tremblay, G. F., Bélanger, G., Seguin, P., Lajeunesse, J., & Gervais, R. (2019). Alfalfa and timothy nutritive value in contrasting agroclimatic regions. *Agronomy Journal*, 111(3), 1371-1380.
- López-Reyes, J.P. 2018. Efecto sobre la calidad nutritiva en maíz (*Zea mays* L.) de verano del extracto comercial de *Ascophyllum nodosum* en la Comarca Lagunera. Tesis Profesional. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Torreón, Coahuila, México.
- MacDonald, J. E., Hacking, J., Weng, Y., & Norrie, J. (2012). Root growth of containerized lodgepole pine seedlings in response to *Ascophyllum nodosum* extract application during nursery culture. *Canadian Journal of Plant Science*, 92(6), 1207-1212. doi: 10.4141/cjps2011-279

- McDonald, I., Min, D., & Baral, R. (2021). Effect of a fall cut on dry matter yield, nutritive value, and stand persistence of alfalfa. *Journal of Animal Science and Technology*, 63(4), 799.
- Michalak, I., Chojnacka, K., Dmytryk, A., Wilk, R., Gramza, M., & Roj, E. (2016). Evaluation of Supercritical Extracts of Algae as Biostimulants of Plant Growth in Field Trials. *Front Plant Sci*, 7, 1591. doi: 10.3389/fpls.2016.01591
- Min, D. (2016). Effects of cutting interval between harvests on dry matter yield and nutritive value in alfalfa. *American Journal of Plant Sciences*, 7(08), 1226.
- Mohamed-Abbas, S. 2013. The influence of biostimulants on the growth and on the biochemical composition of *Vicia faba* CV. Giza 3 beans. *Rumanian Biotechnological Letters*. 18 (2): 8061- 8068.
- Najera-Grijalba, M. (2017). Efecto del extracto comercial de *Ascophyllum nodosum* (ECAN) a diferencia de la química sobre la energía neta, calor relativo del forraje y litros de leche por hectárea de alfalfa (*Medicago sativa*) de segundo año en la Comarca Lagunera. <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/handle/123456789/2>
- National Research Council (NRC). 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle* (7^a Ed.). National Academy Press, Washington, D.C.
- Norrie, J., Keathley, J.P. (2006). Benefits of *Ascophyllum nodosum* marine-plant extract applications to 'Thompson seedless' grape production. *Acta Horticulturae*. 727. 243-248. 10.17660/ActaHortic.2006.727.27.
- Núñez Hernández, G., Payán García, J. A., Pena Ramos, A., González Castañeda, F., Ruiz Barrera, O., & Arzola Alvarez, C. (2010). Caracterización agronómica y nutricional del forraje de variedades de especies anuales en la región norte de México. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 1(2), 85-98.
- Núñez, H.G y H.M. Quiroga. 2000. Producción y utilización de la alfalfa en la zona norte de México. Libro Técnico No. 2. INIFAP-CIRNOC-CELALA. Matamoros, Coah.109 P.

- Ochoa Espinosa, M. F., Armenta Calderón, A. D., Moreno Salazar, S. F., Fernández Herrera, E., & Ochoa Meza, A. (2018). Fertilización orgánica y su impacto en la calidad del suelo. *Biotecnia*, 21(1), 87–92. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v21i1.817>
- Olivares-Sáenz, E. 2012. Programa de Diseños Experimentales. V. 1.1. Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León, México.
- Palmonari, A., Fustini, M., Canestrari, G., Grilli, E., & Formigoni, A. (2014). Influence of maturity on alfalfa hay nutritional fractions and indigestible fiber content. *Journal of Dairy Science*, 97(12), 7729-7734.
- Pelletier, S., Tremblay, G. F., Bélanger, G., Bertrand, A., Castonguay, Y., Pageau, D., & Drapeau, R. (2010). Forage nonstructural carbohydrates and nutritive value as affected by time of cutting and species. *Agronomy Journal*, 102(5), 1388-1398.
- Pinho, R. M. A., Santos, E. M., de Oliveira, J. S., de Carvalho, G. G. P., da Silva, T. C., Macêdo, A. J. D. S., ... & Zanine, A. D. M. (2018). Does the level of forage neutral detergent fiber affect the ruminal fermentation, digestibility and feeding behavior of goats fed cactus pear?. *Animal Science Journal*, 89(10), 1424-1431.
- Popko, M., Michalak, I., Wilk, R., Gramza, M., Chojnacka, K., & Górecki, H. (2018). Effect of the New Plant Growth Biostimulants Based on Amino Acids on Yield and Grain Quality of Winter Wheat. *Molecules*. 23. 470. [10.3390/molecules23020470](https://doi.org/10.3390/molecules23020470).
- Povero, G., Mejia, J. F., Di Tommaso, D., Piaggese, A., & Warrior, P. (2016). A Systematic Approach to Discover and Characterize Natural Plant Biostimulants. *Front Plant Sci*, 7, 435. doi: 10.3389/fpls.2016.00435
- Rayorath, P., Khan, W., Palanisamy, R., Mackinnon, S., Stefanova, R., D. Hankins, S., . . . Prithviraj, B. (2008). Extracts of the Brown Seaweed *Ascophyllum nodosum* Induce Gibberellic Acid (GA3)-independent Amylase Activity in Barley. *Journal of Plant Growth Regulation*. 27. 370-379. [10.1007/s00344-008-9063-6](https://doi.org/10.1007/s00344-008-9063-6).

- Rayorath, P., N. Jithesh, M., Farid, A., Khan, W., Palanisamy, R., D Hankins, S., . . . Prithiviraj, B. (2007). Rapid bioassays to evaluate the plant growth promoting activity of *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. using a model plant, *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Journal of Applied Phycology*. 20. 423-429. 10.1007/s10811-007-9280-6.
- Rouphael, Y.; Franken, P.; Schneider, C.; Schwarz, D.; Giovannetti, M.; Agnolucci, M.; De Pascale, S.; Bonini, P. and Colla, G. 2015. Arbuscular mycorrhizal fungi act as biostimulants in horticultural crops. *Scientia Horticulturae*. 196: 91-108. DOI: 10.1016/j.scienta.2015.09.002.
- Ruzzi, M., & Aroca, R. (2015). Plant growth-promoting rhizobacteria act as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196, 124-134.
- Sharma, S., Lyons, G., McRoberts, C., McCall, D., Carmichael, E., Andrews, F., . . . Mellon, R. (2011). Biostimulant activity of brown seaweed species from Strangford Lough: Compositional analyses of polysaccharides and bioassay of extracts using mung bean (*Vigna mungo* L.) and pak choi (*Brassica rapa chinensis* L.). *Journal of Applied Phycology*. 24. 1-11. 10.1007/s10811-011-9737-5.
- Shehata, S., Abdelgawad, K., El-Mogy, M. (2017). Quality and Shelf-Life of Onion Bulbs Influenced by Biostimulants. *International Journal of Vegetable Science*. 10.1080/19315260.2017.1298170.
- SIAP-SAGARPA. (2021). Cierre de producción agrícola por cultivo. Consulta: 12 agosto de 2021. Disponible en: http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola_siap_gb/identidad/index.jsp.
- SIAP (2020). Datos Abiertos de Estadística de Producción Agrícola. Consulta: 08 de noviembre de 2020. Disponible en: <http://infosiap.siap.gob.mx/gobmx/datosAbiertos.php>
- Sivasankari, S., Venkatesalu, V., Anantharaj, M., & Chandrasekaran, M. (2006). Effect of seaweed extracts on the growth and biochemical constituents of *Vigna sinensis*. *Bioresour Technol*, 97(14), 1745-1751. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.06.016>

- Small, E. (2010). *Alfalfa and Relatives: Evolution and Classification of Medicago*: NRC Research Press.
- Stirk, W. A., & Van Staden, J. (2009). *Seaweed Products as Biostimulants in Agriculture* Nineteenth International Seaweed Symposium: Proceedings of the 19th International Seaweed Symposium, held in Kobe, Japan, 26-31 March, 2007: Springer Netherlands.
- Soufan, W., Okla, M. K., Salamatullah, A., Hayat, K., Abdel-Maksoud, M. A., & Al-Amri, S. S. (2021). Seasonal variation in yield, nutritive value, and antioxidant capacity of leaves of alfalfa plants grown in arid climate of Saudi Arabia. *Chilean journal of agricultural research*, 81(2), 182-190.
- Undersander Dan, 2021. A bright future: Protein in alfalfa hay and haylage
Consulta: 06 noviembre 2021. Disponible en:
<https://www.agproud.com/articles/46383-a-bright-future-protein-in-alfalfa-hay-and-haylage>
- Van Oosten, M. J., Pepe, O., De Pascale, S., Silletti, S., & Maggio, A. (2017). The role of biostimulants and bioeffectors as alleviators of abiotic stress in crop plants. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 4(1), 5. doi: 10.1186/s40538-017-0089-5
- Vargas-Hernandez, M., Macias-Bobadilla, I., Guevara-Gonzalez, R. G., Romero-Gomez, S. d. J., Rico-Garcia, E., Ocampo-Velazquez, R. V., Torres-Pacheco, I. (2017). Plant Hormesis Management with Biostimulants of Biotic Origin in Agriculture. *Front Plant Sci*, 8, 1762-1762. doi: 10.3389/fpls.2017.01762
- Vázquez-Vázquez, C.; García-Hernández, J. L.; Salazar-Sosa, E.; Murillo-Amador, B.; Orona-Castillo, I.; Zúñiga-Tarango, R.; Rueda-Puente, E.O. y P. Preciado-Rangel. (2010). Rendimiento y valor nutritivo de forraje de alfalfa (*Medicago sativa* L.) con diferentes dosis de estiércol bovino. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*. 1(4): 363-372.
- Verma, N.; Sehrawat, K.D.; Mundlia, P.; Sehrawat, A.R.; Choudhary, R.; Rajput, V.D.; Minkina, T.; van Hullebusch, E.D.; Siddiqui, M.H.; Alamri, S. (2021). Potential use of *Ascophyllum nodosum* as a biostimulant for improving the

- growth performance of *Vigna aconitifolia* (Jacq.) Marechal. *Plants* 2021, 10, 2361. DOI: 10.3390/plants10112361.
- Wally, O., Critchley, A., Hiltz, D., Craigie, J., Han, X., Irina Zaharia, L., . . . Prithiviraj, B. (2012). Regulation of Phytohormone Biosynthesis and Accumulation in *Arabidopsis* Following Treatment with Commercial Extract from the Marine Macroalga *Ascophyllum nodosum*. *Journal of Plant Growth Regulation*. 32. 10.1007/s00344-012-9301-9.
- White, R. R., Hall, M. B., Firkins, J. L., & Kononoff, P. J. (2017). Physically adjusted neutral detergent fiber system for lactating dairy cow rations. II: Development of feeding recommendations. *Journal of dairy science*, 100(12), 9569-9584.
- Yakhin, O. I., Lubyantsev, A. A., Yakhin, I. A., & Brown, P. H. (2017). Biostimulants in Plant Science: A Global Perspective. *Front Plant Sci*, 7, 2049. doi: 10.3389/fpls.2016.02049
- Zang, Z.; Shao, L.; Chang, L.; Cao, Y.; Zhang, T.; Wang, Y.; Liu, Y.; Zhang, P.; Wu, Y.; Hu, T. & P. Yang. 2016. Effect of rhizobia symbiosis on lignin levels and forage quality in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 233: 55-59.
- Zaragoza E., J.; Hernández-Garay, A.; Pérez P., A.; Herrera H., J.G.; Osnaya G., F.; Martínez H., P.A.; Gonzales M., S.S. y A.R., Quero. C. 2009. Análisis de crecimiento estacional de una pradera asociada alfalfa-pasto ovillo. *Téc. Pec. Méx.* 47(2): 173-188.
- Zarzecka, K., & Marek, G. (2018). The effect of herbicides and biostimulants on sugars content in potato tubers. *Plant, Soil and Environment*. 64. 82-87. 10.17221/21/2018-PSE.
- Zhang, X., and E.H., Ervin. 2004. Cytokinin-containing seaweed and humic acid extracts associated with creeping bentgrass leaf cytokinins and drought resistance. *Crop Sci*. 44:1737–1745.
- Zhang, Z., Shao, L., Chang, L., Cao, Y., Zhang, T., Wang, Y., Yang, P. (2016). Effect of rhizobia symbiosis on lignin levels and forage quality in alfalfa

(*Medicago sativa* L.). *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 233.
10.1016/j.agee.2016.08.035.