

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



EXTRACTOS DE *Sargassum* spp. COMO INDUCTORES DE TOLERANCIA A
ESTRÉS ABIÓTICO EN PLÁNTULAS DE TOMATE

Tesis

Que presenta OSCAR SARIÑANA ALDACO
como requisito parcial para obtener el Grado de
DOCTOR EN CIENCIAS EN AGRICULTURA PROTEGIDA

Saltillo, Coahuila

Septiembre 2022

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



EXTRACTOS DE *Sargassum* spp. COMO INDUCTORES DE TOLERANCIA A
ESTRÉS ABIÓTICO EN PLÁNTULAS DE TOMATE

Tesis

Que presenta OSCAR SARIÑANA ALDACO
como requisito parcial para obtener el Grado de
DOCTOR EN CIENCIAS EN AGRICULTURA PROTEGIDA

Dra. Susana González Morales
Director UAAAN

Dra. Rosa María Rodríguez Jasso
Director Externo

Saltillo, Coahuila

Septiembre 2022

EXTRACTOS DE *Sargassum* spp. COMO INDUCTORES DE TOLERANCIA A
ESTRÉS ABIÓTICO EN PLÁNTULAS DE TOMATE

Tesis

Elaborada por OSCAR SARIÑANA ALDACO como requisito parcial para obtener el
grado de DOCTOR EN CIENCIAS EN AGRICULTURA PROTEGIDA con la
supervisión y aprobación del Comité de Asesoría

Dra. Susana González Morales
Asesor Principal

Dra. Rosa María Rodríguez Jasso
Asesor

Dr. Adalberto Benavides Mendoza
Asesor

Dr. Antonio Juárez Maldonado
Asesor

Dr. Pablo Prediado Rangel
Asesor

Dr. Armando Robledo Olivo
Asesor

Dr. Marcelino Cabrera De la Fuente
Subdirector de Postgrado
UAAAN

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, **Arnoldo Sariñana Castañeda** y **Francisca Aldaco Aldaco** por su apoyo incondicional y ser siempre una motivación para salir adelante.

A mis hermanos **Leonel** y **Laura** por siempre darme ánimos para hacer las cosas que más me apasionan.

A mi novia **Mariana** por estar incondicionalmente a mi lado en los buenos y malos momentos y apoyar cada una de mis metas.

A la **Dra. Susana González Morales** por haberme dado la oportunidad y confianza de realizar esta investigación bajo su cargo; por su paciencia, amistad y compartirme sus conocimientos.

Al **Dr. Pablo Preciado Rangel** por brindarme su apoyo incondicional y amistad desde Maestría y ahora en Doctorado.

Al **Dr. Adalberto Benavides Mendoza**, al **Dr. Armando Robledo Olivo**, al **Dr. Antonio Juárez Maldonado** y a la **Dra. Rosa María Rodríguez Jasso** gracias por su apoyo incondicional.

A la **Dra. Julia Medrano Macias** quien siempre me apoyo en el trabajo de laboratorio.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Al programa de Doctorado en Ciencias en Agricultura Protegida.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico brindado.

DEDICATORIA

Este importante proyecto se lo dedico a una de las personas más importantes en mi vida, mi hermanito que, aunque ya no está físicamente me motiva para seguir adelante, tú eres una de las razones por las que día con día me levanto para seguir avanzando y creciendo en todos los ámbitos y por ti seguiré hasta el final con la certeza de que siempre estarás a mi lado. Te amare por siempre mi **Carlitos**.

CARTA DE ACEPTACIÓN DE ARTÍCULO



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO
"Estudio en la Duda. Acción en la Fe"
Secretaría de Investigación, Posgrado y Vinculación
Dirección de Difusión y Divulgación Científica y Tecnológica

DICTAMEN

Ecosistemas y Recursos Agropecuarios
cra@ujat.mx
Teléfono/fax 01.993.3 58 15 00 Ext. 5041

Saltillo, Coahuila, a 24 de mayo de 2021

Manuscrito--- IMPACTO DE EXTRACTOS DE *Sargassum* spp. EN EL CRECIMIENTO Y ANTIOXIDANTES DE PLÁNTULAS DE TOMATE

Registro --- 2814 ERA

Autores --- Oscar Sariñana-Aldaco, Rosa María Rodríguez-Jasso, Adalberto Benavides-Mendoza, Antonio Juárez-Maldonado, Armando Robledo-Olivo, Pablo Preciado-Rangel, Susana González-Morales

Dictamen --- ACEPTADO PARA PUBLICACIÓN

Comentarios--- Es un placer informar que su manuscrito ha sido aceptado para publicación. En anexo se envía la versión revisada, una vez que se atendieron los comentarios de los árbitros.

Agradeciendo su interés por la revista, me despido con saludos.

Dra. Diana Jasso Cantú
Editora Invitada

C.c.p. Archivo

ESTE DOCUMENTO ES PROPIEDAD DEL SISTEMA DE GESTIÓN DE CALIDAD DEL DEPARTAMENTO EDITORIAL DE REVISTAS UNIVERSITARIAS DE LA SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN, POSGRADO Y VINCULACIÓN DE LA UJAT

ACUSE DE RECIBO DE ENVÍO DE ARTÍCULO

[Plants] Manuscript ID: plants-1896485 - Submission Received



Editorial Office <plants@mdpi.com>

para Susana, mí, Adalberto, Armando ▼

Dear Dr. González-Morales,

Thank you very much for uploading the following manuscript to the MDPI submission system. One of our editors will be in touch with you soon.

Journal name: Plants

Manuscript ID: plants-1896485

Type of manuscript: Article

Title: Biostimulant effect of hydroalcoholic extracts of Sargassum spp. in tomato seedlings with salt stress

Authors: Oscar Sariñana-Aldaco, Adalberto Benavides-Mendoza, Armando Robledo-Olivo, Susana González-Morales *

Received: 18 August 2022

E-mails: oscarsarinana390@gmail.com, abenmen@gmail.com,

armando.robledo@outlook.com, gfb_sgm@hotmail.com

Submitted to section: Crop Physiology and Crop Production,

https://www.mdpi.com/journal/plants/sections/Crop_Physiology_Crop_Production

Plant Biostimulation

https://www.mdpi.com/journal/plants/special_issues/Biostimulation_Plants

You can follow progress of your manuscript at the following link (login required):

https://susy.mdpi.com/user/manuscripts/review_info/30ed0a6e12f05d4f3bd86725d5ef9789

INDICE

AGRADECIMIENTOS	iii
DEDICATORIA	v
CARTA DE ACEPTACIÓN DE ARTÍCULO	vi
ACUSE DE RECIBO DE ENVÍO DE ARTÍCULO	vii
INDICE	viii
INTRODUCCIÓN	1
Objetivo general	2
Objetivos específicos.....	2
Hipótesis.....	2
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
Cultivo de tomate	3
Estrés abiótico en las plantas.....	3
Estrés salino.....	4
Estrés por bajas temperaturas	6
Estrés por altas temperaturas	8
Bioestimulantes	9
Extractos de algas <i>Sargassum</i>	10
PRIMER ARTÍCULO.....	13
Efecto de extractos de <i>Sargassum</i> spp. en el crecimiento y antioxidantes de plántulas de tomate.....	13
SEGUNDO ARTÍCULO	29
Proceso de extracción hidro-etanólica de biomoléculas bioestimulantes de <i>Sargassum</i> spp. pelágico y su efecto en plántulas de tomate	29
TERCER ARTÍCULO	66
Efecto bioestimulante de extractos hidroalcohólicos de <i>Sargassum</i> spp. en plántulas de tomate bajo estrés salino	66
CONCLUSIÓN GENERAL	107
REFERENCIAS	108

INTRODUCCIÓN

Las plantas al ser organismos sésiles están expuestas a diferentes tipos de estrés, incluido el abiótico, el cual se refiere a los factores ambientales que alteran sus procesos fisiológicos y metabólicos (Oberkofler *et al.*, 2021). Dentro de este grupo de estrés los más severos son el estrés salino y el estrés por temperaturas extremas (Hernández-Hernández *et al.*, 2018a; Carmody *et al.*, 2020; Rezaie *et al.*, 2020). El estrés salino influye negativamente en la absorción y asimilación de agua y nutrientes en las plantas, sin embargo, también genera toxicidad por el exceso de sales (Morales-Espinoza *et al.*, 2019). Las bajas temperaturas también influyen negativamente en la absorción de agua y nutrientes en las plantas, ya que provocan una disminución de la fluidez de las membranas celulares, lo que dificulta el transporte de agua y demás moléculas hacia el exterior e interior de las células (Rezaie *et al.*, 2020). Las altas temperaturas causan un déficit de presión de vapor muy alto en las plantas, lo que provoca una elevada transpiración que resulta en el cierre estomático, además se compromete la funcionalidad de las biomoléculas al inactivarlas o desnaturalizarlas cuando se rebasa el umbral de temperatura (Carmody *et al.*, 2020).

En general el estrés abiótico causa el cierre estomático, menor eficiencia del proceso fotosintético, sobreproducción de especies reactivas de oxígeno (ERO), oxidación de biomoléculas (carbohidratos, proteínas, lípidos y ácidos nucleicos) y producción de antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos (González-Morales *et al.*, 2021; Oberkofler *et al.*, 2021).

Lo anterior ha llevado a buscar alternativas para poder mitigar los efectos dañinos del estrés abiótico. Dentro de las alternativas está el uso de bioestimulantes como los extractos de algas pardas (du Jardin, 2015). Los extractos de algas pardas gracias a los metabolitos que contienen como, carbohidratos, aminoácidos, fitohormonas, compuestos fenólicos, carotenoides y compuestos inorgánicos les proporcionan a las plantas la capacidad de mitigar hasta cierto punto el estrés y mejorar su crecimiento y rendimiento (Rouphael *et al.*, 2017; Shukla *et al.*, 2019).

Dentro de las algas pardas las más utilizadas están los géneros *Ascophyllum*, *Ecklonia*, *Fucus*, *Laminaria* y *Macrocystis*, sin embargo, en los últimos años el género *Sargassum*

se ha convertido en un problema turístico y de contaminación ambiental por sus acumulaciones atípicas en las costas del Caribe (Chávez *et al.*, 2020; González-Morales *et al.*, 2021). Ante esta situación se le empezaron a dar diferentes usos y uno de ellos es en la agricultura como bioestimulantes (Chávez *et al.*, 2020). Los extractos del alga *Sargassum* spp. (EAS) han demostrado ser eficientes en la mitigación del estrés abiótico al mejorar la actividad de enzimas antioxidantes, aumentar el contenido de fitoquímicos y sobreexpresar genes de defensa, lo que se traduce en mejoras de crecimiento, rendimiento y calidad de los cultivos (Kumari *et al.*, 2013; Drira *et al.*, 2021; Sariñana-Aldaco *et al.*, 2021). De acuerdo con lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto de extractos de *Sargassum* spp. sobre la inducción de tolerancia al estrés abiótico en plántulas de tomate.

Objetivo general

Evaluar el efecto de extractos *Sargassum* spp. sobre la inducción de tolerancia a estrés abiótico en plántulas de tomate.

Objetivos específicos

1. Producción y caracterización de los extractos acuosos y etanólicos de *Sargassum* spp.
2. Evaluación de parámetros fisiológicos asociados al crecimiento de plántulas de tomate bajo estrés abiótico con la aplicación de los extractos.
3. Evaluación de parámetros bioquímicos relacionados a la tolerancia a estrés abiótico en plántulas de tomate con la aplicación de los extractos.
4. Análisis de expresión de genes relacionados a la tolerancia a estrés abiótico en plántulas de tomate con la aplicación de los extractos.

Hipótesis

La aplicación foliar de los extractos acuosos y etanólicos de *Sargassum* spp. incrementan la tolerancia al estrés abiótico en las plántulas de tomate.

REVISIÓN DE LITERATURA

Cultivo de tomate

El tomate (*Solanum lycopersicum*) es la hortaliza más cultivada y consumida a nivel mundial (Valenzuela López *et al.*, 2014), debido a que es uno de los frutos que se caracteriza por su alto contenido de agua, gran cantidad de carotenoides, vitaminas, minerales y bajo nivel calórico (Sariñana-Aldaco *et al.*, 2020). Esta hortaliza al ser de las más cultivadas representa una gran importancia económica, encontrándose México dentro de los principales países productores (Vázquez-Vázquez *et al.*, 2015).

En México el cultivo de tomate es de gran importancia, por ser uno de los frutos que contiene mayor cantidad de vitaminas y minerales (Vázquez-Vázquez *et al.*, 2015; Sariñana-Aldaco *et al.*, 2020). Datos estadísticos muestran que aproximadamente el 70% de los cultivos que se producen bajo condiciones protegidas corresponde al tomate, por esto es importante realizar un manejo eficiente en la agricultura intensiva para lo que se requieren conocer los factores que condicionan el potencial de producción de los cultivos (Juárez-Maldonado *et al.*, 2015).

El tomate es un alimento de importancia mundial al ser muy versátil, con formas de consumo variados, donde altas ingestas de este producto están estrechamente relacionadas con un impacto benéfico en la salud, ya que es capaz de reducir el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares y diferentes tipos de cáncer atribuido principalmente a su alto contenido de antioxidantes (carotenoides, ácido ascórbico y compuesto fenólicos) (Fortis-Hernández *et al.*, 2018; Salehi *et al.*, 2019).

Estrés abiótico en las plantas

Las plantas viven en entornos ambientales que en su mayoría son desfavorables y estresantes para su desarrollo, por lo cual deben hacer frente a estas condiciones, tales como salinidad, alta irradiación, déficit hídrico, deficiencia de nutrimentos, exceso de metales tóxicos y altas y bajas temperaturas (Kim *et al.*, 2021; Oberkofler *et al.*, 2021; Sachdev *et al.*, 2021).

Las plantas al estar sometidas ante este tipo de eventos desfavorables de estrés se ven afectadas en procesos fisiológicos, bioquímicos y moleculares (González-Morales *et al.*, 2021), estas condiciones limitan la productividad de las plantas en la agricultura, y amenazan la seguridad alimentaria (Halford *et al.*, 2015). Las plantas al estar sometidas a condiciones abióticas adversas desarrollan mecanismos que les ayudan a percibir la señal de estrés, lo que les permite tener una respuesta óptima de crecimiento (González-Morales *et al.*, 2021).

Estrés salino

El estrés ambiental es una importante área de investigación científica, ya que esta situación ha empeorado por las actividades antropogénicas, donde la salinidad de los suelos es el principal factor de las limitaciones en la producción de los cultivos (Parihar *et al.*, 2015). La salinidad esta originada por la presencia de cloruros, sulfatos, carbonatos y bicarbonatos de sodio (Na^+), potasio (K^+), magnesio (Mg^{2+}) y calcio (Ca^{2+}), mientras que la conductividad eléctrica alta en el agua de riego se debe a altas concentraciones de Ca^{2+} , Na^+ , Mg^{2+} cloro (Cl^-) y bicarbonatos (HCO_3^-) disueltos en el agua (Méndez-Guisado *et al.*, 2012).

El estrés por salinidad afecta muchos de los aspectos de la fisiología de las plantas (Morales-Espinoza *et al.*, 2019). El efecto de la salinidad es una combinación del potencial osmótico, la capacidad de la planta para ajustarse osmóticamente y la toxicidad específica de las sales, y dicha capacidad se ve afectada a medida que aumenta la salinidad al disminuir la extracción de agua por parte de las plantas (Estaji *et al.*, 2019). El estrés por exceso de sales es el principal problema que afecta la producción de los alimentos en el mundo, donde el 20% de las tierras que se cultivan y el 33% de las tierras irrigadas están degradadas a causa de las sales acumuladas (Almeida Machado *et al.*, 2017).

La salinidad en exceso reduce la producción de la mayoría de los cultivos agrícolas, que son normalmente sensibles durante toda su ontogenia, y donde el umbral de salinidad de la mayoría de los cultivos de hortalizas es bajo (Almeida Machado *et al.*, 2017; Hernández-Hernández *et al.*, 2018a).

El primer efecto que tiene la salinidad en las plantas es la reducción del potencial de agua, por lo cual se dificulta su absorción, induciendo un déficit hídrico, con señalizaciones y respuestas, entre ellas, menor crecimiento, síntesis de ácido salicílico (AS), ácido abscísico (ABA) y cierre estomático (Yu *et al.*, 2020). Un segundo efecto se presenta después y es resultado de una intoxicación celular principalmente por Na^+ y Cl^- , que interfieren en el balance iónico y se ve afectada la asimilación del K^+ , Mg^{2+} y nitratos (NO_3^-) (Arif *et al.*, 2020).

Una alta concentración de Na^+ desplaza a los iones de Ca^{2+} de la membrana celular en la raíz y altera su permeabilidad, lo que causa una salida de K^+ de las células y favorece la entrada de Na^+ (Arif *et al.*, 2020; Shin *et al.*, 2020). Las plantas al verse afectadas por la salinidad, tanto por el estrés hídrico, nutrimental y por la toxicidad de las sales, dan como resultado la síntesis de ERO, que causan un estrés oxidativo de biomoléculas y determinan la especificidad de la respuesta de aclimatación, lo que conlleva a la adaptación de las plantas al estrés (Hernández-Hernández *et al.*, 2018a).

La salinidad afecta diversos procesos en las plantas, tales como la disminución del porcentaje de germinación, a nivel radicular se alcanza una menor longitud, los tallos alcanzan menor altura, las hojas se reducen en número y presentan desecación de sus bordes de modo que existe menor conductancia estomática y actividad fotosintética, y todo esto ocasionado por el déficit hídrico y desbalance nutrimental que causan las sales (Hernández-Hernández *et al.*, 2018a; Abdelaal *et al.*, 2020; Genotypes *et al.*, 2020).

Las plantas tienen mecanismos de defensa, y dentro de los primero se encuentra la respuesta osmótica en la raíz que se basa en el aumento de la densidad de acuaporinas en las células epidérmicas, lo cual, mejora el estado hídrico de la raíz (Jia *et al.*, 2020). Otro de sus mecanismos es la activación de un proceso de exclusión dependiente del bombeo de los iones tóxicos, como la vía de la sal exclusivamente sensible (SOS) que se encarga de transportar el Na^+ desde el citoplasma hacia la vacuola o hacia el apoplasto, y el transportador de tipo *HKT*, que está encargado de la homeostasis de Na^+ y K^+ , y está encargado del mecanismo de tolerancia a la salinidad al participar en la exclusión de Na^+ del xilema, y previniendo su acumulación en la parte aérea, mejorando indirectamente la acumulación de K^+ (van Bezouw *et al.*, 2019; Gupta *et al.*, 2021).

Dentro de todos los mecanismos de defensa también está la mejora de la actividad de enzimas antioxidantes (superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), ascorbato peroxidasa (APX) y glutatión peroxidasa (GPX)) y el incremento de antioxidantes no enzimáticos (ácido ascórbico, glutatión reducido, compuestos fenólicos y carotenoides) que neutralizan a las ERO (Hernández-Hernández *et al.*, 2018a; Medrano Macías *et al.*, 2021). También la acumulación de osmoprotectantes como prolina, glicina betaína y carbohidratos es muy importante para mejorar el contenido hídrico a nivel celular (Darko *et al.*, 2019).

La salinidad es un problema, en el cual los cultivos se ven afectados en todas sus etapas, como lo mencionan Batista Sánchez *et al.* (2017) quienes indican que altas concentraciones de NaCl afectan la germinación, longitud y biomasa seca de la radícula del cultivo de albahaca. De acuerdo con Soylemez *et al.* (2017) la salinidad resulta en disminuciones significativas de materia seca, rendimiento del fruto, potencial hídrico de las hojas y contenido relativo de agua de las hojas del cultivo de tomate.

Estrés por bajas temperaturas

La temperatura de todas las plantas en general depende de las condiciones ambientales y en la forma en la que se regulan internamente (Watling *et al.*, 2008). La temperatura es un factor importante que afecta significativamente los procesos fisiológicos-morfológicos y bioquímicos de las plantas (Carmody *et al.*, 2020). Las tensiones de temperatura normalmente se clasifican en estrés por bajas y altas temperaturas, las cuales están por debajo (temperaturas no congelantes ($0\text{ }^{\circ}\text{C} < T < 10\text{ }^{\circ}\text{C}$) y congelantes ($T < 0\text{ }^{\circ}\text{C}$)) y por encima de la temperatura óptima de las plantas (Hernández-Hernández *et al.*, 2018b).

El estrés causado por bajas temperaturas provoca una disminución del metabolismo, en el caso de las temperaturas no congelantes (Hernández-Hernández *et al.*, 2018b; Rezaie *et al.*, 2020). En cuanto a las temperaturas congelantes provocan ausencia total de agua, cuando esta se transforma en hielo (Hernández-Hernández *et al.*, 2018b; Ding *et al.*, 2020). Las bajas temperaturas no congelantes tienen un impacto negativo en la absorción de agua y nutrientes, ya que la suberización de la endodermis se extiende hasta el ápice de la raíz e influye en la absorción del agua y nutrientes (Lara Herrera, 1999). En

general el estrés disminuye la fluidez de las membranas, este proceso se lleva a cabo gracias a la unión de los ácidos grasos saturados de las membranas que producen una membrana densa y rígida que dificulta el transporte de agua, nutrientes y otras moléculas hacia el exterior e interior de las células (Hernández-Hernández *et al.*, 2018b; Zhao *et al.*, 2021a).

En este sentido la actividad fotosintética disminuye al igual que el crecimiento y rendimiento de las plantas (Rezaie *et al.*, 2020). Aunado a esto se producen altas concentraciones de ERO por el déficit hídrico y nutrimental causado que lleva a la oxidación celular (Hernández-Hernández *et al.*, 2018b).

Las plantas se desarrollan de una forma normal cuando la temperatura no ejerce efectos negativos en sus procesos vitales, sin embargo, cuando las temperaturas son extremas pasan a estresarse cambiando aspectos morfológicos, fisiológicos y bioquímicos (Grant *et al.*, 2013). Es importante tener en cuenta que cuando las plantas son estresadas por bajas temperaturas pueden sufrir daños en el momento que son sometidas a la tensión o después de dicho evento (Grant *et al.*, 2013; Hernández-Hernández *et al.*, 2018b).

Otro punto importante es el tipo de planta y la temperatura a la que se somete, ya que existen algunas tolerantes, medianamente tolerantes y sensibles, lo que determina en muchos aspectos su tolerancia ante las bajas temperaturas (Karimi *et al.*, 2015). Cuando las plantas son sometidas ante este tipo de estrés también toman medidas de defensa, y una de ellas es la insaturación de lípidos en las membranas celulares para aumentar su fluidez, la acumulación de osmolitos (prolina, glicina betaína y carbohidratos), el incremento de la actividad de enzimas antioxidantes (SOD, CAT, APX y GPX) y antioxidantes no enzimáticos (ácido ascórbico, glutatión reducido, compuestos fenólicos y carotenoides) (Rayirath *et al.*, 2009; Hernández-Hernández *et al.*, 2018b; Zhao *et al.*, 2021a).

Otra medida de aclimatación es la producción de acuaporinas que ayudan a controlar el estado hídrico de las plantas ante el déficit hídrico causado por las bajas temperaturas (Curticăpean, 2020). Las plantas ante cualquier estrés, ya sea por bajas y altas temperaturas, salino, metales pesados o patógenos responden de manera similar al incrementar la actividad y contenido de antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos, sin embargo, ante el estrés por bajas temperaturas las plantas expresan genes que no se

expresarían en otras condiciones. Tal es el caso de la función de los factores de transcripción *CBF*, que se une a las regiones promotoras de los denominados genes de respuesta al frío (*COR*) y activan su expresión, dándole una mayor tolerancia a las plantas (Rayirath *et al.*, 2009).

Todos estos mecanismos de defensa de las plantas tendrán la función de aumentar su umbral de tolerancia ante el estrés por bajas temperaturas.

Estrés por altas temperaturas

Con el aumento de los gases de efecto invernadero, el clima del planeta se está calentando a niveles que no han existido en decenas de millones de años (Carmody *et al.*, 2020). Los rendimientos de los cultivos son muy vulnerables a las altas temperaturas y la reproducción de las plantas esta entre lo componentes fisiológicos de mayor sensibilidad a temperaturas encima de los 30 °C (Zhao *et al.*, 2021b).

En el ámbito molecular las altas temperaturas afectan la fluidez de las membranas y en las biomoléculas al punto de inactivarlas o desnaturalizarlas, del mismo modo las biomoléculas que se sintetizan en los periodos de altas temperaturas pueden sufrir mal plegado, lo que las convierte en no funcionales (ul Haq *et al.*, 2019). Las altas temperaturas inducen la acumulación de ERO, las cuales son responsables de las lesiones de membranas, biomoléculas y daños en la ultraestructura de los cloroplastos (ul Haq *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2020).

Las altas temperaturas tienen un impacto contrario al de las bajas temperaturas no congelantes, es decir, aumentan la actividad metabólica (alta velocidad de vibración y traslación de las moléculas) (Zhao *et al.*, 2021b). Las altas temperaturas causan en las plantas un déficit de presión de vapor muy alto, lo que provoca una elevada transpiración, que en ocasiones puede superar a la absorción de agua, lo cual resulta en cierre estomático, baja actividad fotosintética, disminución del crecimiento, quemadura de hojas, tallos y frutos, ocasionando bajos rendimientos y de mala calidad (Carmody *et al.*, 2020; Zhao *et al.*, 2021b).

Como se mencionó, la transpiración al superar la absorción de agua de las plantas por el incremento de las temperaturas tiende a cerrar los estomas para evitar en lo más posible la pérdida de agua y posterior deshidratación, sin embargo, al cerrar sus estomas están

bloqueando su sistema de refrigeración que es la transpiración, lo cual causa que la temperatura foliar se incremente aún más (Dusenge *et al.*, 2019; El Haddad *et al.*, 2022). También al mantener cerrados los estomas se pierde la entrada de dióxido de carbono (CO₂), motivo por el cual la actividad fotosintética disminuye notablemente (Dusenge *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2020; El Haddad *et al.*, 2022).

Las altas temperaturas hoy en día son otro factor importante que provoca bajas producciones a nivel mundial, como lo mencionan Fahad *et al.* (2015) quienes indican que este factor reduce severamente la fertilidad del polen y la dehiscencia de las anteras, lo que trae como consecuencias bajas producciones.

Como mecanismo de defensa ante las altas temperaturas, las plantas activan el sistema antioxidante que acumula compuestos antioxidantes enzimáticos (SOD, CAT, APX y GPX) y no enzimáticos (ácido ascórbico, glutatión reducido, compuestos fenólicos y carotenoides), que ayudan a contrarrestar el efecto de las ERO (Cortés-Antiquera *et al.*, 2021). Otra parte importante del sistema de defensa es la síntesis de proteínas de choque térmico (*HSP*), las cuales tienen la función de proteger a otras biomoléculas de la desnaturalización o mal plegado (ul Haq *et al.*, 2019).

Bioestimulantes

El uso de bioestimulantes en las plantas, esta convertido en una práctica común en la agricultura al proporcionar una serie de ventajas que logran la estimulación del crecimiento y protección contra el estrés (Di Stasio *et al.*, 2018). Los bioestimulantes son materiales que al aplicarse en cantidades adecuadas tienen la capacidad de promover el crecimiento de las plantas (Juárez-Maldonado *et al.*, 2019). Son sustancias que provienen de distintas fuentes, orgánicas como inorgánicas, los cuales provocan en las plantas la activación de sus mecanismos de defensa y la acumulación de compuestos bioactivos, con los cuales logran mitigar diferentes tipos de estrés (Nardi *et al.*, 2016; García Enciso *et al.*, 2018).

du Jardin (2015) menciona que un bioestimulante tiene como objetivo mejorar la eficiencia de la nutrición, la tolerancia al estrés y los rasgos de calidad del cultivo, independientemente de su contenido de nutrientes. Este tipo de sustancias incrementa la síntesis de compuestos derivados de los fenilpropanoides y activan una cascada de

señalizaciones que aumentan la actividad antioxidante (Puglisi *et al.*, 2020). Existen diferentes categorías de bioestimulantes como, ácidos húmicos y fúlvicos, microorganismos benéficos, compuestos inorgánicos, hidrolizados de proteínas, quitosano y otros biopolímeros y extractos de algas y botánicos (du Jardin, 2015).

Extractos de algas *Sargassum*

Ha existido demasiado interés en el potencial que la vegetación marina tiene como sumidero de las emisiones de carbono, ya que los productores primarios marinos tienen aportaciones aproximadamente del 50% de la fijación del carbono, pero pueden representar hasta el 70% del total de almacenamiento del carbono (Jónasdóttir, 2019). Las macroalgas son una materia prima valiosa para diferentes áreas como la alimenticia, la biorrefinería, la farmacéutica, la cosmética y la agricultura, donde es posible extraer diferentes compuestos, como ácidos grasos, proteínas, aminoácidos, carbohidratos, carotenoides y demás antioxidantes de alto valor (Rodríguez-Jasso *et al.*, 2011; Shukla *et al.*, 2019).

En la agricultura hoy en día se aplican extractos de diferentes macroalgas como lo son las verdes, rojas y pardas, siendo estas últimas las más utilizadas por la concentración considerable de compuestos bioactivos (González-Morales *et al.*, 2021). Las algas pardas son organismos eucariotas que se agrupan en la clase de las Phaeophyceae donde uno de los metabolitos que predomina es la fucoxantina, carotenoide perteneciente a las xantofilas que les brinda su coloración parda característica, aunado a esto juega un papel fundamental en la adaptación de las algas al estrés (Ryabushko *et al.*, 2017; Waghmode *et al.*, 2019).

Estas algas cuentan con una pared celular rica en carbohidratos, principalmente celulosa, alginatos y fucoidan formados principalmente por fucosa, manosa, galactosa, xilosa y glucosa (Michel *et al.*, 2010; Ale *et al.*, 2011). Estos carbohidratos juegan un papel importante en las plantas de cultivo cuando son aplicados como bioestimulantes, al estar involucrados en procesos como la germinación de semillas, fotosíntesis, floración y mitigación frente al estrés (Sami *et al.*, 2016).

Los extractos de algas también contienen diferentes compuestos nitrogenados como proteínas, aminoácidos y péptidos con actividades bioestimulantes en los cultivos

(Shukla *et al.*, 2019). Estos compuestos actúan como osmoprotectantes (prolina y glicina betaína) y mejoran la acumulación de biomasa de las plantas al estimular directamente el metabolismo del carbono (C) y nitrógeno (N) (Colla *et al.*, 2017; Chun *et al.*, 2018; Estaji *et al.*, 2019).

Las fitohormonas son otros compuestos que los extractos de algas pardas contienen. Existe una diferencia muy marcada en la concentración de fitohormonas entre las algas pardas y las plantas vasculares, siendo las algas las que las acumulan en mayor medida (Benítez-García *et al.*, 2020). Estos compuestos, principalmente auxinas, citoquininas y giberelinas realizan su función a muy bajas concentraciones cambiando los patrones de crecimiento de las plantas, aunado a esto funcionan como moléculas de señalización en condiciones estresantes (Alamri *et al.*, 2021; Zhao *et al.*, 2021c).

Los compuestos fenólicos son compuestos que también se encuentran en los extractos de algas pardas y cumplen con funciones importantes al estar involucrados directamente en la mitigación del estrés al neutralizar a las ERO que se producen (Flores-Torres *et al.*, 2017). Al hablar de metabolitos secundarios con poder antioxidante son sin duda el grupo más grande y efectivo con el que cuentan las algas y plantas vasculares (Flores-Torres *et al.*, 2017; Rezaie *et al.*, 2020).

Las algas pardas más utilizadas en la agricultura son las pertenecientes a los géneros *Ascophyllum*, *Fucus*, *Ecklonia*, *Laminaria* y *Macrocystis*, sin embargo, en los últimos años el género *Sargassum* empezó a provocar problemas turísticos, de contaminación ambiental y de salud por las acumulaciones atípicas en las costas (Trejo-Valencia *et al.*, 2018; Shukla *et al.*, 2019; Chávez *et al.*, 2020; La Bella *et al.*, 2021). Dada esta problemática se empezaron a usar en diferentes áreas económicas como la agricultura.

Existen reportes que indican que los extractos de alga *Sargassum* spp. (EAS) mejoran el crecimiento, rendimiento y calidad de los cultivos bajo condiciones normales y estresantes (Figura 1). Abdel Latef *et al.* (2017) demostraron que las plantas de garbanzo bajo estrés salino y con aplicaciones de EAS mejoraron notablemente el crecimiento y las actividades de la SOD y APX en comparación con el control. El uso de EAS en la mitigación del estrés térmico es nulo, sin embargo, existen reportes que indican que extractos de *Ascophyllum nodosum* mejoraron el contenido de clorofila e indujeron la expresión de genes de respuesta al frío en *Arabidopsis thaliana* (Rayirath *et al.*, 2009).

De la misma manera extractos de *A. nodosum* mejoraron la viabilidad del polen, el rendimiento y la expresión de genes de respuesta (*HSP*) al estrés por calor en el cultivo de tomate (Carmody *et al.*, 2020).

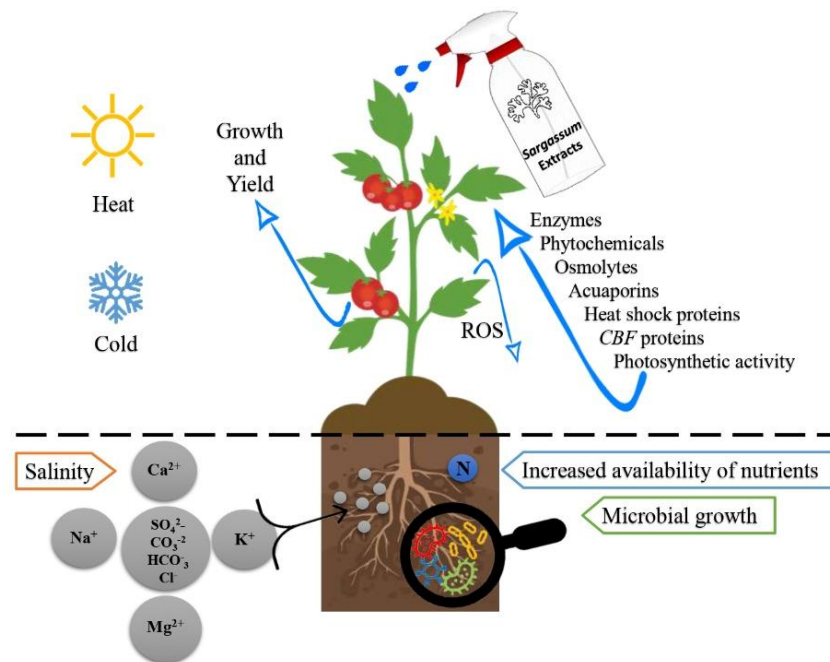









Figura 1. Mecanismo de acción de los extractos de *Sargassum* frente al estrés por salinidad y temperaturas extremas en cultivos agrícolas.

PRIMER ARTÍCULO

Efecto de extractos de *Sargassum* spp. en el crecimiento y antioxidantes de plántulas de tomate

Efecto de extractos de *Sargassum* spp. en el crecimiento y antioxidantes de plántulas de tomate

Effect of extracts of *Sargassum* spp. in growth and antioxidants of tomato seedlings

Oscar Sariñana-Aldaco¹ ,
Adalberto Benavides-Mendoza² ,
Antonio Juárez-Maldonado³ ,
Armando Robledo-Olivo⁴ ,
Rosa María Rodríguez-Jasso⁵ ,
Pablo Preciado-Rangel⁶ ,
Susana González-Morales^{7*} 

¹Doctorado en Ciencias en Agricultura Protegida, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro 1923. CP. 25315, Saltillo, Coahuila, México.

²Departamento de Horticultura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro 1923. CP. 25315, Saltillo, Coahuila, México.

³Departamento de Botánica, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro 1923. CP. 25315, Saltillo, Coahuila, México.

⁴Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro 1923. CP. 25315, Saltillo, Coahuila, México.

⁵Grupo de Biorrefinería, Departamento de Investigación en Alimentos, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila. Ing. J. Cárdenas Valdez S/N. Col. República, CP. 25280. Saltillo, Coahuila, México.

⁶Departamento de Horticultura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna. Periférico Raúl López Sánchez s/n. CP. 27054, Torreón, Coahuila, México.

⁷CONACyT-Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro 1923. CP. 25315. Saltillo, Coahuila, México.

*Autor de correspondencia:
qfb_sgm@hotmail.com;
sgonzalezmo@conacyt.mx

Artículo científico

Recibido: 28 de enero 2021

Aceptado: 24 de mayo 2021

Como citar: Sariñana-Aldaco O, Benavides-Mendoza A, Juárez-Maldonado A, Robledo-Olivo A, Rodríguez-Jasso RM, Preciado-Rangel P, González-Morales S (2021) Efecto de extractos de *Sargassum* spp. en el crecimiento y antioxidantes de plántulas de tomate. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 8(2): e2814. DOI: 10.19136/era.a8n2.2814

RESUMEN. El tomate es la hortaliza más cultivada y consumida a nivel mundial y frecuentemente sufre diversas tensiones ambientales que afectan su productividad. Como posibles soluciones para mitigar el estrés está el uso de bioestimulantes, en particular, el uso de extractos de algas pardas que afectan positivamente varios procesos fisiológicos y bioquímicos en las plantas. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la aplicación foliar de 17 extractos hidroalcohólicos de *Sargassum* spp. al 1.5%, más dos tratamientos control (agua destilada y un producto comercial a base de *Ascophyllum nodosum*) sobre el crecimiento y compuestos antioxidantes de plántulas de tomate, bajo un diseño completamente al azar. Los resultados muestran que el extracto que presentó los mejores resultados fue el EAS7 (160 °C / 30 min / 50% de etanol). Dicho extracto aumentó la altura, diámetro de tallo, materia fresca y seca total de las plántulas de tomate en un 8.67, 32.32, 25.03 y 11.59%, respectivamente, en comparación con el control absoluto (agua destilada). Además, el EAS7 aumentó el contenido de proteínas, glutatión, fenoles totales, flavonoides y capacidad antioxidante (ABTS) de las hojas en un 386.48, 15.92, 22.05, 35.99 y 18.86%, respectivamente, en comparación con el control absoluto. La aplicación de extractos de *Sargassum* spp. es una alternativa prometedora para mejorar las características agronómicas y antioxidantes del cultivo de tomate.

Palabras clave: Bioestimulación, compuestos bioactivos, extractos de algas, *Solanum lycopersicum* L., sustentabilidad.

ABSTRACT. Tomato is the most cultivated and consumed vegetable in the world and is frequently attacked by various environmental stresses that affect its bioproductivity. Possible solutions to mitigate stress include the use of biostimulants, in particular the use of brown algae extracts that positively affect various physiological and biochemical processes in plants. Therefore, the objective of the present work was to evaluate the effect of foliar application of 17 hydroalcoholic extracts of *Sargassum* spp. at 1.5% and two control treatments (distilled water and commercial product based on *Ascophyllum nodosum*) on the growth and antioxidant compounds of tomato seedlings, under a completely random design. The results show that the extract called EAS7 (160 °C/ 30 min/ 50% ethanol) presented the best results. EAS7 increased the height, stem diameter and total fresh and dry matter of tomato seedlings by 8.67, 32.32, 25.03 and 11.59%, respectively, compared to the absolute control (distilled water). Also, EAS7 increased the content of proteins, glutathione, total phenols, flavonoids and antioxidant capacity (ABTS) of the leaves by 386.48, 15.92, 22.05, 35.99 and 18.86%, respectively, compared to the absolute control. The application of extracts of *Sargassum* spp. is a promising alternative to improve the agronomic and antioxidant characteristics of tomato crops.

Key words: Bioactive compounds, biostimulation, seaweed extracts, *Solanum lycopersicum* L., sustainability.

INTRODUCCIÓN

El tomate es el cultivo hortícola más producido en el mundo, debido a que es una fuente natural de sustancias bioactivas de interés para la salud humana (Salehi *et al.* 2019). No obstante, constantemente es amenazado por diferentes tipos de estrés (salinidad, sequía, temperaturas extremas y patógenos), los cuales, reducen cantidad y calidad de los productos (Bai *et al.* 2018, González-García *et al.* 2019). El uso de bioestimulantes en la agricultura permite reducir el uso de agroquímicos ante situaciones de estrés, sin afectar de forma negativa el rendimiento de los cultivos o los ingresos de los agricultores (Hernández-Herrera *et al.* 2014). Los bioestimulantes tienen la característica de inducir resistencia ante el estrés, mejorar la eficiencia en la absorción y asimilación de nutrientes y mejorar características agronómicas y de calidad de los cultivos (du Jardin 2015).

Los extractos de algas pardas tienen un alto poder bioestimulante, gracias a su contenido de vitaminas, carotenoides, fenoles, fitohormonas, proteínas, aminoácidos y azúcares, los cuales, al ser aplicados incrementan el rendimiento y la calidad en los cultivos (Ertani *et al.* 2018), además, inducen tolerancia al estrés (Jayaraman *et al.* 2011). Dichos extractos también son ricos en minerales como nitrógeno (N) y potasio (K) similares a los del estiércol vacuno y fertilizantes orgánicos, lo que los hace candidatos ideales para su uso en la agricultura (Trejo-Valencia *et al.* 2018). Además, hoy en día se encuentran disponibles una serie de extractos, los cuales, se pueden utilizar de manera foliar, en drench o en forma granular para acondicionar el suelo (Hernández-Herrera *et al.* 2014).

Las algas pardas del género *Sargassum* últimamente representan un problema turístico, ecológico y de salud pública, por las acumulaciones atípicas en las costas de México. Sin embargo, esta situación llevó a productores, comerciantes e investigadores a desarrollar diferentes productos a base de *Sargassum*, tales como: producción de combustibles, suplementos alimenticios y como bioestimulantes en el área agrícola (Brown *et al.* 2014, Pérez *et al.* 2018). Existen estudios que demuestran el

poder bioestimulante de los productos derivados de *Sargassum*, como lo indican Kumari *et al.* (2011) quienes evaluaron el uso de extractos de *Sargassum johnstonii* en el cultivo del tomate, sus resultados indican mayor crecimiento del sistema radicular, incremento del número y peso de frutos, aumento de fenoles, licopeno y ácido ascórbico en los frutos.

El uso de extractos del alga *Sargassum* (EAS) es una alternativa para reducir el uso de químicos en la agricultura (N'Yeurt y Lese 2015), aumentar la tolerancia ante el estrés (Jayaraman *et al.* 2011) y mejorar el rendimiento y calidad de los cultivos (Abbas *et al.* 2020), además, representa una opción para mitigar el problema que causa esta alga en las costas. Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue determinar el efecto de la aplicación foliar de diferentes extractos hidroalcohólicos de *Sargassum* spp. sobre el crecimiento y los compuestos antioxidantes de plántulas de tomate.

MATERIALES Y MÉTODOS

Producción de los extractos del alga *Sargassum* spp. (EAS)

El alga *Sargassum* spp. fue recolectada en el mar Caribe mexicano. Las muestras se transportaron al laboratorio en recipientes de plástico y se lavaron con agua de grifo para eliminar las sales superficiales, luego se dejaron secar al aire libre el tiempo necesario hasta una humedad menor al 20%. Después se procedió a la molienda hasta obtener un tamaño de partícula menor a 0.5 mm. Posteriormente se llevó a cabo la extracción en la planta piloto del laboratorio de Biorrefinería de la Universidad Autónoma de Coahuila en Saltillo, México, donde se utilizó una relación 1:20 (1 g de alga y 20 mL de agua: etanol) (Ramya *et al.* 2015). La extracción se realizó en un reactor batch, siguiendo la metodología descrita por Ferreira *et al.* (2019) con modificaciones, considerando tres factores (temperatura, tiempo y porcentaje de etanol) y tres niveles por factor. Las condiciones de extracción se describen en la Tabla 1, las cuales, se llevaron a cabo mediante un diseño central compuesto. Los extractos se filtraron a través de un papel filtro y se almacenaron a -80 °C en un

Tabla 1. Condiciones de extracción y caracterización de los EAS.

Tratamiento EAS	T (°C)	TE (min)	Etanol (%)	PT (mg g ⁻¹ PS)	AA (mg g ⁻¹ PS)	GSH (mg g ⁻¹ PS)
1	120	0	0	1.30 ^j	0.20 ^j	1.78 ^l
2	120	0	50	0.91 ^j	0.18 ^k	1.61 ^l
3	120	30	50	1.90 ^f	0.22 ^j	2.37 ^h
4	120	30	0	1.63 ^h	0.27 ^h	2.87 ^{de}
5	160	0	0	1.84 ^{f/g}	0.33 ^e	3.09 ^{b-d}
6	160	0	50	2.18 ^e	0.26 ^h	2.59 ^{f-h}
7	160	30	50	3.47 ^a	0.43 ^a	3.29 ^{ab}
8	160	30	0	1.31 ⁱ	0.33 ^e	3.22 ^{a-c}
9	140	15	25	2.37 ^{b-d}	0.33 ^e	3.12 ^{a-d}
10	140	15	25	2.49 ^b	0.34 ^{cd}	3.14 ^{a-d}
11	140	15	25	2.45 ^{bc}	0.34 ^d	3.30 ^a
12	120	15	25	2.47 ^{bc}	0.29 ^g	2.76 ^{a-d}
13	160	15	25	2.39 ^{bc}	0.35 ^c	2.75 ^{a-d}
14	140	0	25	2.34 ^{cd}	0.26 ^h	2.53 ^{gh}
15	140	30	25	2.43 ^{bc}	0.40 ^b	3.01 ^{c-e}
16	140	15	0	1.75 ^{gh}	0.29 ^g	2.93 ^{de}
17	140	15	50	2.23 ^{de}	0.30 ^f	2.82 ^{ef}

Letras diferentes dentro de cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos (LSD, $p \leq 0.05$). EAS: Extracto de alga *Sargassum* spp.; T: Temperatura; TE: Tiempo de extracción; PT: Proteínas totales; AA: Aminoácidos; GSH: Glutación; PS: Peso seco.

ultracongelador para su posterior análisis.

Caracterización de los EAS

A los 17 EAS producidos se les determinó la concentración de proteínas totales, aminoácidos y glutación (Tabla 1). La cuantificación de proteínas totales se realizó mediante la técnica espectrofotométrica de Bradford (1976). En tubos de ensayo se agregaron 0.1 mL del EAS y 1 mL del reactivo Bradford para después dejar en reposo 5 minutos y leer en espectrofotómetro Uv-Vis (Genesis 10s Uv-Vis, Thermo Scientific) a 595 nm. Los aminoácidos se cuantificaron por la técnica propuesta por Yemm y Cocking (1955). En tubos de ensayo se agregaron 0.250 mL del EAS, 2.25 mL de buffer de citratos a 0.09 M (pH 5) y 0.5 mL de ninhidrina al 0.35%, para luego agitarlos y colocarlos en baño María a temperatura de entre 80 y 100 °C durante 20 min. Terminada la reacción, las muestras se colocaron en un baño de hielo y se leyó en un espectrofotómetro Uv-Vis (Genesis 10s Uv-Vis, Thermo Scientific) a 570 nm. El glutación se cuantificó siguiendo la metodología espectrofotométrica establecida por Xue *et al.* (2001), mediante la reacción del ácido 5,5 ditiobis-2 nitro benzoico (DTNB). En tubos de ensayo se agregaron 0.48 mL del EAS, 2.2 mL de Na₂HPO₄ a

0.32 M y 0.32 mL del colorante DTNB a 1 mM. Para luego mezclar y dejar reposar por 15 minutos para después realizar la lectura en un espectrofotómetro Uv-Vis (Genesis 10s Uv-Vis, Thermo Scientific) a 412 nm. Los datos se reportaron en miligramos por gramo de peso seco (mg g⁻¹ PS).

Material vegetal y condiciones experimentales

Semillas de tomate híbrido el CID F1 de la compañía Harris Moran Seed Company, tipo saladette y crecimiento indeterminado, se sembraron en bandejas de poliestireno con una mezcla de sustrato de peat moss y perlita (1:1 v/v). El experimento se estableció en un invernadero cubierto de polietileno en el Departamento de Horticultura de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en Saltillo, México. La temperatura promedio fue de 28 °C y 50 a 60% de humedad relativa. Las plántulas se cultivaron durante 30 días hasta que desarrollaron cuatro hojas verdaderas. Para luego trasplantarlas a contenedores de unicel de 0.5 L con la misma relación de sustrato utilizada en la siembra. El sistema de riego fue manual, dando un riego al día a capacidad de campo. La nutrición de las plantas se realizó con una solución nutritiva Steiner (1961) al 25%. Las dosis aplicadas de los EAS fueron del

1.5% de acuerdo con investigaciones realizadas por Ramya et al. (2011), Kasim et al. (2015) y Ramya et al. (2015). Los EAS se aplicaron vía foliar utilizando un aspersor hasta el punto de goteo, las aplicaciones se realizaron cada 10 días a partir del trasplante, acumulando cuatro aplicaciones durante la prueba que tuvo una duración de 30 días a partir del trasplante. Las aplicaciones se realizaron entre las 08:00 y 10:00 h con un aspersor manual. Para evitar la pulverización de tratamientos vecinos, se utilizó una barrera plástica flexible para aislar el espacio de aplicación.

Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con 19 tratamientos, los cuales fueron: 17 EAS y dos controles, un producto comercial de *Ascophyllum nodosum* y agua destilada como control absoluto. Cada tratamiento tuvo 10 réplicas, dando un total de 190 unidades experimentales.

Variables evaluadas

Se midieron las variables de crecimiento de altura de plántula, diámetro de tallo, número de hojas, peso fresco y peso seco total de las plántulas. Las variables bioquímicas evaluadas fueron: pigmentos fotosintéticos, proteínas totales, glutatión, fenoles totales, flavonoides y capacidad antioxidante hidrofílica (ABTS).

La altura de plántula se midió con un flexómetro desde la base de la superficie del suelo hasta el ápice de crecimiento. El diámetro del tallo con un vernier digital entre la primera y segunda hoja desde la base de la planta. También se contó el número de hojas y se tomó el peso fresco y seco del vástago y raíz con una balanza digital.

Para determinar los compuestos bioquímicos en las plántulas de tomate, el material congelado se liofilizó. Para luego pulverizar la muestra en un mortero de porcelana. Para la extracción y cuantificación de proteínas, glutatión y capacidad antioxidante hidrofílica (ABTS) se colocaron 100 mg de tejido liofilizado en un tubo de 2 mL y se agregaron 10 mg de polivinilpirrolidona (PVP) para estabilizar los compuestos. Posteriormente se agregaron 2 mL de

buffer de fosfatos 0.1 M (pH 7-7.2), se homogeneizó en vórtex durante 20 s, se sonicaron durante 5 min y se centrifugó a 12 500 rpm a 4 °C durante 10 minutos, para luego recolectar el sobrenadante para realizar el análisis. Con la extracción se realizó la cuantificación de proteínas y glutatión, con las metodologías descritas en el apartado de caracterización de EAS y los resultados se reportaron en miligramos por gramo de peso seco (mg g^{-1} PS).

La capacidad antioxidante hidrofílica (ABTS), se determinó por el método descrito por Re et al. (1999), que se basa en la decoloración del catión radical ABTS. El radical se obtuvo de la reacción del ABTS a 7 mM con persulfato de potasio a 2.45 mM (1:1 v/v) en la oscuridad durante 16 h, posteriormente se diluyó con etanol al 20% hasta obtener una absorbancia de 0.7 ± 0.01 a 754 nm. Luego, para determinar la capacidad antioxidante de los compuestos hidrofílicos, en un tubo de 2 mL se colocaron 20 μL del extracto y 980 μL de la dilución del radical ABTS, se agitaron durante 5 s y se dejaron reposar 7 min en oscuridad. La absorbancia se midió en un espectrofotómetro Uv-Vis (Genesis 10s Uv-Vis, Thermo Scientific) a 754 nm. Los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de ácido ascórbico por gramo de peso seco (mg EAA g^{-1} PS).

Los pigmentos se determinaron con el método descrito por Wellburn (1994), con ligeras modificaciones, para lo cual, se agregaron 60 mg de tejido liofilizado en un tubo de ensayo, para luego adicionar 5 mL de metanol puro e incubar a temperatura ambiente en oscuridad por 24 h para la extracción completa de los pigmentos. Pasadas las 24 h se procedió a medir la absorbancia en espectrofotómetro Uv-Vis (Genesis 10s Uv-Vis, Thermo Scientific) a 666, 653 y 470 nm. La concentración de los pigmentos se expresa en miligramos por gramo de peso seco (mg g^{-1} PS), usando las siguientes formulas:

$$\text{Chl } a = [15.65(A666) - 7.34(A653)]$$

$$\text{Chl } b = [27.05(A653) - 11.21(A666)]$$

$$\text{Carotenoides} = \frac{[(1000A470) - 2.86(\text{Chl } a) - 129.2(\text{Chl } b)]}{221}$$

Los fenoles se determinaron según la

metodología de Singleton *et al.* (1999). La muestra se extrajo colocando 100 mg de tejido liofilizado en un tubo de 2 mL y se agregaron 2 mL de solución de extracción (agua: acetona 1:1 v/v). La mezcla se agitó mediante un vórtex durante 20 s para después llevar a sonicación por 5 min. Finalmente, las muestras se centrifugaron a 12 000 rpm durante 10 min a 4 °C para obtener el sobrenadante y proceder a la cuantificación. La cuantificación se realizó en tubos de ensayo al agregar 50 μ L de cada muestra, 200 μ L del reactivo Folin Ciocalteu al 100%, 500 μ L de carbonato de sodio al 20% y 5 mL de agua destilada. La mezcla se dejó reposar durante 30 minutos a 45 °C. Posteriormente la mezcla se leyó a una longitud de onda de 750 nm en un espectrofotómetro Uv-Vis (Genesis 10s Uv-Vis, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). Los resultados de fenoles se expresan en miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de peso seco (mg EAG g^{-1} PS).

Los flavonoides se cuantificaron siguiendo método de Zhishen *et al.* (1999). Los compuestos fueron extraídos colocando 100 mg de tejido liofilizado en tubos de 2 mL y agregando 2 mL metanol al 80%. La mezcla se pasó por el vórtex durante 20 s, posteriormente se sonó por 5 minutos y se centrifugó a 4 000 rpm durante 10 min a 4 °C. Para la mezcla se colocaron 250 μ L de la alícuota en un tubo de ensayo, seguido de la adición de 75 μ L de $NaNO_2$ al 5% y se agitó mediante un vórtex. Después de 5 min se agregaron 150 μ L de $AlCl_3$ al 10%; luego, se agregó un volumen de 500 μ L de NaOH 1 M, más un volumen final de 2.025 mL de agua destilada. La absorbancia se midió a 510 nm en un espectrofotómetro Uv-Vis (Genesis 10s Uv-Vis). Los flavonoides se cuantificaron mediante una curva estándar de catequina, basados en peso seco (mg EC g^{-1} PS).

Muestreo de plantas

Para las variables de crecimiento se seleccionaron cinco plantas al azar y de la misma manera para compuestos antioxidantes. Se muestreó la hoja más joven totalmente expandida, la cual, se colocó en aluminio, se congeló inmediatamente con nitrógeno líquido y se almacenó en un ultraconge-

lador a -80 °C para su posterior análisis. El muestreo y evaluación de las plántulas se realizó 24 h después de la última aplicación de los EAS.

Análisis de datos

Se realizó un análisis de varianza y prueba de medias de la diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher ($p \leq 0.05$). Todos los procedimientos estadísticos se realizaron utilizando el software Infostat (v2018).

RESULTADOS

Caracterización de los EAS

Los resultados indican que las diferentes condiciones de extracción causaron diferencias en la concentración de metabolitos nitrogenados en los EAS (Tabla 1). Se puede apreciar que el EAS que presentó mayores concentraciones de estos metabolitos es el EAS7 (160 °C/ 30 min/ 50% de etanol), el cual, muestra valores de 3.47, 0.43 y 3.29 $mg\ g^{-1}$ PS para proteínas, aminoácidos y glutatión, respectivamente. En cuanto al tratamiento que presentó los valores más bajos, fue el EAS2 (120 °C/ 0 min/ 50% etanol), dicho EAS muestra valores de 0.91, 0.18 y 1.61 $mg\ g^{-1}$ PS para proteínas, aminoácidos y glutatión, respectivamente. El resto de los EAS muestra valores entre los rangos del EAS2 y EAS7. De igual manera se puede apreciar que conforme aumenta la condición de extracción, la concentración de metabolitos en los EAS es mayor.

Parámetros de crecimiento de las plántulas

Los resultados señalan que las aplicaciones foliares de los EAS en las plántulas de tomate causaron cambios significativos ($p \leq 0.05$) en los parámetros de crecimiento (Tabla 2 y 3). El EAS con mejores resultados fue el denominado EAS7, este EAS aumentó la altura de plántula, número de hojas, diámetro de tallo, materia fresca y seca total en un 8.67, 18.42, 32.32, 25.03 y 11.59%, respectivamente, en comparación con el control absoluto. En cuanto a la aplicación del producto comercial se observó un incremento en todas las variables en comparación al control absoluto, pero no superior que el de la mayoría de

los EAS. Se puede apreciar que el control absoluto en todos los parámetros de crecimiento estadísticamente es de los más bajos, a excepción de la variable de altura de plántula, en donde el tratamiento más bajo es el EAS3 (120 °C/ 30 min/ 50% etanol), dicho tratamiento fue superado por el control absoluto en un 7.59%.

Tabla 2. Efecto de los EAS sobre variables de altura, número de hojas y diámetro de tallo en plántulas de tomate.

Tratamiento (EAS)	Altura (cm)	Número de hojas	Diámetro de tallo (mm)
1	42.02 ^{c-f}	8.2 ^{b-d}	6.64 ^{c-f}
2	42.42 ^{b-f}	7.8 ^{cd}	6.24 ^{f/g}
3	38.16 ^g	8.4 ^{a-d}	6.98 ^{bc}
4	41.92 ^{d-f}	9.2 ^a	7 ^{bc}
5	43.15 ^{a-f}	8.6 ^{a-c}	6.34 ^{a-d}
6	43.14 ^{a-f}	8.4 ^{a-d}	6.68 ^{c-e}
7	44.62 ^{ab}	9 ^{ab}	7.86 ^a
8	42.12 ^{c-f}	8.8 ^{ab}	7 ^{bc}
9	41.78 ^{ef}	8.6 ^{a-c}	6.52 ^{d-f}
10	43.64 ^{a-e}	8.6 ^{a-c}	6.5 ^{d-f}
11	43.38 ^{a-f}	7.8 ^{cd}	6.44 ^{d-f}
12	45.24 ^a	8.4 ^{a-d}	6.66 ^{c-f}
13	44.98 ^a	9 ^{ab}	7.02 ^{bc}
14	44.7 ^{ab}	8.8 ^{ab}	7.18 ^b
15	42.36 ^{b-f}	9.2 ^a	6.72 ^{c-e}
16	44.4 ^{a-c}	8.4 ^{a-d}	7.02 ^{bc}
17	44.3 ^{a-d}	8.4 ^{a-d}	6.84 ^{b-d}
PC	43.82 ^{a-e}	8.6 ^{a-c}	6.44 ^{d-f}
T0	41.06 ^f	7.6 ^d	5.94 ^g
CV (%)	4.51	9.29	5.09

Letras diferentes dentro de cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos (LSD, $p \leq 0.05$). EAS: Extracto de alga *Sargassum* spp.; PC: Producto comercial; T0: Control absoluto; CV: Coeficiente de variación.

Pigmentos fotosintéticos

La concentración de pigmentos en las hojas de las plántulas de tomate se incrementó sustancialmente ($p \leq 0.05$) con la adición foliar de los EAS. Se puede apreciar que el mejor tratamiento, fue el EAS12 (120 °C/ 15 min/ 25% etanol), el cual, incrementó la clorofila a, clorofila b, clorofila total y carotenoides en un 33.69, 25.91, 31.17 y 100%, respectivamente, en comparación con el control absoluto, el cual, fue el que presentó los valores más bajos (Tabla 4). En cuanto al producto comercial, muestra valores intermedios de concentración.

Proteínas y estado antioxidante de las plántulas

En cuanto a las proteínas y compuestos antioxidantes de las plántulas de tomate el análisis estadístico muestra que se presentaron cambios significativos ($p \leq 0.05$) por la adición foliar de los EAS. En cuanto al mejor tratamiento, fue el denominado EAS7, ya que, aumentó las proteínas, glutatión, fenoles totales, flavonoides (Figura 1) y la capacidad antioxidante hidrofílica ABTS (Figura 2) de las hojas en un 386.48, 15.92, 22.05, 35.99 y 18.86%, respectivamente, en comparación al control absoluto, el cual, fue de los tratamientos que presentó los valores más bajos. En cuanto al producto comercial, presentó valores intermedios de concentración. En general el EAS7 fue superior al resto de los tratamientos ya que los superó estadísticamente en proteínas, glutatión, fenoles totales y flavonoides, pero no en capacidad antioxidante. En esta variable los mejores tratamientos fueron el EAS4 (120 °C/ 30 min/ 0% etanol) y EAS16 (140 °C/ 15 min/ 0% etanol), seguidos por el EAS7. Probablemente estos tratamientos son ricos en otros compuestos antioxidantes que no se determinaron, a lo cual, se debe su mayor capacidad antioxidante.

DISCUSIÓN

Caracterización de los EAS

Los extractos de algas pardas están ganando interés creciente, por su composición única de compuestos de interés en la agricultura. Recientemente se están utilizando diversas técnicas de extracción de compuestos biológicamente activos que son amables con el medio ambiente (Michalak y Chojnacka 2015, Shukla et al. 2019). Cada técnica de extracción que se utilice mostrará resultados diferentes en cuanto a la concentración de los compuestos de interés, por lo cual, dichas técnicas se tienen que elegir de acuerdo a los objetivos del estudio y a los materiales disponibles (Michalak y Chojnacka 2014). En este estudio la extracción se realizó mediante un reactor batch controlando temperaturas, tiempos y porcentaje de etanol. Por lo que los resultados obtenidos en la caracterización de los EAS se pueden atribuir las condiciones a las que fue sometida el alga, lo que

Tabla 3. Efecto de los EAS sobre biomasa aérea y de raíz en plántulas de tomate.

Tratamiento (EAS)	PFV (g)	PFR (g)	PSV (g)	PSR (g)	PFT (g)	PST (g)
1	53.06 ^d	7.43 ^{b-e}	16.04 ^{d-f}	2.09 ^{c-f}	60.49 ^{d-f}	18.13 ^{e-h}
2	52.44 ^d	5.95 ^{f-h}	16.08 ^{c-f}	1.59 ^{gh}	58.38 ^f	17.67 ^{f-h}
3	53.91 ^d	9.37 ^a	16.20 ^{b-f}	2.55 ^{ab}	63.27 ^{c-f}	18.75 ^{b-e}
4	57.31 ^{b-d}	7.51 ^{b-e}	16.53 ^{a-e}	2.08 ^{c-f}	64.82 ^{c-e}	18.61 ^{c-e}
5	52.83 ^d	6.81 ^{a-d}	15.52 ^f	1.95 ^{a-d}	59.64 ^{ef}	17.47 ^h
6	61.49 ^{ab}	9.52 ^a	17.06 ^a	2.61 ^a	71.02 ^{ab}	19.68 ^a
7	62.91 ^a	9.77 ^a	16.81 ^{a-d}	2.74 ^a	72.67 ^a	19.54 ^{ab}
8	57 ^{b-d}	8.82 ^{ab}	16.84 ^{a-c}	2.48 ^{a-c}	65.82 ^{b-d}	19.32 ^{a-c}
9	59.68 ^{a-c}	8.7 ^{a-c}	16.84 ^{a-c}	2.37 ^{a-d}	68.38 ^{a-c}	19.21 ^{a-d}
10	53.88 ^d	5.79 ^{gh}	15.89 ^{ef}	1.62 ^{d-h}	59.67 ^{ef}	17.52 ^h
11	56.63 ^{b-d}	3.49 ^{a-d}	16.95 ^{ab}	2.41 ^{a-c}	65.12 ^{c-d}	19.36 ^{a-c}
12	54.51 ^d	7.04 ^{a-d}	16.92 ^{ab}	1.98 ^{d-g}	61.55 ^{d-f}	18.9 ^{a-e}
13	53.41 ^d	9.89 ^a	16.6 ^{a-e}	2.76 ^a	63.3 ^{c-f}	19.36 ^{a-c}
14	55.44 ^{cd}	7.74 ^{b-e}	16.35 ^{a-e}	2.19 ^{b-e}	63.18 ^{c-f}	18.54 ^{c-f}
15	57.03 ^{b-d}	5.39 ^h	16.17 ^{b-f}	1.39 ^h	62.42 ^{d-f}	17.56 ^{gh}
16	52.39 ^d	7.09 ^{d-g}	16.24 ^{b-f}	2.09 ^{c-f}	59.47 ^f	18.33 ^{d-h}
17	55.32 ^{cd}	7.29 ^{c-f}	16.39 ^{a-e}	2.09 ^{c-f}	62.61 ^{d-f}	18.48 ^{c-g}
PC	55.79 ^{cd}	6.49 ^{e-h}	16.7 ^{a-d}	1.86 ^{a-d}	62.28 ^{d-f}	18.56 ^{c-f}
T0	52.25 ^d	5.87 ^{gh}	15.83 ^{ef}	1.68 ^{f-h}	58.12 ^f	17.51 ^h
CV (%)	7.31	14.73	3.82	15.3	6.7	3.96

Letras diferentes dentro de cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos (LSD, $p \leq 0.05$). EAS: Extracto de alga *Sargassum* spp.; PC: Producto comercial; T0: Control absoluto; CV: Coeficiente de variación; PFV: Peso fresco del vástago; PFR: Peso fresco de la raíz; PSV: Peso seco del vástago; PSR: Peso seco de la raíz; PFT: Peso fresco total; PST: Peso seco total.

Tabla 4. Efecto de los EAS sobre pigmentos fotosintéticos en hojas de plántulas de tomate.

Tratamiento (EAS)	Chl a (mg g ⁻¹ PS)	Chl b (mg g ⁻¹ PS)	Chl T (mg g ⁻¹ PS)	Caro (mg g ⁻¹ PS)
1	5.79 ^b	2.91 ^b	8.7 ^b	0.22 ^{e-h}
2	5.2 ^f	2.62 ^{ef}	7.82 ^{ef}	0.31 ^{b-d}
3	4.86 ⁱ	2.54 ^{ef}	7.4 ^j	0.21 ^{e-h}
4	5.14 ^f	2.61 ^{ef}	7.75 ^f	0.22 ^{e-h}
5	5.54 ^c	2.82 ^{b-d}	8.36 ^c	0.24 ^{d-g}
6	4.83 ⁱ	2.56 ^{ef}	7.39 ^j	0.13 ⁱ
7	5.84 ^b	2.87 ^b	8.71 ^b	0.25 ^{c-f}
8	4.37 ^{hi}	2.56 ^{ef}	7.43 ^{h-j}	0.19 ^{f-i}
9	4.95 ^{ah}	2.61 ^{ef}	7.56 ^{g-i}	0.15 ^{hi}
10	5.31 ^e	2.68 ^{c-e}	7.99 ^{de}	0.22 ^{e-h}
11	4.91 ^{hi}	2.56 ^{ef}	7.47 ^{h-j}	0.15 ^{hi}
12	6.23 ^a	3.11 ^a	9.34 ^a	0.34 ^{ab}
13	5.03 ^g	2.66 ^{de}	7.69 ^{fg}	0.2 ^{f-i}
14	5.44 ^d	2.83 ^{bc}	8.27 ^c	0.33 ^b
15	5.76 ^b	2.93 ^b	8.69 ^b	0.32 ^{bc}
16	5.6 ^c	2.83 ^{b-d}	8.43 ^c	0.41 ^a
17	4.99 ^g	2.58 ^{ef}	7.57 ^{gh}	0.24 ^{d-g}
PC	5.36 ^e	2.67 ^{c-e}	8.03 ^d	0.29 ^{b-e}
T0	4.66 ⁱ	2.47 ^f	7.12 ^k	0.17 ^{g-i}
CV (%)	0.94	3.7	1.27	19.63

Letras diferentes dentro de cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos (LSD, $p \leq 0.05$). EAS: Extracto de alga *Sargassum* spp.; PC: Producto comercial; T0: Control absoluto; CV: Coeficiente de variación; Chl a: Clorofila a; Chl b: Clorofila b; Chl T: Clorofila total; Caro: Carotenoides; PS: Peso seco.

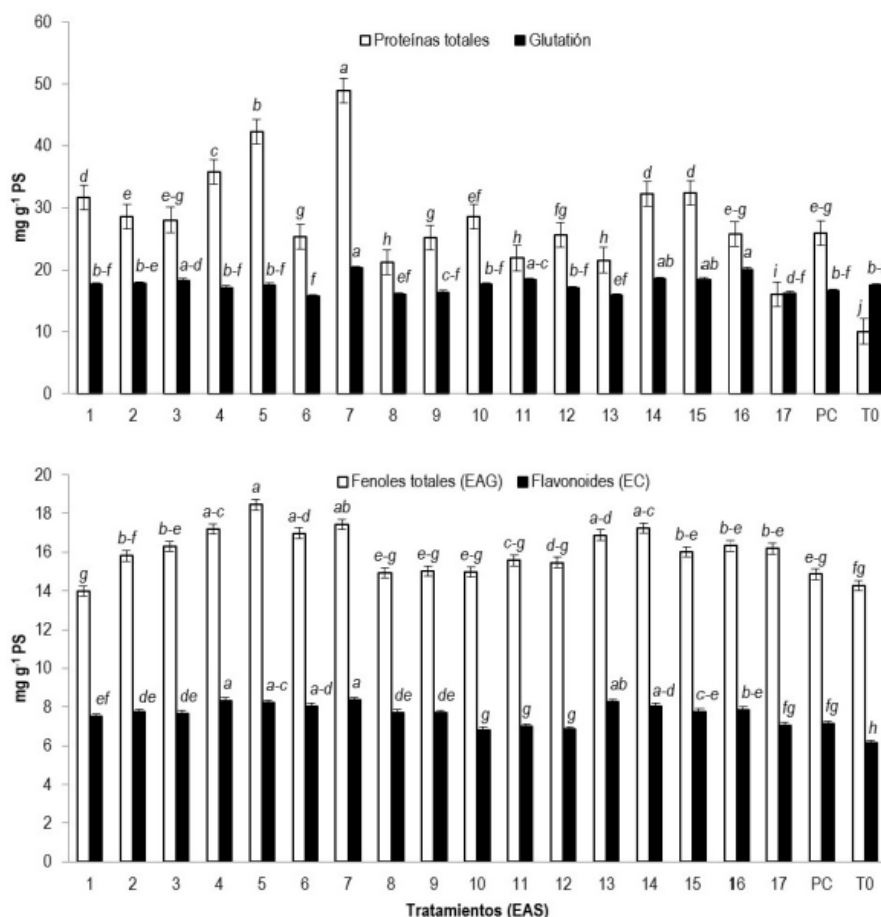


Figura 1. Proteínas y compuestos antioxidantes en hojas de plántulas de tomate tratadas con aplicaciones foliares de EAS. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (LSD, $p \leq 0.05$). PS: Peso seco; PC: Producto comercial; T0: Control absoluto; EAG: Equivalentes de ácido gálico; EC: Equivalentes de catequina; EAS: Extracto de alga *Sargassum spp.* Los intervalos de las barras representan el error estándar.

nos indica que entre más severa fue la condición de extracción (160 °C/ 30 min/ 50% etanol), la obtención de metabolitos fue mayor. En este sentido al elevar la temperatura del solvente (agua: etanol) la extracción es mayor, ya que, se facilita la lisis celular, provocando una mayor liberación de compuestos bioactivos, y el mantener dichas condiciones por lapsos más prolongados aumenta el rendimiento de la extracción (Heffernan *et al.* 2016, Casagrande *et al.* 2018). Es por eso que la mayor concentración de proteínas, aminoácidos y glutatión lo presentó el tratamiento EAS7, el cual, presenta las condiciones

más elevadas de extracción (Tabla 1). Estos resultados son similares a los reportados por Ferreira *et al.* (2019) quienes muestran que en *Fucus vesiculosus* a temperaturas y tiempos más elevados (120 °C y 4 h, respectivamente) de extracción se obtienen las mejores concentraciones de compuestos bioactivos. De la misma manera Fu *et al.* (2016) muestran un aumento en la capacidad antioxidante de extractos de diferentes algas en la medida que aumenta el tiempo de extracción.

Hay estudios que indican que a mayores temperaturas y tiempos de extracción es posible obtener

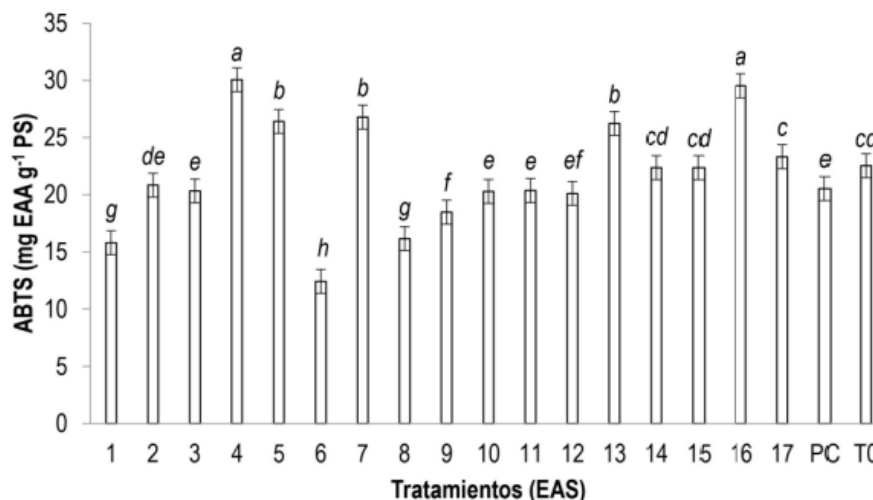


Figura 2. Capacidad antioxidante hidrofílica en hojas de plántulas de tomate tratadas con aplicaciones foliares de EAS. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (LSD $p \leq 0.05$). ABTS: 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid); EAA: Equivalentes de ácido ascórbico; PS: Peso seco; PC: Producto comercial; T0: Control absoluto; EAS: Extracto de alga *Sargassum spp.* Los intervalos de las barras representan el error estándar.

mayores concentraciones de compuestos, pero a su vez, las mismas condiciones pueden ocasionar la degradación de los mismos (Ferreira *et al.* 2019). Lo cual, aparentemente no sucedió con los compuestos que se determinaron en este estudio, posiblemente porque se necesitan condiciones más severas para su degradación, ya que, los enlaces que presentan estos compuestos (proteínas, aminoácidos y glutatión) son covalentes, los cuales, son los más fuertes y difíciles de romper (Lin *et al.* 2020).

Parámetros de crecimiento de las plántulas

La obtención de plántulas de calidad depende de su genética, fisiología y un ambiente favorable para el desarrollo de raíz y vástago (Giménez *et al.* 2008). En la actualidad la producción y propagación de plántulas está afectada por diferentes estrés ambientales que deterioran su calidad, lo que, las hace propensas a infecciones por patógenos (Ruan *et al.* 2009), lo que lleva a buscar alternativas. Los resultados obtenidos, posiblemente son atribuidos a la mayor concentración de metabolitos nitrogenados en el EAS7 (proteínas, aminoácidos y glutatión), los cuales, al ser fuentes de N y precursores hormonales modifican positivamente el metabolismo,

lo que mejora el crecimiento y la acumulación de biomasa en los cultivos (Hernández *et al.* 2009, Hernández-Herrera *et al.* 2014, Teixeira *et al.* 2017).

La producción de plántulas sanas y vigorosas favorecen su arraigo y buen desarrollo en campo (Preciado-Rangel *et al.* 2002). Los resultados son consistentes con los reportados por Kumari *et al.* (2011) quienes demostraron que la aplicación foliar, en drench y combinada de extractos de *Sargassum johnstonii* mejoró la altura, longitud de los brotes, número de hojas y la longitud de la raíz en plantas de tomate a dosis de 10%. Lo que se atribuye a la presencia de auxinas, citoquininas y nutrientes esenciales en los extractos utilizados. Sobre lo mismo Kalaivanan y Venkatesalu (2012) evaluaron el efecto de la aplicación de extractos de *Sargassum myriocystum* como estimulante en plántulas de frijol, reportando que dosis bajas (10%) incrementan la altura, longitud de la raíz, peso fresco y seco de las plántulas; mientras que dosis altas, mayores de 10%, mostraron tendencias decrecientes. Mientras que Vijayanand *et al.* (2014) al evaluar aspersiones foliares de extractos de *Sargassum wightii* en el cultivo de frijol indican que tratamientos a dosis de 1.5%, al igual que este experimento mejoraron los parámetros de

crecimiento del cultivo en comparación con el control.

Pigmentos fotosintéticos

La capacidad fotosintética de las hojas está relacionada con el contenido de N, principalmente porque las proteínas de los tilacoides y las que actúan en el ciclo de Calvin representan la mayoría del N foliar (Latsague et al. 2014, Sánchez et al. 2018), lo cual, está relacionado con la concentración de metabolitos nitrogenados en los EAS, motivo por el cual, se cree que todos los EAS incluido el producto comercial incrementaron la concentración de pigmentos en comparación al control absoluto.

También hay estudios que demuestran que los extractos de algas pardas contienen betainas, compuesto que cumple diversas funciones en las plantas, como osmoprotector ante el déficit hídrico, sin embargo, su rol principal está en el incremento de la actividad fotosintética, ya que, evita la degradación de los pigmentos (Blunden et al. 1996, Estaji et al. 2019). Como lo mencionan Zermeño-González et al. (2015) quienes demuestran que la adición foliar y drench de extractos de *Sargassum* spp. a dosis de 1 L ha⁻¹ en vid aumentó significativamente la concentración de clorofilas en las hojas. Mientras que Vijayanand et al. (2014) también indican que aspersiones foliares de extractos de *Sargassum wightii* a dosis de 1.5% incrementan la concentración de pigmentos fotosintéticos en hojas de frijol.

Proteínas y estado antioxidante de las plántulas

Un antioxidante es cualquier molécula que retrasa, previene o elimina el daño oxidativo a otras moléculas, con la eliminación o neutralización de especies reactivas de oxígeno, nitrógeno y azufre producidas durante el estrés, las cuales, son causantes de dicho daño oxidativo, induciendo así tolerancia en las plantas (Olson et al. 2017, Kapoor et al. 2019, Chib et al. 2020). Los resultados de esta investigación posiblemente son producto de la mayor concentración de metabolitos en el EAS7 (Tabla 1), los cuales, actúan como bioestimulantes, como los compuestos nitrogenados presentes (proteínas, aminoácidos y glutatión). Al respecto, varios estudios demuestran que este tipo de metabolitos tienen la ca-

pacidad de activar el sistema de defensa de las plantas, al inducir mayor síntesis de compuestos antioxidantes, como lo indican Kollist et al. (2019) y Shukla et al. (2019) quienes reportan que las membranas celulares cuentan con una serie de sensores, los cuales, tienen la función de unirse al metabolito y eventualmente desencadenar una serie de señalizaciones celulares que resultan en la activación del sistema de defensa, por lo cual, se incrementa la síntesis y actividad de compuestos antioxidantes, como los enzimáticos (superóxido dismutasa, catalasa, ascorbato peroxidasa y glutatión peroxidasa) y no enzimáticos (fenoles, carotenoides, glutatión y vitaminas) (He et al. 2018, Shukla et al. 2019). Los antioxidantes enzimáticos se consideran la primera línea de defensa, la cual dificulta la producción de radicales libres que conduce al estrés oxidativo, en cambio los antioxidantes no enzimáticos participan en la segunda línea de defensa, que se encarga de inhibir la producción de daños causados por la reacción oxidativa (Haida y Hakimán 2019).

Existen estudios que indican que los EAS pueden incrementar la síntesis de compuestos antioxidantes, como lo muestran Vijayanand et al. (2014) quienes afirman que la aplicación foliar de extractos de *Sargassum wightii* a dosis de 1.5% aumentan la concentración de azúcares reductores y ácido ascórbico en las hojas de frijol. Mientras que Kumari et al. (2011) al evaluar la aplicación foliar, drench y combinada de extractos de *Sargassum johnstonii* sobre el contenido de compuestos bioactivos en frutos y hojas de tomate, reportan que todas las formas de aplicación mejoraron la síntesis de proteínas, azúcares, fenoles, ácido ascórbico y licopeno a dosis de 10%. Mientras que Vasantharaja et al. (2019) demostraron que la adición foliar de extractos *Sargassum swartzii* al 3% incrementó la concentración de proteínas, fenoles totales, flavonoides y capacidad antioxidante DPPH en frijol. De forma similar Kasim et al. (2015) informaron que el pretratamiento de semillas de trigo con extractos de *Sargassum latifolium* al 1.5% mejoró el mecanismo de defensa (enzimático y no enzimático) de las plántulas al ser estresadas por sequía.

Es importante mencionar que los EAS tam-

bién son ricos en carotenoides, vitaminas, fenoles, hormonas, azúcares y minerales, los cuales, posiblemente también influyeron en todos los resultados y no solo los nitrogenados. Aunado a esto se puede observar que existen respuestas muy diferentes en cada una de las variables estudiadas de acuerdo al tratamiento aplicado, lo cual, depende del tipo de material, sistema de producción, condiciones ambientales y la concentración de los EAS. Cada uno de estos factores afecta de manera diferente el desarrollo y síntesis de metabolitos en las plantas. El material vegetal y el sistema de producción son de importancia, ya que, de esta manera se pueden controlar ciertos factores ambientales que son causantes de estrés (Holzkämper 2017, Khaki et al. 2019). La concentración de los EAS es algo que siempre se tiene que tomar en cuenta, y lo más recomendable de acuerdo a diferentes investigaciones es aplicar este tipo de bioestimulantes a dosis bajas (Kauffman et al. 2007).

CONCLUSIONES

Los resultados indican que los EAS modificaron de forma positiva los parámetros de crecimiento y de compuestos antioxidantes

en las plántulas de tomate. El EAS7 fue el que mejores resultados presentó al aumentar el crecimiento, biomasa y la concentración de compuestos antioxidantes. En cuanto a los pigmentos fotosintéticos el EAS12 fue el que mejores resultados ocasionó. Lo que indica que los EAS son una opción viable para producir plántulas más vigorosas y con un mejor sistema de defensa, lo cual, mejora la adaptación de las plántulas después del trasplante. En cuanto a la caracterización de los EAS, el EAS7 (160 °C/ 30 min/ 50% de etanol) fue el que presentó la mayor concentración de metabolitos nitrogenados, esto posiblemente a que las condiciones de extracción fueron las más severas, por lo cual, se cree que provocó los mejores efectos en las plántulas. Se recomienda el uso del EAS7, en estos sistemas de producción.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue realizado gracias al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT). Número de CVU 818215. Doctorado en Ciencias en Agricultura Protegida, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, México.

LITERATURA CITADA

- Abbas M, Anwar J, Zafar-UI-Hye M, Khan RI, Saleem M, Rahi AA, Danish S, Datta R (2020) Effect of seaweed extract on productivity and quality attributes of four onion cultivars. *Horticulturae* 6: 28. DOI: 10.3390/horticulturae6020028.
- Bai Y, Sunarti S, Kissoudis C, Visser RG, Van Der Linden CG (2018) The role of tomato WRKY genes in plant responses to combined abiotic and biotic stresses. *Frontiers in Plant Science* 9: 801. DOI: 10.3389/fpls.2018.00801.
- Blunden G, Jenkins T, Liu YW (1996) Enhanced leaf chlorophyll levels in plants treated with seaweed extract. *Journal of Applied Phycology* 8: 535-543.
- Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Brown EM, Allsopp PJ, Magee PJ, Gill CI, Nitecki S, Strain CR, McSorley EM (2014) Seaweed and human health. *Nutrition Reviews* 72: 205-216
- Casagrande M, Zanela J, Júnior AW, Busso C, Wouk J, Iurkevicius G, Montanher PF, Yamashita F, Malfatti CRM (2018) Influence of time, temperature and solvent on the extraction of bioactive compounds of *Baccharis*

- dracunculifolia*: *In vitro* antioxidant activity, antimicrobial potential, and phenolic compound quantification. *Industrial Crops and products* 125: 207-219.
- Chib A, Gupta N, Bhat A, Anjum N, Yadav G (2020) Role of antioxidants in food. *International Journal Chemical Studies* 8: 2354-2361.
- du Jardin P (2015) Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae* 196: 3-14.
- Ertani A, Francioso O, Tinti A, Schiavon M, Pizzeghello D, Nardi S (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: 10.3389/fpls.2018.00428.
- Estaji A, Kalaji HM, Karimi HR, Roosta HR, Moosavi-Nezhad SM (2019) How glycine betaine induces tolerance of cucumber plants to salinity stress. *Photosynthetica* 57: 753-761.
- Ferreira RM, Ramalho-Ribeiro A, Patinha C, Silva A, Cardoso SM, Costa R (2019) Water extraction kinetics of bioactive compounds of *Fucus vesiculosus*. *Molecules* 24: 3408. DOI: 10.3390/molecules24183408.
- Fu CWF, Ho CW, Yong WTL, Abas F, Tan TB, Tan CP (2016) Extraction of phenolic antioxidants from four selected seaweeds obtained from Sabah. *International Food Research Journal* 23: 2363-2369.
- Giménez G, Andriolo JL, Janisch D, Godoi R (2008) Closed soilless growing system for producing strawberry bare root transplants and runner tips. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 43: 1757-1761.
- González-García Y, López-Vargas ER, Cadenas-Pliego G, Benavides-Mendoza A, González-Morales S, Robledo-Olivo A, Alpuche-Solís AG, Juárez-Maldonado A (2019) Impact of carbon nanomaterials on the antioxidant system of tomato seedlings. *International Journal of Molecular Sciences* 20: 5858. DOI: 10.3390/ijms20235858.
- Haida Z, Hakimian M (2019) A comprehensive review on the determination of enzymatic assay and nonenzymatic antioxidant activities. *Food Science & Nutrition* 7: 1555-1563.
- He Y, Zhou J, Shan L, Meng X (2018) Plant cell surface receptor-mediated signaling—a common theme amid diversity. *Journal of Cell Science* 131: 1-11.
- Heffernan N, Smyth TJ, FitzGerald RJ, Vila-Soler A, Mendiola J, Ibáñez E, Brunton NP (2016) Comparison of extraction methods for selected carotenoids from macroalgae and the assessment of their seasonal/spatial variation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 37: 221-228.
- Hernández MI, Salgado JM, Chailloux M, Moreno V, Mojena M (2009) Relaciones nitrógeno-potasio en fertirriego para el cultivo protegido del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) y su efecto en la acumulación de biomasa y extracción de nutrientes. *Cultivos Tropicales* 30: 71-78.
- Hernández-Herrera RM, Santacruz-Ruvalcaba F, Ruiz-López MA, Norrie J, Hernández-Carmona G (2014) Effect of liquid seaweed extracts on growth of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum* L.). *Journal of Applied Phycology* 26: 619-628.
- Holzschläger A (2017) Adapting agricultural production systems to climate change—what's the use of models? *Agriculture* 7: 86. DOI: 10.3390/agriculture7100086.
- Jayaraman J, Norrie J, Punja ZK (2011) Commercial extract from the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* reduces fungal diseases in greenhouse cucumber. *Journal of Applied Phycology* 23: 353-361.

- Kalaivanan C, Venkatesalu V (2012) Utilization of seaweed *Sargassum myriocystum* extracts as a stimulant of seedlings of *Vigna mungo* (L.) Hepper. *Spanish Journal of Agricultural Research* 10: 466-470.
- Kapoor D, Singh S, Kumar V, Romero R, Prasad R, Singh J (2019) Antioxidant enzymes regulation in plants in reference to reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS). *Plant Gene* 19: 100182. DOI: 10.1016/j.plgene.2019.100182.
- Kasim WA, Hamada EA, El-Din NGS, Eskander S (2015) Influence of seaweed extracts on the growth, some metabolic activities and yield of wheat grown under drought stress. *International Journal of Agronomy and Agricultural Research* 7: 173-189.
- Kauffman GL, Kneivel DP, Watschke TL (2007) Effects of a biostimulant on the heat tolerance associated with photosynthetic capacity, membrane thermostability, and polyphenol production of perennial ryegrass. *Crop Science* 47: 261-267.
- Khaki S, Khalilzadeh Z, Wang L (2019) Classification of crop tolerance to heat and drought-a deep convolutional neural networks approach. *Agronomy* 9: 833. DOI: 10.3390/agronomy9120833.
- Kollist H, Zandalinas SI, Sengupta S, Nuhkat M, Kangasjärvi J, Mittler R (2019) Rapid responses to abiotic stress: Priming the landscape for the signal transduction network. *Trends in Plant Science* 24: 25-37.
- Kumari R, Kaur I, Bhatnagar AK (2011) Effect of aqueous extract of *Sargassum johnstonii* Setchell & Gardner on growth, yield and quality of *Lycopersicon esculentum* Mill. *Journal of Applied Phycology* 23: 623-633.
- Latsague M, Sáez P, Mora M (2014) Efecto de la fertilización con nitrógeno, fósforo y potasio, sobre el contenido foliar de carbohidratos, proteínas y pigmentos fotosintéticos en plantas de *Berberidopsis corallina* Hookf. *Gayana Botánica* 71: 37-42.
- Lin X, Wang J, Ding B, Ma X, Tian H (2020) Tunable-Emission Amorphous Room-Temperature Phosphorescent Polymers Based on Thermoreversible Dynamic Covalent Bonds. *Angewandte Chemie* 133: 3501-3505.
- Michalak I, Chojnacka K (2014) Algal extracts: Technology and advances. *Engineering in Life Sciences* 14: 581-591.
- Michalak I, Chojnacka K (2015) Algae as production systems of bioactive compounds. *Engineering in Life Sciences* 15: 160-176.
- N'Yeurt ADR, Lese V (2015) The proliferating brown alga *Sargassum polycystum* in Tuvalu, South Pacific: assessment of the bloom and applications to local agriculture and sustainable energy. *Journal of Applied Phycology* 27: 2037-2045.
- Olson KR, Gao Y, DeLeon ER, Arif M, Arif F, Arora N, Straub KD (2017) Catalase as a sulfide-sulfur oxidoreductase: an ancient (and modern?) regulator of reactive sulfur species (RSS). *Redox Biology* 12: 325-339.
- Perez CMT, Pajares IG, Alcantara VA, Simbahan JF (2018) Bacterial laminarinase for application in ethanol production from brown algae *Sargassum* sp. using halotolerant yeast. *Biofuel Research Journal* 5: 792-797.
- Preciado-Rangel P, Baca-Castillo GA, Tirado-Torres JL, Kohashi-Shibata J, Tijerina-Chávez L, Martínez-Garza A (2002) Nitrógeno y potasio en la producción de plántulas de melón. *Terra Latinoamericana* 20: 267-276.
- Ramya SS, Nagaraj S, Vijayanand N (2011) Influence of Seaweed Liquid Extracts on Growth, Biochemical and Yield Characteristics of *Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub. *Journal of Phytology* 3: 37-41.

- Ramya SS, Vijayanand N, Rathinavel S (2015) Foliar application of liquid biofertilizer of brown alga *Stoechospermum marginatum* on growth, biochemical and yield of *Solanum melongena*. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture* 4: 167-173.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* 26: 1231-1237.
- Ruan J, Yoon C, Yeoung Y, Larson KD, Ponce L (2009) Efficacy of highland production of strawberry transplants. *African Journal of Biotechnology* 8: 1497-1501.
- Salehi B, Sharifi-Rad R, Sharopov F, Namiesnik J, Roointan A, Kamle M (2019) Beneficial effects and potential risks of tomato consumption for human health: An overview. *Nutrition* 62: 201-208.
- Sánchez E, Ruiz JM, Romero L, Preciado-Rangel P, Flores-Córdova MA, Márquez-Quiroz C (2018) ¿Son los pigmentos fotosintéticos buenos indicadores de la relación del nitrógeno, fósforo y potasio en frijol ejotero? *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 5: 387-398.
- Shukla PS, Martin EG, Adil M, Bajpai S, Critchley AT, Prithiviraj B (2019) *Ascophyllum nodosum*-based bio-stimulants: Sustainable applications in agriculture for the stimulation of plant growth, stress tolerance, and disease management. *Frontiers in Plant Science* 10: 655. DOI: 10.3389/fpls.2019.00655.
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM (1999) Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* 299: 152-178.
- Steiner AA (1961) A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant and Soil* 15: 134-154.
- Teixeira WF, Fagan EB, Soares LH, Umburanas RC, Reichardt K, Neto DD (2017) Foliar and seed application of amino acids affects the antioxidant metabolism of the soybean crop. *Frontiers in Plant Science* 8: 327. DOI: 10.3389/fpls.2017.00327.
- Trejo-Valencia R, Sánchez-Acosta L, Fortis-Hernández M, Preciado-Rangel P, Gallegos-Robles MÁ, Antonio-Cruz RDC, Vázquez-Vázquez C (2018) Effect of Seaweed Aqueous Extracts and Compost on Vegetative Growth, Yield, and Nutraceutical Quality of Cucumber (*Cucumis sativus* L.) Fruit. *Agronomy* 8: 264. DOI: 10.3390/agronomy8110264.
- Vasantharaja R, Abraham LS, Inbakandan D, Thirugnanasambandam R, Senthilvelan T, Jabeen SA, Prakash P (2019) Influence of seaweed extracts on growth, phytochemical contents and antioxidant capacity of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 17: 589-594.
- Vijayanand N, Ramya SS, Rathinavel S (2014) Potential of liquid extracts of *Sargassum wightii* on growth, biochemical and yield parameters of cluster bean plant. *Asian Pacific Journal of Reproduction* 3: 150-155.
- Wellburn AR (1994) The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of Plant Physiology* 144: 307-313.
- Xue T, Hartikainen H, Piironen V (2001) Antioxidative and growth-promoting effect of selenium on senescing lettuce. *Plant and Soil* 237: 55-61.
- Yemm EW, Cocking EC (1955) The determination of amino-acids with ninhydrin. *Analyst* 80: 209-214.
- Zermeño-González A, López-Rodríguez BR, Melendres-Alvarez AI, Ramírez-Rodríguez H, Cárdenas-Palomo JO, Munguía-López JP (2015) Extracto de alga marina y su relación con fotosíntesis y rendimiento de una plantación de vid. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 6: 2437-2446.

Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W (1999) The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry* 64: 555-559.

SEGUNDO ARTÍCULO

**Proceso de extracción hidro-etanólica de biomoléculas bioestimulantes de
Sargassum spp. pelágico y su efecto en plántulas de tomate**

Proceso de extracción hidro-etanólica de biomoléculas bioestimulantes de *Sargassum* spp. pelágico y su efecto en plántulas de tomate

Oscar Sariñana-Aldaco¹, Julia Medrano-Macías², Susana González-Morales³, Adalberto Benavides-Mendoza², Armando Robledo-Olivo⁴ and Rosa María Rodríguez-Jasso^{5,*}

¹Doctorado en Ciencias en Agricultura Protegida, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila 25315, México; oscarsarinana390@gmail.com (O.S.-A.)

²Departamento de Horticultura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro; jmedmac@gmail.com (J.M.-M.); abenmen@gmail.com (A.B.-M.)

³Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología-Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro; sgonzalezmo@conacyt.mx (S.G.-M.)

⁴Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro; armando.robledo@outlook.com (A.R.-O.)

⁵Grupo de Biorrefinería, Departamento de Investigación en Alimentos, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila, Saltillo, Coahuila 25280, México

*Correspondencia: rrodriguezjasso@uadec.edu.mx (R.M.R.-J.); Tel.: +52-844-4492803

Resumen: Los extractos de algas contienen biomoléculas que se han utilizado en la agricultura para mejorar el crecimiento, rendimiento y calidad de los cultivos. Utilizando *Sargassum* spp. y aplicando un diseño central compuesto, mediante un reactor batch se evaluaron diferentes condiciones de temperatura (120, 140 y 160 °C), tiempo de extracción (0, 15 y 30 min) y porcentaje de etanol (0, 25 y 50%), y se encontraron las condiciones óptimas de extracción para glutatión reducido: 153.28 °C durante 23.95 min con 14.92% de etanol con un rendimiento de extracción aproximado de 3.31 mg g⁻¹ de peso seco. En el experimento solo se muestran los valores de optimización de esta biomolécula para experimentos posteriores junto con una predicción matemática del contenido de diferentes biomoléculas. También se presenta una caracterización bioquímica de los extractos producidos mediante las diferentes condiciones. Los extractos producidos fueron probados como bioestimulantes en plántulas de tomate para ver su efecto en el crecimiento y acumulación de biomasa. El contenido de biomoléculas nitrogenadas (proteínas, aminoácidos y glutatión reducido), de fenilpropanoides (fenoles

totales y flavonoides), de fitohormonas (ácido indol-3-acético y trans-zeatina), de monosacáridos (glucosa, galactosa, manitol y fucosa) y la capacidad antioxidante se determinó para cada condición experimental. Cada variable estudiada presentó diferencias significativas, siendo la condición de 160 °C durante 30 min y 50% de etanol la que mostró la mayor concentración de biomoléculas. Respecto a la aplicación de los extractos, el producido a 160 °C con 30 min y 50% de etanol fue el que mejoró los parámetros de crecimiento y biomasa de las plántulas de tomate. Estos resultados evidencian que los extractos hidro-etanólicos de *Sargassum* spp. son adecuados para su uso como bioestimulantes agrícolas.

Palabras clave: optimización; extracto de algas; reactor batch; glutatión reducido; bioestimulación vegetal; metabolitos primarios y secundarios

1. Introducción

La producción de cultivos agrícolas constantemente es amenazada por diferentes tipos de estrés, los cuales, son responsables de la baja calidad y cantidad de los productos (Francini *et al.*, 2019; Tiwari *et al.*, 2020). Sin embargo, debido al impacto negativo del estrés se han desarrollado estrategias basadas en recursos biológicos, incluidos los bioestimulantes de origen botánico y de algas, los cuales, han demostrado ser eficaces en la mejora del rendimiento y calidad de los cultivos (Carrillo *et al.*, 2020).

Los extractos de algas han sido utilizados en el sector agrícola como bioestimulantes vegetales (Shukla *et al.*, 2019). El potencial de estos extractos se le atribuye al alto contenido de minerales, carbohidratos, aminoácidos, proteínas, compuestos fenólicos, vitaminas y carotenoides (Nabti *et al.*, 2017; Ryabushko *et al.*, 2017). Además, existen estudios que reportan la presencia de fitohormonas (auxinas, citoquininas y giberelinas) (Benítez-García *et al.*, 2020). Estas fitohormonas funcionan como mensajeros químicos y regulan diversos procesos fisiológicos y bioquímicos en las plantas (Depuydt *et al.*, 2011; Sharma *et al.*, 2019). En general, las biomoléculas presentes en los extractos tienen la capacidad de enriquecer el suelo, mejorando así la actividad microbiana del mismo (Chatterjee *et al.*, 2017). Además, cumplen en las plantas con una función protectora por su alto poder antioxidante, lo cual, proporciona

tolerancia al estrés biótico y abiótico (Jayaraman *et al.*, 2011; Di Stasio *et al.*, 2018). Aunado a esto, la función de cada uno de los compuestos también se relaciona con actividades promotoras del crecimiento y desarrollo vegetal (Ali *et al.*, 2021).

Las algas pardas son las más utilizadas en la agricultura, por su mayor contenido de biomoléculas de interés y por la concentración considerable de elementos esenciales para las plantas (Carrillo *et al.*, 2020). Existen investigaciones que demuestran que las algas pardas contienen cantidades de nitrógeno (N) y potasio (K) similares a las de fertilizantes orgánicos (Trejo-Valencia *et al.*, 2018). Dentro de las algas pardas más utilizadas destacan los géneros *Ascophyllum*, *Fucus* y *Ecklonia*, sin embargo, en los últimos años, las algas del género *Sargassum* han invadido las costas del Caribe, lo que ha causado problemas ambientales, turísticos y de salud pública (Trejo-Valencia *et al.*, 2018; Chávez *et al.*, 2020; González-Morales *et al.*, 2021). Ante esta situación se desarrollaron estrategias para mitigar el problema, y una de ellas es su uso en la agricultura. Dicho uso es en forma de compostas, en fresco y extractos, siendo este último el más estudiado (Bula-Meyer, 2004; Craigie, 2011; Cole *et al.*, 2016).

Existen estudios que informan que los extractos de algas *Sargassum* spp. (EAS) inducen mejoras en los procesos fisiológicos y bioquímicos de las plantas, como en la germinación, el desarrollo de raíces, la mejor absorción de nutrientes y la tolerancia al estrés biótico y abiótico, lo cual, se relaciona con aumentos en el rendimiento y calidad de los cultivos (Hernández-Herrera *et al.*, 2014; Fatimah *et al.*, 2019; Shukla *et al.*, 2019).

Existen diversos procedimientos para la extracción de biomoléculas de algas marinas; dichas extracciones se realizan utilizando diferentes técnicas como las hidrotérmicas, microondas, ultrasonido, fluidos supercríticos y enzimáticas (Machmudah *et al.*, 2018; Shukla *et al.*, 2019). De acuerdo a la técnica de extracción se pueden utilizar solventes polares o apolares, lo cual, va en función de las biomoléculas de interés (Shukla *et al.*, 2019; Chávez García *et al.*, 2020).

Los extractos hidro-etanólicos son considerados como los más eficaces en la extracción de compuestos bioactivos con fines agrícolas, ya que, el etanol es uno de los solventes más nobles y usado a bajas concentraciones no causa efectos negativos en las plantas, por lo que, este tipo de extracciones son las que más se utilizan para obtención

de biomoléculas con fines bioestimulantes en la agricultura (Imbs *et al.*, 2011; Sariñana-Aldaco *et al.*, 2021). Al usar agua y etanol para las extracciones en cualquier tejido vegetal se extraen en su mayoría compuestos hidrofílicos como: proteínas, aminoácidos, compuestos fenólicos, carbohidratos y algunas fitohormonas (Medrano Macías *et al.*, 2021).

El tomate es el cultivo hortícola más producido y estudiado en el mundo, esto porque contiene un alto valor nutricional debido a los altos niveles de minerales, vitaminas, proteínas y carotenoides que contribuyen en beneficios para la salud humana (González-García *et al.*, 2019; Salehi *et al.*, 2019). Sin embargo, es amenazado por diferentes tensiones ambientales que reducen su rendimiento y calidad (González-García *et al.*, 2019). Ante esta situación es imprescindible buscar alternativas para mitigar ciertas tensiones. Para obtener éxito en la producción de cultivos es de mucha importancia la producción de plántulas de calidad, ya que, este es un factor limitante (Preciado Rangel *et al.*, 2002). El producir plántulas de calidad ya garantiza hasta cierto punto un buen desarrollo del cultivo, de lo contrario, las plántulas de mala calidad serán más propensas al ataque de patógenos y a las condiciones climáticas adversas, lo que traerá bajos rendimientos y de baja calidad (Preciado Rangel *et al.*, 2002; Qin *et al.*, 2020).

Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue evaluar y optimizar las condiciones de extracción hidro-etanólicas mediante un reactor batch para obtener biomoléculas bioestimulantes a partir de *Sargassum* spp. y estudiar su efecto en plántulas de tomate. Se utilizó un diseño experimental central compuesto (DCC) para verificar la influencia de la temperatura, tiempo de extracción y porcentaje de etanol en la extracción de glutatión reducido (GSH), y se estableció la condición que incrementa su concentración.

2. Materiales y Métodos

2.1. Recolección de Sargassum spp.

El alga *Sargassum* spp. fue recolectada en el mar Caribe mexicano. Las muestras se transportaron al laboratorio, posteriormente se lavaron con agua de grifo para eliminar la sal y luego se dejaron secar a temperatura ambiente hasta mantener una humedad

menor al 20%. Posteriormente el alga se molió con una licuadora casera hasta obtener un tamaño de partícula menor a 0.5 mm. El material molido se guardó en bolsas de plástico a temperatura ambiente para su uso en los procedimientos de extracción.

2.2. Optimización de la extracción de biomoléculas bioestimulantes

La extracción se llevó a cabo en un reactor batch en la planta piloto del laboratorio de Biorrefinería de la Universidad Autónoma de Coahuila (Saltillo, México), donde se utilizó una relación 1:20 (1 g de alga y 20 mL de agua: etanol) (Ramya *et al.*, 2015). A los extractos producidos de acuerdo con las diferentes condiciones de extracción se les cuantificaron diferentes biomoléculas con poder bioestimulante y se eligió una para optimizar su extracción. La Tabla 1 muestra las variables independientes de temperatura, tiempo y concentración de etanol sobre el rendimiento de extracción de GSH. La elección de la biomolécula fue con base en un análisis de varianza (ANOVA), condiciones óptimas de extracción de cada biomolécula (maneja solo los rangos de cada factor) y con los efectos prometedores que puede tener en los cultivos agrícolas (Tabla 2). Para la optimización de la extracción de la variable de respuesta elegida (GSH) mediante un DCC con un nivel de confianza del 95% se consideraron tres factores (temperatura (X_1 °C), tiempo de extracción (X_2 , min) y concentración de etanol (X_3 , %), tres niveles por factor y tres replicas en el punto central y se aplicó la metodología de superficie de respuesta. Los factores bajos y altos se codificaron como -1 y +1; el punto central se codificó como 0.

Los datos fueron analizados por el software estadístico STATISTICA 7® para obtener la condición óptima (CO) al diseño estadístico, lo cual, se realizó con cinco replicas. Los resultados se analizaron mediante un ANOVA, y las respuestas y variables (en unidades codificadas) se correlacionaron mediante análisis de superficie de respuesta para obtener los coeficientes de la ecuación 1 para el DCC.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{1,2} X_1 X_2 + \beta_{1,3} X_1 X_3 + \beta_{2,3} X_2 X_3 + \beta_{1,1} X_1^2 + \beta_{2,2} X_2^2 + \beta_{3,3} X_3^2 \quad (1)$$

Donde Y es la respuesta evaluada; β_0 es la constante; β_1 a $\beta_{3,3}$ son los coeficientes asociados a los efectos lineales, cuadráticos y de interacción, respectivamente, de las

variables X_1 , X_2 y X_3 , respectivamente. Los modelos estudian el efecto de cada variable independiente y todas las interacciones entre ellas sobre respuestas particulares (GSH).

Tabla 1. Condiciones experimentales utilizadas para la extracción de GSH de biomasa de *Sargassum* spp. según el DCC con tres factores, temperatura (X_1 , °C), tiempo (X_2 , min) y concentración de etanol (X_3 ,%) y resultados obtenidos para la respuesta al rendimiento de extracción de GSH.

EAS	X_1		X_2		X_3		GSH (mg g ⁻¹ PS)
1	120	(-1)	0	(-1)	0	(-1)	1.78 ± 0.01 i
2	120	(-1)	0	(-1)	50	(1)	1.61 ± 0.05 i
3	120	(-1)	30	(1)	50	(1)	2.37 ± 0.07 h
4	120	(-1)	30	(1)	0	(-1)	2.87 ± 0.08 de
5	160	(1)	0	(-1)	0	(-1)	3.09 ± 0.07 b-d
6	160	(1)	0	(-1)	50	(1)	2.59 ± 0.16 f-h
7	160	(1)	30	(1)	50	(1)	3.29 ± 0.02 ab
8	160	(1)	30	(1)	0	(-1)	3.22 ± 0.43 a-c
9	140	(0)	15	(0)	25	(0)	3.12 ± 0.08 a-d
10	140	(0)	15	(0)	25	(0)	3.14 ± 0.19 a-d
11	140	(0)	15	(0)	25	(0)	3.30 ± 0.07 a
12	120	(-1)	15	(0)	25	(0)	2.76 ± 0.04 e-g
13	160	(1)	15	(0)	25	(0)	2.75 ± 0.35 e-g
14	140	(0)	0	(-1)	25	(0)	2.53 ± 0.35 gh
15	140	(0)	30	(1)	25	(0)	3.01 ± 0.45 c-e
16	140	(0)	15	(0)	0	(-1)	2.93 ± 0.05 de
17	140	(0)	15	(0)	50	(1)	2.82 ± 0.07 ef

Letras diferentes dentro de cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos (LSD, $p \leq 0.05$). EAS: Extracto de alga *Sargassum* spp.; GSH: glutatión; PS: Peso seco; n = 5 ± Desviación estándar (DE).

Tabla 2. ANOVA realizado para la obtención de p -valor de las diferentes biomoléculas extraídas a partir de biomasa de *Sargassum* spp. con el DCC y tres factores, temperatura (X_1 , °C), tiempo (X_2 , min) y concentración de etanol (X_3 , %).

Fuente	GSH	PT	AA	FT	FL	CAET	AIA	tZ	GLU	GAL	MAN	FUC
X_1	0.007*	0.011*	0.001*	0.0005*	0.12	0.33	0.32	0.025*	0.0009*	0.01*	0.0001*	0.000007*
X_1^2	0.303	0.758	0.496	0.0621	0.60	0.23	0.40	0.239	0.1783	0.67	0.0406*	0.003577*
X_2	0.012*	0.042*	0.005*	0.0005*	0.02*	0.59	0.55	0.024*	0.0122*	0.01*	0.0010*	0.000057*
X_2^2	0.336	0.589	0.747	0.5458	0.89	0.57	0.23	0.132	0.7222	0.63	0.5005	0.722886
X_3	0.266	0.014*	0.957	0.0056*	0.66	0.07	0.73	0.113	0.4809	0.03*	0.0323*	0.997259
X_3^2	0.656	0.023*	0.097	0.0086*	0.16	0.89	0.14	0.963	0.3759	0.43	0.1805	0.398378
$X_1 X_2$	0.302	0.497	0.567	0.6149	0.64	0.32	0.85	0.007*	0.0035*	0.02*	0.0042*	0.000111*
$X_1 X_3$	0.736	0.013*	0.327	0.0613	0.02*	0.34	0.85	0.863	0.1427	0.06	0.0643	0.735186
$X_2 X_3$	0.745	0.016*	0.177	0.1464	0.43	0.22	0.13	0.492	0.9146	0.11	0.1080	0.916650
R^2	0.835	0.905	0.886	0.9529	0.78	0.62	0.55	0.863	0.9030	0.87	0.9460	0.9768
R^2_{aj}	0.623	0.784	0.739	0.8924	0.50	0.13	0.00	0.687	0.7784	0.71	0.8767	0.94698

El valor de $*p \leq 0.05$ indica que los términos del modelo son significativos. GSH: Glutatión reducido; PT: Proteínas totales; AA: Aminoácidos; FT: Fenoles totales; FL: Flavonoides; CAET: Capacidad antioxidante en equivalentes trolox; AIA: Ácido indol-3-acético; tZ: Trans-zeatina; GLU: Glucosa; GAL: Galactosa; MAN: Manitol; FUC: Fucosa.

2.3. Caracterización bioquímica del alga seca y los EAS

El contenido de humedad, cenizas, fibra y proteína cruda del alga se determinó siguiendo los métodos oficiales de la AOAC (1990).

2.3.1. Determinación de GSH

El GSH se le determinó al alga seca (materia prima) y a los EAS producidos siguiendo la metodología de Xue *et al.* (2001) mediante la reacción del ácido 5,5 ditiobis-2 nitro benzoico (DTNB). Los compuestos fueron extraídos colocando 100 mg del alga pulverizada con N líquido en tubos de 2 mL y agregando 2 mL de buffer de fosfatos 0.1 M (pH 7-7.2), se mezcló con vórtex durante 20 s, se sonicó por 10 min y se centrifugó a 12,500 rpm a 4 °C por 10 min, finalmente se recolectó el sobrenadante para realizar el análisis. En tubos de ensayo se agregaron 0.48 mL del sobrenadante, 2.2 mL de Na₂HPO₄ a 0.32 M y 0.32 mL del colorante DTNB a 1 mM. Finalmente se mezcló y se dejó reposar por 15 min y se realizó la lectura en un espectrofotómetro Uv-Vis (Genesis 10s Uv-Vis, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) a 412 nm. La cuantificación de GSH de los EAS fue agregando 0.48 mL de los EAS en lugar del sobrenadante y a partir de ahí se siguió con la metodología descrita. Los datos fueron reportados en miligramos por gramo de peso seco (mg g⁻¹ PS).

2.3.2. Proteínas totales de los EAS

La cuantificación de proteínas totales de los EAS se realizó mediante la técnica espectrofotométrica de Bradford (1976). En tubos de ensayo se agregaron 0.1 mL del EAS y 1 mL del reactivo Bradford para después dejar en reposo 5 min y leer en espectrofotómetro Uv-Vis a 595 nm. Los resultados fueron reportados en miligramos por gramo de peso seco (mg g⁻¹ PS).

2.3.3. Aminoácidos

Los aminoácidos se determinaron según la metodología descrita por Yemm y Cocking (1955). Los compuestos fueron extraídos colocando 100 mg de alga pulverizada con N líquido en tubos de 2 mL y agregando 2 mL de buffer de citratos a 0.09 M (pH 5). Se mezcló con vórtex durante 20 s, posteriormente se sonicó por 10 min

y se centrifugó a 10,000 rpm a 4 °C por 10 min para obtener el sobrenadante y cuantificar. Para la cuantificación en tubos de ensayo se agregaron 0.250 mL del sobrenadante, 2.25 mL de buffer de citratos y 0.5 mL de ninhidrina al 0.35%, posteriormente se agitaron y se colocaron en baño María en un rango de temperatura de 80 a 100 °C durante 20 min. Terminada la reacción, las muestras se colocaron en un baño de hielo y se procedió a la lectura en un espectrofotómetro Uv-Vis a 570 nm. La cuantificación de aminoácidos de los EAS fue agregando 0.250 mL de los EAS en lugar del sobrenadante y a partir de ahí se siguió la metodología descrita. Los resultados fueron reportados en miligramos por gramo de peso seco (mg g^{-1} PS).

2.3.4. Fenoles totales

Los fenoles se determinaron según la metodología de Singleton *et al.* (1999). La muestra se extrajo colocando 100 mg de alga pulverizada con N líquido en tubos de 2 mL y se agregaron 2 mL de solución de extracción (agua: acetona 1:1 v/v). La mezcla se agitó mediante un vórtex durante 20 s, para después llevar a sonicación por 10 min. Finalmente, las muestras se centrifugaron a 12,000 rpm durante 10 min a 4 °C para obtener el sobrenadante y proceder a cuantificar. La cuantificación se realizó en tubos de ensayo al agregar 50 μL del sobrenadante, 200 μL del reactivo Folin Ciocalteu al 100%, 500 μL de Na_2CO_3 al 20% y 5 mL de agua destilada. La mezcla se dejó reposar por 30 min a 45 °C. Posteriormente la mezcla se leyó a una longitud de onda de 750 nm en un espectrofotómetro Uv-Vis. La cuantificación de fenoles totales de los EAS fue agregando 50 μL de EAS en lugar del sobrenadante y a partir de ahí se siguió con la metodología establecida. Los resultados de fenoles se expresan en miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de peso seco (mg EAG g^{-1} PS).

2.3.5. Flavonoides

Los flavonoides se cuantificaron siguiendo el método de Zhishen *et al.* (1999). Los compuestos fueron extraídos colocando 100 mg de alga pulverizada con N líquido en tubos de 2 mL y agregando 2 mL de metanol al 80%. La mezcla se agitó con vórtex durante 20 s, posteriormente se sonicó por 10 min y centrifugó a 4,000 rpm durante 10 min a 4 °C para obtener el sobrenadante y cuantificar. La cuantificación se llevó a cabo

agregando 250 μL del sobrenadante en tubos de ensayo, seguido de la adición de 75 μL de NaNO_2 al 5% y se agitó mediante un vórtex. Después de 5 min se agregaron 150 μL de AlCl_3 al 10%, luego, se agregó un volumen de 500 μL de NaOH 1 M, más un volumen final de 2.025 mL de agua destilada. La absorbancia fue medida inmediatamente a 510 nm en un espectrofotómetro Uv-Vis. La cuantificación de flavonoides de los EAS fue agregando 250 μL de los EAS en lugar del sobrenadante y se siguió con la metodología descrita. Los flavonoides se expresan en miligramos equivalentes de catequina por gramo de peso seco (mg EqC g^{-1} PS).

2.3.6. Capacidad antioxidante DPPH

La capacidad antioxidante se determinó siguiendo el método establecido por Brand-Williams *et al.* (1995) con algunas modificaciones. Para la extracción se colocaron 100 mg de alga pulverizada con N líquido en tubos de 2 mL y agregando 2 mL de metanol al 100%. La mezcla fue agitada mediante un vórtex durante 20 s, luego se sonicaron por 10 min y se centrifugaron a 12,500 rpm a 4 °C por 10 min, finalmente se recolectó el sobrenadante para el análisis. La prueba se llevó a cabo agregando 0.5 mL de DPPH 0.1 mM y 0.5 mL del sobrenadante. Finalmente se mezcló y se dejó reposar por 15 min y se realizó la lectura en un espectrofotómetro Uv-Vis a 530 nm. La determinación de la capacidad antioxidante de los EAS fue agregando 0.5 mL de los EAS en lugar del sobrenadante y a partir de ahí se siguió con lo descrito anteriormente. La capacidad antioxidante se expresa en miligramos equivalentes de trolox por gramo de peso seco (mg ET g^{-1} PS).

2.3.7. Ácido indol-3-acético (AIA)

Se determinó siguiendo la metodología cromatográfica de Bosco *et al.* (2013) con algunas modificaciones. Para la extracción se pesaron 100 mg de alga pulverizada con N líquido en tubos de 2 mL y se agregaron 2 mL de la solución de extracción (etanol al 70%). La mezcla se sometió al vórtex por 20 s y a sonicación por 10 min. Después las muestras fueron centrifugadas a 12,000 rpm durante 10 min a 4 °C. El sobrenadante obtenido fue filtrado con membranas de 0.45 μm de diámetro de poro y transferido a viales para su inyección en el cromatógrafo. La cuantificación se realizó mediante el uso

de un cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC VARIAN 920LC) con detector de fluorescencia, utilizando como fases móviles agua, acetonitrilo y ácido fórmico al 94.9, 5 y 0.1% respectivamente (Fase A) y acetonitrilo, agua y ácido fórmico al 94.9, 5 y 0.1% respectivamente (Fase B). Se utilizó una columna C18 (AQUASIL C18, 150 mm x 3.9 mm, 5 μm), con proporciones de fase 50:50 (v/v) y un flujo isocrático de 0.8 mL min^{-1} . El volumen de inyección fue de 50 μL . La detección fluorométrica fue a 281 y 340 nm para la longitud de onda de excitación y de emisión, respectivamente. El tiempo de retención fue de 5.69 min. La cuantificación de AIA de los EAS fue filtrándolos y pasándolos a los viales para su inyección en el cromatógrafo. Los resultados se expresan en miligramos por kilogramo de peso seco (mg kg^{-1} PS).

2.3.8. Trans-zeatina (tZ)

Se determinó siguiendo el método cromatográfico establecido por Rivas-Martínez *et al.* (2016) con ligeras modificaciones. Para la extracción de tZ se pesaron 100 mg de alga pulverizada con N líquido en tubos de 2 mL y se añadieron 2 mL de la solución de extracción (metanol al 20% diluido en ácido fórmico al 0.1%). La mezcla se sometió al vórtex por 20 s y a sonicación por 10 min. Después las muestras fueron centrifugadas a 12,000 rpm durante 10 min a 4 °C. El sobrenadante obtenido fue filtrado con membranas de 0.45 μm de diámetro de poro y transferido a viales para su inyección en el cromatógrafo. La cuantificación se realizó mediante el uso de un cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC VARIAN 920LC) con detector Uv, utilizando como fases móviles ácido acético al 100 mM (Fase A) y acetonitrilo al 100% (Fase B). Se utilizó una columna C18 (AQUASIL C18, 250 mm x 4.6 mm, 5 μm), con proporciones de fase de 80:20 (v/v) (Fase A: B) y un flujo isocrático de 0.4 mL min^{-1} . El volumen de inyección fue de 50 μL . La detección de la molécula se realizó a 268 nm. El tiempo de retención fue de 4.84 min. La cuantificación de tZ de los EAS fue filtrándolos y pasándolos a los viales para inyectarlos en el cromatógrafo. Los resultados se expresan en microgramos por gramo de peso seco ($\mu\text{g g}^{-1}$ PS).

2.3.9. Perfil de monosacáridos

Para la cuantificación de monosacáridos de los EAS se determinó glucosa, galactosa, manitol y fucosa, mediante la metodología descrita por Rodríguez-Jasso *et al.* (2011) con algunas modificaciones. Para esto los EAS se filtraron en membranas de 0.45 μm de diámetro de poro. La cuantificación se realizó con el uso de un cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC VARIAN 920LC) con detector de índice de refracción, utilizando como fase móvil agua desionizada. Se utilizó una columna Metacarb 87H (300 x 7.8 mm) a una temperatura de 80 °C y con un flujo de 0.4 mL min⁻¹. Los tiempos de retención fueron de 8, 8.5, 8.9 y 9.7 min para glucosa, galactosa, manitol y fucosa, respectivamente. Los resultados se expresan en miligramos por 100 gramos de peso seco (mg 100 g⁻¹ PS).

2.3.10. pH y conductividad eléctrica (CE) de los EAS

El pH se determinó con un medidor de mesa LAQUA pH1100 y la CE con un medidor portátil Hanna HI98301.

2.4. Prueba de los EAS en las plántulas de tomate

Semillas de tomate híbrido el CID F1 (Harris Moran Seed Company, Modesto, CA, USA; tipo saladette y crecimiento indeterminado) fueron sembradas en charolas de poliestireno con una mezcla de sustrato de perlita y peat moss (1:1 v/v). El experimento se llevó a cabo en un invernadero cubierto de polietileno en el Departamento de Horticultura de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (Saltillo, México). La producción de las plántulas fue durante 30 días hasta que desarrollaron cuatro hojas verdaderas. Consecuentemente se trasladaron en contenedores de unicel de 0.5 L con la misma relación de sustrato utilizada para la siembra. El riego fue manual, dando un riego al día a capacidad de campo. La nutrición de las plántulas se realizó utilizando la solución nutritiva Steiner (1961) al 25%. Las dosis aplicadas de los EAS fueron del 1.5% (Ramya *et al.*, 2011, 2015; Kasim *et al.*, 2015). La aplicación de los EAS fue foliar cada 10 días a partir del trasplante, acumulando cuatro aplicaciones durante la prueba, la cual, tuvo una duración de 30 días. Las aplicaciones se realizaron entre las 08:00 y las 10:00 h con un aspersor manual.

El diseño experimental fue completamente al azar con 19 tratamientos, los cuales fueron: 17 EAS y dos controles (un producto comercial de *Ascophyllum nodosum* al 0.13% de acuerdo con las especificaciones de uso y agua destilada como control absoluto). Cada tratamiento tuvo cinco réplicas (cinco plantas), dando un total de 95 unidades experimentales. Se midió la altura, diámetro de tallo, número de hojas y biomasa fresca de las plántulas de tomate. A las 24 h después de la última aplicación se evaluaron las variables antes mencionadas.

2.5. Análisis estadístico

Se realizaron análisis estadísticos para calcular la tendencia y desviación promedio para comparar el contenido de GSH de los extractos de *Sargassum* spp. y optimizar las condiciones de extracción mediante un ANOVA de factor único y la prueba de la diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher ($p \leq 0.05$). Se ejecutaron en el software STATISTICA 7® (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA).

Para el análisis estadístico de la prueba en plántulas de tomate se realizó un ANOVA y prueba de medias LSD de Fisher ($p \leq 0.05$). Los procedimientos estadísticos se realizaron utilizando el software Infostat (v2020) (Córdoba, Argentina).

3. Resultados

3.1. Evaluación de la composición química y capacidad antioxidante del alga seca

Los resultados de la caracterización química de *Sargassum* spp. se muestran en la Tabla 3 y 4. Los valores obtenidos pueden resultar muy variados o similares comparados con otras investigaciones, lo cual dependerá de los factores ambientales en los que se desarrolla el alga.

Tabla 3. Fibra cruda, cenizas y contenido de humedad en *Sargassum* spp.

Alga	Fibra cruda (%)	Cenizas (%)	Humedad (%)
<i>Sargassum</i> spp.	15.88 ± 0.27	14.12 ± 0.16	9.80 ± 0.04
CV (%)	1.69	1.14	0.44

CV: Coeficiente de variación; n = 5 ± DE.

Tabla 4. Composición bioquímica proximal de *Sargassum* spp.

Alga	PT (%)	AA (mg g ⁻¹ PS)	GSH (mg g ⁻¹ PS)	FT (mg EAG g ⁻¹ PS)	FL (mg EqC g ⁻¹ PS)	CAET (DPPH) (mg g ⁻¹ PS)	AIA (mg kg ⁻¹ PS)	tZ (μg g ⁻¹ PS)
<i>Sargassum</i> spp.	5.18 ±	0.52 ± 0.01	8.29 ± 0.09	41.33 ± 3.25	15.41 ± 0.61	79.30 ± 3.91	5.36 ±	239.79 ± 1.14
CV (%)	0.51	1.60	1.05	7.86	3.98	4.93	0.45	0.47
	9.76						8.37	

PT: Proteínas totales; AA: Aminoácidos; GSH: Glutati6n reducido; FT: Fenoles totales; EAG: Equivalentes de 6cido g6lico; FL: Flavonoides; EqC: Equivalentes de catequina; CAET: Capacidad antioxidante en equivalentes trolox; DPPH: 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl; AIA: 6cido indol-3-ac6tico; tZ: Trans-zeatina; PS: Peso seco; CV: Coeficiente de variaci6n; n = 3 excepto AA, GSH y FT (n = 5) ± DE.

3.2. Extracci6n hidro-etan6lica de GSH de *Sargassum* spp. mediante reactor batch

Como ya fue mencionado en este estudio la extracci6n fue mediante un reactor batch, controlando la temperatura, tiempo de extracci6n y porcentaje de etanol. Con base en esto se pretendi6 elegir la condici6n 6ptima de extracci6n para GSH y evaluarla en experimentos posteriores.

En el caso del GSH no se han reportado extracciones a partir de biomasa de *Sargassum* spp. En la Tabla 1 se muestran los valores obtenidos del contenido de GSH. Los resultados mostraron que las temperaturas m6s elevadas y tiempos m6s prolongados fueron m6s efectivos en la extracci6n de GSH, en comparaci6n con el % de etanol.

3.3. An6lisis estadístico y optimizaci6n de GSH con DCC

En la Tabla 1 se muestran los datos experimentales de los tratamientos realizados en el diseño experimental. Los datos indican que la temperatura y tiempo son las variable independiente con mayor impacto en la extracci6n de GSH. A temperaturas y tiempos altos se logro la optimizaci6n para obtener la m6xima extracci6n de GSH. A temperaturas y tiempos bajos se redujo notablemente la concentraci6n. El etanol no tuvo efecto significativo en el modelo, pero fue evidente que conforme se fue incrementando su concentraci6n el rendimiento de extracci6n de GSH disminuy6.

En el polinomio de segundo orden de la ecuaci6n 2 se traz6 una superficie de respuesta tridimensional para obtener la condici6n 6ptima de extracci6n de GSH a partir de biomasa de *Sargassum* spp. (Figura 1).

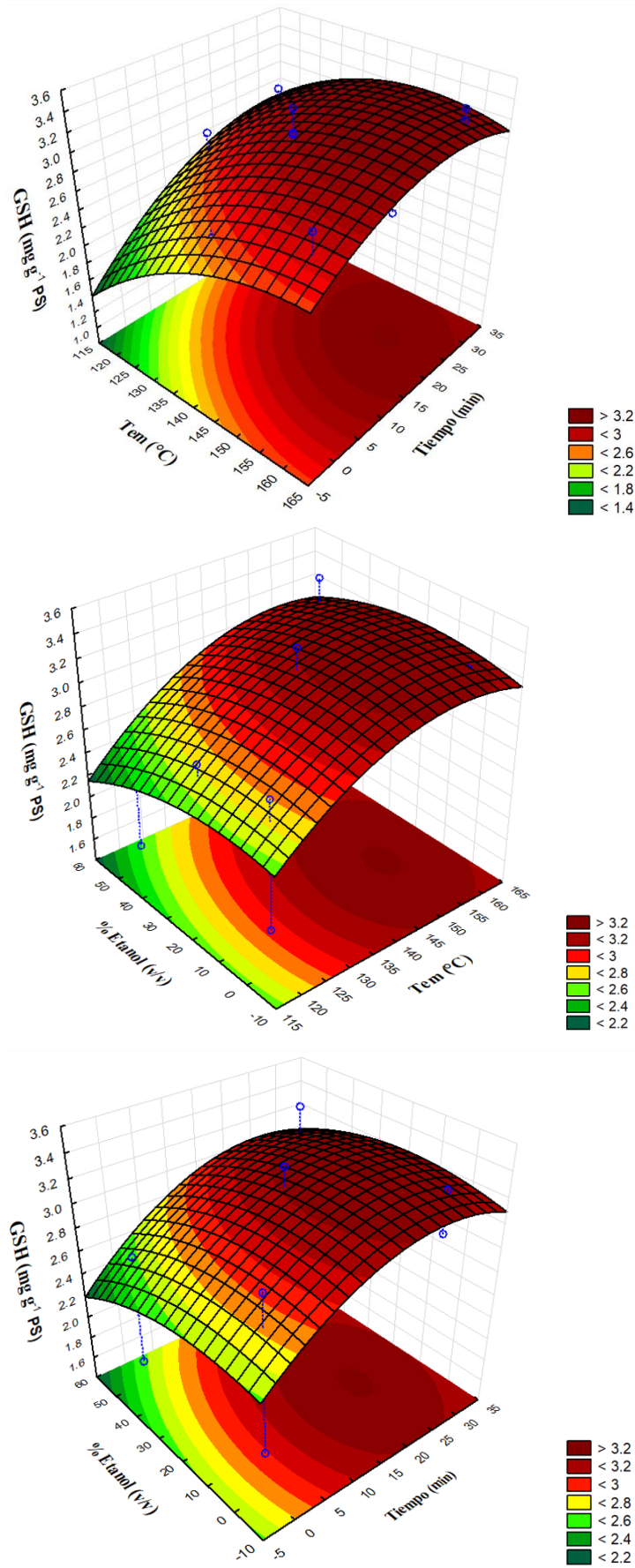


Figura 1. Superficie de respuesta de la optimización de GSH con DCC en función la temperatura (X_1), tiempo (X_2) y % de etanol (X_3). GSH: Glutatión reducido; PS: Peso seco.

El modelo polinómico de segundo orden de optimización del rendimiento de extracción de GSH en función de los factores estudiados, temperatura (X_1), tiempo (X_2) y etanol (%) se expresa en la siguiente ecuación 2:

$$\text{GSH} = -10.559899110282 + 0.1662013774203 * X - 0.00051473812570968 * X^2 + 0.1002283258403 * Y - 0.00085024266694183 * Y^2 - 0.0003975423538721 * X * Y + 0.000075173567447626 * 14.92 * X + 0.000096425166683868 * 14.92 * Y - 0.175716 \quad (2)$$

Donde X representa la temperatura óptima, Y es el tiempo óptimo y 14.92 representa el % de etanol óptimo en la extracción de GSH y se tomó como factor de bloqueo en el modelo matemático.

El rendimiento de extracción de GSH se estimó en 3.31 mg g^{-1} PS en condiciones óptimas (temperatura: $153.28 \text{ }^\circ\text{C}$, tiempo: 23.95 min y etanol: 14.92%). Con esta validación optimizada se pretenden realizar extracciones posteriores y evaluar su efecto en diferentes cultivos hortícolas. Con base en las condiciones óptimas de extracción del GSH se realizó una predicción matemática que nos indica la concentración aproximada de las demás biomoléculas estudiadas de los extractos (Tabla 5). La predicción se realizó sustituyendo los datos de los factores de cada una de las biomoléculas por los de GSH en el modelo matemático (Tabla 6).

Tabla 5. Predicción matemática de la concentración de biomoléculas de los extractos tomando como base la temperatura ($153.28 \text{ }^\circ\text{C}$), tiempo (23.95 min) y etanol (14.92%) de extracción de GSH.

Biomolécula	Concentración
Proteínas totales	2.34 mg g^{-1} PS
Aminoácidos	0.37 mg g^{-1} PS
Fenoles totales	$8.85 \text{ mg EAG g}^{-1}$ PS
Flavonoides	$2.20 \text{ mg EqC g}^{-1}$ PS
CAET DPPH	$23.44 \text{ mg ET g}^{-1}$ PS
Ácido indol-3-acético	0.28 mg kg^{-1} PS
Trans-zeatina	$69.84 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ PS
Glucosa	$74.30 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ PS
Galactosa	$102.53 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ PS
Manitol	$40.42 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ PS
Fucosa	$168.11 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ PS

CAET: Capacidad antioxidante en equivalentes trolox; DPPH: 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl; EAG: Equivalentes de ácido gálico; EqC: Equivalentes de catequina; PS: Peso seco.

Tabla 6. Modelos matemáticos de las biomoléculas predichas sustituyendo los datos de sus factores (Temperatura, tiempo y % de etanol) por los de GSH.

Biomolécula	Modelo matemático
Proteínas totales	$Z = -1293979851332 + 0.040370892018806 * X - 0.00013644366197193 * X^2 + 0.039573291601459 * Y - 0.00042775169535728 * Y^2 - 0.0002349537037037 * X * Y + 0.0006520833333333 * 14.92 * X + 0.00082685185185 * 14.92 * Y - 0.96511858$
Aminoácidos	$Z = -0.7020203265046 + 0.012151904609477 * X - 0.000037307938540339 * X^2 - 0.0008238794148523 * Y - 0.000030971688718164 * Y^2 + 0.000024053030303029 * X * Y + 0.0000253409090909 * 14.92 * X + 0.0000480303030303 * 14.92 * Y - 0.0307914$
Fenoles totales	$Z = -37.573440140852 + 0.59182165492968 * X - 0.001978961267606 * X^2 + 0.13229460093897 * Y - 0.0010070422535209 * Y^2 - 0.0003625000000004 * X * Y + 0.0009200000000002 * 14.92 * X + 0.0009 * 14.92 * Y - 1.4780687$
Flavonoides	$Z = -3.0427634324483 + 0.076299034950468 * X - 0.00031181533646331 * X^2 - 0.018295774647888 * Y + 0.00013701964875679 * Y^2 + 0.0002145061728395 * X * Y + 0.00073240740741 * 14.92 * X + 0.00029259259259 * 14.92 * Y - 1.3290863$
CAET DPPH	$Z = -495.21646507145 + 7.3996162607766 * X - 0.025643259220882 * X^2 + 1.0675281171982 * Y + 0.020552451834757 * Y^2 - 0.015966722408027 * X * Y + 0.009207993311037 * 14.92 * X + 0.015997725752508 * 14.92 * Y - 18.575501$
Ácido indol-3-acético	$Z = -5.169241851821 + 0.07712981613084 * X - 0.00026380356607736 * X^2 + 0.021400661653134 * Y - 0.00068963029556374 * Y^2 - 0.000043123100303958 * X * Y + 0.000025848530901726 * 14.92 * X + 0.00031548463356974 * 14.92 * Y - 0.30067565$
Trans-zeatina	$Z = 1176.9256197953 - 16.026501862373 * X + 0.054763328685414 * X^2 - 19.915627100985 * Y + 0.12914631124453 * Y^2 + 0.12319797658694 * X * Y + 0.0035195277020885 * 14.92 * X + 0.019073569482289 * 14.92 * Y - 1.4205691$
Glucosa	$Z = 827.40765015306 - 11.520867828363 * X + 0.039939497082136 * X^2 - 10.724075304111 * Y - 0.01756457657728 * Y^2 + 0.088848250359532 * X * Y + 0.020408116065695 * 14.92 * X + 0.0018321514799921 * 14.92 * Y - 32.128943$
Galactosa	$Z = 255.0638644949 - 4.4351870849473 * X + 0.019733575794512 * X^2 - 12.065171530907 * Y + 0.039095354022982 * Y^2 + 0.10152530810087 * X * Y - 0.044360236011603 * 14.92 * X - 0.050203938315075 * 14.92 * Y + 76.8761635$
Manitol	$Z = 364.5919797499 - 5.6813548530821 * X + 0.021968552591993 * X^2 - 2.7102197026029 * Y - 0.011071859006699 * Y^2 + 0.028166303739812 * X * Y - 0.0089050110542861 * 14.92 * X - 0.0099704997069948 * 14.92 * Y + 22.3165691$
Fucosa	$Z = 2212.880238307 - 32.491104205981 * X + 0.1188146424759 * X^2 - 19.291042268793 * Y - 0.01814630124971 * Y^2 + 0.16545554733449 * X * Y + 0.004505569220308 * 14.92 * X - 0.0018514919022447 * 14.92 * Y - 0.65666925$

Z representa a cada biomolécula estudiada; X hace referencia a la temperatura (153.28 °C), Y al tiempo (23.95 min) y 14.92 representa el % de etanol de GSH.

3.4. Contenido de proteínas y aminoácidos de los EAS

Los resultados indican que las diferentes condiciones de extracción causaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en la concentración de proteínas totales y aminoácidos de los EAS (Tabla 7). Se puede observar que el EAS con la mayor concentración de estos compuestos es el EAS7, el cual, muestra valores de 3.47 ± 0.08 y 0.43 ± 0.008 mg g⁻¹ PS para proteínas totales y aminoácidos, respectivamente. En cuanto al tratamiento que mostró las concentraciones más bajas, fue el denominado EAS2, el cual, presentó valores de 0.91 ± 0.01 y 0.18 ± 0.003 mg g⁻¹ PS para proteínas totales y aminoácidos, respectivamente.

Tabla 7. Resultados obtenidos para proteínas totales y aminoácidos de los EAS de acuerdo con las condiciones experimentales utilizadas según el DCC con tres factores, temperatura (X_1 , °C), tiempo (X_2 , min) y concentración de etanol (X_3 , %).

EAS	X_1		X_2		X_3		PT (mg g ⁻¹ PS)	AA (mg g ⁻¹ PS)
1	120	(-1)	0	(-1)	0	(-1)	1.30 ± 0.05 i	0.20 ± 0.003 j
2	120	(-1)	0	(-1)	50	(1)	0.91 ± 0.01 j	0.18 ± 0.003 k
3	120	(-1)	30	(1)	50	(1)	1.90 ± 0.03 f	0.22 ± 0.002 i
4	120	(-1)	30	(1)	0	(-1)	1.63 ± 0.03 h	0.27 ± 0.002 h
5	160	(1)	0	(-1)	0	(-1)	1.84 ± 0.03 fg	0.33 ± 0.002 e
6	160	(1)	0	(-1)	50	(1)	2.18 ± 0.04 e	0.26 ± 0.003 h
7	160	(1)	30	(1)	50	(1)	3.47 ± 0.08 a	0.43 ± 0.008 a
8	160	(1)	30	(1)	0	(-1)	1.31 ± 0.13 i	0.33 ± 0.01 e
9	140	(0)	15	(0)	25	(0)	2.37 ± 0.11 b-d	0.33 ± 0.004 e
10	140	(0)	15	(0)	25	(0)	2.49 ± 0.12 b	0.34 ± 0.001 cd
11	140	(0)	15	(0)	25	(0)	2.45 ± 0.02 bc	0.34 ± 0.002 d
12	120	(-1)	15	(0)	25	(0)	2.47 ± 0.17 bc	0.29 ± 0.002 g
13	160	(1)	15	(0)	25	(0)	2.39 ± 0.08 bc	0.35 ± 0.002 c
14	140	(0)	0	(-1)	25	(0)	2.34 ± 0.18 cd	0.26 ± 0.002 h
15	140	(0)	30	(1)	25	(0)	2.43 ± 0.06 bc	0.40 ± 0.003 b
16	140	(0)	15	(0)	0	(-1)	1.75 ± 0.03 gh	0.29 ± 0.003 g
17	140	(0)	15	(0)	50	(1)	2.23 ± 0.03 de	0.30 ± 0.01 f

Letras diferentes dentro de cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos (LSD, $p \leq 0.05$). EAS: Extracto de alga *Sargassum* spp.; PT: Proteínas totales; AA: Aminoácidos; PS: Peso seco; n = 3 para PT y 5 para AA ± DE.

3.5. Fenilpropanoides y capacidad antioxidante de los EAS

En cuanto a fenoles totales (Tabla 8), se registró mayor concentración en los EAS15, EAS10 y EAS7, los cuales, superaron al EAS2 en 2.7, 2.5 y 2.5 veces, respectivamente, el cual, presentó los valores más bajos. Con respecto a los flavonoides (Tabla 8) se aprecia que EAS7 fue el que mostró los valores más altos, superando al EAS2 en 2.4 veces, el cual, registró los valores más bajos. Para la capacidad antioxidante DPPH (Tabla 8) el EAS que mostró mayores resultados es el EAS7, el cual, superó 11 veces al EAS13 que presentó los valores más bajos.

Tabla 8. Resultados obtenidos para fenilpropanoides y capacidad antioxidante de los EAS de acuerdo con las condiciones experimentales utilizadas según el DCC con tres factores, temperatura (X_1 , °C), tiempo (X_2 , min) y concentración de etanol (X_3 , %).

EAS	X_1	X_2	X_3	FT (mg EAG g ⁻¹ PS)	FL (mg EqC g ⁻¹ PS)	CAET (DPPH) (mg g ⁻¹ PS)			
1	120	(-1)	0	(-1)	0	(-1)	4.47 ± 0.11 j	1.52 ± 0.03 f	17.08 ± 1.12 h
2	120	(-1)	0	(-1)	50	(1)	2.39 ± 0.40 k	0.83 ± 0.01 i	17.82 ± 1.29 h
3	120	(-1)	30	(1)	50	(1)	4.62 ± 0.56 j	1.33 ± 0.01 gh	34.56 ± 0.64 de
4	120	(-1)	30	(1)	0	(-1)	7.00 ± 0.33 e-g	2.17 ± 0.14 c	14.47 ± 2.32 h
5	160	(1)	0	(-1)	0	(-1)	6.88 ± 0.05 fg	1.30 ± 0.01 gh	36.79 ± 0.64 cd
6	160	(1)	0	(-1)	50	(1)	4.99 ± 0.18 j	1.49 ± 0.02 f	51.30 ± 1.70 a
7	160	(1)	30	(1)	50	(1)	8.43 ± 0.79 ab	2.83 ± 0.04 a	53.54 ± 1.70 a
8	160	(1)	30	(1)	0	(-1)	7.32 ± 0.02 d-f	1.62 ± 0.04 e	10.38 ± 1.12 i
9	140	(0)	15	(0)	25	(0)	7.49 ± 0.56 de	2.20 ± 0.02 c	42.00 ± 7.09 b
10	140	(0)	15	(0)	25	(0)	8.58 ± 0.70 ab	2.03 ± 0.01 d	39.40 ± 1.12 bc
11	140	(0)	15	(0)	25	(0)	8.36 ± 0.17 b	2.70 ± 0.05 b	37.17 ± 1.12 cd
12	120	(-1)	15	(0)	25	(0)	6.24 ± 0.44 hi	1.36 ± 0.01 g	30.47 ± 1.12 f
13	160	(1)	15	(0)	25	(0)	8.15 ± 0.64 bc	2.06 ± 0.03 d	4.43 ± 1.70 j
14	140	(0)	0	(-1)	25	(0)	6.54 ± 0.50 gh	1.53 ± 0.07 f	38.65 ± 2.32 bc
15	140	(0)	30	(1)	25	(0)	8.98 ± 0.50 a	2.20 ± 0.02 c	26.01 ± 1.12 g
16	140	(0)	15	(0)	0	(-1)	7.72 ± 0.03 cd	1.68 ± 0.04 e	24.89 ± 1.12 g
17	140	(0)	15	(0)	50	(1)	5.68 ± 0.80 i	1.27 ± 0.01 h	32.70 ± 1.12 ef

Letras diferentes dentro de cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos (LSD, $p \leq 0.05$). EAS: Extracto de alga *Sargassum* spp.; FT: Fenoles totales; EAG: Equivalentes de ácido gálico; FL: Flavonoides; EqC: Equivalentes de catequina; CAET: Capacidad antioxidante en equivalentes trolox; DPPH: 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl; PS: Peso seco; n = 3 para FL y CAET excepto para FT (n = 5) ± DE.

3.6. Ácido indol-3-acético y trans-zeatina en los EAS

Se cuantificaron AIA y tZ en los extractos (Tabla 9). La cuantificación de las fitohormonas de manera general muestra que AIA se presentó en todos los EAS producidos, mientras que para tZ en los EAS4, EAS5, EAS9, EAS10 y EAS11 no se detectó. Para AIA se registró una mayor concentración en los EAS10, EAS5 y EAS7, los cuales, superaron al EAS2 y EAS14, 11, 10 y 10 veces, respectivamente, los cuales, presentaron los valores más bajos. Para tZ se observó que el EAS7 fue el que presentó los valores más altos, superando 142 veces al EAS16, el cual, mostró los valores más bajos, dentro de los EAS que se detectó la fitohormona.

Tabla 9. Resultados obtenidos para fitohormonas de los EAS de acuerdo con las condiciones experimentales utilizadas según el DCC con tres factores, temperatura (X_1 , °C), tiempo (X_2 , min) y concentración de etanol (X_3 , %).

EAS	X_1	X_2	X_3				AIA (mg kg ⁻¹ PS)	tZ (µg g ⁻¹ PS)
1	120	(-1)	0	(-1)	0	(-1)	0.21 ± 0.05 c-e	36.20 ± 0.23 de
2	120	(-1)	0	(-1)	50	(1)	0.05 ± 0.01 e	32.03 ± 3.41 e
3	120	(-1)	30	(1)	50	(1)	0.21 ± 0.08 c-e	57.31 ± 2.27 cd
4	120	(-1)	30	(1)	0	(-1)	0.27 ± 0.31 b-e	ND
5	160	(1)	0	(-1)	0	(-1)	0.58 ± 0.41 a	ND
6	160	(1)	0	(-1)	50	(1)	0.09 ± 0.04 e	35.74 ± 3.41 e
7	160	(1)	30	(1)	50	(1)	0.57 ± 0.07 a	175.99 ± 7.49 a
8	160	(1)	30	(1)	0	(-1)	0.21 ± 0.01 c-e	144.51 ± 7.72 b
9	140	(0)	15	(0)	25	(0)	0.46 ± 0.10 a-c	ND
10	140	(0)	15	(0)	25	(0)	0.60 ± 0.20 a	ND
11	140	(0)	15	(0)	25	(0)	0.25 ± 0.04 b-e	ND
12	120	(-1)	15	(0)	25	(0)	0.15 ± 0.03 de	34.61 ± 15.89 e
13	160	(1)	15	(0)	25	(0)	0.10 ± 0.03 e	52.55 ± 46.09 c-e
14	140	(0)	0	(-1)	25	(0)	0.05 ± 0.05 e	61.40 ± 11.35 c
15	140	(0)	30	(1)	25	(0)	0.10 ± 0.13 de	40.06 ± 7.27 de
16	140	(0)	15	(0)	0	(-1)	0.35 ± 0.20 a-d	1.23 ± 0.23 f
17	140	(0)	15	(0)	50	(1)	0.50 ± 0.08 ab	40.51 ± 7.27 c-e

Letras diferentes dentro de cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos (LSD, $p \leq 0.05$). EAS: Extracto de alga *Sargassum* spp.; AIA: Ácido indol-3-acético; tZ: Trans-zeatina; PS: Peso seco; ND: No detectado; n = 3 ± DE.

3.7. Perfil de monosacáridos en los EAS

Se cuantificó el perfil de monosacáridos correspondientes a glucosa, galactosa, manitol y fucosa (Tabla 10). Se puede apreciar que, para glucosa en los EAS2, EAS3, EAS4, EAS5, EAS12, EAS14 y EAS16 no se detectó. Dentro de los EAS que se detectó glucosa se observa que el EAS7 fue el que mostró los valores más altos (107.87 mg 100 g⁻¹ PS), mientras que el EAS9 (37.96 mg 100 g⁻¹ PS) fue el que presentó las concentraciones más bajas. Para galactosa en el EAS8 se encontró la mayor concentración (244.53 mg 100 g⁻¹ PS) y la menor en el EAS2 (8.8 mg 100 g⁻¹ PS). Para manitol de la misma manera el EAS8 mostró las concentraciones más altas (63.91 mg 100 g⁻¹ PS) y el EAS2 presentó las menores (3.44 mg 100 g⁻¹ PS). Para fucosa el EAS7 y EAS8 mostraron los valores más altos, 258.37 y 261.07 mg 100 g⁻¹ PS, respectivamente, mientras que el EAS2 presentó los más bajos (13.85 mg 100 g⁻¹ PS). En general, los EAS7 y EAS8 presentaron las concentraciones más altas de estos monosacáridos,

mientras que el EAS2 presentó las concentraciones más bajas en todos los monosacáridos cuantificados.

Tabla 10. Resultados obtenidos para el perfil de monosacáridos de los EAS de acuerdo con las condiciones experimentales utilizadas según el DCC con tres factores, temperatura (X_1 , °C), tiempo (X_2 , min) y concentración de etanol (X_3 , %).

EAS	X_1		X_2		X_3		GLU	GAL	MAN	FUC
							(mg 100 g ⁻¹ PS)	(mg 100 g ⁻¹ PS)	(mg 100 g ⁻¹ PS)	(mg 100 g PS)
1	120	(-1)	0	(-1)	0	(-1)	39.57 ± 0.004 e	15.29 ± 0.009 jk	4.63 ± 0.003 l	22.79 ± 0.397 i
2	120	(-1)	0	(-1)	50	(1)	ND	8.8 ± 0.018 l	3.44 ± 0.040 m	13.85 ± 0.004 j
3	120	(-1)	30	(1)	50	(1)	ND	19.13 ± 0.007 ij	5.5 ± 0.0006 k	28.91 ± 0.004 h
4	120	(-1)	30	(1)	0	(-1)	ND	31.09 ± 0.004 ef	7.8 ± 0.001 j	32.66 ± 0.399 gh
5	160	(1)	0	(-1)	0	(-1)	ND	37.05 ± 0.471 d	13.09 ± 0.0001 h	44.69 ± 0.007 f
6	160	(1)	0	(-1)	50	(1)	38.07 ± 0.001 i	11.68 ± 0.004 kl	7.94 ± 0.0004 j	52.73 ± 0.004 de
7	160	(1)	30	(1)	50	(1)	107.87 ± 0.004 a	74.01 ± 0.490 b	29.96 ± 0.401 c	258.37 ± 9.824 a
8	160	(1)	30	(1)	0	(-1)	103.87 ± 0.020 b	244.53 ± 11.3 a	63.91 ± 0.003 a	261.07 ± 0.043 a
9	140	(0)	15	(0)	25	(0)	37.96 ± 0.015 j	27.74 ± 0.005 fg	14.88 ± 0.004 f	48.73 ± 0.039 ef
10	140	(0)	15	(0)	25	(0)	39.13 ± 0.004 f	28.69 ± 0.004 fg	15.19 ± 0.00008 e	53.18 ± 0.402 d
11	140	(0)	15	(0)	25	(0)	38.19 ± 0.004 h	26.27 ± 0.005 gh	14.91 ± 0.004 f	53.01 ± 0.007 de
12	120	(-1)	15	(0)	25	(0)	ND	22.98 ± 0.004 hi	5.64 ± 0.0003 k	30.49 ± 0.012 g
13	160	(1)	15	(0)	25	(0)	90.79 ± 0.016 c	30.84 ± 0.021 ef	46.05 ± 0.0003 b	186.13 ± 3.999 b
14	140	(0)	0	(-1)	25	(0)	ND	20.82 ± 0.003 i	4.73 ± 0.0004 l	34.02 ± 0.395 g
15	140	(0)	30	(1)	25	(0)	50.93 ± 0.020 d	34.80 ± 0.015 de	24.41 ± 0.0006 d	79.38 ± 0.395 c
16	140	(0)	15	(0)	0	(-1)	ND	48.49 ± 0.451 c	14.71 ± 0.0004 g	47.06 ± 0.004 f
17	140	(0)	15	(0)	50	(1)	38.64 ± 0.003 g	19.36 ± 0.194 ij	8.98 ± 0.0008 i	54.62 ± 0.004 d

Letras diferentes dentro de cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos (LSD, $p \leq 0.05$). EAS: Extractos de alga *Sargassum* spp.; GLU: Glucosa; GAL: Galactosa; MAN: Manitol; FUC: Fucosa; PS: Peso seco; ND: No detectado; n = 3 ± DE.

3.8. pH y CE de los EAS producidos

La mayoría de los EAS presentaron valores similares en cuanto a pH (Tabla 11), siendo el EAS1 el que presentó el valor más alto (8.23), en cuanto al valor más bajo (5.60) lo presentó el EAS7. Para la CE (Tabla 10) los valores estuvieron más dispersos, mostrando valores desde 0.28 y 4.56 dS m⁻¹ para el EAS2 y el EAS8, respectivamente. Estos parámetros son indicadores del nivel de extracción que existió a causa de las diferentes condiciones que se evaluaron.

Tabla 11. Resultados obtenidos para pH y CE de los EAS de acuerdo con las condiciones experimentales utilizadas según el DCC con tres factores, temperatura (X_1 , °C), tiempo (X_2 , min) y concentración de etanol (X_3 , %).

EAS	X_1		X_2		X_3		pH	CE
								(dS m ⁻¹)
1	120	(-1)	0	(-1)	0	(-1)	8.23 ± 0.06	1.43 ± 0.01
2	120	(-1)	0	(-1)	50	(1)	7.87 ± 0.06	0.28 ± 0.01
3	120	(-1)	30	(1)	50	(1)	7.60 ± 0.10	0.31 ± 0.01
4	120	(-1)	30	(1)	0	(-1)	8.00 ± 0.10	1.61 ± 0.01
5	160	(1)	0	(-1)	0	(-1)	7.80 ± 0.10	1.97 ± 0.01
6	160	(1)	0	(-1)	50	(1)	7.00 ± 0.10	0.33 ± 0.01
7	160	(1)	30	(1)	50	(1)	5.60 ± 0.10	0.83 ± 0.01

8	160	(1)	30	(1)	0	(-1)	6.10 ± 0.10	4.56 ± 0.01
9	140	(0)	15	(0)	25	(0)	6.90 ± 0.10	0.88 ± 0.01
10	140	(0)	15	(0)	25	(0)	7.00 ± 0.10	0.92 ± 0.01
11	140	(0)	15	(0)	25	(0)	6.90 ± 0.10	0.85 ± 0.01
12	120	(-1)	15	(0)	25	(0)	7.30 ± 0.10	0.69 ± 0.01
13	160	(1)	15	(0)	25	(0)	6.20 ± 0.10	1.56 ± 0.01
14	140	(0)	0	(-1)	25	(0)	7.80 ± 0.10	0.70 ± 0.01
15	140	(0)	30	(1)	25	(0)	7.00 ± 0.10	0.99 ± 0.01
16	140	(0)	15	(0)	0	(-1)	7.60 ± 0.10	2.07 ± 0.01
17	140	(0)	15	(0)	50	(1)	7.30 ± 0.10	0.36 ± 0.01

EAS: Extracto de alga *Sargassum* spp.; CE: Conductividad eléctrica; n = 3 ± DE.

3.9. Prueba de los EAS en las plántulas de tomate

Los resultados señalan que las aplicaciones foliares de los EAS en las plántulas de tomate causaron cambios significativos ($p \leq 0.05$) en los parámetros de crecimiento y biomasa fresca (Tabla 12). En cuanto a los parámetros de crecimiento y acumulación de biomasa fresca de las plántulas, se aprecia que el EAS7 que se produjo mediante 160 °C, durante 30 min y con 50% de etanol fue el que las incrementó significativamente. Para altura, diámetro de tallo y número de hojas de las plántulas las incrementó en un 8.69, 32.5 y 18.70% respectivamente, en comparación con el testigo absoluto. La biomasa fresca del vástago y raíz la aumentó en un 19.14 y 67.28% respectivamente, en comparación al testigo absoluto. En la Figura 2 se muestran imágenes del experimento con las plántulas de tomate.

Tabla 12. Parámetros de crecimiento y biomasa de las plántulas de tomate por efecto de la aplicación foliar de los EAS producidos de acuerdo con las condiciones experimentales utilizadas según el DCC con tres factores, temperatura (X_1 , °C), tiempo (X_2 , min) y concentración de etanol (X_3 , %).

EAS	Altura (cm)	Diámetro de tallo (mm)	Número de hojas	BFV (g)	BFR (g)
1	42.64 ± 1.98 c-f	6.71 ± 0.24 c-f	8.30 ± 0.44 b-d	53.57 ± 1.77 d	7.63 ± 0.68 b-e
2	43.02 ± 2.03 b-f	6.30 ± 0.20 fg	8.05 ± 0.83 cd	53.82 ± 4.59 d	6.23 ± 0.94 f-h
3	38.67 ± 1.78 g	7.18 ± 0.71 bc	8.75 ± 1.14 a-d	54.23 ± 1.06 d	9.70 ± 1.06 a
4	42.39 ± 1.57 d-f	7.07 ± 0.22 bc	9.45 ± 0.83 a	57.79 ± 1.53 b-d	7.77 ± 0.87 b-e
5	43.63 ± 1.65 a-f	6.39 ± 0.16 e-g	8.95 ± 1.14 a-c	53.32 ± 1.65 d	7.11 ± 0.96 e-g
6	43.70 ± 1.79 a-f	6.78 ± 0.32 c-e	8.55 ± 0.54 a-d	63.08 ± 5.09 ab	9.89 ± 1.21 a
7	45.38 ± 2.53 ab	7.95 ± 0.29 a	9.20 ± 0.70 ab	63.86 ± 3.35 a	9.97 ± 0.68 a
8	42.45 ± 1.09 c-f	7.12 ± 0.40 bc	9.05 ± 0.83 ab	58.42 ± 4.74 b-d	8.91 ± 0.30 ab
9	42.45 ± 2.22 ef	6.57 ± 0.19 d-f	8.75 ± 0.54 a-c	60.60 ± 3.13 a-c	9.31 ± 1.99 a-c
10	43.95 ± 1.04 a-e	6.56 ± 0.23 d-f	8.75 ± 0.54 a-c	56.11 ± 7.59 d	5.96 ± 0.54 gh
11	44.22 ± 2.84 a-f	6.48 ± 0.15 d-f	8.05 ± 0.83 cd	58.41 ± 5.78 b-d	8.99 ± 1.89 a-d
12	45.63 ± 1.26 a	6.69 ± 0.11 c-f	8.75 ± 1.14 a-d	54.96 ± 1.65 d	7.16 ± 0.42 e-g
13	45.5 ± 1.90 a	7.17 ± 0.52 bc	9.2 ± 0.70 ab	54.60 ± 3.90 d	10.47 ± 2.01 a
14	45.29 ± 2.05 ab	7.22 ± 0.14 b	9.05 ± 0.83 ab	56.17 ± 2.42 cd	7.88 ± 0.46 b-e
15	42.54 ± 0.59 b-f	6.91 ± 0.64 c-e	9.45 ± 0.83 a	58.43 ± 4.51 b-d	5.54 ± 0.58 h

16	45.17 ± 2.63 a-c	7.13 ± 0.37 bc	8.55 ± 0.54 a-d	53.88 ± 4.85 d	7.49 ± 1.39 d-g
17	44.79 ± 1.57 a-d	6.93 ± 0.31 b-d	8.65 ± 0.89 a-d	56.98 ± 5.45 cd	7.73 ± 1.46 c-f
PAN	44.54 ± 2.32 a-e	6.51 ± 0.24 d-f	8.75 ± 0.54 a-c	56.53 ± 2.44 cd	6.77 ± 0.90 e-h
T0	41.74 ± 2.31 f	6.00 ± 0.20 g	7.75 ± 0.54 d	53.60 ± 4.44 d	5.96 ± 0.32 g-h
CV (%)	4.51	5.09	9.29	7.31	14.73

Letras diferentes dentro de cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos (LSD, $p \leq 0.05$). EAS: Extracto de alga *Sargassum* spp.; PAN: Producto de *A. nodosum*; T0: Testigo absoluto; CV: Coeficiente de variación; BFV: Biomasa fresca del vástago; BFR: Biomasa fresca de la raíz; n = 5 ± DE.

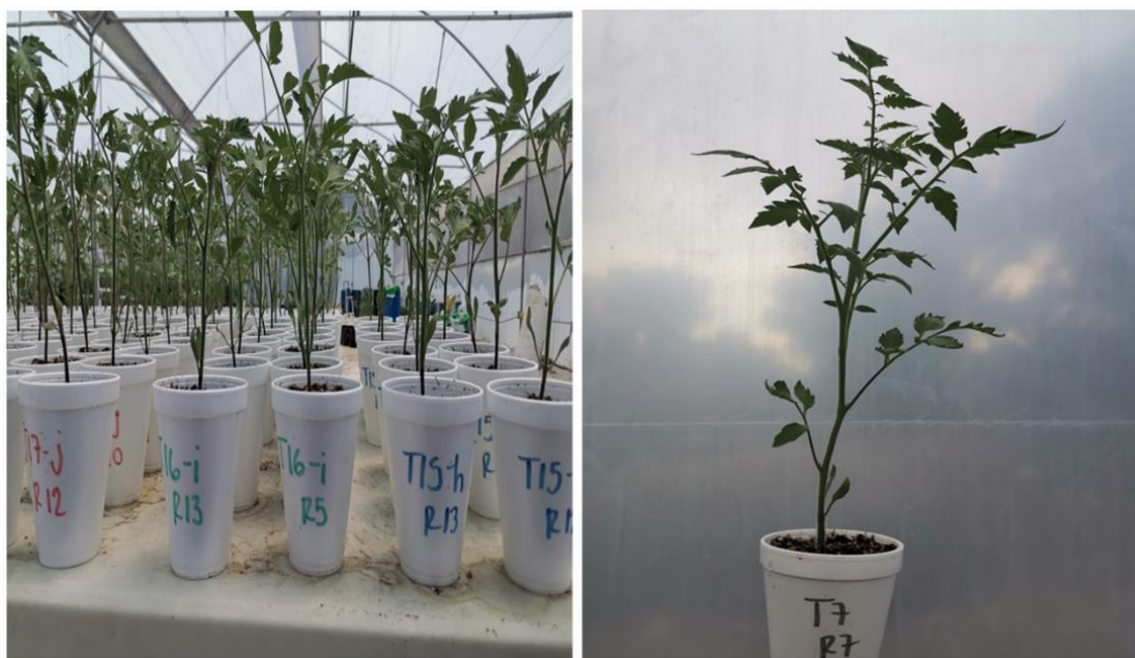


Figura 2. Apariencia de las plántulas de tomate híbrido CID F1 bajo la aplicación de los EAS. La plántula marcada como T7R7 corresponde a la aplicación del EAS7, tratamiento que incrementó las variables agronómicas evaluadas.

4. Discusión

4.1. Evaluación de la composición química y capacidad antioxidante del alga seca

En el estudio se utilizó el alga *Sargassum* spp. para obtener extractos hidroetanólicos. El alga pertenece al grupo de las algas pardas, el cual en los últimos años ha generado una incertidumbre en las costas del Caribe por las acumulaciones atípicas, que causan problemas turísticos, de contaminación y de salud pública (Chávez *et al.*, 2020; Oxenford *et al.*, 2021). Esta problemática es causada por actividades antropogénicas, como la contaminación con fertilizantes provenientes de la agricultura y la descarga de

vertidos industriales, lo cual favorece el crecimiento del alga (Djakouré *et al.*, 2017). El alga fue recolectada en el Cribe mexicano, lo cual da lugar a su composición bioquímica que varía en gran medida con otros estudios con *Sargassum* sp. que informan contenidos de proteína (1.26%) y fibra cruda (0.43%) por debajo de los mostrados en este estudio (Nurjanah *et al.*, 2017).

García-Casal *et al.* (2009) en su investigación con *Sargassum* sp. muestran una concentración superior de fenoles, pero no de capacidad antioxidante en comparación a los resultados mostrados en el presente trabajo para el alga seca. Posiblemente esto se debe a que el alga utilizada en esta investigación contiene mayores concentraciones de otros compuestos bioactivos con actividad antioxidante como carotenoides, vitaminas y GSH.

4.2. Extracción hidro-etanólica de GSH de *Sargassum* spp. mediante reactor batch

En la actualidad los extractos de algas pardas han ganado mucho interés en la agricultura, esto por sus moléculas con actividad bioestimulante (Sariñana-Aldaco *et al.*, 2021). En los últimos años se han utilizado diferentes técnicas de extracción de biomoléculas las cuales pretenden ser amables con el medio ambiente (Sosa-Hernández *et al.*, 2018; Shukla *et al.*, 2019). De acuerdo con la técnica de extracción utilizada, la concentración de biomoléculas será diferente, por lo cual dicha técnica tiene que ser elegida de acuerdo con los objetivos del estudio (Michalak *et al.*, 2014). El GSH es un metabolito que no ha sido estudiado en algas pardas, sin embargo, está involucrado en la adaptación de estos organismos y plantas vasculares al estrés (El-Beltagi *et al.*, 2020; Sariñana-Aldaco *et al.*, 2021).

Las extracciones hidro-etanólicas han sido utilizadas ampliamente para la extracción de biomoléculas en frutos, hojas, flores y semillas (Xi, 2017; Ghendov-Mosanu *et al.*, 2022). En este sentido al tener un sistema de extracción cerrado y con temperaturas elevadas la presión aumenta y esto facilita la lisis celular, provocando una mayor liberación de moléculas, y el mantener dichas condiciones a lapsos más prolongados incrementa el rendimiento de extracción (Heffernan *et al.*, 2016; Casagrande *et al.*, 2018). La concentración y la polaridad del solvente también es importante en la extracción, pero la eficiencia de extracción también depende de la

estructura química del GSH (Casagrande *et al.*, 2018). Fu *et al.* (2016) informaron que temperaturas más elevadas y tiempos de extracción más prolongados la extracción de fenoles y flavonoides fue más eficiente y la capacidad antioxidante ABTS y DPPH aumentaron en *Sargassum polycystum*. El GSH es de mucha importancia en el sistema antioxidante al formar parte del ciclo GSH-ascorbato, ruta metabólica encargada de detoxificar a las células de las especies reactivas de oxígeno (ERO) (Yao *et al.*, 2021). También es cofactor de la enzima antioxidante glutatión peroxidasa, encargada de eliminar H₂O₂ en altas concentraciones y también forma parte de las fitoquelatinas, compuestos encargados de la quelación de metales pesados en el citoplasma celular en las algas y plantas vasculares que posteriormente los almacenan en las vacuolas centrales o el apoplasto (El-Beltagi *et al.*, 2020; Yao *et al.*, 2021). También al ser un metabolito nitrogenado está involucrado en la acumulación de biomasa de las plantas, al estimular directamente el metabolismo del N y el carbono (C) (Colla *et al.*, 2017; Rouphael *et al.*, 2017).

4.3. Análisis estadístico y optimización de GSH con DCC

El poder optimizar la extracción de biomoléculas a partir de residuos de *Sargassum* ofrece muchas ventajas que se basan en la obtención de los más altos rendimientos de extracción usando las condiciones óptimas. El análisis nos indica que la temperatura y el tiempo fueron las variables que presentaron diferencias significativas en la extracción de GSH. Esto concuerda con lo mencionado por Ferreira *et al.* (2019) quienes reportan que temperaturas más elevadas tienen un mayor poder de extracción que las temperaturas bajas y estas combinadas con tiempos más prolongados permiten una mayor solubilización de los compuestos bioactivos.

El análisis también mostró que el etanol no causó efectos significativos en la extracción de GSH, a medida que se incrementó su concentración, disminuyó la de GSH, lo que indica que el etanol al tener un punto de ebullición más bajo que el agua tiende a aumentar en mayor medida la temperatura de la solución de extracción y por ende aumenta el rendimiento de extracción, sin embargo, a temperaturas y presiones más elevadas es posible que el GSH se degrade a los aminoácidos glutamato, cisteína y glicina (García-Salas *et al.*, 2010; Wijngaard *et al.*, 2012).

Teniendo en cuenta que el % de etanol no fue significativo para la mayoría de las moléculas extraídas es recomendable hacer extracciones acuosas únicamente y de esta manera se reduce el uso de disolventes, el consumo de energía y las emisiones de CO₂.

4.4. Compuestos nitrogenados, fenilpropanoides, fitohormonas y monosacáridos de los EAS

De una forma general se observa que el rendimiento de extracción de las biomoléculas determinadas para todas las condiciones experimentales la más eficiente fue la de 160 °C, 30 min y 50% de etanol (EAS7), lo cual es atribuido a dichas condiciones que fueron las más severas. En el estudio también se aprecia que la condición de 120, 0 min y 50% de etanol (EAS2) fue la que presentó las menores concentraciones de biomoléculas, esto porque las condiciones de extracción fueron de las menos severas. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Ferreira *et al.* (2019) quienes mencionan que a temperaturas más elevadas (120 °C) y tiempos de extracción (240 min) más prolongados la extracción de fucosa, yodo y fenoles totales es mayor en *Fucus vesiculosus*, así mismo, la capacidad antioxidante ABTS es mayor.

Las proteínas y los aminoácidos tienen funciones importantes en las plantas al estar involucrados en la acumulación de biomasa (absorción de N), tienen efecto quelante, fungen como osmolitos y tienen actividad antioxidante (Hassan *et al.*, 2020). Actualmente su uso está dirigido en la bioestimulación vegetal para mitigar los efectos adversos del estrés biótico y abiótico (Alfosea-Simón *et al.*, 2020). De esta manera, Imbs *et al.* (2011) embebieron semillas de soya en extractos del alga parda *Laminaria japonica* y obtuvieron una estimulación en el crecimiento y productividad del cultivo, gracias al contenido de aminoácidos libres en los extractos. El GSH al igual que las proteínas y aminoácidos también es una biomolécula nitrogenada y el EAS7 fue uno de los tratamientos que presentó mayores concentraciones.

En el caso de los fenoles son de los metabolitos secundarios más abundantes en las plantas y cumplen con funciones antioxidantes al neutralizar ERO, tienen efectos alelopáticos y de atracción a polinizadores, aunado a esto al ser aplicados exógenamente a las plantas regulan la síntesis de diferentes antioxidantes (Kiani *et al.*, 2021). Singh *et al.* (2017) aplicaron ácido gálico y rutina en el cultivo de arroz, sus resultados indican

que se incrementó el contenido de clorofilas, carotenoides y flavonoides. En este sentido gran parte de los efectos bioestimulantes de los productos derivados de algas pardas son gracias a los fenoles, ya que, son de los metabolitos secundarios más abundantes que estas algas contienen (Belghit et al., 2017; Ertani et al., 2018). Existen fenoles que solo se encuentran en las algas pardas, como es el caso del 2,4,6-trihidroxibenzoato, derivado del ácido benzoico (Belghit *et al.*, 2017). Es relevante mencionar que el EAS7 no solo cuenta con una mayor acumulación de fenoles, sino que también es uno de los tratamientos que cuenta con las mayores acumulaciones de GSH. Esto nos habla del poder antioxidante con el que cuenta este tratamiento que se vio reflejado en una mayor capacidad antioxidante.

Las plantas vasculares y las algas cuentan con una diferencia en la concentración de fitohormonas, siendo las algas las que las acumulan en mayor medida, principalmente auxinas, citoquininas y giberelinas (Benítez-García *et al.*, 2020). Las fitohormonas en las plantas ejercen su función a muy bajas concentraciones, siendo su principal efecto a nivel celular cambiando los patrones de crecimiento y desarrollo (Alcántara Cortes *et al.*, 2019). Las auxinas, principalmente el AIA interviene en la elongación y división celular, la diferenciación de tejidos y las respuestas de la luz y a la gravedad (Chandra *et al.*, 2018). Las citoquininas principalmente la tZ activan el crecimiento de yemas laterales, retardan la senescencia de las hojas y estimulan la translocación de nutrientes (Hönig *et al.*, 2018; Hai *et al.*, 2020). Las giberelinas regulan proceso clave en las plantas como la germinación de semillas, alargamiento de raíces y brotes (alargamiento celular), la floración y el desarrollo de frutos (Binenbaum *et al.*, 2018). Benítez-García *et al.* (2020) identificaron AIA y tZ en extractos de dos algas (*Padina durvillaei* y *Ulva Lactuca*) distribuidas en el pacífico mexicano e indican que los extractos de *U. Lactuca* presentaron las concentraciones más altas, esto porque pertenecen a diferente división, lo cual hace que su composición difiera en gran medida. Kumari *et al.* (2011) aplicaron de forma foliar y en drench extractos de *Sargassum johnstonii* e informaron que se estimuló el desarrollo de raíces y rendimiento del cultivo de tomate debido a la presencia de auxinas, citoquininas y giberelinas en los extractos aplicados.

Las algas *Sargassum* contienen grandes cantidades de metabolitos, pero los que predominan son los carbohidratos, lo que las hace ideales para su uso como

bioestimulantes en el sector agrícola (Vijay *et al.*, 2017). La glucosa al ser un producto de la fotosíntesis ocupa un lugar envidiable en todo el metabolismo de las células vegetales (Sami *et al.*, 2018). Este carbohidrato es evocador de antioxidantes como el ácido ascórbico y los compuestos fenólicos, sin embargo, también está involucrado en la germinación de las semillas, la floración y la fotosíntesis, ya que gracias a este metabolito se logra producir adenosín trifosfato (ATP), la molécula más rica en energía que es usada en los procesos antes mencionados (Sami *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2018; Shrestha *et al.*, 2019). La glucosa es el monosacárido básico de polisacáridos de reserva (almidón) y estructurales (celulosa) (Liu *et al.*, 2021).

La galactosa al ser un isómero de la glucosa cumple con funciones similares en las plantas como la biosíntesis del ácido ascórbico al ser uno de sus compuestos evocadores, no obstante, su función está muy marcada frente al estrés por frío, ya que al ser un azúcar soluble aumenta la concentración de líquido celular para reducir el punto de congelación en el citoplasma (Yan *et al.*, 2022). El manitol cumple con funciones quelantes que permiten mejorar la absorción y transporte de minerales en las plantas, aunado a esto su principal rol está en su funciones osmoprotectante ante el déficit hídrico y la defensa frente a enfermedades (Patel *et al.*, 2016). La fucosa es un monosacárido del cual no existe suficiente información sobre su efecto en las plantas, sin embargo, gracias a su estructura tiene la capacidad de quelatar elementos minerales y hacerlos disponibles para las plantas, aunado a esto existen reportes recientes de que este monosacárido está involucrado en la respuesta inmune de las plantas ante el ataque de patógenos, esto mediante el proceso de fucosilación de proteínas involucradas en la respuesta al estrés (Zhang *et al.*, 2019).

Ali *et al.* (2016) evaluaron la aplicación foliar y en drench de extractos de *A. nodosum* en el cultivo de tomate e indican que existió aumento de altura, densidad radicular y rendimiento del cultivo gracias al contenido de carbohidratos en los extractos que mejoraron la translocación de los nutrientes minerales. Yan *et al.* (2022) mencionan que el estrés por frío en plantas de té causó un incremento sustancial de galactosa e indican que este azúcar funciona como una señal para regular la resistencia al frío en las plantas.

El EAS7 al presentar un pH más bajo se relaciona con la mayor extracción de GSH, aminoácidos, fenoles, y AIA que son considerados ácidos orgánicos con capacidad para disminuir el pH y mejorar el crecimiento y acumulación de biomasa en los cultivos agrícolas (Kim *et al.*, 2005; Paco *et al.*, 2011; Panchal *et al.*, 2021; Scicutella *et al.*, 2021). El EAS8 al presentar la CE más alta se relaciona con la presencia de iones, el cual posiblemente contiene la mayor concentración de minerales, análisis que no se llevó a cabo en este experimento (Solís-Castro *et al.*, 2018).

4.5. Prueba de los EAS en las plántulas de tomate

Los bioestimulantes vegetales y en especial los extractos de algas cumplen con la función de estimular diferentes procesos naturales en las plantas como la absorción y asimilación de nutrientes, la inducción de tolerancia a estrés y mejorar algunas características agronómicas (Franzoni *et al.*, 2022). Estos resultados se le atribuyen a la composición bioquímica del EAS7, el cual presentó la mayor concentración de metabolitos, motivo por el cual, existió una mayor bioestimulación que se tradujo en mejoras del crecimiento y acumulación de biomasa de las plántulas de tomate. En este sentido, no se le atribuye el efecto a una biomolécula en específico. Los metabolitos nitrogenados, los fenilpropanoides, las fitohormonas y los carbohidratos al actuar en conjunto, potencializan su efecto bioestimulante, en comparación a su efecto individual, por lo cual, los extractos de algas pardas en general son de los bioestimulantes más prometedores, ya que cuentan con diferentes biomoléculas efectoras (Battacharyya *et al.*, 2015; Rouphael *et al.*, 2018). Resultados similares reportan Vijayanand *et al.* (2014) quienes indican que el uso de extractos de *Sargassum wightii* al 1.5% en frijol incrementó la altura de la planta, la longitud de la raíz, la biomasa fresca y seca y el área foliar.

5. Conclusiones

La algas de género *Sargassum* actualmente son un problema de contaminación por sus acumulaciones en las costas, sin embargo, se le están dando diferentes usos y uno de ellos es en la agricultura como bioestimulantes. El uso de soluciones hidroetanólicas han demostrado ser eficientes en la extracción de compuestos bioactivos con

poder bioestimulante en cultivos agrícolas. En el experimento se llegó hasta la optimización de la extracción de GSH y lo que se pretende es utilizar dichas condiciones de extracción en experimento posteriores y usar los extractos como bioestimulantes vegetales. De esta manera se tendrá como base que el GSH estará en su nivel de concentración más alto en los extractos y, por ende, será responsable en gran parte de los efectos que se puedan encontrar.

La otra parte del experimento que consistió en determinar demás metabolitos de los extractos producidos y aplicarlos en plántulas de tomate arrojó que la condición experimental de 160 °C, 30 min y 50 % de etanol fue la más eficiente, tanto en la concentración de metabolitos como en los efectos positivos en las plántulas al mejorar el crecimiento y biomasa. Aunado a esto es importante tener en cuenta que estos productos de algas tienen efecto bioestimulante a bajas concentraciones, por lo cual, la dosis utilizada, el modelo biológico y las condiciones ambientales serán determinantes.

Referencias

- Alcántara Cortes, J. S., Acero Godoy, J., Alcántara Cortes, J. D., & Sánchez Mora, R. M. (2019). Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal. *Nova*, 17(32), 109–129.
- Alfosea-Simón, M., Zavala-Gonzalez, E. A., Camara-Zapata, J. M., Martínez-Nicolás, J. J., Simón, I., Simón-Grao, S., & García-Sánchez, F. (2020). Effect of foliar application of amino acids on the salinity tolerance of tomato plants cultivated under hydroponic system. *Scientia Horticulturae*, 272, 109509. doi: 10.1016/j.scienta.2020.109509
- Ali, N., Farrell, A., Ramsubhag, A., & Jayaraman, J. (2016). The effect of *Ascophyllum nodosum* extract on the growth, yield and fruit quality of tomato grown under tropical conditions. *Journal of Applied Phycology*, 28(2), 1353–1362. doi: 10.1007/s10811-015-0608-3
- Ali, O., Ramsubhag, A., & Jayaraman, J. (2021). Biostimulant Properties of Seaweed Extracts in Plants: Implications towards Sustainable Crop Production. *Plants*, 10, 531. doi: 10.3390/plants10030531
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists) (1990). Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists.
- Battacharyya, D., Babgohari, M. Z., Rathor, P., & Prithiviraj, B. (2015). Seaweed extracts as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196, 39–48. doi: 10.1016/j.scienta.2015.09.012
- Belghit, I., Rasinger, J. D., Heesch, S., Biancarosa, I., Liland, N., Torstensen, B., Waagbø, R., Lock, E. J., & Bruckner, C. G. (2017). In-depth metabolic profiling of marine macroalgae confirms strong biochemical differences between brown, red

- and green algae. *Algal Research*, 26, 240–249. doi: 10.1016/j.algal.2017.08.001
- Benítez-García, I., Dueñas-Ledezma, A. K., Martínez-Montaña, E., Salazar-Leyva, J. A., Carrera, E., & Osuna-Ruiz, I. (2020). Identification and Quantification of Plant Growth Regulators and Antioxidant Compounds in Aqueous Extracts of *Padina durvillaei* and *Ulva lactuca*. *Agronomy*, 10, 866. doi: 10.3390/agronomy10060866
- Binenbaum, J., Weinstain, R., & Shani, E. (2018). Gibberellin Localization and Transport in Plants. *Trends in Plant Science*, 23(5), 410–421. doi: 10.1016/j.tplants.2018.02.005
- Bosco, R., Caser, M., Vanara, F., & Scariot, V. (2013). Development of a rapid LC-DAD/FLD method for the simultaneous determination of auxins and abscisic acid in plant extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(46), 10940–10947. doi: 10.1021/jf4034305
- Bradford, M. M. (1976). A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248–254. doi: 10.1016/0003-2697(76)90527-3
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28, 25–30. doi: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5
- Bula-Meyer, G. (2004). Las macroalgas marinas en la agronomía y el uso potencial del *Sargassum* flotante en la producción de fertilizantes en el archipiélago de San Andrés y Providencia, Colombia. *Revista Intropica*, 1(1), 91–103. doi: 10.21676/23897864.461
- Carrillo, P., Ciarmiello, L. F., Woodrow, P., Corrado, G., Chiaiese, P., & Rouphael, Y. (2020). Enhancing Sustainability by Improving Plant Salt Tolerance through Macro- and Micro-Algal Biostimulants. *Biology*, 9, 253. doi: 10.3390/biology9090253
- Casagrande, M., Zanela, J., Wagner Júnior, A., Busso, C., Wouk, J., Iurckevicz, G., Fernandes Montanher, P., Yamashita, F., & Maneck Malfatti, C. R. (2018). Influence of time, temperature and solvent on the extraction of bioactive compounds of *Baccharis dracunculifolia*: *In vitro* antioxidant activity, antimicrobial potential, and phenolic compound quantification. *Industrial Crops and Products*, 125, 207–219. doi: 10.1016/j.indcrop.2018.08.088
- Chandra, S., Askari, K., & Kumari, M. (2018). Optimization of indole acetic acid production by isolated bacteria from *Stevia rebaudiana* rhizosphere and its effects on plant growth. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 16(2), 581–586. doi: 10.1016/j.jgeb.2018.09.001
- Chatterjee, A., Singh, S., Agrawal, C., Yadav, S., Rai, R., & Rai, L. C. (2017). Role of Algae as a Biofertilizer. In R. P. Rastogi, D. Madamwar, & A. Pandey (Eds.), *Algal Green Chemistry: Recent Progress in Biotechnology* (pp. 189–200). Elsevier. doi: 10.1016/B978-0-444-63784-0.00010-2
- Chávez García, M., González Morales, S., Benavides Mendoza, A., Charles Rodríguez, A. V., Cabrera de la Fuente, M., Martínez Vázquez, D. G., & Robledo Olivo, A. (2020). Termo-hidrólisis para la liberación de azúcares monoméricos en residuos agrícolas (termo-hidrólisis de agrosresiduos). *Revista Bio Ciencias*, 7, e946. doi: 10.15741/revbio.07.e946
- Chávez, V., Uribe-Martínez, A., Cuevas, E., Rodríguez-Martínez, R. E., van Tussenbroek, B. I., Francisco, V., Estévez, M., Celis, L. B., Monroy-Velázquez, V.,

- Leal-Bautista, R., Álvarez-Filip, L., García-Sánchez, M., Masia, L., & Silva, R. (2020). Massive Influx of Pelagic *Sargassum* spp. on the Coasts of the Mexican Caribbean 2014-2020: Challenges and Opportunities. *Water*, *12*, 2908. doi: 10.3390/w12102908
- Cole, A. J., Roberts, D. A., Garside, A. L., de Nys, R., & Paul, N. A. (2016). Seaweed compost for agricultural crop production. *Journal of Applied Phycology*, *28*, 629–642. doi: 10.1007/s10811-015-0544-2
- Colla, G., Hoagland, L., Ruzzi, M., Cardarelli, M., Bonini, P., Canaguier, R., & Roupael, Y. (2017). Biostimulant action of protein hydrolysates: Unraveling their effects on plant physiology and microbiome. *Frontiers in Plant Science*, *8*, 2202. doi: 10.3389/fpls.2017.02202
- Craigie, J. S. (2011). Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. *Journal of Applied Phycology*, *23*(3), 371–393. doi: 10.1007/s10811-010-9560-4
- Depuydt, S., & Hardtke, C. S. (2011). Hormone signalling crosstalk in plant growth regulation. *Current Biology*, *21*(9), 365–373. doi: 10.1016/j.cub.2011.03.013
- Di Stasio, E., Van Oosten, M. J., Silletti, S., Raimondi, G., dell’Aversana, E., Carillo, P., & Maggio, A. (2018). *Ascophyllum nodosum*-based algal extracts act as enhancers of growth, fruit quality, and adaptation to stress in salinized tomato plants. *Journal of Applied Phycology*, *30*(4), 2675–2686. doi: 10.1007/s10811-018-1439-9
- Djakouré, S., Araujo, M., Hounsou-Gbo, A., Noriega, C., & Bourlès, B. (2017). On the potential causes of the recent Pelagic *Sargassum* blooms events in the tropical North Atlantic Ocean. *Biogeosciences Discussions*, *1*, 1–20. doi: 10.5194/bg-2017-346
- El-Beltagi, H. S., Mohamed, H. I., & Sofy, M. R. (2020). Role of Ascorbic acid, Glutathione and Proline Applied as Singly or in Sequence Combination in Improving Chickpea Plant through Physiological Change and Antioxidant Defense under Different Levels of Irrigation Intervals. *Molecules*, *25*(1702), 1702. doi: 10.3390/molecules25071702
- Ertani, A., Francioso, O., Tinti, A., Schiavon, M., Pizzeghello, D., & Nardi, S. (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: 10.3389/fpls.2018.00428
- Fatimah, S., Alimon, H., & Daud, N. (2019). Phytochemical Screening of *Sargassum* sp and *in Vitro* Seed Germination Test. *Indonesian Journal of Science & Technology*, *4*(1), 48–54.
- Ferreira, R. M., Ribeiro, A. R., Patinha, C., Silva, A. M. S., Cardoso, S. M., & Costa, R. (2019). Water Extraction Kinetics of Bioactive Compounds of *Fucus vesiculosus*. *Molecules*, *24*(18), 3408. doi: 10.3390/molecules24183408
- Francini, A., & Sebastiani, L. (2019). Abiotic Stress Effects on Performance of Horticultural Crops. *Horticulturae*, *5*, 67. doi: 10.3390/horticulturae5040067
- Franzoni, G., Cocetta, G., Prinsi, B., Ferrante, A., & Espen, L. (2022). Biostimulants on Crops: Their Impact under Abiotic Stress Conditions. *Horticulturae*, *8*(3), 189. doi: 10.3390/horticulturae8030189
- Fu, C. W. F., Ho, C. W., Yong, W. T. L., Abas, F., Tan, T. B., & Tan, C. P. (2016). Extraction of phenolic antioxidants from four selected seaweeds obtained from Sabah. *International Food Research Journal*, *23*(6), 2363–2369. doi:

- 10.7287/peerj.preprints.1249
- García-Casal, M. N., Ramírez, J., Leets, I., Pereira, A. C., & Quiroga, M. F. (2009). Antioxidant capacity, polyphenol content and iron bioavailability from algae (*Ulva* sp., *Sargassum* sp. and *Porphyra* sp.) in human subjects. *British Journal of Nutrition*, *101*(1), 79–85. doi: 10.1017/S0007114508994757
- García-Salas, P., Morales-Soto, A., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2010). Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples. *Molecules*, *15*(12), 8813–8826. doi: 10.3390/molecules15128813
- Ghendov-Mosanu, A., Cojocari, D., Balan, G., Patras, A., Lung, I., Soran, M.-L., Oprea, O., Cristea, E., & Sturza, R. (2022). Chemometric Optimization of Biologically Active Compounds Extraction from Grape Marc: Composition and Antimicrobial Activity. *Molecules*, *27*(5), 1610. doi: 10.3390/molecules27051610
- González-García, Y., López-Vargas, E. R., Cadenas-Pliego, G., Benavides-Mendoza, A., González-Morales, S., Robledo-Olivo, A., Alpuche-Solís, Á. G., & Juárez-Maldonado, A. (2019). Impact of carbon nanomaterials on the antioxidant system of Tomato seedlings. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(23), 5858. doi: 10.3390/ijms20235858
- González-Morales, S., Solís-Gaona, S., Valdés-Caballero, M. V., Juárez-Maldonado, A., Loredó-Treviño, A., & Benavides-Mendoza, A. (2021). Transcriptomics of Biostimulation of Plants Under Abiotic Stress. *Frontiers in Genetics*, *12*, 583888. doi: 10.3389/fgene.2021.583888
- Hai, N. N., Chuong, N. N., Tu, N. H. C., Kisiala, A., Hoang, X. L. T., & Thao, N. P. (2020). Role and regulation of cytokinins in plant response to drought stress. *Plants*, *9*(4), 422. doi: 10.3390/plants9040422
- Hassan, M. U., Islam, M. M., Wang, R., Guo, J., Luo, H., Chen, F., & Li, X. (2020). Glutamine application promotes nitrogen and biomass accumulation in the shoot of seedlings of the maize hybrid ZD958. *Planta*, *251*(3), 66. doi: 10.1007/s00425-020-03363-9
- Heffernan, N., Smyth, T. J., FitzGerald, R. J., Vila-Soler, A., Mendiola, J., Ibáñez, E., & Brunton, N. P. (2016). Comparison of extraction methods for selected carotenoids from macroalgae and the assessment of their seasonal/spatial variation. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, *37*, 221–228. doi: 10.1016/j.ifset.2016.06.004
- Hernández-Herrera, R. M., Santacruz-Ruvalcaba, F., Ruiz-López, M. A., Norrie, J., & Hernández-Carmona, G. (2014). Effect of liquid seaweed extracts on growth of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum* L.). *Journal of Applied Phycology*, *26*(1), 619–628. doi: 10.1007/s10811-013-0078-4
- Hönig, M., Plíhalová, L., Husičková, A., Nisler, J., & Doležal, K. (2018). Role of cytokinins in senescence, antioxidant defence and photosynthesis. *International Journal of Molecular Sciences*, *19*(12), 4045. doi: 10.3390/ijms19124045
- Imbs, T. I., Chaykina, E. L., Dega, L. A., Vashchenko, A. P., & Anisimov, M. M. (2011). Comparative study of the chemical composition of ethanol extracts from brown algae and their effects on seedling growth and productivity of soya *Glycine max* (L.) MERR. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, *37*(7), 871–876. doi: 10.1134/S1068162011070090
- Jayaraman, J., Norrie, J., & Punja, Z. K. (2011). Commercial extract from the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* reduces fungal diseases in greenhouse cucumber.

- Journal of Applied Phycology*, 23(3), 353–361. doi: 10.1007/s10811-010-9547-1
- Kasim, W. A., Hamada, E. A. M., El-Din, N. G. S., & Eskander, S. (2015). Influence of seaweed extracts on the growth, some metabolic activities and yield of wheat grown under drought stress. *International Journal of Agronomy and Agricultural Research*, 7(2), 173–189.
- Kiani, R., Arzani, A., & Mirmohammady Maibody, S. A. M. (2021). Polyphenols, Flavonoids, and Antioxidant Activity Involved in Salt Tolerance in Wheat, *Aegilops cylindrica* and Their Amphidiploids. *Frontiers in Plant Science*, 12, 646221. doi: 10.3389/fpls.2021.646221
- Kim, Y. Y., Kil, D. Y., Oh, H. K., & Han, I. K. (2005). Acidifier as an Alternative Material to Antibiotics in Animal Feed. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 18(7), 1048–1060. doi: 10.5713/ajas.2005.1048
- Kumari, R., Kaur, I., & Bhatnagar, A. K. (2011). Effect of aqueous extract of *Sargassum johnstonii* Setchell & Gardner on growth, yield and quality of *Lycopersicon esculentum* Mill. *Journal of Applied Phycology*, 23(3), 623–633. doi: 10.1007/s10811-011-9651-x
- Liu, S., Li, Z., Wu, S., & Wan, X. (2021). The essential roles of sugar metabolism for pollen development and male fertility in plants. *The Crop Journal*, 9(6), 1223–1236. doi: 10.1016/j.cj.2021.08.003
- Machmudah, S., Diono, W., Kanda, H., & Goto, M. (2018). Supercritical Fluids Extraction of Valuable Compounds from Algae: Future Perspectives and Challenges. *Engineering Journal*, 22(5), 13–30. doi: 10.4186/ej.2018.22.5.13
- Medrano Macías, J., López Caltzontzitz, M. G., Rivas Martínez, E. N., Narváez Ortiz, W. A., Benavides Mendoza, A., & Martínez Lagunes, P. (2021). Enhancement to salt stress tolerance in strawberry plants by iodine products application. *Agronomy*, 11(3), 602. doi: 10.3390/agronomy11030602
- Michalak, I., & Chojnacka, K. (2014). Algal extracts: Technology and advances. *Engineering in Life Sciences*, 14, 581–591. doi: 10.1002/elsc.201400139
- Nabti, E., Jha, B., & Hartmann, A. (2017). Impact of seaweeds on agricultural crop production as biofertilizer. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 14, 1119–1134. doi: 10.1007/s13762-016-1202-1
- Nurjanah, Nurilmala, M., Anwar, E., Luthfiyana, N., & Hidayat, T. (2017). Identification of bioactive compounds of seaweed *Sargassum* sp. and *Euclima cottonii* doty as a raw sunscreen cream. *Proceedings of the Pakistan Academy of Sciences: B. Life and Environmental Sciences*, 54(4), 311–318.
- Oxenford, H. A., Cox, S.-A., van Tussenbroek, B. I., & Desrochers, A. (2021). Challenges of Turning the *Sargassum* Crisis into Gold: Current Constraints and Implications for the Caribbean. *Phycology*, 1(1), 27–48. doi: 10.3390/phycolgy1010003
- Paco, G., Loza-Murguía, M., Mamani, F., & Sainz, H. (2011). Efecto de la Lombriz Roja Californiana (*Eisenia foetida*) Durante el Composteo y Vermicomposteo en Predios de la Estación Experimental de la Unidad Académica Campesina Carmen Pampa. *Journal of the Selva Andina Research Society*, 2(2), 24–39.
- Panchal, P., Miller, A. J., & Giri, J. (2021). Organic acids: versatile stress response roles in plants. *Journal of Experimental Botany*, 72(11), 4038–4052. doi: 10.1093/jxb/erab019
- Patel, T. K., & Williamson, J. D. (2016). Mannitol in Plants, Fungi, and Plant–Fungal

- Interactions. *Trends in Plant Science*, 21(6), 486–497. doi: 10.1016/j.tplants.2016.01.006
- Preciado Rangel, P., Baca Castillo, G. A., Tirado Torres, J. L., Kohashi-Shibata, J., Tijerina Chavez, L., & Martínez Garza, A. (2002). Nitrógeno y potasio en la producción de plántulas de melón. *Terra Latinoamericana*, 20(3), 267–276.
- Qin, K., & Leskovar, D. I. (2020). Humic substances improve vegetable seedling quality and post-transplant yield performance under stress conditions. *Agriculture*, 10(7), 254. doi: 10.3390/agriculture10070254
- Ramya, S. S., Nagaraj, S., & Vijayanand, N. (2011). Influence of Seaweed Liquid Extracts on Growth, Biochemical and Yield Characteristics of *Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub. *Journal of Phytology*, 3(9), 37–41.
- Ramya, S. S., Vijayanand, N., & Rathinavel, S. (2015). Foliar application of liquid biofertilizer of brown alga *Stoechospermum marginatum* on growth, biochemical and yield of *Solanum melongena*. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, 4(3), 167–173. doi: 10.1007/s40093-015-0096-0
- Rivas-Martínez, E. N., Foroughbakhch-Pournavab, R., Reyes-Valdés, M. H., & Benavides-Mendoza, A. (2016). Determinación de giberelina A4 y trans zeatina ribósido en diferentes órganos de *Dasyilirion cedrosanum*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7, 2063–2069.
- Rodriguez-Jasso, R. M., Mussatto, S. I., Pastrana, L., Aguilar, C. N., & Teixeira, J. A. (2011). Microwave-assisted extraction of sulfated polysaccharides (fucoïdan) from brown seaweed. *Carbohydrate Polymers*, 86(3), 1137–1144. doi: 10.1016/j.carbpol.2011.06.006
- Rouphael, Y., Colla, G., Giordano, M., El-Nakhel, C., Kyriacou, M. C., & De Pascale, S. (2017). Foliar applications of a legume-derived protein hydrolysate elicit dose-dependent increases of growth, leaf mineral composition, yield and fruit quality in two greenhouse tomato cultivars. *Scientia Horticulturae*, 226, 353–360. doi: 10.1016/j.scienta.2017.09.007
- Rouphael, Y., Giordano, M., Cardarelli, M., Cozzolino, E., Mori, M., Kyriacou, M. C., Bonini, P., & Colla, G. (2018). Plant-and seaweed-based extracts increase yield but differentially modulate nutritional quality of greenhouse spinach through biostimulant action. *Agronomy*, 8(7), 126. doi: 10.3390/agronomy8070126
- Ryabushko, V. I., Prazukin, A. V., Gureeva, E. V., Bobko, N. I., Kovrigina, N. G., & Nekhoroshev, M. V. (2017). Fucoxanthin and heavy metals in brown algae of genus *Cystoseira* C. Agardh from water areas with different anthropogenic influences (Black Sea). *Marine Biological Journal*, 2(2), 70–79. doi: 10.21072/mbj.2017.02.2.07
- Salehi, B., Sharifi-Rad, R., Sharopov, F., Namiesnik, J., Roointan, A., Kamle, M., Kumar, P., Martins, N., & Sharifi-Rad, J. (2019). Beneficial effects and potential risks of tomato consumption for human health: An overview. *Nutrition*, 62, 201–208. doi: 10.1016/j.nut.2019.01.012
- Sami, F., Siddiqui, H., & Hayat, S. (2018). Interaction of glucose and phytohormone signaling in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 135, 119–126. doi: 10.1016/j.plaphy.2018.11.005
- Sariñana-Aldaco, O., Benavides-Mendoza, A., Juárez-Maldonado, A., Robledo-Olivo, A., Rodríguez-Jasso, R. M., Preciado-Rangel, P., & Gonzalez-Morales, S. (2021). Efecto de extractos de *Sargassum* spp. en el crecimiento y antioxidantes de

- plántulas de tomate. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 8(2), e2814. doi: 10.19136/era.a8n2.2814
- Scicutella, F., Mannelli, F., Daghighi, M., Viti, C., & Buccioni, A. (2021). Polyphenols and organic acids as alternatives to antimicrobials in poultry rearing: A review. *Antibiotics*, 10(8), 1010. doi: 10.3390/antibiotics10081010
- Sharma, A., & Zheng, B. (2019). Molecular responses during plant grafting and its regulation by auxins, cytokinins, and gibberellins. *Biomolecules*, 9(9), 397. doi: 10.3390/biom9090397
- Shrestha, A., Pandey, R. P., & Sohng, J. K. (2019). Biosynthesis of resveratrol and piceatannol in engineered microbial strains: achievements and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(7), 2959–2972. doi: 10.1007/s00253-019-09672-8
- Shukla, P. S., Mantin, E. G., Adil, M., Bajpai, S., Critchley, A. T., & Prithiviraj, B. (2019). *Ascophyllum nodosum*-based biostimulants: Sustainable applications in agriculture for the stimulation of plant growth, stress tolerance, and disease management. *Frontiers in Plant Science*, 10, 655. doi: 10.3389/fpls.2019.00655
- Singh, A., Gupta, R., & Pandey, R. (2017). Exogenous application of rutin and gallic acid regulate antioxidants and alleviate reactive oxygen generation in *Oryza sativa* L. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 23(2), 301–309. doi: 10.1007/s12298-017-0430-2
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods in Enzymology*, 299(1974), 152–178. doi: 10.1016/S0076-6879(99)99017-1
- Solís-Castro, Y., Zúñiga-Zúñiga, L. A., & Mora-Alvarado, D. (2018). Conductivity as a predictive parameter of hardness in groundwater and spring water of Costa Rica. *Revista Tecnología En Marcha*, 31(1), 35–46. doi: 10.18845/tm.v31i1.3495
- Sosa-Hernández, J. E., Escobedo-Avellaneda, Z., Iqbal, H. M. N., & Welti-Chanes, J. (2018). State-of-the-art extraction methodologies for bioactive compounds from algal biome to meet bio-economy challenges and opportunities. *Molecules*, 23(11), 2953. doi: 10.3390/molecules23112953
- Steiner, A. A. (1961). A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant and Soil*, 15(2), 134–154. doi: 10.1007/BF01347224
- Tiwari, R. K., Lal, M. K., Naga, K. C., Kumar, R., Chourasia, K. N., Subhash, S., Kumar, D., & Sharma, S. (2020). Emerging roles of melatonin in mitigating abiotic and biotic stresses of horticultural crops. *Scientia Horticulturae*, 272, 109592. doi: 10.1016/j.scienta.2020.109592
- Trejo-Valencia, R., Sánchez-Acosta, L., Fortis-Hernández, M., Preciado-Rangel, P., Gallegos-Robles, M. Á., Antonio-Cruz, R. del C., & Vázquez-Vázquez, C. (2018). Effect of seaweed aqueous extracts and compost on vegetative growth, yield, and nutraceutical quality of cucumber (*Cucumis sativus* L.) fruit. *Agronomy*, 8(11), 264. doi: 10.3390/agronomy8110264
- Vijay, K., Balasundari, S., Jeyashakila, R., Velayathum, P., & Masilan, K. (2017). Proximate and mineral composition of brown seaweed from Gulf of Mannar. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 5(5), 106–112.
- Vijayanand, N., Ramya, S. S., & Rathinavel, S. (2014). Potential of liquid extracts of *Sargassum wightii* on growth, biochemical and yield parameters of cluster bean

- plant. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, 3(2), 150–155. doi: 10.1016/S2305-0500(14)60019-1
- Wang, P., Zeng, W., Xu, S., Du, G., Zhou, J., & Chen, J. (2018). Current challenges facing one-step production of L-ascorbic acid. *Biotechnology Advances*, 36(7), 1882–1899. doi: 10.1016/j.biotechadv.2018.07.006
- Wijngaard, H., Hossain, M. B., Rai, D. K., & Brunton, N. (2012). Techniques to extract bioactive compounds from food by-products of plant origin. *Food Research International*, 46(2), 505–513. doi: 10.1016/j.foodres.2011.09.027
- Xi, J. (2017). Ultrahigh pressure extraction of bioactive compounds from plants—A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(6), 1097–1106. doi: 10.1080/10408398.2013.874327
- Xue, T., Hartikainen, H., & Piironen, V. (2001). Antioxidative and growth-promoting effect of selenium on senescing lettuce. *Plant and Soil*, 237(2000), 55–61. doi: 10.1023/A:1013369804867
- Yan, F., Qu, D., Chen, X., Zeng, H., Li, X., & Hu, C. Y. (2022). Metabolomics Reveals 5-Aminolevulinic Acid Improved the Ability of Tea Leaves (*Camellia sinensis* L.) against Cold Stress. *Metabolites*, 12, 392. doi: 10.3390/metabo12050392
- Yao, M., Ge, W., Zhou, Q., Zhou, X., Luo, M., Zhao, Y., Wei, B., & Ji, S. (2021). Exogenous glutathione alleviates chilling injury in postharvest bell pepper by modulating the ascorbate-glutathione (AsA-GSH) cycle. *Food Chemistry*, 352, 129458. doi: 10.1016/j.foodchem.2021.129458
- Yemm, E., & Cocking, E. (1955). The Determination of Amino-acids with Ninhydrin. *Analyst*, 80, 209–214. doi: 10.1039/AN9558000209
- Zhang, L., Paasch, B. C., Chen, J., Day, B., & He, S. Y. (2019). An important role of L-fucose biosynthesis and protein fucosylation genes in *Arabidopsis* immunity. *New Phytologist*, 222(2), 981–994. doi: 10.1111/nph.15639
- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64, 555–559. doi: 10.1016/S0308-8146(98)00102-2

TERCER ARTÍCULO

Efecto bioestimulante de extractos hidroalcohólicos de *Sargassum* spp. en plántulas de tomate bajo estrés salino

Efecto bioestimulante de extractos hidroalcohólicos de *Sargassum* spp. en plántulas de tomate bajo estrés salino

Oscar Sariñana-Aldaco¹, Adalberto Benavides-Mendoza², Antonio Juárez-Maldonado³, Armando Robledo-Olivo⁴, Pablo Preciado-Rangel⁵, Rosa María Rodríguez-Jasso⁶ and Susana González-Morales^{7,*}

¹Doctorado en Ciencias en Agricultura Protegida, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila 25315, México; oscarsarinana390@gmail.com (O.S.-A.)

²Departamento de Horticultura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro; abenmen@gmail.com (A.B.-M.)

³Departamento de Botánica, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro; antonio.juarez@uaaan.edu.mx (A.J.-M.)

⁴Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro; armando.robledo@outlook.com (A.R.-O.)

⁵Departamento de Horticultura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna, Torreón, Coahuila 27054, México; ppreciador@yahoo.com.mx (P.P.-R.)

⁶Grupo de Biorrefinería, Departamento de Investigación en Alimentos, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila, Saltillo, Coahuila 25280, México; rrodriguezjasso@uadec.edu.mx (R.M.R.-J.)

⁷Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

*Correspondencia: sgonzalezmo@conacyt.mx (S.G.-M.); Tel.: +52-844-1222471

Resumen: En la actualidad el uso de bioestimulantes en la agricultura es una herramienta innovadora para mitigar ciertas tensiones ambientales. Los extractos de algas pardas se han convertido en una de las categorías más importantes de bioestimulantes en la agricultura, esto por los diferentes usos y resultados positivos que se obtienen. En este estudio, se evaluó la aplicación de extractos de *Sargassum* spp. y un producto comercial a base de *Ascophyllum nodosum* sobre el crecimiento, sistema antioxidante y expresión de genes de defensa en plántulas de tomate bajo estrés salino. Los resultados demuestran que los extractos de *Sargassum* spp. aumentan el crecimiento y acumulación de biomasa, mejoran el sistema antioxidante enzimático y no enzimático y promueven la expresión de genes de defensa en plántulas de tomate en condiciones sin

estrés y con estrés salino. Los resultados sugieren que el uso de extractos de *Sargassum* spp. mejoran la tolerancia a la salinidad en plántulas de tomate mediante la activación del sistema de defensa, que se basa en la eliminación de especies reactivas de oxígeno y en la protección de biomoléculas sensibles al estrés.

Palabras clave: algas pardas; antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos; bioestimulación; estrés oxidativo; expresión génica; *Solanum lycopersicum*

1. Introducción

La salinidad es uno de los diferentes tipos de estrés abiótico que afecta negativamente la productividad de los cultivos, incluso es el más limitante en cuanto al estrés abiótico (Liu *et al.*, 2020). Este estrés influye negativamente en la absorción y asimilación de agua y nutrientes, aunado a que genera toxicidad, lo que, lo hace más nocivo para la producción de cultivos (Ahmad *et al.*, 2018; Abdelaal *et al.*, 2020). El estrés inducido por salinidad en plantas causa una disminución del potencial hídrico, por la alta concentración de iones disueltos en la solución del suelo o solución nutritiva (Arif *et al.*, 2020). Las plantas al ser sometidas a este tipo de estrés sufren cambios en el ámbito fisiológico-morfológico (reducción de la fotosíntesis, del crecimiento y cierre de estomas) y bioquímico (sobrepoducción de especies reactivas de oxígeno (ERO) y producción de antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos) (Hernández-Hernández *et al.*, 2018a; Arif *et al.*, 2020). La sobrepoducción de ERO causa daños a carbohidratos, proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, sin embargo, las plantas al producir antioxidantes logran mitigar hasta cierto punto el estrés (Raja *et al.*, 2017; Hasanuzzaman *et al.*, 2020).

Ante esta situación, se han buscado alternativas para poder disminuir los efectos adversos del estrés por salinidad en los cultivos, y una de ellas es el uso de bioestimulantes de origen botánico y de algas. El uso de extractos de algas pardas en los últimos años ha tenido un impacto importante en el sector agrícola, esto por el poder bioestimulante que le proporcionan los carbohidratos, compuestos fenólicos, carotenoides, aminoácidos, fitohormonas y vitaminas existentes en dichos extractos (Hamed *et al.*, 2018; Benítez-García *et al.*, 2020; Mukherjee *et al.*, 2020; Sariñana-Aldaco *et al.*, 2021). En general, los metabolitos presentes en los extractos cumplen en

las plantas con una función de protección, proporcionándoles así, mayor tolerancia al estrés (Zou *et al.*, 2019). Aunado a esto los extractos cumplen con actividades que mejoran el crecimiento y desarrollo de las plantas (Zou *et al.*, 2019; Sariñana-Aldaco *et al.*, 2021). Cabe mencionar que el efecto bioestimulante de los extractos en las plantas se produce a bajas concentraciones (Rouphael *et al.*, 2020).

El uso de algas en la agricultura ha ido en aumento, sin embargo, las más utilizadas, son las pardas, esto por su mayor concentración de metabolitos (González-Morales *et al.*, 2021a). Las algas pardas del género *Sargassum* hoy en día son un problema turístico y de contaminación en las costas del Caribe (Chávez *et al.*, 2020). Debido a esto, a dicha alga se le empezaron a dar diferentes usos, esto para aprovechar las cantidades exageradas en las costas. Los usos van desde la construcción de viviendas, producción de suplementos alimenticios, producción de cosméticos y como bioestimulantes en el área agrícola (Waghmode *et al.*, 2019; Ali *et al.*, 2021; López-Sosa *et al.*, 2021).

Los extractos de algas *Sargassum* spp. (EAS) han mostrado resultados positivos como inductores de tolerancia al estrés abiótico. Anteriormente, se ha demostrado que los EAS mejoraron la tolerancia a NaCl en el cultivo de garbanzo al mejorar los parámetros de crecimiento y las actividades enzimáticas de la superóxido dismutasa (SOD), ascorbato peroxidasa (APX) y peroxidasa (POD) (Abdel Latef *et al.*, 2017). También se demostró que los EAS aumentaron la actividad de las enzimas SOD, POD y catalasa (CAT) e incrementaron el contenido de fenoles, prolina y la actividad antioxidante total en plantas de cebada sometidas a estrés por NaCl (Sofy *et al.*, 2017). Aunado a esto existen reportes que mencionan que regulan la expresión de genes de defensa en las plantas, lo que, promueve la tolerancia al estrés (Jithesh *et al.*, 2019; Ali *et al.*, 2021). De acuerdo con lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto de un extracto hidroalcohólico de *Sargassum* spp. sobre la inducción de tolerancia a estrés por NaCl en plántulas de tomate.

2. Materiales y métodos

2.1. Material vegetal y condiciones experimentales

Semillas de tomate híbrido el CID F1 (Harris Moran Seed Company, Modesto, CA, USA; tipo saladette y crecimiento indeterminado) fueron sembradas en bandejas de poliestireno con una mezcla de peat moss y perlita (1:1 v/v). El experimento se estableció en un invernadero cubierto de polietileno en el Departamento de Horticultura de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (Saltillo, México). La temperatura promedio fue de 28 °C y 50 a 60% de humedad relativa. Las plántulas se cultivaron durante 30 días hasta que desarrollaron cuatro hojas verdaderas. Posteriormente fueron trasplantadas en contenedores de unicel de 1 L con la misma relación de sustrato utilizada para la siembra. El sistema de riego fue manual, dando un riego al día a capacidad de campo. La nutrición de las plantas se realizó con una solución nutritiva Steiner (1961) al 25%.

2.2. Tratamientos

Se utilizó un EAS hidroalcohólico al 1.5%, producido mediante un reactor batch bajo las condiciones de 160 °C, 30 min y etanol al 50%. La relación que se utilizó para la extracción fue de 1:20 (1 g de alga y 20 mL de etanol al 50%). La dosis utilizada del EAS fue de acuerdo con investigaciones realizadas por Ramya *et al.* (2011, 2015) y Kasim *et al.* (2015) y la condición de extracción se seleccionó con base en los resultados obtenidos en una prueba preliminar establecida por Sariñana-Aldaco *et al.* (2021). Al EAS se le realizó una caracterización bioquímica que se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Caracterización bioquímica del EAS.

Composición	Concentración
pH	5.60 ± 0.10
CE (dS m ⁻¹)	0.83 ± 0.01
Proteínas totales (mg g ⁻¹ PS)	3.47 ± 0.08
GSH (mg g ⁻¹ PS)	3.29 ± 0.02
Aminoácidos (mg g ⁻¹ PS)	0.43 ± 0.008
Fenoles totales (mg EAG g ⁻¹ PS)	8.43 ± 0.79
Flavonoides (mg EC g ⁻¹ PS)	2.83 ± 0.04
AIA (mg kg ⁻¹ PS)	0.57 ± 0.07
tZ (µg g ⁻¹ PS)	175.99 ± 7.49
Glucosa (mg 100 g ⁻¹ PS)	107.87 ± 0.004

Galactosa (mg 100 g ⁻¹ PS)	74.01 ± 0.49
Fucosa (mg 100 g ⁻¹ PS)	258.37 ± 9.82
Manitol (mg 100 g ⁻¹ PS)	29.96 ± 0.40
CAET DPPH (mg g ⁻¹ PS)	53.54 ± 1.70

EAS: Extracto de alga *Sargassum* spp.; CE: Conductividad eléctrica; GSH: Glutatión reducido; EAG: Equivalentes de ácido gálico; EC: Equivalentes de catequina; AIA: Ácido Indol-3-acético; tZ: Trans-zeatina; CAET: Capacidad antioxidante en equivalentes trolox; DPPH: 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl; PS: Peso seco; n = 3 excepto GSH, aminoácidos y fenoles totales (n = 5) ± Desviación estándar (DE).

Los tratamientos aplicados fueron los siguientes: (1) control con agua destilada (CA), (2) producto comercial de *A. nodosum* (BYOALG®) al 0.13% con base en las especificaciones de uso (PCAN), (3) aplicación del extracto de alga *Sargassum* spp. (EAS), (4) CA y NaCl al 100 mM (CA + NaCl), (5) PCAN y NaCl al 100 mM (PCAN + NaCl), (6) EAS y NaCl al 100 mM (EAS + NaCl), dando un total de seis tratamientos. Los extractos de algas se aplicaron vía foliar y se utilizó un aspersor manual y se rociaron las plantas hasta el punto de goteo, las aplicaciones fueron cada 10 días a partir del trasplante, acumulando cuatro aplicaciones durante la prueba, la cual, tuvo una duración de 31 días (Figura 1). Las aplicaciones se realizaron entre las 08:00 y las 10:00 h. Para evitar la pulverización de tratamientos vecinos, se utilizó una barrera plástica flexible para aislar el espacio de aplicación. El estrés por NaCl se aplicó a partir del quinto día después del trasplante (DDT) en la solución nutritiva hasta el final de la prueba.

2.3. Muestreos y evaluaciones

Se realizaron tres muestreos destructivos y tres evaluaciones, que fueron a las 24 h después de la segunda aplicación de los extractos (10 DDT), 24 h después de la tercera aplicación de los extractos (20 DDT) y 24 h después de la cuarta aplicación de los extractos (30 DDT) (Figura 1). Los muestreos destructivos constaron de cinco plantas por tratamiento para determinar metabolitos indicadores de estrés y cuatro plantas para la expresión de genes de defensa, los cuales, se realizaron retirando todas las hojas de las plántulas y congelándolas inmediatamente con nitrógeno líquido y se almacenaron en un ultracongelador a -80 °C. Las evaluaciones constaron de cinco plantas por tratamiento que fueron elegidas para medir la altura de la planta, número de hojas, diámetro de tallo

y conductancia estomática de las hojas (SC-1 Leaf porometer, ICT International). Al final de la prueba se cuantificó la biomasa fresca y seca de las plántulas.

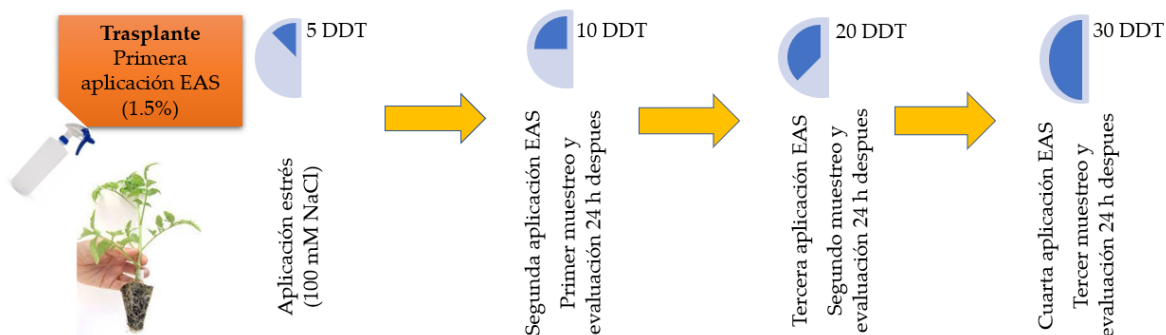


Figura 1. Representación esquemática del experimento. EAS: Extracto de algas *Sargassum* spp.; DDT: Días después del trasplante.

2.4. Análisis bioquímicos

Para las determinaciones de los metabolitos indicadores de estrés en las hojas de las plántulas de tomate el tejido congelado fue liofilizado y macerado con mortero de mano para posteriormente realizar las extracciones y cuantificaciones de acuerdo con las metodologías empleadas.

El contenido de pigmentos fotosintéticos se determinó según el método de Wellburn (1994) con modificaciones. Las proteínas totales se determinaron por el método descrito por Bradford (1976). La actividad enzimática de la SOD (EC 1.15.1.1) se determinó utilizando un kit comercial Cayman® 7060002 (Cayman chemical company, Ann Arbor, MI, USA) (Medrano Macías *et al.*, 2021), y sus resultados se expresan en $U\ mL^{-1}$ entre proteínas totales. Una unidad de SOD se define como la cantidad de enzima necesaria para exhibir una dismutación del 50% del radical superóxido. La actividad enzimática de la CAT (EC 1.11.1.6) se determinó como se describe en Dhindsa *et al.* (1981), y sus resultados se reportan como U (consumo en mM de peróxido de hidrogeno por minuto) entre proteínas totales. La actividad de la APX (EC 1.11.1.11) se determinó como se describe en Nakano y Asada (1987), y sus resultados se reportan como U (μmol de ácido ascórbico oxidado por minuto) entre

proteínas totales. La actividad de la fenilalanina amonio liasa (PAL) (EC 4.3.1.5) se determinó de acuerdo a lo establecido por Sykłowska-Baranek *et al.* (2012), y su resultados se reportan como U (producción en μmol de ácido trans-cinámico por minuto) entre proteínas totales.

El ácido ascórbico fue determinado por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (HPLC VARIAN 920LC), mediante el método descrito por Nour *et al.* (2010). El glutatión (GSH) se cuantificó con el método de Xue *et al.* (2001), mediante la reacción del ácido nitrobenzoico 5,5-ditio-bis-2 (DTNB). Los fenoles totales se determinaron con el método de Singleton *et al.* (1999), mediante la reacción del Folin-Ciocalteu. Los flavonoides fueron cuantificados por el método del cloruro de aluminio, como lo describe Zhishen *et al.* (1999). La capacidad antioxidante hidrofílica y lipofílica se determinó utilizando el radical DPPH, como se describe en Brand-Williams *et al.* (1995), con algunas modificaciones. Los compuestos hidrofílicos se extrajeron con metanol al 100% y los lipofílicos se extrajeron con hexano-acetona (1:1 v/v).

El contenido de prolina libre se cuantificó con el método descrito por Bates (1973). El peróxido de hidrogeno (H_2O_2) se cuantificó mediante la metodología descrita por Antoniou *et al.* (2018) utilizando yoduro de potasio como agente de reacción.

El contenido de aminoácidos del EAS se determinó de acuerdo con lo descrito por Yemm y Cocking (1955). AIA, tZ y monosacáridos del EAS se cuantificaron por HPLC, usando las metodologías de Bosco *et al.* (2013), Rivas-Martínez *et al.* (2016) y Rodríguez-Jasso *et al.* (2011), respectivamente. El resto de los metabolitos del EAS se determinó de acuerdo con las metodologías descritas anteriormente.

Para las determinaciones de pigmentos fotosintéticos, proteínas, actividad enzimática, GSH, fenoles totales, flavonoides, capacidad antioxidante, prolina y H_2O_2 se utilizó un espectrofotómetro Uv-Vis (Thermo Scientific Model G10S, Waltham, USA).

2.5. PCR con transcriptasa inversa en tiempo real

Se utilizó el reactivo TRIzol (TRI Reagent®) para la extracción de RNA de las hojas de las plántulas de tomate, posteriormente se purificó con cloroformo y se precipitó con isopropanol, de acuerdo en lo descrito por Cui *et al.* (2004) El RNA se trató con DNase I (Sigma-Aldrich, USA) y se cuantificó por medio de un

espectrofotómetro Uv-Vis, con la relación de A_{260}/A_{280} nm, y la calidad se determinó mediante electroforesis desnaturante. Se realizó la síntesis de cDNA utilizando el kit comercial Bioline (SensiFAST cDNA Synthesis Kit). Los primers correspondieron a un gen endógeno (actina) y nueve genes de estudio: *NCED1* (9-cis-expoxicarotenoide dioxigenasa 1), *HSP70* (proteína de choque térmico), *PIP2* (acuaporina), *P5CSI* (delta1-pirrolina-5-carboxilato sintasa 1), *ERD15* (proteína de embriogénesis tardía), *Fe-SOD* (superóxido dismutasa de hierro), *CAT1* (catalasa), *cAPX2* (ascorbato peroxidasa citosólica) y *PAL5-3* (fenilalanina amonio liasa). Los primers fueron diseñados utilizando el software Primer BLAST (National Center for Biotechnology Information NCBI, Bethesda, USA) y Oligoanalyzer 3.1 (Integrated DNA Technologies IDT, Coralville, USA) a excepción de *ERD15*, *Fe-SOD* y *cAPX2* que se obtuvieron de Ziaf *et al.* (2016) y Mascia *et al.* (2010), respectivamente. Las secuencias de los primers utilizados se describen en la Tabla 2.

Tabla 2. Secuencia de primers de los genes analizados.

Gen	Forward Primer 5'-3'	Reverse Primer 5'-3'
<i>ACT</i>	CCCAGGCACACAGGTGTTA	CAGGAGCAACTCGAAGCTC
<i>NCED1</i>	CTTATTTGGCTATCGCTGAACC	CCTCCAACCTTCAAACCTCATTGC
<i>HSP70</i>	TGCTGGAGGTGTTATGACCA	GACTCCTCTTGGTGCTGGAG
<i>PIP2</i>	CTGCACCGTTGCTCGATTTT	GCGACAGTGACGTAGAGGAA
<i>P5CSI</i>	CTGTTGTGGCTCGAGCTGAT	GACGACCAACACCTACAGCA
<i>ERD15</i>	AGGCATCAAGTCATCACTCTCTGGT	GAGGTAAATGTGAGTAAGAACCAACG
<i>Fe-SOD</i>	CTGGGAATCTATGAAGCCCAACGGA	CAAATTGTGTTGCTGCAGCTGCCTT
<i>CAT1</i>	TCGCGATGGTGCTATGAACA	CTCCCCTGCCTGTTTGAAGT
<i>cAPX2</i>	GTGACCACTTGAGGGACGTGTTTGT	ACCAGAACGCTCCTTGTGGCATCTT
<i>PAL5-3</i>	GGAGGAGAATTTGAAGAATGCTGTG	TCCCTTCCACCACTTGTAGC

Las reacciones de PCR en tiempo real se realizaron en el equipo Applied Biosystems StepOne™ Equipment versión 2.3 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) mediante el método $\Delta\Delta C_t$ midiendo la intensidad de fluorescencia del SYBR™ Select Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). La reacción de PCR se realizó en un volumen de 20 μ L para todos los genes (10 μ L Master Mix, 1 μ L de cDNA, la concentración de primers y agua libre de nucleasas). Para el gen de actina, la concentración de primer forward fue de 72 nM y 60 nM del primer reverse. Para el gen *NCED1*, *ERD15*, *cAPX2* y *Fe-SOD*, la concentración de los primers fue de 300 nM equimolar. Para el gen *HSP70*, la concentración de primer forward fue de 80 nM y 100 nM del primer reverse. Para el gen *PIP2* y *P5CSI*, la concentración de los

primers fue de 100 nM equimolar. . Para el gen *CAT1*, la concentración de los primers fue de 200 nM equimolar. Para el gen *PAL5-3*, la concentración de primer forward fue de 150 nM y 100 nM del primer reverse. La PCR en tiempo real se corrió bajo las siguientes condiciones: 10 min a 95 °C y PCR (40 ciclos), 15 s a 95 °C y 1 min a 60 °C.

2.6. Diseño experimental y análisis de datos

Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial 3*2, considerando 20 repeticiones por tratamiento. Se realizó un análisis de varianza y prueba de medias LSD de Fisher ($p \leq 0.05$). Todos los procedimientos estadísticos se realizaron utilizando el software Infostat (v2020). Los mapas de calor para la expresión de los genes se llevaron a cabo en el software estadístico GraphPad Prism 8.

3. Resultados

3.1. Crecimiento y biomasa de las plántulas

El estrés por NaCl afectó negativamente los parámetros de crecimiento de las plántulas de tomate, sin embargo, con la aplicación del EAS se mejoraron estas variables (Tabla 3 y Figura 2). Se puede apreciar de manera general que todos los tratamientos estresados mostraron valores por debajo de los que no fueron estresados. El tratamiento que mostró los mejores resultados en las diferentes evaluaciones fue el EAS, el cual, incrementó la altura al final de la prueba en un 55.63%, el diámetro del tallo en un 48.42% y el número de hojas en un 29.54%, en comparación al CA + NaCl, el cual, fue el más bajo. En cuanto a los tratamientos estresados se puede observar que en altura y número de hojas son estadísticamente iguales, pero no para el diámetro de tallo, donde el mejor fue el EAS + NaCl, superando al CA + NaCl en un 14.76% (11 DDT), 14.88% (21 DDT) y 16.04% (31 DDT), siendo este el más afectado.

Tabla 3. Parámetros de crecimiento de las plántulas de tomate.

Evaluación	Tratamiento	Altura de plántula (cm)	Diámetro de tallo (mm)	Número de hojas
11 DDT	CA	12.00 ± 0.73 bc	3.18 ± 0.23 bc	6.00 ± 0.00 b
	PCAN	12.66 ± 1.05 b	3.22 ± 0.27 b	6.60 ± 0.55 b
	EAS	14.04 ± 1.43 a	3.54 ± 0.32 a	7.40 ± 0.89 a
	CA + NaCl	11.18 ± 0.60 c	2.71 ± 0.14 d	6.00 ± 0.71 b
	PCAN + NaCl	11.50 ± 0.94 bc	2.91 ± 0.15 cd	6.20 ± 0.45 b
	EAS + NaCl	11.72 ± 0.91 bc	3.11 ± 0.18 bc	6.40 ± 0.55 b
21 DDT	CA	24.02 ± 0.84 a	3.81 ± 0.15 bc	8.20 ± 0.45 c
	PCAN	25.40 ± 1.91 a	4.05 ± 0.25 ab	8.80 ± 0.45 b
	EAS	26.20 ± 2.79 a	4.28 ± 0.30 a	9.60 ± 0.55 a
	CA + NaCl	19.18 ± 1.27 b	3.09 ± 0.14 d	7.80 ± 0.45 c
	PCAN + NaCl	20.78 ± 1.71 b	3.16 ± 0.18 d	8.00 ± 0.00 c
	EAS + NaCl	20.97 ± 0.67 b	3.55 ± 0.16 c	8.00 ± 0.00 c
31 DDT	CA	35.60 ± 0.45 b	4.51 ± 0.15 c	10.20 ± 0.45 b
	PCAN	36.80 ± 2.68 ab	4.83 ± 0.35 b	11.00 ± 0.71 a
	EAS	38.38 ± 2.62 a	5.18 ± 0.30 a	11.40 ± 0.55 a
	CA + NaCl	24.66 ± 1.09 c	3.49 ± 0.14 e	8.80 ± 0.45 c
	PCAN + NaCl	26.00 ± 0.60 c	3.56 ± 0.18 e	9.00 ± 0.00 c
	EAS + NaCl	26.44 ± 1.26 c	4.05 ± 0.16 d	9.20 ± 0.45 c

Letras diferentes dentro de cada columna indica diferencias significativas entre tratamientos (LSD, $p \leq 0.05$). DDT: Días después del trasplante; CA: Control absoluto; PCAN: Producto comercial de *A. nodosum*; EAS: Extracto de alga *Sargassum* spp.; NaCl: 100 mM de cloruro de sodio; n = 5 ± DE.

En cuanto a la biomasa fresca y seca de las plántulas se aprecia que el estrés la afectó negativamente, en comparación a los tratamientos que no fueron estresados (Tabla 4). Se puede observar que para la biomasa fresca y seca total el mejor tratamiento fue el EAS, el cual, superó al CA + NaCl 1.7 y 1.6 veces, respectivamente, siendo este el más bajo. Referente a los tratamientos estresados se aprecia que el EAS + NaCl incrementó la biomasa en comparación al CA + NaCl y PCAN + NaCl, sin embargo, no son estadísticamente diferentes a excepción de la biomasa seca de la raíz, donde el EAS + NaCl, superó al CA + NaCl en un 51.35%.

Tabla 4. Biomasa fresca y seca de las plántulas de tomate al final del experimento.

Tratamiento	BFV (g)	BFR (g)	BFT (g)	BSV (g)	BSR (g)	BST (g)
CA	19.58 ± 1.34 b	3.95 ± 2.24 a-c	23.53 ± 3.14 b	3.52 ± 0.14 b	0.84 ± 0.09 b	4.36 ± 0.21 b
PCAN	20.49 ± 2.43 b	5.91 ± 3.55 a	26.40 ± 5.54 ab	3.69 ± 0.44 b	0.90 ± 0.13 b	4.59 ± 0.57 b
EAS	23.02 ± 1.51 a	5.04 ± 1.71 ab	28.06 ± 3.10 a	4.03 ± 0.33 a	1.12 ± 0.17 a	5.15 ± 0.43 a
CA + NaCl	9.32 ± 0.93 c	1.04 ± 0.57 d	10.36 ± 1.48 c	1.55 ± 0.14 c	0.37 ± 0.09 d	1.92 ± 0.23 c
PCAN + NaCl	10.04 ± 0.85 c	2.22 ± 1.41 cd	12.27 ± 2.23 c	1.61 ± 0.15 c	0.43 ± 0.07 cd	2.04 ± 0.21 c
EAS + NaCl	11.06 ± 1.11 c	2.43 ± 1.35 b-d	13.49 ± 2.02 c	1.72 ± 0.10 c	0.56 ± 0.15 c	2.28 ± 0.20 c
CV (%)	9.37	59.09	16.82	9.36	17.43	10.00

Letras diferentes dentro de cada columna indica diferencias significativas entre tratamientos (LSD, $p \leq 0.05$). CA: Control absoluto; PCAN: Producto comercial de *A. nodosum*; EAS: Extracto de alga *Sargassum* spp.; NaCl: 100 mM de cloruro de sodio; BFV: Biomasa fresca del vástago; BFR: Biomasa fresca de raíz; BFT: Biomasa fresca total; BSV: Biomasa seca del vástago; BSR: Biomasa seca de raíz; BST: Biomasa seca total; CV: Coeficiente de variación; n = 5 ± DE.

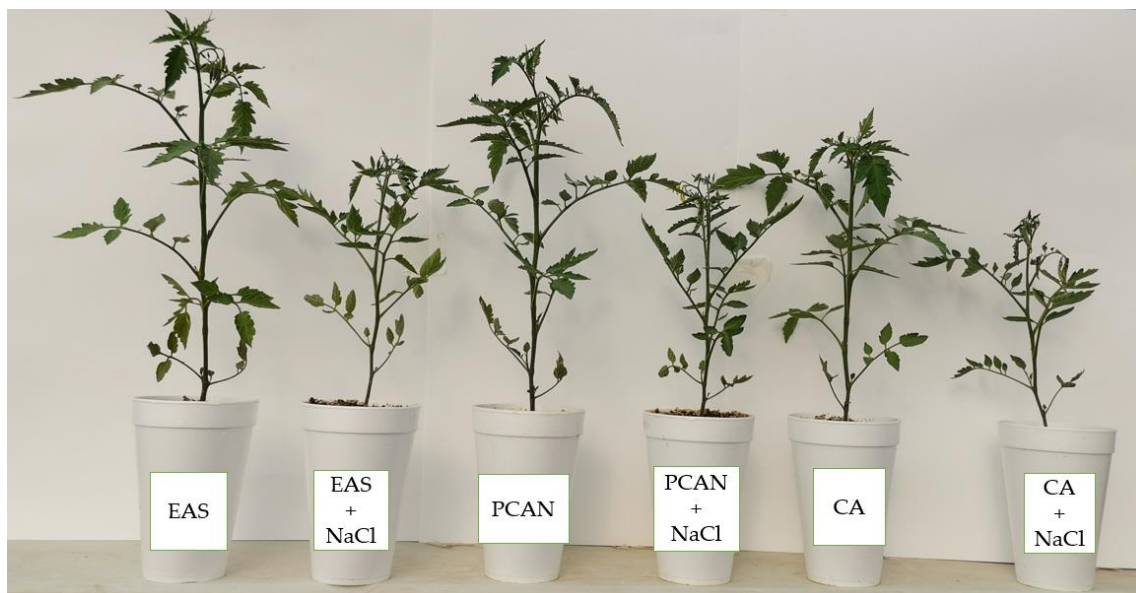


Figura 2. Plántulas de tomate en el ensayo experimental. EAS: Extracto de alga *Sargassum* spp.; PCAN: Producto comercial de *A. nodosum*; CA: Control absoluto; NaCl: 100 mM de cloruro de sodio.

3.2. Conductancia estomática de las hojas

Los resultados muestran diferencias significativas entre tratamientos, el estrés por NaCl causó una disminución en la conductancia estomática en comparación a los tratamientos que no fueron estresados (Figura 3). De forma general se observa que el tratamiento que presentó la conductancia más alta en las tres evaluaciones fue el EAS, superando al CA + NaCl dos veces (11 DDT), 2.6 veces (21 DDT) y 25 veces (31 DDT), el cual, fue el más bajo. Respecto a los tratamientos estresados en la primera evaluación se observa que el EAS + NaCl fue el que estadísticamente fue mayor al superar al CA + NaCl en un 49.70%, en la segunda evaluación no existieron diferencias entre los tratamientos y en la tercera evaluación nuevamente el EAS + NaCl superó al CA + NaCl cuatro veces.

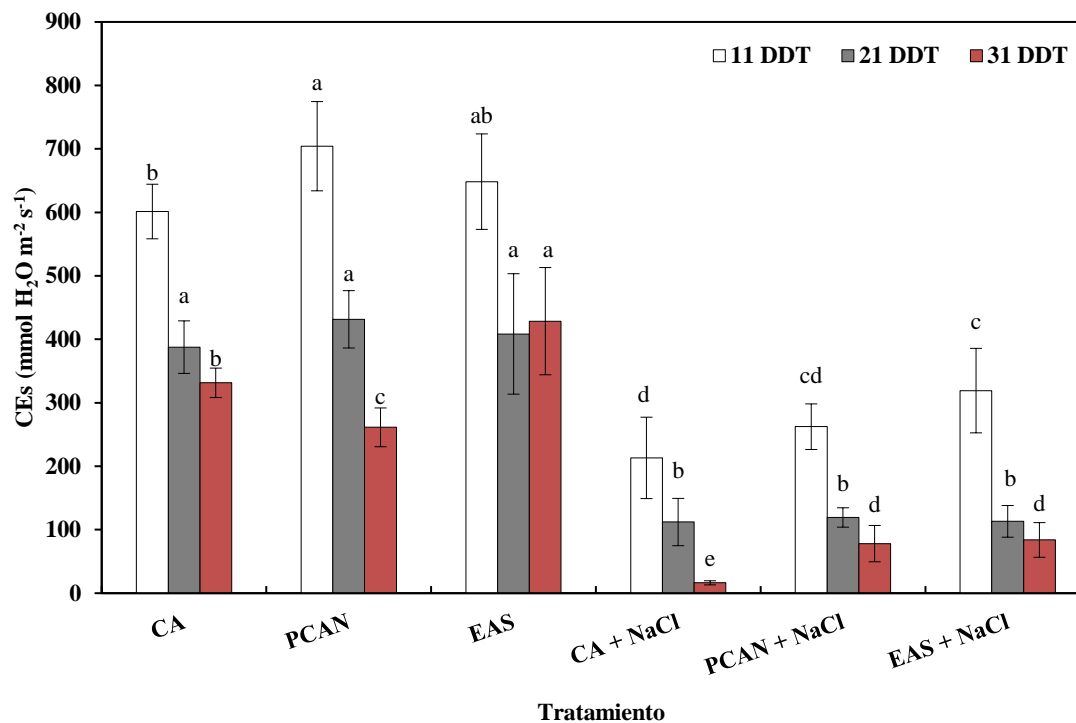


Figura 3. Conductancia estomática en las hojas de plántulas de tomate. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (LSD, $p \leq 0.05$). DDT: Días después del trasplante; CEs: Conductancia estomática; CA: Control absoluto; PCAN: Producto comercial de *A. nodosum*; EAS: Extracto de alga *Sargassum* spp.; NaCl: 100 mM de cloruro de sodio. $n = 5 \pm$ los intervalos de las barras representan la DE.

3.3. Pigmentos fotosintéticos

Los resultados fueron consistentes respecto al contenido de clorofila y carotenoides, donde todos los tratamientos que fueron estresados incrementaron el contenido de clorofila *a*, *b* y total en todos los muestreos, aunado a esto, con el uso del EAS se aumentó la concentración. En el caso de los carotenoides se aprecia que con el estrés se disminuyó su concentración en comparación a los tratamientos que no se estresaron (Figura 4).

El tratamiento que mejores resultados propicio fue el EAS + NaCl, el cual, aumentó la clorofila *a*, *b* y total en los tres muestreos. De manera general en clorofila total el EAS + NaCl superó al CA en un 20.70% (11 DDT), 46.41% (21 DDT) y 33.81% (31 DDT). En cuanto a los carotenoides el EAS superó al CA en un 13.95% (11 DDT) y

40% (31 DDT), en el segundo muestreo no existieron diferencias. Los tratamientos estresados no mostraron diferencias en ningún muestreo en cuanto a los carotenoides.

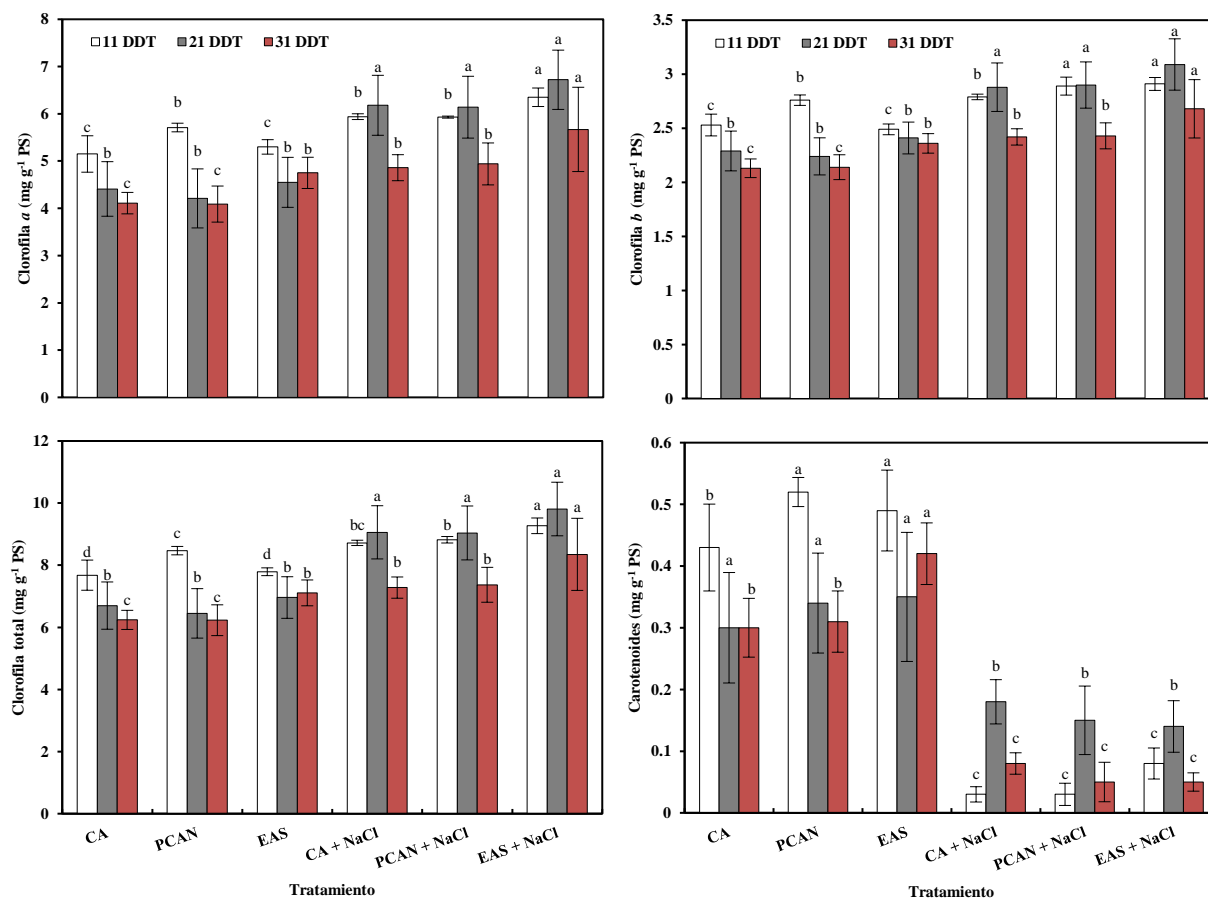


Figura 4. Pigmentos fotosintéticos en las hojas de las plántulas de tomate. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (LSD, $p \leq 0.05$). DDT: Días después del trasplante; PS: Peso seco; CA: Control absoluto; PCAN: Producto comercial de *A. nodosum*; EAS: Extracto de alga *Sargassum* spp.; NaCl: 100 mM de cloruro de sodio. $n = 5 \pm$ los intervalos de las barras representan la DE.

3.4. Actividad enzimática y proteínas totales

Los resultados indican que existieron diferencias significativas entre tratamientos (Figura 5). Para la actividad de SOD los tratamientos estresados aumentaron la actividad en comparación a los que no se estresaron. En los dos primeros muestreos de los tratamientos estresados no existieron diferencias significativas, solo en el último

muestreo (31 DDT), donde el PCAN + NaCl fue el mayor al superar al CA + NaCl en un 41.26%, el cual, fue el más bajo dentro de los estresados. En cuanto a los tratamientos que no se estresaron no existieron diferencias significativas en ningún muestreo. En la actividad de CAT en el primer muestreo el EAS fue el mejor, superando en un 87.03% al CA, en el segundo muestreo no existieron diferencias y en el tercer muestreo el EAS + NaCl superó en 2.9 veces al CA. En la actividad APX se puede apreciar que los tratamientos estresados y con el uso de EAS se incrementó su actividad. El EAS + NaCl fue el mejor en los tres muestreos al superar al CA en un 141.93% (11 DDT), 117.48% (21 DDT) y 82.11% (31 DDT).

En la actividad PAL el EAS + NaCl modificó positivamente la actividad de la enzima al superar al CA en un 12.07% (11 DDT), 25.04% (21 DDT) y 30% (31 DDT). Los tratamientos no estresados mostraron las actividades más bajas. Para proteínas totales únicamente existieron diferencias significativas en el primer muestreo, siendo los mejores los tratamientos no estresados, específicamente el PCAN y el EAS, los cuales, superaron al PCAN + NaCl en un 21.52 y 19.43% respectivamente, el cual, fue el más bajo.

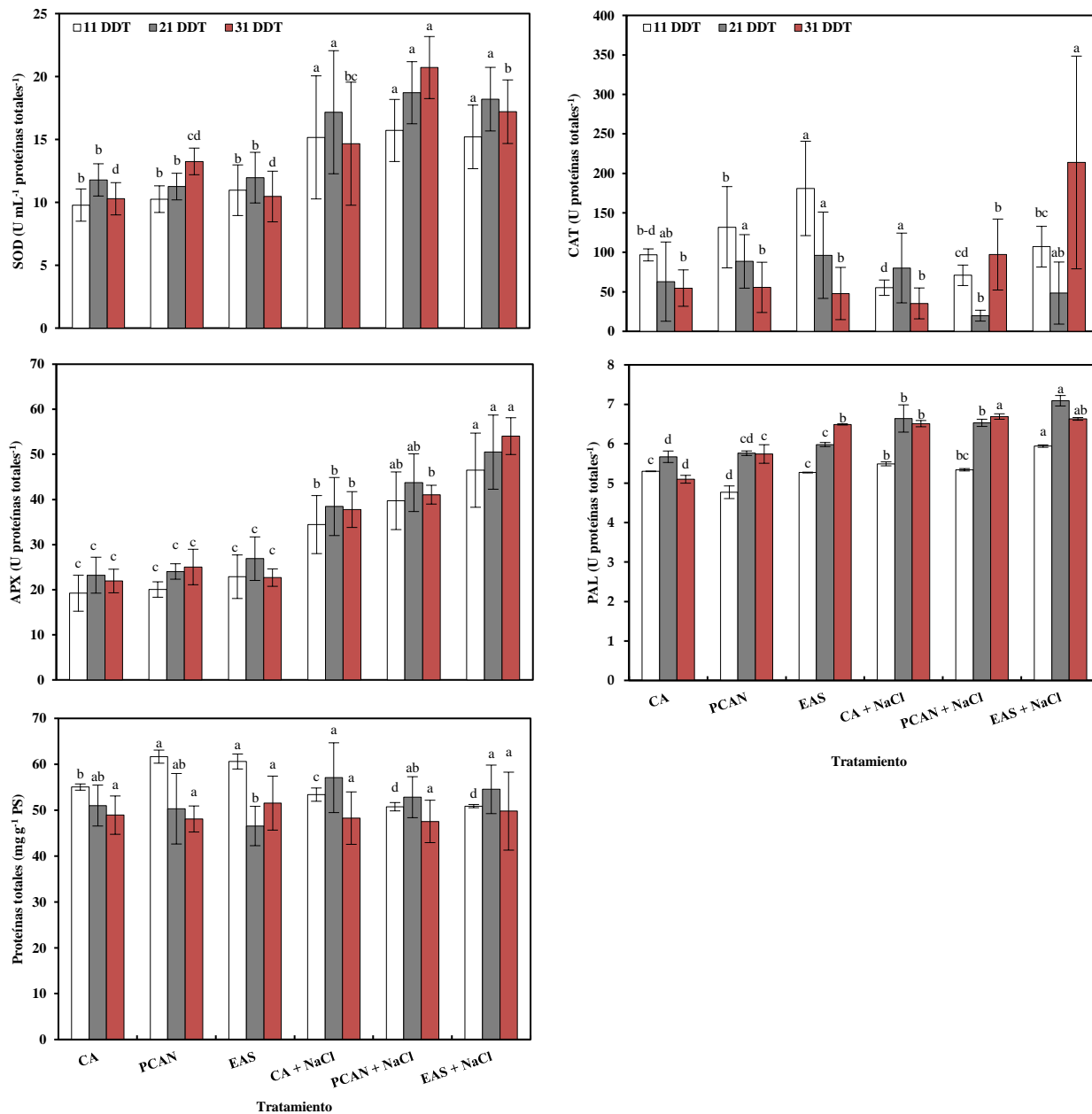


Figura 5. Actividad enzimática y proteínas totales en las hojas de plántulas de tomate. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (LSD, $p \leq 0.05$). DDT: Días después del trasplante; SOD: Superóxido dismutasa; CAT: Catalasa; APX: Ascorbato peroxidasa; PAL: Fenilalanina amonio liasa; PS: Peso seco; CA: Control absoluto; PCAN: Producto comercial de *A. nodosum*; EAS: Extracto de alga *Sargassum* spp.; NaCl: 100 mM de cloruro de sodio. $n = 5 \pm$ los intervalos de las barras representan la DE.

3.5. Antioxidantes hidrofílicos y capacidad antioxidante

En cuanto al contenido de antioxidantes hidrofílicos y capacidad antioxidante en las hojas, los resultados mostraron diferencias significativas con respecto al control en los tres muestreos (Figura 6). En el contenido de ácido ascórbico el EAS + NaCl en sus tres muestreos fue el que obtuvo la mayor acumulación, superando en un 53.95% (11 DDT), 1.2 veces (21 DDT) y 13.4 veces (31 DDT) al CA, que fue el que presentó las menores concentraciones. Respecto al GSH, el tratamiento que aumentó su concentración fue el PCAN + NaCl, superando al CA en un 5.21% (11 DDT) y 8.58% (21 DDT), en el tercer muestreo no existieron diferencias.

En el contenido de fenoles totales, todos los tratamientos estresados incrementaron su concentración, en comparación a los tratamientos que no fueron estresados. El EAS + NaCl fue el que presentó los mejores resultados y superó al CA en un 18.01% (11 DDT), 1.2 veces (21 DDT) y 64.57% (31 DDT). En el contenido de flavonoides fue similar al de fenoles totales, donde todos los tratamientos estresados incrementaron su concentración, en comparación a los no estresados. De la misma manera el EAS + NaCl fue el que presentó la mayor acumulación de flavonoides donde incrementó en un 22.26% (11 DDT), 71.29% (21 DDT) y 55.11% (31 DDT) su concentración, en comparación con el CA.

En cuanto a la capacidad antioxidante hidrofílica se aprecia que los tratamientos que la incrementaron son los que fueron estresados. En el primer muestreo el mejor tratamiento fue el PCAN + NaCl, el cual, superó al CA en un 19.21%, en el segundo muestreo de la misma manera el PCAN + NaCl fue el que aumentó en mayor medida la capacidad antioxidante, pero es estadísticamente igual al CA, en el tercer muestreo el EAS + NaCl fue el mejor, al aumentar en un 3.75% la capacidad en comparación al CA.

Para la capacidad antioxidante lipofílica se observó que los tratamientos que no fueron estresados la incrementaron en comparación a los estresados, sin embargo, en el segundo muestreo no existen diferencias significativas entre tratamientos y en el tercer muestreo el EAS + NaCl es estadísticamente igual a los tratamientos no estresados. En el primer muestreo los mejores fueron el CA y el PCAN al aumentar la capacidad antioxidante lipofílica en un 19.56 y 13.04%, respectivamente en comparación con el

PCAN + NaCl, el cual, fue el más bajo. En el tercer muestreo el EAS fue el mejor, superando en un 19.60% al CA + NaCl que fue el más bajo.

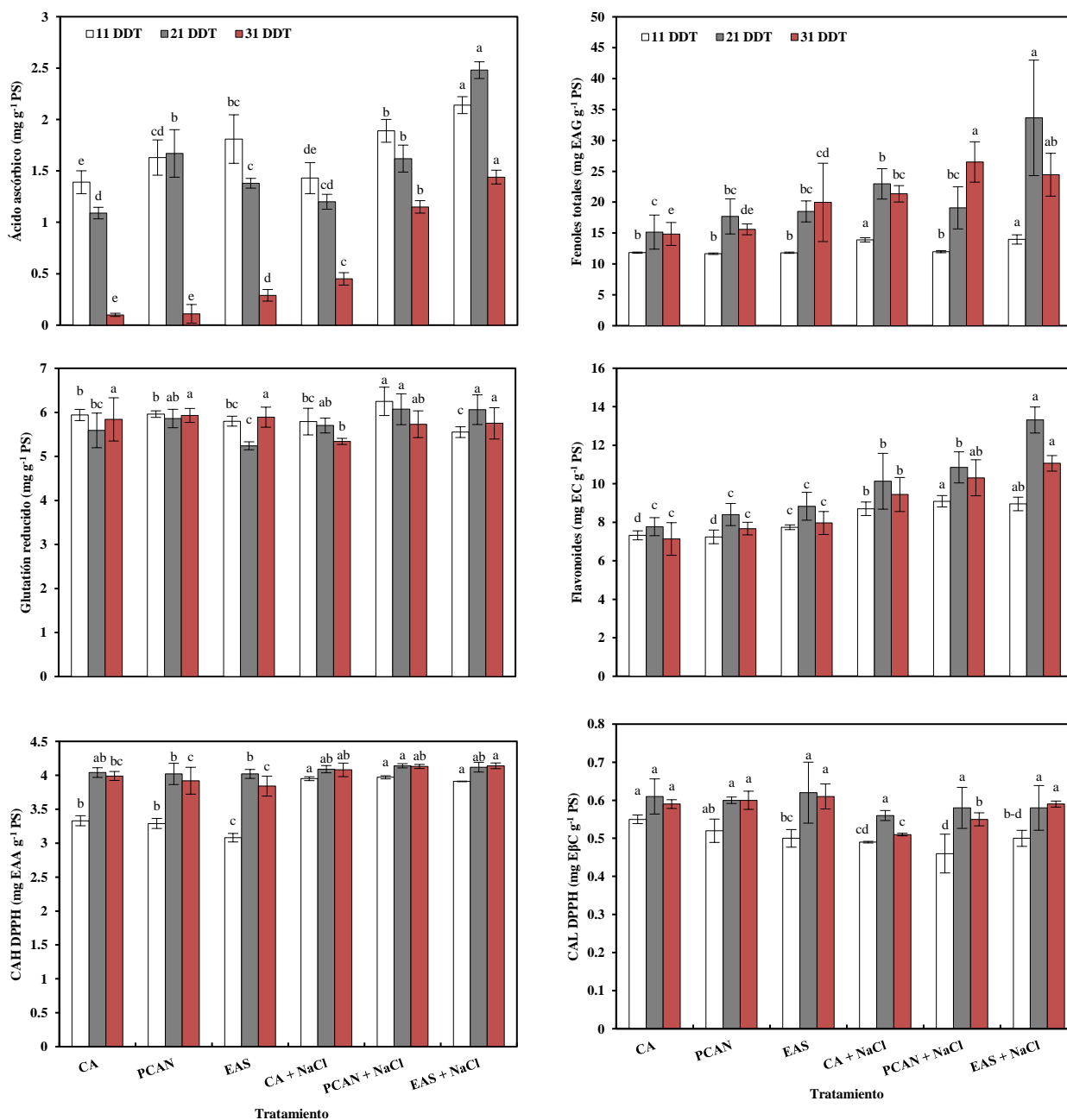


Figura 6. Antioxidantes hidrofílicos y capacidad antioxidante en las hojas de plántulas de tomate. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (LSD, $p < 0.05$). DDT: Días después del trasplante; PS: Peso seco; EAG: Equivalentes de ácido gálico; EC: Equivalentes de catequina; CAH: Capacidad antioxidante hidrofílica; DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo; EAA: Equivalentes de ácido ascórbico; CAL: Capacidad antioxidante lipofílica; EβC: Equivalentes de β-caroteno; CA: Control absoluto; PCAN: Producto comercial de *A. nodosum*; EAS: Extracto de alga *Sargassum* spp.; NaCl: 100 mM de cloruro de sodio. $n = 5$ excepto ácido ascórbico ($n = 4$) ± los intervalos de las barras representan la DE.

3.6. Prolina y peróxido de hidrogeno

Los resultados indican que existieron diferencias significativas entre tratamientos (Figura 7). Respecto al contenido de prolina los tratamientos que fueron estresados y con la aplicación de EAS incrementaron su concentración. El tratamiento EAS + NaCl fue el que en mayor medida incrementó la concentración de prolina en los tres muestreos, superando al CA en un 109.78% (11 DDT), 124.82% (21 DDT) y 146.66% (31 DDT). En el contenido de H₂O₂, los tratamientos estresados incrementaron su concentración, en comparación a los no estresados. El tratamiento que obtuvo la mayor acumulación de H₂O₂ en los tres muestreos fue el CA + NaCl, el cual, superó al CA en un 22.37% (11 DDT), 26.28% (21 DDT) y 35.23% (31 DDT).

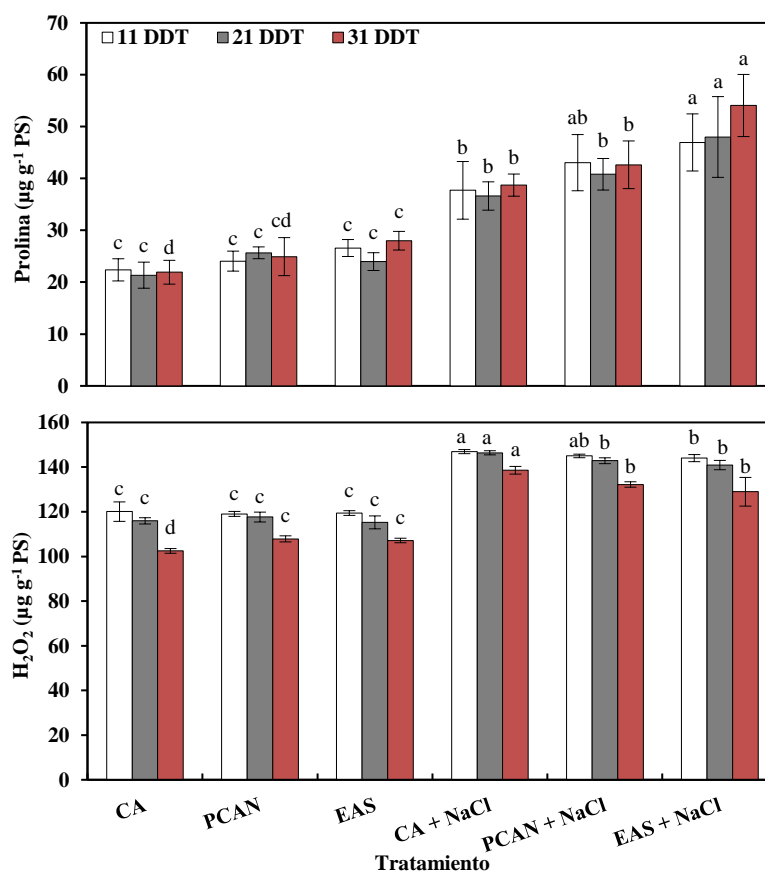


Figura 7. Prolina y peróxido de hidrogeno en las hojas de plántulas de tomate. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos. (LSD, $p \leq 0.05$). DDT: Días después del trasplante; PS: Peso seco; CA: Control absoluto; PCAN: Producto comercial de *A. nodosum*; EAS: Extracto de alga *Sargassum* spp.; NaCl: 100 mM de cloruro de sodio. $n = 5 \pm$ los intervalos de las barras representan la DE.

3.7. Expresión de genes de defensa

Los resultados indican que con el uso de los productos de algas (EAS y PCAN) y el estrés por NaCl se logró inducir la expresión de los genes evaluados en los tres muestreos (Figura 8). En el gen *NCEDI* el tratamiento EAS + NaCl incrementó la expresión 4.77 veces (11 DDT), 12.35 veces (21 DDT) y 2.24 veces (31 DDT), en comparación con el CA. En cuanto a los tratamientos no estresados, el EAS aumentó la expresión 1.35 veces (11 DDT), 2.36 veces (21 DDT) y 1.68 veces (31 DDT). El PCAN reprimió la expresión del gen (0.207 veces) a los 11 DAT.

En la expresión del gen *HSP70* a los 11 DDT el EAS superó al resto, incrementando la expresión 3.54 veces y EAS + NaCl y CA + NaCl reprimieron la expresión 0.9 y 0.75 veces, respectivamente, en comparación con el CA. A los 21 y 31 DDT, los tratamientos estresados superaron al resto en el nivel de expresión. A los 21 DDT el CA + NaCl aumentó en mayor medida la expresión (2.37 veces) y a los 31 DDT el EAS + NaCl la incrementó (2.13 veces) en comparación al CA. El PCAN a los 21 DDT reprimió la expresión de *HSP70* 0.58 veces.

En el gen *PIP2* los tratamientos estresados mostraron un mayor nivel de expresión en los tres muestreos. El EAS + NaCl aumentó la expresión 9.9 veces (11 DDT), 4.35 veces (21 DDT) y 2.65 veces (31 DDT) en comparación al CA. A los 11 DDT el EAS reprimió la expresión (0.68 veces) y a los 21 DDT el PCAN (0.87 veces).

En el gen *P5CS1* todos los tratamientos estresados incrementaron su expresión. A los 11 y 21 DDT el PCAN + NaCl fue el que aumentó en mayor medida la expresión (1.78 y 1.69 veces, respectivamente) y a los 31 DDT el EAS + NaCl (3.27 veces) en comparación con el CA. A los 21 DDT el PCAN reprimió la expresión 0.94 veces.

En cuanto al gen *ERD15* a los 11 DDT únicamente el EAS + NaCl y CA + NaCl incrementaron su expresión 1.14 y 2.08 veces, respectivamente en comparación con el CA. El resto de los tratamientos reprimieron la expresión. A los 21 y 31 DDT el EAS + NaCl elevó la expresión 2.1 y 2.94 veces, respectivamente. El PCAN a los 21 DDT reprimió su expresión 0.71 veces.

El gen *Fe-SOD* mostró un incremento en la expresión de los tratamientos estresados. A los 11 DDT el PCAN + NaCl incrementó la expresión 13.41 veces, a los 21 DDT el EAS + NaCl 3.7 veces y a los 31 DDT el PCAN + NaCl 43.38 veces en

comparación al CA. En los tratamientos no estresados el EAS fue el mejor al expresarse 1.53, 2.7 y 2.98 veces, respectivamente para 11, 21 y 31 DDT.

Para el gen *CAT1* a los 11 DDT el EAS + NaCl y CA + NaCl incrementaron su expresión 1.8 y 1.6 veces, respectivamente, en comparación al CA. El resto de los tratamientos reprimieron su expresión. A los 21 DDT los tratamientos que no fueron estresados incrementaron su expresión en comparación a los estresados. El EAS y el PCAN se expresaron 2.09 y 3.06 veces y el PCAN + NaCl se reprimió 0.78 veces. A los 31 DDT los tratamientos estresados se expresaron en gran medida, el EAS + NaCl 70.52 veces, el PCAN + NaCl 34.53 veces y CA + NaCl 2.15 veces.

El gen *cAPX2* mostró un incremento en la expresión en los tres muestreos para los tratamientos estresados. A los 11 DDT el PCAN + NaCl aumentó la expresión 9.25 veces, a los 21 y 31 DDT el EAS + NaCl aumentó la expresión en 3.07 y 63.64 veces.

La expresión del gen *PAL5-3* respecto a los tratamientos estresados se incrementó en gran medida en comparación a los no estresados. El EAS + NaCl fue el que más sobresalió, aumentando 4.1 veces (11 DDT), 31.07 veces (21 DDT) y 44.17 veces (31 DDT) en comparación al CA. El PCAN a los 11 DDT reprimió su expresión 0.51 veces.

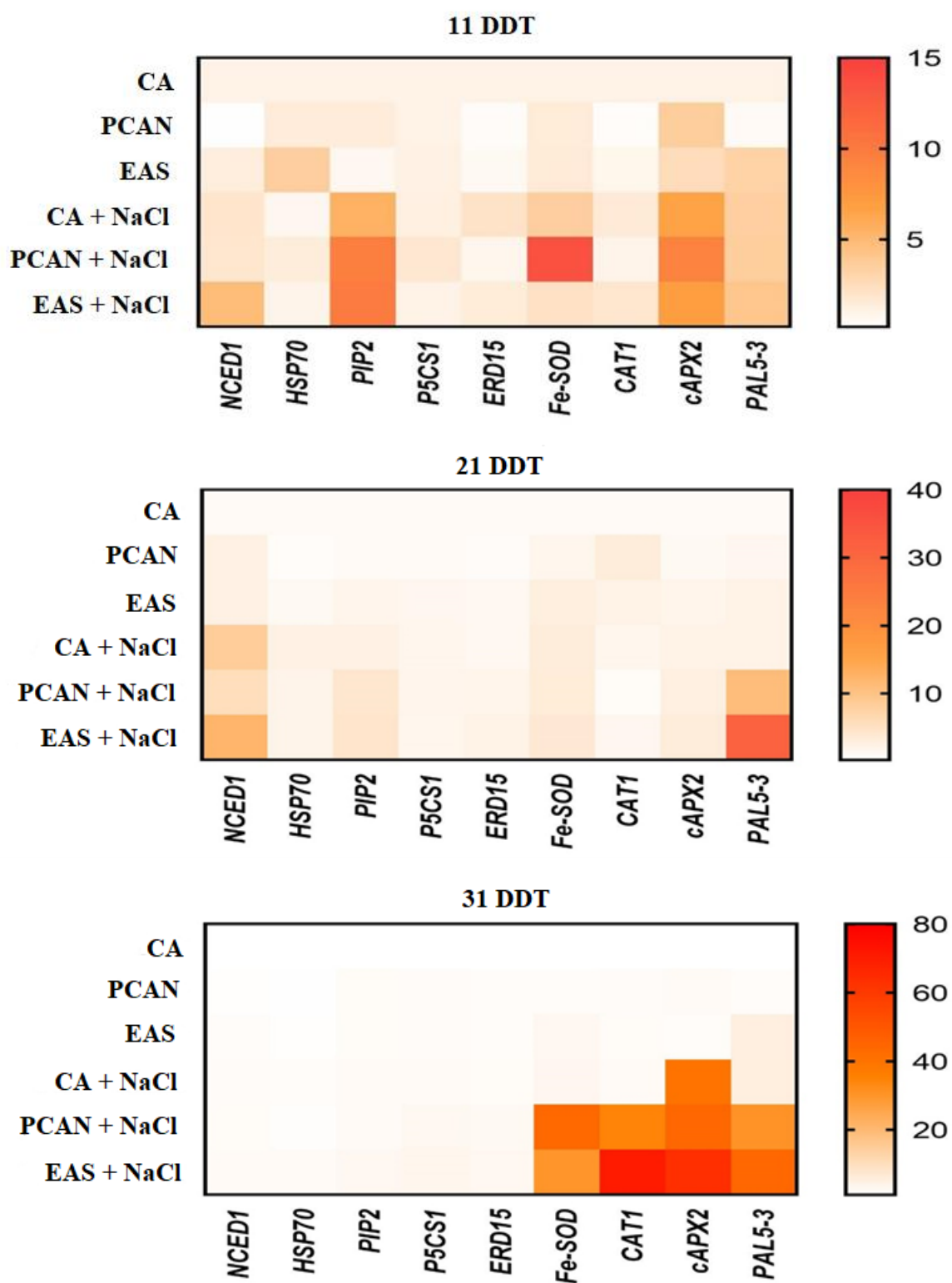


Figura 8. Mapas de calor de la expresión relativa de genes de defensa en hojas de plántulas de tomate. DDT: Días después del trasplante; CA: Control absoluto; PCAN: Producto comercial de *A. nodosum*; EAS: Extracto de alga *Sargassum* spp.; NaCl: 100 mM de cloruro de sodio. n = 4. El CA representa un valor constante de 1 en el nivel de expresión.

4. Discusión

4.1. Parámetros de crecimiento y biomasa de las plántulas

Los cultivos que se desarrollan en altas concentraciones de sales tienden a reducir su desarrollo y crecimiento, por lo cual, se reducen las producciones (Hernández-Hernández *et al.*, 2018b; Shin *et al.*, 2020; Medrano Macías *et al.*, 2021). El estrés salino en las plantas provoca un estrés osmótico, lo que, provoca que las mismas hagan un consumo extra de energía para poder absorber agua y nutrientes (Darko *et al.*, 2019; Zhu *et al.*, 2021). Este efecto es igual al producido por el estrés hídrico, donde la planta aumenta la respiración con la que produce energía para absorber agua (Turk, 2019; Che-Othman *et al.*, 2020). Debido a este consumo extra de energía, las plantas reducen el crecimiento y la acumulación de biomasa, como se observa en los resultados del presente estudio, sin embargo, el uso del EAS mejoró en cierta medida estos parámetros. Existen diferentes investigaciones que demuestran que los EAS tienen una influencia positiva en aspectos relacionados con el crecimiento y biomasa de las plantas. Abdel Latef *et al.* (2017) informan que los extractos de *Sargassum muticum* (1%) provocaron un efecto positivo en variables de crecimiento y biomasa del cultivo de garbanzo en condiciones de estrés por NaCl (50 y 150 mM). Por otro lado, Gharib *et al.* (2014) indican que la aplicación foliar de extractos de *Sargassum latifolium* (0.4%) incrementó los parámetros de crecimiento (altura) y biomasa (peso fresco y seco del vástago) de plantas de romero en condiciones de estrés por NaCl (100 mM). Aunado a esto también mencionan que los extractos en todas las concentraciones utilizadas mejoraron el crecimiento de las plantas en condiciones sin estrés.

Los efectos positivos son inducidos gracias a los compuestos bioestimulantes que el EAS contiene (fitohormonas, carbohidratos, proteínas, aminoácidos y glutatión), los cuales, ayudan a la planta en la absorción y translocación de nutrientes ante condiciones de estrés por Na, de igual manera, estimulan el metabolismo del carbono (C) y el nitrógeno (N) (Zubia *et al.*, 2008; Colla *et al.*, 2017; Waghmode *et al.*, 2019; Fleurence, 2021; Sariñana-Aldaco *et al.*, 2021). Por su parte las auxinas, principalmente el AIA controla procesos fisiológicos en las plantas, como la elongación y división celular (Chandra *et al.*, 2018). Las citoquininas, principalmente la tZ activan el crecimiento de yemas laterales y estimulan la translocación de nutrientes (Hönig *et al.*,

2018; Hai *et al.*, 2020). Por su parte los carbohidratos facilitan la asimilación y transporte de elementos minerales y son la mayor fuente de energía en las plantas (Bula-Meyer, 2004; Chen *et al.*, 2018). Los metabolitos nitrogenados (proteínas, aminoácidos y GSH) al ser fuente de nitrógeno y precursores hormonales modifican positivamente el metabolismo, lo que, mejora el crecimiento y acumulación de biomasa en las plantas (Hernández *et al.*, 2009; Hernández-Herrera *et al.*, 2014; Teixeira *et al.*, 2017).

4.2. Conductancia estomática

Este parámetro es una propiedad de los estomas de las plantas que le permiten la transmisión de vapor de agua hacia la atmosfera (Clavijo-Herrera *et al.*, 2018). Esta propiedad también funciona como indicador cuando las plantas están bajo déficit hídrico (Iseki *et al.*, 2020). Como ya se mencionó anteriormente el Na en las plantas causa un estrés hídrico que las priva de dicho recurso, ante esto tienden cerrar sus estomas y disminuir la conductancia estomática para evitar en lo más posible la pérdida de agua (Daszkowska-Golec *et al.*, 2013; Brodribb *et al.*, 2017). Los resultados de la presente investigación muestran que los tratamientos que fueron tratados con el EAS y el PCAN incrementaron la conductancia estomática, tanto en situaciones de estrés y sin estrés por NaCl. Resultados similares son reportados por Miceli *et al.* (2021) quienes indican que con el uso de extractos de *Ecklonia maxima* en el cultivo de lechuga se incrementó la conductancia estomática con todas sus concentraciones (1, 2 y 4 mL L⁻¹), en comparación con el control. Los resultados se deben a que los productos derivados de algas pardas contienen osmolitos como la prolina, glicina betaína y carbohidratos, compuestos que permiten el ajuste osmótico y facilitan la absorción de agua y nutrientes a las plantas (Blunden *et al.*, 1996; Annunziata *et al.*, 2019; Carrillo *et al.*, 2020). Estos osmolitos tiene la capacidad de retener agua dentro de las células y racionarla en condiciones de estrés osmótico (Karimi *et al.*, 2018), motivo por el cual se mejora la conductancia estomática. Es importante mencionar que a tasas más altas de conductancia estomática la acumulación de biomasa se mejora, hasta cierto punto, ya que la actividad fotosintética se incrementa por la mayor captación de dióxido de carbono (CO₂) (Iseki *et al.*, 2020), lo cual, se relaciona positivamente en este experimento.

4.3. Pigmentos fotosintéticos

Las clorofilas son los pigmentos más importantes con que cuentan las plantas, ya que, controlan la actividad fotosintética capturando energía lumínica solar (Queiroz Zepka *et al.*, 2019). No obstante, las clorofilas no son los únicos pigmentos que están involucrados en el proceso fotosintético, ya que, los carotenoides también juegan un papel importante al tener propiedades fotoprotectoras y capturar luz en regiones espectrales no cubiertas por las clorofilas, lo cual, amplía el rango de longitudes de onda sobre las cuales la luz puede ser utilizada en la fotosíntesis (Domonkos *et al.*, 2013; Collini, 2019). Los resultados de la presente investigación arrojaron que con el estrés por NaCl más el uso del EAS, se incrementó la concentración de clorofilas, pero se disminuyó la de carotenoides. Resultados similares muestran Hernández-Hernández *et al.* (2018b) quienes indican que el estrés por NaCl (100 mM) en las hojas de tomate aumentó la concentración de clorofilas, en comparación con los tratamientos que no fueron estresados. También indican que el estrés aumentó la concentración de carotenoides, lo cual, difiere con el presente experimento. De igual forma Morales-Espinoza *et al.* (2019) indican que el estrés por NaCl (50 mM) incrementó la concentración de clorofilas en las hojas de tomate, en comparación al tratamiento control. Zou *et al.* (2019) en su experimento indican que el estrés por NaCl (150 mM) causó una disminución significativa del contenido de clorofila *a* y *b* en plántulas de trigo, sin embargo, con el uso de polisacáridos derivados del alga parda *Lessonia nigrescens* se aumentó el contenido. Vijayanand *et al.* (2014) mencionan que con la aplicación foliar de extractos de *Sargassum wightii* (1.5%) se mejoró el contenido de clorofila *a* y *b* en plantas de frijol.

Los resultados en primera instancia son causados por el estrés por NaCl, el cual, provoca que las plantas hagan más eficiente el proceso fotosintético, aumentando la concentración de clorofilas, hasta cierto punto, a causa de la limitación de agua y nutrientes (Khoshbakht *et al.*, 2015). La capacidad fotosintética de las hojas está estrechamente relacionada con el contenido de nitrógeno (N), ya que, las proteínas que conforman los tilacoides y las que tienen función en el ciclo de Calvin representan la mayoría del N foliar (Latsague *et al.*, 2014; Sánchez *et al.*, 2018). De esta manera el EAS al ser fuente de metabolitos nitrogenados (proteínas, aminoácidos y GSH) tienen la

capacidad de incrementar la concentración de los pigmentos. De la misma manera el EAS contiene glicina betaína, este es una amina cuaternaria que además de ser fuente de N, su rol principal está en la mejora de la actividad fotosintética, ya que, protege a las clorofilas de la oxidación (Blunden *et al.*, 1996; Estaji *et al.*, 2019). En cuanto a los carotenoides, los resultados son atribuidos a que son pigmentos encargados de la detoxificación de radicales libres y de la disipación de energía en exceso, por lo cual, al existir un estrés severo, serán los primeros pigmentos en oxidarse, protegiendo a las clorofilas (Collini, 2019).

4.4. Actividad enzimática, Antioxidantes hidrofílicos y capacidad antioxidante

Las plantas, son organismos sésiles y para sobrevivir y reproducirse, no solo necesitan crecer y desarrollarse, sino que también deben de tolerar y adaptarse continuamente al estrés (patógenos, sequia, temperaturas extremas, salinidad, entre otros) (González-Morales *et al.*, 2021b; Kim *et al.*, 2021; Oberkofler *et al.*, 2021). Ante esta situación activan el sistema antioxidante enzimático y no enzimático, que se encargan de proteger a las células contra las ERO que se producen por el estrés (Haida *et al.*, 2019; González-Morales *et al.*, 2021b; Zhou *et al.*, 2021). El sistema antioxidante enzimático es la primera línea de defensa en las plantas que neutraliza a las ERO, estas enzimas incluyen la SOD, CAT, APX y glutatión peroxidasa (GPX) (Haida *et al.*, 2019; Rajput *et al.*, 2021). Existen otras enzimas que no están catalogadas como antioxidantes, sin embargo, están involucradas indirectamente y una de ellas es la PAL, la cual, cataliza la primera reacción de la ruta de los fenilpropanoides, compuestos con alta capacidad antioxidante (Hsieh *et al.*, 2021). Los antioxidantes no enzimáticos, ya sean, hidrofílicos (fenoles, GSH y ácido ascórbico) o lipofílicos (carotenoides) son la segunda línea de defensa y se encargan de inhibir la producción de daños causados por la reacción oxidativa (Dumanović *et al.*, 2021; Haida *et al.*, 2019).

Los resultados de la presente investigación muestran que con el estrés y los productos de algas pardas (EAS y PCAN) se logró incrementar la actividad de las enzimas y la acumulación de antioxidantes hidrofílicos y capacidad antioxidante hidrofílica. Sofy *et al.* (2017) mencionan que con el uso de extractos de *S. latifolium* (30%) en plantas de cebada bajo condiciones salinas (NaCl 75 y 150 mM) se

incrementó la actividad de las enzimas SOD, CAT y POD. De la misma manera Elansary *et al.* (2017) reportan un incremento en la actividad de la APX con el uso de extractos de *A. nodosum* (5 y 7 mL L⁻¹) en *Paspalum vaginatum* bajo condiciones de estrés por NaCl (49.7 dS m⁻¹). Aitouguinane *et al.* (2020) indican que el uso de alginatos y oligoalginatos aislados del alga parda *Bifurcaria bifurcata* en plántulas de tomate incrementaron la actividad de la enzima PAL, lo que, se correlacionó positivamente con el aumento de fenoles totales, lo cual, coincide con el presente estudio.

Resultados similares son reportados por Hashem *et al.* (2019) quienes mencionan que el uso del alga parda *Cystoseira* spp. en el cultivo de canola bajo condiciones de estrés por NaCl (75 y 150 mM) se incrementaron los fenoles totales, flavonoides, antocianinas y capacidad antioxidante DPPH. Kumari *et al.* (2011) mencionan que la aplicación foliar, en drench y combinada de extractos (10%) de *Sargassum johnstonii* incrementó el contenido de fenoles, ácido ascórbico y licopeno en hojas y frutos de tomate.

Los resultados son producto del estrés causado y de la aplicación de los productos de alga. El estrés por NaCl al provocar déficit hídrico, nutricional y toxicidad conduce a la sobreproducción de ERO en las células vegetales, y por ende a la activación del sistema antioxidante enzimático y no enzimático que detoxifica en cierta medida a las células de las ERO (Hernández-Hernández *et al.*, 2018b; Taha *et al.*, 2020, 2021; Zhou *et al.*, 2021). En cuanto a los extractos de algas pardas, estos también activan el sistema de defensa de las plantas. Shukla *et al.* (2019) indican que los metabolitos presentes en los extractos inducen el incremento y síntesis de antioxidantes como los enzimáticos y no enzimáticos. En la presente investigación se puede apreciar que el estrés provocó una disminución de carotenoides, lo cual, se correlaciona con la menor capacidad antioxidante lipofílica, sin embargo, el uso del EAS en situaciones de estrés ayudó a mejorar en cierta medida esta capacidad antioxidante, en comparación al CA + NaCl.

4.5. Proteínas totales, prolina y peróxido de hidrogeno

Las proteínas son de basta importancia en el metabolismo de las plantas. Existen proteínas catalizadoras, de transporte, estructurales, de defensa y de reserva, las cuales,

intervienen en todos los procesos metabólicos de las plantas (Prins *et al.*, 2008; Weng *et al.*, 2012; Ali *et al.*, 2018; Radhakrishnan, 2018; Dhara *et al.*, 2021). En el presente estudio se observa que solo en el primer muestreo (11 DDT) existieron diferencias estadísticas significativas. En dicho muestreo se aprecia que los tratamientos sin estrés, específicamente EAS y PCAN, incrementaron la concentración de proteínas, en comparación a los tratamientos estresados. Sofy *et al.* (2017) reportan en su estudio, que con la aplicación de NaCl al 75 y 150 mM en el cultivo de cebada se disminuyó el contenido de proteínas, pero con la aplicación de extractos de *S. latifolium* se incrementó sustancialmente. Los resultados son atribuidos a los productos de algas, ya que, contienen metabolitos nitrogenados como las proteínas, aunado a esto estimulan la síntesis de estas en las plantas (Rouphael *et al.*, 2018). Las ERO que se generan a causa del estrés provocan la oxidación de lípidos, ácidos nucleicos y proteínas, motivo por el cual, se cree que disminuyeron con el estrés por NaCl (Sachdev *et al.*, 2021).

La prolina es un aminoácido que en condiciones normales se encuentra en bajas cantidades en las plantas, sin embargo, en condiciones de estrés aumenta su concentración para actuar como agente osmótico, protegiendo a las células de la deshidratación, aunado a esto, también tiene funciones antioxidantes (El-Beltagi *et al.*, 2020; Nguyen *et al.*, 2021). Se puede apreciar que, en este estudio, en condiciones de estrés por NaCl y con el uso del EAS se incrementó la concentración de prolina. Resultados similares muestran Zou *et al.* (2021) al indicar que con estrés por NaCl al 120 mM y el uso de fucoidan extraído del alga parda *Macrocystis pyrifera* se incrementó el contenido de prolina en comparación con el control en plántulas de trigo. Los resultados son producto del estrés causado y por el uso del EAS. Cuando existe algún estrés osmótico las plantas aumentan la concentración de osmolitos, como la prolina, glicina betaínas y carbohidratos, compuestos que permiten el ajuste osmótico y facilitan la absorción de agua y nutrientes por las plantas (Chun *et al.*, 2018; Annunziata *et al.*, 2019; Arnao *et al.*, 2021). Estos osmolitos también participan en el mantenimiento de la estructura de las proteínas bajo condiciones estresantes (Mao *et al.*, 2019). El EAS, como ya se mencionó anteriormente, contiene este tipo de osmolitos, razón por la cual, se incrementó en mayor medida la concentración de prolina.

El metabolismo de las plantas al ser sometido a estrés empieza a producir ERO, entre ellas H_2O_2 , una especie toxica en altas concentraciones, que a su vez es reducida en agua y O_2 por las enzimas CAT, APX y GPX, motivo por el cual, se cree que se incrementó la actividad de estas enzimas (Rajput *et al.*, 2021). Las enzimas APX y GPX usan al ascorbato y GSH, respectivamente, como donadores de electrones para llevar a cabo la reducción de H_2O_2 (Rajput *et al.*, 2021). En el estudio se aprecia que el estrés aumentó la concentración de H_2O_2 , sin embargo, el uso de los productos de alga, lo redujo en cierta medida. Zou *et al.* (2021) muestran resultados similares, donde el estrés por NaCl incrementó el H_2O_2 en plántulas de trigo, pero el uso de fucoïdan extraído del alga *M. pyrifera* lo redujo de manera considerable. Como se mencionó anteriormente el H_2O_2 en altas concentraciones es toxico, sin embargo, estando por debajo del nivel del umbral es importante en el metabolismo celular vegetal al funcionar como molécula de señalización en diferentes procesos, tanto en condiciones de estrés o sin estrés (Khan *et al.*, 2018). La reducción del H_2O_2 en los tratamientos estresados y con aplicación del EAS probablemente se debe a que el EAS ayuda a las plantas a sintetizar compuestos antioxidantes que disminuyen o neutralizan a las ERO.

4.6. Expresión de genes de defensa

El sistema de defensa de las plantas incluye el enzimático y no enzimático, pero para llegar a ello ocurren procesos que son de basta importancia y no han sido explorados a detalle. Estos procesos son lo que están ligados con la expresión de genes que codifican para proteínas que están involucradas en el sistema de defensa (Aerts *et al.*, 2021). Las plantas al ser organismos sésiles tienen la capacidad para defenderse de las tensiones ambientales mediante la expresión de genes de defensa, que las hará disponer de un arsenal de biomoléculas efectoras, sin embargo, existen diferentes alternativas como la ingeniería genética que permiten mantener siempre activos (sobreexpresión génica) ciertos genes de interés, pero también existen otras alternativas amables con el medio ambiente, como el uso de bioestimulantes, específicamente el uso de extractos de algas pardas que tienen la capacidad de activar el sistema de defensa de las plantas mediante la expresión génica diferencial (Heil, 2010; Jithesh *et al.*, 2019; MacKelprang *et al.*, 2020).

En el presente experimento se puede apreciar que en los tres muestreos existe expresión diferencial de todos los genes estudiados y más con el estrés por NaCl y el uso del EAS. Drira *et al.* (2021) mencionan en su estudio que con la aplicación de extractos de *Padina pavonica* en *Arabidopsis thaliana* bajo estrés por NaCl se expresaron los genes que codifican para *SOD*, *CAT*, *POD* y *P5CS*, lo cual, le confirió cierta tolerancia a las plantas. De igual manera Zou *et al.* (2019) indican que con el uso de polisacáridos derivados de *L. nigrescens* en plántulas de trigo estresadas por NaCl (150 mM) existió una sobreexpresión de los genes que codifican para transportadores de potasio de alta afinidad (*HKT2;1*) y antiportadores de membrana de Na^+/H^+ (*SOS1* y *NHX2*). Al-Ghamdi y Elansary (2018) aplicaron extractos de *A. nodosum* en espárragos bajo riego salino (NaCl) e indican que se expresaron diferencialmente los genes *PIP1*, *P5CS1*, *APX1* y *GPX3*.

Los resultados son producto del estrés que se causó con el NaCl y consecuentemente por la aplicación de los productos de algas. Los metabolitos presentes en los productos de algas (carbohidratos, proteínas, aminoácidos, carotenoides, fitohormonas, vitaminas y compuestos fenólicos) se unen a sensores específicos en las membranas celulares, lo cual, desencadena una serie de señalizaciones que llevan a la expresión de genes de defensa, los cuales, a su vez codifican para proteínas que mitigaran directa o indirectamente los efectos adversos del estrés (Tuteja *et al.*, 2008; Shukla *et al.*, 2019). Las membranas celulares también cuentan con sensores de sodio y de igual manera se expresan genes que codifican para proteínas antioxidantes y transportadoras, con capacidad para excluir las sales de las células o bien almacenarlas en las vacuolas centrales (Tuteja *et al.*, 2008; Keisham *et al.*, 2018).

Dentro de los genes que se evaluaron como *Fe-SOD*, *CAT1*, *cAPX2* y *PAL5-3* se explicó con anterioridad la función del metabolito para el que codifican, pero no para el resto. *P5CS1* codifica para la enzima $\Delta 1$ -pirrolina-5-carboxilato sintasa 1, que cataliza la síntesis del aminoácido prolina (Guan *et al.*, 2019). *NCED1* codifica para la enzima 9-cis-exopoxicarotenoide dioxigenasa 1, que cataliza la síntesis del ácido abscísico en los cloroplastos, esta fitohormona regula diversos procesos en las plantas, incluido el cierre estomático en condiciones de estrés osmótico (Changan *et al.*, 2018). *HSP70* codifica para una proteína de choque térmico, las cuales, protegen a otras biomoléculas de la

desnaturalización o el mal plegado en condiciones estresantes (ul Haq *et al.*, 2019). *PIP2* codifica para acuaporinas que se encargan de la regulación del movimiento de agua a través de las membranas celulares en condiciones de estrés osmótico (Afzal *et al.*, 2016). *ERD15* codifica para proteínas implicadas en la estabilización y renaturalización de biomoléculas afectadas por el estrés biótico y abiótico (Ziaf *et al.*, 2016).

5. Conclusiones

En el presente estudio, se demostró que la aplicación del EAS tanto en condiciones sin estrés como con estrés por NaCl mejoró los parámetros de crecimiento y biomasa de las plántulas. De la misma manera con el EAS + NaCl se logró un incremento en la concentración de pigmentos fotosintéticos, antioxidantes no enzimáticos, prolina y mayor actividad de enzimas antioxidantes. En cuanto a los genes de defensa se observó que el estrés aumentó la expresión y el uso del EAS potencializó aún más dicha expresión. Esto indica que el EAS puede ser una alternativa para mitigar los efectos negativos del estrés salino en el cultivo de tomate mediante la inducción del crecimiento y la activación del sistema antioxidante. No obstante, el EAS también podría utilizarse en otros cultivos para mejorar rendimientos y calidad de los productos, tanto en condiciones normales o estresantes.

Es importante mencionar que el alga *Sargassum* cumple un papel importante en el equilibrio ecológico de los océanos y, en consecuencia, por las acumulaciones masivas en las costas ya es un problema ambiental que ha causado la muerte de especies marinas como tortugas y peces. Sin embargo, se le están dando diferentes usos (construcción, suplementos alimenticios, cosméticos y productos agrícolas) que de alguna manera mitigan el impacto ambiental. Por esta razón, es importante aprovechar este tipo de recursos naturales en la agricultura, que a causa del uso indiscriminado de agroquímicos ha bajado notablemente sus rendimientos en consecuencia a la degradación de los suelos.

Referencias

- Abdel Latef, A. A. H., Srivastava, A. K., Saber, H., Alwaleed, E. A., & Tran, L. S. P. (2017). *Sargassum muticum* and *Jania rubens* regulate amino acid metabolism to improve growth and alleviate salinity in chickpea. *Scientific Reports*, 7(1), 10537. doi: 10.1038/s41598-017-07692-w
- Abdelaal, K. A. A., Mazrou, Y. S. A., & Hafez, Y. M. (2020). Silicon Foliar Application Mitigates Salt Stress in Sweet Pepper Plants by Enhancing Water Status, Photosynthesis, Antioxidant Enzyme Activity and Fruit Yield. *Plants*, 9, 733. doi: 10.3390/plants9060733
- Aerts, N., Pereira Mendes, M., & Van Wees, S. C. M. (2021). Multiple levels of crosstalk in hormone networks regulating plant defense. *Plant Journal*, 105(2), 489–504. doi: 10.1111/tpj.15124
- Afzal, Z., Howton, T. C., Sun, Y., & Mukhtar, M. S. (2016). The roles of aquaporins in plant stress responses. *Journal of Developmental Biology*, 4(1), 9. doi: 10.3390/jdb4010009
- Ahmad, P., Ahanger, M. A., Alam, P., Alyemeni, M. N., Wijaya, L., Ali, S., & Ashraf, M. (2018). Silicon (Si) Supplementation Alleviates NaCl Toxicity in Mung Bean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] Through the Modifications of Physio-biochemical Attributes and Key Antioxidant Enzymes. *Journal of Plant Growth Regulation*, 38(1), 70–82. doi: 10.1007/s00344-018-9810-2
- Aitougouane, M., Bouissil, S., Mouhoub, A., Rchid, H., Fendri, I., Abdelkafi, S., Ould El-Hadj, M. D., Boual, Z., Dubessay, P., Gardarin, C., Michaud, P., El Alaoui-Talibi, Z., El Modafar, C., Pierre, G., & Delattre, C. (2020). Induction of Natural Defenses in Tomato Seedlings by Using Alginate and Oligoalginates Derivatives Extracted from Moroccan Brown Algae. *Marine Drugs*, 18, 521. doi: 10.3390/md18100521
- Al-Ghamdi, A. A., & Elansary, H. O. (2018). Synergetic effects of 5-aminolevulinic acid and *Ascophyllum nodosum* seaweed extracts on *Asparagus* phenolics and stress related genes under saline irrigation. *Plant Physiology and Biochemistry*, 129, 273–284. doi: 10.1016/j.plaphy.2018.06.008
- Ali, O., Ramsabhag, A., & Jayaraman, J. (2021). Phytoelicitor activity of *Sargassum vulgare* and *Acanthophora spicifera* extracts and their prospects for use in vegetable crops for sustainable crop production. *Journal of Applied Phycology*, 33(1), 639–651. doi: 10.1007/s10811-020-02309-8
- Ali, S., Ganai, B. A., Kamili, A. N., Bhat, A. A., Mir, Z. A., Bhat, J. A., Tyagi, A., Islam, S. T., Mushtaq, M., Yadav, P., Rawat, S., & Grover, A. (2018). Pathogenesis-related proteins and peptides as promising tools for engineering plants with multiple stress tolerance. *Microbiological Research*, 212–213, 29–37. doi: 10.1016/j.micres.2018.04.008
- Annunziata, M. G., Ciarmiello, L. F., Woodrow, P., Dell'Aversana, E., & Carillo, P. (2019). Spatial and temporal profile of glycine betaine accumulation in plants under abiotic stresses. *Frontiers in Plant Science*, 10, 230. doi: 10.3389/fpls.2019.00230
- Antoniou, C., Savvides, A., Georgiadou, E. C., & Fotopoulos, V. (2018). Spectrophotometric Quantification of Reactive Oxygen, Nitrogen and Sulfur Species in Plant Samples. In R. Alcázar & A. F. Tiburcio (Eds.), *Polyamines: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology* (Vol. 1694, pp. 155–161).

- Springer. doi: 10.1007/978-1-4939-7398-9
- Arif, Y., Singh, P., Siddiqui, H., Bajguz, A., & Hayat, S. (2020). Salinity induced physiological and biochemical changes in plants: An omic approach towards salt stress tolerance. *Plant Physiology and Biochemistry*, *156*, 64–77. doi: 10.1016/j.plaphy.2020.08.042
- Arnao, M. B., Hernández-Ruiz, J., Cano, A., & Reiter, R. J. (2021). Melatonin and carbohydrate metabolism in plant cells. *Plants*, *10*, 1917. doi: 10.3390/plants10091917
- Bates, L. S. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, *39*, 205–207.
- Benítez-García, I., Dueñas-Ledezma, A. K., Martínez-Montaño, E., Salazar-Leyva, J. A., Carrera, E., & Osuna-Ruiz, I. (2020). Identification and Quantification of Plant Growth Regulators and Antioxidant Compounds in Aqueous Extracts of *Padina durvillaei* and *Ulva lactuca*. *Agronomy*, *10*, 866. doi: 10.3390/agronomy10060866
- Blunden, G., Jenkins, T., & Liu, Y. W. (1996). Enhanced leaf chlorophyll levels in plants treated with seaweed extract. *Journal of Applied Phycology*, *8*(6), 535–543. doi: 10.1007/BF02186333
- Bosco, R., Caser, M., Vanara, F., & Scariot, V. (2013). Development of a rapid LC-DAD/FLD method for the simultaneous determination of auxins and abscisic acid in plant extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *61*(46), 10940–10947. doi: 10.1021/jf4034305
- Bradford, M. M. (1976). A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*, *72*, 248–254. doi: 10.1016/0003-2697(76)90527-3
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *LWT - Food Science and Technology*, *28*, 25–30. doi: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5
- Brodribb, T. J., McAdam, S. A. M., & Carins Murphy, M. R. (2017). Xylem and stomata, coordinated through time and space. *Plant Cell and Environment*, *40*(6), 872–880. doi: 10.1111/pce.12817
- Bula-Meyer, G. (2004). Las macroalgas marinas en la agronomía y el uso potencial del *Sargassum* flotante en la producción de fertilizantes en el archipiélago de San Andrés y Providencia, Colombia. *Revista Intropica*, *1*(1), 91–103. doi: 10.21676/23897864.461
- Carrillo, P., Ciarmiello, L. F., Woodrow, P., Corrado, G., Chiaiese, P., & Rouphael, Y. (2020). Enhancing Sustainability by Improving Plant Salt Tolerance through Macro- and Micro-Algal Biostimulants. *Biology*, *9*, 253. doi: 10.3390/biology9090253
- Chandra, S., Askari, K., & Kumari, M. (2018). Optimization of indole acetic acid production by isolated bacteria from *Stevia rebaudiana* rhizosphere and its effects on plant growth. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, *16*(2), 581–586. doi: 10.1016/j.jgeb.2018.09.001
- Changan, S. S., Ali, K., Kumar, V., Garg, N. K., & Tyagi, A. (2018). Abscisic acid biosynthesis under water stress: anomalous behavior of the 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase1 (*NCED1*) gene in rice. *Biologia Plantarum*, *62*(4), 663–670. doi: 10.1007/s10535-018-0807-2
- Chávez, V., Uribe-Martínez, A., Cuevas, E., Rodríguez-Martínez, R. E., van

- Tussenbroek, B. I., Francisco, V., Estévez, M., Celis, L. B., Monroy-Velázquez, V., Leal-Bautista, R., Álvarez-Filip, L., García-Sánchez, M., Masia, L., & Silva, R. (2020). Massive Influx of Pelagic *Sargassum* spp. on the Coasts of the Mexican Caribbean 2014-2020: Challenges and Opportunities. *Water*, *12*, 2908. doi: 10.3390/w12102908
- Che-Othman, M. H., Jacoby, R. P., Millar, A. H., & Taylor, N. L. (2020). Wheat mitochondrial respiration shifts from the tricarboxylic acid cycle to the GABA shunt under salt stress. *New Phytologist*, *225*(3), 1166–1180. doi: 10.1111/nph.15713
- Chen, Y., Zhou, B., Li, J., Tang, H., Tang, J., & Yang, Z. (2018). Formation and change of chloroplast-located plant metabolites in response to light conditions. *International Journal of Molecular Sciences*, *19*(3), 654. doi: 10.3390/ijms19030654
- Chun, S. C., Paramasivan, M., & Chandrasekaran, M. (2018). Proline Accumulation Influenced by Osmotic Stress in Arbuscular Mycorrhizal Symbiotic Plants. *Frontiers in Microbiology*, *9*, 2525. doi: 10.3389/fmicb.2018.02525
- Clavijo-Herrera, J., van Santen, E., & Gómez, C. (2018). Growth, water-use efficiency, stomatal conductance, and nitrogen uptake of two lettuce cultivars grown under different percentages of blue and red light. *Horticulturae*, *4*(3), 16. doi: 10.3390/horticulturae4030016
- Colla, G., Hoagland, L., Ruzzi, M., Cardarelli, M., Bonini, P., Canaguier, R., & Rouphael, Y. (2017). Biostimulant action of protein hydrolysates: Unraveling their effects on plant physiology and microbiome. *Frontiers in Plant Science*, *8*, 2202. doi: 10.3389/fpls.2017.02202
- Collini, E. (2019). Carotenoids in Photosynthesis: The Revenge of the “Accessory” Pigments. *Chem*, *5*(3), 494–495. doi: 10.1016/j.chempr.2019.02.013
- Cui, X., Tao, X., Xie, Y., Fauquet, C. M., & Zhou, X. (2004). A DNA β Associated with Tomato Yellow Leaf Curl China Virus Is Required for Symptom Induction. *Journal of Virology*, *78*(24), 13966–13974. doi: 10.1128/jvi.78.24.13966-13974.2004
- Darko, E., Végh, B., Khalil, R., Marček, T., Szalai, G., Pál, M., & Janda, T. (2019). Metabolic responses of wheat seedlings to osmotic stress induced by various osmolytes under iso-osmotic conditions. *PLoS ONE*, *14*(12), e0226151. doi: 10.1371/journal.pone.0226151
- Daszkowska-Golec, A., & Szarejko, I. (2013). Open or close the gate - Stomata action under the control of phytohormones in drought stress conditions. *Frontiers in Plant Science*, *4*, 138. doi: 10.3389/fpls.2013.00138
- Dhara, A., & Raichaudhuri, A. (2021). ABCG transporter proteins with beneficial activity on plants. *Phytochemistry*, *184*, 112663. doi: 10.1016/j.phytochem.2021.112663
- Dhindsa, R. S., Plumb-Dhindsa, P., & Thorpe, T. A. (1981). Leaf Senescence: Correlated with Increased Levels of Membrane Permeability and Lipid Peroxidation, and Decreased Levels of Superoxide Dismutase and Catalase. *Journal of Experimental Botany*, *32*(126), 93–101. doi: 10.1093/jxb/32.1.93
- Domonkos, I., Kis, M., Gombos, Z., & Ughy, B. (2013). Carotenoids, versatile components of oxygenic photosynthesis. *Progress in Lipid Research*, *52*(4), 539–561. doi: 10.1016/j.plipres.2013.07.001

- Drira, M., Ben Mohamed, J., Ben Hlima, H., Hentati, F., Michaud, P., Abdelkafi, S., & Fendri, I. (2021). Improvement of *Arabidopsis thaliana* salt tolerance using a polysaccharidic extract from the brown algae *Padina pavonica*. *Algal Research*, *56*, 102324. doi: 10.1016/j.algal.2021.102324
- Dumanović, J., Nepovimova, E., Natić, M., Kuča, K., & Jačević, V. (2021). The Significance of Reactive Oxygen Species and Antioxidant Defense System in Plants: A Concise Overview. *Frontiers in Plant Science*, *11*, 552969. doi: 10.3389/fpls.2020.552969
- El-Beltagi, H. S., Mohamed, H. I., & Sofy, M. R. (2020). Role of Ascorbic acid, Glutathione and Proline Applied as Singly or in Sequence Combination in Improving Chickpea Plant through Physiological Change and Antioxidant Defense under Different Levels of Irrigation Intervals. *Molecules*, *25*(1702), 1702. doi: 10.3390/molecules25071702
- Elansary, H. O., Yessoufou, K., Abdel-Hamid, A. M. E., El-Esawi, M. A., Ali, H. M., & Elshikh, M. S. (2017). Seaweed extracts enhance salam turfgrass performance during prolonged irrigation intervals and saline shock. *Frontiers in Plant Science*, *8*, 830. doi: 10.3389/fpls.2017.00830
- Estaji, A., Kalaji, H. M., Karimi, H. R., Roosta, H. R., & Moosavi-Nezhad, S. M. (2019). How glycine betaine induces tolerance of cucumber plants to salinity stress? *Photosynthetica*, *57*(3), 753–761. doi: 10.32615/ps.2019.053
- Fleurence, J. (2021). Perspectives on the Use of Algae in Agriculture and Animal Production. *Phycology*, *1*(2), 79–82. doi: 10.3390/phycolgy1020006
- Gharib, F. A. E. L., Zeid, I. M., Salem, O. M. A.-H., & Ahmed, E. Z. (2014). Effects of *Sargassum latifolium* Extract on Growth, Oil Content and Enzymatic Activities of Rosemary Plants under Salinity Stress. *Life Science Journal*, *11*(10), 933–945.
- González-Morales, S., Solís-Gaona, S., Valdés-Caballero, M. V., Juárez-Maldonado, A., Loredó-Treviño, A., & Benavides-Mendoza, A. (2021a). Transcriptomics of Biostimulation of Plants Under Abiotic Stress. *Frontiers in Genetics*, *12*, 583888. doi: 10.3389/fgene.2021.583888
- González-Morales, S., López-Sánchez, R. C., Juárez-Maldonado, A., Robledo-Olivo, A., & Benavides Mendoza, A. (2021b). A Transcriptomic and Proteomic View of Hydrogen Sulfide Signaling in Plant Abiotic Stress. In M. Khan, M. Siddiqui, S. Alamri, & F. Corpas (Eds.), *Hydrogen Sulfide and Plant Acclimation to Abiotic Stresses* (Vol. 1, pp. 161–186). Springer, Cham. doi: 10.1007/978-3-030-73678-1_10
- Guan, C., Huang, Y.-H., Cen, H.-F., Cui, X., Tian, D.-Y., & Zhang, Y.-W. (2019). Overexpression of the *Lolium perenne* L. Delta1-pyrroline 5-carboxylate synthase (*LpP5CS*) gene results in morphological alterations and salinity tolerance in switchgrass (*Panicum virgatum* L.). *PLoS ONE*, *14*(7), e0219669. doi: 10.1371/journal.pone.0219669
- Hai, N. N., Chuong, N. N., Tu, N. H. C., Kisiala, A., Hoang, X. L. T., & Thao, N. P. (2020). Role and regulation of cytokinins in plant response to drought stress. *Plants*, *9*(4), 422. doi: 10.3390/plants9040422
- Haida, Z., & Hakiman, M. (2019). A comprehensive review on the determination of enzymatic assay and nonenzymatic antioxidant activities. *Food Science and Nutrition*, *7*(5), 1555–1563. doi: 10.1002/fsn3.1012
- Hamed, S. M., Abd El-Rhman, A. A., Abdel-Raouf, N., & Ibraheem, I. B. M. (2018).

- Role of marine macroalgae in plant protection & improvement for sustainable agriculture technology. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 7(1), 104–110. doi: 10.1016/j.bjbas.2017.08.002
- Hasanuzzaman, M., Borhannuddin Bhuyan, M. H. M., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S. M., Al Mahmud, J., Fujita, M., & Fotopoulos, V. (2020). Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. *Antioxidants*, 9(8), 681. doi: 10.3390/antiox9080681
- Hashem, H. A., Mansour, H. A., El-Khawas, S. A., & Hassanein, R. A. (2019). The potentiality of marine macro-algae as bio-fertilizers to improve the productivity and salt stress tolerance of canola (*Brassica napus* L.) plants. *Agronomy*, 9(3), 146. doi: 10.3390/agronomy9030146
- Heil, M. (2010). Plastic defence expression in plants. *Evolutionary Ecology*, 24(3), 555–569. doi: 10.1007/s10682-009-9348-7
- Hernández-Hernández, Juárez-Maldonado, A., Benavides-Mendoza, A., Ortega-Ortiz, H., Cadenas-Pliego, G., Sánchez-Aspeytia, D., & González-Morales, S. (2018a). Chitosan-PVA and Copper Nanoparticles Improve Growth and Overexpress the SOD and JA Genes in Tomato Plants under Salt Stress. *Agronomy*, 8(9), 175. doi: 10.3390/agronomy8090175
- Hernández-Hernández, H., González-Morales, S., Benavides-Mendoza, A., Ortega-Ortiz, H., Cadenas-Pliego, G., & Juárez-Maldonado, A. (2018b). Effects of Chitosan – PVA and Cu Nanoparticles on the Growth and Antioxidant Capacity of Tomato under Saline Stress. *Molecules*, 23, 178. doi: 10.3390/molecules23010178
- Hernández-Herrera, R. M., Santacruz-Ruvalcaba, F., Ruiz-López, M. A., Norrie, J., & Hernández-Carmona, G. (2014). Effect of liquid seaweed extracts on growth of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum* L.). *Journal of Applied Phycology*, 26(1), 619–628. doi: 10.1007/s10811-013-0078-4
- Hernández, M. I., Chailloux, M., Moreno, V., Mojena, M., & Salgado, J. M. (2009). Relaciones nitrógeno-potasio en fertirriego para el cultivo protegido del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) y su efecto en la acumulación de biomasa y extracción de nutrientes. *Cultivos Tropicales*, 30(4), 71–78.
- Hönig, M., Plíhalová, L., Husičková, A., Nisler, J., & Doležal, K. (2018). Role of cytokinins in senescence, antioxidant defence and photosynthesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(12), 4045. doi: 10.3390/ijms19124045
- Hsieh, C.-Y., Huang, Y.-H., Yeh, H.-H., Hong, P.-Y., Hsiao, C.-J., & Hsieh, L.-S. (2021). Phenylalanine, tyrosine, and DOPA are bona fide substrates for *Bambusa oldhamii* BoPAL4. *Catalysts*, 11(1263). doi: 10.3390/catal11111263
- Iseki, K., & Olaleye, O. (2020). A new indicator of leaf stomatal conductance based on thermal imaging for field grown cowpea. *Plant Production Science*, 23(1), 136–147. doi: 10.1080/1343943X.2019.1625273
- Jithesh, M. N., Shukla, P. S., Kant, P., Joshi, J., Critchley, A. T., & Prithiviraj, B. (2019). Physiological and Transcriptomics Analyses Reveal that *Ascophyllum nodosum* Extracts Induce Salinity Tolerance in *Arabidopsis* by Regulating the Expression of Stress Responsive Genes. *Journal of Plant Growth Regulation*, 38(2), 463–478. doi: 10.1007/s00344-018-9861-4
- Karimi, S., Karami, H., Mokhtassi-Bidgoli, A., Tavallali, V., & Vahdati, K. (2018). Inducing drought tolerance in greenhouse grown *Juglans regia* by imposing controlled salt stress: The role of osmotic adjustment. *Scientia Horticulturae*, 239,

- 181–192. doi: 10.1016/j.scienta.2018.05.029
- Kasim, W. A., Hamada, E. A. M., El-Din, N. G. S., & Eskander, S. (2015). Influence of seaweed extracts on the growth, some metabolic activities and yield of wheat grown under drought stress. *International Journal of Agronomy and Agricultural Research*, 7(2), 173–189.
- Keisham, M., Mukherjee, S., & Bhatla, S. C. (2018). Mechanisms of sodium transport in plants—Progresses and challenges. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(3), 647. doi: 10.3390/ijms19030647
- Khan, T. A., Yusuf, M., & Fariduddin, Q. (2018). Hydrogen peroxide in regulation of plant metabolism: Signalling and its effect under abiotic stress. *Photosynthetica*, 56(4), 1237–1248. doi: 10.1007/s11099-018-0830-8
- Khoshbakht, D., Ramin, A. A., & Baninasab, B. (2015). Effects of sodium chloride stress on gas exchange, chlorophyll content and nutrient concentrations of nine citrus rootstocks. *Photosynthetica*, 53(2), 241–249. doi: 10.1007/s11099-015-0098-1
- Kim, J. S., Jeon, B. W., & Kim, J. (2021). Signaling Peptides Regulating Abiotic Stress Responses in Plants. *Frontiers in Plant Science*, 12, 704490. doi: 10.3389/fpls.2021.704490
- Kumari, R., Kaur, I., & Bhatnagar, A. K. (2011). Effect of aqueous extract of *Sargassum johnstonii* Setchell & Gardner on growth, yield and quality of *Lycopersicon esculentum* Mill. *Journal of Applied Phycology*, 23(3), 623–633. doi: 10.1007/s10811-011-9651-x
- Latsague, M., Sáez, P., & Mora, M. (2014). Efecto de la fertilización con nitrógeno, fósforo y potasio, sobre el contenido foliar de carbohidratos, proteínas y pigmentos fotosintéticos en plantas de *Berberidopsis corallina* Hook.f. *Gayana Botanica*, 71(1), 37–42. doi: 10.4067/S0717-66432014000100007
- Liu, L., Petchphankul, N., Ueda, A., & Saneoka, H. (2020). Differences in Physiological Responses of Two Oat (*Avena nuda* L.) Lines to Sodic-Alkalinity in the Vegetative Stage. *Plants*, 9, 1188. doi: 10.3390/plants9091188
- López-Sosa, L. B., Morales-Máximo, M., Anastacio-Paulino, R., Custodio-Hernández, A., Corral-Huacuz, J. C., & Aguilera-Mandujano, A. (2021). Electron Microscopy Characterization of *Sargassum* Spp. from the Mexican Caribbean for Application as a Bioconstruction Material. *Microscopy and Microanalysis*, 27, 3140–3143. doi: 10.1017/s1431927621010874
- MacKelprang, R., & Lemaux, P. G. (2020). Genetic Engineering and Editing of Plants: An Analysis of New and Persisting Questions. *Annual Review of Plant Biology*, 71, 659–687. doi: 10.1146/annurev-arplant-081519-035916
- Mao, Y., Chen, N., Cao, M., Chen, R., Guan, X., & Wang, D. (2019). Functional Characterization and Evolutionary Analysis of Glycine-Betaine Biosynthesis Pathway in Red Seaweed *Pyropia yezoensis*. *Marine Drugs*, 17, 70. doi: 10.3390/md17010070
- Mascia, T., Santovito, E., Gallitelli, D., & Cillo, F. (2010). Evaluation of reference genes for quantitative reverse-transcription polymerase chain reaction normalization in infected tomato plants. *Molecular Plant Pathology*, 11(6), 805–816. doi: 10.1111/j.1364-3703.2010.00646.x
- Medrano Macías, J., López Caltzontzit, M. G., Rivas Martínez, E. N., Narváez Ortiz, W. A., Benavides Mendoza, A., & Martínez Lagunes, P. (2021). Enhancement to salt

- stress tolerance in strawberry plants by iodine products application. *Agronomy*, *11*(3), 602. doi: 10.3390/agronomy11030602
- Miceli, A., Vetrano, F., & Moncada, A. (2021). Influence of *Ecklonia maxima* extracts on growth, yield, and postharvest quality of hydroponic leaf lettuce. *Horticulturae*, *7*(11), 440. doi: 10.3390/horticulturae7110440
- Morales-Espinoza, M. C., Cadenas-Pliego, G., Pérez-Alvarez, M., Hernández-Fuentes, A. D., Cabrera de la Fuente, M., Benavides-Mendoza, A., Valdés-Reyna, J., & Juárez-Maldonado, A. (2019). Se Nanoparticles Induce Changes in the Growth, Antioxidant Responses, and Fruit Quality of Tomato Developed under NaCl Stress. *Molecules*, *24*, 3030. doi: 10.3390/molecules24173030
- Mukherjee, A., & Patel, J. S. (2020). Seaweed extract: biostimulator of plant defense and plant productivity. *International Journal of Environmental Science and Technology*, *17*(1), 553–558. doi: 10.1007/s13762-019-02442-z
- Nakano, Y., & Asada, K. (1987). Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts; its inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. *Plant and Cell Physiology*, *28*(1), 131–140. doi: 10.1093/oxfordjournals.pcp.a077268
- Nguyen, H. T. T., Bhowmik, S. D., Long, H., Cheng, Y., Mundree, S., & Hoang, L. T. M. (2021). Rapid Accumulation of Proline Enhances Salinity Tolerance in Australian Wild Rice *Oryza australiensis* Domin. *Plants*, *10*, 2044. doi: 10.3390/plants10102044
- Nour, V., Trandafir, I., & Ionica, M. E. (2010). HPLC Organic Acid Analysis in Different Citrus Juices under Reversed Phase Conditions. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, *38*(1), 44–48. doi: 10.15835/nbha3814569
- Oberkofler, V., Pratz, L., & Bäurle, I. (2021). Epigenetic regulation of abiotic stress memory: maintaining the good things while they last. *Current Opinion in Plant Biology*, *61*, 102007. doi: 10.1016/j.pbi.2021.102007
- Prins, M., Laimer, M., Noris, E., Schubert, J., Wassenegger, M., & Tepfer, M. (2008). Strategies for antiviral resistance in transgenic plants. *Molecular Plant Pathology*, *9*(1), 73–83. doi: 10.1111/j.1364-3703.2007.00447.x
- Queiroz Zepka, L., Jacob-Lopes, E., & Roca, M. (2019). Catabolism and bioactive properties of chlorophylls. *Current Opinion in Food Science*, *26*, 94–100. doi: 10.1016/j.cofs.2019.04.004
- Radhakrishnan, R. (2018). Seed pretreatment with magnetic field alters the storage proteins and lipid profiles in harvested soybean seeds. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, *24*(2), 343–347. doi: 10.1007/s12298-018-0505-8
- Raja, V., Majeed, U., Kang, H., Andrabi, K. I., & John, R. (2017). Abiotic stress: Interplay between ROS, hormones and MAPKs. *Environmental and Experimental Botany*, *137*, 142–157. doi: 10.1016/j.envexpbot.2017.02.010
- Rajput, V. D., Harish., Singh, R. K., Verma, K. K., Sharma, L., Quiroz-Figueroa, F. R., Meena, M., Gour, V. S., Minkina, T., Sushkova, S., & Mandzhieva, S. (2021). Recent developments in enzymatic antioxidant defence mechanism in plants with special reference to abiotic stress. *Biology*, *10*(4), 267. doi: 10.3390/biology10040267
- Ramya, S. S., Nagaraj, S., & Vijayanand, N. (2011). Influence of Seaweed Liquid Extracts on Growth, Biochemical and Yield Characteristics of *Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub. *Journal of Phytology*, *3*(9), 37–41.

- Ramya, S. S., Vijayanand, N., & Rathinavel, S. (2015). Foliar application of liquid biofertilizer of brown alga *Stoechospermum marginatum* on growth, biochemical and yield of *Solanum melongena*. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, 4(3), 167–173. doi: 10.1007/s40093-015-0096-0
- Rivas-Martínez, E. N., Foroughbakhch-Pournavab, R., Reyes-Valdés, M. H., & Benavides-Mendoza, A. (2016). Determinación de giberelina A4 y trans zeatina ribósido en diferentes órganos de *Dasyilirion cedrosanum*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7, 2063–2069.
- Rodriguez-Jasso, R. M., Mussatto, S. I., Pastrana, L., Aguilar, C. N., & Teixeira, J. A. (2011). Microwave-assisted extraction of sulfated polysaccharides (fucoïdan) from brown seaweed. *Carbohydrate Polymers*, 86(3), 1137–1144. doi: 10.1016/j.carbpol.2011.06.006
- Rouphael, Y., & Colla, G. (2020). Editorial: Biostimulants in Agriculture. *Frontiers in Plant Science*, 11, 40. doi: 10.3389/fpls.2020.00040
- Rouphael, Y., Giordano, M., Cardarelli, M., Cozzolino, E., Mori, M., Kyriacou, M. C., Bonini, P., & Colla, G. (2018). Plant-and seaweed-based extracts increase yield but differentially modulate nutritional quality of greenhouse spinach through biostimulant action. *Agronomy*, 8(7), 126. doi: 10.3390/agronomy8070126
- Sachdev, S., Ansari, S. A., Ansari, M. I., & Fujita, M. (2021). Abiotic Stress and Reactive Oxygen Species: Generation, Signaling, and Defense Mechanisms. *Antioxidants*, 10, 277. doi: 10.3390/antiox10020277
- Sánchez, E., Ruiz, J. M., Romero, L., Preciado-Rangel, P., Flores-Córdova, M. A., & Márquez-Quiroz, C. (2018). ¿Son los pigmentos fotosintéticos buenos indicadores de la relación del nitrógeno, fósforo y potasio en frijol ejotero? *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 5(15), 387–398. doi: 10.19136/era.a5n15.1757
- Sariñana-Aldaco, O., Benavides-Mendoza, A., Juárez-Maldonado, A., Robledo-Olivo, A., Rodríguez-Jasso, R. M., Preciado-Rangel, P., & Gonzalez-Morales, S. (2021). Efecto de extractos de *Sargassum* spp. en el crecimiento y antioxidantes de plántulas de tomate. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 8(2), e2814. doi: 10.19136/era.a8n2.2814
- Shin, Y. K., Bhandari, S. R., Jo, J. S., Song, J. W., Cho, M. C., Yang, E. Y., & Lee, J. G. (2020). Response to salt stress in lettuce: Changes in chlorophyll fluorescence parameters, phytochemical contents, and antioxidant activities. *Agronomy*, 10(11), 1627. doi: 10.3390/agronomy10111627
- Shukla, P. S., Mantin, E. G., Adil, M., Bajpai, S., Critchley, A. T., & Prithiviraj, B. (2019). *Ascophyllum nodosum*-based biostimulants: Sustainable applications in agriculture for the stimulation of plant growth, stress tolerance, and disease management. *Frontiers in Plant Science*, 10, 655. doi: 10.3389/fpls.2019.00655
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods in Enzymology*, 299(1974), 152–178. doi: 10.1016/S0076-6879(99)99017-1
- Sofy, M. R., Sharaf, A. E. M. A., Osman, M. S., & Sofy, A. R. (2017). Physiological changes, antioxidant activity, lipid peroxidation and yield characters of salt stressed barely plant in response to treatment with *Sargassum* extract. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*, 4(2), 90–109. doi: 10.22192/ijarbs.2017.04.02.012

- Steiner, A. A. (1961). A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant and Soil*, *15*(2), 134–154. doi: 10.1007/BF01347224
- Syklowska-Baranek, K., Pietrosiuk, A., Naliwajski, M. R., Kawiak, A., Jeziorek, M., Wyderska, S., Łojkowska, E., & Chinou, I. (2012). Effect of L-phenylalanine on PAL activity and production of naphthoquinone pigments in suspension cultures of *Arnebia euchroma* (Royle) Johnst. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, *48*(5), 555–564. doi: 10.1007/s11627-012-9443-2
- Taha, R. S., Seleiman, M. F., Alotaibi, M., Alhammad, B. A., Rady, M. M., & Mahdi, A. H. A. (2020). Exogenous potassium treatments elevate salt tolerance and performances of *Glycine max* L. by boosting antioxidant defense system under actual saline field conditions. *Agronomy*, *10*(11), 1741. doi: 10.3390/agronomy10111741
- Taha, R. S., Seleiman, M. F., Alhammad, B. A., Alkahtani, J., Alwahibi, M. S., & Mahdi, A. H. A. (2021). Activated Yeast Extract Enhances Growth, Anatomical Structure, and Productivity of *Lupinus termis* L. Plants under Actual Salinity Conditions. *Agronomy*, *11*(1), 74. doi: 10.3390/agronomy11010074
- Teixeira, W. F., Fagan, E. B., Soares, L. H., Umburanas, R. C., Reichardt, K., & Neto, D. D. (2017). Foliar and seed application of amino acids affects the antioxidant metabolism of the soybean crop. *Frontiers in Plant Science*, *8*, 327. doi: 10.3389/fpls.2017.00327
- Turk, H. (2019). Chitosan-induced enhanced expression and activation of alternative oxidase confer tolerance to salt stress in maize seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, *141*, 415–422. doi: 10.1016/j.plaphy.2019.06.025
- Tuteja, N., & Sopory, S. K. (2008). Chemical signaling under abiotic stress environment in plants. *Plant Signaling and Behavior*, *3*(8), 525–536. doi: 10.4161/psb.3.8.6186
- ul Haq, S., Khan, A., Ali, M., Khattak, A. M., Gai, W.-X., Zhang, H.-X., Wei, A.-M., & Gong, Z.-H. (2019). Heat shock proteins: Dynamic biomolecules to counter plant biotic and abiotic stresses. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(21), 5321. doi: 10.3390/ijms20215321
- Vijayanand, N., Ramya, S. S., & Rathinavel, S. (2014). Potential of liquid extracts of *Sargassum wightii* on growth, biochemical and yield parameters of cluster bean plant. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, *3*(2), 150–155. doi: 10.1016/S2305-0500(14)60019-1
- Waghmode, A. V., Narayankar, C. U., Nimbalkar, M. S., & Gaikwad, D. K. (2019). Exploration of fucoxanthin and astaxanthin in macro alga (*Sargassum* sp.) by high-performance liquid chromatography. *Indian Hydrobiology*, *18*, 40–49.
- Wellburn, A. R. (1994). The Spectral Determination of Chlorophylls *a* and *b*, as well as Total Carotenoids, Using Various Solvents with Spectrophotometers of Different Resolution. *Journal of Plant Physiology*, *144*(3), 307–313. doi: 10.1016/S0176-1617(11)81192-2
- Weng, J. K., Philippe, R. N., & Noel, J. P. (2012). The rise of chemodiversity in plants. *Science*, *336*, 1667–1670. doi: 10.1126/science.1217411
- Xue, T., Hartikainen, H., & Piironen, V. (2001). Antioxidative and growth-promoting effect of selenium on senescing lettuce. *Plant and Soil*, *237*(2000), 55–61. doi: 10.1023/A:1013369804867
- Yemm, E., & Cocking, E. (1955). The Determination of Amino-acids with Ninhydrin. *Analyst*, *80*, 209–214. doi: 10.1039/AN9558000209

- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, *64*, 555–559. doi: 10.1016/S0308-8146(98)00102-2
- Zhou, X., Joshi, S., Patil, S., Khare, T., & Kumar, V. (2021). Reactive Oxygen, Nitrogen, Carbonyl and Sulfur Species and Their Roles in Plant Abiotic Stress Responses and Tolerance. *Journal of Plant Growth Regulation*, *3*, 1–24. doi: 10.1007/s00344-020-10294-y
- Zhu, D., Luo, F., Zou, R., Liu, J., & Yan, Y. (2021). Integrated physiological and chloroplast proteome analysis of wheat seedling leaves under salt and osmotic stresses. *Journal of Proteomics*, *234*, 104097. doi: 10.1016/j.jprot.2020.104097
- Ziaf, K., Munis, M. F. H., Samin, G., Zhang, X., Li, J., Zhang, J., & Ye, Z. (2016). Characterization of *ERD15* gene from cultivated tomato (*Solanum lycopersicum*). *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, *53*(1), 27–33. doi: 10.21162/PAKJAS/16.3695
- Zou, P., Lu, X., Zhao, H., Yuan, Y., Meng, L., Zhang, C., & Li, Y. (2019). Polysaccharides derived from the brown algae *Lessonia nigrescens* enhance salt stress tolerance to wheat seedlings by enhancing the antioxidant system and modulating intracellular ion concentration. *Frontiers in Plant Science*, *10*, 48. doi: 10.3389/fpls.2019.00048
- Zou, P., Yang, X., Yuan, Y., Jing, C., Cao, J., Wang, Y., Zhang, L., Zhang, C., & Li, Y. (2021). Purification and characterization of a fucoidan from the brown algae *Macrocystis pyrifera* and the activity of enhancing salt-stress tolerance of wheat seedlings. *International Journal of Biological Macromolecules*, *180*, 547–558. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2021.03.039
- Zubia, M., Payri, C., & Deslandes, E. (2008). Alginate, mannitol, phenolic compounds and biological activities of two range-extending brown algae, *Sargassum mangarevense* and *Turbinaria ornata* (Phaeophyta: Fucales), from Tahiti (French Polynesia). *Journal of Applied Phycology*, *20*(6), 1033–1043. doi: 10.1007/s10811-007-9303-3

CONCLUSIÓN GENERAL

1. Los 17 EAS producidos mejoraron en su gran mayoría variables de crecimiento, biomasa y antioxidantes de plántulas de tomate en comparación con el control absoluto, siendo el EAS7 (160 °C/ 30 min/ 50% etanol) el que las incrementó en mayor medida.
2. Se determinó la concentración de GSH, aminoácidos, proteínas, compuestos fenólicos, fitohormonas y monosacáridos de los 17 EAS, donde el EAS7 fue el que mostró la mayor concentración, esto por las condiciones de extracción (160 °C/ 30 min/ 50%) que fueron las más severas en comparación con el resto.
3. El EAS7 fue elegido por medio de una prueba preliminar y la caracterización bioquímica para ser aplicado en pruebas de estrés por salinidad, bajas y altas temperaturas. Para salinidad los resultados indicaron que el EAS aplicado en condiciones de estrés y sin estrés mejoró parámetros agronómicos, de biomasa, de antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos y de expresión de genes. De los genes evaluados los que mostraron una mayor sobreexpresión fueron los que codifican para las enzimas *Fe-SOD*, *CAT1*, *cAPX2* y *PAL5-3*, esto a los 31 DDT que fue el tercero y último muestreo. Respecto a las bajas y altas temperaturas los resultados fueron similares al mejorar los parámetros agronómicos y de biomasa en condiciones estresantes y no estresantes. En cuanto a proteínas se observa que ambos tipos de estrés disminuyeron la concentración, pero el uso del EAS ayudo a mejorarla hasta cierto punto. Para antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos el EAS en combinación con el estrés por bajas y altas temperaturas los incrementó sustancialmente. Finalmente, para la expresión de genes de defensa se observa que a los 21 y 31 DDT la expresión fue mayor con el uso del EAS y el estrés por bajas y altas temperaturas.

REFERENCIAS

- Abdel Latef, A. A. H., Srivastava, A. K., Saber, H., Alwaleed, E. A., & Tran, L. S. P. (2017). *Sargassum muticum* and *Jania rubens* regulate amino acid metabolism to improve growth and alleviate salinity in chickpea. *Scientific Reports*, 7(1), 10537. doi: 10.1038/s41598-017-07692-w
- Abdelaal, K. A. A., Mazrou, Y. S. A., & Hafez, Y. M. (2020). Silicon Foliar Application Mitigates Salt Stress in Sweet Pepper Plants by Enhancing Water Status, Photosynthesis, Antioxidant Enzyme Activity and Fruit Yield. *Plants*, 9, 733. doi: 10.3390/plants9060733
- Alamri, S., Siddiqui, M. H., Kushwaha, B. K., Singh, V. P., & Ali, H. M. (2021). Mitigation of arsenate toxicity by indole-3-acetic acid in brinjal roots: Plausible association with endogenous hydrogen peroxide. *Journal of Hazardous Materials*, 405, 124336. doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.124336
- Ale, M. T., Mikkelsen, J. D., & Meyer, A. S. (2011). Important determinants for fucoidan bioactivity: A critical review of structure-function relations and extraction methods for fucose-containing sulfated polysaccharides from brown seaweeds. *Marine Drugs*, 9(10), 2106–2130. doi: 10.3390/md9102106
- Almeida Machado, R. M., & Serralheiro, R. P. (2017). Soil salinity: Effect on vegetable crop growth. Management practices to prevent and mitigate soil salinization. *Horticulturae*, 3(2), 30. doi: 10.3390/horticulturae3020030
- Arif, Y., Singh, P., Siddiqui, H., Bajguz, A., & Hayat, S. (2020). Salinity induced physiological and biochemical changes in plants: An omic approach towards salt stress tolerance. *Plant Physiology and Biochemistry*, 156, 64–77. doi: 10.1016/j.plaphy.2020.08.042
- Batista Sánchez, D., Murillo Amador, B., Nieto Garibay, A., Alcaráz Meléndez, L., Troyo Diéguez, E., Hernández Montiel, L., & Ojeda Silvera, C. M. (2017). Mitigación de NaCl por efecto de un bioestimulante en la germinación de *Ocimum basilicum* L. *Terra Latinoamericana*, 35(4), 309–320.
- Benítez-García, I., Dueñas-Ledezma, A. K., Martínez-Montaño, E., Salazar-Leyva, J. A., Carrera, E., & Osuna-Ruiz, I. (2020). Identification and Quantification of Plant Growth Regulators and Antioxidant Compounds in Aqueous Extracts of *Padina durvillaei* and *Ulva lactuca*. *Agronomy*, 10, 866. doi: 10.3390/agronomy10060866
- Carmody, N., Goñi, O., Łangowski, Ł., & O’Connell, S. (2020). *Ascophyllum nodosum* Extract Biostimulant Processing and Its Impact on Enhancing Heat Stress Tolerance During Tomato Fruit Set. *Frontiers in Plant Science*, 11, 807. doi: 10.3389/fpls.2020.00807

- Chávez, V., Uribe-Martínez, A., Cuevas, E., Rodríguez-Martínez, R. E., van Tussenbroek, B. I., Francisco, V., Estévez, M., Celis, L. B., Monroy-Velázquez, V., Leal-Bautista, R., Álvarez-Filip, L., García-Sánchez, M., Masia, L., & Silva, R. (2020). Massive Influx of Pelagic *Sargassum* spp. on the Coasts of the Mexican Caribbean 2014-2020: Challenges and Opportunities. *Water*, *12*, 2908. doi: 10.3390/w12102908
- Chun, S. C., Paramasivan, M., & Chandrasekaran, M. (2018). Proline Accumulation Influenced by Osmotic Stress in Arbuscular Mycorrhizal Symbiotic Plants. *Frontiers in Microbiology*, *9*, 2525. doi: 10.3389/fmicb.2018.02525
- Colla, G., Hoagland, L., Ruzzi, M., Cardarelli, M., Bonini, P., Canaguier, R., & Roupheal, Y. (2017). Biostimulant action of protein hydrolysates: Unraveling their effects on plant physiology and microbiome. *Frontiers in Plant Science*, *8*, 2202. doi: 10.3389/fpls.2017.02202
- Cortés-Antiquera, R., Pizarro, M., Contreras, R. A., Köhler, H., & Zúñiga, G. E. (2021). Heat Shock Tolerance in *Deschampsia antarctica* Desv. Cultivated *in vitro* Is Mediated by Enzymatic and Non-enzymatic Antioxidants. *Frontiers in Plant Science*, *12*, 635491. doi: 10.3389/fpls.2021.635491
- Curticăpean, M.-C. (2020). Plant Aquaporins. *Acta Biologica Marisiensis*, *2*(2), 36–48. doi: 10.2478/abmj-2019-0009
- Darko, E., Végh, B., Khalil, R., Marček, T., Szalai, G., Pál, M., & Janda, T. (2019). Metabolic responses of wheat seedlings to osmotic stress induced by various osmolytes under iso-osmotic conditions. *PLoS ONE*, *14*(12), e0226151. doi: 10.1371/journal.pone.0226151
- Di Stasio, E., Van Oosten, M. J., Silletti, S., Raimondi, G., dell'Aversana, E., Carillo, P., & Maggio, A. (2018). *Ascophyllum nodosum*-based algal extracts act as enhancers of growth, fruit quality, and adaptation to stress in salinized tomato plants. *Journal of Applied Phycology*, *30*(4), 2675–2686. doi: 10.1007/s10811-018-1439-9
- Ding, Y., Shi, Y., & Yang, S. (2020). Molecular Regulation of Plant Responses to Environmental Temperatures. *Molecular Plant*, *13*(4), 544–564. doi: 10.1016/j.molp.2020.02.004
- Drira, M., Ben Mohamed, J., Ben Hlima, H., Hentati, F., Michaud, P., Abdelkafi, S., & Fendri, I. (2021). Improvement of *Arabidopsis thaliana* salt tolerance using a polysaccharidic extract from the brown algae *Padina pavonica*. *Algal Research*, *56*, 102324. doi: 10.1016/j.algal.2021.102324
- du Jardin, P. (2015). Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae*, *196*, 3–14. doi: 10.1016/j.scienta.2015.09.021
- Dusenge, M. E., Duarte, A. G., & Way, D. A. (2019). Plant carbon metabolism and

- climate change: elevated CO₂ and temperature impacts on photosynthesis, photorespiration and respiration. *New Phytologist*, *221*(1), 32–49. doi: 10.1111/nph.15283
- El Haddad, N., Choukri, H., Ghanem, M. E., Smouni, A., Mentag, R., Rajendran, K., Hejjaoui, K., Maalouf, F., & Kumar, S. (2022). High-temperature and drought stress effects on growth, yield and nutritional quality with transpiration response to vapor pressure deficit in lentil. *Plants*, *11*, 95. doi: 10.3390/plants11010095
- Estaji, A., Kalaji, H. M., Karimi, H. R., Roosta, H. R., & Moosavi-Nezhad, S. M. (2019). How glycine betaine induces tolerance of cucumber plants to salinity stress? *Photosynthetica*, *57*(3), 753–761. doi: 10.32615/ps.2019.053
- Fahad, S., Hussain, S., Saud, S., Tanveer, M., Bajwa, A. A., Hassan, S., Shah, A. N., Ullah, A., Wu, C., Khan, F. A., Shah, F., Ullah, S., Chen, Y., & Huang, J. (2015). A biochar application protects rice pollen from high-temperature stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, *96*, 281–287. doi: 10.1016/j.plaphy.2015.08.009
- Flores-Torres, L. M., Flores-Olivas, A., Ochoa-Fuentes, Y. M., López-Arroyo, J. I., Olalde-Portugal, V., Benavides-Mendoza, A., González-Morales, S., & Zamora-Villa, V. M. (2017). Comparación de enzimas y compuesto fenólicos, en tres especies de cítricos infectadas por *Candidatus Liberibacter asiaticus*. *Revista Mexicana de Fitopatología*, *35*(2), 314–325. doi: 10.18781/r.mex.fit.1608-2
- Fortis-Hernández, M., Preciado-Rangel, P., Segura-Castruita, M. A., Mendoza-Tacuba, L., Gallegos-Robles, M. A., García-Hernández, J. L., & Vásquez-Vásquez, C. (2018). Changes in nutraceutical quality of tomato under different organic substrates. *Horticultura Brasileira*, *36*(2), 189–194. doi: 10.1590/s0102-053620180207
- García Enciso, E. L., Robledo Olivo, A., Benavides Mendoza, A., Solís Gaona, S., & González Morales, S. (2018). Efecto de elicitors de origen natural sobre plantas de tomate sometidas a estrés biótico. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, *20*, 4211–4221.
- Genotypes, M., Perez, S. C., & Piernik, A. (2020). Effect of Salinity on Seed Germination and Seedling Development of Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) Genotypes. *Agronomy*, *10*, 859. doi: 10.3390/agronomy10060859
- González-Morales, S., Solís-Gaona, S., Valdés-Caballero, M. V., Juárez-Maldonado, A., Loredó-Treviño, A., & Benavides-Mendoza, A. (2021). Transcriptomics of Biostimulation of Plants Under Abiotic Stress. *Frontiers in Genetics*, *12*, 583888. doi: 10.3389/fgene.2021.583888
- Grant, T. N. L., Gargrave, J., & Dami, I. E. (2013). Morphological, physiological, and biochemical changes in *Vitis* genotypes in response to photoperiod regimes. *American Journal of Enology and Viticulture*, *64*(4), 466–475. doi:

10.5344/ajev.2013.13060

- Gupta, B. K., Sahoo, K. K., Anwar, K., Nongpiur, R. C., Deshmukh, R., Pareek, A., & Singla-Pareek, S. L. (2021). Silicon nutrition stimulates Salt-Overly Sensitive (SOS) pathway to enhance salinity stress tolerance and yield in rice. *Plant Physiology and Biochemistry*, *166*, 593–604. doi: 10.1016/j.plaphy.2021.06.010
- Halford, N. G., Curtis, T. Y., Chen, Z., & Huang, J. (2015). Effects of abiotic stress and crop management on cereal grain composition: Implications for food quality and safety. *Journal of Experimental Botany*, *66*(5), 1145–1156. doi: 10.1093/jxb/eru473
- Hernández-Hernández, H., Juárez-Maldonado, A., Benavides-Mendoza, A., Ortega-Ortiz, H., Cadenas-Pliego, G., Sánchez-Aspeytia, D., & González-Morales, S. (2018a). Chitosan-PVA and Copper Nanoparticles Improve Growth and Overexpress the SOD and JA Genes in Tomato Plants under Salt Stress. *Agronomy*, *8*(9), 175. doi: 10.3390/agronomy8090175
- Hernández-Hernández, H., Pérez-Labrada, F., Garcia Enciso, E. L., Leija-Martínez, P., López-Pérez, M. C., Medrano-Macías, J., González-Morales, S., Juárez Maldonado, A., García Dávila, L. R., & Benavidez Mendoza, A. (2018b). Tolerance-Induction Techniques and Agronomical Practices to Mitigate Stress in Extensive Crops and Vegetables. In V. Andjelkovic (Ed.), *Plant, Abiotic Stress and Responses to Climate Change* (pp. 145–181). Rijeka, Croatia: InTech. doi: 10.5772/intechopen.71771
- Jia, J., Liang, Y., Gou, T., Hu, Y., Zhu, Y., Huo, H., Guo, J., & Gong, H. (2020). The expression response of plasma membrane aquaporins to salt stress in tomato plants. *Environmental and Experimental Botany*, *178*, 104190. doi: 10.1016/j.envexpbot.2020.104190
- Jónasdóttir, S. H. (2019). Fatty acid profiles and production in marine phytoplankton. *Marine Drugs*, *17*(3), 151. doi: 10.3390/md17030151
- Juárez-Maldonado, A., De Alba Romenus, K., Zermeño González, A., Ramírez, H., & Benavides Mendoza, A. (2015). Análisis de crecimiento del cultivo de tomate en invernadero. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, *6*(5), 943–954. doi: 10.29312/remexca.v6i5.589
- Juárez-Maldonado, A., Ortega-Ortiz, H., Morales-Díaz, A. B., González-Morales, S., Morelos-Moreno, Á., Cabrera-De la Fuente, M., Sandoval-Rangel, A., Cadenas-Pliego, G., & Benavides-Mendoza, A. (2019). Nanoparticles and nanomaterials as plant biostimulants. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(1), 162. doi: 10.3390/ijms20010162
- Karimi, M., Ebadi, A., Mousavi, S. A., Salami, S. A., & Zarei, A. (2015). Comparison of CBF1, CBF2, CBF3 and CBF4 expression in some grapevine cultivars and species under cold stress. *Scientia Horticulturae*, *197*, 521–526. doi:

10.1016/j.scienta.2015.10.011

- Kim, J. S., Jeon, B. W., & Kim, J. (2021). Signaling Peptides Regulating Abiotic Stress Responses in Plants. *Frontiers in Plant Science*, 12, 704490. doi: 10.3389/fpls.2021.704490
- Kumari, R., Kaur, I., & Bhatnagar, A. K. (2013). Enhancing soil health and productivity of *Lycopersicon esculentum* Mill. using *Sargassum johnstonii* Setchell & Gardner as a soil conditioner and fertilizer. *Journal of Applied Phycology*, 25(4), 1225–1235. doi: 10.1007/s10811-012-9933-y
- La Bella, S., Consentino, B. B., Roupahel, Y., Ntatsi, G., De Pasquale, C., Iapichino, G., & Sabatino, L. (2021). Impact of *Ecklonia maxima* seaweed extract and Mo foliar treatments on biofortification, spinach yield, quality and NUE. *Plants*, 10(6), 1139. doi: 10.3390/plants10061139
- Lara Herrera, A. (1999). Manejo de la solución nutritiva en la producción de tomate en hidroponia. *Terra*, 17(3), 221–229.
- Li, Y. T., Xu, W. W., Ren, B. Z., Zhao, B., Zhang, J., Liu, P., & Zhang, Z. S. (2020). High temperature reduces photosynthesis in maize leaves by damaging chloroplast ultrastructure and photosystem II. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 206(5), 548–564. doi: 10.1111/jac.12401
- Medrano Macías, J., López Caltzontzit, M. G., Rivas Martínez, E. N., Narváez Ortiz, W. A., Benavides Mendoza, A., & Martínez Lagunes, P. (2021). Enhancement to salt stress tolerance in strawberry plants by iodine products application. *Agronomy*, 11(3), 602. doi: 10.3390/agronomy11030602
- Méndez-Guisado, J. C., Boicet, F. T., & Yanoski, S. B. Y. (2012). Efecto de tres alternativas ecológicas en el desarrollo y crecimiento del tomate (*Solanum lycopersicum* L.). *Revista Granma Ciencia*, 16(3), 1–10.
- Michel, G., Tonon, T., Scornet, D., Cock, J. M., & Kloareg, B. (2010). Central and storage carbon metabolism of the brown alga *Ectocarpus siliculosus*: Insights into the origin and evolution of storage carbohydrates in Eukaryotes. *New Phytologist*, 188(1), 67–81. doi: 10.1111/j.1469-8137.2010.03345.x
- Morales-Espinoza, M. C., Cadenas-Pliego, G., Pérez-Alvarez, M., Hernández-Fuentes, A. D., Cabrera de la Fuente, M., Benavides-Mendoza, A., Valdés-Reyna, J., & Juárez-Maldonado, A. (2019). Se Nanoparticles Induce Changes in the Growth, Antioxidant Responses, and Fruit Quality of Tomato Developed under NaCl Stress. *Molecules*, 24, 3030. doi: 10.3390/molecules24173030
- Nardi, S., Pizzeghello, D., Schiavon, M., & Ertani, A. (2016). Plant biostimulants: Physiological responses induced by protein hydrolyzed-based products and humic substances in plant metabolism. *Scientia Agricola*, 73(1), 18–23. doi:

10.1590/0103-9016-2015-0006

- Oberkofler, V., Prax, L., & Baurle, I. (2021). Epigenetic regulation of abiotic stress memory: maintaining the good things while they last. *Current Opinion in Plant Biology*, *61*, 102007. doi: 10.1016/j.pbi.2021.102007
- Parihar, P., Singh, S., Singh, R., Singh, V. P., & Prasad, S. M. (2015). Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, *22*(6), 4056–4075. doi: 10.1007/s11356-014-3739-1
- Puglisi, I., La Bella, E., Rovetto, E. I., Lo Piero, A. R., & Baglieri, A. (2020). Biostimulant effect and biochemical response in lettuce seedlings treated with a *Scenedesmus quadricauda* extract. *Plants*, *9*(1), 123. doi: 10.3390/plants9010123
- Rayirath, P., Benkel, B., Mark Hodges, D., Allan-Wojtas, P., MacKinnon, S., Critchley, A. T., & Prithiviraj, B. (2009). Lipophilic components of the brown seaweed, *Ascophyllum nodosum*, enhance freezing tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, *230*(1), 135–147. doi: 10.1007/s00425-009-0920-8
- Rezaie, R., Abdollahi Mandoulakani, B., & Fattahi, M. (2020). Cold stress changes antioxidant defense system, phenylpropanoid contents and expression of genes involved in their biosynthesis in *Ocimum basilicum* L. *Scientific Reports*, *10*(1), 5290. doi: 10.1038/s41598-020-62090-z
- Rodriguez-Jasso, R. M., Mussatto, S. I., Pastrana, L., Aguilar, C. N., & Teixeira, J. A. (2011). Microwave-assisted extraction of sulfated polysaccharides (fucoidan) from brown seaweed. *Carbohydrate Polymers*, *86*(3), 1137–1144. doi: 10.1016/j.carbpol.2011.06.006
- Rouphael, Y., De Micco, V., Arena, C., Raimondi, G., Colla, G., & De Pascale, S. (2017). Effect of *Ecklonia maxima* seaweed extract on yield, mineral composition, gas exchange, and leaf anatomy of *Zucchini squash* grown under saline conditions. *Journal of Applied Phycology*, *29*(1), 459–470. doi: 10.1007/s10811-016-0937-x
- Ryabushko, V. I., Prazukin, A. V., Gureeva, E. V., Bobko, N. I., Kovrigina, N. G., & Nekhoroshev, M. V. (2017). Fucoxanthin and heavy metals in brown algae of genus *Cystoseira* C. Agardh from water areas with different anthropogenic influences (Black Sea). *Marine Biological Journal*, *2*(2), 70–79. doi: 10.21072/mbj.2017.02.2.07
- Sachdev, S., Ansari, S. A., Ansari, M. I., & Fujita, M. (2021). Abiotic Stress and Reactive Oxygen Species: Generation, Signaling, and Defense Mechanisms. *Antioxidants*, *10*, 277. doi: 10.3390/antiox10020277
- Salehi, B., Sharifi-Rad, R., Sharopov, F., Namiesnik, J., Roointan, A., Kamle, M., Kumar, P., Martins, N., & Sharifi-Rad, J. (2019). Beneficial effects and potential risks of tomato consumption for human health: An overview. *Nutrition*, *62*, 201–

208. doi: 10.1016/j.nut.2019.01.012

- Sami, F., Yusuf, M., Faizan, M., Faraz, A., & Hayat, S. (2016). Role of sugars under abiotic stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, *109*, 54–61. doi: 10.1016/j.plaphy.2016.09.005
- Sariñana-Aldaco, O., Benavides-Mendoza, A., Juárez-Maldonado, A., Robledo-Olivo, A., Rodríguez-Jasso, R. M., Preciado-Rangel, P., & Gonzalez-Morales, S. (2021). Efecto de extractos de *Sargassum* spp. en el crecimiento y antioxidantes de plántulas de tomate. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, *8*(2), e2814. doi: 10.19136/era.a8n2.2814
- Sariñana-Aldaco, O., Sánchez-Chávez, E., Troyo-Diéguéz, E., Tapia-Vargas, L. M., Díaz-Pérez, J. C., & Preciado-Rangel, P. (2020). Foliar Aspersion of Salicylic Acid Improves Nutraceutical Quality and Fruit Yield in Tomato. *Agriculture*, *10*(10), 482. doi: 10.3390/agriculture10100482
- Shin, Y. K., Bhandari, S. R., Jo, J. S., Song, J. W., Cho, M. C., Yang, E. Y., & Lee, J. G. (2020). Response to salt stress in lettuce: Changes in chlorophyll fluorescence parameters, phytochemical contents, and antioxidant activities. *Agronomy*, *10*(11), 1627. doi: 10.3390/agronomy10111627
- Shukla, P. S., Mantin, E. G., Adil, M., Bajpai, S., Critchley, A. T., & Prithiviraj, B. (2019). *Ascophyllum nodosum*-based biostimulants: Sustainable applications in agriculture for the stimulation of plant growth, stress tolerance, and disease management. *Frontiers in Plant Science*, *10*, 655. doi: 10.3389/fpls.2019.00655
- Soylomez, S., Kaya, C., & Dikilitas, S. K. (2017). Promotive effects of epibrassinolide on plant growth, fruit yield, antioxidant, and mineral nutrition of saline stressed tomato plants. *Pakistan Journal of Botany*, *49*(5), 1655–1661.
- Trejo-Valencia, R., Sánchez-Acosta, L., Fortis-Hernández, M., Preciado-Rangel, P., Gallegos-Robles, M. Á., Antonio-Cruz, R. del C., & Vázquez-Vázquez, C. (2018). Effect of seaweed aqueous extracts and compost on vegetative growth, yield, and nutraceutical quality of cucumber (*Cucumis sativus* L.) fruit. *Agronomy*, *8*(11), 264. doi: 10.3390/agronomy8110264
- ul Haq, S., Khan, A., Ali, M., Khattak, A. M., Gai, W.-X., Zhang, H.-X., Wei, A.-M., & Gong, Z.-H. (2019). Heat shock proteins: Dynamic biomolecules to counter plant biotic and abiotic stresses. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(21), 5321. doi: 10.3390/ijms20215321
- Valenzuela López, M., Partida Ruvalcaba, L., Díaz Valdés, T., Velázquez Alcaraz, T. de J., Bojórquez Bojórquez, G., & Enciso Osuna, T. (2014). Respuesta del tomate cultivado en hidroponía con soluciones nutritivas en sustrato humus de lombriz-fibra de coco. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, *5*(5), 807–818. doi: 10.29312/remexca.v5i5.903

- van Bezouw, R. F. H. M., Janssen, E. M., Ashrafuzzaman, M., Ghahramanzadeh, R., Kilian, B., Graner, A., Visser, R. G. F., & van der Linden, C. G. (2019). Shoot sodium exclusion in salt stressed barley (*Hordeum vulgare* L.) is determined by allele specific increased expression of HKT1;5. *Journal of Plant Physiology*, *241*, 153029. doi: 10.1016/j.jplph.2019.153029
- Vázquez-Vázquez, P., García-López, M. Z., Navarro-Cortez, M. C., & García-Hernández, D. (2015). Efecto de la Composta y Té de Composta en el Crecimiento y Producción de Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en Invernadero. *Revista Mexicana de Agronegocios*, *36*, 1351–1356.
- Waghmode, A. V, Narayankar, C. U., Nimbalkar, M. S., & Gaikwad, D. K. (2019). Exploration of fucoxanthin and astaxanthin in macro alga (*Sargassum* sp.) by high-performance liquid chromatography. *Indian Hydrobiology*, *18*(January), 40–49.
- Watling, J. R., Grant, N. M., Miller, R. E., & Robinson, S. A. (2008). Mechanisms of thermoregulation in plants. *Plant Signaling & Behavior*, *3*(8), 595–597. doi: 10.1093/jxb/erm333
- Yu, Z., Duan, X., Luo, L., Dai, S., Ding, Z., & Xia, G. (2020). How Plant Hormones Mediate Salt Stress Responses. *Trends in Plant Science*, *25*(11), 1117–1130. doi: 10.1016/j.tplants.2020.06.008
- Zhao, X., Wei, Y., Zhang, J., Yang, L., Liu, X., Zhang, H., Shao, W., He, L., Li, Z., Zhang, Y., & Xu, J. (2021a). Membrane Lipids' Metabolism and Transcriptional Regulation in Maize Roots Under Cold Stress. *Frontiers in Plant Science*, *12*, 639132. doi: 10.3389/fpls.2021.639132
- Zhao, J., Lu, Z., Wang, L., & Jin, B. (2021b). Plant Responses to Heat Stress: Physiology, Transcription, Noncoding RNAs, and Epigenetics. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(1), 117. doi: 10.3390/ijms22010117
- Zhao, B., Liu, Q., Wang, B., & Yuan, F. (2021c). Roles of Phytohormones and Their Signaling Pathways in Leaf Development and Stress Responses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *69*(12), 3566–3584. doi: 10.1021/acs.jafc.0c07908