

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



EXTRACTOS DE *Sargassum* spp. COMO INDUCTORES DE TOLERANCIA A
Fusarium oxysporum EN EL CULTIVO DE TOMATE

Tesis

Que presenta LUZ LETICIA RIVERA SOLÍS
como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

Saltillo, Coahuila

Diciembre 2021

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



EXTRACTOS DE *Sargassum* spp. COMO INDUCTORES DE TOLERANCIA A
Fusarium oxysporum EN EL CULTIVO DE TOMATE

Tesis

Que presenta LUZ LETICIA RIVERA SOLÍS
como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA


Dra. Susana González Morales
Director Interno


Dra. Rosa María Rodríguez Jasso
Director Externo

Saltillo, Coahuila

Diciembre 2021

EXTRACTOS DE *Sargassum* spp. COMO INDUCTORES DE TOLERANCIA A
Fusarium oxysporum EN EL CULTIVO DE TOMATE

Tesis

Elaborada por LUZ LETICIA RIVERA SOLÍS como requisito parcial para obtener el
grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA con la supervisión y
aprobación del Comité de Asesoría

Dra. Susana González Morales
Asesor principal

Dr. Armando Robledo Olivo
Asesor

Dr. Alberto Sandoval Rangel
Asesor

Dra. María Lilia Flores López
Asesor

Dra. Rosa María Rodríguez Jasso
Asesor

Dr. Marcelino Cabrera De la Fuente
Subdirección de Postgrado
UAAAN

Saltillo, Coahuila

Diciembre 2021

AGRADECIMIENTOS

A **Dios** por darme la sabiduría de elegir el camino del conocimiento y la investigación, y permitirme contar con salud aun en tiempos de pandemia.

A **mi familia** por siempre respaldar mis sueños, alentarme en los momentos de flaqueza y brindarme la fuerza para no perder de vista mis objetivos. Gracias por su disponibilidad en el seguimiento del experimento, por su guía, apoyo, comprensión, amor y confianza.

A la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro** y al programa de Maestría en Ciencias en Horticultura por ser mi hogar y nuevamente abrirme el camino para formarme profesionalmente y generar en mis nuevos conocimientos para formar mejor capital humano.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)** mi gratitud entera por haberme otorgado el apoyo económico para culminar mis estudios de maestría.

A la **Dra. Susana González Morales**, por ser una gran mentora y guiarme a lo largo de estos 2 años enseñándome a ver la ciencia y la agronomía a profundidad. Gracias infinitas por siempre tener disponibilidad para enseñarme y brindarme su apoyo, confianza.

A mis co-asesores **Dr. Armando Robledo Olivo** y **Dr. Alberto Sandoval Rangel** por su asesoría y apoyo durante la realización de este proyecto.

A mis asesoras externas **Dra. Rosa María Rodríguez Jasso** y en especial a **la Dra. María Liliana Flores López**, por la disposición y orientación brindada durante este proyecto formativo, gracias infinitas por tantas enseñanzas.

Al **Ing. Jesús Izaguirre**, por todo el amor, apoyo y comprensión que me brindó en todo momento, por compartirme sus conocimientos, motivarme y caminar conmigo a lo largo de esta etapa, aun y cuando hubo momentos difíciles.

A todos aquellos que de alguna manera intervinieron en la realización de este trabajo de investigación y, además, me brindaron su valiosa amistad: **José Refugio Méndez, Mafer Valdés, Andrea Buena, Oscar Sariñana Aldaco, Jorge Guía y Mónica Limón.**

“Last but not least, I wanna thank me for believing in me, for doing all this hard work, for having no days off and for never quitting”

DEDICATORIA

Con mucho amor:

A mi madre **Olga Leticia Solís Cerda**, quien con su ejemplo me ha enseñado a esforzarme y exigirme. Gracias por siempre estar para mí, por tus oraciones, sacrificios y atenciones, por seguir mis pasos de cerca y guiar mi vida en todo momento, soy afortunada al ser tu hija.

A mi padre **Jesús María Rivera Meza** por enseñarme a creer en mí, por brindarme seguridad, apoyo y confianza en todo momento, gracias por darme alas para volar y darme el mejor ejemplo de esfuerzo, dedicación y trabajo.

A mi muy querida hermana **Clara Eglantina Rivera Solís**, que es mi mayor motivación para seguir esforzándome, quien me brindó todo su apoyo, comprensión y paciencia en todo momento, gracias por ser mi compañera de vida, te amo con el alma.

A **mi familia**, que con todo su amor, paciencia y sacrificio me han brindado todo su apoyo para llegar a culminar una meta más, infinitas gracias por todo ese esfuerzo compartido.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS.....	iv
DEDICATORIA.....	v
LISTA DE CUADROS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
RESUMEN	xiii
ABSTRACT	xv
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVO GENERAL	3
Objetivos Específicos	3
HIPOTESIS	3
REVISIÓN DE LITERATURA	4
Importancia del Cultivo de tomate.....	4
Propiedades del tomate	4
Limitantes en la producción de tomate	5
Incidencia de <i>Fusarium</i> en tomate.....	6
Marchitez vascular por <i>Fusarium oxysporum</i>	8
Mecanismo de defensa al estrés biótico.....	10
Bioestimulantes en la agricultura.....	13
Algas pardas como bioestimulantes.....	14
Componentes bioactivos en algas pardas.....	15
Usos de las algas pardas.....	16
Extractos de algas pardas	18
Extractos de <i>Sargassum</i> Spp. y sus propiedades antifúngicas.....	20
MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
Ubicación y establecimiento del experimento	22
Etapa I) Producción de extractos hidroalcohólicos de SAR	22
Etapa II) Prueba preliminar en etapa de plántula.....	23
Variables evaluadas en plántulas de tomate	24
Etapa III) Caracterización Del Extracto De SAR Seleccionado.....	24

Análisis bioquímico	25
Proteínas totales	25
Aminoácidos	25
Glutación reducido	25
Fenoles totales.....	26
Flavonoides	26
Capacidad antioxidante.....	26
Fitohormonas	27
Ácido indolacético	27
Trans-Zeatina	27
Perfil de monosacáridos.....	27
Prueba antifúngica <i>in vitro</i>	28
Concentración mínima inhibitoria	28
Etapa Iv) Desarrollo de cultivo de tomate aplicando el extracto de SAR seleccionado....	29
Variables evaluadas en plantas de tomate.....	30
Etapa V) Análisis de variables bioquímicas, actividad enzimática y de expresión génica.	31
Determinación de calidad de fruto	31
Variables bioquímicas.....	31
Vitamina C	31
Fenoles totales.....	32
Licopeno	32
Capacidad Antioxidante.....	33
Evaluación De Variables Relacionadas a tolerancia a estrés en hojas.....	33
Cuantificación de proteínas totales	34
Actividad enzimática fenilalanina amonio liasa (PAL)	34
Actividad Enzimática de quitinasa y B- 1,3 Glucanasa.....	35
Quitinasa	35
B-1,3 Glucanasa.....	35
Pigmentos fotosintéticos	35
Análisis de expresión génica.....	36

Análisis estadístico de datos	41
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	42
Etapa I) Prueba preliminar en etapa de plántula	42
Número de hojas	43
Altura de planta.....	44
Incidencia y severidad en plántula.....	45
Etapa II) Caracterización del extracto seleccionado de SAR	47
Composición bioquímica	47
Perfil de monosacáridos.....	49
Prueba antifúngica <i>in vitro</i>	51
Concentración mínima inhibitoria	52
Etapa III) Desarrollo de cultivo de tomate aplicando el extracto de SAR E12	53
Variables evaluadas en plantas de tomate.....	53
Incidencia y severidad en tomate.....	55
Etapa IV) Análisis de variables bioquímicas, actividad enzimática y expresión génica ..	56
Determinación de calidad de fruto	56
Vitamina C.....	58
Fenoles totales.....	59
Licopeno	60
Capacidad antioxidante.....	61
Variables relacionadas a tolerancia a estrés en hojas.....	62
Actividad enzimática de Pal, Quitinasa y B 1- 3 Glucanasa.....	62
Pigmentos fotosintéticos	66
Expresión relativa de genes de defensa	69
CONCLUSIONES.....	73
REFERENCIAS	75

Lista de Cuadros

Cuadro 1. Efecto de la aplicación de algas pardas y sus derivados en el desarrollo de cultivos	17
Cuadro 2. Condiciones de producción de extractos hidroalcohólicos de <i>SAR</i>	23
Cuadro 3. Secuencia de primers utilizados de los genes ACT, PR1, LOX y NCED.....	39
Cuadro 4. Preparación de cóctel mix correspondiente a cada gen	40
Cuadro 5. Composición bioquímica del extracto E12.....	49
Cuadro 6. Perfil de monosacáridos del extracto E12	50
Cuadro 7. CMI ₅₀ y CMI ₉₀ del extracto de <i>SAR</i> para inhibir el crecimiento de <i>Fusarium oxysporum</i>	52
Cuadro 8. Variables agronómicas asociadas al crecimiento de plantas de tomate	54
Cuadro 9. Incidencia y severidad de síntomas en plantas de tomate infectadas con <i>FO</i> de acuerdo a la escala propuesta por Diener y Ausubel, (2005).	55
Cuadro 10. Efecto de la aplicación del extracto de <i>SAR</i> en la calidad de frutos de tomate.	57

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Características morfológicas macroscópicas y microscópicas de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> . A) Colonia cultivada en agar PDA y B) Vista microscópica de macroconidias en el objetivo 40X.	7
Figura 2. Daños causados por <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> en condiciones de A) Invernadero y B) Campo abierto.	8
Figura 3. Ciclo de enfermedad causada por <i>FO</i> en cultivo de tomate.	10
Figura 4. Prueba preliminar en plántula de tomate A) Establecimiento de experimento, B) Aplicación de tratamientos, C) Inoculación de <i>FO</i> en la raíz y D) Evaluación de variables agronómicas.	24
Figura 5. Cronograma del desarrollo del cultivo de tomate tratado con un extracto de <i>SAR</i>	30
Figura 6. Diámetro de tallo en plántulas de tomate tratadas con aplicaciones foliares de extractos de <i>SAR</i> a los 43 DDT. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (LSD, $p \leq 0.05$).	42
Figura 7. Número de hojas en plántulas de tomate tratadas con aplicaciones foliares de extractos de <i>SAR</i> a los 43 DDT. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (LSD, $p \leq 0.05$).	43
Figura 8. Altura de plántulas de tomate tratadas con aplicaciones foliares de extractos de <i>SAR</i> . a los 43 DDT. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (LSD, $p \leq 0.05$).	44

Figura 9. Severidad de <i>F. oxysporum</i> en plántulas de tomate tratadas con aplicaciones foliares de extractos de SAR. a los 43 DDT. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (LSD, $p \leq 0.05$).....	45
Figura 10. Porcentaje de incidencia de <i>F. oxysporum</i> en plántulas de tomate tratadas con aplicaciones foliares de extractos de SAR. a los 43 DDT. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (LSD, $p \leq 0.05$).....	46
Figura 11. Efecto antifúngico in vitro de extracto de SAR (E12) expresado en porcentaje (%) de inhibición contra <i>FO</i> . DDI: días después de la inoculación.	52
Figura 12. Efecto de la aplicación del extracto de SAR E12 sobre el contenido de vitamina C en frutos de tomate sometidos a estrés biótico por <i>FO</i> . Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (LSD, $p \leq 0.05$). T0: Testigo absoluto, TI: testigo infectado, TCI: testigo comercial infectado y TX: tratamiento con aplicación de extracto de SAR E12.	58
Figura 13. Fenoles totales presentes en frutos de tomate tratados con extracto de SAR e inoculados con <i>FO</i> . Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (LSD, $p \leq 0.05$). T0: Testigo absoluto, TI: testigo infectado, TCI: testigo comercial infectado y TX: tratamiento con aplicación de SAR E12.	59
Figura 14. Efecto de la aplicación de extracto de SAR inoculado con <i>FO</i> en el contenido de licopeno en frutos tomate. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (LSD, $p \leq 0.05$). T0: Testigo absoluto, TI: testigo infectado, TCI: testigo comercial infectado y TX: tratamiento con aplicación del extracto de SAR E12.....	60
Figura 15. Efecto de la aplicación de extracto de SAR e inoculados con <i>FO</i> en la actividad antioxidante de frutos de tomate. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (LSD, $p \leq 0.05$). T0: Testigo absoluto, TI: testigo infectado, TCI: testigo comercial infectado y TX: tratamiento con aplicación del extracto de SAR E12.....	61

Figura 16. Cinética enzimática de PAL, evaluada en muestras de hoja de plantas de tomate con la aplicación de extracto de SAR e inoculación con <i>FO</i>	63
Figura 17. Cinética enzimática de Quitinasa, evaluada en muestras de hoja de plantas de tomate con la aplicación de extracto de SAR e inoculación con <i>FO</i>	64
Figura 18. Cinética enzimática de β 1- 3 Glucanasa evaluada en muestras de hoja de plantas de tomate con la aplicación de extracto de SAR e inoculación con <i>FO</i>	66
Figura 19. Efecto de la aplicación del extracto de SAR sobre el contenido de clorofilas en plantas de tomate sometidas a estrés por <i>FO</i> a los A) 27 DDT B) 38 DDT y C) 87 DDT. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (LSD, $p \leq 0.05$). Ch a: clorofila a, Ch b: clorofila b, C total: clorofila total y Car: Carotenoides.	68
Figura 20. Expresión relativa del gen NCED en hojas de tomate tratadas con extracto de SAR e inoculadas con <i>FO</i> , a los 18, 27 y 38 DDT.	70
Figura 21. Expresión relativa del gen LOX en hojas de tomate tratadas con extracto de SAR e inoculadas con <i>FO</i> , a los 18, 27 y 38 DDT.	71
Figura 22. Expresión relativa del gen PR1, en hojas de tomate tratadas con extracto de SAR e inoculadas con <i>FO</i> , a los 18, 27 y 38 DDT.	73

RESUMEN

EXTRACTOS DE *Sargassum* spp. COMO INDUCTORES DE TOLERANCIA A
Fusarium oxysporum EN EL CULTIVO DE TOMATE

POR

LUZ LETICIA RIVERA SOLÍS
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DRA. SUSANA GONZÁLEZ MORALES –ASESOR

Saltillo, Coahuila

Diciembre 2021

En los últimos años, el uso indiscriminado de productos sintéticos para mitigar los efectos adversos derivados de la incidencia de plagas y patógenos ha tenido un impacto negativo en el sector agrícola. Por dicha razón, el objetivo de esta investigación fue estudiar el efecto bioestimulante de extractos hidroalcohólicos de *Sargassum* spp. (SAR) sobre la resistencia a *Fusarium oxysporum* (FO) en el cultivo de tomate. En la primera etapa se estableció una prueba preliminar en plántulas para la selección del mejor extracto en función de la incidencia y severidad de la infección por FO. Se evaluaron 17 extractos (E1-E17), los cuales se aplicaron de manera foliar en intervalos de diez días; el extracto E12 mostró un mejor control de la enfermedad con un 17% menos de la severidad de síntomas respecto al testigo infectado. En la caracterización del extracto E12 se encontró una amplia variedad de moléculas como fenoles, flavonoides, fitohormonas y monosacáridos a las cuales se les puede atribuir capacidad antioxidante, antifúngica y elicitora. En la prueba de inhibición *in vitro* el extracto E12 presentó un efecto antifúngico sobre FO a una concentración de 6,400 mg L⁻¹ mayor al 50% a los 6 días después de la inoculación (DDI). En el desarrollo del cultivo se consideraron 4 tratamientos: plantas con la aplicación del extracto seleccionado e infectadas con FO (TX), un testigo infectado (TI), un producto comercial a base de *Ascophyllum nodosum* (TCI) en plantas infectadas y un testigo absoluto (T0) sin aplicaciones y sin infección. Se evaluaron variables agronómicas, bioquímicas, enzimáticas y de expresión génica. La aplicación del TX presentó un comportamiento similar al T0 en las variables relacionadas con el vigor en las plantas como rendimiento, número de frutos, altura de planta y diámetro de tallo. Así mismo, en los frutos cosechados del TX se observó calidad nutraceútica aceptable en función del contenido de vitamina C, fenoles, licopeno y capacidad antioxidante. En la cinética enzimática la aplicación del TX incrementó la fenilalanina amoniaco liasa (PAL), quitinasa y β 1-3 glucanasa en diferentes tiempos de muestreo. En la aplicación del TX se observó una sobreexpresión de los genes PR1 (Ácido salicílico) y LOX (Ácido Jasmónico) a los 27 y 38 días después del trasplante (DDT), y una represión del gen NCED (Ácido abscísico) a los 38 DDT. Por lo que la aplicación del extracto E12 representa una alternativa para su uso como bioestimulante que mejore la resistencia al estrés biótico, incremente el vigor y calidad de frutos de tomate.

Palabras clave: Bioestimulante, estrés biótico, extractos hidroalcohólicos, macroalgas, *Solanum lycopersicum*.

ABSTRACT

Sargassum spp. EXTRACTS AS TOLERANCE INDUCTORS TO *Fusarium oxysporum*
IN TOMATO CROP

BY

LUZ LETICIA RIVERA SOLÍS
MASTER IN SCIENCE IN HORTICULTURE

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DRA. SUSANA GONZÁLEZ MORALES –ADVISER

Saltillo, Coahuila

December 2021

In recent years, the indiscriminate use of synthetic products to mitigate the adverse effects derived from the incidence of pests and pathogens has had a negative impact on the agricultural sector. For this reason, the objective of this research was to study the biostimulant effect of hydroalcohol extracts of *Sargassum* spp. (SAR) on resistance to *Fusarium oxysporum* (FO) in tomato cultivation. In the first stage, a preliminary test was established in seedlings for the selection of the best extract based on the incidence and severity of the FO infection. Seventeen extracts (E1-E17) were evaluated, which were applied in a foliar manner at ten-day intervals; the E12 extract showed better control of the disease with 17% less severity of symptoms compared to the infected control. In the characterization of the E12 extract, a wide variety of molecules such as phenols, flavonoids, phytohormones, and monosaccharides were found to which antioxidant, antifungal and eliciting capacity can be attributed. In the *in vitro* inhibition test, the E12 extract presented an antifungal effect on FO at a concentration of 6,400 mg L⁻¹ greater than 50% at 6 days after inoculation (DDI). In the development of the culture, 4 treatments were considered: plants with the application of the selected extract and infected with FO (TX), an infected control (TI), a commercial product based on *Ascophyllum nodosum* (TCI) in infected plants and an absolute control (T0) no applications and no infection. Agronomic, biochemical, enzymatic, and gene expression variables were evaluated. The application of TX presented a similar behavior to T0 in the variables related to plant vigor such as yield, number of fruits, plant height, and stem diameter. Likewise, in the fruits harvested from TX, acceptable nutraceutical quality depending on the content of vitamin C, phenols, lycopene, and antioxidant capacity was observed. In enzyme kinetics, the application of TX increased PAL, chitinase, and β 1-3 glucanase at different sampling times. In the application of TX, an overexpression of the PR1 (Salicylic acid) and LOX (Jasmonic acid) genes is carried out at 27 and 38 days after transplantation (DDT), and a repression of the NCED (abscisic acid) gene at 38 DDT. Therefore, the application of the E12 extract represents an alternative for its use as a biostimulant that improves resistance to biotic stress in tomato plants, while increasing the vigor of the plants and the quality of their fruits.

Keywords: Biostimulant, biotic stress, hydroalcohol extracts, macroalgae, *Solanum lycopersicum*.

INTRODUCCIÓN

A lo largo del mundo, el sector agrícola se enfrenta a eventos desfavorables como los cambios climáticos, la salinización, la desertificación, la erosión natural y la reducción de la fertilidad de los suelos, además de los factores bióticos que atacan los cultivos impidiendo cubrir la demanda de alimentos para la población (Tripathi *et al.*, 2019). En consecuencia, se han dirigido esfuerzos en la protección de los cultivos para evitar pérdidas de rendimiento por causas biológicas y no biológicas (Savary *et al.*, 2012). El ataque de plagas y patógenos representa una de las principales causas del estrés biótico que se relaciona a innumerables pérdidas en los cultivos, encabezada por la incidencia de hongos (Kumar *et al.*, 2018). Los hongos fitopatógenos del género *Fusarium*, son algunos de los agentes causales del deterioro de la raíz y el tallo basal, dando como resultado el marchitamiento de las plantas (Ignjatov *et al.*, 2012). *Fusarium oxysporum* (FO) es uno de los patógenos más destructivos con gran distribución y efectos devastadores en hortalizas, causante de la marchitez vascular, reconocida como la principal enfermedad que origina problemas en el cultivo de tomate (Nawaim *et al.*, 2017a). El tomate (*Solanum lycopersicum*) se encuentra entre las principales hortalizas de interés comercial para nuestro país, es altamente susceptible al ataque de patógenos que le causan pérdidas de hasta un 60% en el rendimiento (Ascencio-Álvarez *et al.*, 2008). Ante esta problemática, el uso de agroquímicos ha sido una de las maneras de solución; sin embargo, su uso indiscriminado resultó, no solo en una intensificación de la producción de alimentos, sino también en impactos negativos, generando resistencia de patógenos, elevando los costos de producción y la contaminación ambiental (Nicolopoulou-Stamati *et al.*, 2016). Por ello, existe la necesidad de desarrollar alternativas sostenibles y ecológicas para reemplazar los productos químicos sintéticos de la producción agrícola (Michalak y Chojnacka, 2015). En este contexto, se ha estudiado la inducción de tolerancia al estrés en las plantas con el uso de bioestimulantes, como alternativas para disminuir la severidad de los síntomas de las enfermedades causadas por patógenos (Baysal *et al.*, 2003). El mecanismo de acción de las plantas frente al ataque de patógenos involucra la percepción de moléculas señalizadoras llamadas inductores, que incluyen una amplia variedad de moléculas (Côté *et al.*, 1998).

El uso de bioestimulantes es una herramienta atractiva para el desarrollo de cultivos, ya que contienen sustancias que al aplicarse a la planta estimulan procesos naturales para beneficiar la absorción de nutrientes, tolerancia al estrés biótico o abiótico, mejora de calidad de frutos y aumento del rendimiento del cultivo (Du Jardin, 2015). Además, es comercialmente viable para el sector agrícola, ya que al aplicar dosis de bioestimulantes en pequeñas cantidades se logra un efecto positivo en la planta (Mannino *et al.*, 2020). Recientemente, se han estudiado los recursos marinos, en especial las algas pardas para el desarrollo de bioestimulantes, ya que representan una fuente potencial de compuestos bioactivos con una amplia variedad de actividades biológicas, que pueden ser eficaces para controlar las enfermedades de las plantas (de Melo *et al.*, 2020). Las algas y sus derivados se utilizan en agricultura como potenciales fertilizantes, bioestimulantes y reguladores de crecimiento de las plantas (Ramya *et al.*, 2015). Tal es el caso del género *Sargassum*, característico en la producción de metabolitos secundarios con alto potencial biotecnológico (Nawaim *et al.*, 2017b). En este tenor, se encuentra *Sargassum* spp. (SAR) que representa una potencial fuente de explotación debido a su alta disponibilidad en los últimos años en el Caribe Mexicano y su alto contenido de compuestos bioactivos (Rodríguez-Martínez y van Tussenbroek, 2017). Entre los componentes encontrados en las algas se incluyen: polisacáridos, vitaminas, minerales, proteínas, antioxidantes, pequeñas cantidades de lípidos, polifenoles y pigmentos (García Enciso *et al.*, 2018). En la caracterización de algunos de sus compuestos como los polisacáridos y oligosacáridos, particularmente el caso del ulvano, laminarinas, fucanos sulfatados, carragenanos y alginatos, se estudió la capacidad de desencadenar respuestas de defensa, consiguiendo suprimir enfermedades a través de la acción directa sobre los agentes causales e inducir tolerancia al estrés biótico y abiótico en plantas (Mercier *et al.*, 2001; Nawaim *et al.*, 2017b; Bouissil *et al.*, 2020). Estudios previos muestran que los extractos de algas pueden activar o interactuar con los mecanismos de defensa latentes de las plantas, induciendo a una resistencia frente al estrés, lo que hace que la planta sea menos susceptible al ataque posterior de patógenos (Azmir *et al.*, 2013; de Melo *et al.*, 2020). Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el potencial de extractos hidroalcohólicos de SAR para incrementar la tolerancia a la infección por FO en el cultivo de tomate.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de extractos hidroalcohólicos de *Sargassum* spp. sobre la inducción de tolerancia a *Fusarium oxysporum* en plantas de tomate.

Objetivos específicos

- Producir extractos hidroalcohólicos de *Sargassum* spp.
- Seleccionar y caracterizar el mejor extracto en plántulas de tomate inoculadas con *F. oxysporum*.
- Desarrollar el cultivo de tomate aplicando el mejor extracto de *Sargassum* spp. inoculado con *F. oxysporum*.
- Evaluar parámetros agronómicos, bioquímicos y de expresión génica relacionados a la tolerancia a *F. oxysporum* en el cultivo de tomate.

HIPÓTESIS

La aplicación foliar de un extracto hidroalcohólico de *Sargassum* spp. promoverá un efecto bioestimulante respecto a la inducción de tolerancia a *Fusarium oxysporum* en el cultivo de tomate.

REVISIÓN DE LITERATURA

Importancia del cultivo de tomate

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es un cultivo anual perteneciente a la familia de Solanáceas, una de las familias más variadas genéticamente y de importancia para consumo humano debido a que es una fuente importante de vitamina C, potasio, ácido fólico y carotenoides, como el licopeno (Li *et al.*, 2021). Es una de las hortalizas de mayor valor económico para nuestro país, con una superficie de siembra de 47,200 ha, y con una producción de 3.8 millones ton; siendo los principales estados productores Sinaloa, San Luis Potosí y Michoacán (SIAP, 2019). En 2018, el tomate rojo fue el segundo producto más importante en el valor de las exportaciones agropecuarias mexicanas, principalmente a Estados Unidos, por su cercanía geográfica, competitividad en precio y calidad, con una participación de 12.8 % (FIRA, 2019). Durante la última década, la demanda de esta hortaliza ha incrementado considerablemente, estimando que para el año 2030 la producción de tomate rojo ascienda a 7.56 millones ton (SAGARPA, 2017).

Propiedades del tomate

En México, el consumo de tomate aumenta continuamente y con ello la diversificación de su producción y comercialización, desempeñando un papel importante en la dieta diaria, ya que es un alimento ampliamente consumido en forma fresca (Monge Pérez y Loría Coto, 2019). Actualmente, se ha demostrado que esta hortaliza es fuente rica en nutrientes y compuestos bioactivos, comúnmente conocidos como metabolitos secundarios, cuya ingesta se relaciona con efectos positivos en la salud (Li *et al.*, 2021). Los beneficios a la salud humana se asocian a su composición química, la cual depende de la variedad y origen del cultivo (Flores *et al.*, 2021); esta composición incluye compuestos funcionales, que ayudan a prevenir enfermedades cardiovasculares y cancerígenas por su riqueza en vitaminas, minerales, fibra, proteínas, aminoácidos esenciales, ácidos grasos monoinsaturados, carotenoides y fitoesteroles (Saini *et al.*, 2020). Entre los principales carotenoides del tomate se encuentra el licopeno. Éste es el carotenoide responsable del color rojo y cuenta con capacidad para eliminar los radicales libres, además, tiene propiedades antiinflamatorias, antialérgicas, antimicrobianas y antioxidantes (Cheng *et*

al., 2019; Saini *et al.*, 2020). Las propiedades antioxidantes se asocian a la presencia de varios tipos diferentes de carotenoides como la vitamina C, vitamina E y compuestos fenólicos (Szabo *et al.*, 2019). Estos compuestos juegan un papel beneficioso en la inhibición de especies reactivas de oxígeno (ROS) al eliminar radicales libres, inhibiendo la proliferación y protegiendo a la membrana celular contra la peroxidación lipídica (Ali *et al.*, 2020). Además intervienen en la prevención del estreñimiento, la reducción de la presión arterial alta, la estimulación de la circulación sanguínea, el mantenimiento del perfil lipídico y los fluidos corporales (Salehi *et al.*, 2019). Por lo anterior, considerando los beneficios económicos y a la salud de esta hortaliza, es importante realizar un manejo eficiente en la agricultura intensiva para conocer los factores que condicionan el potencial de producción del cultivo.

Limitantes en la producción de tomate

El tomate es una de las especies hortícolas más cultivadas en el mundo, con una gran adaptación en ambientes muy diversos, desde producción en campo abierto hasta invernaderos de alta tecnología y cultivos sin suelo (Juárez-Maldonado *et al.*, 2017). En México, la superficie de siembra del tomate rojo en ambientes protegidos abarca el 46% respecto a la siembra del cultivo en campo abierto, registrado mayores rendimientos bajo estas condiciones debido al control de factores externos que limitan su producción (SIAP, 2020). Los altos rendimientos de producción en esta hortaliza son responsabilidad de la eficiencia tecnológica de los productores motivada por las limitaciones climáticas, así como también al ascendente desafío propuesto por los mercados internacionales. El cultivo de tomate es amenazado por diferentes tipos de estrés, los cuales, reducen la cantidad y calidad del fruto (Blancard, 2011).

En los últimos años, el deterioro ambiental ha impactado negativamente en el sector agrícola, generando eventos climáticos desfavorables, que traen como consecuencia el aumento de la salinidad del suelo, sequías, altas y bajas temperaturas, alta radiación, entre otras, contribuyendo al desarrollo de factores abióticos que afectan la producción agrícola (Nejat y Mantri, 2017). Por otro lado, en cuanto a los factores bióticos se han identificado más de 200 enfermedades asociadas a Solanáceas, responsables de pérdidas que van del

25 a 100% del cultivo (Roque-Enriquez *et al.*, 2021). Las enfermedades infecciosas causadas por hongos, ocurren en la mayoría de las áreas de producción de tomate en México y son la principal causa del daño en el cultivo (Ascencio-Álvarez *et al.*, 2008). Entre los patógenos con mayor incidencia en el cultivo se destacan los hongos neurotróficos como *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Monilinia* spp., *Alternaria* spp., *Rhizopus* spp., *Penicillium* spp. y *Fusarium* spp. (Lee *et al.*, 2019). El uso de herramientas más tecnificadas ha permitido el éxito de la producción frente a factores bióticos y abióticos que representan una amenaza para los cultivos. Sin embargo, el control eficaz de las enfermedades requiere estrategias de control basadas en el conocimiento de plagas y enfermedades endémicas del cultivo, mecanismo de acción y signos y síntomas, que contribuyan en la prevención de las enfermedades con alternativas que ralenticen su propagación basada en un manejo integrado (Martínez-Ruiz *et al.*, 2016).

Incidencia de *Fusarium* en tomate

El género *Fusarium* es una de las especies de mayor distribución y adaptación en el mundo, son especies cosmopolitas con la capacidad de actuar como saprófitos, compitiendo por el espacio de raíces para colonizar (Fujikawa *et al.*, 2021). Los miembros de este género son patógenos transmitidos por el suelo de una amplia gama de hospederos que causan la marchitez vascular destructiva, pudrición y otras enfermedades (Srinivas *et al.*, 2019). Además, son responsables de reducir la producción de cultivos de tomate tanto en condiciones de invernadero como de campo abierto (Gordon, 2017). Así mismo, algunas especies de *Fusarium* tienen la capacidad de producir micotoxinas en alimentos, incrementando el riesgo de transmisión de enfermedades al consumidor final (Srinivas *et al.*, 2019). La variabilidad genética de las especies del género *Fusarium*, se observa en la apariencia y coloración de las colonias (Figura 1), que puede presentar dos tipos: una de tipo micelial, caracterizada por la producción de abundante micelio aéreo, algodonoso, con una coloración variable, de blanco a rosado durazno, pero usualmente con un tinte púrpura o violeta más intenso en la superficie del agar y otra de forma pionotal (cultivo que carece de micelio aéreo) o colonia micelial plana “húmeda” con apariencia de color amarillo a naranja cuando es cultivado en agar papa dextrosa (PDA) (Gayosso *et al.*, 2021). Además, produce tres tipos de conidias asexuales: las microconidias, que se

producen con mayor abundancia en todas las condiciones, y se encuentran en el interior de las plantas; las macroconidias, que son conidias típicas de *Fusarium*, constituidas de 3 a 5 células que se adelgazan gradualmente y se encorvan hacia ambos extremos, aparecen con gran frecuencia sobre la superficie de las plantas que han sido destruidas por el patógeno y se forman en grupos similares a los esporodoquios, y las clamidosporas, que están constituidas por una o dos células, son redondas, de pared gruesa y sobreviven en el suelo durante más tiempo (Agrios, 1996; Arbeláez, 2000).

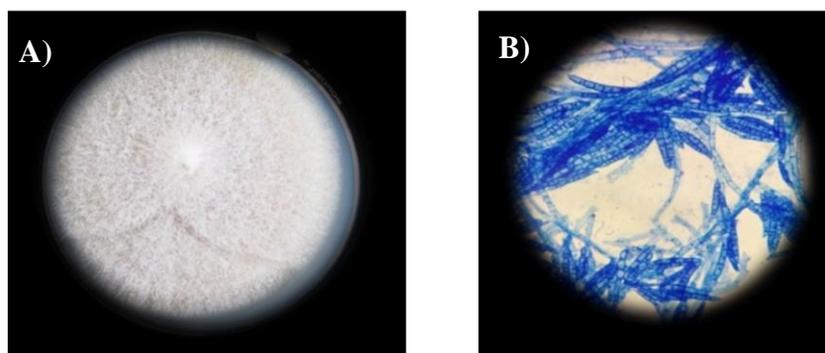


Figura 1. Características morfológicas macroscópicas y microscópicas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. **A)** Colonia cultivada en agar PDA y **B)** Vista microscópica de macroconidias en el objetivo 40X.

Las diferencias fisiológicas entre las especies del género *Fusarium* se logran distinguir debido a su forma especial, que se define por la patogenicidad dirigida hacia un hospedante (Arbeláez, 2000); actualmente, existen más de 120 formas especiales. Para *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* se han reportado tres razas fisiológicas, las cuales presentan variación por su virulencia en materiales diferenciales de tomate que contienen diferentes genes de resistencia (Gayosso *et al.*, 2021). La raza 1 es la más antigua, descrita en 1886 en Inglaterra, está ampliamente presente en muchas zonas productoras, la denominaron la raza común y es avirulenta sobre líneas de tomate con el gen I/I-1 (Ascencio-álvarez *et al.*, 2008; Houterman *et al.*, 2009). La raza 2 fue reportada en Ohio en 1945, es capaz de producir virulencia en líneas de tomate que contienen los genes I/I1, pero avirulento en líneas de tomate con el gen I2 (Houterman *et al.*, 2008; Kashiwa *et al.*, 2016). La raza 3 es la más reciente, con un área de distribución más limitada, es capaz de producir virulencia a líneas de tomate que contienen los genes “I” e “I-2” (Blancard, 2011).

Marchitez vascular por *Fusarium oxysporum*

Una de las principales enfermedades que afectan la producción de tomate es el marchitamiento vascular, causado por *F. oxysporum f. sp. lycopersici* Snyder y Hansen (FO), considerada como una de las más devastadoras en todas las regiones del mundo donde se cultiva tomate (Srinivas *et al.*, 2019). El patógeno es un habitante del suelo que puede diseminarse por la semilla y entrar por el sistema radicular de la planta, se desarrolla en una gran variedad de condiciones ambientales, desde climas templados hasta tropicales (Cai *et al.*, 2003). Según su forma de nutrición, se ha clasificado como patógeno necrotrófico, debido a que mata a las células hospedadoras y se alimentan de su contenido, lo que resulta en una necrosis extensa, maceración de tejidos y pudrición de la planta (Glazebrook, 2005). Sus daños inician con la penetración por la raíz y la colonización del tallo de las plantas en el sistema vascular, obstruyendo los vasos del xilema de la planta y, como resultado, provocando síntomas similares a la marchitez (Figura 2) (Singh *et al.*, 2017). La infección se puede restringir en cultivares resistentes como susceptibles, debido a la región de entrada del patógeno, la oclusión de los vasos por geles, deposiciones de calosa y tilosas (Langcake y Drysdale, 1975). En los cultivares susceptibles, la colonización es continúa dejando que las enzimas pectolíticas del patógeno degraden los geles y calosas, inhibiendo el crecimiento de las tilosas y logrando infectar la planta (Langcake *et al.*, 1973). En cuanto a los cultivares resistentes, la infección es neutralizada debido a la presencia de flavonoides del tipo de las catequinas que inactivan las enzimas de la pared celular del patógeno (González *et al.*, 2012).



Figura 2. Daños causados por *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* en condiciones de **A)** Invernadero y **B)** Campo abierto.

FO posee mecanismos de señalización que le permiten responder a variaciones en la expresión génica, lo que conduce a la superación del mecanismo de defensa del hospedador y al establecimiento de enfermedades (Srinivas *et al.*, 2019). La progresión de la marchitez vascular es un fenómeno complejo, que parte desde la presencia de clamidosporas inactivas en el suelo en ausencia del cultivo (Khan *et al.*, 2017). El mecanismo de acción de *FO* involucra los siguientes pasos (Figura 3): (1) Inicia con el reconocimiento de la raíz a través de señales del huésped-patógeno donde la germinación de clamidosporas requiere estimulación proporcionada por los exudados de las raíces. (2) Las clamidosporas se unen a la superficie de los pelos de la raíz e inician la propagación de las hifas. (3) Las hifas invaden la corteza de la raíz y tejido vascular y hay una diferenciación dentro de los vasos del xilema. (4) El hongo secreta varias toxinas como el ácido fusárico, ácido deshidrofusárico, lycomarasmina, entre otras; éstas se transportan a las hojas, en las que provocan una síntesis reducida de clorofila a lo largo de las venas, lo que conduce a una fotosíntesis reducida y alteración de la permeabilidad de las membranas de las células foliares y su capacidad para controlar la pérdida de agua a través de las venas, que resulta en el marchitamiento, necrosis y pardeamiento. (5) Finalmente, la marchitez va avanzando gradualmente en todo el follaje, retrasando el crecimiento de la planta, hasta que la planta muere (Di *et al.*, 2016; Srinivas *et al.*, 2019). El proceso anterior se potencializa en ambientes de humedad, aunque es un patógeno oportunista que puede sobrevivir en el suelo y desarrollarse a temperaturas de 15 a 37°C (Nawaim *et al.*, 2017a).

El manejo integrado representa una alternativa de prevención para proteger los cultivos ante este tipo de patógenos, en donde se involucren medidas sanitarias antes, durante y después del ciclo de cultivo, ya que se pueden incrementar los vectores de transmisión de la enfermedad, desde un mal manejo del rastrojo de las plantas muertas donde se produzcan millones de conidias, hasta el control del agua de riego, labores culturales y manipulación humana (Retana *et al.*, 2018).

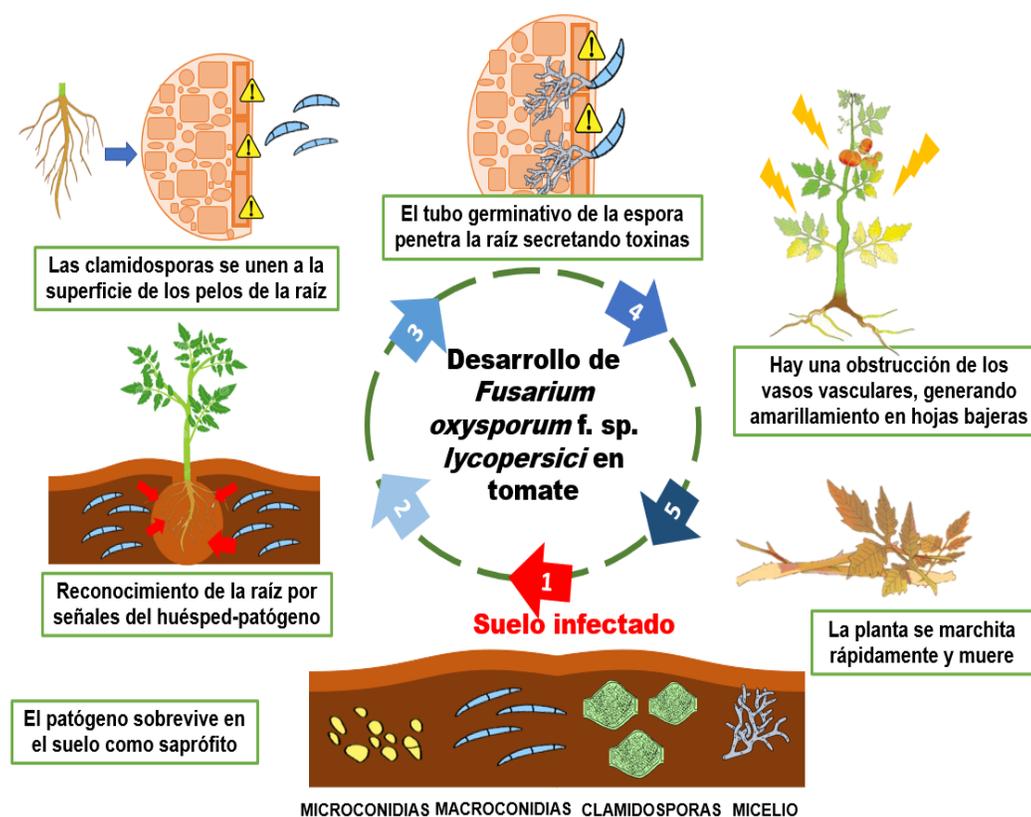


Figura 3. Ciclo de enfermedad causada por *FO* en cultivo de tomate.

Mecanismo de defensa al estrés biótico

Las plantas en su entorno natural constantemente están expuestas a numerosos factores de estrés biótico que provoca cambios en el metabolismo vegetal y daños fisiológicos que conducen a una reducción de su productividad (Giménez *et al.*, 2018). El estrés biótico se conoce como la serie de daños causados por organismos vivos como parásitos y patógenos (virus, bacterias, hongos, nemátodos o insectos) (Lal *et al.*, 2018). Dentro de los principales patógenos responsables de enfermedades en los cultivos intensivos, se encuentran los hongos necrotróficos, que matan a las células huésped mediante toxinas, provocan marchitez vascular y manchas foliares, además de infectar diferentes partes de la planta (Glazebrook, 2005). Con el fin de mitigar los efectos adversos del estrés biótico, las plantas han desarrollado un sistema de defensa para hacer frente a estas tensiones a través de varios mecanismos morfológicos, bioquímicos y moleculares (Nejat y Mantri, 2017).

La primera línea de defensa en las plantas contra patógenos necrotróficos es pasiva, cuentan con barreras físicas como ceras, cutículas gruesas y tricomas especializados que impiden su asentamiento en la planta, a su vez producen compuestos químicos para protegerse de la infección (Giménez *et al.*, 2018). En muchas plantas se ha observado que las paredes celulares se lignifican después de la infección por hongos, bacterias, virus y nemátodos, como uno de los mecanismos de resistencia (Camarena-Gutiérrez y de la Torre-Almaráz, 2007). Sin embargo, para que la planta logre defenderse, el reconocimiento planta-patógeno juega un papel fundamental en la activación del mecanismo de respuesta luego de la infección local para aumentar la velocidad de la defensa (Glazebrook, 2005).

Los tipos de defensa sistémica que se conocen de forma general son: la resistencia sistémica adquirida (RSA) y la resistencia sistémica inducida (RSI). La RSA es una respuesta de amplio espectro que se activa por el ataque de un patógeno, por una herida, así como por una molécula inductora, promoviendo una respuesta de hipersensibilidad (RH) que se traduce en muerte celular en el sitio de la infección, dando lugar a lesiones necróticas (Delgado-Oramas, 2020). En las zonas no afectadas, la RSA permite la activación transcripcional de genes relacionados con la patogénesis, que promueven la síntesis de proteínas PR (del inglés Pathogenesis Related proteins), esta acción es mediada por un proceso ácido salicílico-dependiente y se mantiene a largo plazo si se controlan factores como las condiciones climáticas y la nutrición (Van Loon *et al.*, 2006).

Por otro lado, la RSI es inducida generalmente por rizobacterias promotoras del crecimiento de la planta, que colonizan en la raíz sin causar un daño visible, este mecanismo lo producen las cepas de *Pseudomonas*, capaces de inducir resistencia local y transferirla a otras partes de la planta (Delgado-Oramas, 2020). En el caso de la RSI, durante este proceso no se acumulan proteínas PR ni ácido salicílico, sino que se utilizan las vías reguladas por el ácido jasmónico (JA) y el etileno (ET) (Camarena-Gutiérrez y de la Torre-Almaráz, 2007). Ambos tipos de resistencias conducen al mismo final que es activar una respuesta frente al ataque de patógenos; sin embargo, difieren en la red de señalización para que la planta active su mecanismo de defensa (Delgado-Oramas, 2020).

A nivel molecular las estrategias de respuesta de las plantas al ataque de patógenos implican la percepción de señales, la transducción de señales y la expresión de genes de respuesta (Kaloshian, 2004). En el estudio de esta actividad algunos autores han encontrado correlación de la expresión transcripcional de genes con la acumulación de hormonas responsables de mitigar el estrés por patógenos (Subramanian *et al.*, 2011). El ataque de patógenos en plantas trae como consecuencia la síntesis de JA y ácido salicílico (SA) mediante un proceso de señalización que se refleja en la expresión de genes de defensa *PDF1.2* y *PRI* y *ICS1*, respectivamente (Valdez-Sepúlveda *et al.*, 2015; Ali y Baek, 2020; Kachroo *et al.*, 2020). El gen *PDF1.2* es una defensina que codifica un péptido antimicrobiano (Brown *et al.*, 2003), el gen *PRI* codifica para proteínas que actúan en la inhibición del crecimiento y propagación de los patógenos (Breen *et al.*, 2017; Ali *et al.*, 2018) y el gen *ICS1* codifica para la enzima isocorismato sintasa, cuya función es clave en la síntesis de SA (Kachroo *et al.*, 2020).

En el proceso de defensa se sigue una cascada de señalización, resumida en cinco pasos: (1) El reconocimiento de patrones moleculares asociados a patógenos, como la quitina o el quitosán, mediante receptores de reconocimiento de patrones (Glazebrook, 2005). (2) La señalización intracelular a través de la proteína quinasa activada por mitógenos MAPK, que se asocian con ROS, especialmente el H_2O_2 y los iones de calcio (Ca^{2+}). En el caso del H_2O_2 , dirige la RH en la resistencia contra patógenos, funcionando como desencadenante de la muerte celular en las células atacadas, e inductor de genes de defensa en las células de las zonas no afectadas. El Ca^{2+} participa en la producción de fitoalexinas y compuestos tales como lignina y calosa, capaces de reforzar la estructura de la pared celular (Camarena-Gutiérrez y de la Torre-Almaráz, 2007; Monaghan y Zipfel, 2012). (3) La inducción de defensa corriente abajo por la actividad coordinada de fitohormonas como el ácido abscísico (ABA), JA, SA y ET, particularmente ET y JA. (4) La fortificación de la pared celular. (5) Producción de varios metabolitos secundarios y proteínas antifúngicas (Silva *et al.*, 2021). Así mismo, el aumento de la actividad de varias enzimas, como peroxidasa, polifenoloxidasas, fenilalanina amonio liasa, lipoxigenasa, β -1,3-glucanasa y quitinasa, en los tejidos vegetales está relacionado con la aparición de inducción de resistencia (de Melo *et al.*, 2020).

A pesar de los numerosos mecanismos de defensa desarrollados por las plantas con el objetivo de superar las condiciones de estrés biótico, no se ha podido evitar las pérdidas económicas y de rendimiento como consecuencia. Por esta razón, comprender la interacción de las plantas con su entorno biótico ayuda en gran medida a reducir el uso de agroquímicos que, a su vez, podría reducir la contaminación ambiental. Recientemente, se ha estudiado la inducción de tolerancia de las plantas a través de estimulantes naturales y sintéticos; sin embargo, existen escasas opciones de solución para estimular a la planta contra los patógenos del suelo, incluida la marchitez vascular por *FO* (Fujikawa *et al.*, 2021).

Bioestimulantes en la agricultura

La agricultura moderna se enfrenta al desafío de proporcionar alimentos a una población mundial creciente, además de superar numerosos factores de estrés biótico y condiciones ambientales adversas (González de Molina *et al.*, 2017). Las estrategias de manejo empleadas para controlar la incidencia de *FO* se enfocan en medidas preventivas, incluidos el uso de cultivares resistentes, tratamientos efectivos de fumigación del suelo y control biológico (Castaño *et al.*, 2013; Esserti *et al.*, 2016). Sin embargo, las alternativas de control disponibles para esta enfermedad son deficientes y existe preocupación por el aumento de nuevas especies de patógenos resistentes a los fungicidas (Khan *et al.*, 2017). Durante décadas se ha visto un gran crecimiento en el uso de agroquímicos a nivel mundial; sin embargo, el uso indiscriminado de éstos, específicamente los plaguicidas, ha provocado la acumulación de residuos tóxicos en el suelo, aire, agua y alimentos, así como la generación de resistencias en plagas (Campos *et al.*, 2019). Por lo anterior, se requiere ofrecer alternativas sostenibles al uso de agroquímicos convencionales hacia una industria agrícola más segura utilizando compuestos naturales (Maluin y Hussein, 2020). En la búsqueda de alternativas para disminuir la severidad de las enfermedades causadas por patógenos (estrés biótico), se ha estudiado la inducción de tolerancia al estrés en las plantas con la aplicación de bioestimulantes (Ali *et al.*, 2020). Los bioestimulantes se definen como compuestos o moléculas que al aplicarse en cantidades adecuadas mejora una o más de las siguientes características en la planta: eficiencia en el uso de nutrientes, tolerancia al estrés (biótico

o abiótico), rasgos de calidad de frutos, o disponibilidad de nutrientes confinados en el suelo o la rizosfera (Du Jardin, 2015). Con base a este objetivo, los bioestimulantes incluyen diversas sustancias bioactivas como: (1) ácidos húmicos y fúlvicos, (2) hidrolizados de proteínas animales y vegetales, (3) extractos de macroalgas marinas, y (4) silicio, así como microorganismos beneficiosos: (5) hongos micorrízicos arbusculares y (6) bacterias fijadoras de N de cepas pertenecientes a los géneros *Rhizobium*, *Azotobacter* y *Azospirillum* (Rouphael y Colla, 2020). El uso de bioestimulantes da como resultado la alteración de los procesos metabólicos que dan lugar al uso más eficiente de recursos ambientales, crecimiento o rendimiento sustancialmente mayor y la activación de sus mecanismos de defensa, con lo cuales logran mitigar los diferentes tipos de estrés (Juárez-Maldonado *et al.*, 2019). El uso de bioestimulantes en la agricultura moderna se está convirtiendo en una práctica común como complemento o alternativa al uso de los plaguicidas tradicionales.

Algas pardas como bioestimulantes

Las macroalgas comprenden cerca de 10,000 especies y contribuyen a aproximadamente el 10% de la productividad marina mundial total, se recolectan típicamente de mares y océanos y debido a la afluencia masiva de algunas especies representan una fuente de materia prima altamente disponible (Battacharyya *et al.*, 2015; Rodríguez-Martínez y van Tussenbroek, 2017). Las algas pardas son uno de los grupos más abundantes y diversos que se desarrollan en el agua o en ambientes muy húmedos, son organismos fotosintetizadores con una mayor eficiencia que las plantas vasculares (Miao *et al.*, 2004), donde el carbono inorgánico (C), el nitrógeno (N), el fosforo (P) y el potasio (K) son los principales elementos que requieren para la fotosíntesis y el crecimiento (Roleda y Hurd, 2019). Este grupo de algas recibe su nombre por la abundancia de xantofilas, pigmentos que les dan la coloración parda o marrón (Terasaki *et al.*, 2009); este carotenoide así como la fucoxantina les permite su adaptación ante cambios ambientales antropogénicos (Ryabushko *et al.*, 2017). Su pared celular está constituida por celulosa, alginatos y polisacáridos sulfatados (fucoidán), los cuales comprenden un grupo de azúcares que contiene fucosa, manosa, galactosa, xilosa y glucosa (Michel *et al.*, 2010).

El uso de las algas pardas data de mucho tiempo atrás, entre los géneros más utilizados en el sector agrícola se encuentran *Fucus vesiculosus*, *Ecklonia maxima*, *Sargassum* spp., *Laminaria* spp. y *Ascophyllum nodosum*, ésta última siendo la más utilizada (Bula-Meyer, 2004). Recientemente, se ha estudiado a las algas pardas para el desarrollo de bioestimulantes, debido a que representan una fuente potencial de compuestos bioactivos con una amplia variedad de actividades biológicas, que pueden ser eficaces para controlar las enfermedades de las plantas (de Melo *et al.*, 2020). Las algas y sus derivados también se utilizan en la agricultura como potenciales fertilizantes, mejoradores de suelo y pesticidas en las plantas (Dmytryk y Chojnacka, 2018). El impacto que tienen las algas pardas en las plantas depende de factores como, la especie, composición, condiciones ambientales, tipo de cultivar y la forma de aplicación principalmente como extractos, compostas y en fresco (Górka *et al.*, 2018). Su efecto bioestimulante a bajas concentraciones, le permite inducir directamente el crecimiento de las plantas, a través de sus diversos mecanismos, como el aumento en la germinación de semillas, tolerancia a diversos tipos de estrés y aumento en el rendimiento y calidad de frutos, lo cual, es posible debido a su riqueza en compuestos bioactivos (Du Jardin, 2015; Esserti *et al.*, 2016; Hernández-Herrera *et al.*, 2018).

Componentes bioactivos en algas pardas

Las algas pardas contienen grandes cantidades de metabolitos con funciones biológicas, dentro de los cuales predomina la presencia de carbohidratos, minerales, aminoácidos, proteínas, ácidos grasos, compuestos fenólicos, vitaminas, reguladores de crecimiento y agentes quelantes (Vijay *et al.*, 2017; Reboleira *et al.*, 2019). Los carbohidratos son moléculas de señalización que se activan bajo condiciones ambientales y nutricionales adversas, permitiendo mantener una homeostasis metabólica durante el estrés y proporcionan energía (Janse van Rensburg *et al.*, 2019). Las proteínas tienen funciones de catálisis, transporte, defensa, estructura, regulación, señalización y reserva (Bhatnagar-Mathur *et al.*, 2008). Los aminoácidos son precursores y constituyentes de las proteínas, participan en el metabolismo y desarrollo de las plantas interfiriendo en el proceso de asimilación del N, transporte de nutrientes y mitigación de estrés ambiental; además, la prolina y fenilalanina son aminoácidos del sistema antioxidante de las plantas y

contribuyen a la síntesis de compuestos fenólicos (Balasundram *et al.*, 2006; Hayat *et al.*, 2012). Otro de los componentes esenciales en la célula, son los ácidos grasos que son una fuente importante de energía para diversos procesos metabólicos y funcionan como mediadores de transducción de señales frente al estrés, al actuar como señales intracelulares y extracelulares (Mata-Pérez *et al.*, 2018, 2017). Particularmente, las algas pardas son ricas en compuestos fenólicos, que son metabolitos secundarios que se sintetizan bajo estrés y protegen a las células y los componentes celulares (Battacharyya *et al.*, 2015). Su importancia radica en la actividad antioxidante, eliminando radicales tales como radicales de oxígeno simple, superóxido, hidroxilo, alcoxilo y peróxido de hidrógeno (Andjelković *et al.*, 2006). Por otro lado, existen compuestos, que pueden regular diferentes procesos fisiológicos y bioquímicos, tal es el caso de las fitohormonas como las auxinas, giberelinas y citoquininas, las cuales, actúan sobre las células como mensajeros químicos y son capaces de regular varios fenómenos vitales de las plantas; además, intervienen en el crecimiento y desarrollo (Sharma y Zheng, 2019). Por dicha razón, el uso de productos a base de algas pardas está incrementando, con la finalidad de proporcionar alternativas para reducir el uso de insumos sintéticos en el control contra hongos necrotróficos.

Usos de las algas pardas

Los primeros usos de las algas pardas en la agricultura fueron como aplicación directa, incorporando el alga fresca o seca en el suelo; sin embargo, esta actividad se limitaba a zonas costeras, ya que, por razones de transporte y disponibilidad se reducía su aprovechamiento en zonas lejanas al mar (Bula-Mayer, 2004). Recientemente, la afluencia masiva de algunas especies de este género, motivó su explotación a nivel industrial dentro del área de la biorrefinería, alimenticia, cosmética, farmacéutica y agrícola (Abdel-Raouf *et al.*, 2012; Jung *et al.*, 2013; Reboleira *et al.*, 2019). El uso potencial de las algas pardas en la agricultura ha mostrado efectos favorables con su aplicación siendo las principales formas de uso en extractos, composta y aplicación directa. Su utilidad permite estimular el desarrollo de las plantas de una manera eficiente debido a su acción a bajas concentraciones (Górka *et al.*, 2018; de Melo *et al.*, 2020; Roupheal y Colla, 2020). Diferentes estudios demuestran que las algas pardas y sus derivados mejoran el desarrollo

de los cultivos mediante la germinación de las semillas (Hernández-Herrera *et al.*, 2014), la absorción de nutrientes, el rendimiento y calidad de los cultivos (Trejo-Valencia *et al.*, 2018), y promueven la resistencia al estrés biótico y abiótico (Kasim *et al.*, 2015; Martynenko *et al.*, 2016; Ibraheem *et al.*, 2017). En el Cuadro 1, se describe de una manera simplificada algunas investigaciones de los efectos de la aplicación de algas pardas en el desarrollo de cultivos.

Cuadro 1. Efecto de la aplicación de algas pardas y sus derivados en el desarrollo de cultivos.

Alga	Forma de aplicación	Efecto	Referencia
<i>Desmarestia aculeata</i>	Directa	Aumento de materia orgánica y nutrientes del suelo, e incremento del rendimiento del cultivo de cebada	Montero-Vilariño <i>et al.</i> (1999)
<i>Ascophyllum nodosum</i>	Foliar	Aumento de parámetros de crecimiento y rendimiento en híbridos de sandía	Abdel-Mawgoud <i>et al.</i> (2010)
<i>Ascophyllum nodosum</i>	Foliar, drench y foliar + drench	Incremento de compuestos fenólicos en frutos de pepino	Jayaraman <i>et al.</i> (2011)
<i>Sargassum johnstonii</i>	Foliar, drench y foliar + drench	Incremento de contenido de proteínas, azúcares, compuestos fenólicos, licopeno y ácido ascórbico en frutos de tomate	Kumari <i>et al.</i> (2011)
<i>Ascophyllum nodosum</i>	Foliar y drench	Aumento de la altura de la planta, del peso de la raíz y rendimiento de tomate	Ali <i>et al.</i> (2016)
<i>Ascophyllum nodosum</i> , <i>Laminaria</i> spp., <i>Sargassum</i> spp. y <i>Fucus</i> spp.	Foliar	Acumulación de ácido ascórbico, compuestos fenólicos, azúcares y ácido cítrico en frutos de fresa	Alkharpotly <i>et al.</i> (2017)
<i>Sargassum</i> spp.	Composta	Incremento de K, Mg y Na en el suelo	Gayosso-Rodríguez <i>et al.</i> (2018)
<i>Sargassum johnstonii</i>	Semilla	Mejora del porcentaje de germinación de semillas y crecimiento inicial de las plántulas de chile, tomate y berenjena	Patel <i>et al.</i> (2018)
<i>Laminaria cichorioides</i>	Drench	Mejora de la altura de la planta y rendimiento del cultivo de trigo y cebada	Klykov <i>et al.</i> (2019)

La aplicación directa de las algas pardas, representa una práctica de enmienda y mejoramiento de suelos, debido a la descomposición gradual de sus compuestos que enriquecen la materia orgánica del suelo (Badar *et al.*, 2015). Previo a su incorporación, se ha sugerido un proceso de secado y triturado para facilitar su descomposición en la superficie, esta acción funciona como remediación de suelo y se puede acoplar a las prácticas culturales en la rotación de cultivos (Reeves *et al.*, 2019). Los beneficios de la aplicación de las algas en suelos por la presencia de compuestos que se mineralizan en la superficie permiten la compensación de la deficiencia de macronutrientes (N, P y K); además de mejorar su estructura, la capacidad de retención de agua, la porosidad total y la aireación (Nabti *et al.*, 2017; Hamed *et al.*, 2018).

Por otro lado, la utilidad de algas en la composta favorece la actividad de la biota benéfica que interactúa con el sistema radicular de las plantas, aumentando la disponibilidad de nutrientes, dicho proceso se ve influenciado por la relación carbono-nitrógeno, temperatura, humedad, metales pesados y salinidad de las algas (Michalak y Chojnacka, 2013). Estudios previos, muestran que la aplicación de composta en suelos arenosos resultó ser una buena enmienda para mejorar sus características físicas y nutricionales; además de aumentar la productividad de las plantas y la resistencia de las plantas a un estrés hídrico (Eyras *et al.*, 1998). En este sentido, Ahmed y Shalaby (2012) evaluaron la incorporación de composta de algas, reforzando el desarrollo de las plantas aplicando extractos al mismo tiempo, encontrando una mejora en el crecimiento vegetativo y en el rendimiento de plantas de pepino. Sin embargo, la utilidad de estas algas representa un reto, ya que se pueden obtener buenos resultados y a la vez resultados no tan favorables, como lo muestran Gayosso-Rodríguez *et al.* (2018), en donde descartan el uso de *Sargassum* spp. para la producción de compostas, esto por el contenido elevado de sodio que dificulta la disponibilidad que no es ideal para las plantas.

Extractos de algas pardas

La caracterización de algas pardas ha permitido desarrollar la mejor forma de incorporación en productos orgánicos para evitar efectos negativos y potencializar su efecto (Patil *et al.*, 2019). Una alternativa para la aplicación de algas en la agricultura es

el uso de extractos que permiten la concentración de compuestos bioactivos; además, tiene fácil transporte, almacenamiento y facilidad de incorporación en la formulación de productos de uso agrícola (Bula-Mayer, 2004; Rengasamy *et al.*, 2016). Actualmente, se ha documentado que el proceso de extracción a partir de biomasa de algas pardas emplean diferentes solventes como agua (Kumari *et al.*, 2011), etanol (Imbs *et al.*, 2011), hidróxido de potasio (Ali *et al.*, 2016), metanol (Jithesh *et al.*, 2019), cloroformo (Subramanian *et al.*, 2011), ente otros. Los diferentes métodos de extracción, aplicación y las diferentes especies de algas pardas hacen que la actividad biológica de los extractos sea muy variada al ser aplicados a las plantas (Goñi *et al.*, 2016).

En la agricultura, se aplican extractos diluidos para promover el crecimiento, prevenir la incidencia de organismos patógenos e incrementar la calidad de los productos cosechados (Verkleij, 1992). Su efecto bioestimulante se atribuye a la presencia de compuestos como fitohormonas, vitaminas, compuestos fenólicos, carbohidratos, proteínas, aminoácidos y minerales que presentan los extractos (Verkleij, 1992; Battacharyya *et al.*, 2015). Sin embargo, el éxito de su aplicación radica en la forma de aplicación, vía foliar, al suelo, sobre semillas e incluso incorporarse en la solución de nutrientes (Kumari *et al.*, 2011; Billard *et al.*, 2014; Hernández-Herrera *et al.*, 2014). Así como en las concentraciones utilizadas y la programación de intervalos de aplicación, que van desde los 7, 10, 15, 20 y 30 días (Rouphael *et al.*, 2017, 2018; Chrysargyris *et al.*, 2020; Sariñana-Aldaco *et al.*, 2020; Praveen *et al.*, 2021). El uso de extractos como fertilizante ha mostrado beneficios notables en el rendimiento en comparación con los fertilizantes químicos convencionales, debido a la presencia de minerales enriquecidos y mezclas de oligoelementos en forma soluble (Khan *et al.*, 2009; Saravana *et al.*, 2016). Así mismo, se ha demostrado que la aplicación de extractos permite regular parámetros morfológicos, fisiológicos, metabólicos y genómicos en las plantas en respuesta al estrés biótico y abiótico (García Enciso *et al.*, 2018; Shukla *et al.*, 2019).

En la mitigación de estrés abiótico, se ha reportado que los extractos de algas pardas permiten mitigar el efecto nocivo de la salinidad en las plantas cuando se utilizan como biofertilizantes en el suelo (Hamed *et al.*, 2017). Khan *et al.* (2009) evaluaron aplicaciones de extractos de *A. nodosum* en *Arabidopsis thaliana* sometida a estrés por frío logrando

tolerancia a las temperaturas bajo cero. Shukla *et al.* (2018) trataron plantas de soya en condiciones de sequía con extractos de *A. nodosum* incrementando el contenido relativo de agua, la conductancia estomática y actividad antioxidante respecto al control. En cuanto al estrés biótico se han encontrado efectos interesantes con su aplicación de extractos, tal es el caso de Subramanian *et al.* (2011) al estudiar la resistencia de plantas de *A. thaliana* a *Pseudomonas syringae* y *Sclerotinia sclerotiorum* con extractos de *A. nodosum* encontrando reducción del desarrollo de la enfermedad en las hojas; lo cual, se correlacionó con la expresión transcripcional de genes de defensa. Jayaraman *et al.* (2011) aplicaron un extracto comercial de *A. nodosum* sobre patógenos fúngicos en plantas de pepino, y obtuvieron mayor actividad de enzimas de defensa en hojas, incluidas la PAL, quitinasa (CHI), β -1,3 glucanasa (GLU), peroxidasas (POD), polifenol oxidasa (PPO) y lipoxigenasa (LOX); las cuales, incrementan su actividad ante el ataque de patógenos. Así mismo, Esserti *et al.* (2017) en la evaluación del efecto de extractos de algas pardas (*Cystoseira myriophylloides*, *Laminaria digitata* y *Fucus spiralis*) contra patógenos en el cultivo de tomate, lograron reducir la gravedad de la enfermedad, encontrando una relación en el aumento de actividad enzimática en hojas con la defensa frente al estrés. Sin embargo, la explotación de pocas especies de este género representa una oportunidad para seguir investigando los usos y beneficios de estas macroalgas en el sector agrícola.

Extractos de *Sargassum* spp. y sus propiedades antifúngicas

El género *Sargassum* es característico en la producción de metabolitos secundarios con alto potencial biotecnológico; además, representa una fuente potencial de explotación debido a su alta disponibilidad (Rodríguez-Martínez y van Tussenbroek, 2017). Entre los componentes encontrados en las algas se incluyen polisacáridos, vitaminas, minerales, proteínas, antioxidantes, pequeñas cantidades de lípidos, polifenoles y pigmentos (García-Enciso *et al.*, 2018). Su presencia se ha correlacionado con la mitigación del estrés biótico en plantas, debido a que hay un incremento en la síntesis de compuestos derivados de los fenilpropanoides que activan una cascada de señalizaciones, que aumentan la actividad antioxidante y conducen a la protección contra patógenos (Esserti *et al.*, 2016).

En la caracterización de algunos de sus compuestos como los polisacáridos y oligosacáridos, particularmente el caso del ulvano, laminarinas, fucanos sulfatados, carragenanos y alginatos, se estudió la capacidad de desencadenar respuestas de defensa, consiguiendo suprimir enfermedades a través de la acción directa sobre los agentes causales e inducir tolerancia al estrés biótico y abiótico en plantas (Nawaim *et al.*, 2017b; Bouissil *et al.*, 2020). La activación de estas vías de señalización en particular SA, JA y ET conduce a un aumento de la expresión de genes que codifican a proteínas relacionadas con patogénesis (PR) con actividades antifúngicas y enzimas de defensa, tales como la fenilalanina amoniaco liasa (PAL) y lipoxigenasa (LOX) que determinan la acumulación de compuestos fenilpropanoides (PPC) y oxilipinas con actividades antifúngicas (Glazebrook, 2005; Vera *et al.*, 2011). Estudios previos muestran que los extractos de algas de *Sargassum* spp. pueden activar o interactuar con los mecanismos de defensa latentes de las plantas, induciendo resistencia frente al estrés, lo que hace que la planta sea menos susceptible al ataque posterior de patógenos (Rehman *et al.*, 2017; Melo *et al.*, 2020). Este fenómeno lo observaron Khedia *et al.* (2020) quienes en plantas de tomate aplicaron foliarmente extractos de *S. tenerrimum* para inducir resistencia a *Macrophomina phaseolina* consiguiendo una regulación del anión superóxido ($O_2^{\bullet -}$) y peróxido de hidrogeno (H_2O_2) mediada por las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y ascorbato peroxidasa (APX). Estas enzimas son la primera línea de defensa ante el estrés en las plantas y reducen cooperativamente el estado oxidativo (Leija-Martínez *et al.*, 2018; Kapoor *et al.*, 2019). Así mismo, Ammar *et al.* (2017) encontraron capacidad antifúngica con extractos de *S. vulgare* sobre *Pythium aphanidermatum*. A pesar de su capacidad para producir grandes cantidades de productos naturales con diversas actividades biológicas, estas macroalgas han sido poco documentadas por su actividad antifúngica contra hongos fitopatógenos (Nawaim *et al.*, 2017a). Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el potencial de extractos hidroalcohólicos de SAR en base al control de incidencia y severidad para incrementar la tolerancia a la infección por FO en el cultivo de tomate.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación y establecimiento del experimento

La presente investigación se realizó en el Departamento de Horticultura en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila, en el laboratorio de Fisiología Vegetal y en un invernadero de tipo capilla con cubierta de polietileno orientación sur-norte que se localiza en las coordenadas 25°21'27.17" latitud norte y 101° 2'00.16" longitud oeste, a una altitud 1763 msnm. La experimentación de este trabajo constó de cinco etapas: I) Producción de extractos hidroalcohólicos de SAR, II) Prueba preliminar en etapa de plántula, III) Caracterización del extracto de SAR seleccionado, IV) Desarrollo del cultivo de tomate aplicando el extracto seleccionado y V) Análisis de variables bioquímicas, actividad enzimática y expresión génica. Dichas etapas se describen a continuación.

ETAPA I) Producción de extractos hidroalcohólicos de SAR

La macroalga *Sargassum* spp. (SAR) fue colectada en el Caribe Mexicano. El alga se dejó secar al sol por 24 h, se lavó con agua potable para eliminar exceso de sales, se secó en un horno a 60°C y se pulverizó hasta conseguir un tamaño de partícula menor a 0.5 mm. Posteriormente, se realizaron 17 extracciones siguiendo la metodología descrita por Ruiz *et al.*, (2015), considerando tres factores de variación: temperatura de extracción (120, 140 y 160 °C), tiempo de extracción (0, 15 y 30 min) y proporción del solvente (0, 25 y 50% de etanol), los cuales se establecieron mediante un diseño central compuesto (Cuadro 2). El proceso de extracción consistió en colocar en un reactor tipo batch 5 g de muestra seca de SAR con 100 mL del solvente, deteniendo el proceso al alcanzar la temperatura y tiempo de extracción. El extracto obtenido se almacenó a -20 °C, hasta su uso.

Cuadro 2. Condiciones de producción de extractos hidroalcohólicos de *SAR*.

Tratamiento	T (°C)	TE (min)	Etanol (%)
E1	120	0	0
E2	120	0	50
E3	120	30	50
E4	120	30	0
E5	160	0	0
E6	160	0	50
E7	160	30	50
E8	160	30	0
E9	140	15	25
E10	140	15	25
E11	140	15	25
E12	120	15	25
E13	160	15	25
E14	140	0	25
E15	140	30	25
E16	140	15	0
E17	140	15	50

T: Temperatura; TE: Tiempo de extracción.

ETAPA II) Prueba preliminar en etapa de plántula

La prueba preliminar se realizó durante el periodo de abril-junio del 2020 en un invernadero tipo capilla (Figura 4). La siembra del material vegetal se hizo en charolas de poliestireno usando semillas de *S. lycopersicum* variedad híbrido el CID F1, las cuales se trasplantaron a los 24 días después de la siembra en contenedores de unicel de 0.8 L con una mezcla de sustrato peat moss y perlita (1:1). El experimento tuvo una duración de 43 días después del trasplante (DDT), siguiendo un diseño completamente al azar con 20 tratamientos y 10 repeticiones por tratamiento, los cuales se detallan a continuación: 17 extractos de *SAR* (E1-E17) (Cuadro 2), un testigo infectado en plántulas inoculadas con *FO* (TI), un testigo comercial infectado (TCI) con la aplicación de un extracto a base de *A. nodosum* y un testigo absoluto (T0) en plántulas sin aplicaciones y sin infección. Los tratamientos se aplicaron de manera foliar en el haz y envés de las hojas a los 7, 12, 22, 33 y 43 DDT a una concentración de 3 L ha⁻¹, que es la dosis media aplicada en

bioestimulantes comerciales a base de algas marinas. El proceso de inoculación se realizó a los 14 DDT y consistió en adherir a la raíz cinco explantes de *FO* de 0.7 cm de diámetro por contenedor. La cepa de *FO* utilizada fue procedente del Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY) con no. de ascensión NCBI MF996561.



Figura 4. Prueba preliminar en plántula de tomate **A)** Establecimiento de experimento, **B)** Aplicación de tratamientos, **C)** Inoculación de *FO* en la raíz y **D)** Evaluación de variables agronómicas.

Variables evaluadas en plántulas de tomate

Durante la prueba preliminar se evaluó la inducción de tolerancia de los extractos de *SAR* y la progresión de la infección por *FO* con intervalos de 10 días. La incidencia de la enfermedad se determinó por presencia de plantas sanas y enfermas y la severidad de los síntomas de la enfermedad se midió de acuerdo a la escala propuesta por Diener y Ausubel (2005), donde: 0 = planta muerta (100%); 1 = hojas viejas muertas y hojas jóvenes con crecimiento detenido (80%); 2 = hojas viejas cloróticas y hojas jóvenes con crecimiento detenido (60%); 3 = hojas viejas con clorosis vascular y hojas jóvenes con crecimiento detenido (40%); 4 = pecíolos de hojas con crecimiento detenido (20%); 5 = sin síntomas visibles (0%). Finalmente, a los 43 DDT se midieron variables agronómicas como el diámetro de tallo con un vernier digital (mm), número de hojas y altura de planta con un flexómetro (cm). En base a las variables estudiadas se seleccionó un extracto de *SAR*.

ETAPA III) Caracterización del extracto de *SAR* seleccionado

El extracto seleccionado que mejores resultados presentó en base a las variables agronómicas y de incidencia y severidad fue el E12 (25% de etanol, 120° de temperatura de extracción y 15 minutos de extracción). El E12 fue seleccionado para su caracterización en términos bioquímicos evaluando: PT: Proteínas totales; AA: Aminoácidos;

GSH: Glutación reducido; FT: Fenoles totales; FL: Flavonoides; CAT: Capacidad antioxidante; fitohormonas como AIA: Ácido indol-3-acético; tZ: Trans-zeatina y perfil de monosacáridos como GAT-galactosa, MAN- manitol y FUC- fucosa, considerando tres repeticiones por análisis. Además, se realizó una prueba antifúngica *in vitro* y se calculó la concentración mínima inhibitoria (CMI) al 50% y 90%.

Análisis bioquímico

Proteínas totales (PT)

La cuantificación de PT se determinó mediante técnica colorimétrica de Bradford, (1976). Se tomaron 0.1 mL del extracto E12 y se agregaron 1 mL del reactivo Bradford (Bradford, Thermo Scientific™, EU). Después de 5 minutos, se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 595 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (Thermo Scientific Modelo G10S, Waltham, MA, EE. UU.). Se realizó una curva de calibración con albúmina de suero bovino estándar (0.005-0.5 mg mL⁻¹). Los resultados se expresaron como gramo por kilogramo de proteínas totales en peso fresco (g kg⁻¹ PF).

Aminoácidos (AA)

Para la cuantificación de AA se tomaron 0.25 mL del extracto E12, se colocaron en tubos de vidrio con tapa y posteriormente se le agregaron 2.25 mL de buffer de citratos, a los cuales se les agregó 0.5 mL de ninhidrina al 0.35%. La mezcla fue agitada suavemente y colocada en baño maría en un rango de temperatura entre 80 a 100 °C para llevar a cabo la reacción durante 20 min. Una vez terminada la reacción, los tubos se colocaron en un baño de hielo y se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro UV-Vis (Thermo Scientific Modelo G10S, Waltham, MA, EE. UU.), a una longitud de onda de 570 nm. Las unidades de concentración fueron obtenidas mediante una curva de calibración previamente trazada con leucina grado estándar en un rango entre 10 y 100 mg L⁻¹. Los resultados se reportaron en miligramos por gramo de peso fresco (mg g⁻¹ PF).

Glutación reducido (GSH)

El GSH se cuantificó siguiendo la técnica espectrofotométrica establecida por Xue *et al.*, (2001), mediante la reacción con ácido 5,5 ditio-bis-2 nitro benzoico (DTNB, Sigma Aldrich, Alemania). En un tubo para centrífuga se colocaron 0.48 mL del extracto E12, 2.2 mL de fosfato dibásico de sodio (0.32 M) y 0.32 mL del colorante DTNB a 1 mM. Se

mezcló y se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro UV-VIS a una longitud de onda de 412 nm. Los resultados se reportaron en miligramos por gramo de peso fresco (mg g^{-1} PF).

Fenoles totales (FT)

El contenido de FT se midió siguiendo la metodología descrita por Singleton *et al.* (1999), con algunas modificaciones. Se tomaron 50 μL del extracto E12 y se agregaron 200 μL de reactivo Folin-Ciocalteu (Sigma Aldrich, Alemania), se añadieron 500 μL de Na_2CO_3 al 20% y se adicionaron 5 mL de agua destilada, una vez hecha la mezcla fue sometida a vórtex, se colocó a 45 °C durante 30 min para que la reacción fuera efectuada y se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 750 nm (Sultana *et al.*, 2009). La curva de calibración se trazó con ácido gálico a concentraciones de 100, 250, 500, 750 y 1000 mg L^{-1} . Los resultados fueron expresados en mg equivalentes de ácido gálico g^{-1} de peso fresco (mg EAG g^{-1} PF).

Flavonoides (FL)

La cuantificación del contenido de FL se realizó siguiendo la metodología descrita por Zhishen *et al.* (1999), con algunas modificaciones. Se colocaron 250 μL del extracto E12 en un tubo 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 se midió a una longitud de onda de 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).

Capacidad antioxidante (CAT)

La CAT del extracto E12 se determinó siguiendo la metodología descrita por Brand-Williams *et al.* (1995), con algunas modificaciones. La reacción se llevó a cabo con DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo, Sigma Aldrich, Alemania) a una concentración de 0.1 mM, utilizando 750 μL del E12 y el reactante, se dejó reposar por 15 minutos y se realizó la lectura de la absorbancia a una longitud de onda de 530 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (Thermo Scientific Modelo G10S, Waltham, MA, EE. UU.). La curva de calibración se trazó utilizando como estándar trolox a una concentración de 0.1 mM, usando como

solvente metanol puro, usando las concentraciones de 0, 0.015, 0.045, 0.105, 0.210, 0.420 mM. Los resultados se expresaron en mM TEAC (Trolox equivalent Antioxidant Capacity, por sus siglas en inglés).

Fitohormonas

Ácido indolacético (AIA)

La cuantificación de AIA se efectuó mediante un cromatógrafo de líquidos (HPLC) marca Varian 920 LC con detector Fluorescencia. El método analítico utilizado fue el establecido previamente por Bosco *et al.* (2013) con los siguientes parámetros, como fases móviles la fase A: agua: acetonitrilo: ácido fórmico (94.9: 5:0.1%) y la fase B: acetonitrilo: agua: ácido fórmico (94.9:5:0.1). Se utilizó una columna C18 (AQUASIL C18, 150mm x 3.9mm, 5µm), con proporciones 50:50 A/B y un flujo isocrático de 0.8 mLmin⁻¹. El volumen de inyección fue de 50 µL, cuyo tiempo de retención fue de 5.69. Los resultados se expresan en miligramos por kilogramo de peso fresco (mg kg⁻¹ PF).

Trans-zeatina (tZ)

La cuantificación de tZ se determinó siguiendo la metodología descrita por Rivas Martínez *et al.* (2017), con algunas modificaciones. El extracto E12 fue filtrado mediante 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 muestra se filtró y se pasó a viales para inyectar al cromatógrafo, cuyo tiempo de retención fue de 4.8. Los resultados se expresan en microgramos por gramo de peso fresco (µg g⁻¹ PF).

Perfil de monosacáridos

Para el análisis del perfil de monosacárido se cuantificó fucosa, galactosa y manitol, mediante la metodología de Martín Juárez *et al.* (2016). El extracto E12 se filtró a través de un filtro de nailon de 0.45 µm de diámetro de poro. La lectura se realizó mediante el uso de un cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC VARIAN 920LC) con

detector UV, utilizando curvas de calibración de estos compuestos puros para determinar sus concentraciones. Se usó una columna Metacarb 87 H (300 × 7,8 mm, Agilent) una temperatura de columna de 60°C y ácido sulfúrico 5.0 mM como fase móvil, utilizando un caudal de 0.7 mL min⁻¹. Los resultados se expresaron en mg 100 g⁻¹ de PF.

Prueba antifúngica *in vitro*

La prueba *in vitro* se realizó para evaluar la capacidad antifúngica del extracto E12 aplicado durante el desarrollo del cultivo. *FO* se incubó a 27 ± 2°C durante 7 días para su posterior uso. El extracto E12 se evaluó en seis concentraciones (0, 100, 200, 400, 800, 1600 y 3200 mg L⁻¹), con cinco repeticiones por concentración; siguiendo la técnica de medio envenenado empleada por Jasso de Rodríguez *et al.* (2017), con el fin de conocer el efecto inhibitorio del extracto sobre el hongo fitopatógeno *FO* a los 6 y 12 días después de la inoculación (DDI). La preparación del medio envenenado se realizó en matraces erlenmeyer de 150 mL, en condiciones de esterilidad, mezclando agar PDA con la respectiva concentración de extracto. La mezcla se vació en cajas Petri de 10 cm de diámetro. Una vez solidificado el medio, se sembró un explante de 8 mm de diámetro del hongo en el centro de la caja. Las cajas Petri se incubaron a 27 ± 2°C durante 12 días. El potencial de inhibición se evaluó midiendo el crecimiento radial (mm) con vernier digital marca NEIKO. Se calculó tomando como referencia el crecimiento del tratamiento control (cajas Petri sólo con medio PDA y explante de hongo) como referencia, y se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{DC - DT}{DC} \times 100$$

donde DC es el diámetro del control y DT es el diámetro de los tratamientos a diferentes concentraciones.

Concentración mínima inhibitoria (CMI)

La CMI se calculó para definir la concentración necesaria a utilizar para que el extracto E12 inhiba el crecimiento *in vitro* visible de *FO* en un 50% y 90%, expresada en términos de CMI₅₀ y CMI₉₀, respectivamente.

ETAPA IV) Desarrollo de cultivo de tomate aplicando el extracto de SAR seleccionado

El desarrollo de cultivo se realizó durante el periodo de julio-octubre del 2020 en un invernadero tipo capilla. Se usaron semillas de *S. lycopersicum* variedad híbrido El CID F1, sembradas en charolas de poliestireno. A los 23 días después de la siembra, se trasplantaron en bolsas de polietileno negras de 14 L de capacidad, usando como sustrato peat moss y perlita (1:1); las plantas se manejaron a un tallo, se realizaron todas las labores culturales y la nutrición fue provista a través de la solución Steiner (Steiner, 1961) de acuerdo a la etapa fenológica. El experimento tuvo una duración de 97 días, siguiendo un diseño completamente al azar con 4 tratamientos y 25 repeticiones por tratamiento. Se evaluó el extracto de SAR E12 (TX) seleccionado en la prueba preliminar en términos de incidencia y severidad aplicado en las plantas infectadas con *FO*, un testigo infectado con *FO* (TI), un producto comercial a base de *A. nodosum* aplicado en plantas infectadas con *FO* (TCI) y un testigo absoluto (T0) en plantas sin aplicaciones y sin infección. La aplicación de los tratamientos fue en intervalos de 10 días a los 8, 18, 27, 37, 47, 57, 67, 77, 87 y 97 DDT asperjándose a punto de goteo en el haz y envés de las hojas a una concentración de 3 L ha⁻¹. La inoculación de *FO* se realizó a los 22 DDT, utilizando una solución de esporas que se obtuvo a partir de micelio del hongo cultivado en cajas Petri con medio PDA durante 15 días a 28°C. Se raspó la superficie de la caja con una solución de Tween 80 al 0.1% para retirar el micelio y las esporas, y la solución se filtró con gasas estériles. Posteriormente, se hizo un conteo de esporas haciendo una dilución 1:10 en una cámara de Neubauer usando la siguiente fórmula:

$$\text{Esporas/mL} = (X) (25) (FD) (FC)$$

Donde: X= promedio de esporas contadas; 25 = cuadros totales de la cámara; FD= factor de dilución empleado y FC= factor de cámara (10,000). El promedio de los conteos fue de 2.0595 x10⁸ esporas mL⁻¹, el cual se ajustó a una concentración de 1x10⁶ esporas mL⁻¹. En los tratamientos infectados, la inoculación consistió en extraer la planta de la bolsa retirando el sustrato, cortar el crecimiento apical de la raíz para promover la infección, regresar la planta al sustrato y regar 400 mL de solución de 1x10⁶ esporas mL⁻¹ en cada planta. Variables evaluadas en plantas de tomate.

Variables evaluadas en plantas de tomate

La inducción de tolerancia del extracto de SAR E12 se evaluó en términos de incidencia de la enfermedad considerando la presencia de plantas sanas y enfermas, cuantificándose como porcentaje de incidencia. Además, se midió la severidad de los síntomas de la enfermedad causada por *FO* de acuerdo a la escala propuesta por Diener y Ausubel (2005). Durante el desarrollo del cultivo, se midieron variables agronómicas con intervalos de 10 días dando un total de 10 lecturas de DAT- diámetro de tallo con un vernier digital (mm), NH- número de hojas y racimos (NR) y AT- altura de planta con un flexómetro (cm). A los 99 DDT se determinó el rendimiento (REND) expresado en gramos por planta, la BSA- biomasa seca aérea y BSR- biomasa seca radical (g planta^{-1}). Además, se hicieron 4 muestreos (M) de hojas; M1- a las 24 h después de la segunda aplicación de tratamientos, M2- a los 5 días después de la inoculación, M3- a las 24 h después de la cuarta aplicación y M4- durante la producción del cultivo; además se hizo un muestreo de frutos (MF) en el tercer racimo. En la Figura 5 se observa un cronograma del desarrollo del cultivo.

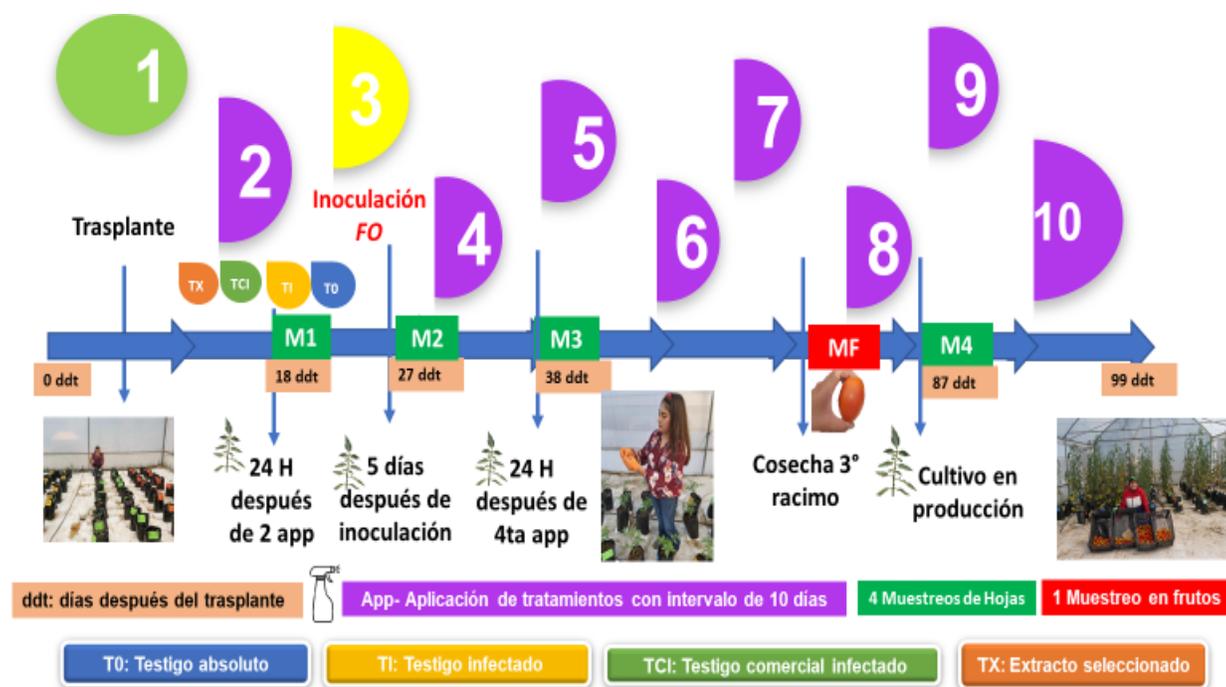


Figura 5. Cronograma del desarrollo del cultivo de tomate tratado con un extracto de SAR.

ETAPA V) Análisis de variables bioquímicas, actividad enzimática y de expresión génica

Determinación de calidad de fruto

Se seleccionaron 5 frutos al azar de la cosecha del tercer racimo, en función de ausencia de daños físicos, uniformidad y estado de madurez 87-807 que es cuando el 70% de los frutos mostró el color rojo ligero típico de madurez, de acuerdo con la escala BBCH descrita por (Meier, 2001), siendo un total de 15 frutos por tratamiento. El PFT-peso por frutos (g) se determinó con una báscula digital, la conductividad eléctrica (CE) se determinó con un conductímetro digital marca HANNA® en mS cm^{-1} ; el diámetro polar (DP) y ecuatorial (DE) se determinó con un vernier digital (NEIKO) en mm, el potencial de hidrógeno (pH) se determinó utilizando un potenciómetro digital (HANNA®), los SST- sólidos solubles totales (%) se midieron con un refractómetro digital PR-101ATAGO PALETTE. La firmeza de los frutos (FF) se determinó con un penetrómetro manual (Wagner Instruments, modelo FDK 20, Greenwich, CT, EE. USA.), para ello se tomaron tres medidas en puntos diferentes del fruto y se obtuvo el promedio, los resultados se expresaron en kg cm^{-2} . En cuanto a las variables bioquímicas, se determinó la capacidad antioxidante, vitamina C, fenoles totales y licopeno en los frutos. Éstos se recolectaron, se congelaron en nitrógeno líquido, se almacenaron en un ultracongelador a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, y se liofilizaron durante 48 h a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ con una presión de 0.133 mbar. Finalmente, se molieron hasta obtener un polvo fino, el cual se utilizó para realizar las determinaciones.

Variables bioquímicas

Vitamina C

La cuantificación de vitamina C se determinó siguiendo el método descrito por Yu y Dahlgren, (2000), con algunas modificaciones. La extracción se realizó pesando 100 mg de tejido liofilizado y macerado suspendiéndose en 2 mL de solvente agua: acetona (1:1). Se agito en vórtex por 30 seg, se ultracentifugó a 12,000 rpm a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, se extrajo el sobrenadante y se filtró con membrana de nylon de $0.45\text{ }\mu\text{m}$ de diámetro de poro. La cuantificación se realizó en un Cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC) Thermo Spectra system P4000®, bajo las siguientes condiciones: longitud de onda

230 nm, fase móvil NaH_2PO_4 50 mM pH 2.8/ acetonitrilo en una proporción 80:20, flujo de 1.0 mL min^{-1} , la columna utilizada fue una aquasil C-18 a una temperatura de $60 \text{ }^\circ\text{C}$. Las unidades fueron reportadas en g kg^{-1} .

Fenoles Totales

El contenido de compuestos fenólicos totales se extrajo con una muestra de 200 mg de tejido liofilizado agregando 1 mL de la solución agua: acetona en una proporción 1:1 (Yu y Dahlgren, 2000). Se sometió a vórtex por 30 seg, posteriormente se sonificó por 5 minutos, finalmente se sometió a centrifugación a $4 \text{ }^\circ\text{C}$ y 12,500 rpm por 10 min. Se retiró el sobrenadante y la cuantificación se efectuó colorimétricamente mediante el reactivo Folin-Ciocalteu (Sigma Aldrich, Alemania). Se tomaron $50 \mu\text{L}$ del extracto y se agregaron $200 \mu\text{L}$ del reactivo Folin-Ciocalteu, se añadieron $500 \mu\text{L}$ Na_2CO_3 al 20% y se adicionaron 5 mL de agua destilada, una vez hecha la mezcla fue sometida a vórtex, se colocó a $45 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 30 min para que la reacción fuera efectuada y se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 750 nm (Sultana *et al.*, 2009). La curva de calibración se trazó con ácido gálico a concentraciones de 100, 250, 500, 750 y 1000 mg L^{-1} , siguiendo el mismo protocolo para las muestras. Los resultados fueron expresados en mg de ácido gálico g^{-1} de tejido seco.

Licopeno

En la cuantificación de licopeno en fruto de tomate se pesaron 100 mg de tejido liofilizado y se colocaron en tubos de 2 mL, se agregaron 1.5 mL hexano y se sometió a agitación en vórtex por 30 seg; después se sonificó por 5 min y se centrifugó a $4 \text{ }^\circ\text{C}$ por 10 min a 10,000 rpm. Se extrajo el sobrenadante y se filtró con membranas de nylon de $0.45 \mu\text{m}$ de diámetro de poro. Para leer la absorbancia de la muestra se hizo una dilución 1:10 (muestra/hexano), se cuantificó con un espectrofotómetro UV-Vis (Thermo Scientific Modelo G10S, Waltham, MA, EE. UU.) a una longitud de onda de 472 nm y la concentración fue obtenida mediante la curva de calibración previamente trazada con estándar de licopeno en un rango de concentraciones de 2 a 25 mg L^{-1} (Bunghez *et al.*, 2011). Los resultados se expresaron en $\text{mg } 100 \text{ g}$ de peso seco $^{-1}$.

Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante se determinó en frutos liofilizados siguiendo la metodología descrita por Kotíková *et al.* (2011), con algunas modificaciones. Se usaron 100 mg de tejido macerado, se colocaron en tubos eppendorf de 2 mL y se agregó 1.5 mL de metanol puro. Se agitaron en vórtex por 20 seg, posteriormente se sonificó por 10 minutos y se centrifugó a 12,000 rpm a 4 °C por 15 minutos. El sobrenadante se extrajo con jeringas y se filtró con membrana de nylon de poro de 0.45 µm de diámetro. La reacción se llevó a cabo con DPPH a una concentración de 0.1 mM, utilizando 750 µL de la muestra y el reactante, se dejó reposar por 15 minutos y se realizó la lectura de la absorbancia a una longitud de onda de 530 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (Thermo Scientific Modelo G10S, Waltham, MA, EE. UU.). La curva de calibración se trazó utilizando como estándar trolox a una concentración de 0.1 mM usando como solvente metanol puro, midiendo las concentraciones de 0, 0.015, 0.045, 0.105, 0.210, 0.420 mM. Los resultados se expresaron en mM TEAC (Trolox equivalent Antioxidant Capacity, por sus siglas en inglés).

Evaluación de variables relacionadas a tolerancia a estrés en hojas

Se determinó la actividad de las enzimas fenilalanina amonio liasa (PAL), quitinasa y β-1,3 glucanasa y se cuantificaron los pigmentos fotosintéticos clorofila a, b, carotenos y carotenoides totales. Las determinaciones se realizaron en hojas correspondientes a los 4 muestreos (M) de hojas; M1- a las 24 h después de la segunda aplicación de tratamientos, M2- a los 5 días después de la inoculación, M3- a las 24 h después de la cuarta aplicación y M4- durante la producción del cultivo. Las hojas se recolectaron en bolsas de aluminio, se congelaron en nitrógeno líquido, se almacenaron en un ultracongelador a -80 °C, y se liofilizaron durante 24 h a -80°C con una presión de 0.133 mbar. Finalmente, se molieron hasta obtener un polvo fino, el cual se utilizó para realizar las determinaciones.

Obtención de extracto enzimático (EE)

El EE se realizó utilizando 100 mg del material vegetal pulverizado, se le añadió 1.5 mL de buffer de fosfatos 0.1 M y pH 7.2 y fue sonicado por 10 min, posteriormente se sometió a centrifugación a 12,000 rpm por 10 min a 4°C, el sobrenadante se recolectó y se filtró con membrana de nylon de 0.45 µm de diámetro de poro (Ramos *et al.*, 2010). Finalmente,

se diluyó en una proporción 1:15 con buffer de fosfatos. Con este extracto enzimático se determinó la enzima fenilalanina amonio liasa (PAL).

Cuantificación de proteínas totales

La cuantificación de proteínas se determinó mediante la técnica colorimétrica de Bradford, (1976), se tomaron 0.1 mL del EE y se agregaron 1 mL del reactivo Bradford. Después de 5 minutos, se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 595 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (Thermo Scientific Modelo G10S, Waltham, MA, EE. UU.). Se realizó una curva de calibración con albúmina de suero bovino estándar (0.005-0.5 mg mL⁻¹). Los resultados se expresaron como g kg⁻¹ de proteínas totales en peso seco.

Actividad enzimática fenilalanina amonio liasa (PAL)

La actividad de la enzima PAL se determinó de acuerdo a Sykłowska-Baranek *et al.* (2015), con algunas modificaciones. En un tubo de ensayo se colocaron 0.1 mL del EE, 0.9 mL de L-fenilalanina a 6 mM. Se incubó a 40 °C por 30 minutos, la reacción se detuvo agregando 0.25 mL de HCl al 5 N. Se colocaron en baño de hielo y se les agregó 5 mL de agua destilada. Para la cuantificación se calibró con un blanco de buffer de fosfatos pH 7 y se determinó la absorbancia a 290 nm en un espectrofotómetro UV-VIS con una celdilla de cuarzo. La actividad enzimática se evaluó en función de la capacidad de degradación de los EE al sustrato, en este caso, fenilalanina. Las lecturas de las diferentes muestras fueron interpoladas en la ecuación obtenida de la curva de calibración con ácido transcinámico (1-10 mg mL⁻¹). Los resultados de la catálisis enzimática se expresaron como Unidades (U), sustituidos en la siguiente formula:

$$PAL = \frac{Vo \mu M \left(\frac{6.25 (ml)}{0.1 (ml)} \right) \left(\frac{1}{t} \right)}{Proteínas\ totales \frac{g}{kg}} = U$$

U que equivalen a la producción de μM de ácido transcinámico por minuto por proteínas totales (g kg⁻¹), donde:

$$U = \frac{\mu M * min}{\frac{g}{kg}}$$

Actividad enzimática de quitinasa y β - 1,3 glucanasa

El EE para las enzimas quitinasa y β - 1,3 glucanasa se realizó utilizando 100 mg del material vegetal pulverizado, se le añadieron 2 mL de solución buffer de acetato de sodio 0.1 mol L^{-1} pH 5.2 y fue sonificado por 10 min. Posteriormente, se sometió a centrifugación a 12,000 rpm por 10 min a 4°C , el sobrenadante se recolectó y se filtró en membrana de nylon de $0.45 \mu\text{m}$ de diámetro de poro (Ramos *et al.*, 2010).

Quitinasa

La actividad quitinasa se determinó adicionando a 250 μL de EE, 500 μL de solución amortiguadora de ácido cítrico 0.1 M y fosfato de sodio 0.1 M a pH 5.2 y 250 μL de quitina coloidal 0.5%. Las muestras se incubaron a 37°C durante 20 minutos con agitación continua y la reacción se detuvo al calentarla a ebullición por 5 minutos (Rodríguez Pedroso *et al.*, 2006). Se determinó el incremento de azúcares reductores por la técnica de Miller (Miller, 1959), se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 540 nm. La actividad enzimática se determinó por la medición del nivel de producción de azúcares reductores y se expresó en términos de producción de $\mu\text{g mL}^{-1}$ de glucosa por minuto por proteínas totales (g kg^{-1}).

β -1,3 glucanasa

La actividad de β -1,3 glucanasa se determinó de acuerdo a la metodología descrita por Rodríguez Pedroso *et al.* (2006). En un tubo de ensayo se colocaron 0.1 mL de EE, 0.2 mL de sustrato laminarina a una concentración de 1 mg mL^{-1} y 0.1 mL de solución amortiguadora de acetato de sodio 0.1 M a pH 5.2, las muestras se incubaron a 40°C durante 30 min. La actividad enzimática se determinó por medición del nivel de producción de azúcares reductores (Miller, 1959), se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 540 nm y se expresó en términos de producción de $\mu\text{g mL}^{-1}$ de glucosa por minuto por proteínas totales (g kg^{-1}).

Pigmentos fotosintéticos

Los pigmentos fotosintéticos se determinaron con el método descrito por Wellburn, (1994), con algunas modificaciones midiendo Ch a: Clorofila a, Ch b: Clorofila b, C total: Clorofila total y Car: Carotenoides. En un tubo de ensayo, se agregaron 60 mg de tejido

liofilizado y 5 mL de metanol puro, se incubó a temperatura ambiente en oscuridad por 24 h para la extracción completa de los pigmentos. Pasadas las 24 h, se procedió a hacer una dilución 1:15 (muestra: metanol) para medir la absorbancia en un espectrofotómetro UV-Vis (Thermo Scientific Modelo G10S, Waltham, MA, EE. UU.) a longitudes de onda de 666, 653 y 470 nm para Ch a, b y carotenos, respectivamente. La concentración de los pigmentos se expresó en miligramos por gramo de peso seco (mg g^{-1} PS), usando las siguientes formulas:

$$Ch a = 15.65 * A666 - 7.34 * A653$$

$$Ch b = 27.05 * A653 - A666$$

$$Car = (1000A470 - 2.86 * Chl a - 129.2 * Chl b)/221$$

Análisis de expresión génica

Se determinó la expresión de tres genes relacionados con la respuesta de defensa frente a patógenos: PR1 (ácido salicílico), LOX (ácido jasmónico) y NCED (ácido abscísico). En esta etapa se consideraron los muestreos de hojas: M1- a las 24 h después de la segunda aplicación de tratamientos, M2- a los 5 días después de la inoculación y M3- a las 24 h después de la cuarta aplicación. El material vegetal utilizado se colectó en bolsas de aluminio, se criogenizó en nitrógeno líquido y se almacenó en ultracongelador a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, hasta su uso.

Extracción de ARN. La extracción de ARN se realizó siguiendo el método Trizól[®], con algunas modificaciones, usando 100 mg de tejido previamente macerado con nitrógeno líquido. La muestra se colocó en un tubo eppendorf de 2 mL, se le adicionó 1 mL de TRI reagent[®] y se homogenizó vigorosamente en vórtex durante 30 seg, se dejó incubar a temperatura ambiente durante 5 min, se le agregaron 200 μL de cloroformo y se agitó suavemente haciendo inversiones del tubo hasta lograr una apariencia lechosa, la mezcla se dejó reposar durante 15 min a temperatura ambiente. Transcurrido el tiempo, se centrifugó a 12,000 rpm durante 15 min a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, se recuperó el sobrenadante y se colocó en un tubo nuevo, se incorporó isopropanol frío en proporción 1:1 y se mezcló suavemente, en seguida se incubó a temperatura ambiente durante 10 min. Posteriormente,

se centrifugó a 12,000 rpm por 10 min a 4 °C, se removió el sobrenadante por decantación y la pastilla de ARN formada se lavó adicionando 700 µL de etanol frío al 70%, se agitó haciendo suaves inversiones de tubo para después centrifugar durante 3 min a 12,000 rpm a 4°C, nuevamente se removió el sobrenadante y la pastilla de ARN se dejó secar por 15 min. Finalmente, la pastilla se resuspendió en 50 µL de agua inyectable Pisa, disolviéndola a 60°C durante 10 min y se almacenó en un congelador a -80 °C.

Tratamiento con DNasa. Debido a que ningún método de extracción de ARN produce ARN que esté libre de ADN contaminante, es necesario tratar las muestras con DNasa para eliminar el ADN contaminante. Se utilizó un kit DNase I de la marca Sigma-Aldrich, Alemania, se depositaron 8 µL de la muestra extraída en un vial de 200 µL, se añadió 1 µL de 10x reaction buffer, 1 µL de DNase amplification, se agitó suavemente y se incubó durante 15 min a temperatura ambiente. La reacción se detuvo con 1 µL de STOP y se calentó a 70 °C durante 10 min, finalmente se almacenó a -80 °C.

Cuantificación de ARN. La concentración y pureza de una muestra de ARN se evaluó por espectrofotometría, se utilizó agua inyectable como blanco y para la lectura de las muestras se preparó una dilución con 2 µL de ARN y 198 µL de agua inyectable, se midió la absorbancia a una longitud de onda de 260 y 280 nm y se obtuvo el valor de R (pureza), usando las siguientes formulas:

$$R = A_{260}/A_{280} \quad \mu\text{g/mL} = (A_{260})(100)(50) \quad \mu\text{g totales} = (\mu\text{g/mL})(0.05)$$

En el caso del ARN la relación de absorbancias A₂₆₀/280 con un valor entre 2.0-2.2 se consideró un ARN de pureza óptima. Valores A₂₆₀/280 > 1.7 se consideraron una muestra de ARN con una pureza aceptable. Un rango A₂₆₀/280 < 1.7 se descartaron por posible contaminación por la presencia de compuestos aromáticos

Calidad de ARN. La determinación de la calidad del ARN se realizó mediante electroforesis, para lo cual se elaboró un gel de agarosa al 1.3% con buffer TBE 1X, se añadieron 2.5 µL de bromuro de etidio y se vació en el molde. Una vez que el gel estaba solidificado, se sumergió en la cámara de electroforesis y se agregó solución TBE 1X a la

cámara hasta la marca. Las muestras se prepararon sobre un papel Parafilm mezclando 2 µg de ARN con 1 µL de buffer de carga (blue juice), se depositaron en el gel, colocando cada una de ellas dentro de los pocillos. Se dejó correr la electroforesis a 70 volts por 80 minutos, después se sacó el gel de la cámara y se colocó en el transiluminador para ver las bandas, se tomó la foto del gel y se analizó.

Síntesis de c-DNA. La síntesis de c-DNA se realizó en las muestras que presentaron una cantidad y calidad aceptable en ausencia de contaminación. La reacción se hizo bajo condiciones de frío utilizando el kit SensiFAST™ (BIOLINE), previamente homogenizado. En un vial de 200 µL se colocaron 2 µg de muestra, 4 µL de buffer reacción 5X y 1 µL de transcriptasa reversa, el volumen se completó a 20 µL con agua inyectable y se homogenizó en una microcentrífuga durante 30 seg. Finalmente, se colocaron en termociclador (AxyGen modelo Maxigene II) bajo las siguientes condiciones: 25°C por 10 min, 42°C por 15 min, 48°C por 15 min, 85°C por 5 min y 4°C de HOLD. El c-DNA obtenido se almacenó a -20°C en congelador hasta su uso.

Preparación de primers. Los primers utilizados se describen en el Cuadro 3. Inicialmente se centrifugó el par de primers en microcentrífuga a máxima velocidad por 15 min, enseguida se añadió agua grado biología molecular de acuerdo a las especificaciones técnicas de cada primer obteniéndose la solución madre que se almacenó a -20°C. Solución de trabajo: se preparó una solución de trabajo a una concentración de 15 pMol a partir de la solución madre de primers utilizando la fórmula $C_1C_2=V_1V_2$, donde: C_1 = solución stock (100pMol), V_1 = volumen requerido, C_2 = solución de trabajo (15pMol) V_2 = volumen deseado (50 µL), Por lo tanto: $V_1= (15 \text{ pMol})(50 \text{ µL})/100 \text{ pMol} = 7.5 \text{ µL}$ Finalmente, en un tubo de 500 µL se colocaron 7.5 µL de la solución madre del primer y 42.5 µL de agua inyectable y se homogenizó. La solución de trabajo se almacenó a -20°C.

Cuadro 3. Secuencia de primers utilizados de los genes ACT, PR1, LOX y NCED.

Gen	Secuencia Forward	Secuencia Reverse	°TA
ACT1	CCCAGGCACACAGGTGTTAT	CAGGAGCAACTCGAAGCTCA	60°C
PR1	AAGTAGTCTGGCGCAACTCA	GTCCGATCCAGTTGCCTACA	60°C
LOX	TGTGGCAGATCGCTAAAGCA	GGATGCATCGCGCTTAACTG	60 °C
NCED	CTTATTTGGCTATCGCTGAACC	CCTCCAACCTCAAACCTCATTGC	60 °C

°TA: Temperatura de anillamiento

Prueba de concentración de primers qPCR. Seleccionada la temperatura de anillamiento para el par de primers se realizó una prueba para determinar la concentración adecuada del primer para qPCR. Se inició probando una concentración de 100 nM buscando un buen producto de amplificación y nula formación de estructuras inespecíficas. Para el gen de referencia Actina I, se utilizó una concentración de 72 nM primer forward y 60 nM primer reverse, para los genes problema en el caso de PR1 se utilizó una concentración de 150 nM primer forward y 100 nM primer reverse, y para los genes LOX y NCED se utilizó una concentración equimolar de 100 nM y de 300 nM, respectivamente.

Validación de genes. La validación de los genes se realizó para probar que los productos de PCR a medir (gen endógeno y gen problema) amplificaran con la misma eficiencia. Para ello se llevaron a cabo amplificaciones con diferentes diluciones seriadas (1:5) de c-DNA, preparando cinco estándares de 32 µL de agua inyectable adicionando 8 µL de c-DNA para completar un volumen de 40 µL en todos los tubos. Para la preparación del coctel mix, se preparó un volumen considerando tres puntos para cada estándar, además de tres controles negativos (NTC) por gen. Se preparó un mix para el gen endógeno (Actina) y otro para cada uno de los genes problema como a continuación se describe en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Preparación de cóctel mix correspondiente a cada gen

Reactivo	ACT1	PR1	LoxD	NCED
SYBER® Select Master Mix	10 µL	10 µL	10 µL	10 µL
Forward 5'-3'	0.10 µl	0.195 µl	0.130 µl	0.390 µl
Reverse 3'-5'	0.08 µl	0.13 µl	0.130 µl	0.390 µl
Agua	8.82 µl	8.675 µl	8.74 µl	7.22 µl
Volumen c-DNA	1 µl	1 µl	1 µl	2 µl
Total	20 µL por muestra			

Finalmente, en una tira de tubos de reacción rápida de 100 µL se colocó el c-DNA correspondiente a cada dilución seriada y se adicionó el coctel mix, se incluyeron controles negativos que consistió en agregar agua grado inyectable y coctel mix. Se corrió la qPCR con las condiciones seleccionadas para cada gen en equipo StepOne qPCR system de Applied Biosystems. Los resultados obtenidos fueron analizados y con ellos se determinó el método de cuantificación a utilizar, en este caso fue por el método doble delta CT (▲▲CT).

Cuantificación de la expresión de genes. El método de cuantificación seleccionado fue el de ▲▲CT midiendo la intensidad de fluorescencia del marcador Sybr Green (Thermo Scientific™, Luitania). Se preparó el coctel mix para cada uno de los genes de acuerdo a la metodología de la validación de genes con la diferencia de que para este apartado se añadieron las muestras de c-DNA correspondientes a los diferentes tratamientos, una vez preparada la tira de microtubos de reacción rápida fue colocada en la placa y se corrió la qPCR con el siguiente programa en el termociclador: hot start 95°C por 10 min, 40 ciclos: 95°C por 15 seg, temperatura iniciador 60°C por 1 min, 95°C por 15 seg, Melting 60°C por 1 min y 95°C por 15 seg.

Análisis estadístico de datos

En la Etapa I) Producción de extractos hidroalcohólicos de *SAR* se consideró un diseño central compuesto con tres factores de variación: proporción del solvente (0, 25 y 50% de etanol), tiempo de extracción (0, 15 y 30 min) y temperatura de extracción (120, 140 y 160 °C). En la Etapa II) Prueba preliminar en etapa de plántula, se siguió un diseño completamente al azar considerando como unidad experimental un vaso de 0.8 L con 20 tratamientos y 10 repeticiones por tratamiento. En la caracterización del extracto seleccionado en la Etapa III, en la prueba antifúngica *in vitro* la unidad experimental fue una caja Petri y se utilizaron 5 unidades experimentales por cada tratamiento, en el cálculo de CMI₅₀ y CMI₉₀, fueron calculadas mediante un programa estadístico SAS Probit (versión 9.1), basado en el método de interpolación logarítmica. Para la Etapa IV) Desarrollo de cultivo de tomate aplicando el extracto E12, se consideró como unidad experimental una maceta de 14 L con 4 tratamientos y 25 repeticiones por tratamiento siguiendo un diseño completamente al azar. Finalmente, en la Etapa V) Análisis de variables bioquímicas y actividad enzimática, se consideraron cinco repeticiones por tratamiento. Para la cuantificación de la expresión relativa de genes (QR) se emplearon cuatro repeticiones por tratamiento de plantas diferentes. Se calculó en el software Applied Biosystems StepOne™ versión 2.3 Este software normalizó los datos de QR, a partir de estos datos se calculó una media geométrica que representa la cuantificación relativa del gen de estudio. El error estándar se calculó a partir de la desviación estándar y el coeficiente de variación del gen de referencia y estudio. Los datos se analizaron con el programa estadístico InfoStat 2020, para determinar diferencias entre medias se realizó la prueba LSD Fisher a una probabilidad de $p \leq 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

ETAPA I) Prueba preliminar en etapa de plántula

Los resultados de las variables asociadas al crecimiento evaluadas durante la prueba preliminar se describen a continuación. Para la variable de diámetro de tallo los resultados se muestran en la Figura 6, observando que a los 43 DDT se encontraron diferencias significativas entre tratamientos. Los tratamientos TCI, E12 y E17 presentaron mayor diámetro de tallo con un promedio de 4.9 mm. Los tratamientos que presentaron valores estadísticamente similares respecto al testigo absoluto (T0) fueron TCI, E1, E3, E4, E8, E9, E12, E13 y E17. Sin embargo, los tratamientos E2, E5, E6, E7, E10, E11, E14, E15 y E16 fueron estadísticamente similares al testigo infectado (TI), los cuales redujeron el diámetro de tallo, y por lo tanto, el vigor de la plántula. Algunos autores atribuyen un efecto bioestimulante a la aplicación foliar de extractos de algas pardas por la presencia de compuestos bioactivos (Begum *et al.*, 2018). Tal es el caso de Ramya *et al.* (2015), quienes observaron un incremento en las variables agronómicas que se reflejó en una mayor productividad del cultivo con la aplicación foliar de extractos de *Stoechospermum marginatum*. Así mismo, Hernández-Herrera *et al.* (2014) demostraron que la aplicación de extractos de algas pardas promueve efectos benéficos en el crecimiento y desarrollo de los cultivos, reflejándose en el vigor de las plantas. Sin embargo, existe información limitada que asocie la resistencia frente al estrés biótico de extractos de *Sargassum* spp.

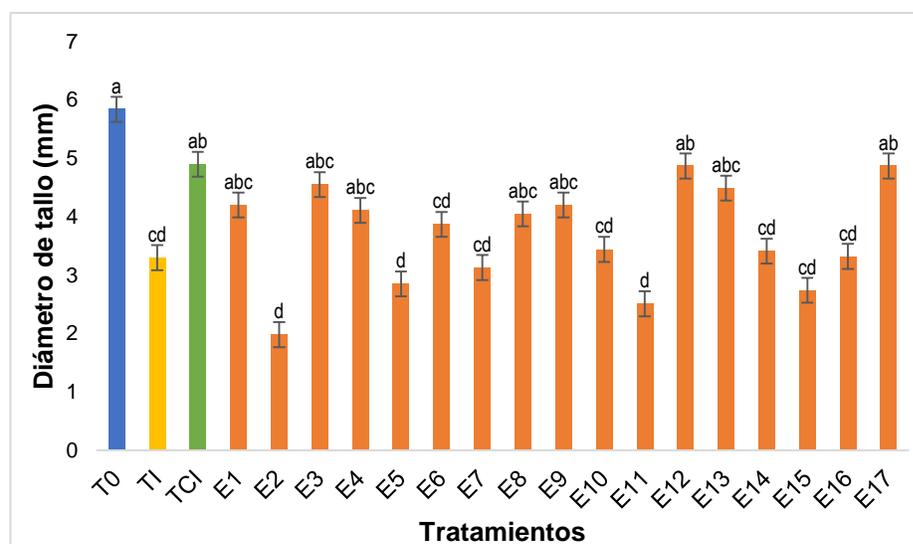


Figura 6. Diámetro de tallo en plántulas de tomate tratadas con aplicaciones foliares de extractos de SAR a los 43 DDT. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (LSD, $p \leq 0.05$).

Número de hojas

En la variable de número de hojas se observó un decremento en función de la progresión de la infección por *FO* debido a que uno de los principales síntomas es el desarrollo de clorosis en las hojas inferiores (Srinivas *et al.*, 2019). A los 43 DDT los tratamientos E1, E3, E4, E8, E9, E12, E13, E14, E16, E17 y TCI no mostraron diferencias estadísticas respecto al T0 con un promedio de nueve hojas sanas por plántula (Figura 7). El efecto antes mencionado se puede atribuir a la acción bioestimulante por la aplicación de extractos de SAR que promueve un mejor desarrollo de las plantas. En este tenor, Hernández-Herrera *et al.* (2018) señalan que los efectos conseguidos con la aplicación de extractos de algas se relacionan a la presencia de compuestos bioactivos, que modifican el metabolismo de las plantas, lo que mejora el crecimiento y desarrollo de los cultivos. En cuanto a los tratamientos E2 y E11, no mostraron diferencias significativas respecto al T1, lo que se traduce a una nula resistencia frente al ataque por *FO*. Sin embargo, algunos autores asocian efectos negativos como la reducción del vigor de los cultivos a la aplicación de extractos, en los cuales las condiciones de procesamiento y el contenido de compuestos tiene altas concentraciones (Sutharsan *et al.*, 2016).

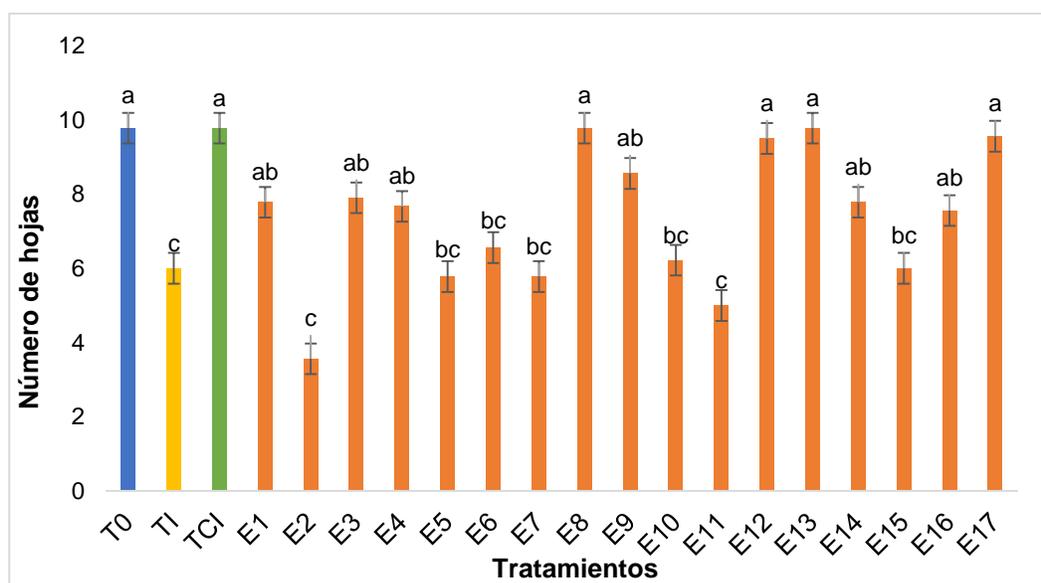


Figura 7. Número de hojas en plántulas de tomate tratadas con aplicaciones foliares de extractos de SAR a los 43 DDT. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (LSD, $p \leq 0.05$).

Altura de planta

En la Figura 8 se muestran los resultados de la altura de plántulas a los 43 DDT, encontrando diferencias significativas entre tratamientos. Los tratamientos E12, E13, E17 y TCI mostraron un crecimiento más próximo al testigo absoluto (T0) con una altura promedio de 39 cm por planta, destacando un efecto estimulante por la aplicación de extractos de SAR. Por otro lado, las plantas que presentaron la menor altura fueron las del extracto E1 similar al TI, las cuales mostraron crecimiento y desarrollo detenido, otros de los síntomas distintivos de la infección por *FO* (Srinivas *et al.*, 2019). Actualmente, la incorporación de derivados de algas pardas como el caso de *Sargassum* spp., representa una alternativa en el sector agrícola para mejorar el desarrollo de los cultivos (Hashem *et al.*, 2019). Tal es el caso del estudio realizado por Sujatha *et al.* (2015) donde con la aplicación de un complejo de algas pardas, incluidas *Sargassum*, obtuvieron una inducción del crecimiento de plantas de chile verde, nabos y piña, bajo condiciones de desarrollo normales. Así mismo, Ali *et al.* (2016) evaluaron la aplicación foliar y en drench de extractos de *A. nodosum* en el cultivo de tomate, encontrando un aumento significativo de altura, densidad de la raíz y de rendimiento del cultivo.

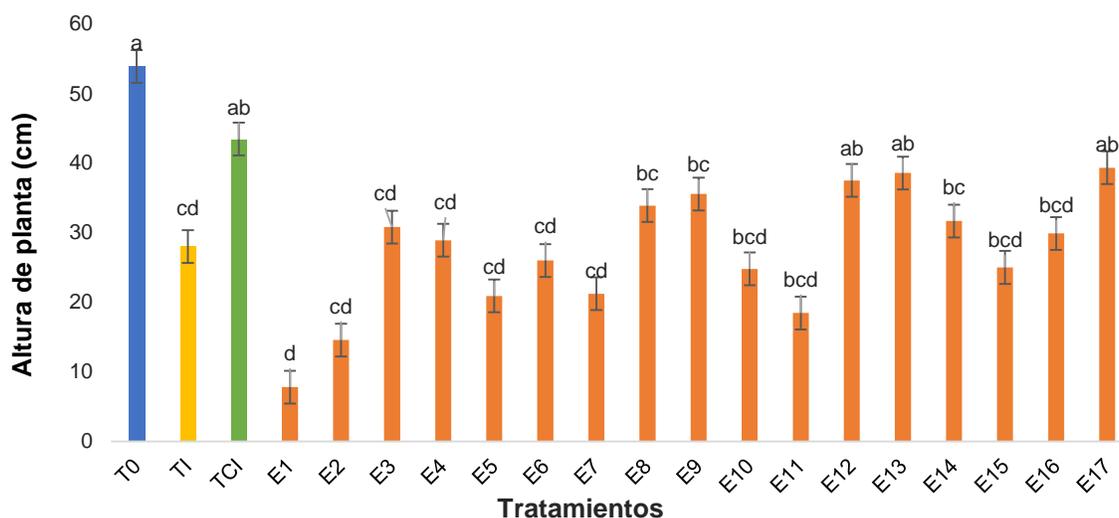


Figura 8. Altura de plántulas de tomate tratadas con aplicaciones foliares de extractos de SAR, a los 43 DDT. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (LSD, $p \leq 0.05$).

Incidencia y severidad en plántula

La evaluación de incidencia y severidad fueron variables determinantes en la selección del mejor extracto para su posterior aplicación durante el desarrollo del cultivo, encontrando diferencias significativas a los 43 DDT. En la Figura 9 se muestran los resultados de la severidad de la enfermedad, observando una reducción del 17% en comparación con el testigo infectado en las plántulas tratadas con el E12. De igual manera, este tratamiento fue el único que presentó porcentajes de severidad similares al T0. Vera *et al.* (2011) relacionan un efecto estimulante a la presencia de compuestos bioactivos en derivados de algas que al ser aplicados generan resistencia al estrés biótico. Algunos autores como Pérez-Madruga *et al.* (2020) demostraron que aplicaciones foliares de un extracto de *A. nodosum* redujeron la infección por *Phytophthora capsici* (Leonian) en *Capsicum* (ají) y *Plasmopara viticola* (uva).

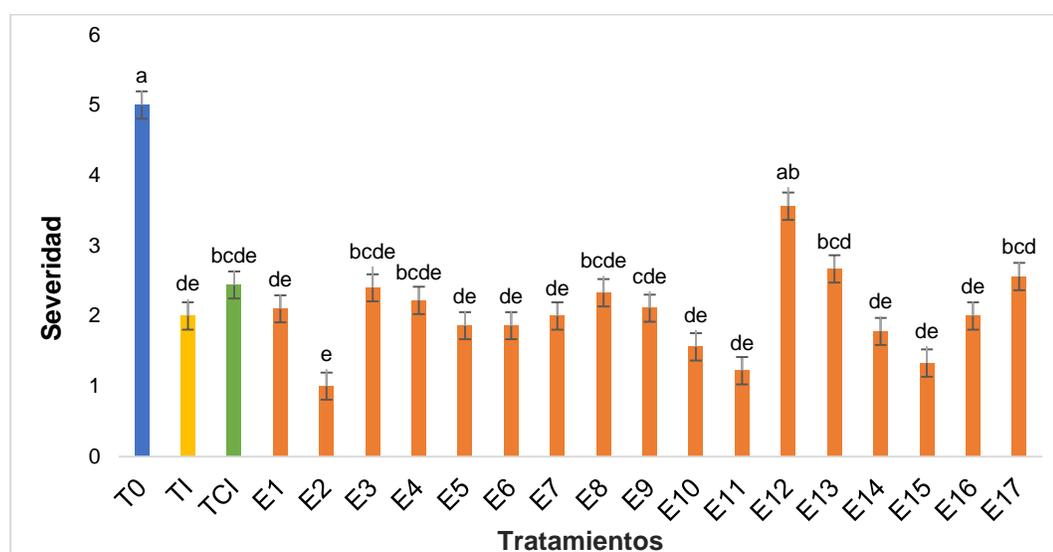


Figura 9. Severidad de *F. oxysporum* en plántulas de tomate tratadas con aplicaciones foliares de extractos de SAR, a los 43 DDT. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (LSD, $p \leq 0.05$).

En la Figura 10, se muestran los resultados de la incidencia de la enfermedad observando un efecto generalizado en la progresión de la infección en los tratamientos infectados con *FO*. Los tratamientos E12, E13 y E17, presentaron los menores valores de incidencia con un promedio de 47%. Así mismo, la aplicación de los tratamientos E12, E13, E17 y TCI promovieron el crecimiento y desarrollo en plántulas de tomate, con valores similares al

testigo absoluto. El extracto que presentó mejores resultados, con base a las variables agronómicas y de incidencia y severidad, fue el denominado E12 (con una proporción etanol-agua 1:3 producido en un reactor de tipo batch a 120 °C por 15 min). E12 mostró la mayor efectividad en la inducción de resistencia a *FO*, por lo que se seleccionó para su evaluación en la Etapa IV de este proyecto, además de que representa una alternativa para la formulación de insumos agrícolas (bioestimulantes) debido a la capacidad de inducir resistencia al estrés biótico en plántulas de tomate como consecuencia de los compuestos bioactivos y de la actividad sinérgica entre la matriz de compuestos químicos que lo integran. En este estudio se comprobó que con la aplicación de extractos de SAR se promueve la inducción de resistencia a estrés por *FO*, además de tener un efecto sobre el crecimiento y desarrollo de la planta. Esto se debe a que algunas plantas tienen la capacidad de sintetizar y acumular en sus órganos metabolitos secundarios, que intervienen en interacciones complejas entre organismos vivos y que además tienen efectos estimulantes sobre el crecimiento de las plantas (García Enciso *et al.*, 2018).

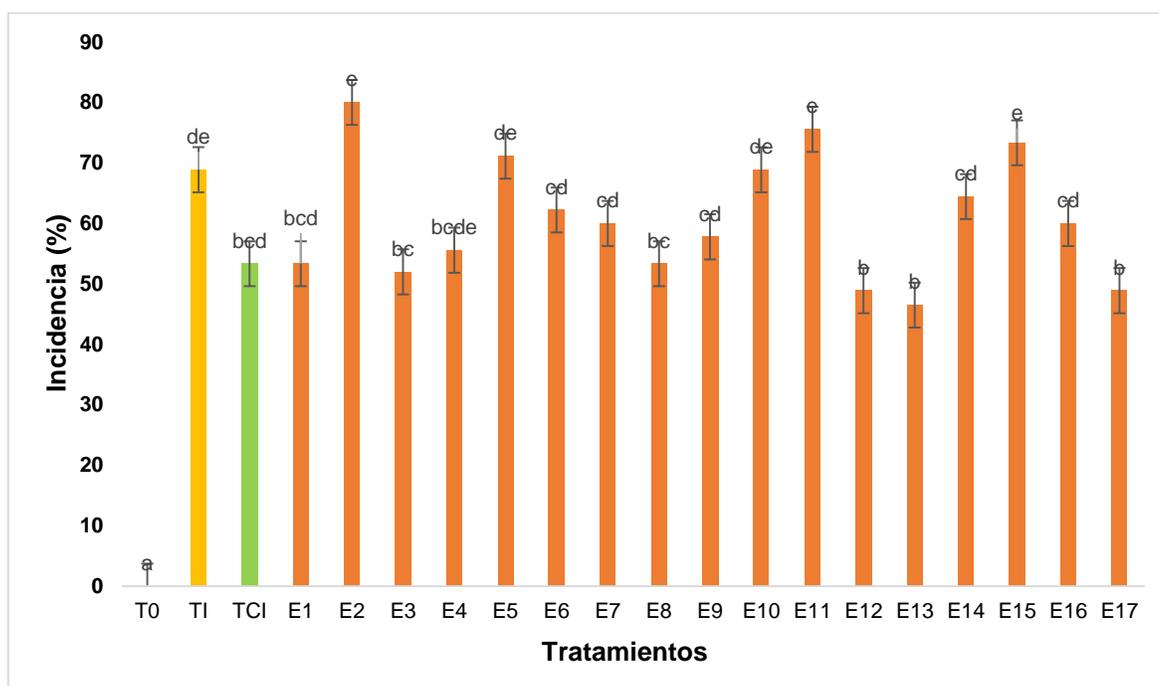


Figura 10. Porcentaje de incidencia de *F. oxysporum* en plántulas de tomate tratadas con aplicaciones foliares de extractos de SAR, a los 43 DDT. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (LSD, $p \leq 0.05$).

ETAPA II) Caracterización del extracto seleccionado de SAR

Composición bioquímica

Los resultados de la composición bioquímica del extracto E12 se observan en el Cuadro 5. En cuanto al contenido de PT se observó un promedio de 2.47 g kg⁻¹ PF. Algunos autores confirman que la fracción proteica de las algas varía según la especie, pero generalmente se encuentra en pequeñas cantidades en las algas pardas (Vieira *et al.*, 2018). Por ejemplo, Holdt Løvstad y Kraan (2011) encontraron que el menor contenido proteico entre algas pardas, verdes y rojas se encontró en las algas pardas, en específico, *A. nodosum* y *Sargassum* spp. con un rango de 17 a 21% del peso seco. Por otro lado, en el procesamiento de esta materia prima a procesos hidrotérmicos puede generarse reducción de sus compuestos, como se observó en este experimento; siendo que para el caso de proteínas su degradación se puede traducir a la formación de péptidos y/o aminoácidos libres, lo que se considera benéfico para los cultivos, ya que los hidrolizados proteicos actúan como bioestimulantes en las plantas (Yakhin *et al.*, 2017). En este sentido, en el contenido de AA se encontró un promedio de 0.29 mg g⁻¹ PF, de los cuales la literatura nos indica que pueden ser del tipo esencial y no esencial para las plantas, cuya incidencia en las algas se encuentra sin importar la época de recolecta; sin embargo, su concentración puede variar en relación a factores ambientales no adecuados (Galland-Irmouli *et al.*, 1999). En cuanto al contenido de FT, se observaron valores de 6.24 mg EAG g⁻¹ PF, superiores a lo reportados por AK y Turker (2018) en el estudio de extractos acuosos del alga parda *Cystoseira barbata*, donde encontraron valores de 3.29 mg EAG g⁻¹ PF. La función de los FT radica en diversas actividades biológicas debido a la interacción con proteínas (enzimas o receptores celulares) cuya interacción genera diferentes respuestas de defensa en las plantas (Schultz *et al.*, 1992; Audibert *et al.*, 2010). Otras moléculas que intervienen en la respuesta de defensa de las plantas son los compuestos antioxidantes, de los cuales se encontró en la CAT un promedio de 121.41 mM TEAC, dichos compuestos se encargan de activar la segunda línea de defensa en las plantas al eliminar los radicales libres para inhibir los daños a los tejidos o células, cuyo mecanismo de reacción involucra la transferencia de un átomo de hidrógeno de estos compuestos (Haida y Hakiman, 2019; Sabeena Farvin y Jacobsen, 2013). Algunos autores sugieren que la capacidad antioxidante depende esencialmente de la presencia de compuestos fenólicos presentes en

las algas, tal como lo describen Audibert *et al.* (2010) en extractos de *A. nodosum*. En el contenido de FL se observó un promedio de 1.36 mgEC g⁻¹ PF, considerada una concentración baja; sin embargo coincide con lo reportado por AK y Turker (2018) al encontrar el menor contenido de FL en el extracto de *Scytosiphon lomentaria*. Los FL pueden actuar como antioxidantes y captar radicales libres en función de su estructura molecular y posición de los grupos hidroxilos; además, se ha reportado que en las plantas en condiciones de estrés inducen su síntesis para promover una respuesta de defensa (Lola-Luz *et al.*, 2013). Así mismo, en el glutatión reducido se encontraron valores de 2.76 mg g⁻¹ PF, su presencia desempeña un papel fundamental en las plantas, ya que desactiva los radicales libres (ROS), es asociado a la resistencia del estrés y está involucrado en la regulación redox del ciclo de la célula, pudiendo actuar como buffer (Machín Suárez *et al.*, 2017). En cuanto al contenido de fitohormonas se observó un promedio de 0.15 g kg⁻¹ PF de AIA y un 36.61 µg g⁻¹ PF de tZ, superior a lo reportado por Jannin *et al.* (2013) en extractos acuosos de algas colectadas en el Pacífico Mexicano, *Padina durvillaei*, en los cuales se presentó valores promedio de 3.9x10⁻⁸ g kg⁻¹ PF de AIA y 5x10⁻³ 61 µg g⁻¹ PF de tZ. Así mismo, Jannin *et al.* (2013) en el estudio del potencial de extractos de *A. nodosum* para la incorporación en un bioestimulante comercial encontraron valores de 1.319x10⁻⁶ g kg⁻¹ de peso seco de AIA, mientras que Stirk *et al.* (2003) en extractos de *S. heterophyllum* encontraron valores de 5.262x10⁻⁴ µg g⁻¹ de peso seco en tZ. En este sentido, Gil Rivero *et al.* (2016) mencionan que la presencia de las fitohormonas AIA y tZ tiene una función específica en las plantas, actuando fisiológicamente en concentraciones muy bajas con la capacidad de actuar de forma sinérgica o antagonista para el control de varios procesos de desarrollo. La síntesis de AIA en las plantas contribuye al desarrollo de raíces laterales y adventicias, crecimiento y alargamiento celular, así como a la dormancia apical y desarrollo de frutos (Lv *et al.*, 2019). Por otro lado, la función de tZ participa en la regulación positiva del meristemo del tallo y un regulador negativo de la actividad del meristemo de la raíz (Li *et al.*, 2021). La presencia de estos compuestos permite conocer el mecanismo de acción de los extractos de algas que al ser aplicados fortalecen las capacidades de defensa de las plantas al inducir resistencia sistémica adquirida (RSA), además de que son indispensables para regular el

ciclo de vida vegetal y tolerar los factores bióticos y abióticos del ambiente que afectan a las plantas (El Shoubaky y Salem, 2016).

Cuadro 5. Composición bioquímica del extracto E12.

	PT	AA	GSH	FT	FL	CAT	AIA	tZ
E12	g kg ⁻¹ PF	mg g ⁻¹ PF	mg g ⁻¹ PF	mg EAG g ⁻¹ PF	mg EC g ⁻¹ PF	mM TEAC	g kg ⁻¹ PF	μg g ⁻¹ PF
	2.47±0.17	0.29±0.02	2.76±0.04	6.24±0.44	1.36±0.01	121.41±3.97	0.15±0.03	36.61±15.89

Los resultados representan la media aritmética ± la Desviación estándar de tres repeticiones. PT: proteínas totales, AA: aminoácidos, GSH: glutatión reducido; FT: Fenoles totales; FL: Flavonoides; CAT: Capacidad antioxidante en equivalentes trolox; AIA: Ácido indol-3-acético; tZ: Trans-zeatina, PF: Peso fresco.

Perfil de monosacáridos

El perfil de monosacáridos del extracto E12 se presenta en el Cuadro 6. Los resultados indicaron que el monosacárido en mayor concentración fue FUC que obtuvo un promedio de 49.39 mg 100 g⁻¹, este compuesto es característico de las algas pardas (Pereira *et al.*, 2020). La fucosa es un monosacárido derivado de los fucanos que son polisacáridos sulfatados presentes en las paredes de las células fibrilares y los espacios intercelulares en las algas pardas, como lo es *Sargassum* spp. (Ale *et al.*, 2011; Jönsson *et al.*, 2020). Algunos autores como Zhang *et al.* (2019) relacionan la síntesis de fucosa en las plantas a un efecto sobre la defensa al estrés biótico y abiótico debido a que la L- fucosa participa en la fucosilación de un conjunto diverso de sustratos, que incluyen pectina, xiloglucano, glicoproteínas y proteínas DELLA, que favorecen la adaptación de las plantas a sus las condiciones de crecimiento circundantes ajustando el equilibrio adecuado entre el crecimiento y la respuesta a condiciones adversas (Vera-Sierra *et al.*, 2016). Por otro lado, en menor medida se observó la concentración de GAT con promedio de 22.98 mg 100 g⁻¹ y MAN con un valor de 5.98 mg 100 g⁻¹, estos resultados coinciden con lo descrito por Jiao *et al.* (2011) quienes afirman que además de la fucosa puede existir menor concentración de otros monosacáridos en las a algas pardas como galactosa, manosa, xilosa, glucosa y/o ácido glucurónico que puede variar de especie a especie y procesos de extracción. Estos monosacáridos al ser extraídos de una fuente de las algas y aplicados de manera exógena son capaces de mejorar la respuesta de defensa de las plantas frente a

patógenos al acelerar su eliminación (Melo *et al.*, 2020). En este sentido, la presencia de galactosa encontrada en el E12 puede promover el desarrollo de plantas y mejorar la producción en los cultivos, tal como lo describe Mzibra *et al.* (2021) en el desarrollo de cultivo de tomate debido a la capacidad de regular actividades antioxidantes, la salida y compartimentación de iones intracelulares. Así como, el aumento de la biosíntesis de ácido abscísico y etileno que se asocia a diversas actividades de enzimas y genes asociados con procesos fisiológicos en plantas (Sami *et al.*, 2016). En cuanto al manitol encontrado se puede relacionar con efectos positivos en las plantas debido a su capacidad antioxidante al eliminar ROS, además, de promover el crecimiento de las plantas (Habiba *et al.*, 2019). Patel y Williamson (2016) describen al manitol como una molécula señalizadora que interviene en la respuesta frente al estrés abiótico y biótico que al incrementar su concentración y unirse a receptores en la membrana celular de la planta promueven la inhibición de la peroxidación de lípidos y proteínas protegiendo a las plantas del daño oxidativo.

Cuadro 6. Perfil de monosacáridos del extracto E12.

	GAT	MAN	FUC
E12	mg 100 g ⁻¹	mg 100 g ⁻¹	mg 100 g ⁻¹
	22.98±0.00	5.64±0.00	30.49±0.01

Los resultados representan la media aritmética ± la Desviación estándar de tres repeticiones. GAT: galactosa, MAN: manitol y Fuc: fucosa.

Estos resultados sugieren que el extracto E12 tienen compuestos bioactivos con potencial aplicación en las plantas para mitigar efectos adversos al estrés biótico; sin embargo, dicho contenido puede variar considerablemente de especie a especie, así como verse influenciado por factores abióticos y bióticos, como etapa de vida, tamaño, edad, estado reproductivo, ubicación, profundidad, enriquecimiento de nutrientes, salinidad, exposición a la intensidad de la luz, y tiempo de recolección; además de la forma de aplicación, extracción, pulverización y aplicación directa (Hernández-Herrera *et al.*, 2018; Melo *et al.*, 2020; Trejo Valencia *et al.*, 2018). Por lo tanto, la plena explotación de la diversidad y complejidad de las algas requiere conocimiento de los impactos ambientales y comprensión de la variabilidad bioquímica y biológica de las especies.

Prueba antifúngica *in vitro*

Los resultados de inhibición del crecimiento micelar de *FO* con la aplicación del extracto de *SAR* (E12) se presentan en la Figura 11. Como generalidad, al aumentar la concentración del extracto, el crecimiento micelial fue reducido a los 6 DDI aunque este efecto se observó temporalmente. Al respecto, la literatura indica que el daño causado por los componentes antimicrobianos presentes en un extracto puede ser fungicida (matar hongos) y fungistático (detener temporalmente el crecimiento de hongos) (Siregar *et al.*, 2012). La acción fungicida o fungistático será dependiendo de la naturaleza de la materia prima, compuestos activos, condiciones de extracción, tiempo y temperatura y el solvente utilizado (Goñi *et al.*, 2016; Bogolitsyn *et al.*, 2019). Recientemente, se ha encontrado que las algas pardas poseen potencial antifúngico por su alto contenido de fenoles, flavonoides y capacidad antioxidante (Ambika y Sujatha, 2015). Castillo *et al.* (2010) señalaron que el uso de etanol como solvente permite una mayor extracción de compuestos polifenólicos, este fenómeno se observa en el extracto E12, que presentó una inhibición del 57.63% a los 6 DDI de *FO* a una concentración de 6,400 mg L⁻¹; sin embargo, a los 12 DDI, a la misma concentración, su efecto se redujo observando un efecto fungistático con un control del 42.13 % de inhibición. Los resultados obtenidos mostraron un patrón similar que los reportados por Julyasih y Purnawati (2019) en el estudio del extracto etanólico de *Sargassum* spp. para el control *in vitro* de *Aspergillus flavus*, donde se clasificó como un extracto de inhibición débil con valores de inhibición ≤ 5 mm. Por otro lado, Kumar (2008) en el estudio de extractos metanólicos de *S. wightii* encontraron actividad antimicrobiana *in vitro* sobre *Pseudomonas syringae* con valores de inhibición de 21 mm. Estudios previos han demostrado que los extractos de algas crudos o refinados pueden suprimir la enfermedad o reducir la incidencia de la enfermedad en patógenos comercialmente importantes *in vitro* e *in vivo* (Hernández-herrera *et al.*, 2013). Tal es el caso de Esserti *et al.* (2016) que al evaluar extractos de *Cystoseira myriophylloides*, *Laminaria digitata* y *Fucus spiralis* contra los patógenos del tomate *Verticillium dahliae* y *Agrobacterium tumefaciens* encontraron que *in vitro* no se inhibe su crecimiento, pero en aplicación *in vivo* en tomate se promueve la resistencia a la planta. Al respecto, algunos autores correlacionan la capacidad antifúngica de extractos de algas pardas a la presencia de compuestos bioactivos que actúan como antioxidantes que inhiben los radicales libres

tales como polisacáridos, fenoles, flavonoides, pigmentos y carotenoides (Bogolitsyn *et al.*, 2019; Melo *et al.*, 2020).

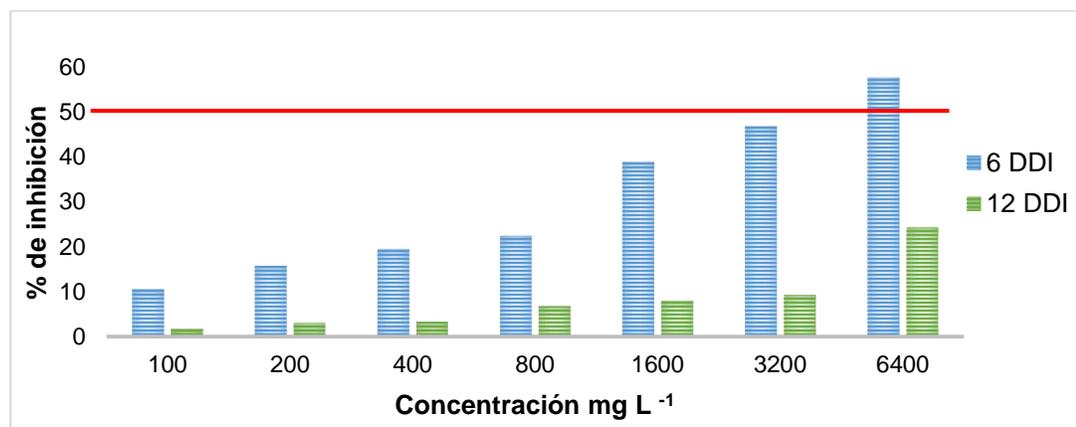


Figura 11. Efecto antifúngico *in vitro* de extracto de SAR (E12) expresado en porcentaje (%) de inhibición contra *FO*. DDI: días después de la inoculación.

Concentración mínima inhibitoria (CMI)

El análisis de la CMI (Probit) se muestra en el Cuadro 7, indicando las concentraciones mínimas requeridas para inhibir el crecimiento micelial *in vitro* al 50% y 90%. Los resultados calculados siguieron un efecto fungistático, el cual incrementó la concentración necesaria para inhibir el crecimiento radial del patógeno al paso de los días, a los 6 DDI CMI₅₀ fue de 4,112 mg L⁻¹ y la CMI₉₀ fue de 154,513 mg L⁻¹. La CMI₅₀ y CMI₉₀ a los 12 DDI fue de 50,983 mg L⁻¹ y 4,707,144 mg L⁻¹, respectivamente. En este sentido, De Corato *et al.* (2017) observaron el mismo efecto fungistático en la aplicación *in vitro* de extractos de *L. digitata* a una concentración de 3,000 mg L⁻¹ sobre *B. cinerea*. Además, Ambika y Sujatha (2015) en el estudio de extractos etanólicos de *S. myricocystum* a una concentración del 10% observaron una inhibición en el crecimiento micelial *in vitro* de *Colletotrichum falcatum*.

Cuadro 7. CMI₅₀ y CMI₉₀ del extracto de SAR para inhibir el crecimiento de *F.oxysporum*.

Extracto E12	CMI ₅₀ (mg L ⁻¹)	95% intervalo de confianza		CMI ₉₀ (mg L ⁻¹)	95% intervalo de confianza	
		Bajo	Alto		Bajo	Alto
6-DDI	4,112	3,455	5,023	154,513	97,518	269,398
12-DDI	91,032	50,983	199,520	4,707,144	1,565,441	21,211,113

ETAPA III) Desarrollo de cultivo de tomate aplicando el extracto de SAR E12

Variables evaluadas en plantas de tomate

El efecto de los tratamientos en las variables agronómicas evaluadas durante el desarrollo del cultivo se muestra en el Cuadro 8. Los resultados obtenidos a los 99 DDT muestran diferencias significativas entre variables y tratamientos. El T0 mostró mejores resultados en todas las variables de crecimiento evaluadas. En la altura de planta (AT) las plantas tratadas con extracto de SAR E12 (TX) presentaron un desarrollo similar al T0 con un promedio de 161.67 cm. En el TI se observó una reducción del 40.28 % respecto a T0, debido a la incidencia de la infección por *FO* que causa crecimiento detenido (Gayosso *et al.*, 2021). El TCI no presentó diferencias estadísticas respecto al TI, con un promedio de 110 cm, esto se debe a la naturaleza del producto, ya que está formulado para estimular el desarrollo del cultivo y no para promover resistencia al estrés biótico. En la variable de diámetro de tallo (DT), el TX incrementó un 20 % respecto al TI, con un promedio de 5.94 mm. TI redujo su grosor un 54.21 % respecto al T0. Las plantas tratadas con el producto comercial (TCI), presentaron un desarrollo similar al TI y TX con un promedio de 5.70 mm. Para las variables de número de hojas (NH) y número de racimos (NR) se observó una reducción a lo largo del ciclo de cultivo en función de la edad de las plantas debido a que los síntomas ocasionados por *FO* son visibles en las hojas inferiores que desarrollan clorosis y que limitan el desarrollo de racimos (Rivera-Solís *et al.*, 2021). A los 99 DDT, el T0 presentó el mayor valor de NH y NR, con 17 hojas y 6 racimos. El TX y TCI fueron estadísticamente iguales con valores de 9.63 y 7.24 NH, respectivamente. Por otro lado, en la biomasa aérea (BSA), las plantas tratadas con extracto de SAR E12 (TX) mostraron un incremento del 91.90 % con un promedio de 50.80 g y TCI incrementó un 84.07%, ambos respecto a TI. *FO* logró colonizar el sistema radicular de los tratamientos infectados, tal como se muestra en la biomasa radicular (BSR) al no observar diferencias significativas entre TX, TI y TC. El T0 presentó los mayores pesos con un promedio de 47.60 g. En el rendimiento en ausencia de estrés, el T0 logró producir el mayor valor de gramos por planta, con un peso de 1,618.28 g planta⁻¹. El TX incrementó 120% su producción respecto al testigo infectado con un rendimiento de 1,045.40 g planta⁻¹. Algunos autores relacionan el incremento en la productividad de los cultivos a los compuestos bioactivos presentes en los extractos de algas que pueden intervenir directa o

indirectamente en varios mecanismos como los son: (i) la estimulación de las actividades enzimáticas involucradas en el metabolismo del C y N, el Krebs ciclo y glucólisis; (ii) estimulación de la actividad hormonal, particularmente la atribuida a auxina y giberelinas; y (iii) mejora del estado nutricional de las plantas tratadas mediante la modulación de la arquitectura del sistema radicular (longitud, densidad y número de raíces laterales) (Rouphael *et al.*, 2017).

Cuadro 8. Variables agronómicas asociadas al crecimiento de plantas de tomate tratadas con el extracto de SAR E12.

Trat.	AT (cm)	DT (mm)	NH	NR	BSA (g)	BSR (g)	REND (g planta ⁻¹)
T0	184.22 ^a	9.13 ^a	17.00 ^a	6.00 ^a	137.56 ^a	47.60 ^a	1618.28 ^a
TI	126.00 ^b	4.95 ^c	3.28 ^c	2.00 ^c	30.64 ^c	7.00 ^b	473.24 ^c
TCI	110.00 ^b	5.70 ^{bc}	7.24 ^b	3.00 ^b	56.40 ^b	14.30 ^b	482.09 ^c
TX	161.67 ^{ab}	5.94 ^b	9.63 ^b	4.00 ^b	58.80 ^b	14.78 ^b	1045.40 ^b

Medias con diferente letra por columna son estadísticamente diferentes (LSD Fisher, $p \leq 0.05$). Trat.: tratamiento, T0: Testigo absoluto, TI: testigo infectado, TCI: testigo comercial infectado y TX: tratamiento con aplicación de SAR E12. AT: altura, DT: diámetro de tallo; NH: número de hojas; NR: número de racimos; BSA: biomasa aérea; BSR: biomasa radical y REND: rendimiento.

Los resultados anteriores se ven influenciados por la aplicación de tratamientos con presencia de *FO*, tal como lo mencionan Srinivas *et al.* (2019), destacando que la interacción huésped-patógeno afecta el desarrollo de las plantas por la presencia de síntomas característicos de marchitez. Sin embargo, a lo largo del ciclo del cultivo, se observó que la estimulación por la aplicación del extracto de SAR E12 propició interactuar con el metabolismo de las plantas al permitir una mejor disponibilidad de compuestos bioactivos que se vio reflejado en la AT, DT, NH, NR y rendimiento del cultivo. Estudios previos muestran que la aplicación de extractos de algas pardas se pueden utilizar como suplementos nutricionales y como una alternativa ante los productos químicos (Rouphael y Colla, 2020). En este tenor, Sutharsan *et al.* (2016) con la aplicación foliar de *S. crassifolium* lograron enriquecer el contenido de nutrientes de las plantas, además de aumentar su crecimiento, rendimiento y calidad. Así mismo, Ramya *et al.* (2015) con la aplicación foliar de extractos de *Stoechospermum marginatum* en berenjena observaron

mejoría en variables agronómicas, lo que se reflejó en una mayor productividad del cultivo.

Incidencia y severidad en tomate

En la evaluación de incidencia y severidad de la enfermedad se encontraron diferencias estadísticas entre tratamientos a los 99 DDT. Los resultados se muestran en el Cuadro 9, donde se observa que el TX mostró una reducción de la incidencia de la enfermedad un 12% en comparación con el TI, lo que indicó que las plantas de este tratamiento contaban con hojas viejas muertas y hojas jóvenes con crecimiento detenido. En cuanto a la severidad, se mostraron variaciones a lo largo de las aplicaciones, mostrando que el TX logró evitar la muerte total de las plantas, con lo que se comprueba que con la aplicación de extractos de *SAR* se promueve la inducción de resistencia a estrés por *FO*. El efecto anterior se puede correlacionar con la presencia de componentes promotores del crecimiento presentes en las algas como micro y macronutrientes y compuestos nitrogenados (betaínas) y reguladores del crecimiento de las plantas como brasinoesteroles, citoquininas y auxinas, que permiten bioestimular el desarrollo de las plantas logrando mitigar el estrés biótico (Khedia *et al.*, 2020). Al respecto, Chrysargyris *et al.* (2020) señalan que la dosis, el modo y secuencia de aplicaciones, y el tipo de cultivo, definen el éxito del extracto (Rouphael y Colla, 2020). En este tenor, Jayaraman *et al.* (2011) lograron inducir la resistencia sobre *FO* en la evaluación de un extracto comercial de *A. nodosum* en pepino. En cuanto al T0, presentó los mejores resultados al desarrollarse en ausencia de infección. El TI y TCI fueron estadísticamente iguales, en su mayoría con plantas muertas.

Cuadro 9. Incidencia y severidad de síntomas en plantas de tomate infectadas con *FO* en la Etapa III de acuerdo a la escala propuesta por Diener y Ausubel (2005).

Trat	Incidencia (%)	Severidad
T0	0.00 ^a	5.00 ^a
TI	100 ^c	0.00 ^c
TCI	98.40 ^{bc}	0.08 ^c
TX	88.00 ^b	0.60 ^b

Medias con diferente letra por columna son estadísticamente diferentes (LSD Fisher, $p \leq 0.05$). T0: Testigo absoluto, TI: testigo infectado, TCI: testigo comercial infectado y TX: tratamiento con aplicación del extracto *SAR* E12.

ETAPA IV) Análisis de variables bioquímicas, actividad enzimática y expresión génica

Determinación de calidad de fruto

Las variables de calidad en fruto de tomate evaluadas en la Etapa III se muestran en el Cuadro 10. En el peso de frutos (PFT) el T0 obtuvo frutos con valores de 128 g fruto⁻¹, el TX presentó un incremento del 88.31 %, respecto al TI que presentó un promedio de 59.67 g fruto⁻¹. Ali *et al.* (2016) con la aplicación foliar del extracto de *A. nodosum* observaron un incremento del 51 % en el peso de frutos de tomate. En las dimensiones de los frutos se observaron los mayores valores en el T0 en diámetro polar (DP) y diámetro ecuatorial (DE) de 75.70 y 52.80 mm, respectivamente. El TX presentó frutos similares al T0 con dimensiones de 75.3 de DP y 48.68 de DE. La NMX-FF-031-1997 (SCFI, 1998), establece que los frutos con un diámetro polar entre 59 y 71 mm son clasificados como de calidad aceptable, por lo que los frutos cosechados en el experimento corresponden a esta calidad. En tanto a la evaluación de firmeza de los frutos (FF) no se observaron diferencias significativas entre el T0, TCI y TX, sin embargo, el TI presentó los valores más bajos de firmeza con un promedio de 2.37 kg cm⁻². García Enciso *et al.* (2018) observaron un fenómeno similar al encontrar pérdida de firmeza en frutos cosechados de plantas de tomate inoculadas con *FO* en consecuencia a la deshidratación en la planta por desarrollo de la enfermedad. Algunos autores correlacionan la firmeza con una extensión de características organolépticas, lo que permite una vida útil más larga después de la cosecha (Pérez-madruga *et al.*, 2020).

En el contenido de sólidos solubles totales (SST) se encontraron diferencias significativas respecto al T0, observando un incremento del 14.13% en el TX, respecto al TI, lo cual pudiera relacionarse con una reducción en el transporte de fotoasimilados en el fruto, lo que redujo el contenido de los SST. El TCI y TX fueron similares al T0 con valores de 5.00 y 5.33, respectivamente. Al respecto Carrari *et al.* (2007) mencionaron que el contenido de SST incrementa con la maduración así como la acumulación de azúcares, debido a la biosíntesis de azúcares simples por la degradación de los polisacáridos de reservas y estructurales (almidón, celulosa y otros). Frioni *et al.* (2018) mencionan que al realizar la aplicación de un extracto líquido a base de *A. nodosum* en el cultivo de vid se incrementó su concentración 2.2 ° Brix que control, ideal para la producción vinícola. Así

mismo, en la aplicación de un extracto comercial de algas marinas se mejoró el contenido de SST, la fructosa y la sacarosa de las fresas, que son compuestos relacionados con el sabor de la fresa (Kapur *et al.*, 2018).

En el pH, el TX y TCI no presentaron diferencias entre sí, con valores de 4.19 y 4.24, respectivamente. Nuez (2001) describen un rango ideal de pH en jugo de tomate de 4.0 a 4.5 para evitar el desarrollo de bacterias, el cual coincide con los valores obtenidos. En cuanto a la conductividad eléctrica (CE) el TCI presentó los valores más altos con un promedio 1,786 ms cm⁻¹. EL T0 y TI fueron similares al tratamiento TX con valores de 1,124.67 y 1,554.67 ms cm⁻¹, respectivamente. La presencia del patógeno y la aplicación de los tratamientos indujeron cambios en los parámetros de calidad de fruto evaluados, los resultados obtenidos indican que existe una estrecha relación entre el extracto de algas de SAR E12 aplicado, la respuesta de las plantas de tomate al crecimiento y la calidad del fruto, cuestión que podría estar relacionada con el efecto bioestimulante, de estas sustancias orgánicas en este cultivo.

Cuadro 10. Efecto de la aplicación de extracto de SAR E12 en la calidad de frutos de tomate.

Trat.	PFT (g)	DP (mm)	DE (mm)	FF (kg cm⁻²)	SST (%)	pH	CE (ms cm⁻¹)
T0	128.00 ^a	75.70 ^a	52.80 ^a	5.82 ^a	6.67 ^a	4.41 ^a	1124.67 ^{ab}
TI	59.67 ^c	57.00 ^b	40.44 ^c	2.37 ^b	4.67 ^b	3.69 ^b	1554.67 ^{ab}
TCI	84.67 ^{bc}	70.17 ^a	44.29 ^{bc}	5.32 ^a	5.00 ^{ab}	4.24 ^{ab}	1786.00 ^a
TX	112.33 ^{ab}	75.32 ^a	48.68 ^{ab}	4.93 ^a	5.33 ^{ab}	4.19 ^{ab}	907.67 ^b

Medias con diferente letra por columna son estadísticamente diferentes (LSD Fisher, $p \leq 0.05$). T0: Testigo absoluto, TI: testigo infectado, TCI: testigo comercial infectado y TX: tratamiento con aplicación del extracto SAR E12. PFT: peso por frutos, DP: diámetro polar, DE: diámetro ecuatorial, FF: firmeza de frutos, SST: sólidos solubles totales, pH: potencial de hidrogeno y CE: conductividad eléctrica.

Vitamina C

La vitamina C (ácido ascórbico) se encuentra principalmente en las frutas y disminuye dependiendo del grado de madurez; por lo que la fruta al madurar pierde gran parte de su contenido (Minutolo *et al.*, 2020). Debido a su sensibilidad, a menudo se utiliza como indicador de la gravedad del daño postcosecha de la fruta (Martínez-González *et al.*, 2017). En la Figura 12, se observan los resultados del contenido de vitamina C, en el TI se observó una reducción del contenido de vitamina C debido al estrés ocasionado por el patógeno que promovió la síntesis de ROS, que a su vez fue reducida al agotar este antioxidante orgánico. El contenido de ácido ascórbico en los tratamientos evaluados se concentró en un rango de 2.81 a 7.15 g kg⁻¹, donde el T0 presentó los valores más altos, seguido del TX con un promedio de 7.07 g kg⁻¹. Los valores obtenidos en este estudio están en acuerdo con los obtenidos por Ali *et al.* (2016) en la evaluación de la aplicación foliar de un extracto de *A. nodosum* donde mostraron incremento de vitamina C en frutos de tomate. Así mismo, Trejo-Valencia *et al.* (2018) en el estudio de *Macrocystis pyrifera* observaron un aumento significativo de la capacidad antioxidante, los fenoles totales y el contenido de vitamina C en pepinos respecto al testigo absoluto. En este sentido, el incremento en la concentración de vitamina C en frutos se relaciona a un mejor valor nutricional debido a que al consumirse reduce la sobreproducción de radicales libres en las células, el riesgo de enfermedades cardiovasculares y cáncer (Minutolo *et al.*, 2020).

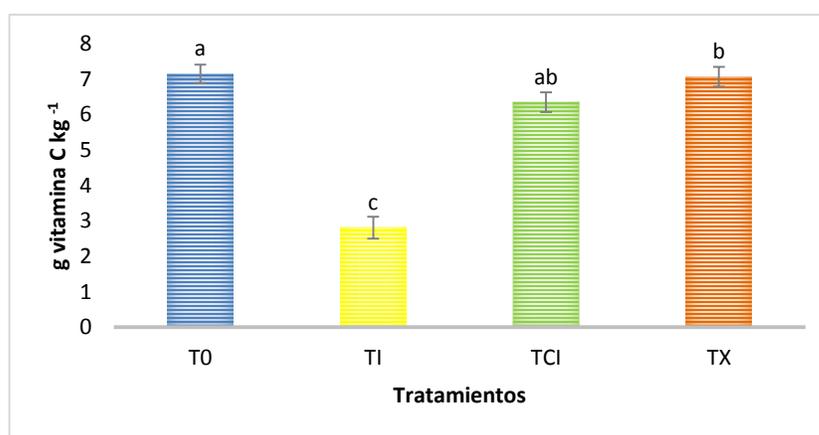


Figura 12. Efecto de la aplicación del extracto de SAR E12 sobre el contenido de vitamina C en frutos de tomate sometidos a estrés biótico por *FO*. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (LSD, $p \leq 0.05$). T0: Testigo absoluto, TI: testigo infectado, TCI: testigo comercial infectado y TX: tratamiento con aplicación de extracto de SAR E12.

Fenoles totales (FT)

Para el caso de FT se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos (Figura 13). Las plantas tratadas con el extracto de SAR E12 produjeron frutos con un contenido de FT igual al T0 con un promedio de 6.14 g EQ ac. gálico kg⁻¹. Este fenómeno se puede atribuir a la interacción planta-patógeno que promueve la acumulación de compuestos fenólicos que inactivan enzimas fúngicas y fortalecen los componentes estructurales de la planta (Lanubile *et al.*, 2017). Además, la aplicación de SAR podría contrarrestar los efectos adversos al estrés debido a que se ha documentado que tiene altas concentraciones de compuestos fenólicos (Cotas *et al.*, 2020). Los beneficios de los extractos de algas sobre el valor nutricional de los frutos se relaciona a la presencia de hormonas y compuestos bioactivos presentes en ellas (Rouphael y Colla, 2020). Al respecto, Flores *et al.* (2021) en el estudio del extracto de *L. japonica* y trilinoleína observaron un incremento en el contenido de glucosinolatos y compuestos fenólicos en brócoli. Por otro lado, Oliveira *et al.* (2019) en el estudio del efecto de compuestos fenólicos encontraron una relación entre el contenido de fenoles y la acción nematocida en plantas de tomate. Así mismo, el TCI fue similar al T0 y TX con valores de 5.33 EQ ác. gálico kg⁻¹.

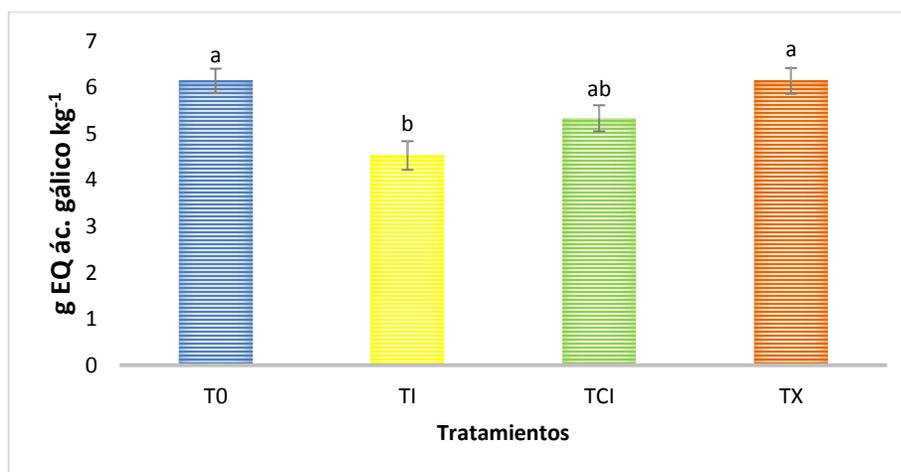


Figura 13. Fenoles totales presentes en frutos de tomate tratados con extracto de SAR e inoculados con *FO*. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (LSD, $p \leq 0.05$). T0: Testigo absoluto, TI: testigo infectado, TCI: testigo comercial infectado y TX: tratamiento con aplicación de SAR E12.

Licopeno

En la Figura 14 se observan los resultados del contenido de licopeno en frutos de tomate tratados con el extracto de *SAR* e inoculados con *FO*. El testigo absoluto produjo los frutos con mayor contenido de licopeno con valores de $113.25 \text{ mg kg}^{-1}$. Lo anterior coincide con Goisser *et al.* (2020) en el estudio del contenido de licopeno en diferentes estados de maduración, quienes encontraron valores de $118.63 \text{ mg kg}^{-1}$ en frutos rojos a la cosecha. El TCI y TX fueron iguales estadísticamente tanto a T0 como TI con un promedio de 97.77 y 91.65 mg kg^{-1} , respectivamente. Se ha demostrado que, por su acción antioxidante, el licopeno aumenta los niveles de glutatión y las actividades de las enzimas antioxidantes que a su vez protegen el ADN, los lípidos y otras macromoléculas (Anlar y Bacanlı 2020). De acuerdo con Khedia *et al.* (2020) las macroalgas, en especial las pardas, son ampliamente reconocidos por sus propiedades bioestimulantes que provocan mejora en el desarrollo de las plantas, y por consiguiente, con frutos de mayor calidad. Al respecto, Colla *et al.* (2017) en la aplicación foliar del extracto de *Ecklonia maxima* no observaron diferencias significativas en el contenido de licopeno en frutos de tomate respecto al testigo absoluto con valores de 300 mg kg^{-1} en peso fresco.

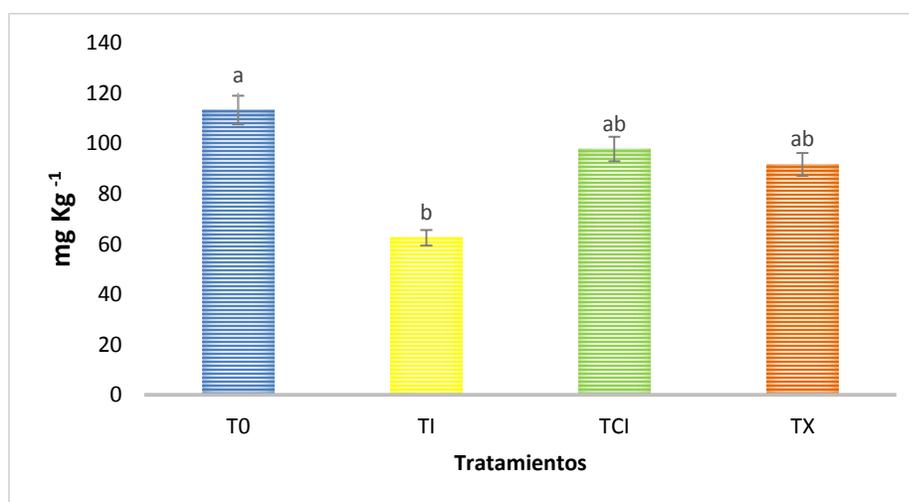


Figura 14. Efecto de la aplicación de extracto de *SAR* inoculado con *FO* en el contenido de licopeno en frutos tomate. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (LSD, $p \leq 0.05$). T0: Testigo absoluto, TI: testigo infectado, TCI: testigo comercial infectado y TX: tratamiento con aplicación del extracto de *SAR* E12.

Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante es un parámetro que define la calidad funcional de los vegetales y se relaciona con el efecto sinérgico de múltiples antioxidantes de bajo peso molecular como la vitamina C y compuestos fenólicos (Colonna *et al.*, 2016). En este estudio, la capacidad antioxidante en frutos de tomate mostró un rango de valores de 0.37 y 0.67 mM TEAC en TI y T0, respectivamente. Los tratamientos T0, TCI y TX no presentaron diferencias estadísticas entre sí; dicho efecto fue influenciado por la aplicación del extracto de SAR que pudo mitigar los efectos adversos ocasionados por FO e inducir a la planta a la activación de biosíntesis y el recambio de antioxidantes en tejidos vegetales (Cotas *et al.*, 2020). En este sentido, Vasantharaja *et al.* (2019) demostraron que con aplicaciones de extractos de *S. swartzii* al 3% se logra un incremento de la capacidad antioxidante en frijol. Algunos estudios demuestran que la aplicación de extractos de algas pardas tienen más influencia en el metabolismo de las plantas, como los antioxidantes, las proteínas solubles totales, los fenoles totales y los flavonoides (Battacharyya *et al.*, 2015). La acumulación de compuestos antioxidantes podría atribuirse a efectos directos de los compuestos bioactivos presentes en las algas, así como lo describe Vilcanqui *et al.* (2021) en la evaluación de compuestos con capacidad antioxidante presentes en alga pardas con un rango de 440 a 680 mg TEAC g⁻¹ de peso seco.

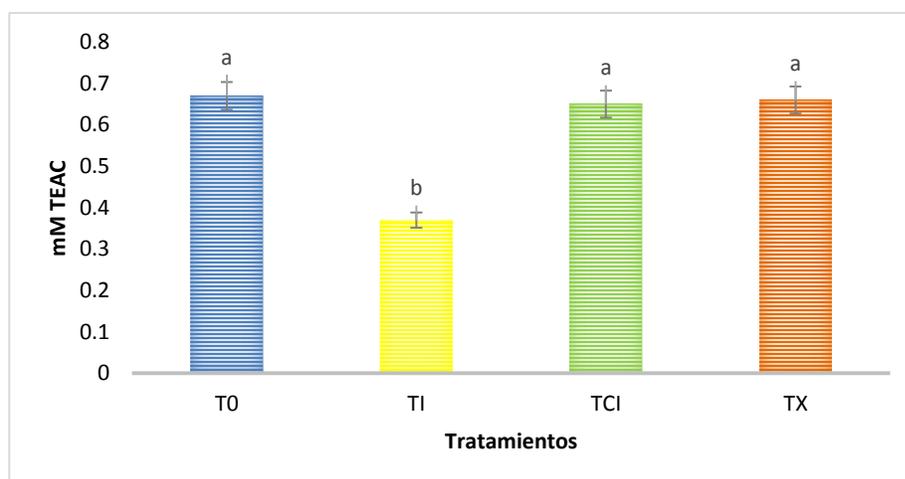


Figura 15. Efecto de la aplicación de extracto de SAR e inoculados con FO en la actividad antioxidante de frutos de tomate. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (LSD, $p \leq 0.05$). T0: Testigo absoluto, TI: testigo infectado, TCI: testigo comercial infectado y TX: tratamiento con aplicación del extracto de SAR E12.

Variables relacionadas a tolerancia a estrés en hojas

Actividad enzimática de PAL, quitinasa y β 1-3 glucanasa

Las plantas están adaptadas para responder a diversas condiciones de estrés biótico, activando cambios moleculares, morfológicos y fisiológicos específicos para minimizar el daño (González-Morales *et al.*, 2018). En la actividad enzimática de la enzima PAL (Figura 16) a los 18 y 27 DDT no se observaron diferencias significativas entre tratamientos; sin embargo, se observó un incremento del 130.15% en el TCI respecto al T0 a los 18 DDT, lo que sugiere que la aplicación del TCI activó la enzima PAL en etapa de plántula, ya que este muestreo se realizó a las 24 h después de la segunda aplicación de tratamientos. El T0 expresó la mayor actividad enzimática a los 38 DTT respecto a TI, TCI y TX con valores de $0.95 \text{ U g}^{-1} \text{ PT}$. Algunos autores describen que la actividad enzimática de PAL se induce durante las primeras etapas de la interacción planta-patógeno y disminuye con el tiempo; sin embargo, ésta se puede alterar también por la aplicación de inductores en condiciones de estrés (Srinivas *et al.*, 2019; Melo *et al.*, 2020). Al respecto, en la aplicación del extracto de SAR (TX) se observó una influencia en la activación de PAL a los 87 DTT con un incremento del 56.52% respecto a T0 y un 64.55% respecto a TCI. Este fenómeno coincide con lo que observaron Ramkissoon *et al.* (2017) en la inducción de resistencia en plantas de tomate a *Alternaria solani* y *Xanthomonas campestris* con la aplicación del extracto de *S. filipendula*, registrando un aumento significativo a las 48 h, que luego comenzó a estabilizarse entre las 72 y 96 h la enzima PAL. Así mismo, de Melo *et al.* (2020) en la evaluación del extracto comercial BKPSGII® a base de *K. alvarezii* y *Sargassum* sp. en plantas de tomate inoculadas con *FO*, encontraron que se promueve la actividad de enzima PAL a partir de los 5 días después de interacción planta-hospedero. Jayaraj *et al.* (2008) estudiaron la aplicación del extracto de *A. nodosum* en el cultivo de zanahoria para inducir resistencia a *A. radicina* y *B. cinerea* incrementando la síntesis de la enzima PAL a las 96 h de aplicación. Kong (2015) mencionan que la PAL es la enzima clave en la ruta de los fenilpropanoides, que sintetiza compuestos tales como fitoalexinas y lignina, que da a las paredes de las células vegetales mayor resistencia a la penetración de patógenos. A su vez, genera concentración de fenoles en plantas, lo que contribuye a la resistencia a las enfermedades (Vidhyasekaran, 2007).

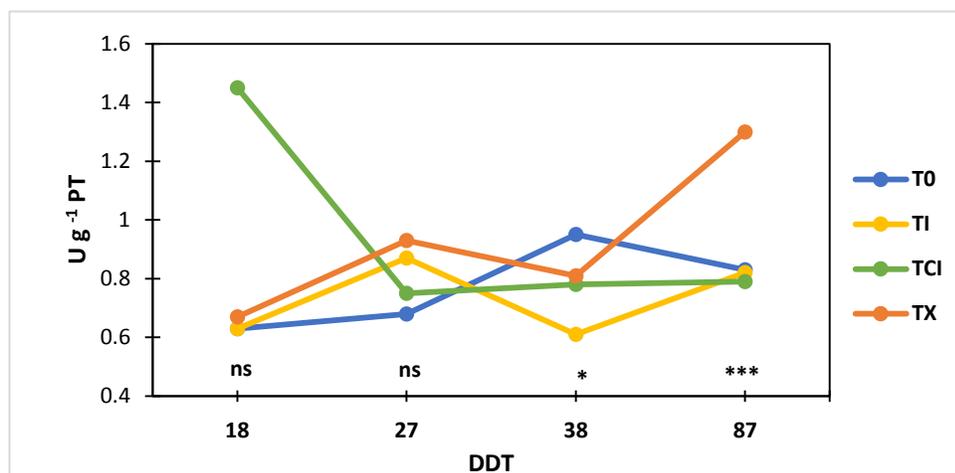


Figura 16. Cinética enzimática de PAL, evaluada en muestras de hoja de plantas de tomate con la aplicación de extracto de *SAR* e inoculación con *FO*.

Los mecanismos de defensa de las plantas al estrés biótico son impredecibles, la familia de proteínas PR juegan un papel importante en la resistencia a las enfermedades causadas por hongos debido a la síntesis de compuestos que inhiben el crecimiento micelial de algunos hongos fitopatógenos y activa mecanismos de defensa en las plantas (Battacharyya *et al.*, 2015). Entre las que se encuentran la quitinasa (PR3) y la β -1,3-glucanasa (PR2), éstas son dos grupos de enzimas hidrolíticas que abundan en diferentes especies de plantas, y se acumulan después de la infección por diferentes hongos fitopatógenos (Inui *et al.*, 1997). En este sentido, en la Figura 17 se puede apreciar la actividad de la enzima quitinasa observando diferencias en los muestreos evaluados. El T0 mantuvo valores bajos de actividad quitinasa a lo largo del análisis. En las plantas de tomate tratadas con extractos de algas TCI y TX se observó que los valores de la actividad enzimática fueron superiores significativamente a los correspondientes al testigo absoluto (T0), a los 18 DDT el TCI y TX incrementaron su actividad un 14.97% y un 76.17% respecto a T0, muestreo que se realizó a las 24 h después de la segunda aplicación de los tratamientos. En el M2 (27 DDT), el extracto de *SAR* incrementó su actividad un 107.67% y un 100% en T0 y TI, respectivamente; este comportamiento se relaciona al tiempo de muestreo que fue a los 5 días después de inoculación del patógeno. Tal como lo observaron Reyes-Zambrano *et al.* (2020) en el estudio de la infección por *FO* se incrementa la actividad quitinasa en un tiempo corto de exposición. Por otro lado, un fenómeno interesante sucedió a los 38 DDT, donde se observó una reducción de su actividad de un 11.01% respecto al testigo infectado.

En el M4 cuando el cultivo estaba en producción (87 DDT) se observó la misma tendencia en TCI, TI y TX, este último tratamiento incrementó su actividad un 45.73% respecto al T0. Este comportamiento confirma que la enzima quitinasa en las plantas de tomate puede ser estimulada después de la aplicación del extracto de SAR y después de la inoculación por el hongo *FO*. Algunos autores señalan que los efectos de la incidencia de *FO* en las plantas promueve la activación de quitinasa; sin embargo, puede superar las defensas de la planta llevándola hasta su muerte (Longoria-Espinoza *et al.*, 2020; Reyes-Zambrano *et al.*, 2020). Rodríguez Pedroso *et al.* (2006) en el estudio de inducción de resistencia en plantas de arroz observaron que la cinética de quitinasa tiene un crecimiento exponencial a través del tiempo debido a la aplicación de un elicitador y la interacción planta-patógeno.

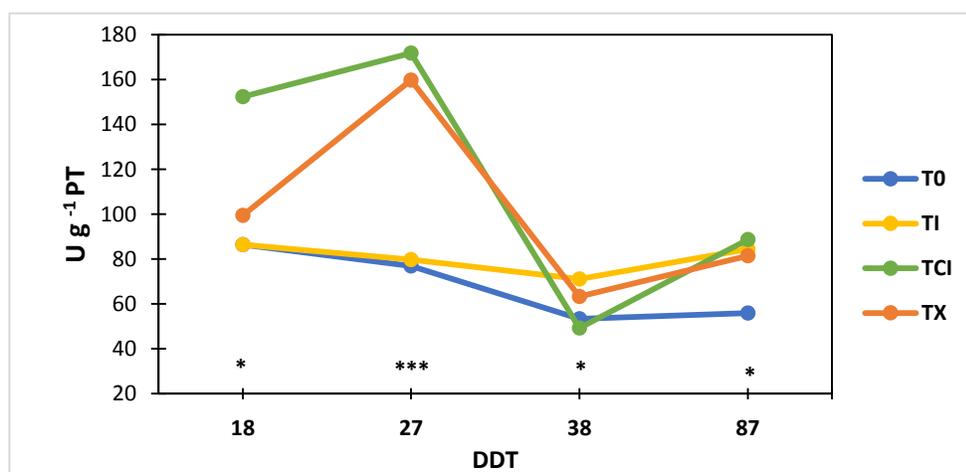


Figura 17. Cinética enzimática de Quitinasa, evaluada en muestras de hoja de plantas de tomate con la aplicación de extracto de SAR e inoculación con *FO*.

La β -1,3-glucanasa se conoce como la enzima lítica que se expresa coordinadamente con la quitinasa después de la infección por hongos en plantas y actúa en los compuestos de la pared celular de los hongos, principalmente quitina y glucano, además activa la resistencia sistémica inducida (RSA) inhibiendo el crecimiento de los hongos (Durrant y Dong, 2004; Shanmugam y Kanoujia, 2011). La cinética enzimática de β -1,3-glucanasa se presenta en la Figura 18, en la cual se observan diferencias significativas a los 38 y 87 DDT. El T0 mostró en ausencia de estrés los valores más bajos de actividad β -1,3-glucanasa. En el muestreo tres que fue a las 24 h después de la cuarta aplicación de los tratamientos, el TI, TCI y TX mostraron la misma tendencia de crecimiento, donde la aplicación de SAR incrementó su actividad un 77.22% respecto al testigo absoluto. A los

87 DDT durante la producción del cultivo, se observaron diferencias altamente significativas entre tratamientos. El TX expresó la mayor actividad enzimática incrementando 3.16 veces, respecto al T0. El TI y TCI mostraron la misma tendencia de crecimiento aumentando un 2.19 y 1.82 veces, respectivamente. Este fenómeno coincide con lo reportado por de Melo *et al.* (2020) en la evaluación de la inducción de resistencia a *FO* en plantas de tomate con la aplicación de productos a base de algas, que no fueron eficientes en la respuesta rápida; sin embargo, la actividad β -1,3-glucanasa se mantiene en los tratamientos ensayados a los 10 días después de la inoculación. Por otro lado, Ali *et al.* (2019) en la evaluación de inducción de resistencia a *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* y *A. solani* con aplicación de un producto comercial Stimplex® a base de *A. nodosum* en tomate y pimiento dulce observaron que a las 24 h después de aplicación se generó la mayor actividad glucanasa, reduciendo a través del tiempo. El aumento de la actividad quitinasa y β -1,3-glucanasa por diferentes hongos se ha reportado en diversas especies de plantas tales como tomate, melón y limón (Reyes-Zambrano *et al.*, 2020). Las enzimas evaluadas desempeñan un papel fundamental en la inducción de defensa a patógenos en las plantas (Jayaraj *et al.*, 2008). Los resultados obtenidos en la presente investigación sugieren que, en plantas de tomate la actividad quitinasa y β -1,3 glucanasa actúan como mecanismo de defensa durante la infección de *FO*; sin embargo, el incremento de estas enzimas no es suficiente para impedir la colonización de raíces en esta especie. Los efectos directos de los compuestos bioestimulantes comprenden la estimulación de las actividades enzimáticas implicadas en la glucólisis, el ciclo de Krebs y la asimilación de nitratos, así como las actividades hormonales (Battacharyya *et al.*, 2015). Estudios recientes han demostrado la capacidad de los extractos de algas marinas para promover la respuesta inmunitaria en las plantas y que los componentes específicos de dichos extractos pueden promover diversas facetas de la inmunidad de las plantas (Rouphael y Colla, 2020). La aplicación de extractos a partir de algas marinas posee altos niveles de compuestos bioactivos entre los que destacan los polisacáridos como laminarina y fucoidán, oligosacáridos, carotenoides, betaínas, osmoprotectores, citoquininas, esteroides, aminoácidos, fenoles y taninos (Ramkissoon *et al.*, 2017). De acuerdo con Hernández-Herrera *et al.* (2018), los extractos de algas aumentan la actividad de defensa de enzimas e inhibidores de proteinasas y la expresión de genes relacionados

con la defensa debido a su riqueza de compuestos en la alteración de su metabolismo. En este sentido, Mercier *et al.* (2001) demostraron que los polisacáridos de las algas, en específico laminarina y carragenanos, inducen la expresión de genes de señalización y defensa en las hojas de tabaco. Las algas pardas como lo es *Sargassum* spp., contienen más de un 30% de compuestos bioactivos en su biomasa seca, de los cuales la laminarina y los fucanos sulfatados pueden provocar múltiples respuestas de defensa; los carragenanos son inductores eficaces de las respuestas de defensa y los oligosacáridos actúan como moléculas inductoras y de transducción de señales en las plantas (Jayaraman *et al.*, 2011; Ali *et al.*, 2021;). Sin embargo, no se determinó qué polisacárido extraído de esta alga fue determinante para promover el proceso de inducción de resistencia.

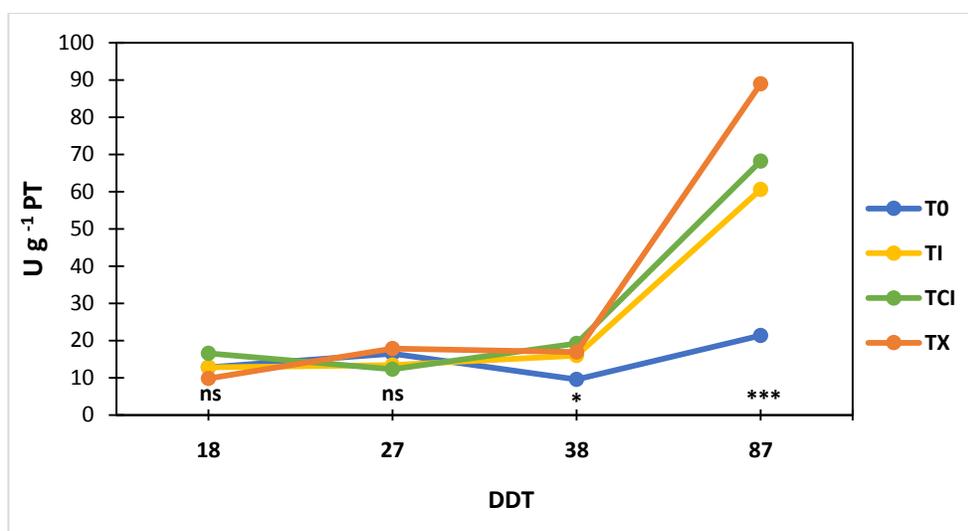


Figura 18. Cinética enzimática de β 1-3 Glucanasa evaluada en muestras de hoja de plantas de tomate con la aplicación de extracto de SAR e inoculación con FO.

Pigmentos fotosintéticos

La concentración de pigmentos fotosintéticos en las hojas de las plantas de tomate tratadas con extractos de algas pardas e inoculadas con FO se muestra en la Figura 19. A los 5 días después de la inoculación (27 DDT) se observaron diferencias significativas entre tratamientos. El testigo absoluto (T0) presentó los resultados más altos con valores de 6.14, 2.49 y 8.42 mg g⁻¹, en Ch a, Ch b y C total, respectivamente. En cuanto al TI no mostró diferencias significativas en Ch a, respecto al T0, en la Ch b se observó una tendencia similar a los tratamientos T0, TCI y TX, además, en el contenido de carotenoides presentó los valores más altos, y en la C total fue el segundo mejor grupo

estadístico. En la aplicación del extracto de algas (TX) y el producto comercial (TCI) se observó una reducción generalizada de sus valores de Ch a, Ch b y C total, lo cual se puede atribuir a la interacción planta-patógeno (Figura 17-A). En este sentido, Zhao *et al.* (2009) encontraron efectos negativos en el contenido de clorofila, la tasa fotosintética neta, la tasa de transpiración y la conductancia estomática en el cultivo de fresa inoculado con *FO*.

En cuanto a los muestreos realizados a los 37 y 87 DDT (Figura 17, B-C) no se observaron diferencias significativas entre tratamientos en Ch a, Ch b y C total; sin embargo, en el contenido de carotenoides se observó un fenómeno interesante en la aplicación del extracto de algas (TX) y el producto comercial (TCI), los cuales incrementaron su contenido comparado con el T0 un 46 y 54% en TX y TCI, respectivamente, a los 37 DDT y un 69 y 50% en TX y TCI, respectivamente, a los 87 DDT. Así mismo, Sariñana-Aldaco *et al.* (2021) en el estudio del crecimiento de plántulas de tomate tratadas con extractos de *Sargassum* spp. observaron un incremento del 100% en el contenido de carotenoides con la aplicación de un extracto producido bajo las mismas condiciones de este estudio. Mientras que Ali *et al.* (2016) en la aplicación del extracto de *A. nodosum* en plantas de tomate se incrementó un 18% los niveles de clorofila comparado con el control. Así mismo, Zermeño-González *et al.* (2015) en la aplicación de extractos de *Sargassum* spp. observaron un incremento en la concentración de clorofilas en las hojas en la aplicación foliar en el cultivo de vid. Dichos efectos se pueden atribuir a los compuestos presentes en los extractos de algas que intervienen en capacidad fotosintética de las plantas; en especial, el contenido de nitrógeno, tal como lo mencionan Ahmed y Shalaby (2012) quienes relacionaron el incremento de clorofila a la aplicación de productos a base de algas debido al contenido de nitrógeno, fósforo y potasio, así como a la presencia de algunas fitohormonas.

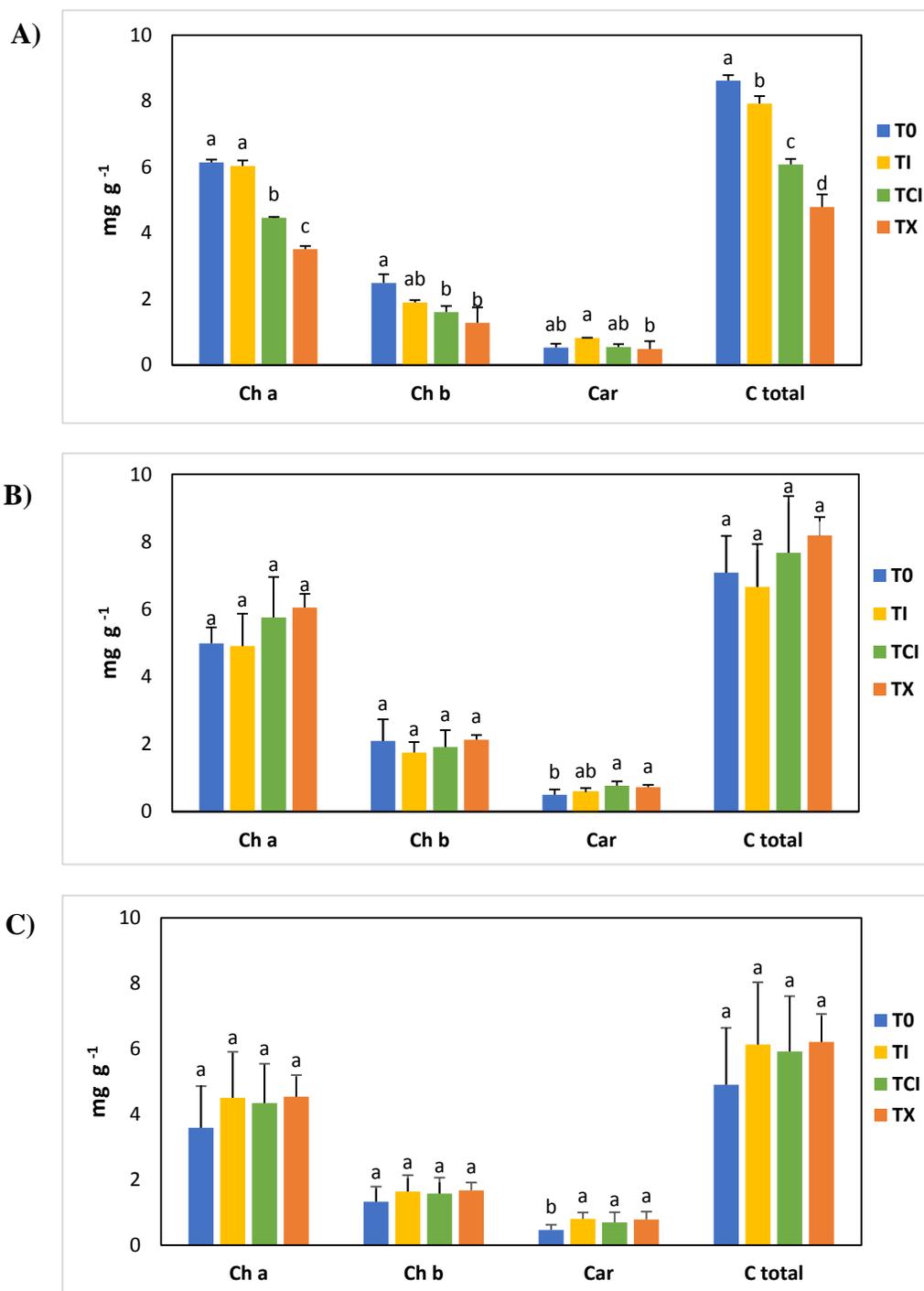


Figura 19. Efecto de la aplicación del extracto de SAR sobre el contenido de clorofilas en plantas de tomate sometidas a estrés por FO a los **A) 27 DDT B) 38 DDT y C) 87 DDT**. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (LSD, $p \leq 0.05$). Ch a: clorofila a, Ch b: clorofila b, C total: clorofila total y Car: Carotenoides.

Expresión relativa de genes de defensa

El mecanismo por el cual el extracto E12 de *Sargassum* spp. induce defensas a la infección por *FO* se examinó midiendo la expresión relativa de los genes NCED, LOX y PR1 relacionados con las respuestas inmunes de las plantas frente al estrés. Los resultados obtenidos en la expresión del gen NCED (Figura 20) no mostraron diferencias significativas entre tratamientos a los 18 y 27 DDT; sin embargo, a las 24 h después de la cuarta aplicación (38 DDT) se observó un incremento en la expresión de 1.08 veces en las plantas tratadas con extracto de *SAR*, respecto al testigo absoluto. Esto sugiere que la expresión del gen NCED en las plantas inoculadas con *FO* y tratadas con *SAR* presentaban daños típicos de la enfermedad, ocasionando un estrés por el impedimento en la traslocación de agua y nutrientes (Silva *et al.*, 2021). Un fenómeno similar fue observado por Agarwal *et al.* (2016) quienes aplicaron extractos de *Kappaphycus alvarezii* y en combinación con el hongo *M. phaseolina* aumentó significativamente la concentración de hormonas ABA, IAA, SA y zeatina, así como la transcripción de genes relacionados con la patogenia en plantas de tomate.

En la aplicación del producto comercial (TCI), las plantas presentaron un comportamiento similar al TX, T0 y TI. La literatura señala que el gen NCED codifica para la enzima dioxigenasa 9-cis-epoxicarotenoide, limitante de la velocidad de la biosíntesis de ABA; sin embargo, es crucial en la respuesta al estrés ya que promueve una respuesta a largo plazo o graduales tal como se observó en este análisis (Schwartz, 1997). Además, en el estrés biótico conduce al cierre estomático para bloquear la entrada de patógenos, participa en la acumulación de calosa para evitar la propagación de patógenos y modula otros sistemas hormonales para desencadenar una respuestas de defensa (Hewage *et al.*, 2020). Sin embargo, existe limitada información que relacione la síntesis de NCED en la mitigación al estrés por patógenos, aunque en este estudio se observó la mayor expresión relativa cuando la infección de *FO* estaba en desarrollo, así como la secuencia de aplicación de *SAR* en las plantas.

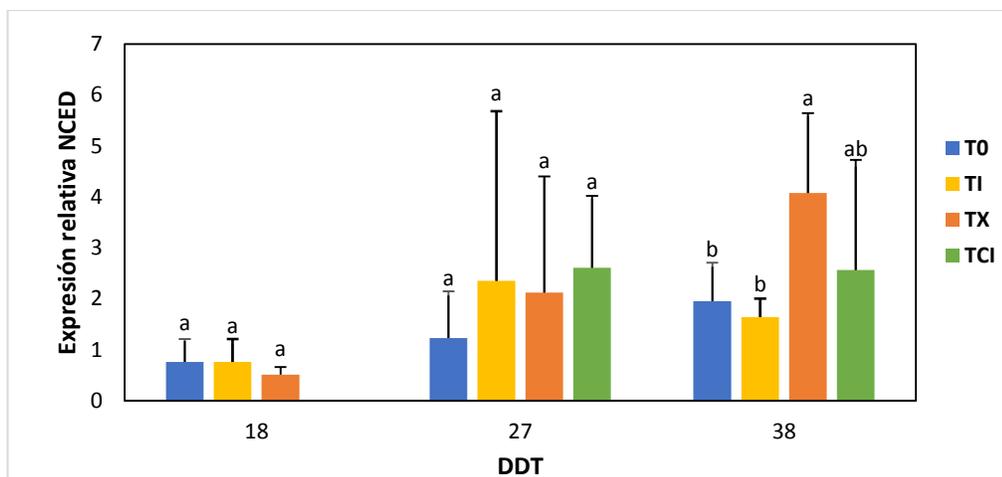


Figura 20. Expresión relativa del gen NCED en hojas de tomate tratadas con extracto de SAR e inoculadas con *FO*, a los 18, 27 y 38 DDT.

En la Figura 21 se observan los resultados de la expresión del gen LOX, el cual no mostró cambios en su expresión a las 24 h después de la segunda aplicación de tratamientos (17 DDT), ni a los 5 días después de la inoculación de *FO* (38 DDT). Beccari *et al.* (2011) observaron el mismo fenómeno en la expresión de LOX, al no ser significativamente diferente a las 24 y 96 h después de la inoculación en raíces de trigo infectadas con *F. culmorum*. Por otro lado, la aplicación de SAR indujo la expresión del gen LOX a los 38 DDT, el cual incrementó 1.02 veces su expresión respecto al testigo absoluto. Este comportamiento fue similar al observado por Jayaraman *et al.* (2011) en la aplicación foliar y drench de un extracto de *A. nodosum* en pepino inoculado con patógenos fúngicos, el cual incrementó los niveles de expresión de LOX en las primeras horas de aplicación respecto al testigo absoluto.

En cuanto a los tratamientos T0, TI y TCI, no mostraron diferencias significativas entre sí con un rango de expresión relativa de 1.37 a 1.52. El gen LOX codifica para la enzima lipoxigenasa, que está involucrada en la biosíntesis del ácido jasmónico, el cual participa en las respuestas de defensa de las plantas a los patógenos necrotróficos (Qi *et al.*, 2016). La vía de señalización del ácido jasmónico promueve la producción de fitotoxinas que regulan la defensa contra patógenos debido a que las oxilipinas derivadas del gen LOX influyen en la patogénesis; además, proporciona una resistencia local adquirida a través de la regulación positiva de los genes (Christensen *et al.*, 2013; Tufan *et al.*, 2017; Anisimova *et al.*, 2021). Lo anterior coincide con Ali *et al.* (2019), quienes en la aplicación

de extractos de *A. nodosum* en tomate y pimiento dulce demostraron que con su aplicación se desencadenaba la señalización mediada por ácido jasmónico que ofrecía protección contra *X. campestris* y *A. solani*. Maschietto *et al.* (2015) observaron la expresión de genes de la vía LOX inducidos después de la inoculación de *F. verticillioides* en líneas de maíz resistente a los 3 y 7 días después de la inoculación, mientras que en la línea de maíz susceptible la inducción se redujo a los 14 después de inoculación. Así mismo, Tufan *et al.* (2017) en el análisis de cebada en respuesta a la infección por *F. culmorum* confirmaron que la expresión del gen LOX está relacionada con la respuesta de defensa del huésped a través de la biosíntesis del ácido jasmónico. Las respuestas de defensa de las plantas de tomate en este experimento se correlacionaron con la infección del patógenos, así como la aplicación de extractos a base de algas, debido a la presencia de compuestos bioactivos que inducen la señalización y la expresión de genes de defensa; sin embargo, para este gen los resultados sugieren que la resistencia en el tomate puede depender de una activación retardada de los genes LOX.

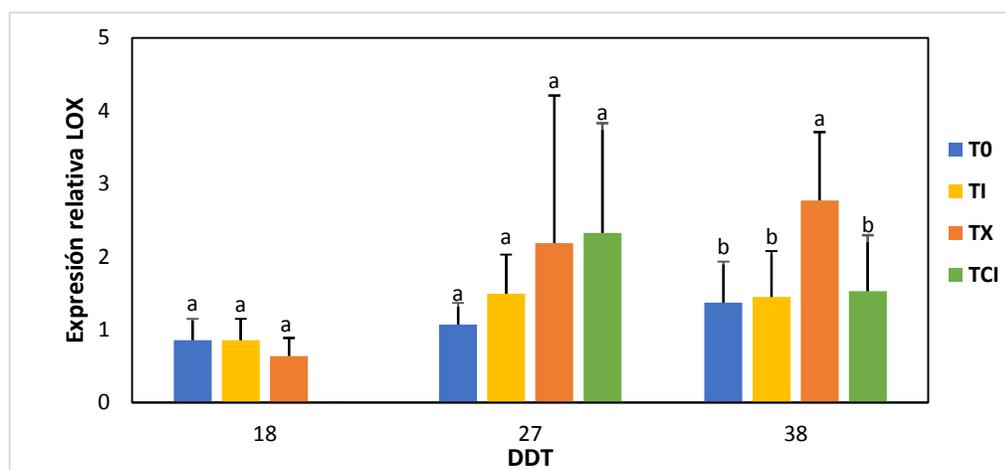


Figura 21. Expresión relativa del gen LOX en hojas de tomate tratadas con extracto de SAR e inoculadas con *FO*, a los 18, 27 y 38 DDT.

En cuanto a la expresión del gen PR1 se observaron diferencias significativas con la aplicación de tratamientos a partir de los 27 DDT (Figura 22). El tratamiento TX aumentó la expresión relativa del gen PR1 a 3.55 y 10.185 veces respecto a T0 y TI a los a los 5 días después de la inoculación (27 DDT). El TCI incrementó 2.15 y 2.71 a las 24 h después de la cuarta aplicación en T0 y TI, respectivamente. Estos resultados coinciden por los reportados por Agarwal *et al.* (2016) en la aplicación extractos de *Kappaphycus*

alvarezii en plantas de tomate inoculadas con *M. phaseolina* mostrando la mayor expresión relativa del gen PR-1b relacionado con la patogenia. Esto sugiere que la aplicación de extractos de algas pardas podría jugar un papel importante en la activación de genes que codifican a la producción de proteínas PR relacionadas con la vía de señalización del ácido salicílico (Vera *et al.*, 2011). Los niveles elevados de ácido salicílico en plantas se asocian con resistencia sistémica adquirida (RSA), y la expresión del gen PR1 se relaciona a una mayor resistencia a patógenos debido a que previene la propagación de la infección a tejidos sanos (Vlot *et al.*, 2009; Anisimova *et al.*, 2021). Lo anterior coincide con lo reportado por Ali *et al.* (2021) en la aplicación de extracto de algas en tomate y pimiento dulce inoculado con *X. campestris* y *A. solani*, donde encontraron que con la aplicación de *S. vulgare* a las 48 h se desencadena defensa mediada por la vía de señalización del PR-1a. Por el contrario, Ramkissoo *et al.* (2017), quienes aplicaron extractos de *Ulva lactuca*, *S. filipendula* y *Gelidium serrulatum* en plantas de tomate inoculadas con *A. solani* y *X. campestris*, encontraron que ningún extracto fue capaz de inducir un aumento significativo en las transcripciones de PR1. De acuerdo con Oñate-Sánchez y Singh, (2002), los extractos de algas pardas pueden afectar la acumulación de SA debido a la presencia de polisacáridos como laminarina, un β -1,3 glucano, lo que marca una pauta para la selección de especies de algas en función de los objetivos, así como las formas de extracción y aplicación. La respuesta inmune de las plantas está estrictamente controlada por una cascada de eventos de señalización, con los resultados obtenidos se sugiere que la interacción planta-patógeno, así como la aplicación de SAR se puede inducir secuencialmente las vías de señalización tanto del ácido salicílico, jasmónico y abscísico, además de incrementar la actividad enzimática de PAL, quitinasa y glucanasa, los cuales resultan ser eficaces para controlar la severidad de la infección ocasionada por FO (Ramkissoo *et al.*, 2017).

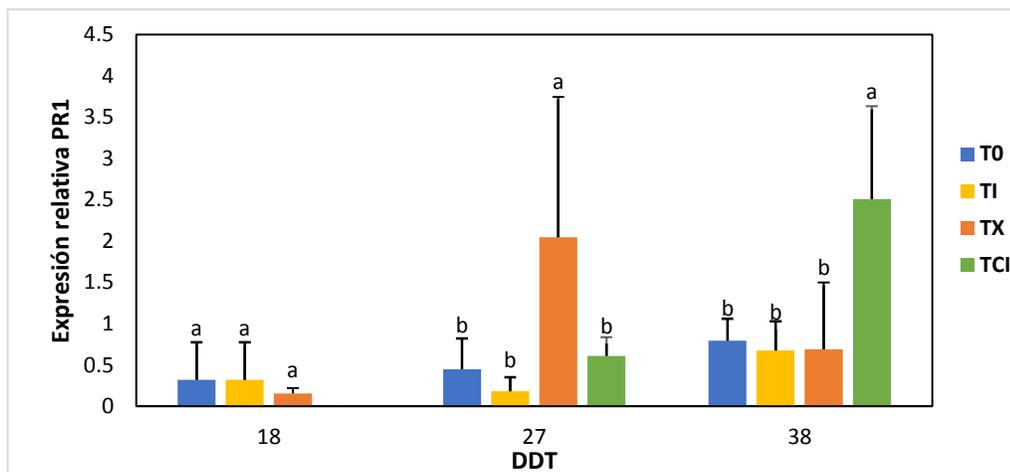


Figura 22. Expresión relativa del gen PR1, en hojas de tomate tratadas con extracto de SAR e inoculadas con *FO*, a los 18, 27 y 38 DDT.

Dado los resultados descritos anteriormente, los análisis realizados mostraron efectos positivos al utilizar extracto de *Sargassum* spp. como bioestimulante en la inducción de tolerancia *Fusarium oxysporum* en el cultivo de tomate, sin embargo, aunque esta macroalga tiene un potencial para ser explotada en el sector agrícola, actualmente la mayoría de los estudios relacionados al uso de extractos de algas como bioestimulantes se han centrado el control de estrés abiótico, siendo la sequía y salinidad los más explorados (González-Morales *et al.*, 2021). Por lo que existe un área de oportunidad para estudiar esta especie para centrar los esfuerzos de la investigación futura en el análisis de los procesos de extracción y purificación del extracto, tipo y frecuencia de aplicación en función de la especie biológica, así como su efectividad en los diferentes tipos de estrés biótico que afectan cultivos de importancia comercial y nutricional en nuestro país.

CONCLUSIONES

En el presente estudio se investigó el efecto de la aplicación de extractos de *Sargassum* spp. sobre la inducción de resistencia a la infección por *Fusarium oxysporum* en el cultivo de tomate evaluado en diferentes etapas, de las cuales se concluyó lo siguiente:

- I. En la prueba preliminar, el extracto E12 induce la mayor resistencia a *F. oxysporum* en base a la presencia de compuestos bioactivos, e incrementa las variables agronómicas, y de incidencia y severidad en etapa de plántula.
- II. En la caracterización del extracto E12 la presencia de compuestos bioactivos a los cuales se les puede atribuir su capacidad antioxidante y fungistática; además de atribuir capacidad de inducción de resistencia en las plantas debido a la presencia de fitohormonas y monosacáridos.
- III. Durante el desarrollo del cultivo, la aplicación del TX infectado por *F. oxysporum* incrementa parámetros relacionados con el vigor de las plantas como altura, diámetro de tallo, número de hojas, biomasa área y radical, además, del rendimiento de las plantas de tomate.
- IV. En el análisis de frutos, la aplicación del TX iguala la calidad nutracéutica del testigo absoluto en términos de fenoles totales y capacidad antioxidante.
- V. La aplicación del extracto incrementa la actividad de PAL, β 1-3 glucanasa y quinasa con la aplicación del TX. Así mismo, incrementa la expresión relativa de los genes PR1, LOX y NCED.

En conclusión general, la aplicación del extracto E12 (TX) es capaz de inducir resistencia a *FO*, al tiempo que incrementa la calidad de sus frutos. Además, representa una alternativa para la formulación de un bioestimulante de origen biológico que mejore la resistencia al estrés biótico en plántulas de tomate como consecuencia de los compuestos bioactivos y de la actividad sinérgica entre la matriz de compuestos químicos que lo integran.

REFERENCIAS

- Abdel-Mawgoud, A.M.R., Tantaway, A.S., Hafez, M.M., Habib, H.A.M., 2010. Seaweed extract improves growth, yield and quality of different watermelon hybrids. *Res. J. Agric. Biol. Sci.* 6, 161–168.
- Abdel-Raouf, N., Al-Homaidan, A., Ibraheem, I.B.M., 2012. Agricultural importance of algae. *African J. Biotechnol.* 11, 11648–11658. <https://doi.org/10.5897/ajb11.3983>
- Agarwal, P., Patel, K., Das, A.K., Ghosh, A., Agarwal, P.K., 2016. Insights into the role of seaweed *Kappaphycus alvarezii* sap towards phytohormone signalling and regulating defence responsive genes in *Lycopersicon esculentum*. *J. Appl. Phycol.* 28, 2529–2537. <https://doi.org/10.1007/s10811-015-0784-1>
- Agrios, G. N. (1996). *Fitopatología* (No. 581.2 632). Uthea,.
- Ahmed, Y.M., Shalaby, E.A., 2012. effect of different seaweed extracts and compost on vegetative growth, yield and fruit quality of cucumber. *J. Hortic. Sci. Ornam. Plants* 4, 235–240. <https://doi.org/10.5829/idosi.jhsop.2012.4.3.252>
- AK, I., Turker, G., 2018. Antioxidant activity of five seaweed extracts. *New Knowl. J. Sci.* 7, 149–155.
- 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. *Mar. Drugs* 9, 2106–2130. <https://doi.org/10.3390/md9102106>
- Ali, M.S., Baek, K.H., 2020. Jasmonic acid signaling pathway in response to abiotic stresses in plants. *Int. J. Mol. Sci.* 21, 621. <https://doi.org/10.3390/ijms21020621>
- Ali, M.Y., Sina, A.A.I., Khandker, S.S., Neesa, L., Tanvir, E.M., Kabir, A., Khalil, M.I., Gan, S.H., 2020. Nutritional composition and bioactive compounds in tomatoes and their impact on human health and disease: A Review. *Foods* 10, 45. <https://doi.org/10.3390/foods10010045>
- Ali, N., Farrell, A., Ramsuhag, A., Jayaraman, J., 2016. The effect of *Ascophyllum nodosum* extract on the growth, yield and fruit quality of tomato grown under tropical conditions. *J. Appl. Phycol.* 28, 1353–1362. <https://doi.org/10.1007/s10811-015-0608-3>
- Ali, O., Ramsuhag, 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. *J. Appl. Phycol.* 33, 639–651. <https://doi.org/10.1007/s10811-020-02309-8>

- Ali, O., Ramsubhag, A., Jayaraman, J., 2019. Biostimulatory activities of *Ascophyllum nodosum* extract in tomato and sweet pepper crops in a tropical environment. PLoS One 14, 1–19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216710>
- Ali, Q., Shehzad, F., Waseem, M., Shahid, S., Hussain, A., Haider, M., Perveen, R., 2020. Plant ecophysiology and adaptation under climate change: Mechanisms and perspectives I: General consequences and plant responses, Plant Ecophysiology and Adaptation under Climate Change: Mechanisms and Perspectives I: General Consequences and Plant Responses. <https://doi.org/10.1007/978-981-15-2156-0>
- 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. Microbiol. Res. 212–213, 29–37. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.04.008>
- Alkharpotly, A.A., Mohamed, R.A., Shehata, M.N., Awad, A.A.M., 2017. Impact of Soil Humic Acid Soil Application and Seaweed Extract Foliar Spray on Growth, Yield, and Fruits Quality of Strawberry Plants Grown under Aswan Conditions. J. Soil Sci. Agric. Eng. 8, 307–315. <https://doi.org/10.21608/jssae.2017.37496>
- Ambika, S., Sujatha, K., 2015. Antifungal activity of aqueous and ethanol extracts of seaweeds against sugarcane red rot pathogen (*Colletotrichum falcatum*). Sci. Res. Essays 10, 232–235. <https://doi.org/10.5897/SRE2015.6198>
- Ammar, N., Jabnoun-Khiareddine, H., Mejdoub-Trabelsi, B., Nefzi, A., Mahjoub, M.A., Daami-Remadi, M., 2017. *Pythium leak* control in potato using aqueous and organic extracts from the brown alga *Sargassum vulgare* (C. Agardh, 1820). Postharvest Biol. Technol. 130, 81–93. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.04.010>
- Andjelković, M., Van Camp, J., De Meulenaer, B., Depaemelaere, G., Socaciu, C., Verloo, M., Verhe, R., 2006. Iron-chelation properties of phenolic acids bearing catechol and galloyl groups. Food Chem. 98, 23–31. Food Chem. 98, 23–31.
- Anisimova, O.K., Shchennikova, A. V., Kochieva, E.Z., Filyushin, M.A., 2021. Pathogenesis-related genes of pr1, pr2, pr4 and pr5 families are involved in the response to *fusarium* infection in garlic (*Allium sativum* L.). Int. J. Mol. Sci. 22, 1–20. <https://doi.org/10.3390/ijms22136688>
- Anlar, HG y Bacanlı, M. (2020). El licopeno como antioxidante en la salud y enfermedades humanas. En Patología (págs. 247-254). Prensa académica.
- Arbeláez, G., 2000. Some aspects of *Fusarium* genus and the *Fusarium oxysporum* species. Agron. Colomb. 17, 11–22.
- Ascencio-álvarez, A., López-Benítez, A., Borrego-Escalante, F., Rodríguez-Herrera, S., Flores-Olivas, A., Jiménez-Díaz, F., Gámez-Vázquez, A., 2008. Marchitez Vascular

- del Tomate: I. Presencia de Razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen en Culiacán, Sinaloa, México. Rev. Mex. Fitopatol. 114–120.
- Audibert, L., Fauchon, M., Blanc, N., Hauchard, D., Ar Gall, E., 2010. Phenolic compounds in the brown seaweed *Ascophyllum nodosum*: Distribution and radical-scavenging activities. Phytochem. Anal. 21, 399–405. <https://doi.org/10.1002/pca.1210>
- Azmir, J., Zaidul, I.S.M., Rahman, M.M., Sharif, K.M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M.H.A., Ghafoor, K., Norulaini, N.A.N., Omar, A.K.M., 2013. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. J. Food Eng. 117, 426–436. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>
- Badar, R., Khan, M., Batool, B., Shabbir, S., 2015. Effects of organic amendments in comparison with chemical fertilizer on cowpea growth. Ijar 1, 66–71.
- Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S., 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food Chem. 99, 191–203. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.042>
- Battacharyya, D., Babgohari, M.Z., Rathor, P., Prithiviraj, B., 2015. Seaweed extracts as biostimulants in horticulture. Sci. Hortic. (Amsterdam). 196, 39–48. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.012>
- Baysal, Ö., Soylu, E.M., Soylu, S., 2003. Induction of defence-related enzymes and resistance by the plant activator acibenzolar-S-methyl in tomato seedlings against bacterial canker caused by *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*. Plant Pathol. 52, 747–753. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2003.00936.x>
- Beccari, G., Covarelli, L., Nicholson, P., 2011. Infection processes and soft wheat response to root rot and crown rot caused by *Fusarium culmorum*. Plant Pathol. 60, 671–684. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2011.02425.x>
- Begum, M., Bordoloi, B.C., Singha, D.D., Ojha, N.J., 2018. Role of seaweed extract on growth, yield and quality of some agricultural crops: A review. Agric. Rev. 39, 321–326. <https://doi.org/10.18805/ag.r-1838>
- 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.
- Bhatnagar-Mathur, P., Vadez, V., Sharma, K.K., 2008. Transgenic approaches for abiotic stress tolerance in plants: Retrospect and prospects. Plant Cell Rep. 27, 411–424. <https://doi.org/10.1007/s00299-007-0474-9>
- Billard, V., Etienne, P., Jannin, L., Garnica, M., Cruz, F., Garcia-Mina, J.M., Yvin, J.C.,

- Ourry, A., 2014. Two Biostimulants derived from algae or humic acid induce similar responses in the mineral content and gene expression of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.). *J. Plant Growth Regul.* 33, 305–316. <https://doi.org/10.1007/s00344-013-9372-2>
- Blancard, D., Laterrod, H., Marchoux, G., & Candresse, T. (2011). Enfermedades del tomate: Identificar, conocer, controlar. Bogolitsyn, K., Dobrodeeva, L., Druzhinina, A., Ovchinnikov, D., Parshina, A., Shulgina, E., 2019. Biological activity of a polyphenolic complex of Arctic brown algae. *J. Appl. Phycol.* 31, 3341–3348. <https://doi.org/10.1007/s10811-019-01840-7>
- Bogolitsyn, K., Dobrodeeva, L., Druzhinina, A., Ovchinnikov, D., Parshina, A., Shulgina, E., 2019. Biological activity of a polyphenolic complex of Arctic brown algae. *J. Appl. Phycol.* 31, 3341–3348. <https://doi.org/10.1007/s10811-019-01840-7>
- 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. *J. Agric. Food Chem.* 61, 10940–10947. <https://doi.org/10.1021/jf4034305>
- Bouissil, S., El Alaoui-Talibi, Z., Pierre, G., Michaud, P., El Modafar, C., Delattre, C., 2020. Use of alginate extracted from Moroccan brown algae to stimulate natural defense in date palm roots. *Molecules* 25. <https://doi.org/10.3390/molecules25030720>
- Bradford, M.M., 1976. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding, in: *Analytical Biochemistry*. pp. 248–254.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Sci. Technol.* 28, 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Breen, S., Williams, S.J., Outram, M., Kobe, B., Solomon, P.S., 2017. Emerging Insights into the Functions of Pathogenesis-Related Protein 1. *Trends Plant Sci.* 22, 871–879. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2017.06.013>
- Brown, R.L., Kazan, K., McGrath, K.C., Maclean, D.J., Manners, J.M., 2003. A role for the GCC-box in jasmonate-mediated activation of the PDF1.2 gene of Arabidopsis. *Plant Physiol.* 132, 1020–1032. <https://doi.org/10.1104/pp.102.017814>
- Bula-Mayer, 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. *Las macroalgas Mar. en la Agron. y el uso potencial del Sargassum Flot. en la Prod. Fertil. en el Arch. San Andrés y Provid. , Colomb.* <https://doi.org/10.21676/23897864.461>

- Bunghez, I.R., Raduly, M., Doncea, S., Aksahin, I., Ion, R.M., 2011. Lycopene determination in tomatoes by different spectral techniques (UV-VIS, FTIR and HPLC). *Dig. J. Nanomater. Biostructures* 6, 1349–1356.
- Cai, G., Gale, L.R., Schneider, R.W., Kistler, H.C., Davis, R.M., Elias, K.S., Miyao, E.M., 2003. Origin of race 3 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* at a single site in California. *Phytopathology* 93, 1014–1022. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2003.93.8.1014>
- Camarena-Gutiérrez, G., & De la Torre-Almaráz, R. (2007). Resistencia sistémica adquirida en plantas: estado actual. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 13(2), 157-162.
- Campos, E.V.R., Proença, P.L.F., Oliveira, J.L., Bakshi, M., Abhilash, P.C., Fraceto, L.F., 2019. Use of botanical insecticides for sustainable agriculture: Future perspectives. *Ecol. Indic.* 105, 483–495. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.04.038>
- Carrari, F., Asis, R., Fernie, A.R., 2007. The metabolic shifts underlying tomato fruit development. *Plant Biotechnol.* 24, 45–55. <https://doi.org/10.5511/plantbiotechnology.24.45>
- Castaño, R., Borrero, C., Trillas, M.I., Avilés, M., 2013. Selection of biological control agents against tomato *Fusarium* wilt and evaluation in greenhouse conditions of two selected agents in three growing media. *BioControl* 58, 105–116. <https://doi.org/10.1007/s10526-012-9465-z>
- Castillo, F., Hernández, D., Gallegos, G., Mendez, M., Rodríguez, R., Reyes, A., Aguilar, C.N., 2010. In vitro antifungal activity of plant extracts obtained with alternative organic solvents against *Rhizoctonia solani* Kühn. *Ind. Crops Prod.* 32, 324–328. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.05.013>
- Cheng, H.M., Koutsidis, G., Lodge, J.K., Ashor, A.W., Siervo, M., Lara, J., 2019. Lycopene and tomato and risk of cardiovascular diseases: A systematic review and meta-analysis of epidemiological evidence. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 59, 141–158. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1362630>
- Christensen, S.A., Nemchenko, A., Borrego, E., Murray, I., Sobhy, I.S., Bosak, L., Deblasio, S., Erb, M., Robert, C.A.M., Vaughn, K.A., Herrfurth, C., Tumlinson, J., Feussner, I., Jackson, D., Turlings, T.C.J., Engelberth, J., Nansen, C., Meeley, R., Kolomiets, M. V., 2013. The maize lipoxygenase, ZmLOX10, mediates green leaf volatile, jasmonate and herbivore-induced plant volatile production for defense against insect attack. *Plant J.* 74, 59–73. <https://doi.org/10.1111/tpj.12101>
- Chrysargyris, A., Charalambous, S., Xylia, P., Litskas, V., Stavrinides, M., Tzortzakis, N., 2020. Assessing the biostimulant effects of a novel plant-based formulation on tomato crop. *Sustainability* 12, 8432. <https://doi.org/10.3390/su12208432>

- Colla, G., Cardarelli, M., Bonini, P., Rouphael, Y., 2017. Foliar applications of protein hydrolysate, plant and seaweed extracts increase yield but differentially modulate fruit quality of greenhouse tomato. *HortScience* 52, 1214–1220. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI12200-17>
- Colonna, E., Rouphael, Y., Barbieri, G., De Pascale, S., 2016. Nutritional quality of ten leafy vegetables harvested at two light intensities. *Food Chem.* 199, 702–710. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.12.068>
- Cotas, J., Leandro, A., Monteiro, P., Pacheco, D., Figueirinha, A., Gonçalves, A.M.M., da Silva, G.J., Pereira, L., 2020. Seaweed Phenolics: From Extraction to Applications. *Mar. Drugs* 18, 384. <https://doi.org/10.3390/md18080384>
- Côté, F., Ham, K.S., Hahn, M.G., Bergmann, C.W., 1998. Oligosaccharide elicitors in host-pathogen interactions. Generation, perception, and signal transduction. *Subcell. Biochem.* 29, 385–432. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-1707-2_13
- De Corato, U., Salimbeni, R., De Pretis, A., Avella, N., Patruno, G., 2017. Antifungal activity of crude extracts from brown and red seaweeds by a supercritical carbon dioxide technique against fruit postharvest fungal diseases. *Postharvest Biol. Technol.* 131, 16–30. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.04.011>
- Delgado-Oramas, B.P., 2020. La resistencia inducida como alternativa para el manejo de plagas en las plantas de cultivo. *Rev. Protección Veg.* 35, 1–12.
- Di, X., Takken, F.L.W., Tintor, N., 2016. How phytohormones shape interactions between plants and the soil-borne fungus *Fusarium oxysporum*. *Front. Plant Sci.* 7, 1–9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00170>
- Diener, A.C., Ausubel, F.M., 2005. Resistance to *Fusarium oxysporum* 1, a Dominant Arabidopsis Disease-Resistance Gene, Is Not Race Specific 321, 305–321. <https://doi.org/10.1534/genetics.105.042218>
- Dmytryk, A., Chojnacka, K., 2018. Algae as fertilizers, biostimulants, and regulators of plant growth., in: Chojnacka, K., Wieczorek, P., Schroeder, G., Michalak, I. (Eds.), *Algae Biomass: Characteristics and Applications*. Cham. Poland, pp. 115-122.
- Du Jardin, P., 2015. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Sci. Hortic.* (Amsterdam). 196, 3–14. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021>
- Durrant, W.E., Dong, X., 2004. Systemic acquired resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 42, 185–209. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.42.040803.140421>
- El Shoubaky, G.A., Salem, E.A., 2016. Effect of abiotic stress on endogenous phytohormones profile in some seaweeds. *Int. J. Pharmacogn. Phytochem. Res.* 8,

124–134.

- Esserti, S., Smaili, A., Rifai, L.A., Koussa, T., Makroum, K., Belfaiza, M., Kabil, E.M., Faize, L., Burgos, L., Albuquerque, N., Faize, M., 2017. Protective effect of three brown seaweed extracts against fungal and bacterial diseases of tomato. *J. Appl. Phycol.* 29, 1081–1093. <https://doi.org/10.1007/s10811-016-0996-z>
- Eyras, M.C., Rostagno, C.M., Defossé, G.E., 1998. Biological evaluation of seaweed composting. *Compost Sci. Util.* 6, 74–81. <https://doi.org/10.1080/1065657X.1998.10701943>
- FIRA, 2019. Panorama agroalimentario, tomate rojo 2019.
- Flores, I.R., Vásquez-Murrieta, M.S., Franco-Hernández, M.O., Márquez-Herrera, C.E., Ponce-Mendoza, A., del Socorro López-Cortéz, M., 2021. Bioactive compounds in tomato (*Solanum lycopersicum*) variety saladette and their relationship with soil mineral content. *Food Chem.* 344, 128608. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128608>
- Flores, P., Pedreño, M.A., Almagro, L., Hernández, V., Fenoll, J., Hellín, P., 2021. Increasing nutritional value of broccoli with seaweed extract and trilinolein. *J. Food Compos. Anal.* 98, 103834. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.103834>
- Frioni, T., Sabbatini, P., Tombesi, S., Norrie, J., Poni, S., Gatti, M., Palliotti, A., 2018. Effects of a biostimulant derived from the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* on ripening dynamics and fruit quality of grapevines. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 232, 97–106. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.12.054>
- Fujikawa, I., Takehara, Y., Ota, M., Imada, K., Sasaki, K., Kajihara, H., Sakai, S., Jogaiah, S., Ito, S. ichi, 2021. Magnesium oxide induces immunity against *Fusarium* wilt by triggering the jasmonic acid signaling pathway in tomato. *J. Biotechnol.* 325, 100–108. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2020.11.012>
- Galland-Irmouli, A.-V., Fleurence, J., Lamghari, R., Luçon, M., Rouxel, C., Barbaroux, O., Bronowicki, J.-P., Villaume, C., Guéant, J.-L., 1999. Nutritional value of proteins from edible seaweed *Palmaria palmata* (dulse). *J. Nutr. Biochem.* 10, 353–359. [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(99\)00014-5](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(99)00014-5)
- García Enciso, L.E., 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 Resumen Introducción Materiales y métodos 4211–4221.
- Gayosso-Rodríguez, S., Borges-Gómez, L., Villanueva-Couoh, E., Estrada-Botello, M., Garruña, R., 2018. Caracterización Física Y Química De Materiales Orgánicos Para Sustratos Agrícolas. *Agrociencia* 52, 639–652.

- Gayosso, O., Chávez-Aguilar, G., López-Benítez, A., Marroquín-Morales, J.Á., López-Aguilar, K., Hidalgo-Ramos, D.M., 2021. Evaluación de la respuesta de diferentes genotipos de tomate a *Fusarium oxysporum* raza 3. *Rev. Mex. Ciencias Agrícolas* 12, 409–420. <https://doi.org/10.29312/remexca.v12i3.2284>
- Gil Rivero, A., López Medina, E., López Zavaleta, A., 2016. Efecto sinérgico del ácido indolacético, ácido giberélico y 6-bencilaminopurina en la propagación in vitro de “papaya” *Carica papaya* L. (Caricaceae). *Arnaldoa* 23. <https://doi.org/10.22497/arnaldoa.232.23210>
- Giménez, E., Salinas, M., Manzano-Agugliaro, F., 2018. Worldwide research on plant defense against biotic stresses as improvement for sustainable agriculture. *Sustain.* 10, 1–19. <https://doi.org/10.3390/su10020391>
- Glazebrook, Jane, 2005. Contrasting mechanism of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.43.040204.135923>
- Goisser, S., Wittmann, S., Fernandes, M., Mempel, H., Ulrichs, C., 2020. Comparison of colorimeter and different portable food-scanners for non-destructive prediction of lycopene content in tomato fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 167, 111232. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2020.111232>
- Goñi, O., Fort, A., Quille, P., McKeown, P.C., Spillane, C., O’Connell, S., 2016. Comparative Transcriptome Analysis of Two *Ascophyllum nodosum* Extract Biostimulants: Same Seaweed but Different. *J. Agric. Food Chem.* 64, 2980–2989. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b00621>
- González-Morales, S., Benavides-Mendoza, A., García-Enciso, E.L., Rodríguez-Campos, E.M., Flores-Olivas, A., 2018. Efecto de las alcaloides como inductores de tolerancia al estrés biótico en tomate. *Rev. Mex. Ciencias Agrícolas* 2371. <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i12.768>
- 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.
- González de Molina, M., Soto Fernandez, D., Infante-Amate, J., E, A., Vila Traver, J., Guzmán, G., 2017. Decoupling food from land: the evolution of spanish agriculture from 1960 to 2010. *Sustainability* 9, 2348. <https://doi.org/10.3390/su9122348>
- González, I., Yailén, A., Peteira, B., 2012. Aspectos generales de la interacción *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*-tomate. *Rev. Protección Veg.* 27, 1–7.
- Gordon, T.R., 2017. *Fusarium oxysporum* and the *Fusarium* Wilt Syndrome. *Annu. Rev. Phytopathol.* 55, 23–39. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615-095919>
- Górka, B., Korzeniowska, K., Lipok, J., Wiczorek, P.P., 2018. The Biomass of Algae

- and Algal Extracts in Agricultural Production, in: *Algae Biomass: Characteristics and Applications*. Springer International Publishing, Cham, pp. 103–114. https://doi.org/10.1007/978-3-319-74703-3_9
- Habiba, U., Ali, S., Rizwan, M., Ibrahim, M., Hussain, A., Shahid, M.R., Alamri, S.A., Alyemini, M.N., Ahmad, P., 2019. Alleviative role of exogenously applied mannitol in maize cultivars differing in chromium stress tolerance. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 26, 5111–5121. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3970-2>
- Haida, Z., Hakimian, M., 2019. A comprehensive review on the determination of enzymatic assay and nonenzymatic antioxidant activities. *Food Sci. Nutr.* 7, 1555–1563. <https://doi.org/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 Univ. J. Basic Appl. Sci.* 7, 104–110. <https://doi.org/10.1016/j.bjbas.2017.08.002>
- 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. <https://doi.org/10.3390/agronomy9030146>
- Hayat, S., Hayat, Q., Alyemini, M.N., Wani, A.S., Pichtel, J., Ahmad, A., 2012. Role of proline under changing environments: A review. *Plant Signal. Behav.* 7, 1456–1466. <https://doi.org/10.4161/psb.21949>
- Hernández-Herrera, R.M., Santacruz-Ruvalcaba, F., Briceño-Domínguez, D.R., Di Filippo-Herrera, D.A., Hernández-Carmona, G., 2018. Seaweed as potential plant growth stimulants for agriculture in Mexico. *Hidrobiologica* 28, 129–140. <https://doi.org/10.24275/uam/izt/dcbs/hidro/2018v28n1/hernandezc>
- 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.). *J. Appl. Phycol.* 26, 619–628. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0078-4>
- Hernández-Herrera, R.M., Virgen-calleros, G., Ruiz-lópez, M., Zañudo-hernández, J., Délano-frier, J.P., Sánchez-hernández, C., 2013. Extracts from green and brown seaweeds protect tomato (*Solanum lycopersicum*) against the necrotrophic fungus *Alternaria solani*. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0193-2>
- Hewage, K.A.H., Yang, J.F., Wang, D., Hao, G.F., Yang, G.F., Zhu, J.K., 2020. Chemical Manipulation of Abscisic Acid Signaling: A New Approach to Abiotic and Biotic Stress Management in Agriculture. *Adv. Sci.* 7, 1–40. <https://doi.org/10.1002/advs.202001265>

- Holdt Løvstad, S., Kraan, S., 2011. Bioactive compounds in seaweed: Functional food applications and legislation. *J. Appl. Phycol.* 23, 543–597. <https://doi.org/10.1007/s10811-010-9632-5>
- Houterman, P.M., Cornelissen, B.J.C., Rep, M., 2008. Suppression of plant resistance gene-based immunity by a fungal effector. *PLoS Pathog.* 4, 1–6. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000061>
- Houterman, P.M., Ma, L., van Ooijen, G., de Vroomen, M.J., Cornelissen, B.J.C., Takken, F.L.W., Rep, M., 2009. The effector protein Avr2 of the xylem-colonizing fungus *Fusarium oxysporum* activates the tomato resistance protein I-2 intracellularly. *Plant J.* 58, 970–978. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2009.03838.x>
- Ibraheem, I.B.M., Hamed, S.M., Elrhman, A.A.A., Farag, F.M., Abdel-Raouf, N., 2017. Antimicrobial activities of some brown macroalgae against some soil borne plant pathogens and in vivo management of *Solanum melongena* root diseases. *Aust. J. Basic Appl. Sci.* 11, 157–168.
- Ignjatov, M., Milosevic, D., Nikolic, Z., Gvozdanovic-Varga, J., Jovicic, D., Zdjelar, G., 2012. *Fusarium oxysporum* as causal agent of tomato wilt and fruit rot. *Pestic. i fitomedicina* 27, 25–31. <https://doi.org/10.2298/pif1201025i>
- 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. *Russ. J. Bioorganic Chem.* 37, 871–876. <https://doi.org/10.1134/S1068162011070090>
- Inui, H., Yamaguchi, Y., Hirano, S., 1997. Elicitor actions of N-acetylchitoooligosaccharides and laminarioligosaccharides for chitinase and L-phenylalanine ammonia-lyase induction in rice suspension culture. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 61, 975–978. <https://doi.org/10.1271/bbb.61.975>
- Jannin, L., Arkoun, M., Etienne, P., Laîné, P., Goux, D., Garnica, M., Fuentes, M., Francisco, S.S., Baigorri, R., Cruz, F., Houdusse, F., Garcia-Mina, J.-M., Yvin, J.-C., Ourry, A., 2013. Brassica napus Growth is Promoted by *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. Seaweed Extract: Microarray Analysis and Physiological Characterization of N, C, and S Metabolisms. *J. Plant Growth Regul.* 32, 31–52. <https://doi.org/10.1007/s00344-012-9273-9>
- Janse van Rensburg, H.C., Van den Ende, W., Signorelli, S., 2019. Autophagy in plants: Both a puppet and a puppet master of sugars. *Front. Plant Sci.* 10, 14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00014>
- Jasso de Rodríguez, D., Salas-Méndez, E. de J., Rodríguez-García, R., Hernández-Castillo, F.D., Díaz-Jiménez, M.L.V., Sáenz-Galindo, A., González-Morales, S., Flores-López, M.L., Villarreal-Quintanilla, J.A., Peña-Ramos, F.M., Carrillo-

- Lomelí, D.A., 2017. Antifungal activity in vitro of ethanol and aqueous extracts of leaves and branches of *Flourensia* spp. against postharvest fungi. *Ind. Crops Prod.* 107, 499–508. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.04.054>
- Jayaraj, J., Wan, A., Rahman, M., Punja, Z.K., 2008. Seaweed extract reduces foliar fungal diseases on carrot. *Crop Prot.* 27, 1360–1366. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2008.05.005>
- Jayaraman, J., Norrie, J., Punja, Z.K., 2011. Commercial extract from the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* reduces fungal diseases in greenhouse cucumber 353–361. <https://doi.org/10.1007/s10811-010-9547-1>
- Jiao, G., Yu, G., Zhang, J., Ewart, H., 2011. Chemical Structures and Bioactivities of sulfated polysaccharides from marine algae. *Mar. Drugs* 9, 196–223. <https://doi.org/10.3390/md9020196>
- 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. *J. Plant Growth Regul.* 38, 463–478. <https://doi.org/10.1007/s00344-018-9861-4>
- Jönsson, M., Allahgholi, L., Sardari, RR, Hreggviðsson, GO y Nordberg Karlsson, E. (2020). Extracción y modificación de polisacáridos de macroalgas para aplicaciones actuales y de próxima generación. *Moléculas* , 25 (4), 930.
- Juárez-Maldonado, A., De Alba Romenus, K., Zermeño González, A., Benavides Mendoza, A., 2017. Análisis de crecimiento del cultivo de tomate en invernadero. *Rev. Mex. Ciencias Agrícolas* 6, 943. <https://doi.org/10.29312/remexca.v6i5.589>
- Juárez-Maldonado, A., Ortega-Ortíz, 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. *Int. J. Mol. Sci.* 20, 1–19. <https://doi.org/10.3390/ijms20010162>
- Julyasih, K., Purnawati, A., 2019. Antifungal Activity of Seaweed Against *Aspergillus flavus*, in: *Nusantara Science and Technology Proceedings*. *Galaxy Science*, pp. 11–13. <https://doi.org/10.11594/nstp.2019.0202>
- Jung, K.A., Lim, S.R., Kim, Y., Park, J.M., 2013. Potentials of macroalgae as feedstocks for biorefinery. *Bioresour. Technol.* 135, 182–190. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.025>
- Kachroo, P., Liu, H., Kachroo, A., 2020. Salicylic acid: transport and long-distance immune signaling. *Curr. Opin. Virol.* 42, 53–57. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2020.05.008>

- Kaloshian, I., 2004. Gene-for-gene disease resistance: Bridging insect pest and pathogen defense. *J. Chem. Ecol.* 30, 2419–2438. <https://doi.org/10.1007/s10886-004-7943-1>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.plgene.2019.100182>
- Kapur, B., Sarıdaş, M.A., Çeliktöpez, E., Kafkas, E., Paydaş Kargı, S., 2018. Health and taste related compounds in strawberries under various irrigation regimes and bio-stimulant application. *Food Chem.* 263, 67–73. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.108>
- Kashiwa, T., Suzuki, T., Sato, A., Akai, K., Teraoka, T., Komatsu, K., Arie, T., 2016. A new biotype of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 2 emerged by a transposon-driven mutation of avirulence gene AVR1. *FEMS Microbiol. Lett.* 363, 1–6. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnw132>
- Kasim, W.A., Hamada, E.A.M., El-din, N.G.S., Eskander, S., Agri, I.J., Agri, R., 2015. Influence of seaweed extracts on the growth, some metabolic activities and yield of wheat grown under drought stress 7, 173–189.
- Khan, N., Maymon, M., Hirsch, A., 2017. Combating Fusarium Infection Using Bacillus-Based Antimicrobials. *Microorganisms* 5, 75. <https://doi.org/10.3390/microorganisms5040075>
- Khan, W., Rayirath, U.P., Subramanian, S., Jithesh, M.N., Rayorath, P., Hodges, D.M., Critchley, A.T., Craigie, J.S., Norrie, J., Prithiviraj, B., 2009. Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *J. Plant Growth Regul.* 28, 386–399. <https://doi.org/10.1007/s00344-009-9103-x>
- Khedra, J., Dangariya, M., Nakum, A.K., Agarwal, P., Panda, A., Parida, A.K., Gangapur, D.R., Meena, R., Agarwal, P.K., 2020. Sargassum seaweed extract enhances *Macrophomina phaseolina* resistance in tomato by regulating phytohormones and antioxidative activity. *J. Appl. Phycol.* 32, 4373–4384. <https://doi.org/10.1007/s10811-020-02263-5>
- Klykov, A.G., Anisimov, M.M., Chaikina, E.L., Shevchenko, N.M., Parskaya, N.S., 2019. Carbohydrate containing biopolymers derived from brown algae as promoters of growth, development and productivity of agricultural crops. *Indian J. Agric. Res.* 53, 609–613. <https://doi.org/10.18805/IJARE.A-420>
- Kong, J., 2015. Phenylalanine ammonia-lyase, a key component used for phenylpropanoids production by metabolic engineering. *RSC Adv.* 5, 62587–62603. <https://doi.org/10.1039/C5RA08196C>
- Kotíková, Z., Lachman, J., Hejtmánková, A., Hejtmánková, K., 2011. Determination of

- antioxidant activity and antioxidant content in tomato varieties and evaluation of mutual interactions between antioxidants. *LWT - Food Sci. Technol.* 44, 1703–1710. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.03.015>
- Kumar, C.S., 2008. Seaweed extracts control the leaf spot disease of the medicinal plant *Gymnema sylvestre*. *Indian J. Sci. Technol.* 1, 1–5. <https://doi.org/10.17485/ijst/2008/v1i3/8>
- Kumar, S., Sachdeva, S., Bhat, K.V., Vats, S., 2018. Biotic and abiotic stress tolerance in plants, *Biotic and Abiotic Stress Tolerance in Plants*. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-9029-5>
- 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. *J. Appl. Phycol.* 23, 623–633. <https://doi.org/10.1007/s10811-011-9651-x>
- Lal, A.M., Kathpalia, R., Sisodia, R., Rashmi, S., 2018. Biotic Stress, in: Springer (Ed.), *Plant Physiology, Development and Metabolism*. pp. 1029–1095.
- Langcake, P., Bratt, P.M., Drysdale, R.B., 1973. Pectinmethylesterase in *Fusarium*-infected susceptible tomato plants. *Physiol. Plant Pathol.* 3, 101–106. [https://doi.org/10.1016/0048-4059\(73\)90026-X](https://doi.org/10.1016/0048-4059(73)90026-X)
- Langcake, P., Drysdale, R.B., 1975. The rôle of pectic enzyme production in the resistance of tomato to *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici*. *Physiol. Plant Pathol.* 6, 247–258. [https://doi.org/10.1016/0048-4059\(75\)90079-X](https://doi.org/10.1016/0048-4059(75)90079-X)
- Lanubile, A., Maschietto, V., Borrelli, V.M., Stagnati, L., Logrieco, A.F., Marocco, A., 2017. Molecular Basis of Resistance to *Fusarium* Ear Rot in Maize. *Front. Plant Sci.* 8, 1–13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01774>
- Lee, S.A., Kim, Y., Kim, J.M., Chu, B., Joa, J.H., Sang, M.K., Song, J., Weon, H.Y., 2019. A preliminary examination of bacterial, archaeal, and fungal communities inhabiting different rhizocompartments of tomato plants under real-world environments. *Sci. Rep.* 9, 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45660-8>
- Leija-Martínez, P., Benavides-Mendoza, A., Cabrera-De La Fuente, M., Robledo-Olivo, A., Ortega-Ortíz, H., Sandoval-Rangel, A., González-Morales, S., 2018. Lettuce Biofortification with Selenium in Chitosan-Polyacrylic Acid Complexes. *Agronomy* 8, 275. <https://doi.org/10.3390/agronomy8120275>
- Li, N., Wu, X., Zhuang, W., Xia, L., Chen, Y., Wu, C., Rao, Z., Du, L., Zhao, R., Yi, M., Wan, Q., Zhou, Y., 2021. Tomato and lycopene and multiple health outcomes: Umbrella review. *Food Chem.* 343. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128396>

- Li, S.-M., Zheng, H.-X., Zhang, X.-S., Sui, N., 2021. Cytokinins as central regulators during plant growth and stress response. *Plant Cell Rep.* 40, 271–282. <https://doi.org/10.1007/s00299-020-02612-1>
- Lola-Luz, T., Hennequart, F., Gaffney, M., 2013. Enhancement of phenolic and flavonoid compounds in cabbage (*Brassica oleracea*) following application of commercial seaweed extracts of the brown seaweed, (*Ascophyllum nodosum*). *Agric. Food Sci.* 22, 288–295. <https://doi.org/10.23986/afsci.7676>
- Longoria-Espinoza, R.M., Félix-Gastélum, R., Cordero-Ramírez, J.D., 2020. Diversity of endophytic bacteria associated with tomato plants (*Solanum lycopersicum*). *Rev. Mex. Fitopatol. Mex. J. Phytopathol.* 38, 307–319. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2002-7>
- Lv, B., Zhenwei, Y., Huiyu, T., Xiansheng, Z., Zhaojun, D., 2019. local auxin biosynthesis mediates plant growth and development. *Trends Plant Sci.* 24, 6–9. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.10.014>
- Machín Suárez, A., Sánchez-Chávez, E., Héctor Ardisana, E.F., Santos-Cervantes, M.E., Pérez Álvarez, S., 2017. Actividad de enzimas del estrés oxidativo en plantas de tomate cv. Amalia en respuesta al plomo. *Hortic. Bras.* 35, 216–223. <https://doi.org/10.1590/s0102-053620170210>
- Maluin, FN y Hussein, MZ (2020). Agronanoquímicos a base de quitosano como alternativa sostenible en la protección de cultivos. *Moléculas* , 25 (7), 1611.
- Mannino, G., Campobenedetto, C., Vigliante, I., Contartese, V., Gentile, C., Bertea, C.M., 2020. The Application of a Plant biostimulant based on seaweed and yeast extract improved tomato fruit development and quality. *Biomolecules* 10, 1662. <https://doi.org/10.3390/biom10121662>
- Martín Juárez, J., Lorenzo Hernando, A., Muñoz Torre, R., Blanco Lanza, S., Bolado Rodríguez, S., 2016. Saccharification of microalgae biomass obtained from wastewater treatment by enzymatic hydrolysis. Effect of alkaline-peroxide pretreatment. *Bioresour. Technol.* 218, 265–271. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.06.087>
- Martínez-González, M.E., Balois-Morales, R., Alia-Tejacal, I., Cortes-Cruz, M.A., Palomino-Hermosillo, Y.A., López-Gúzman, G.G., 2017. Poscosecha de frutos : maduración y cambios bioquímicos Postharvest fruits : maturation and biochemical changes Resumen. *Rev. Mex. Ciencias Agric.* 4075–4087.
- Martínez-Ruiz, F.E., Cervantes-Díaz, L., Aíl-Catzím, C.E., Hernández-Montiel, L.G., Sánchez, C.L.D.T., Rueda-Puente, E.O., 2016. Hongos Fitopatógenos Asociados Al Tomate (*Solanum Lycopersicum* L.) En La Zona Árida Del Noroeste De México: La Importancia De Su Diagnóstico. *Eur. Sci. Journal*, ESJ 12, 232. <https://doi.org/10.19044/esj.2016.v12n18p232>

- Martynenko, A., Shotton, K., Astatkie, T., Petrash, G., Fowler, C., Neily, W., Critchley, A.T., 2016. Thermal imaging of soybean response to drought stress: the effect of *Ascophyllum nodosum* seaweed extract. *Springerplus* 5, 1393. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-3019-2>
- Maschietto, V., Marocco, A., Malachova, A., Lanubile, A., 2015. Resistance to *Fusarium verticillioides* and fumonisin accumulation in maize inbred lines involves an earlier and enhanced expression of lipoxygenase (LOX) genes. *J. Plant Physiol.* 188, 9–18. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2015.09.003>
- Mata-Pérez, C., Padilla, M.N., Sánchez-Calvo, B., Begara-Morales, J.C., Valderrama, R., Chaki, M., Barroso, J.B., 2018. Biological properties of nitro-fatty acids in plants. *Nitric Oxide - Biol. Chem.* 78, 176–179. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2018.03.011>
- Mata-Pérez, C., Sánchez-Calvo, B., Padilla, M.N., Begara-Morales, J.C., Valderrama, R., Corpas, F.J., Barroso, J.B., 2017. Nitro-fatty acids in plant signaling: New key mediators of nitric oxide metabolism. *Redox Biol.* 11, 554–561. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.01.002>
- Meier, U., 2001. *Estadios de las plantas mono-y dicotyledóneas*, BBCH Monografía. Centro Federal de Investigaciones Biológicas para Agricultura y Silvicultura.
- Melo, P.C. de, Collela, C.F., Sousa, T., Pacheco, D., Cotas, J., Gonçalves, A.M.M., Bahcevandziev, K., Pereira, L., 2020. Seaweed-Based Products and Mushroom β -Glucan as Tomato Plant Immunological Inducers. *Vaccines* 8, 524. <https://doi.org/10.3390/vaccines8030524>
- Mercier, L., Lafitte, C., Borderies, G., Briand, X., Esquerré-Tugayé, M.T., Fournier, J., 2001. The algal polysaccharide carrageenans can act as an elicitor of plant defence. *New Phytol.* 149, 43–51. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2001.00011.x>
- Miao, X., Wu, Q., Yang, C., 2004. Fast pyrolysis of microalgae to produce renewable fuels. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 71, 855–863. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2003.11.004>
- Michalak, I., Chojnacka, K., 2015. Algae as production systems of bioactive compounds 160–176. <https://doi.org/10.1002/elsc.201400191>
- Michalak, I., Chojnacka, K., 2013. Algal compost – toward sustainable fertilization. *Rev. Inorg. Chem.* 33, 161–172. <https://doi.org/10.1515/revic-2013-0006>
- 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 Phytol.* 188, 67–81. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03345.x>

- Miller, G.L., 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar., in: Analytical Chemistry. pp. 31(3), 426–428.
- Minutolo, M., Chiaiese, P., Di Matteo, A., Errico, A., Corrado, G., 2020. Accumulation of ascorbic acid in tomato cell culture: influence of the genotype, source explant and time of *in vitro* cultivation. *Antioxidants* 9, 222. <https://doi.org/10.3390/antiox9030222>
- Monaghan, J., Zipfel, C., 2012. Plant pattern recognition receptor complexes at the plasma membrane. *Curr. Opin. Plant Biol.* 15, 349–357. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2012.05.006>
- Monge Pérez, J.E., Loría Coto, M., 2019. Producción de tomate (*Solanum lycopersicum*) en invernadero: comparación agronómica entre tipos de tomate. *Posgrado y Soc. Rev. Electrónica del Sist. Estud. Posgrado* 17, 1–20. <https://doi.org/10.22458/rpys.v17i1.2488>
- Montero-Vilariño, M.J., Marcet-Miramontes, P., Andrade-Couce, M.L., Estevez-Sio, J., 1999. Influencia de la adición de diversas especies de algas sobre algunas propiedades químicas de un suelo ácido y el crecimiento de *Hordeum vulgare* L. *Rev. la Asoc. Argentina la Cienc. del Suelo* 17, 28–38.
- Mzibra, A., Aasfar, A., Khouloud, M., Farrie, Y., Boulif, R., Kadmiri, I.M., Bamouh, A., Douira, A., 2021. Improving Growth, Yield, and Quality of Tomato Plants (*Solanum lycopersicum* L) by the Application of Moroccan Seaweed-Based Biostimulants under Greenhouse Conditions. *Agronomy* 11, 1373. <https://doi.org/10.3390/agronomy11071373>
- Nabti, E., Jha, B., Hartmann, A., 2017. Impact of seaweeds on agricultural crop production as biofertilizer. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 14, 1119–1134. <https://doi.org/10.1007/s13762-016-1202-1>
- Nawaim, A., Ahlem, N., Jabnoun-Hiareddine, H., Remadi Mejda, D., 2017a. Control of Fusarium Dry Rot Incited by *Fusarium oxysporum* f. sp. *tuberosi* Using *Sargassum vulgare* Aqueous and Organic Extracts. *J. Microb. Biochem. Technol.* 9. <https://doi.org/10.4172/1948-5948.1000366>
- Nawaim, A., Ben, A., Rania, A., Hayfa, J., Ahlem, N., Safa, R., Mejda, D., 2017b. *Sargassum vulgare* extracts as an Alternative to Chemical Fungicide for the Management of *Fusarium* Dry Rot in Potato Journal of Agricultural Science and *Sargassum vulgare* Extracts as an Alternative to Chemical Fungicide for the Management of *Fusarium* Dry R.
- Nejat, N., Mantri, N., 2017. Plant immune system: Crosstalk between responses to biotic and abiotic stresses the missing link in understanding plant defence. *Curr. Issues Mol. Biol.* 23, 1–16. <https://doi.org/10.21775/cimb.023.001>

- Nicolopoulou-Stamati, P., Maipas, S., Kotampasi, C., Stamatis, P., Hens, L., 2016. Chemical Pesticides and Human Health: The Urgent Need for a New Concept in Agriculture. *Front. Public Heal.* 4, 1–8. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2016.00148>
- Nuez, V. F. 2001. *El cultivo del tomate*. Ediciones Mundi Prensa, México. 793 pp.
- Oliveira, D.F., Costa, V.A., Terra, W.C., Campos, V.P., Paula, P.M., Martins, S.J., 2019. Impact of phenolic compounds on *Meloidogyne incognita* in vitro and in tomato plants. *Exp. Parasitol.* 199, 17–23. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2019.02.009>
- Oñate-Sánchez, L., Singh, K.B., 2002. Identification of arabidopsis ethylene-responsive element binding factors with distinct induction kinetics after pathogen infection. *Plant Physiol.* 128, 1313–1322. <https://doi.org/10.1104/pp.010862>
- Patel, T.K., Williamson, J.D., 2016. Mannitol in Plants, Fungi, and Plant–Fungal Interactions. *Trends Plant Sci.* 21, 486–497. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.01.006>
- Patel, R. V., Pandya, K.Y., Jasrai, R.T., Brahmabhatt, N., 2018. Significance of green and brown seaweed liquid fertilizer on seed germination of *Solanum melongena*, *Solanum lycopersicum* and *Capsicum annum* by paper towel and pot method. *Int. J. Recent Sci. Res.* 9, 24065–24072. <https://doi.org/10.24327/IJRSR>
- Patil, S.D., More, V.R., Bhalerao, G.A., Jagtap, M.P., 2019. Effect of combination of inorganic fertilizer and seaweed extract on yield , yield attributes and economics of soybean crop. *J. Pharmacogn. Phytochem.* 8, 1741–1744.
- Pereira, L., Morrison, L., Shukla, P.S., Critchley, A.T., 2020. A concise review of the brown macroalga *Ascophyllum nodosum* (Linnaeus) Le Jolis. *J. Appl. Phycol.* 32, 3561–3584. <https://doi.org/10.1007/s10811-020-02246-6>
- Pérez-madruga, Y., López-Padrón, I., Reyes-Guerrero, Y., 2020. Las Algas como alternativa natural para la producción de diferentes cultivos 41.
- Praveen, T.M., Patil, S.R., Patil, B.C., Seetharamu, G.K., Rudresh, D.L., Pavankumar, P., Patil, R.T., 2021. Influence of biostimulants on growth and yield of floribunda rose cv . Mirabel. *J. Pharmacogn. Phytochem.* 10, 2701–2705.
- Qi, P.F., Balcerzak, M., Rocheleau, H., Leung, W., Wei, Y.M., Zheng, Y.L., Ouellet, T., 2016. Jasmonic acid and abscisic acid play important roles in host-pathogen interaction between *Fusarium graminearum* and wheat during the early stages of fusarium head blight. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 93, 39–48. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2015.12.004>
- Ramkissoon, A., Ramsubhag, A., Jayaraman, J., 2017. Phytoelicitor activity of three Caribbean seaweed species on suppression of pathogenic infections in tomato plants. *J. Appl. Phycol.* 29, 3235–3244. <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1160-0>

- Ramos, S.J., Faquin, V., Guilherme, L.R.G., Castro, E.M., Ávila, F.W., Carvalho, G.S., 2010. Selenium biofortification and antioxidant activity in lettuce plants fed with selenate and selenite. *PLANT SOIL Env.* 2010, 584–588.
- 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*. *Int. J. Recycl. Org. Waste Agric.* 4, 167–173. <https://doi.org/10.1007/s40093-015-0096-0>
- Reboleira, J., Freitas, R., Pinteus, S., Silva, J., Alves, C., Pedrosa, R., Bernardino, S., 2019. Brown seaweeds, in: Nabavi, S.M., Silva, A.S. (Eds.), *Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements*. Elsevier Inc., pp. 171–176. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812491-8.00024-2>
- Reeves, S.H., Somasundaram, J., Wang, W.J., Heenan, M.A., Finn, D., Dalal, R.C., 2019. Effect of soil aggregate size and long-term contrasting tillage, stubble and nitrogen management regimes on CO₂ fluxes from a Vertisol. *Geoderma* 337, 1086–1096. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.11.022>
- Rengasamy, K.R.R., Kulkarni, M.G., Papenfus, H.B., Van Staden, J., 2016. Quantification of plant growth biostimulants, phloroglucinol and eckol, in four commercial seaweed liquid fertilizers and some by-products. *Algal Res.* 20, 57–60. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.09.017>
- Retana, K., Ramírez-Coché, J. A., Castro, O., & Blanco-Meneses, M. (2018). Caracterización morfológica y molecular de *Fusarium oxysporum* F. SP. Apii asociado a la marchitez del apio en Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 42(1), 115-126.
- Reyes-Zambrano, S.J., Lecona-Guzmán, C.A., Gutiérrez-Miceli, F.A., Santana-Buzzy, N., Islas-Flores, I., Tzec-Simá, M., Barredo-Pool, F.A., Ruiz-Lau, N., Ávila-Miranda, M.E., 2020. Scanning electron microscopy and enzymatic analysis in *Agave americana* during *Fusarium oxysporum* infection. *Rev. Mex. Fitopatol. Mex. J. Phytopathol.* 38, 408–419. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2005-3>
- Rivas Martínez, E.N., Foroughbakhch Pournavab, R., Reyes Valdés, M.H., Benavides Mendoza, A., 2017. Determinación de giberelina A4 y trans zeatina ribósido en diferentes órganos de *Dasyliroium cedrosanum*. *Rev. Mex. Ciencias Agrícolas* 7, 2063–2069. <https://doi.org/10.29312/remexca.v7i8.139>
- Rivera-Solís, L.L., Rodríguez-Jasso, R.M., Flores-López, M.L., Robledo-Olivo, A., Sandoval-Rangel, A., Sariñana-Aldaco, O., González-Morales, S., 2021. Extractos de *Sargassum* spp. como inductores de tolerancia a *Fusarium oxysporum* en plántulas de tomate. *Ecosistemas y Recur. Agropecu.* 8, 1–8. <https://doi.org/10.19136/era.a8n1.2826>
- Rodríguez-Martínez, R.E., van Tussenbroek, B.I., 2017. Afluencia masiva de sargazo

pelágico a la costa. Floreciminetos Algales Nocivos en México 438.

- Rodríguez Pedroso, A.T., Ramírez arrebato, N.Á., Cárdenas travieso, R.M., 2006. Efecto de la Quitosana en la Inducción de la Actividad de Enzimas Relacionadas con la Defensa y Protección de Plántulas de Arroz (*Oryza sativa* L.) contra *Pyricularia grisea* Sacc. Rev. Mex. Fitopatol. 24, 1–7.
- Roleda, M.Y., Hurd, C.L., 2019. Seaweed nutrient physiology: application of concepts to aquaculture and bioremediation. *Phycologia* 58, 552–562. <https://doi.org/10.1080/00318884.2019.1622920>
- Rouphael, Y., Colla, G., 2020. Editorial: Biostimulants in Agriculture. *Front. Plant Sci.* 11, 1–7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00040>
- 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. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 226, 353–360. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.09.007>
- Rouphael, Y., Giordano, M., Cardarelli, M., Cozzolino, E., Mori, M., Kyriacou, M., 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, 126. <https://doi.org/10.3390/agronomy8070126>
- Ruiz, H.A., Rodríguez-jasso, R.M., Aguedo, M., Kádár, Z., 2015. hydrothermal pretreatments of macroalgal biomass for biorefineries. *Algal Biorefineries* 467–491. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-20200-6>
- Ryabushko, V.I., Prazukin, A. V., Gureeva, E. V., Bobko, N.I., Kovrigina, N.P., Nekhoroshev, M. V., 2017. Fucoxan thin and heavy metals in brown algae of genus *Cystoseira* C. Agardh from water areas with different anthropogenic influences (Black Sea). *Mar. Biol. J.* 2, 70–79. <https://doi.org/10.21072/mbj.2017.02.2.07>
- Sabeena Farvin, K.H., Jacobsen, C., 2013. Phenolic compounds and antioxidant activities of selected species of seaweeds from Danish coast. *Food Chem.* 138, 1670–1681. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.10.078>
- SAGARPA, 2017. Planeación agrícola nacional 2017-2030. <https://doi.org/10.1021/jo00358a030>
- Saini, R.K., Rengasamy, K.R.R., Mahomoodally, F.M., Keum, Y.S., 2020. Protective effects of lycopene in cancer, cardiovascular, and neurodegenerative diseases: An update on epidemiological and mechanistic perspectives. *Pharmacol. Res.* 155, 104730. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.104730>
- 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. <https://doi.org/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 Physiol. Biochem.* 109, 54–61. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.09.005>
- Saravana, P.S., Choi, J.H., Park, Y.B., Woo, H.C., Chun, B.S., 2016. Evaluation of the chemical composition of brown seaweed (*Saccharina japonica*) hydrolysate by pressurized hot water extraction. *Algal Res.* 13, 246–254. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.12.004>
- Sariñana-aldaco, O., Benavides-Mendoza, A., Juarez-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 Effect of extracts of *Sargassum* spp. in growth and antioxidants of tomato seedlings. *ERA* 8, 1–15. <https://doi.org/10.19136/era.a8n2.2814>
- Sariñana-Aldaco, O., Sánchez-Chávez, E., Troyo-Diéguez, 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, 482. <https://doi.org/10.3390/agriculture10100482>
- Savary, S., Ficke, A., Aubertot, J., Hollier, C., 2012. Crop losses due to diseases and their implications for global food production losses and food security. <https://doi.org/10.1007/s12571-012-0200-5>
- SCFI, 1998. NMX-FF-031-1997-SCFI. Productos alimenticios no industrializados para consumo humano. Hortalizas frescas. tomate - (*Lycopersicon esculentum* Mill.).
- Schultz, J.C., Hunter, M.D., Appel, H.M., 1992. Antimicrobial Activity of Polyphenols Mediates Plant-Herbivore Interactions. *Plant Polyphenols* 621–637. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-3476-1_35
- Schwartz, S.H., 1997. Specific Oxidative Cleavage of Carotenoids by VP14 of Maize. *Science* (80-.). 276, 1872–1874. <https://doi.org/10.1126/science.276.5320.1872>
- Shanmugam, V., Kanoujia, N., 2011. Biological management of vascular wilt of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* by plant growth-promoting rhizobacterial mixture. *Biol. Control* 57, 85–93. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2011.02.001>
- Sharma, A., Zheng, B., 2019. Molecular responses during plant grafting and its regulation by auxins, cytokinins, and gibberellins. *Biomolecules* 9, 397. <https://doi.org/10.3390/biom9090397>

- 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. *Front. Plant Sci.* 10, 655. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00655>
- Shukla, P.S., Shotton, K., Norman, E., Neily, W., Critchley, A.T., Prithiviraj, B., 2018. Seaweed extract improve drought tolerance of soybean by regulating stress-response genes. *AoB Plants* 10, plx051. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plx051>
- SIAP, 2020. Cierre de la producción agrícola.
- SIAP, 2019. Expectativas de Producción Agropecuaria y pesquera.
- Silva, C.J., van den Abeele, C., Ortega-Salazar, I., Papin, V., Adaskaveg, J.A., Wang, D., Casteel, C.L., Seymour, G.B., Blanco-Ulate, B., 2021. Host susceptibility factors render ripe tomato fruit vulnerable to fungal disease despite active immune responses. *J. Exp. Bot.* 72, 2696–2709. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa601>
- Singh, V.K., Singh, H.B., Upadhyay, R.S., 2017. Role of fusaric acid in the development of ‘*Fusarium wilt*’ symptoms in tomato: Physiological, biochemical and proteomic perspectives. *Plant Physiol. Biochem.* 118, 320–332. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.06.028>
- Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R.M., 1999. [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. pp. 152–178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Siregar, A.F., Sabdono, A., Pringgenies, D., 2012. Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Terhadap Bakteri Penyakit Kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Micrococcus luteus*. *Bull. Fed. Soc. Gynecol. Obstet. Lang. Fr.* 22, 83–5.
- Srinivas, C., Nirmala Devi, D., Narasimha Murthy, K., Mohan, C.D., Lakshmeesha, T.R., Singh, B.P., Kalagatur, N.K., Niranjana, S.R., Hashem, A., Alqarawi, A.A., Tabassum, B., Abd_Allah, E.F., Chandra Nayaka, S., 2019. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* causal agent of vascular wilt disease of tomato: Biology to diversity—A review. *Saudi J. Biol. Sci.* 26, 1315–1324. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.06.002>
- Steiner, A.A., 1961. A universal method for preparing nutrient solutions of a certain. *Plant Soil.* 15(2):134-154.
- Stirk, W.A., Novák, O., Strnad, M., Van Staden, J., 2003. Cytokinins in macroalgae. *Plant Growth Regul.* 41, 13–24. <https://doi.org/10.1023/A:1027376507197>
- Subramanian, S., Sangha, J.S., Gray, B.A., Singh, R.P., Hiltz, D., Critchley, A.T., Prithiviraj, B., 2011. Extracts of the marine brown macroalga, *Ascophyllum*

- nodosum, induce jasmonic acid dependent systemic resistance in *Arabidopsis thaliana* against *Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000 and *Sclerotinia sclerotiorum*. *Eur. J. Plant Pathol.* 131, 237–248. <https://doi.org/10.1007/s10658-011-9802-6>
- Sujatha, K., Vijayalakshmai, V., Suganthi, A., 2015. Comparative efficacy of brown, red and green seaweed extracts on low vigour sunflower (*Helianthus annuus* L.) var. TN (SUF) 7 seeds 10, 2165–2169. <https://doi.org/10.5897/AJAR2013.7942>
- Sultana, B., Anwar, F., Ashraf, M., 2009. Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules* 14, 2167–2180. <https://doi.org/10.3390/molecules14062167>
- Sutharsan, S., Nishanthi, S., Srikrishnah, S., 2016. Effect of seaweed extract (*Sargassum crassifolium*) foliar application on the performance of *Lycopersicon esculentum* Mill. in sandy regosol of Batticaloa. <https://doi.org/10.5829/idosi.ajeaes.2014.14.12.1828>
- Syklowska-Baranek, K., Grech-Baran, M., Naliwajski, M.R., 2015. Paclitaxel production and PAL activity in hairy root cultures of *Taxus x media* var. *Hicksii* carrying a taxadiene synthase transgene elicited with nitric oxide and methyl jasmonate. *Acta Physiol. Plant.* 37, 1–9. <https://doi.org/10.1007/s11738-015-1949-x>
- Szabo, K., Dulf, F.V., Diaconeasa, Z., Vodnar, D.C., 2019. Antimicrobial and antioxidant properties of tomato processing byproducts and their correlation with the biochemical composition. *Lwt* 116. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108558>
- Terasaki, M., Hirose, A., Narayan, B., Baba, Y., Kawagoe, C., Yasui, H., Saga, N., Hosokawa, M., Miyashita, K., 2009. evaluation of recoverable functional lipid components of several brown seaweeds (*phaeophyta*) from japan with special reference to fucoxanthin and fucosterol contents1. *J. Phycol.* 45, 974–980. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2009.00706.x>
- 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, 264. <https://doi.org/10.3390/agronomy8110264>
- Tripathi, A.D., Mishra, R., Maurya, K.K., Singh, R.B., Wilson, D.W., 2019. Estimates for World Population and Global Food Availability for Global Health, in: *The Role of Functional Food Security in Global Health*. Elsevier, pp. 3–24. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813148-0.00001-3>
- Tufan, F., Uçarlı, C., Tunalı, B., Gürel, F., 2017. Analysis of early events in barley (*Hordeum vulgare* L.) roots in response to *Fusarium culmorum* infection. *Eur. J. Plant Pathol.* 148, 343–355. <https://doi.org/10.1007/s10658-016-1087-3>

- Valdez-Sepúlveda, L., González-Morales, S., Valdez-Aguilar, L.A., Ramírez-Godina, F., Benavides-Mendoza, A., 2015. Efecto de la aplicación exógena de ácido benzoico y salicílico en el crecimiento de plántulas de tomate, tomatillo y pimiento. *Rev. Mex. Ciencias Agrícolas* 6, 2331–2343.
- Van Loon, L.C., Rep, M., Pieterse, C.M.J., 2006. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. *Annu. Rev. Phytopathol.* 44, 135–162. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.44.070505.143425>
- Vasantharaja, R., Abraham, L.S., Inbakandan, D., Thirugnanasambandam, R., Senthilvelan, T., Jabeen, S.K.A., Prakash, P., 2019. Influence of seaweed extracts on growth, phytochemical contents and antioxidant capacity of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp). *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 17, 589–594. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.01.021>
- Vera-Sierra, F., Dolores Gomez, M., Perez-Amador, M.A., 2016. DELLA Proteins, a Group of GRAS transcription regulators that mediate gibberellin signaling, ASME Pap. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800854-6/00020-8>
- Vera, J., Castro, J., Gonzalez, A., Moenne, A., 2011. Seaweed polysaccharides and derived oligosaccharides stimulate defense responses and protection against pathogens in plants. *Mar. Drugs* 9, 2514–2525. <https://doi.org/10.3390/md9122514>
- Verkleij, F.N., 1992. Seaweed extracts in agriculture and horticulture: A review. *Biol. Agric. Hort.* 8, 309–324. <https://doi.org/10.1080/01448765.1992.9754608>
- Vidhyasekaran, P., 2007. *Fungal Pathogenesis in Plants and Crops*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420021035>
- Vieira, E.F., Soares, C., Machado, S., Correia, M., Ramalhosa, M.J., Oliva-teles, M.T., Paula Carvalho, A., Domingues, V.F., Antunes, F., Oliveira, T.A.C., Morais, S., Delerue-Matos, C., 2018. Seaweeds from the Portuguese coast as a source of proteinaceous material: Total and free amino acid composition profile. *Food Chem.* 269, 264–275. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.145>
- Vijay, K., Balasundari, S., Jeyashakila, R., Velayathum, P., Masilan, K., 2017. Proximate and mineral composition of brown seaweed from Gulf of Mannar. *Int. J. Fish. Aquat. Stud.* 5, 106–112.
- Vilcanqui, Y., Mamani-Apaza, L.O., Flores, M., Ortiz-Viedma, J., Romero, N., Mariotti-Celis, M.S., Huamán-Castilla, N.L., 2021. Chemical Characterization of Brown and Red Seaweed from Southern Peru, a Sustainable Source of Bioactive and Nutraceutical Compounds. *Agronomy* 11, 1669. <https://doi.org/10.3390/agronomy11081669>
- Vlot, A.C., Dempsey, D.A., Klessig, D.F., 2009. Salicylic Acid, a Multifaceted Hormone

- to Combat Disease. *Annu. Rev. Phytopathol.* 47, 177–206. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.050908.135202>
- 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. *J. Plant Physiol.* 144, 307–313. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)81192-2](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81192-2)
- Xue, T., Hartikainen, H., Piironen, V., 2001. Antioxidative and growth-promoting effect of selenium on senescing lettuce. *Plant Soil* 237, 55–61. <https://doi.org/10.1023/A:1013369804867>
- Yakhin, O.I., Lubyantsev, A.A., Yakhin, I.A., Brown, P.H., 2017. Biostimulants in Plant Science: A Global Perspective. *Front. Plant Sci.* 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.02049>
- Yu, Z., Dahlgren, R.A., 2000. evaluation of methods for measuring polyphenols in conifer foliage. *J. Chem. Ecol.* 26, 2119–2140.
- Zermeño-González, A., López-Rodríguez, B., Melendres-Alvarez, A., Ramírez-Rodríguez, H Cárdenas-Palomo, J., Munguía-López, J., 2015. Seaweed extract and its relation to photosynthesis and yield of a grapevine plantation Resumen Introducción. *Rev. Mex. Ciencias Agrícolas* 6: 2437-24, 2437–2446.
- 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 Phytol.* 222, 981–994. <https://doi.org/10.1111/nph.15639>
- Zhao, X., Zhen, W., Qi, Y., Liu, X., Yin, B., 2009. Coordinated effects of root autotoxic substances and *Fusarium oxysporum* Schl. f. sp. fragariae on the growth and replant disease of strawberry. *Front. Agric. China* 3, 34–39. <https://doi.org/10.1007/s11703-009-0006-1>
- Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W., 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals 555–559.