

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



APLICACIÓN DE EXTRACTOS HIDROTÉRMICOS DE MACROALGAS COMO
BIOESTIMULANTES EN PLANTAS DE TOMATE

Tesis

Que presenta EVA CARMONA RODRÍGUEZ

como requisito parcial para obtener el Grado de:
MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA


Saltillo, Coahuila

Noviembre 2019

APLICACIÓN DE EXTRACTOS HIDROTÉRMICOS DE MACROALGAS COMO
BIOESTIMULANTES EN PLANTAS DE TOMATE

Tesis


Elaborada por **EVA CARMONA RODRÍGUEZ** 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




Dra. Rosa María Rodríguez Jasso
Asesor




Dr. Armando Robledo Olivo
Asesor



Dr. Adalberto Benavides Mendoza
Asesor



Dr. Marcelino Cabrera De la Fuente
Asesor



Dr. Marcelino Cabrera De la Fuente
Subdirector de Postgrado

AGRADECIMIENTOS

A Dios:

Porque siempre ha cuidado mi camino cada vez que he regresado a la universidad y adonde quiera que voy, por las fuerzas para afrontar los problemas que se me presentan gracias.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por recibirme, abrirme sus puertas y por brindarme un hogar gracias. Por formarme profesionalmente y por generar en mí nuevos conocimientos. Pondré en práctica esos conocimientos para poner en alto a la universidad.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por apoyarme con una beca para que fuera posible llevar a cabo los estudios de postgrado.

A Mis Asesores

Principalmente a la **Dra. Susana Gonzales Morales** por haberme dado la oportunidad de participar en su grupo de trabajo y por su apoyo en la elaboración de la tesis, por sus consejos y dedicación al trabajo de investigación gracias.

A la Dra. Rosa María Rodríguez Jasso por contribuir en el desarrollo de esta investigación de tesis, además de prestar el laboratorio y planta piloto de biorrefinería de la Universidad Autónoma de Coahuila ubicada en el boulevard Venustiano Carranza, Saltillo, Coahuila, México. Por la motivación y críticas para mejorar este trabajo de investigación gracias.

Al Dr. Armando Robledo Olivo por contribuir en el desarrollo de esta investigación de tesis y por la motivación y críticas para mejorar este trabajo de investigación gracias.

Al Dr. Adalberto Benavides Mendoza y Dr. Marcelino Cabrera de la Fuente por contribuir en la revisión y críticas para mejorar este trabajo de investigación gracias

DEDICATORIA

A mis padres:

Herlinda Rodríguez Estrada y Bruno Carmona Reyes.

Con mucho cariño, por el gran apoyo que me brindaron durante toda mi formación tanto académica como personal, por sus grandes y sabios consejos que me han dado, por el sacrificio y esfuerzo realizado para apoyarme a alcanzar mis objetivos. Gracias por depositar su confianza en mí, se los agradeceré toda la vida y sobre todo porque gracias a ustedes he aprendido a luchar y esforzarme para cumplir mis sueños y seguir adelante.

A mis hermanos:

Felipa, Idelfonso, Agustín y Leobardo.

Con mucho cariño para ustedes que a pesar de la distancia, siempre me dieron consejos y ánimos de seguir adelante, gracias a todos ustedes, por ser parte de mí vida.

A Gilberto Abdón Aguilar para ti que siempre estás conmigo, gracias por apoyarme incondicionalmente, por tus consejos y tus palabras, a pesar del tiempo siempre formarás parte de mi vida.

A mis amigos:

Gracias a todos ustedes amigos que siempre estuvieron conmigo en cada uno de mis momentos difíciles y felices, siempre los recordare especialmente a ustedes mis queridas amigas: Isela Díaz López y Claribel Cárdenas, por ser un gran quipo de trabajo, las extrañare mucho.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS	iv
DEDICATORIA	v
ÍNDICE GENERAL	vi
ÍNDICE DE CUADROS	ix
Resumen.	xi
Abstract.....	xiii
INTRODUCCIÓN	1
Objetivo general.....	3
Objetivos específicos.	3
Hipótesis.	3
REVISIÓN DE LITERATURA	4
Cultivo de tomate	4
Macroalgas.	4
Clasificación de macroalgas de acuerdo a su color.....	5
Importancia y función ecológica de las macroalgas.....	8
Fenología.....	9
Usos de las macroalgas.....	9
Técnicas de extracción de biomoléculas.	10
Extractos de macroalgas y su aplicación en la agricultura.....	11
Biostimulantes.....	12
MATERIALES Y MÉTODOS	13
Descripción del sitio.	13
Extracción hidrotermica para la obtención de los extractos acuosos.	13

Caracterización de macroalgas y extractos acuosos.	14
Proteínas totales.....	14
Carbohidratos totales.....	15
Antioxidantes totales.....	16
Compuestos fenólicos totales.	16
Sulfatos.....	17
Fitohormonas (ácido indolacético, trans-zeatina).....	17
Perfil de monosacáridos.	18
Minerales.	19
Desarrollo experimental.....	19
Aplicación de tratamientos.....	19
Evaluación de variables agronómicas y rendimiento	20
Muestreo de frutos y hojas de plantas de tomate	20
Evaluación de variables de calidad nutracéutica del fruto de tomate.....	21
Sólidos solubles totales (SST).	21
Firmeza.....	21
Acidez titulable.....	21
pH.	21
Antioxidantes totales.....	21
Licopeno	22
Minerales de fruto.	22
Evaluación de variables relacionadas a tolerancia a estrés.....	23
Actividad enzimática fenilalanina amonio liasa	23
Cuantificación de peróxido de hidrógeno.....	24
Cuantificación de ácido jasmónico.....	24

Análisis estadístico	25
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	26
Caracterización de macroalgas crudas y extractos acuosos.	26
Perfil de monosacáridos de macroalgas crudas y extractos acuosos.....	30
Caracterización mineral de macroalgas crudas y extractos acuosos.....	32
Variables agronómicas asociadas al crecimiento de plantas de tomate.	34
Evaluación de variables de calidad nutracéutica del fruto de tomate.....	37
Análisis mineral del fruto de plantas de tomate	40
Compuestos asociados con la tolerancia al estrés	42
CONCLUSIONES.....	47
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Caracterización de macroalgas y extractos acuosos.....	29
Cuadro 2. Perfil de monosacáridos de macroalgas y extractos acuosos	31
Cuadro 3. Caracterización mineral de macroalgas	32
Cuadro 4. Caracterización mineral de extractos de macroalgas	33
Cuadro 5. Variables agronómicas asociadas al crecimiento de plantas de tomate tratadas con extractos de macroalgas	36
Cuadro 6. Calidad de frutos de tomates tratados con extractos de macroalgas	39
Cuadro 7. Análisis mineral del fruto de plantas de tomate	41
Cuadro 8. Cuantificación de variables relacionadas con la tolerancia a estrés de hojas de planta de tomate.....	45
Cuadro 9. Cuantificación de ácido jasmonico en hojas de plantas de tomate	46

Resumen

**APLICACIÓN DE EXTRACTOS HIDROTÉRMICOS DE MACROALGAS COMO
BIOESTIMULANTES EN PLANTAS DE TOMATE**

POR

**EVA CARMONA RODRÍGUEZ
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DRA. SUSANA GONZÁLEZ MORALES - ASESORA**

Saltillo, Coahuila, México

Noviembre 2019

La degradación de los recursos naturales asociada a la utilización de grandes cantidades de fertilizantes químicos ha impulsado a la búsqueda de nuevas alternativas para la agricultura. El objetivo de esta investigación es estudiar el efecto bioestimulante de extractos hidrotérmicos de tres macroalgas marinas mexicanas sobre plantas de tomate. La investigación se inició con la caracterización (azúcares totales, fenoles, proteínas, capacidad antioxidante, sulfatos, fitohormonas, perfil de monosacáridos y minerales) de las macroalgas *Macrocystis pyrifera*, *Sargassum* spp. y *Eisenia arborea* y los extractos acuosos (origen hidrotérmico) a partir de éstas. Se realizó el establecimiento del cultivo de tomate de la variedad Sun 7705 en un invernadero, el diseño experimental utilizado fue de bloques completamente al azar con tres tratamientos y un testigo, con un total de 15 repeticiones por tratamiento. Las aplicaciones de los extractos se realizaron vía foliar y vía drench a una dosis de 3 L/ha al momento del trasplante, floración y al llenado del primer racimo. Las variables evaluadas al cultivo están ligadas al crecimiento, calidad nutracéutica y tolerancia a estrés. Los resultados de la caracterización permitieron establecer que la macroalga y el extracto con el mayor contenido de los compuestos evaluados fue el de la especie *E. arborea*. En cuanto a las variables asociadas al crecimiento, el extracto que mostró mejores resultados fue el de *Sargassum* spp. vía foliar y vía drench, y en cuanto al rendimiento, el mejor extracto fue el de *E. arborea* vía drench. El extracto con el mayor contenido de minerales, fue el extraído de la *M. pyrifera* y la macroalga *Sargassum* spp. En cuanto a la calidad nutracéutica del fruto y tolerancia al estrés, los extractos que mostraron mejores resultados fueron los de *E. arborea* tanto vía foliar como vía drench y *Sargassum* spp. vía foliar.

Palabras clave: *Macrocystis pyrifera*, *Sargassum* spp., *Eisenia arborea*, tolerancia a estrés.

Abstract

APPLICATION OF HYDROTHERMIC EXTRACTS OF MACROALGES AS
BIOESTIMULANTS IN TOMATO PLANTS

BY

EVA CARMONA RODRÍGUEZ
MASTER OF SCIENCE IN HORTICULTURE

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

Saltillo, Coahuila, México

November 2019

The degradation of natural resources associated with the use of chemical fertilizers has prompted the search for new alternatives. It is for this reason that the objective of this research is to study the biostimulating effect of hydrothermal extracts of three marine macroalgae over tomato plants. The research began with the physic-chemical characterization (total sugars, phenols, proteins, antioxidant capacity, sulfates, phytohormones, monosaccharides profile and minerals) of macroalgae and aqueous extracts (hydrothermal extraction), specifically, *Macrocystis pyrifera*, *Sargassum* spp and *Eisenia arborea*. The establishment of tomato cultivation Sun 7705 variety, was carried out in a greenhouse, the experimental design evaluated was completely randomized blocks, with three treatments and one control, resulting a total of 15 repetitions per treatment. The applications of the extracts were done by foliar and via irrigation at a dose of 3 L / ha at the time of transplanting, flowering and filling the first cluster. The variables evaluated for the crop are linked to growth, nutraceutical quality and stress tolerance. The results of the characterization indicate that the macroalga and the extract with the highest content of these compounds were with *E. arborea*. Regarding the variables associated with growth, the treatment that showed the best results was *Sargassum* spp. via foliar and via irrigation, and in terms of yield, the best treatment was that of *E. arborea* via irrigation. The aqueous extract with the highest mineral content was *M. pyrifera* and the macroalga *Sargassum* spp. In terms of nutraceutical quality of the fruit and tolerance to stress, the treatment that showed the best results were extracts of *E. arborea* both via foliar and via irrigation, and *Sargassum* spp. via foliar.

Keywords: *Macrocystis pyrifera*, *Sargassum* spp., *Eisenia arborea*, stress tolerance.

INTRODUCCIÓN

La actividad agrícola ha provocado impactos negativos en la naturaleza debido a la aplicación de un alto volumen de agroquímicos (García-Gutiérrez *et al.* 2012). Debido a esto hoy en día se está promoviendo el uso de bioestimulantes, los cuales son sustancias o microorganismos aplicados a las plantas con el objetivo de mejorar la eficiencia nutricional, la tolerancia al estrés y/o los rasgos de calidad de los cultivos, independientemente de su contenido de nutrientes (Jardin 2015). Las algas marinas representan una fuente importante de compuestos únicos con una gran variedad de actividades biológicas que pueden explotarse para diferentes propósitos, razón por la cual grupos de investigación han centrado su atención en la extracción y evaluación de los productos de alto valor agregado (Cervantes-Cisneros *et al.*, 2017). Recientemente, los extractos de algas marinas se han utilizado como bioestimulantes, ya que anteriormente su uso en la agricultura se limitaba como fertilizante o fuente de materia orgánica. Los extractos de algas marinas contienen macromoléculas y metabolitos de importancia en el metabolismo de las plantas, los cuales son obtenidos de la extracción o solubilización del alga (González, 2004). La aplicación de extractos de algas marinas ha mostrado una amplia variedad de respuestas beneficiosas en plantas cultivadas (Rodríguez, 2016). Entre las técnicas utilizadas para la extracción de biomoléculas se destaca la extracción hidrotérmica, el uso de tecnologías modernas en el proceso hidrotérmico de altas presiones se ha aplicado debido a sus diversas ventajas como tecnología ecológica, incluido el uso mínimo o nulo de reactivos corrosivos y contaminantes, lo que aumenta la viabilidad de utilizar los compuestos recuperados de alto valor en los alimentos, campos alimentarios, farmacéuticos y de biorrefinería (Ruiz *et al.* 2013a,b y Ruiz *et al.* 2015a,b). El proceso hidrotérmico describe la acción del agua a temperatura y presión elevadas, en términos generales; Se define como reacciones que ocurren en soluciones acuosas a alta temperatura y presión en un sistema cerrado debido a los cambios fisicoquímicos en las propiedades del agua, incluyendo la densidad, la constante dieléctrica y los productos iónicos. Un

mayor rendimiento de extracción, un tiempo de proceso más corto, el mantenimiento de la bioactividad de los compuestos obtenidos y el bajo impacto ambiental son algunas de las ventajas de los procesos hidrotérmicos (Rodríguez-Jasso *et al.* 2013, Ruiz *et al.* 2015b, Cervantes-Cisneros *et al.*, 2017). Específicamente para las macroalgas, el proceso hidrotérmico se ha utilizado para el fraccionamiento de varias biomásas vegetales con el fin de extraer productos de alto valor agregado y compuestos bioactivos, como la extracción de alginato, fucoidan, manitol, galactano, etc, así como para la producción de oligosacáridos a partir de diferentes polímeros y como pretratamiento para la producción de bioetanol. Además, dependiendo de la especie de macroalga y las condiciones de extracción, se pueden obtener diferentes compuestos como polisacáridos, vitaminas, minerales, antioxidantes y proteínas (Balboa *et al.* 2013, Balboa *et al.* 2015 a,b, Cervantes-Cisneros *et al.*, 2017, Arguello-Esparza *et al.* 2019, Siller-Sánchez *et al.* 2019).

Las propiedades funcionales de los extractos varían con la proporción de los compuestos presentes y debido a esto se han realizados estudios como los de López (2000), al aplicar el extracto líquido comercial (Algaenzims^{MR}) de algas marinas del género *Sargassum.*, en cultivos de maíz, trigo y arroz los cuales alcanzaron rendimientos extras de 1 a 3 T ha⁻¹. Mientras que Hernández (2013), reporta que al utilizar extractos líquidos de *Ulva lactuca* y *Padina gymnospora* en semillas de *Solanum lycopersicum* se tiene una mejor respuesta de germinación, además, los tratamientos empleados directamente al sustrato mostraron una mayor longitud del tallo, raíz y peso de la planta que al ser aplicados de manera foliar y por otra parte confirieron resistencia a *Arternaria solani*.

Es por ello que en la presente investigación se busca explorar el uso de tres extractos hidrotérmicos de macroalgas como bioestimulantes, además de darle un uso a la biomasa marina que se produce durante el ciclo del alga.

Objetivo General

Estudio del efecto bioestimulante de extractos hidrotérmicos de tres macroalgas marinas sobre plantas de tomate.

Objetivos Específicos

Caracterización de las macroalgas marinas *Macrocystis pyrifera*, *Sargassum* spp. y *Eisenia arborea*.

Producción y caracterización de los extractos hidrotérmicos de las tres macroalgas marinas.

Evaluación de la efectividad biológica de los tres extractos hidrotérmicos de macroalgas en plantas de tomate variedad Sun 7705.

Hipótesis

Al menos uno de los extractos hidrotérmicos a partir de macroalgas aplicados vía foliar y riego, promoverá un efecto bioestimulante respecto al crecimiento y/o rendimiento, tolerancia a estrés y calidad nutracéutica del cultivo de tomate.

REVISIÓN DE LITERATURA

Cultivo de tomate

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) pertenece a la familia *Solanaceae* (Saleem *et al.*, 2015) y es uno de los cultivos hortícolas más importantes a nivel mundial. La producción nacional hasta julio del 2019 asciende a 1,358,261 ton, y a nivel estatal México obtuvo una producción de 20,075 millones de ton en el 2018, según datos reportados el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP, 2018). Además, se destaca como una de las hortalizas de más alto volumen de consumo en fresco (Casierra-Posada y Aguilar-Avendaño, 2008). El fruto de tomate es considerado como una fuente rica en licopeno, carotenoides, ácido ascórbico, vitamina A, vitamina E, flavonoides y potasio (Willcox *et al.*, 2003).

La mayoría de las plantas de cultivo como el tomate crecen en ambientes subóptimos, lo que impide que las plantas alcancen su potencial genético completo para el crecimiento y la reproducción (Bray *et al.*, 2000; Rockstrom y Falkenmark, 2000). Los factores de estrés abiótico como el calor, el frío, la sequía, la salinidad y el estrés nutricional tienen un gran impacto en la agricultura mundial, y se ha sugerido que reducen los rendimientos promedio en > 50% para la mayoría de las principales plantas de cultivo (Wang *et al.*, 2003). Además de esto, las plantas deben defenderse del ataque de una amplia gama de plagas y patógenos, incluidos hongos, bacterias, virus, nematodos e insectos herbívoros (Hammond-Kosack y Jones, 2000).

Macroalgas

Las macroalgas son organismos eucariotas fotosintéticos (con clorofila), los medios de reproducción (gametos, esporas, propágulos multicelulares) carecen de una capa de células protectoras. Son morfológicamente menos complejas que las plantas vasculares, ya que carecen de raíces, tallos, hojas, flores y frutos, lo mismo que de tejidos de conducción. Presentan coloraciones diferentes que dependen de la proporción relativa de los pigmentos presentes, su composición química y nutricional y se encuentran clasificadas de la

siguiente manera: color rojo (*Rhodophyta*), marrón (*Phaeophyta*) y verde (*Chlorophyta*) (Gupta y Abu-Ghannam 2011; Peinado *et al.*, 2014; Siler-Sánchez *et al.*, 2019). Son consideradas bentónicas cuando están fijadas a un sustrato o al fondo del mar y planctónicas cuando se encuentran libres y forman parte del plancton. Se encuentran en Baja California Norte – Sur, Costas del Caribe, Océano Pacífico y Antártico (Etcheverry, 1986).

Clasificación de macroalgas de acuerdo a su color

Algas pardas (*Phaeophyta*): Las algas pardas son el segundo grupo más abundante con aproximadamente 1,800 especies, su color se debe a la fucoxantina, un pigmento que le da esta característica. Se encuentran distribuidas desde zonas tropicales a polares de océanos en todo el mundo (Wijesinghe y Jeon, 2012). Su pared celular está constituida, principalmente por celulosa, ácido algínico y polisacáridos sulfatados. Estos compuestos actúan como fuente de reserva, resistencia y flexibilidad, para que el alga pueda soportar el oleaje y evitar la desecación, debido a que forman geles en la matriz intercelular e intervienen en el intercambio iónico (Wei *et al.*, 2013; Quitral *et al.*, 2012; Flórez, 2018).

Entre los polisacáridos que se destacan está el fucoidan, que además de fucosa y sulfato, también puede estar constituido por otros monosacáridos (manosa, galactosa, glucosa, xilosa, etc.) y ácidos urónicos, incluso grupos acetilo y proteínas (Li *et al.*, 2008; Rodríguez-Jasso *et al.*, 2013). El alginato estructura lineal compuesta por ácido (1 - 4) β -D-manurónico y ácido (1 -4) α -L-gulurónico (Cervantes-Cisneros *et al.*, 2015), conforma hasta 40% de macroalga seca (Cong *et al.*, 2014). Otro compuesto importante es la laminarina que puede estar presente hasta en un 35% de macroalga seca dependiendo de la especie, (Kadam *et al.*, 2015; Cervantes Cisneros *et al.*, 2017). Además este grupo de algas presenta mayor contenido de compuestos fenólicos al ser comparados con las algas verdes y rojas (Wijesinghe, W.A. y Jeon, Y.J. 2012). Por lo que se han demostrado actividades biológicas antivirales y actividades antioxidantes (Balboa *et al.*, 2013).

Algunos ejemplos de estas algas son: *Macrocystis pirifera*, ésta es considerada como el alga gigante por poseer características tales como estructura compleja y alta productividad, estas características le ayudan a eliminar indirectamente a las algas del sótano que compiten con los invertebrados sésiles (Miller *et al.*, 2018), sin embargo, esta alga se ve afectada por el cambio climático y principalmente por el aumento de la temperatura, esta variable afecta principalmente el rendimiento y propicia el rápido deterioro del tejido de algas (Mabin *et al.*, 2019). Por otra parte, en el estudio realizado por Hepburn y Hurdell (2005), demostraron que el crecimiento de las frondas de *M. pyrifera* fueron mayores al estar expuestas a altos porcentaje de colonización de hidroides, ya que estas colonias logran proporcionar amonio a través de sus excretas y esto favorece su crecimiento. En cuanto a la composición nutricional de esta alga, Ortiz *et al.*, (2009) al realizar el análisis de tres macroalgas entre ellas incluida *M. pyrifera*, obtuvieron concentraciones de 10.8-13.7% en el contenido de proteínas y 1,417.7-1,879.6 mg/100g de algas secas de aminoácidos. Por otra parte, en estudios realizados por Consuegra (2014), se menciona que esta alga es candidata para la extracción de antioxidantes polifenólicos, ya que al utilizar etanol al 75% como solvente en una relación sólido-líquido de 1:10 p/v a una temperatura de extracción de 37°C por 180 minutos, se logró extraer una cantidad de 374.4 ± 27.4 mg GAE/100gPS y una actividad de 84.9% de captura del radical DPPH. Estos compuestos son de gran importancia ya que los compuestos fenólicos presentan una función estructural en la pared celular, además de participar en la señalización, defensa y respuestas al estrés ambiental (Sung-Hwan *et al.*, 2012).

Por otra parte, se encuentra al género *Sargassum* spp. el cual tiene una distribución mundial, especialmente en regiones tropicales y subtropicales (Noiraksar *et al.*, 2014), además, representa un hábitat para diversas comunidades de algas epífitas, invertebrados y peces (Norris, 2010). Esta macroalga se ve afectada por el aumento del nivel del mar y las tormentas, lo cual ha provocado cambios tanto en las características naturales como en las comunidades costeras (Innocenti *et al.*, 2018). Van *et al.*, (2017) menciona que

desde mediados de 2014 hasta la fecha, la costa del Caribe mexicano experimentó una afluencia masiva de *Sargassum* spp a la deriva, que se acumuló en las costas, provocando la reducción de la entrada de la luz, el oxígeno (hipoxia o anoxia) y el pH, dando como resultado la eutrofización. En cuanto a su valor nutricional Casas-Valdez *et al.*, (2006) al analizar harina del alga *Sargassum* spp. lograron obtener un alto contenido de carbohidratos y reitera a esta alga como una excelente fuente de potasio, sodio, magnesio, calcio y de elementos traza como el hierro, cobre y zinc además de aporte vitamínico de retinol y vitamina C y aminoácidos como la lisina, fenilalanina, tirosina y treonina; además, presentó altas concentraciones de glutamina y asparagina. Por otra parte, Zermeño *et al.*, (2015) mencionan que al aplicar el extracto líquido de esta alga de manera foliar y al suelo en plantas de vid, aumentó el contenido de clorofila de las hojas, además de aumentar la acidez en las aplicaciones al suelo.

Eisenia arborea es un alga comestible (Sugiura *et al.*, 2006) considerada la segunda más abundante a lo largo de la costa occidental de la península de Baja California en México, al ser estudiada en diferentes análisis, Hernández-Carmona *et al.*, (2009) mostraron que es candidata para ser probada como alimento complementario para animales y humanos, ya que contiene aminoácidos esenciales y es baja en lípidos y fibra. Por otra parte, Landa (2015) al realizar un análisis de químico proximal mostró que los mayores constituyentes de esta alga sec, correspondieron a carbohidratos y cenizas, además, reiteró que el período de noviembre a marzo resultó ser la mejor época de cosecha, debido a que se encuentran los mayores rendimientos y la mayor actividad biológica en el alga. Mientras que Raja *et al.*, (2016) al realizar un análisis de la actividad antioxidante y perfil lipídico de extractos metanólicos y acuosos de tres algas, entre ellas *Eisenia arborea*, obtuvieron como resultado que el extracto metanólico contenía alta concentración de compuestos fenólicos y flavonoides con mayor actividad antioxidante y seguido de este el extracto acuoso.

Algas verdes (*Chlorophyta*): Las macroalgas verdes tienen una característica muy peculiar ya que son semejantes a las plantas de la tierra, debido a su contenido de clorofila, un pigmento que les da la característica de color verde, además de esto, presentan alrededor de 4,500 especies (Jung *et al.*, 2013; Arguello-Esparza *et al.*, 2019). Entre algunos ejemplos se encuentra principalmente *Ulva* spp. y *Codium* spp. (Quitral *et al.*, 2012).

Algas rojas (*Rhodophyta*): Este grupo de macroalgas presenta el mayor número de especies con más de 6,135 especies y una característica que las distingue es la presencia de carragenina y el agar (Hamed *et al.*, 2015; Lee *et al.*, 2016). Entre algunos ejemplos se encuentran principalmente las especies de *Gracilaria* spp. (pelillo), *Palmaria* spp., *Porphyra* spp. (luche) y *Chondrus crispus* (liquen) (Quitral *et al.*, 2012; Siller-Sánchez *et al.*, 2019).

Importancia y función ecológica de las macroalgas

Las macroalgas son responsables de más del 50% de la fijación del dióxido de carbono (CO₂) mediante la fotosíntesis y son un recurso de gran importancia económica. Pueden servir de alimento a un tercer nivel de consumidores (microorganismos descomponedores) y de igual manera al degradarse se transforman en sales minerales que nuevamente serán utilizadas por otras macroalgas. Las algas no sólo son productoras de materia orgánica, sino que desempeñan un papel importante en la producción y concentración de algunos elementos y compuestos químicos como nitrógeno orgánico, fósforo, azufre, zinc, entre otros, que aunque presentes en pequeña proporción, son imprescindibles para la vida en el mar,. Sin olvidar también su papel como productoras de oxígeno, liberado en la actividad fotosintetizadora (Llera y Álvarez, 2007). Desde el punto de vista ambiental, la biodiversidad de las macroalgas sirven como sustrato y refugio a numerosas especies de peces e invertebrados, reduciendo la pesca de ciertas especies amenazadas como las tortugas marinas, el caracol de pala y la langosta (Ondarza y Rincones, 2008).

Fenología

Las algas se reproducen mediante gametos, esporas, propágulos multicelulares además de esto carecen de una capa de células protectoras. Tienen diversos orígenes y habitan ambientes acuáticos, aéreos y terrestres; presentan tamaños microscópicos y macroscópicos. Sin embargo son mucho menos complejas que las plantas vasculares, ya que carecen de raíces, tallos, hojas, flores y frutos, lo mismo que de tejidos de conducción. En muchas especies de macroalgas, cualquier parte del talo vegetativo se desarrolla en estructuras reproductivas, en ocasiones ocupando casi todo el talo (Espinoza-Avalos, 2005). Estas presentan alternancia de generaciones nucleares, son principalmente del tipo heteromórfico y las distintas fases responden a diferentes condiciones ambientales (Espinoza-Avalos, 2005).

Usos de las macroalgas

La utilización de las macroalgas en la dieta alimentaria humana tiene muchos años atrás. Estas tienen diferentes usos dependiendo de la especie, por ejemplo son utilizadas como materia prima para elaborar diferentes coloides como el agar, los carragenanos y el alginato. Gracias a sus propiedades fisicoquímicas, estas sustancias actúan como agentes gelificantes, espesantes y estabilizadores (Mendoza ,1999). Son además un valioso recurso natural para la industria de los alimentos, como por ejemplo las carrageninas se destinan al sector alimenticio como aditivos de los derivados de la leche y a la elaboración de otros productos de uso doméstico (dentífricos, geles de baño, etc.). Su explotación en nuestro país puede contribuir a mejorar la realidad socioeconómica de muchas comunidades costeras, las cuales, en su mayoría, viven en condiciones de extrema pobreza, además de sus cualidades nutricionales, así como para la elaboración de dietas balanceadas para animales (Ondarza y Rincones, 2008; Cervantes-Cisneros *et al.*, 2017; Arguello-Esparza *et al.*, 2019).

Técnicas de extracción de biomoléculas

Se conocen distintas formas de extracción de biomoléculas entre ellas: líquido-sólido, fraccionada, por ultrasonido, por solución, filtración, destilación y líquido-líquido. Los extractantes más comunes son: metanol, agua, ácido clorhídrico o sulfúrico, etanol, cloroformo, hexano, etc. La calidad del contenido de metabolitos depende tanto de la especie elegida como del proceso de extracción-solubilización del ficocoloide (hidrólisis ácida o alcalina, temperatura, duración, etc). Hay extractos comerciales que se venden hoy en día y no indican las especies de algas empleadas, ni el proceso seguido para su elaboración, además se debe de tomar en cuenta que no todas las algas sirven para todas las aplicaciones y no tienen el mismo efecto (García y Quintana, 2017). Los principios activos son obtenidos mediante diversas técnicas de extracción y entre estas destaca la extracción en fluidos supercríticos conocida también como extracción hidrotérmica, ya que es más respetuosa con el medio ambiente que los métodos de extracción convencionales (Gonzalez, 2004). Este proceso se utiliza para modificación estructural de los materiales entre ellos la despolimerización de la hemicelulosa (oligómeros, monómeros), alteración/degradación de la lignina (compuestos fenólicos) y el aumento de la disponibilidad de la celulosa en las biomasas lignocelulósicas como pajas y bagazos (Ruiz, 2015b). El proceso hidrotérmico describe la acción del agua a temperatura y presión elevadas, en términos generales; se define como reacciones que ocurren en soluciones acuosas a alta temperatura y presión en un sistema cerrado debido a los cambios fisicoquímicos en las propiedades del agua, incluyendo la densidad, la constante dieléctrica y los productos iónicos. La explosión de vapor, el agua supercrítica y subcrítica y el agua comprimida en caliente se pueden considerar como un proceso de tratamiento hidrotermal, dependiendo de las condiciones de temperatura y presión empleadas (Rabemanolontsoa y Saka 2016). Un mayor rendimiento de extracción, un tiempo de proceso más corto, el mantenimiento de la bioactividad de los

compuestos obtenidos y el bajo impacto ambiental son algunas de las ventajas de los procesos hidrotermales.

Específicamente para las macroalgas, el proceso hidrotérmico se ha utilizado para el fraccionamiento de varias biomásas vegetales con el fin de extraer productos de alto valor agregado y compuestos bioactivos, como la extracción de alginato, fucoidan, manitol, galactano, etc, así como para la producción de oligosacáridos a partir de diferentes polímeros y como pretratamiento para la producción de bioetanol. Además, dependiendo de la especie de macroalga y las condiciones de extracción, se pueden obtener diferentes compuestos como polisacáridos, vitaminas, minerales, antioxidantes y proteínas (Balboa *et al.*, 2013; Balboa *et al.*, 2015 a,b; Cervantes-Cisneros *et al.*, 2017; Arguello-Esparza *et al.*, 2019; Siller-Sánchez *et al.*, 2019).

Extractos de macroalgas y su aplicación en la agricultura

En México, las algas pueden considerarse un recurso local barato, abundante y accesible a lo largo de la costa mexicana. Los principales polisacáridos de las macroalgas son el alginato, el cual es extraído de las algas pardas, por otra parte, está el agar y la carragenina que se extraen de las algas rojas (McHugh, 1987). Los alginatos tienen propiedades para formar geles y soluciones altamente viscosas (Hernández-Carmona *et al.*, 2012). Autores como Yabur y Hernández-Carmona, (2007) mencionan que los alginatos son capaces de promover el crecimiento de plantas, mientras que Iwasaki y Matsubara (2000) hablan sobre la promoción del crecimiento de las raíces. Anteriormente se ha enfatizado sobre los efectos de los extractos líquidos en las primeras etapas del crecimiento de las plantas y se menciona que estos actúan en el sistema radicular por lo tanto favorecen su crecimiento, y debido a esto proporciona una señal del valor y la calidad de la cosecha futura (Hernández-Herrera *et al.*, 2018). Hay abundantes estudios que tratan sobre el uso de algas marinas y sus derivados en la agricultura, y son muchos los países que siguen esta práctica, pues los resultados en los rendimientos y la calidad de las cosechas son muy satisfactorios, así como el mejoramiento de las condiciones del suelo por la incorporación de la materia orgánica (López, 2000).

La aplicación de extractos de algas verdes, pardas y rojas como acondicionador del suelo o fertilizantes foliares ha mostrado una amplia variedad de respuestas benéficas en el crecimiento y rendimiento de plantas cultivadas (Vásquez, 2014). Esto se ve reflejado al utilizar extractos líquidos de *Ulva lactuca* y *Padina gymnospora* en semillas de tomate ya que muestran una mejor respuesta de germinación y en consecuencia mayor vigor e incrementos en la longitud de las plántulas. Además, se observó que los tratamientos empleados directamente al sustrato resultaron más eficaces en la longitud del tallo, raíz y peso de la planta que al ser aplicadas vía foliar y por otra parte confirieron resistencia a *Artemaria solanii* (Hernández, 2013). Mientras que al aplicar un bioestimulante concentrado a base de extractos líquidos de algas marinas pardas por Granados, (2015) en el cultivo de berenjena se obtuvo un rendimiento bruto de 27,117.35 kg/ha y una producción de 24,849.98 kg/ha.

Bioestimulantes

Actualmente se emplean una amplia gama de productos denominados bioestimulantes (cualquier sustancia o microorganismo aplicado a las plantas con el objetivo de mejorar la eficiencia nutricional, la tolerancia al estrés y/o los rasgos de calidad de los cultivos, independientemente de su contenido de nutrientes), como una alternativa para la producción de cultivos (García, 2017; Zermeño *et al.*, 2015; Du Jardin, 2015). Los bioestimulantes se clasifican en siete grupos según su origen en: (1) ácidos húmicos y fúlvicos, (2) hidrolizados proteicos y otros compuestos que contienen nitrógeno, (3) extractos de algas y botánicos, (4) quitosán y otros biopolímeros, (5) compuestos inorgánicos, (6) hongos benéficos y (7) bacterias benéficas (Du Jardin, 2015). El desarrollo de nuevos productos se ha realizado para la protección y nutrición vegetal. Dichos productos denominados bioplaguicidas o biofertilizantes o bioestimulantes según su funcionalidad, estos últimos siendo cada vez más utilizados en la agricultura mundial como complemento o alternativa al uso de los plaguicidas tradicionales (FAO, 2017).

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del sitio

La caracterización de macroalgas y la elaboración de los extractos hidrotérmicos a partir de macroalgas junto con su caracterización se realizaron en el Laboratorio de Biorrefinería de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Coahuila.

La determinación de variables bioquímicas del cultivo de tomate se realizó en el Laboratorio de Fisiología Vegetal y el experimento en plantas de tomate se llevó a cabo en un invernadero tipo capilla de mediana tecnología (7 x 14 m) del Departamento de Horticultura de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Macroalgas

Las macroalgas fueron adquiridas de empresas establecidas en Puerto Morelos, Quintana Roo (*Sargassum* spp.) y en Ensenada Baja California Norte (*Macrocystis pyrifera* y *Eisenia arborea*). La biomasa de macroalgas fue lavado con agua potable para eliminar el exceso de sales, posteriormente fueron secadas, molidas en licuadora y tamizadas a un tamaño de partícula de 0.5 a 2 mm.

Extracción hidrotérmica para la obtención de los extractos acuosos

Para la caracterización del extracto acuoso a base de macroalgas, se pesaron 16 g de cada macroalga (con un tamaño de partícula de 0.5 a 2 mm), se colocaron en un reactor tipo Bach de conducción-convección y se agregaron 400 mL de agua destilada. Se encendió el reactor y al alcanzar la temperatura de 160°C se detuvo el proceso, apagando el reactor y recirculando agua fría a través de la chaqueta de enfriamiento del reactor, una vez enfriado el reactor, el extracto se almacenó a -20 °C.

Del extracto hidrotérmico recuperado de cada una de las macroalgas se procedió a analizar las siguientes variables: proteínas totales, azúcares totales,

antioxidantes totales, fenoles totales, sulfatos, perfil de monosacáridos, fitohormonas (Ácido indolacético y trans-zeatina) y minerales.

Caracterización de macroalgas y extractos acuosos

- Macroalgas crudas

Para la caracterización de las macroalgas crudas se realizó una hidrólisis con ácido trifluoroacético (TFA), para lo cual se pesaron 10 mg de cada una de las macroalgas (partícula de 0.5 a 2 mm) y se colocaron en tubos de ensayo con rosca, posteriormente se le agregaron 2 mL del TFA (2 M), la mezcla se colocó en baño maría durante 30 minutos, una vez terminado el tiempo se colocaron en una estufa a 100°C durante 4 horas, durante ese tiempo se agito cada tubo, una vez terminado el tiempo se sacaron de la estufa y se centrifugaron a 12,000 rpm durante 10 minutos, para obtener solo el sobrenadante y proceder a su caracterización.

- Extractos acuosos

Para la caracterización del extracto acuoso a base de macroalgas, se pesaron 16 g de cada macroalga (partícula de 0.5 a 2 mm), se colocaron en un reactor tipo Bach de conducción-convección y se agregaron 400 mL de agua destilada. Se encendió el reactor y al alcanzar la temperatura de 160°C se detuvo el proceso, apagando el reactor y recirculando agua fría a través del chaleco del reactor, una vez enfriado el reactor, el extracto se almacenó a -20 °C.

Después de realizar el hidrolizado y la obtención del extracto de cada una de las macroalgas se procedió a analizar las siguientes variables: proteínas totales, carbohidratos totales, antioxidantes totales, fenoles totales, sulfatos, perfil de monosacáridos, fitohormonas (Ácido indolacético y trans-zeatina) y minerales.

Proteínas totales

- Extracto acuoso (método de Bradford)

Para la cuantificación de proteínas de los extractos de macroalgas se utilizó el método de Bradford (Bradford, 1976). Se tomaron 100 µL del extracto o estándar (albúmina) y se le agregó 1 mL de reactivo Bradford (Reactivo

perteneciente al kit de Pierce “Coomassie Plus™ - The Better Bradford Assay”). Después de 10 minutos, se tomó lectura a una longitud de onda de 595 nm en un espectrofotómetro (Thermo Fisher Scientific G10S UV-Vis). Los resultados se expresaron en mg g^{-1} de peso seco.

- Macroalga cruda (método de Microkjendal)

La cuantificación de proteínas (nitrógeno total) de la macroalga cruda se realizó sometiendo a cada una de las muestras (0.5 g) a una digestión con mezcla digestora (sulfato de potasio, óxido de mercurio rojo, ácido sulfúrico concentrado, sulfato de cobre) en matraces bola. Se dejó digerir hasta que la muestra tomara un color verde transparente o verde limón (30 min). Se esperó a que se enfriara el matraz que contenía la muestra digerida y se destiló con el equipo Microkjendal, en el cual se adicionó hidróxido de sodio al 50%, posteriormente en vasos de precipitado de 100 mL se colocaron 30 mL de ácido bórico y 4 gotas de indicador mixto (rojo de metileno y verde bromocresol disueltos en alcohol al 95%), se colocó el vaso en el tubo de destilación para recibir la muestra hasta llegar a un volumen de 60 mL. Después de llevar a cabo los destilados se procedió a realizar la titulación de las muestras con ácido sulfúrico al 0.025 N.

Carbohidratos totales

La cuantificación de carbohidratos totales se realizó en base a la metodología de Ludwig y Goldberg (1954). Se utilizó el reactivo de antrona (9,10-dihidro-9-oxoantraceno: H_2SO_4 al 98%, en la cual se mezcló 1 g del reactivo con 500 mL de H_2SO_4 en un frasco ámbar. Después de haber realizado la mezcla se colocaron 250 μL de la muestra (hidrolizado, extracto) en tubos de ensayo (por triplicado), posteriormente se colocaron en un baño de hielo por 5 minutos, se agregaron 500 μL de la solución de antrona y se agitó la mezcla con vórtex. Después de esto se colocaron los tubos en baño maría a 80°C por 15 minutos, se enfriaron en baño de hielo por 5 minutos, se agitó nuevamente la mezcla en vórtex y se colocó en la placa 280 μL de cada tubo. La lectura de las muestras se llevó a cabo en un lector de placas (TECAN Sunrise™ RC Básico). La curva

de calibración fue realizada usando dextrosa con un rango de concentración desde 0 a 300 ppm. Los resultados se expresaron en mg g^{-1} de peso seco (PS).

Antioxidantes totales

La cuantificación de actividad antioxidante se realizó con la técnica de DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) se adaptó para medir compuestos hidrófilos y esto se realizó de acuerdo a la metodología de Brand-Williams *et al.*, (1995) con modificaciones. Se preparó una solución madre mezclando 10 mg (2.53 mM) del radical DPPH, en un matraz de 10 mL aforado con metanol. La solución de Trolox (estándar) fue preparada a una concentración 2.5 mM, este se agregó a un matraz de 50 mL y fue aforado con metanol. Una vez obtenido el filtrado tanto del hidrolizado como del extracto con membranas de PVDF de 0.45 μm de tamaño de poro. La lectura se realizó en lector de placas (BioTek, modelo ELx808, VT, EE. UU.), para lo cual se tomaron 50 μL de cada muestra sin dilución, se colocaron en la placa y se agregaron 50 μL de la solución DPPH a una concentración 0.5 mM, se dejó reposar 15 min y se realizó la lectura a 530 nm. Los resultados se expresaron en mM CAET g^{-1} PS.

Compuestos fenólicos totales

La cuantificación de fenoles totales se realizó en base a la metodología de Yu y Dahlgren (2000). El hidrolizado y el extracto se filtraron con membranas de PVDF de 0.45 μm de tamaño de poro. Se colocaron 20 μL de muestra (el extracto fue diluido en una relación 1:10), se adicionaron 120 μL de carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 15%, 30 μL del reactivo Folin-Ciocalteu y 400 μL de agua destilada, se sometió a vórtex por 30 segundos, se colocaron las muestras en baño María a 50°C por 5 minutos. Se tomaron 280 μL de muestra de cada uno de los tubos y se colocaron en una placa, la absorbancia se leyó a una longitud de onda de 700 nm en lector de placas (TECAN SunriseTM RC Básico). Se preparó una curva de calibración con ácido gálico. Los resultados se expresaron en mg g^{-1} de PS.

Sulfatos

La cuantificación de sulfatos tanto del hidrolizado como del extracto se realizó en base a la metodología de Dodgson (1961). Se realizó una mezcla de gelatina marca Oxoid, 20 mL de agua destilada y 100 mg de cloruro de bario semigelatinoso. Para la lectura de las muestras se agregaron 50 μL de la muestra, 950 μL de ácido tricloroacético ($\text{C}_2\text{HCl}_3\text{O}_2$) 3% y 250 μL del reactivo gelatina-bario en tubos de 2 mL. La mezcla se agitó en vórtex (GENIE 1 Tocuh Mixer Modelo SI-0136) durante 30 segundos y se dejó reposar de 15-20 minutos. La lectura de absorbancia se realizó a una longitud de onda de 360 nm en un espectrofotómetro (Thermo Fisher Scientific G10S UV-Vis). Se preparó una curva de calibración con sulfato de sodio. Los resultados se expresaron en mg g^{-1} de PS.

Fitohormonas (ácido indolacético y trans-zeatina)

- Ácido indolacético (AIA)

El sobrenadante de la hidrólisis de la macroalga y el extracto obtenido fueron filtrados con membranas de PVDF de 0.45 μm de diámetro de poro, se agitaron con vórtex (GENIE 1 Tocuh Mixer Modelo SI-0136) y se desgasificaron mediante el uso de sonicador (BRANSON Modelo 1510R-DTH) por 5 min. La cuantificación de AIA se efectuó mediante un cromatógrafo de líquidos (LC) marca Agilent Modelo 1120 con detector UV. El método analítico utilizado fue el establecido previamente para el análisis de ácido salicílico (Forcat *et al.* 2008). Los parámetros utilizados fueron los siguientes: Columna Waters C-18 (150mm x 3.9mm, 5 μm); fase móvil A (agua: acetonitrilo: ácido fórmico) (94.9: 5:0.1%); fase B (acetonitrilo: agua: ácido fórmico) (94.9:0.5:0.1); proporción A: B= 60:49; flujo 0.5 mL/min y longitud de onda de 250nm. Para la identificación y cuantificación de AIA se realizó una curva patrón con el estándar de la fitohormona (marca SIGMA, 97% de pureza) diluido en la fase de extracción. Los resultados se expresaron en mg g^{-1} de PS.

- Trans-zeatina

El sobrenadante de la hidrólisis de la macroalga y el extracto obtenido fueron filtrados mediante membranas de PVDF de 0.45 μm de diámetro de poro y se agitaron en vórtex (GENIE 1 Tocuh Mixer Modelo SI-0136). El sobrenadante filtrado fue transferido a viales para automuestreador y desgasificado mediante el uso del sonicador (BRANSON Modelo 1510R-DTH) por 5 min para su posterior inyección en el cromatógrafo de líquidos bajo las condiciones cromatográficas específicas. La cuantificación se realizó mediante un cromatógrafo de líquidos (LC) marca Agilent Modelo 1120 con detector UV. El método analítico se estableció con los siguientes parámetros (Macias *et al.*, 2014): Columna Waters C-18 (150mm x 3.9mm, 5 μm); fase móvil A: ácido acético (0.1M); fase móvil B: acetonitrilo (100%); proporción 50:50; flujo: 0.8 mL/min y una longitud de onda de 205nm. Para la identificación y cuantificación de trans-zeatina se realizó una curva patrón con el estándar de la fitohormona (marca SIGMA, 97% de pureza) diluido en la fase de extracción. Los resultados se expresaron en mg g^{-1} de PS.

Perfil de monosacáridos

Para el análisis del perfil de monosacárido se cuantificó glucosa, galactosa, manitol, arabinosa y fucosa, mediante la metodología de Juárez *et al.*, (2016). Para esto se utilizó el hidrolizado de las macroalgas, extracto de las macroalgas concentrado y extracto de macroalgas hidrolizado con H_2SO_4 . Los hidrolizados se filtraron a través de un filtro de nailon de 0.45 μm de diámetro de poro. La lectura se realizó mediante un Cromatógrafo de líquidos (HPLC) marca Agilent 1260 Infinity II, utilizando curvas de calibración de estos compuestos puros para determinar sus concentraciones. Se usó una columna Metacarb 87 H (300 x 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 g^{-1} de PS.

Minerales

Para analizar la macroalga cruda se sometió a cada una de las muestras (5 repeticiones por alga) a una digestión con ácido nítrico, se pesaron 0.5 g de muestra seca en un vaso de precipitados de 100 mL, se le agregaron 30 mL de HNO₃ concentrado, se tapó el vaso con un vidrio de reloj y dejó digerir hasta la desintegración de la materia orgánica (4-8 horas) evitando que llegara a sequedad, se agregó ácido nítrico hasta los 30 mL. Cuando la solución estaba completamente transparente, se dejó enfriar y se filtró con papel filtro Whatman No. 42, posteriormente se aforó cada una de las muestras en un matraz volumétrico de 50 mL con agua desionizada. La solución resultantes se analizó con un espectrómetro de emisión de plasma Inductively Coupled Plasma (ICP), Termo Jarrel Ash Irish Advantage modelo 74400 en el Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional Unidad Saltillo (CINVESTAV).

Desarrollo experimental en invernadero

El experimento se inició con la siembra de la semilla de tomate variedad Sun 7705 (Nunhems) en un invernadero tipo capilla del Departamento de Horticultura de la UAAAN. El trasplante se realizó en bolsas de polietileno color negro con capacidad de 10 L las cuales se llenaron con una mezcla de peat moss: perlita (1:1). El riego se aplicó mediante un sistema de riego dirigido usando la solución nutritiva Steiner (Steiner 1961) durante el ciclo del cultivo.

Aplicación de tratamientos

Los tratamientos consistieron en la aplicación de extractos de macroalgas de origen hidrotérmico. Las aplicaciones de los extractos se realizaron vía foliar y vía drench. Se tuvieron un total de siete tratamientos que se describen a continuación: T1) un testigo absoluto; T2) plantas tratadas con extracto de *M. poryfera* aplicado vía foliar; T3) plantas tratadas con extracto de *M. poryfera* vía drench; T4) plantas tratadas con extracto de *Sargassum* spp. vía foliar; T5) plantas tratadas con extracto de *Sargassum* spp. vía drench; T6) plantas

tratadas con extracto de *E. arborea* vía foliar; T7) plantas tratadas con extracto de *E. arborea* vía drench.

Las aplicaciones de los extractos fueron a una dosis de 3 L ha⁻¹. Se realizaron un total de 3 aplicaciones durante el ciclo del cultivo: la primera aplicación se realizó a los cinco días después del trasplante (DDT), la segunda a los 20 DDT en etapa de floración y la tercera a los 35 DDT al comienzo del llenado del primer racimo de frutos. Cada tratamiento consistió en 15 plantas, teniendo un total de 155 plantas de tomate.

Evaluación de variables agronómicas y rendimiento

La evaluación de variables agronómicas (altura, diámetro de tallo, número de hojas, número de racimos) se realizó 24 horas después de la aplicación de tratamientos durante las tres etapas del cultivo (trasplante, floración y llenado del primer racimo), se realizó un total de 3 evaluaciones. La colecta de frutos se realizó de acuerdo a la escala visual USDA (rojo claro). Las variables de longitud y peso seco de raíz, biomasa seca aérea y radicular se determinaron al final del ciclo del cultivo.

Muestreo de frutos y hojas de plantas de tomate

La colecta de frutos de tomate a analizar se realizó de manera uniforme (rojo claro) de acuerdo con la escala visual del USDA. Se seleccionaron cinco frutos por planta del mismo tamaño, siendo un total de 15 frutos por tratamiento. El muestreo de hojas de tomate se realizó cada 24 horas después de aplicar los tratamientos durante las etapas de trasplante, floración y fructificación, las características que se tomaron en cuenta para el muestreo fueron en hojas jóvenes totalmente extendidas sin daños, las cuales fueron colectadas en bolsas de aluminio y colocadas inmediatamente en un termo con nitrógeno líquido, las muestras de fruto y hojas fueron llevadas al laboratorio y almacenadas a -80°C. Posteriormente las muestras fueron liofilizadas a -84°C y 0.060 mbar en un liofilizador (Labconco, FreeZone 2.5 L modelo, Kansas City, MO, EE. USA). Después se procedió a realizar la molienda de 15 muestras por

tratamiento hasta obtener un polvo fino, el cual se utilizó para realizar la determinación de tolerancia a estrés de muestras de hoja (actividad enzimática fenilalanina amonio liasa y cuantificación de peróxido de hidrógeno), así como también se usó el fruto liofilizado y molido para la determinación de la calidad nutracéutica (actividad antioxidante, licopeno y minerales).

Evaluación de variables de calidad nutracéutica del fruto de tomate

Sólidos solubles totales (SST)

Se midió colocando una gota del jugo del tomate en un refractómetro digital (ATAGO, MASTER – 100Hmodel, Bellevue, WA, EE. USA), en total se analizaron 5 frutos por tratamiento. Los resultados se expresaron en °brix.

Firmeza de frutos

Se determinó con un penetrómetro manual (Wagner Instruments, modelo FDK 20, Greenwich, CT, EE. USA.) Para lo cual se tomaron medidas en tres puntos diferentes del fruto y se obtuvo el promedio. Los resultados se expresaron en kg cm^{-2} .

Acidez titulable

Se determinó mediante la técnica de colorimétrica Oficial Methods of Analysis of the AOAC (1990) y los resultados se expresaron en porcentaje de ácido cítrico.

pH

El pH se determinó usando un potenciómetro digital (Modelo EF 98129).

Actividad antioxidante

La actividad antioxidante se determinó con la técnica de DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) y se adaptó para medir compuestos hidrofílicos de acuerdo a Brand-Williams *et al.*, (1995), con modificaciones. La solución madre se preparó mezclando 10 mg (2.53 mM) del radical DPPH en un matraz de 10 mL aforado con metanol. La solución de Trolox (estándar) fue preparada a una

concentración 2.5 mM, este se agregó a un matraz de 50 mL y fue aforado con metanol. Para la cuantificación se utilizaron muestras de fruto que ya se encontraban liofilizadas, se pesaron 100 mg del tejido en tubos de 2 mL y agregaron 1.5 mL del extractante (metanol puro), se agitaron en vórtex (GENIE 1 Tocuh Mixer Modelo SI-0136) por 20 seg, luego se sonicaron mediante un sonicador (BRANSON Modelo 1510R-DTH) por 10 min y centrifugaron a 12,000 rpm. El extracto se filtró mediante con membranas de PVDF de 0.45 μm de diámetro de poro. Una vez obtenido el filtrado, la lectura se realizó en lector de placas (BioTek, modelo ELx808, VT, EE. UU.), para lo cual se tomaron 50 μl de cada muestra sin dilución, se colocaron en la placa y se agregaron 50 μl de la solución DPPH a una concentración 0.5 mM, se dejó reposar 15 min y se realizó la lectura a 530 nm. Los resultados se expresaron en mM CAET g⁻¹ PS.

Licopeno

La cuantificación de licopeno se realizó de acuerdo a la técnica reportada por Bunghez *et al.*, (2011). Se pesaron 100 mg del tejido seco del fruto de tomate ya triturado de cada tratamiento con su respectiva repetición y se colocó en tubos de 2 mL, se agregaron 1.5 mL de hexano a cada tubo, se agitaron en vórtex (GENIE 1 Tocuh Mixer Modelo SI-0136) por 20 seg, luego se sonicaron mediante el uso del sonicador (BRANSON Modelo 1510R-DTH) por 10 min y se centrifugaron a 12,000 rpm. El extracto se filtró mediante membranas de PVDF de 0.45 μm de diámetro de poro. La lectura de absorbancia se realizó a una longitud de onda de 472 nm en un espectrofotómetro (Thermo Fisher Scientific G10S UV-Vis). La concentración fue obtenida mediante la curva de calibración previamente trazada con estándar de licopeno para ello se preparó una solución madre de licopeno a 100 ppm. Los resultados se expresaron en mg 100 g⁻¹ PS.

Minerales de fruto

Para analizar los minerales del fruto de tomate se sometieron a cada una de las muestras (5 repeticiones por tratamiento) a secado en estufa, posteriormente se pesaron 0.5 g de muestra seca en un vaso de precipitados de 100 mL, se le

agregaron 30 mL de HNO₃ concentrado, se tapó el vaso con un vidrio de reloj y dejó digerir hasta la desintegración de la materia orgánica (4 horas) evitando que llegara a sequedad. Se agregó ácido nítrico hasta los 30 mL, cuando la solución estaba completamente transparente, se dejó enfriar y se filtró con papel filtro Whatman No. 42, posteriormente se aforo cada una de las muestras en un matraz volumétrico de 50 mL con agua desionizada. La solución resultante se analizó en un espectrómetro de emisión de plasma Inductively Coupled Plasma (ICP), Termo Jarrel Ash Irish Advantage modelo 74400 del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional Unidad Saltillo (CINVESTAV). Los resultados se expresaron en mg g⁻¹ PS.

Evaluación de variables relacionadas a tolerancia a estrés

Actividad enzimática fenilalanina amonio liasa (PAL)

La actividad de la enzima fenilalanina se determinó de acuerdo a Sykłowska-Baranek *et al.*, (2015) con modificaciones. Para la medición de las muestras se utilizó extracto enzimático, el cual fue preparado pesando 100 mg de muestra liofilizada en un tubo de 2 ml, se agregaron 20 mg de polivinil pirrolidona (PVP – estabilizador de enzimas) y 1.5 mL de buffer de fosfatos pH 7-7.2 (0.1 M). La mezcla se agitó en vórtex (GENIE 1 Tocuh Mixer Modelo SI-0136), luego se sonicó mediante el uso del sonicador (BRANSON Modelo 1510R-DTH) por 5 min y se centrifugó a 12,500 rpm por 10 minutos a 4°C. El extracto se filtró mediante membranas de PVDF de 0.45 µm de diámetro de poro. Para la medición de las muestras se agregaron 32 µL del extracto enzimático y se añadieron 288 µL de L- fenilalanina (6 mM), posteriormente se colocaron las muestras en baño maría durante un tiempo de 30 minutos a 40°C, transcurrido el tiempo se detuvo la reacción con 80 µL de ácido clorhídrico (HCL) 5 N, se colocaron las muestras en baño de hielo y se adicionaron 1.6 mL de agua destilada, se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 290 nm en un espectrofotómetro (Thermo Fisher Scientific G10S UV-Vis). Se realizó una curva de calibración con ácido transcinámico y los resultados se expresaron

como Unidades (U), que equivalen a la producción de 1 μM de ácido transcinámico por minuto por proteínas totales (mg g^{-1}).

Cuantificación de peróxido de hidrógeno

El peróxido de hidrógeno se cuantificó en las hojas de plantas de tomate según la metodología de Patterson *et al.*, (1984) con modificaciones. Se pesaron 50 mg de tejido foliar liofilizado, se agregó 1 ml de ácido tricloracético (TCA al 5%) y 0.15 g de carbón activado. Posteriormente, la mezcla se pasó a un tubo cónico y se centrifugó a 10,000 rpm durante 20 minutos a 4°C. El sobrenadante resultante se separó del precipitado en un tubo nuevo al cual se le añadieron 2.5 mL de la solución de TCA al 5%, se le agregó una solución de amoníaco al 10% hasta llegar a un pH de 8.4, la solución fue filtrada con filtros de PVDF de 0.45 μm de poro. El filtrado se dividió en alícuotas de 1 ml. A una de estas alícuotas (alícuota BLANCO) se le añadieron 100 μL de catalasa (conteniendo 8 μg de catalasa) y se mantuvo a temperatura ambiente durante 10 minutos. Posteriormente, a ambas alícuotas con catalasa (BLANCO) y sin catalasa (MUESTRA), se les añadió 1 mL del reactivo colorimétrico (10 mg de 4-aminoantipirina, 10 mg de fenol y 5 mg de peroxidasa (150 U mg^{-1}) los cuales fueron disueltos en 50 ml de buffer de ácido acético (100 mM, pH 5.6). Se incubó durante 10 min a 30°C. Trascurrido el tiempo de reacción se determinó la absorbancia a 505 nm mediante un espectrofotómetro (S2150 UV- UNICO). El cálculo de la concentración de peróxido de hidrógeno se determinó mediante el uso de la ecuación de Lambert-Beer, utilizando el grosor de la celdilla (1cm^{-1}), la absorción molar del peróxido de hidrógeno ($40 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) y la absorbancia de la muestra (Zhou *et al.*, 2006). Los resultados se expresaron en $\mu\text{mol/g PS}$.

Ácido jasmónico (AJ)

Para cuantificar AJ se utilizaron hojas de tomate liofilizadas, la extracción del AJ se realizó pesando 50 mg de tejido macerado en un tubo de 2 mL, se agregaron 1.5 mL de la solución de extracción (60 % metanol: 39% agua: 1% ácido acético), se agitó en vórtex (GENIE 1 Tocuh Mixer Modelo SI-0136),

posteriormente fue sonicó por 10 min (BRANSON Modelo 1510R-DTH) y finalmente se centrifugó a 12,000 rpm durante 10 min, se realizó el filtrado con filtros de PVDF de 0.45 μm de poro y se colocó en otro tubo nuevo (Kramell *et al.* 1995; Michelena *et al.* 2001). La cuantificación de ácido jasmónico (AJ) se realizó en un equipo de cromatografía líquida Agilent compact 1120 con detector UV de longitud de onda variable. La fase móvil utilizada fue 60% metanol: 39% agua: ácido acético al 1%. El flujo fue de 0.60 mL min⁻¹ utilizando una columna Hypersil ODS de 25 cm x 4.6 mm x 5 μm , la longitud de onda utilizada fue 230 nm con un tiempo de análisis de 20 min. La curva de calibración se estandarizó utilizando (\pm) ácido jasmónico (Sigma Aldrich) grado estándar analítico con una pureza del >99%, disueltos en la fase móvil. Los resultados se expresaron en mg g⁻¹ PS.

Análisis estadístico

El diseño experimental utilizado fue de bloques completamente al azar (BCA) con tres tratamientos y un testigo, con un total de 15 repeticiones por tratamiento. El análisis de varianza y comparación de medias según LSD Fisher ($P \leq 0.05$), se realizaron mediante el uso del Software InfoStat, 2018.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de macroalgas crudas y extractos acuosos

Los resultados de la caracterización de las macroalgas y extractos acuosos se muestran en el Cuadro 1. La macroalga con mayor contenido de carbohidratos totales, fenoles totales, actividad antioxidante, así como ácido indolacético (AIA) fue *E. arborea*. Solamente en el contenido de proteínas y trans-zeatina (TZ) la macroalga de *M. pyrifera* fue la que obtuvo mayor cantidad respecto a las otras macroalgas. En el caso de los extractos, el extracto de *E. arborea* presentó el mayor contenido de todas las variables analizadas.

En cuanto a los rendimientos de la extracción, el extracto acuoso de *E. arborea* aumentó 1.2 veces más el contenido de proteínas totales, 19 veces más el contenido de AIA y 3 veces más el contenido de trans-zeatina respecto a la macroalga *E. arborea*. En el caso del extracto acuoso de *M. pyrifera* aumentó 71 veces más el contenido de AIA respecto a la macroalga *M. pyrifera*. El extracto acuoso de *Sargassum* spp. aumentó 9 veces más el contenido de AIA respecto a la macroalga *Sargassum* spp.

Cruz-Suárez *et al.*, (2000) mencionan que la composición química de cada alga varía considerablemente de especie a especie, en función de su localización geográfica, estaciones del año, nivel del mar y depredadores.

El hecho de que haya una disminución en el contenido de proteínas en *Sargassum* spp. al realizar la extracción hidrotérmica se refiere a que las proteínas se están degradando y formando péptidos y/o aminoácidos libres, lo que se considera benéfico para los cultivos de plantas, ya que los hidrolizados proteicos actúan como bioestimulantes en plantas (Yakhin *et al.*, 2017).

Uno de los componentes mayoritarios de las macroalgas son los carbohidratos, la posición de las cadenas de los polisacáridos influye en que estas sean solubles, ya que entre más ramificada sea, mayor es el grado de solubilidad en agua (Kadam *et al.*, 2015).

La importancia de los carbohidratos radica en que forman parte de la pared celular y se encargan del mantenimiento de la estructura del alga, brindándole flexibilidad y esto influye en su resistencia al oleaje (Herrera, 2018).

En otros estudios mencionan que al analizar el contenido de carbohidratos se obtuvieron resultados de 232 mg g⁻¹ (W) para *M. pyrifera* y 0.095 mg g⁻¹ (DW), para *Sargassum wightii*, esto resalta lo mencionado anteriormente donde el contenido de algún compuesto puede variar de gran manera entre las especies de algas, y el tiempo de cosecha de las mismas (Syad *et al.*, 2013; Victorino 2017). Como es el caso de este trabajo donde en la variable CT, los resultados obtenidos fueron menores para el caso de la macroalga *M. pyrifera* evaluada en este experimento (102.8 mg g⁻¹ PS), sin embargo, los resultados obtenidos para la macroalga *Sargassum* spp. fueron mayores en gran medida (88 mg g⁻¹ PS).

Herrera (2018) menciona el mayor contenido de carbohidratos en *G. robustum* y *E. arborea* (59 y 50% respectivamente) y proteína (13 y 8% respectivamente) al ser comparadas con otras algas como *M. pyrifera* y *Sargassum*. En cuanto a nuestros resultados, coincide con el autor anterior, ya que la macroalga y el extracto con mayor contenido de estos compuestos analizados fue *E. arborea*.

En cuanto a fenoles y antioxidantes, en estudios anteriores reportan la influencia que tiene la estación del año en el contenido de fenoles de macroalgas, ya que en verano aumenta su contenido, por otra parte, los antioxidantes en las macroalgas se ven afectados por los niveles de salinidad y la ubicación de las algas. La ubicación es un factor de suma importancia ya que hay mayor capacidad antioxidante en aquellas macroalgas que se encuentran en la parte superior del océano, esto puede deberse a que el alga está más expuesta a los rayos UV y a depredadores, y estos compuestos se consideran un mecanismo de protección (Holdt *et al.*, 2009; Montero *et al.*, 2016).

En cuanto al contenido de proteínas en las macroalgas algunos autores mencionan que es inferior al 15%, sobre todo cuando los factores ambientales no son los adecuados y la mayor concentración se da durante el período de invierno-primavera (Dawczynski *et al.*, 2007).

Las fitohormonas son indispensables para regular el ciclo de vida vegetal y tolerar los factores bióticos y abióticos del ambiente que afectan a las plantas y a las macroalgas (Yokoya, 2010).

Cuadro 1. Caracterización de macroalgas y extractos acuosos.

Muestra	CT (dextrosa mg g ⁻¹ PS)	Fenoles (ácido gálico mg g ⁻¹ PS)	PT (mg g ⁻¹ PS)	AA (mM CAET g ⁻¹ PS)	Sulfatos (mg g ⁻¹ PS)	AIA (mg g ⁻¹ PS)	Trans-zeatina (mg g ⁻¹ PS)
M- <i>M. pyrifera</i>	102.8±3.6ab	433.9±35.7b	95.0±0.5a	4.18±0.05b	0.095±0.0b	0.011±0.01c	0.073±0.006a
M- <i>E. arborea</i>	113.0±3.55a	706.6±37.5a	58.9±1.9c	4.43±0.05a	0.111±0.0a	0.109±0.01a	0.048±0.008b
M- <i>Sargassum</i>	88.0±13.15b	379.0±34.8b	87.9±3.8b	4.24±0.02b	0.01±0.0c	0.026±0.01b	0.008±0.003c
E- <i>M. pyrifera</i>	24.05±1.48b	177.2±9.6b	95.8±4.0b	4.08±0.13b	0.06±0.0b	0.80±0.05b	0.095±0.10b
E- <i>E. arborea</i>	33.69±5.78a	243.5±0.58a	133.7±4.1a	4.12±0.23a	0.07±0.0a	2.23±0.10a	0.193±0.03a
E- <i>Sargassum</i>	17.17±0.88b	132.4±5.72c	51.1±3.6c	4.12±0.02b	0.04±0.0c	0.26±0.01c	0.009±0.007c

Muestra: E: extracto; M: macroalga cruda hidrolizada con TFA; CT: carbohidratos totales; PT: proteínas totales; AA: actividad antioxidante; CAET: capacidad antioxidante equivalente trolox; AIA: ácido Indolacético; PS: peso seco. Valores con la misma letra dentro de columnas, son estadísticamente iguales con base a la prueba de Fisher LSD ($p \leq 0.05$).

Perfil de monosacáridos de macroalgas crudas y extractos acuosos

El perfil de monosacáridos se presenta en el Cuadro 2. Para el caso de las macroalgas hidrolizadas, *Sargassum* spp. obtuvo los mayores contenidos de galactosa y fucosa y *E. arborea* los mayores contenidos de glucosa y manitol.

En los extractos hidrotérmicos de las macroalgas, el extracto de *E. arborea* obtuvo los mayores contenidos de glucosa, manitol y fucosa y el extracto de *M. pyrifera* obtuvo los mayores contenidos de galactosa, mientras que el extracto de *Sargassum* spp. fue el único que presentó arabinosa. En los extractos hidrotérmicos de las macroalgas hidrolizados, el extracto de *E. arborea* hidrolizado obtuvo los mayores contenidos de glucosa, galactosa, manitol y fucosa, y el extracto hidrolizado de *M. pyrifera* obtuvo el mayor contenido de arabinosa. La hidrólisis con ácido sulfúrico se realizó para romper los enlaces de los polisacáridos para convertirlos en monosacáridos. En general en la mayoría de los extractos hidrolizados se obtuvo mayor contenidos de monosacáridos comparados con el extracto sin hidrolizar.

Al realizar la comparación entre macroalgas hidrolizadas, *E. arborea* mostró un aumento de glucosa y manitol, mientras que *Sargassum* spp. presentó un aumento en galactosa y fucosa respecto a las otras macroalgas. Por otra parte, en la comparación de los extractos hidrotérmicos de las macroalgas, el extracto de *E. arborea* obtuvo un aumento de glucosa, manitol y fucosa, el extracto de *M. pyrifera* aumentó galactosa, mientras que el extracto de *Sargassum* spp. fue el único que presentó contenido de arabinosa, respecto a los otros extractos de macroalgas.

Las macroalgas pardas están compuestas principalmente por fucosa, galactosa, manosa, glucosa, xilosa y ácidos urónicos (Ale y Meyer 2013). Los polisacáridos están compuestos por monosacáridos y estos al ser extraídos de macroalgas son capaces de mejorar la respuesta frente a patógenos al acelerar su eliminación de las plantas (Wang et al., 2012). Las aplicaciones del monosacárido manitol se correlacionan con el crecimiento de las plantas y las condiciones reproductivas (Lobban y Harrison, 1994).

Cuadro 2. Perfil de monosacáridos de macroalgas y extractos acuosos.

Muestra	Monosacárido (mg g ⁻¹ PS)				
	Glucosa	Galactosa	Manitol	Arabinosa	Fucosa
MH- <i>M. pyrifera</i>	106.21±0.0b	62.20±0.00c	386.73±0.016b	0	265.59±0.00b
MH- <i>Sargassum</i>	18.8±0.0c	227.90±0.00a	60.84±0.00c	0	612.38±0.007a
MH- <i>E. arborea</i>	469.5±0.003a	132.62±0.0b	1833.94±0.00a	0	285.08±0.006b
EC- <i>M. pyrifera</i>	4.027±0.0c	125.42±0.02a	543.75± 0.001b	0	6.28±0.00b
EC- <i>Sargassum</i>	7.34±4.0b	4.76±0.00c	60.78± 0.001c	314.4±0.05a	7.48±0.0211b
EC- <i>E. arborea</i>	30.87±0.0a	40.51±0.00b	1005.71±0.007a	0	25.22±0.00a
EH- <i>M. pyrifera</i>	5.15±0.0d	43.44±0.00b	543.76±1.04b	20.5±0.00a	90.63±0.001b
EH- <i>Sargassum</i>	1.49±0.0b	24.0±0.004c	59.46±4.62c	0	49.17±0.004c
EH- <i>E. arborea</i>	105.07±0.2a	50.98±0.00a	1026.87±0.048a	0	896.64±0.062a

Tratamientos: EC: extracto concentrado; EH: extracto hidrolizado (H₂SO₄); MH: Macroalga cruda hidrolizada con TFA. Valores con la misma letra dentro de columnas, son estadísticamente iguales con base a la prueba de Fisher LSD (p≤0.05).

Caracterización mineral

Los resultados de la composición mineral de las macroalgas se muestra en el Cuadro 3. El contenido mineral de *M. pyrifera* fue mayor para los minerales: boro (B), hierro (Fe), manganeso (Mn), molibdeno (Mo) y nitrógeno (N). En la composición mineral de *Sargassum* spp. se obtuvo mayor contenido mineral de calcio (Ca), azufre (S) y zinc (Zn). Mientras que la composición mineral de *E. arborea* el mayor contenido fue para potasio (K), sodio (Na) y fósforo (P). Los minerales zinc (Zn) y cobre (Cu) se comportaron igual en las macroalgas analizadas en este experimento.

En el Cuadro 4 se muestran los resultados del análisis mineral de los extractos acuosos de las macroalgas. El extracto acuoso de *M. pyrifera* presentó mayor contenido mineral de cobre (Cu), hierro (Fe), potasio (K), magnesio (Mg), manganeso (Mn), molibdeno (Mo), azufre (S) y zinc (Zn). El extracto acuoso de *Sargassum* spp. presentó mayor contenido mineral de boro (B) y calcio (Ca), y para el extracto de *E. arborea* presentó mayor contenido mineral de sodio (Na) y fósforo (P).

Cuadro 3. Caracterización mineral de macroalgas.

Mineral	<i>M. pyrifera</i>	<i>Sargassum</i> spp.	<i>E. arborea</i>
Macroelementos			
Azufre	9.34 ±4.342c	13.78± 0.846a	10.74± 3.200b
Calcio	20.56±7.9b	64.94± 11.34a	9.872 ±1.71c
Fósforo	0.267± 1.006b	0.290 ±0.098c	3.012± 0.321a
Nitrógeno	15.21± 0.005a	18.84±0.003c	30.42±0.003b
Potasio	34.92±21.2b	15.71± 1.858c	39.11±11.15a
Sodio	19.17± 7.07b	7.904 ±0.532c	31.38± 8.87a
Microelementos			
Boro	0.176±0.0a	<0.01 ±0.05b	<0.01 ±0.0b
Cobre	0.007±0.002a	0.005±0.002a	0.002 ±0.002a
Hierro	0.690 ±0.605a	0.072 ±0.038b	0.044±0.001b
Manganeso	0.020 ±0.003a	0.012± 0.0005b	0.002± 0.012c
Molibdeno	0.020 ±0.003a	0.006 ±0.0005b	0.006± 0.001c
Zinc	0.030± 0.046a	0.030 ±0.0085a	0.014±0.035b

Concentración en mg g⁻¹ peso seco. Medias con una letra en común no son significativamente diferentes con base a la prueba de Fisher LSD (p ≤ 0.05).

Cuadro 4. Caracterización mineral de extractos de macroalgas.

Mineral	Extracto <i>M. pyrifera</i>	Extracto <i>Sargassum spp.</i>	Extracto <i>E. arborea</i>
Macroelementos			
Azufre	57.252 a	40.07c	56.366b
Calcio	56.56 b	56.96 a	35.32c
Fosforo	19.688 b	0.830 c	20.66 a
Magnesio	51.19a	30.032c	33.72 b
Potasio	243.72 a	88.552c	204.34 b
Sodio	126.5b	46.64 c	161.84 a
Microelementos			
Boro	1.01 b	16.034 a	6.314 c
Cobre	0.0054 a	0.038 b	0.042 b
Hierro	0.2582 a	0.068 c	0.332 b
Manganeso	0.0808 a	0.0076 c	0.0142 b
Molibdeno	0.0808 a	0.0076 c	0.0142 b
Zinc	0.678a	0.298c	0.404b

Concentración en mg g⁻¹ peso seco. Medias con una letra en común no son significativamente diferentes con base a la prueba de Fisher LSD ($p \leq 0.05$).

Las macroalgas que contienen minerales y al aplicarlos en forma de extractos se ponen a disposición para la planta (Battacharyya *et al.*, 2015). En el estudio realizado por Victorino (2017), se obtuvo mayor contenido mineral en *M. pyrifera*, con un valor más alto para potasio, seguido de sodio, calcio, magnesio y hierro. Mientras que para cobre, manganeso, zinc y plomo se obtuvieron valores inferiores a 1 mg L⁻¹. Por lo cual, la presente investigación se comporta de manera similar ya que el potasio fue el elemento que presentó el contenido más alto, seguidos de los macro y microelementos mencionados por Victorino (2017). Por otra parte, Herrera (2018), reporta un aumento en el contenido mineral de extractos líquidos de *M. pyrifera* y *G. parvispora* en un 36 y 34% al compararlos con extractos líquidos de *G. robustum*, *E. arborea*, *S. horridum*, y *A. spicifera*.

Variables agronómicas asociadas al crecimiento de plantas de tomate

Los resultados de las variables asociadas al crecimiento se muestran en el Cuadro 5. Para la variable de altura de planta no se observaron diferencias significativas de los tratamientos comparados con el testigo. En la variable diámetro de tallo el tratamiento que mostró mejores resultados fue el extracto de *E. arborea* aplicado vía foliar, ya que presentó un incremento del 8.65% con respecto al testigo.

En la variable de longitud de raíz se logró incrementar un 23.62% con la aplicación del extracto de *Sargassum* spp. vía foliar, 20.47 % con la aplicación del extracto de *M. pyrifera* vía foliar y 17.32 % con la aplicación del extracto de *E. arborea* vía drench con respecto al testigo. Por otra parte, la variable de biomasa seca aérea mostró un incremento del 35.79% con la aplicación del extracto de *Sargassum* spp. vía drench, 31.64 % para el extracto de *M. pyrifera* vía foliar, 24.53% para el extracto de *E. arborea* aplicado vía foliar y 23.29 % para el extracto de *M. pyrifera* vía drench con respecto al testigo. Mientras que para biomasa seca de raíz no hubo diferencias significativas de los tratamientos comparados con el testigo.

En cuanto al rendimiento se observó un incremento del 38.25% en las plantas tratadas con el extracto de *E. arborea* vía drench, 13.53% para el extracto de *M. pyrifera* vía foliar, 13.29% para el extracto de *Sargassum* spp. vía foliar y 7.77 % para el extracto de *E. arborea* vía foliar al compararlos con el testigo. Cabe mencionar que en este experimento solo se tomó el peso de los frutos hasta el segundo racimo de la planta de tomate.

Metting *et al.*, (1990) mencionan que las respuestas de las plantas a la aplicación de las algas pueden ser variadas y entre ellas se puede obtener una mayor cosecha, incrementar la absorción de los nutrientes, favorecen a la resistencia al congelamiento y a las enfermedades por hongos, además de alargar la vida del fruto.

Los extractos de algas pardas se utilizan ampliamente en cultivos hortícolas, principalmente por sus efectos estimulantes del crecimiento de las plantas (Battacharyya *et al.* 2015). Estos resultados se ven reflejado al utilizar extractos

de *Ulva lactuca* y *Padina gymnospora* en semillas de *Solanum lycopersicum* donde muestran una mejor respuesta de germinación y en consecuencia mayor vigor e incrementos en la longitud de las plántulas. Además, se observó que los tratamientos empleados directamente al sustrato mostraron influencia en la longitud del tallo, raíz y peso de la planta de tomate al ser aplicadas vía foliar (Hernández-Herrera, 2013). Por otra parte, Herrera (2018) al valorar frijol mungo obtuvo un incremento de 35.6% en la variable de longitud de la raíz, con la aplicación del extracto de *E. arborea* más el extracto de *G. parvispora* respectivamente en comparación con el control. Mientras que al aplicar un bioestimulante concentrado a base de extractos de algas pardas realizado por Granados (2015) en el cultivo de berenjena, se obtuvo un rendimiento bruto de 27,117.35 kg ha⁻¹, y una producción de 24,849.98 kg ha.⁻¹

Cuadro 5. Variables agronómicas asociadas al crecimiento de plantas de tomate tratadas con extractos de macroalgas.

Tratamiento	Altura de planta (cm)	Diámetro de tallo (mm)	Longitud de raíz (cm)	Biomasa seca aérea (g)	Biomasa seca raíz (g)	Peso de frutos (g/planta)
Testigo	93.1±5.7ab	12.8±0.90b	25.40±4.76d	135.87±14.0c	34.5±6.3a	942.7±225cd
EF- <i>M. pyrifera</i>	95.8±4.3a	13.3±1.08ab	30.60±5.19cd	178.87±6.8ab	30.7±8.3a	1070.3±213b
ED- <i>M. pyrifera</i>	88.5± 2.4b	13.3±1.01ab	26.28±1.94ab	167.52±4.4ab	29.8±8.0a	958.9±303c
EF- <i>Sargassum</i>	93.2±4.6ab	12.9±1.09b	31.40±1.99a	157.29±19.8bc	33.5±10.8a	1068.0±337b
ED- <i>Sargassum</i>	94.1±3.2ab	12.8±1.09b	26.88±1.70abc	184.51±9.4a	35.5±12.8a	936.6± 275cd
EF- <i>E. arborea</i>	93.6±4.5ab	13.9±1.14a	27.63±2.1abcd	169.21±36.9ab	30.1±10.1a	1016.1± 278b
ED- <i>E. arborea</i>	91.7±8.0ab	13.4± 1.09b	29.80±2.5bcd	156.96±27.8bc	28.4±11.9a	1303.3±459a

Tratamientos: EF: extracto vía foliar; ED: extracto vía drench. Valores con la misma letra, son estadísticamente iguales con base a la prueba de Fisher LSD ($p \leq 0.05$).

Evaluación de variables de calidad nutracéutica del fruto de tomate

Las variables de calidad nutracéutica del fruto de tomate se muestran en el Cuadro 6. Se obtuvieron diferencias significativas para la variable de firmeza de frutos, en la cual se observó que las plantas tratadas con extractos de *M. pyrifera* vía foliar incrementó un 72.4% y 64.42% en las plantas tratadas con extracto de *Sargassum* spp., con respecto al testigo. Para la variable de sólidos solubles totales no se observaron diferencias significativas entre tratamientos. Al aplicar el extracto de *Sargassum* spp. vía drench se observaron diferencias significativas en la variable de pH, obteniendo como resultado un aumento del 1.14% con respecto al testigo. Mientras que para la variable acidez titulable el extracto de *E. arborea* vía drench incrementó un 20% con respecto al testigo. En el contenido de licopeno, la aplicación del extracto de *E. arborea* vía foliar logro un aumento de 84.29% y 39.26 % vía drench, 60.73 % para el extracto de *Sargassum* spp. vía foliar y 47.38 % vía drench, 57.85% para el extracto de *M. pyrifera* vía foliar y 55.49 vía drench, con respecto al testigo.

Por otra parte, la actividad antioxidante en frutos de tomate con la aplicación de extractos vía foliar de *E. arborea* mostró un incremento del 1.53 %, 0.87 % para el extracto de *M. pyrifera* y 0.65 % para el extracto de *Sargassum* spp. con respecto al testigo.

Los extractos naturales de macroalgas son ampliamente reconocidos por sus propiedades antioxidantes (Álvarez-Gomez *et al.*, 2016) y esto provoca que la planta se mantenga alerta ante cualquier estrés, logrando que la planta crezca sana y por consiguiente con frutos de mayor calidad.

Salazar (2016) menciona que al realizar la aplicación de un extracto líquido a base de *Ascophyllum nodosum* (producto comercial Cytokin^R.) en el cultivo de chile y pepino obtuvieron resultados con aumento de 3.45 y 7.425 °Brix con respecto al testigo. Por otra parte, Colla *et al.* (2017), al realizar una investigación sobre el efecto de tres bioestimulantes entre ellos un extractos de macroalgas "Kelpak" producido a partir de algas marrones (*Ecklonia máxima*) en plantas de tomate de invernadero y analizar el porcentaje de materia seca, sólidos solubles totales, pH del jugo, actividades antioxidantes lipofílicas e

hidrofílicas, el total fenoles y ácido ascórbico total de frutos de tomate, obtuvo resultados no significativos en la variable sólidos solubles, pero si un aumento de 0.89% en la variable pH del jugo, 34.6% para actividad antioxidante lipofílica, 9.48% para el total de fenoles, 38.08% para ácido ascórbico y 95% para licopeno con respecto al control.

Cuadro 6. Calidad de frutos de tomates tratados con extractos acuosos de macroalgas.

Tratamiento	Firmeza (kg cm ⁻²)	SST (°brix)	pH	AT (% Ácido cítrico)	Licopeno (mg 100 g ⁻¹ PS)	AA mM CAET g ⁻¹ PS
Testigo	2.98±0.5bc	5.54 ±0.5a	4.38±0.03b	0.25±0. 41 b	3.82±1.07c	4.57±0.003c
EF- <i>M. pyrifera</i>	5.14±0.6a	5.18 ±0.2a	4.42±0.6ab	0.23±0.021b	6.03±1.16ab	4.61±0.013b
ED- <i>M. pyrifera</i>	2.4±0.7c	5.16±0.05a	4.40±0.02ab	0.23 ±0.05b	5.94±0.93ab	4.54±0.029d
EF- <i>Sargassum</i>	4.9±0.9a	5.44±0.45a	4.37±0.02b	0.25±0.034b	6.14±1.91ab	4.60±0.021b
ED- <i>Sargassum</i>	3.28±0.67b	5.34±0.27a	4.43± 0.04a	0.26± 0.01ab	5.63±0.95b	4.56±0.020cd
EF- <i>E. arborea</i>	2.4 ±0.43c	5.18±0.22a	4.39±0.03ab	0.22 ±0.023b	7.04±0.92a	4.64±0.007a
ED- <i>E. arborea</i>	3.64±0.18b	5.16±0.35a	4.37±0.04ab	0.30 ±0.044a	5.32±0.60b	4.55±0.028d

Tratamientos: EF: extracto vía foliar; ED: extracto vía drench; SST: sólidos solubles totales; AT: acidez titulable; AA: actividad antioxidante; CAET: capacidad antioxidante equivalente Trolox g⁻¹ peso seco. Valores con la misma letra, son estadísticamente iguales con base a la prueba de Fisher LSD (p≤0.05).

Análisis mineral del fruto de plantas de tomate

La composición mineral de frutos de tomate se muestra en el Cuadro 7. Los elementos que mostraron diferencias significativas respecto al testigo fueron el Ca, Fe, K, Mg, S y N. Para el Ca se obtuvo un aumento del 258% en el tratamiento de *M. pyrifera* aplicado vía drench, 204% para *E. arborea* aplicada vía drench y 171% en el tratamiento de *Sargassum* spp. aplicado vía drench, a comparación con el testigo. Para el Fe se obtuvo un aumento del 64% en el tratamiento de *E. arborea* aplicado vía drench, 53% en el tratamiento de *Sargassum* spp. aplicado vía drench y 39.2% en el tratamiento de *M. pyrifera* aplicado vía drench. Para el K se obtuvo un aumento del 13.05% en el tratamiento de *Sargassum* spp. aplicado vía drench, 8.27% en *Sargassum* spp. vía foliar y 6.9% en el tratamiento de *M. pyrifera* aplicado vía drench a comparación con el testigo. Para el Mg se obtuvo un aumento del 28.57% tanto en el tratamiento de *Sargassum* spp. aplicado vía foliar, como en el tratamiento de *E. arborea* aplicada vía drench a comparación con el testigo. Para el S se obtuvo un aumento del 23.71% en el tratamiento de *M. pyrifera* aplicado vía foliar y de igual manera en el tratamiento de *E. arborea* aplicada vía drench a comparación con el testigo. En cuanto al N se obtuvo un aumento de 10.59% en el tratamiento de *M. pyrifera* aplicado vía foliar, 0.97% en el tratamiento de *E. arborea* aplicado vía foliar. Los minerales en la dieta humana son indispensables, ya que forman parte de enzimas como cofactores y son necesarios para muchas reacciones de óxido reducción. Entre ellos los más importantes son el hierro, yodo, zinc y magnesio (Chekri *et al.*, 2012; Rosales, 2012). La importancia del aumento en Ca, Fe, K, Mg y S en el fruto de tomate, se ve reflejado en esta investigación ya que se obtuvieron frutos con características comercialmente aceptables, esto se traduce a una mejora en la calidad nutracéutica del fruto y por lo tanto un impacto positivo en la salud humana. Se ha registrado una mayor disponibilidad de N, P y Fe en plantas tratadas con algas debido a las propiedades de quelación, ya que aumenta la capacidad de intercambio iónico de los constituyentes polisacáridos como el ácido algínico, la laminarina y el manitol (Bula- Meye, 2004).

Cuadro 7. Análisis mineral del fruto de plantas de tomate.

Mineral	Testigo	EF- <i>M. pyrifera</i>	ED- <i>M. pyrifera</i>	EF- <i>Sargassum</i>	ED- <i>Sargassum</i>	EF- <i>E. arborea</i>	ED- <i>E. arborea</i>
Macroelementos							
Azufre	19.4±2.07b	24±1.7a	20.8±1.2ab	20.6±1.5ab	23.18±3.0ab	20.80±1.8ab	24±0.6a
Calcio	5.3±1.9c	13.6±1.5bc	19±0.92a	14.6±1.5bc	14.4±2.2b	15.4±1.4bc	16.12±2.6ab
Fosforo	48.8± 3.2a	48.4 ±2.4a	48.8±2.5a	50.8±3.8a	49.16± 6.20a	45.74± 2.5a	49.2 ±2.01a
Magnesio	0.14±1c	0.16±0.6bc	0.14 ±0.8c	0.18±0.50a	0.16 ±1.64bc	0.16±0.7 abc	0.18 ±0.30a
Nitrogeno	19.54±1.2b	21.61±0.4a	17.55±1.36d	19.55±1.39b	19.15±1.5bc	19.73±0.98b	17.94±1.01cd
Potasio	26.34±3d	27.4±2bcd	28.16±4abc	28.52±4.4ab	29.78±012a	25.9±13.7d	26.36±3.0cd
Sodio	3.6±0.2ab	3.8±0.2a	3.6 ±0.25ab	3.8±0.31ab	3.42±0.21ab	3.24±0.27b	3.2± 0.32ab
Microelementos							
Cobre	0.06±0a	0.06±0a	0.04±0a	0.06±0.008a	0.06±0.09a	0.04± 0.07a	0.06±0.01a
Hierro	0.56±0d	0.76±0abc	0.78±0abc	0.64±0.05cd	0.86±0.15ab	0.70±0.1bcd	0.92±0.06 a
Manganeso	14±0.0a	13.4±0.0a	12.6 ±0.01a	14±0.013a	14.26±0.02a	12.6±0.01a	13± 0.01a
Zinc	0.30±0.03a	0.30±0.03a	0.34 ±0.01a	0.44±0.05a	0.32 ±0.124a	0.32 ±0.03a	0.42± 0.08a

Concentración reportada en mg g⁻¹ peso seco Tratamientos: EF: extracto vía foliar; ED: extracto vía drench. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

Compuestos asociados con la tolerancia al estrés

La cuantificación de la actividad enzimática fenilalanina amonio liasa (PAL) y producción de peróxido de hidrogeno pueden observarse en el Cuadro 8. Los resultados de la variable PAL mostraron un incremento en la actividad de enzima en la etapa del trasplante, en un 8.04% para el tratamiento de *E. arborea* vía drench, 7.66% para el tratamiento de *Sargassum* spp. vía foliar, 7.27% para los tratamientos *Sargassum* spp. vía drench y *E. arborea* vía foliar, 3.83% para el tratamiento de *M. pyrifera* aplicado vía drench y 3.44% para el tratamiento *M. pyrifera* aplicado vía foliar con respecto al testigo. En el muestreo de la etapa de floración se obtuvieron incrementos del 4.1% para el tratamiento *E. arborea* vía foliar, 3.81% para *Sargassum* spp. vía foliar, 3.43% para los tratamientos *Sargassum* spp. vía drench y *E. arborea* vía drench y 3.05% para el tratamiento de *M. pyrifera* aplicado vía foliar con respecto al testigo. En el muestreo de la etapa de fructificación el tratamiento de *Sargassum* spp. vía foliar mostró un incremento del 7.0%, 4.28% para *Sargassum* spp. vía drench, 3.50% para *E. arborea* vía drench y 2.72% para los tratamientos *M. pyrifera* aplicado vía foliar y *E. arborea* vía foliar con respecto al testigo.

La actividad enzimática de PAL está relacionada con la inducción de defensa y es la enzima clave para la biosíntesis de algunos metabolitos secundarios relacionados a la defensa (Saharan *et al.*, 2015). El aumento en la actividad de la enzima permite deducir que la planta se está preparando contra el ataque de un patógeno o estrés abiótico (Perez *et al.*, 2015). Balbi-Peña *et al.*, (2014), mencionan que la mayoría de las plantas por sí mismas generan respuestas de defensa al ataque a patógenos, mientras que las defensas que se inducen por estrés provocan el fortalecimiento de la pared celular y la síntesis de fitoalexinas. Aunado a esto se modifican características de la planta como por ejemplo presencia de tricomas y vellosidades en tallo y hojas.

En la cuantificación de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) se puede observar que tanto para el muestreo en la etapa de trasplante, floración y fructificación el tratamiento que mostro mayor cantidad fue el de *E. arborea* vía foliar con un

aumento de 207% en la etapa de trasplante, 238% en la etapa de floración y 137% en la etapa de fructificación, seguido del tratamiento *Sargassum* spp. vía foliar con un aumento de 148% en trasplante, 203% en floración y 113.5% en fructificación, por último, el tratamiento de *M. pyrifer*a aplicado vía drench mostro un aumento de 11.20% en floración con respecto al testigo.

Como se sabe las plantas al verse atacadas por patógenos o cualquier otro tipo de estrés responden a la infección o daño mecánico, con la producción localizada de especies reactivas de oxígeno (ERO). Las ERO tienen una función importante ya que propician a que se lleve a cabo el incremento de los polímeros de la pared celular y la inducción de expresión de genes que responden a patógenos (Benezer-Benezer *et al.*, 2008). Entre las principales ERO se encuentra el peróxido de hidrogeno (H_2O_2) (Ozyigit *et al.*, 2016), éstas son de gran importancia ya que intervienen en la fotosíntesis, el ciclo celular, el desarrollo, la senescencia y la apoptosis de las plantas (Mittler *et al.* 2004). Además, las ERO son considerados benéficas a bajas concentraciones, pero letal en niveles altos (Petrov y Van Breusegem, 2012).

La cuantificación de ácido jasmónico en las plantas de tomate se muestra en el Cuadro 9. Los resultados mostraron un incremento en la producción de ácido jasmónico en la etapa de trasplante, en un 824% para el tratamiento de *E. arborea* vía foliar, 802% para *E. arborea* vía drench, 797% para *M. pyrifer*a vía drench y 659% para *M. pyrifer*a vía foliar con respecto al testigo. En el muestreo de la etapa de floración se obtuvieron aumentos de 354% para el tratamiento *M. pyrifer*a vía drench, 353% para *Sargassum* spp. vía drench, 219% para *M. pyrifer*a vía foliar, 182% para *E. arborea* vía drench, 98% para *Sargassum* spp. vía foliar y 47% para *E. arborea* vía drench con respecto al testigo. En el muestreo de la etapa de fructificación el tratamiento de *M. pyrifer*a vía drench mostró un aumento del 940%, 916% para *Sargassum* spp. vía drench, 643% para *E. arborea* vía foliar, 626% para *M. pyrifer*a vía foliar, 510% para *E. arborea* vía drench y 3335 para *Sargassum* spp. vía foliar un con respectó al testigo. El ácido jasmónico está involucrado en diversas funciones de resistencia y senescencia de los vegetales, este es producido por la planta

después del daño ocasionado por un patógeno, lo cual induce a que la planta incremente la producción de compuestos de resistencia (Laredo *et al.*, 2017; Michelena *et al.*, 2005). Zavala (2010), menciona que la JA está relacionado con señales químicas que producen jasmonatos, los cuales inducen defensas en las plantas, estos jasmonatos se sintetizan en las plantas a partir del ácido linolénico, que se desprende de la pared celular dañada, y de esta manera, el ácido linolénico inicia la producción de ácido jasmónico a través de la denominada ruta de los octadecanoides y una vez que el JA es sintetizado en el peroxisoma es transportado al citoplasma, donde activa el sistema de degradación de proteínas, que funciona como activador de los genes de defensa.

Cuadro 8. Cuantificación de variables relacionadas con la tolerancia a estrés en hojas de plantas de tomate.

Tratamiento	Actividad fenilalanina amonio liasa (PAL) (U proteínas totales ⁻¹)			Peróxido de hidrógeno (H ₂ O ₂) (μmol/g PS)		
	Trasplante	Floración	Fructificación	Trasplante	Floración	Fructificación
Testigo	2.61±0.03d	2.62±0.01c	2.57±0.037d	5.1±3.0 c	5.20±2.04d	7.40±6.10c
EF- <i>M. pyrifera</i>	2.78±0.01b	2.70±0.02b	2.64±0.027bc	7.33±2.3bc	6.60±3.28cd	10.20±6.22c
ED- <i>M. pyrifera</i>	2.71±0.0c	2.63±0.09c	2.59±0.026cd	9.33±1.0abc	11.20±1.09bc	10.40±4.56c
EF- <i>Sargassum</i>	2.81±0.02a	2.72±0.00ab	2.75±0.071a	12.67±3.4ab	15.80±3.70b	15.80±2.58b
ED- <i>Sargassum</i>	2.80±0.01ab	2.71±0.02b	2.68±0.066b	6.67±0.05bc	7.40±4.30cd	14±5.70bc
EF- <i>E. arborea</i>	2.80±0.03ab	2.73±0.01a	2.64±0.030bc	15.67±3.5a	17.60±4.67a	17.61±5.58a
ED- <i>E. arborea</i>	2.82±0.01a	2.71±0.03ab	2.66±0.056b	10.67±3abc	10±4.34cd	14.20±3.56bc

Tratamientos: EF: extracto vía foliar; ED: extracto vía drench. Valores con la misma letra, son estadísticamente iguales con base a la prueba de Fisher LSD ($p \leq 0.05$).

Cuadro 9. Cuantificación de ácido jasmónico en hojas de plantas de tomate.

Tratamiento	Ácido Jasmónico (mg g ⁻¹ PS)		
	Trasplante	Floración	Fructificación
Testigo	0.37±0.023e	0.73±0.085g	0.30±0.034g
EF- <i>M. pyrifera</i>	2.81±0.084c	2.33±1.91c	2.18±0.170d
ED- <i>M. pyrifera</i>	3.32±0.012b	3.32±1.01ab	3.12±0.82a
EF- <i>Sargassum</i>	0.17±0.028g	1.45±0.86e	1.30±0.35f
ED- <i>Sargassum</i>	0.31±0.013f	3.31±1.10b	3.05±0.57b
EF- <i>E. arborea</i>	3.42±0.53a	1.08±0.06f	2.23±0.064c
ED- <i>E. arborea</i>	2.34±1.85d	2.06±1.97d	1.83±0.74e

Tratamientos: EF: extracto vía foliar; ED: extracto vía drench. Valores con la misma letra, son estadísticamente iguales con base a la prueba de Fisher LSD ($p \leq 0.05$).

CONCLUSIONES

La extracción de diferentes compuestos bioactivos de macroalgas a partir de procesos hidrotérmicos se logró de manera eficaz, esto es de gran importancia ya que se reduce el uso de solventes a comparación de otros métodos convencionales, proponiéndose como un método de extracción respetuoso con el medio ambiente.

En cuanto al efecto de los extractos de macroalgas en plantas de tomate se incrementó el crecimiento en un 28.27% con la aplicación del extracto de *Sargassum* spp., y en rendimiento el mejor tratamiento fue el extracto de *E. arborea*, ya que en la variable peso de frutos por planta (g/planta) se obtuvo mayor peso y un aumento del 38.25% con respecto al testigo.

Al analizar las variables de calidad nutracéutica del fruto y algunos compuestos asociados con la tolerancia al estrés, los tratamientos que mostraron mejores resultados fueron los extractos de *E. arborea* tanto aplicado vía foliar como drench y *Sargassum* spp. aplicado vía foliar.

REFERENCIAS

- Ale, M. T., y Meyer, A. S. (2013). Fucoidans from brown seaweeds: an update on structures, extraction techniques and use of enzymes as tools for structural elucidation. *Rsc Advances*, 3, 8131–8141. <http://doi.org/10.1039/c3ra23373a>.
- Alvarez-Gómez, Félix, Korbee, Nathalie, & Figueroa, Félix L. (2016). Analysis of antioxidant capacity and bioactive compounds in marine macroalgal and lichenic extracts using different solvents and evaluation methods. *Ciencias marinas*, 42(4), 271-288. <https://dx.doi.org/10.7773/cm.v42i4.2677>.
- Argüello-Esparza, D. G., Ruiz, H. A., Aguilar, C. N., Jasso De Rodríguez, D., Souza, D. W. S., Rodríguez-Jasso, R. M. (2019). Relevant Marine Biomass as Feedstock for Application in the Food Industry: An Overview, In: M. L. Chávez-González, J. J. Buenrostro-Figueroa, C. N. Aguilar- Handbook of Research on Food Science and Technology Volume 3 Functional Foods and Nuraceuticals. (pp 197-225) Apple Academic Press, CRC Press, Taylor and Francis Group. ISBN. 978-0-42948-782-8.
- Azcon-Bieto J.; Talon M. (1993), *Fisiología y Bioquímica Vegetal*, Madrid: McGraw Hill. 84- 486.
- Azcón-Bieto, J. y M. Talon. (2013). *Fundamentos de fisiología vegetal*. Ed. McGraw-Hill Interamericana de España S.L. 651 p.
- Balbi-Peña, M. I., Schwan-Estrada, K. R. F., y Stangarlin, J. R. (2014). Oxidative burst and the activity of defense-related enzymes in compatible and incompatible tomato *Alternaria solani* interactions. *Semina: Ciencias Agrarias*, 35(5), 2399–2414. <https://doi.org/10.5433/16790359.2014v35n5p2399>.
- Balboa EM, Conde E, Soto ML, Pérez-Armada L, Domínguez H (2015a) Cosmetics from marine sources. In: Springer handbook of marine biotechnology, Springer, Berlin, pp 1015–1042 Balboa EM, Moure A, Domínguez H (2015b) Valorization of *Sargassum muticum* biomass according to the biorefinery concept. *Mar Drugs* 13:3745–3760
- Balboa, E.M, Rivas S, Moure A, Dominguez H, Parajo´ J.C (2013). Simultaneous extraction and depolymerization of fucoidan from *Sargassum muticum* in aqueous media. *Mar Drugs* 11:4612–4627.

- Battacharyya, D., Babgohari, M. Z., Rathor, P., y Prithiviraj, B. (2015). Seaweed extracts as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196, 39–48. doi:10.1016/j.scienta.2015.09.012.
- Benezzer-Benezzer, Micaela, Castro-Mercado, Elda, & García-Pineda, Ernesto. (2008). La Producción de especies reactivas de oxígeno durante la expresión de la resistencia a enfermedades en plantas. *Revista mexicana de fitopatología*, 26(1), 56-61.
- Bharti, K., Pandey, N., Shankhdhar, D., Srivastava, P. C., y Shankhdhar, S. C. (2014). Effect of different zinc levels on activity of superoxide dismutases & acid phosphatases and organic acid exudation on wheat genotypes. *Physiology and Molecular Biology of Plants: An International Journal of Functional Plant Biology*, 20(1), 41–48. <https://doi.org/10.1007/s12298-013-0201-7>
- Bradford, M.M., (1976): A Rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248-254.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).
- Bula-Meyer, G. (2004) Macroalgas marinas en la agronomía y el uso potencial del *Sargassum* flotante en la producción de fertilizantes en el archipiélago de San Andrés y Providencia, Colombia. *Revista Del Instituto De Investigaciones Tropicales*.1, 91-103.
- Bunghez, Raluca & Raduly, Monica & Doncea, Sanda & Aksahin, I & Ion, Rodica-Mariana. (2011). Lycopene determination in tomatoes by different spectral techniques (UV-VIS, FTIR and HPLC). *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*. 6. 1349-1356. <https://www.researchgate.net/publication/234164549>.
- Casas-Valdez, M., Hernández-Contreras, H., Marín-Álvarez, A., Aguila-Ramírez, RN, Hernández-Guerrero, CJ, Sánchez-Rodríguez, I., y Carrillo-Domínguez, S. (2006). El alga marina *Sargassum* (Sargassaceae): una alternativa tropical para la alimentación del ganado caprino. *Revista de biología tropical*, 54 (1), 83-92.
- Casierra-Posada, F., y Aguilar-Avenidaño, Ó. (2008). Calidad en frutos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cosechados en diferentes estados de madurez. *Agronomía Colombiana*, 26 (2), 300-307.

- Castillo, Grolamys & Altuna, Beatriz & Michelena, Georgina & Sánchez-Bravo, José & Acosta, Manuel. (2005). Cuantificación del contenido de ácido indolacético (AIA) en un caldo de fermentación microbiana. *Anales de biología*, ISSN 1138-3399, N° 27, 2005, pags. 137-142. 27.
- Cervantes-Cisneros, D. E., Ruíz, H. A., Victorino-Jasso, G., Velazquez-Lucio, J., Aguilar, C. N., Sáenz-Galindo, A., & Rodríguez-Jasso, R. M. (2015). Evaluación De Los Métodos De Extracción De Alginato De Macroalga Mexicana (*Macrocystis Pyrifera*) Con Propiedades De Aplicación Biotecnológica Y Alimenticia.
- Chandra, S., Chakraborty, N., Dasgupta, A., Sarkar, J., Panda, K., y Acharya, K. (2015). Chitosan nanoparticles: A positive modulator of innate immune responses in plants. *Scientific Reports*, 5, 1–14. <https://doi.org/10.1038/srep15195>
- Colla, G., Cardarelli, M., Bonini, P. y Roupheal, Y. (2017). Las aplicaciones foliares de hidrolizado de proteínas, extractos de plantas y algas marinas aumentan el rendimiento pero modulan de manera diferencial la calidad de la fruta del tomate de invernadero, *HortScience horts*, 52 (9), 1214-1220. Recuperado el 30 de septiembre de 2019 de https://journals.ashs.org/hortsci/view/journals/hortsci/52/9/article_p1214.xml
- Cong Q, Xiao F, Liao W, Dong Q, Ding K (2014) Structure and biological activities of an alginate from *Sargassum fusiforme*, and its sulfated derivative. *Int J Biol Macromol* 69:252–259
- Consuegra Valenzuela, V. (2014). Extracción de antioxidantes polifenólicos desde macroalgas *Macrocystis pyrifera* y *Ulva rígida*. Disponible en <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/132021>
- Craigie, J.S. (2011). Seaweed Extract Stimuli in Plant Science and Agriculture. *Journal of Applied Phycology*, 23, 371-393. <https://doi.org/10.1007/s10811-010-9560-4>
- Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Guajardo-Barbosa, C., (2000). Uso de harina de kelp (*Macrocystis pyrifera*) en alimentos para camarón. *Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. Mérida, Yucatán. pp.19-22
- Dawczynski, C., Schubert, R. y Jahreis, G. (2007). Amino acids, fatty acids and dietary fibre in edible seaweed products. *Food Chemistry*; 103: 891-9

- Dodgson, KS (1961). Determinación de sulfato inorgánico en estudios sobre la hidrólisis enzimática y no enzimática de carbohidratos y otros ésteres de sulfato. *Revista bioquímica*, 78 (2), 312-319. doi: [10.1042 / bj0780312](https://doi.org/10.1042/bj0780312).
- El-Ramady, H. R., Domokos-Szabolcsy, É., Shalaby, T. A., Prokisch, J., y Fári, M. (2015). Selenium in Agriculture: Water, Air, Soil, Plants, Food, Animals and Nanoselenium (pp. 153–232). https://doi.org/10.1007/978-3-319-11906-9_5.
- Espinoza Avalos, J. (2005). Fenología de macroalgas marinas. *Hidrobiológica*. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa Distrito Federal, México. 15 (1), 109-122.
- Espinoza-Avalos. (2005). Fenología de macroalgas marinas. *Hidrobiológica*, 15(1), 109-122. Recuperado en 20 de septiembre de 2019, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-88972005000100010&lng=es&tlng=.
- Etcheverry, D. H.(1986). Algas Marinas Bentónicas De Chile. Instituto de Oceanología. Universidad de Valparaíso, Viña del Mar – Chile.pp.381
- Fleurence, J. (1999). Seaweed proteins: biochemical, nutritional aspects and potential uses. *Trends in food science & technology*, 10(1), 25-28.
- Flórez, F. N., (2018). Extraction and purification of bioactive compounds from *sargassum muticum*. <http://hdl.handle.net/11093/964>
- Forcat, S., Bennett, M. H., Mansfield, J. W., & Grant, M. R. (2008). A rapid and robust method for simultaneously measuring changes in the phytohormones ABA, JA and SA in plants following biotic and abiotic stress. *Plant Methods*, 4(1), 16. doi:[10.1186/1746-4811-4-16](https://doi.org/10.1186/1746-4811-4-16).
- García, R. G., Quintana A. Martel. (2017). Usos y aplicaciones de macroalgas, microalgas y cianobacterias en agricultura ecológica. Instituto de Algología Aplicada, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Cátedra Iberoamericana. <http://fci.uib.es/Servicios/libros/conferencias/seae/Usos-y-aplicaciones-de-macroalgas-microalgas-y.cid221515>
- García, S.D. (2017). Función de los Aminoácidos como Bioestimulantes. Serie Nutrición Vegetal Núm. 93. Artículos Técnicos de INTAGRI. México. 2 p.
- García-Gutiérrez. C. y Rodríguez-Meza G. D., (2012). Problemática y riesgo ambiental por el uso de plaguicidas en Sinaloa. Universidad Autónoma Indígena de México El Fuerte, México. Vol. (8), núm. (3b). pp. 1-10

- González, v. A. A. (2004). Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del Amazonas. Universidad Nacional de Colombia, Sede Manizales, Departamento De Ingeniería Química. Pp.100
- Granados, E. E. F. (2015). Efecto De Bioestimulantes Foliare En El Rendimiento Del Cultivo De Berenjena; Ocos, San Marcos. Tesis De Grado Licenciatura En Ciencias Agrícolas Con Énfasis En Cultivos Tropicales Facultad De Ciencias Ambientales Y Agrícolas. Pp.60
- Gupta S, Abu-Ghannam N. (2011). Bioactive potential and possible health effects of edible brown seaweeds. Trends Food Sci Technol 22:315–326
- Gutiérrez, C.R, Kethia L. González G. O, Valdés I, Y, H, Acosta S. (2019). Algas Marinas Como Fuente De Compuestos Bioactivos En Beneficio De La Salud Humana: Un Artículo De Revisión. **Biocencia**, [S.l.], v. 18, n. 3, p. 20-27, dec. 2016. ISSN 1665-1456. Disponible en: <http://biocencia.unison.mx/index.php/biocencia/article/view/331>. doi:<http://dx.doi.org/10.18633/biocencia.v18i3.331>.
- Hamed I, O zogul F, O zogul Y, Regenstein JM. (2015). Marine bioactive compounds and their health benefits: a review. Compr Rev Food Sci Food Saf 14:446–465
- Hepburn Christopher D. y Catriona L. Hurd. (2005). Mutualismo condicional entre el alga gigante *Macrocystis pyrifera* y la epifauna colonial. Departamento de Botánica, Universidad de Otago, PO Box 56, Dunedin, Nueva Zelanda. doi: [10.3354 / meps302037](https://doi.org/10.3354/meps302037)
- Hernández, H.R. M., (2013). Efecto de extractos de algas marinas como promotores de crecimiento e inductores de resistencia en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*). Tesis. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. pp.71
- Hernández-Carmona, G., & Rodríguez-Montesinos, Y., & Arvizu-Higuera, D., & Reyes-Tisnado, R., & Murillo-Álvarez, J., & Muñoz-Ochoa, M. (2012). Avances tecnológicos en la producción de alginatos en México. Ingeniería. Investigación y Tecnología, XIII (2), 155-168.
- Hernández-Herrera, R. M., Santacruz-Ruvalcaba F., Briceño-Domínguez, D. R., Di Filippo-Herrera D. A., y Hernández-Carmona G. (2018). Seaweeds as Potential Plant Growth Stimulants for Agriculture in Mexico. Hidrobiológica 28 (1): 129-140. doi: [10.24275/uam/izt/dcbs/hidro/2018v28n1/Hernandez](https://doi.org/10.24275/uam/izt/dcbs/hidro/2018v28n1/Hernandez)
- Herrera, L. P. A. (2018). Actividad bioestimulante de extractos de macroalgas y su evaluación sobre el crecimiento de frijol mungo (*Vigna Radiata*). Tesis

Que Para Obtener El Grado De Doctora En Ciencias Marinas. Instituto Politécnico Nacional Centro Interdisciplinario De Ciencias Marinas.pp:124.

- Hirose N, Takei K, Kuroha T, Kamada-Nobusada T, Hayashi H and Sakakibara H. (2008). Regulation of cytokinin biosynthesis, compartmentalization and translocation. *J. Exp. Bot.*, 59: 75 - 83.
- Holt, E. M., Steffen, L. M., Moran, A., Basu, S., Steinberger, J., Ross, J. A., & Sinaiko, A. R. (2009). Fruit and vegetable consumption and its relation to markers of inflammation and oxidative stress in adolescents. *Journal of the American Dietetic Association*, 109(3), 414-421.
- Hoyos, J. L., Crispulo, P. R., Velasco, R. J. (2008). Evaluación del efecto de diferentes concentraciones de fitohormonas en la micropropagación del plátano dominico hartón (*Musa AAB Simmonds*). *Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 6(2).
- Innocenti, A.R., Rusty A. F, Thomas P. H. (2018). The role of *Sargassum* macroalgal wrack in reducing coastal erosion. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 214 (15). P. 82-88.
<https://doi.org/10.1016/j.ecss.2018.09.021>
- Iwasaki K., Matsubara Y. (2000). Purification of Alginate Oligosaccharides with Root Growth-Promoting Activity Toward Lettuce. *Biosci Biotechnol Biochem.*, 64: 1067–1070.
- Juárez, J. M., Lorenzo H. A., Muñoz, T. R., Blanco, L. S., y Bolado R. S. (2016). Saccharification of microalgae biomass obtained from wastewater treatment by enzymatic hydrolysis. Effect of alkaline-peroxide pretreatment. *Bioresource Technology*, 218, 265–271.
[doi:10.1016/j.biortech.2016.06.087](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.06.087)
- Jung KA, Lim SR, Kim Y, Park JM. (2013). Potentials of macroalgae as feedstocks for biorefinery. *Bioresour Technol* 135:182–190
- Kadam, S. U., Tiwari, B. K., & O'donnell, C. P. (2015). Extraction, structure and biofunctional activities of laminarin from brown algae. *International Journal of Food Science & Technology*, 50(1), 24-31.
- Kramell, R., Atzorn, R., Schneider, G., Miersch, O., Bruckner, C., Schmidt, J., Sembdner, G., and Parthier, B. (1995). Occurrence and identification of jasmonic acid and its amino-acid conjugates induced by osmotic-stress in barley leaf tissue. *J.Plant Growth Regulation* 14, 29–36.

- Landa C. (2015). Variación En La Composición Química Y En La Actividad Biológica De *Eisenia arborea* (Laminariales: Ochrophyta). Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario De Ciencias Marinas. Tesis Para Obtener El Grado De Maestría En Ciencias En Manejo De Recursos Marinos Presenta Cansigno La Paz, B. C. S.
- Laredo Alcalá, Elan Iñaky, Martínez Hernández, José Luis, Iliná, Anna, Guillen Cisneros, Lourdes, & Hernández Castillo, Francisco Daniel. (2017). Aplicación de ácido jasmónico como inductor de resistencia vegetal frente a patógenos. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 8(3), 673-683. <https://dx.doi.org/10.29312/remexca.v8i3.40>
- Lee WK, Lim PE, Phang SM, Namasivayam P, Ho CL (2016b) Agar properties of *Gracilaria* species (*Gracilariaceae*, *Rhodophyta*) collected from different natural habitats in Malaysia. *Reg Stud Mar Sci* 7:123–128
- Li, B., Lu, F., Wei, X. y Zhao, R. (2008). *Fucoidan: Estructura y Bioactividad. Moléculas*, 13 (8), 1671-1695. doi: 10.3390 / moléculas13081671
- Lira, S. R. H. 2017. Uso de Biofertilizantes en la Agricultura Ecológica. Serie Agricultura Orgánica Núm. 14. Artículos Técnicos de INTAGRI. México. p 9.
- Liu H, Li X, Xiao J, Wang S. (2012). A convenient method for simultaneous quantification of multiple phytohormones and metabolites: application in study of rice-bacterium interaction. *Plant Methods*. 8(1): 2-12.
- Llera, G. E. M., y Álvarez, R. J. (2007). Algas Marinas De Asturias. Consejería de Medio Ambiente, Ordenación del Territorio e Infraestructuras y Obra Social “la Caixa”.pp.286
- Lobban, C.S. & P.J. Harrison. (1994). *Seaweed ecology and physiology*. Cambridge University Press, Cambridge, 366 pp.
- López., C. B. (2000). Enzimas-algas: posibilidades de su uso para estimular la producción agrícola y mejorar los suelos. *TERRA* 17 (3).pp. 6
- Ludwig, T. G., & Goldberg, H. J. V. (1956). The Anthrone Method for the Determination of Carbohydrates in Foods and in Oral Rinsing. *Journal of Dental Research*, 35(1), 90–94. doi:10.1177/00220345560350012301
- Mabin, C.H.J.T., Craig R. J., Jeffrey T. W. (2019). Respuesta fisiológica a la temperatura, la luz y los nitratos en el alga gigante *Macrocystis pyrifera* de Tasmania, Australia. *MEPS*: 1-19. DOI: <https://doi.org/10.3354/meps12900>

- Macías, J., Pournavab, R., Reyes-Valdés, M. y Benavides-Mendoza, A. (2014) Desarrollo de un método de cromatografía de líquidos rápida y eficiente para la determinación de giberelina A4 en tejido vegetal, con extracción en fase sólida para purificación y Cuantificación. *American Journal of Plant Sciences*, 5, 573-583. doi: [10.4236 / ajps.2014.55072](https://doi.org/10.4236/ajps.2014.55072) .
- McHugh D.J. (1987). Production and utilization of Products from Commercial Seaweeds, FAO Fisheries Technical Paper 288, Roma, pp. 58-115.
- Mendoza, M.L. (1999) *Las macroalgas marinas bentónicas de la Argentina*. *Ciencia Hoy*, 9(50), pp. 40-49.
- Metting, B., W.J. Zimmerman, I. Crouch y J. vanStaden. (1990.) Agronomic uses of seaweed and microalgae. En: *Introduction to Applied Phycology* (Ed. por I. Akatsuka), pp. 589-627. SPB Academic Publishing, The Hague.
- Michelena, G., & Almeida, G., & Altuna, B., & Eng, F., & Legrá, S., & Oliveros, M., & Armenteros, S. (2005). Efecto inhibitor del ácido jasmónico sobre el crecimiento de bacterias y hongos. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, XXXIX (3), 3-7.
- Michelena, G., Carrera, E., Bell, A., Altuna, B., Almeida, G. (2001). Procesos de separación y decoloración del ácido jasmónico a partir de *Botryodiplodia theobromae* cepa 715. *Tecnología, Ciencia, Educación*, enero-junio, 12-19.
- Miller RJ, Lafferty KD, Lamy T, Kui L, Rassweiler A, Reed DC. (2018). Giant kelp, *Macrocystis pyrifera*, increases faunal diversity through physical engineering. *Proc. R. Soc. B* 285: 20172571. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2017.2571>
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M., y Breusegem, F. V. (2004). Reactive oxygen gene network of plants. *Trends Plant Sci.* 9, 490–498. doi: [10.1016/j.tplants.2004.08.009](https://doi.org/10.1016/j.tplants.2004.08.009)
- Noiraksar, T., Sawayama, S., Phauk, S., y Komatsu, T. (2014). Mapeo de camas de *Sargassum* frente a la costa de la provincia de Chon Buri, Tailandia, utilizando imágenes satelitales ALOS AVNIR-2. *Botanica Marina*, 57 (5), 367-377.
- Norris, J.N. (2010) Marine algae of the North Gulf of California: Chlorophyta and Phaeophyceae. *Smithsonian Contributions to Botany* 94: 1–276. <http://dx.doi.org/10.5479/si.0081024X.94.276>
- Official Methods of Analysis of the AOAC. (1990). Association of Official Analytical Chemist: Arlington, VA, USA 1990.

- Ondarza, B. M., Rincones, R. E. (2008). El Cultivo De Algas Marinas: Alternativa Industrial En Acuicultura Sustentable A Mediano Y Largo Plazo. Universidad Autónoma de Tamaulipas Ciudad Victoria, México. Ciencia UAT, vol. (83), núm. (2). pp. 68-73
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). 2017. Bioplaguicidas, Biofertilizantes, Bioestimulantes. Tema 19 Del Programa CAC/40 CRD/28 Programa Conjunto Fao/Oms Sobre Normas. Período De Sesiones Centro Internacional De Conferencias De Ginebra (CICG), Ginebra (Suiza) 17-22 De Julio.pp.2
- Ortiz, J., Uquiche, E., Robert, P., Romero, N., Quitral, V., & Llantén, C. (2009). Functional and nutritional value of the Chilean seaweeds *Codium fragile*, *Gracilaria chilensis* and *Macrocystis pyrifera*. European journal of lipid science and technology, 111(4), 320-327.
- Ozyigit, I. I., Filiz, E., Vatansever, R., Kurtoglu, K. Y., Koc, I., Öztürk, M. X. & Anjum, N. A. (2016). Identification and Comparative Analysis of H₂O₂-Scavenging Enzymes (Ascorbate Peroxidase and Glutathione Peroxidase) in Selected Plants Employing Bioinformatics Approaches. *Frontiers in Plant Science*, 7, 301. doi: [10.3389/fpls.2016.00301](https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00301)
- Patterson BD, MacRae EA, Ferguson IB (1984) Estimación del peróxido de hidrógeno en extractos de plantas utilizando titanio (IV). *Anal Biochem* 139: 487–492.
- Peinado I, Giro'n J, Koutsidis G, Ames JM (2014) Chemical composition, antioxidant activity and sensory evaluation of five different species of brown edible seaweeds. *Food Res Int* 66:36–44
- Perez, O. E., de la Noval, B. M., Martínez, C. B., Torres, de la N. W., Medina, C. A., Hernández, A. H. & León, O. (2015). Inducción de mecanismos de defensa en plantas de tomate (*Solanum lycopersicon* L.) micorrizadas frente al ataque de *Oidiopsis taurica* (Lev.) Salm. *Cultivos Tropicales*. 36(1), 98-106.
- Petrov, V. D. & Van, B. F. (2012). Hydrogen peroxide - a central hub for information flow in plant cells. *AoB Plants* 2012:pls014. doi: [10.1093/aobpla/pls014](https://doi.org/10.1093/aobpla/pls014)
- Quitral, V., Morales, C., Sepúlveda, M. y Schwartz, M. (2012). Propiedades nutritivas y saludables de algas marinas y su potencialidad como ingrediente funcional. *Revista Chilena de Nutrición*, 39 (4).
- Rabemanolontsoa H, Saka S (2016) Various pretreatments of lignocellulosics. *Bioresour Technol* 199:83–91

- Raja, R., Hemaiswarya, S., Arunkumar, K. y col. *Braz. J. Bot* (2016) 39: 9. <https://doi.org/10.1007/s40415-015-0200-8>
- Rangel, S.G., Castro M. E., Beltran P. E., Reyes de la Cruz H. y García P. E. (2010). El ácido salicílico y su participación en la resistencia a patógenos en plantas. Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán, México. *Biológicas*. 12(2): 90–95
- Rodríguez-Montesinos, Y.E. & G. Hernández-Carmona. (1991). Seasonal and geographic variations of *Macrocystis pyrifera* chemical composition at the western coast of Baja California. *Cienc. Mar.*, 17(3): 91-107.
- Ruiz HA, Cerqueira MA, Silva HD, Rodríguez-Jasso RM, Vicente AA, Teixeira JA (2013b) Biorefinery valorization of autohydrolysis wheat straw hemicellulose to be applied in a polymer-blend film. *Carbohydr Polym* 92:2154–2162
- Ruiz HA, Parajo JC, Teixeira JA (2015b) Biorefinery strategies for macroalgae-based in bioethanol production. In: Sharma UC, Prasad R, Sivakumar S, Govil JN (eds) *Energy science and technology, Energy management*, vol 12. Studium Press LLC, Houston, TX, pp 349–361
- Ruiz HA, Rodríguez-Jasso RM, Aguedo M, Kádár S (2015a) Hydrothermal pretreatments of macroalgal biomass for biorefineries. In: Prokop A, Bajpai RK, Zappi ME (eds) *Algal biorefineries, Products and refinery design*, vol 2. Springer, Basel, pp 467–491
- Ruiz HA, Rodríguez-Jasso RM, Fernandes BD, Vicente AA, Teixeira JA (2013a) Hydrothermal processing, as an alternative for upgrading agriculture residues and marine biomass according to the biorefinery concept: a review. *Renew Sust Energ Rev* 21:35–51
- Salazar Salazar, W. (2016). Efecto de la aplicación foliar de fertilizantes y extracto de algas en pepino (*Cucumis sativus* L.) y chile dulce (*Capsicum annum* L.) cultivados bajo ambiente protegido en Alajuela, Costa Rica.
- Saleem, M. Y.; Akhtar, K. P.; Iqbal, Q.; Asghar, M. y Shoaib, M. (2015). Development of high yielding and blight resistant hybrids of tomato. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*. 52: 293-299.
- Senn, T.L. (1987). *Seaweed and plant growth*. Faithprinting Co; Taylor, South Carolina. 166 pp.

- S-H Eom et al, antimicrobial effect of phlorotannins from marine Brown algae, *Food and Chemical Toxicology* 50 (2012) 3251-3255
- Siller-Sánchez A., Ruiz H.A., Aguilar C.N., Rodríguez-Jasso R.M. (2019) Biorefinery Approach for Red Seaweeds Biomass as Source for Enzymes Production: Food and Biofuels Industry. In: Parameswaran B., Varjani S., Raveendran S. (eds) *Green Bio-processes. Energy, Environment, and Sustainability*. pp 413-446, Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-13-3263-0_21
- Steiner, A. A. (1961). A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant soil*. 15:134. <https://doi.org/10.1007/BF01347224>.
- Sugiura, Y., Matsuda, K., Yamada, Y., Nishikawa, M., Shioya, K., Katsuzaki, H., y Amano, H. (2006). Aislamiento de un nuevo clorotanino antialérgico, el fluorofucofuroeckol-B, a partir de un alga marrón comestible, *Eisenia arborea*. *Biociencia, biotecnología y bioquímica*, 70 (11), 2807-2811.
- Surey-Gent, S. y G. Morris. (1987). *Seaweed: A User's Guide*. Whitter Books Ltd, London. 160 pp.
- Syad, A. N., Shunmugiah, K. P., y Kasi, P. D. (2013). Seaweeds as nutritional supplements: analysis of nutritional profile, physicochemical properties and 57 proximate composition of *G. acerosa* and *S. wightii*. *Biomedicine & Preventive Nutrition*, 3(2), 139-144.
- Syklowska-Baranek, K., Grech-Baran, M., Naliwajski, M. R., Bonfill, M., y Pietrosiuk, A. (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 Physiologiae Plantarum*, 37(10), 218. <https://doi.org/10.1007/s11738-015-1949-x>.
- Vaclav D, Adam V, Havel L, Kizek R. (2009). Phytohormones as important biologically active molecules-their simple simultaneous detection. *Molecules*. 14: 1825-1839.
- Van Tussenbroek, BI, Arana, HAH, Rodríguez-Martínez, RE, Espinoza-Avalos, J., Canizales-Flores, HM, González-Godoy, CE, & Collado-Vides, L. (2017). Impactos severos de las mareas marrones causados por *Sargassum* spp. en comunidades de pastos marinos del Caribe cerca de la costa. *Boletín de contaminación marina*, 122 (1-2), 272-281.
- Vásquez, Y. L. (2014). Bioactividad Tipo Auxina Y Citoquinina De Extractos De Macroalgas Sobre Cotiledones De *Cucumis Sativus* L. Tesis Para

obtener el Título Profesional de Bióloga. Universidad Nacional Mayor De San Marcos. Lima – Perú. Pág.66

- Vega-Celedón, Paulina, Canchignia Martínez, Hayron, González, Myriam, & Seeger, Michael. (2016). Biosíntesis de ácido indol-3-acético y promoción del crecimiento de plantas por bacterias. *Cultivos Tropicales*, 37(Supl. 1), 33-39. Recuperado en 22 de septiembre de 2019, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362016000500005&lng=es&tlng=es
- Victorino, J. A. G. (2017). Producción y Caracterización de Oligosacáridos de *Macrocystis pyrifera* con potencial de Aplicación en Alimentos. Tesis Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Grado de: Maestra en Ciencia y Tecnología de Alimentos Saltillo, Coahuila. Universidad Autónoma De Coahuila Facultad De Ciencias Químicas Departamento
- Wei N, *et al.* (2013).” Marine macroalgae: an untapped resource for producing fuels and chemicals” *Trends Biotechnol.* Feb; 31(2):70-7
- Wijesinghe, W.A. y Jeon, Y.J. (2012). Enzyme-assistant extraction (EAE) of bioactive components: A useful approach for recovery of industrially important metabolites from seaweeds: A review. *Fitoterapia*. 83: 6–12.
- Wijesinghe, WAJP, y Jeon, YJ. (2012). Actividades biológicas y aplicaciones industriales potenciales de polisacáridos sulfatados ricos en fucosa y fucoidans aislados de algas pardas: una revisión. *Polímeros de carbohidratos* , 88 (1), 13-20.
- Willcox, J. K.; Catignani, G. L. y Lazarus, S. 2003. Tomatoes and cardiovascular health. *Crit. Rev. Food Sci.* 43(1): 1-8.
- Yabur R., Bashan Y., Hernández-Carmona G. (2007). Alginate from the Macroalgae *Sargassum Sinicola* as a Novel Source for Microbial Immobilization Material in Wastewater Treatment and Plant Growth Promotion. *Journal of Applied Phycology*, 19(1):43-53
- Yáñez, T. R. E. (2017). Nuevos biofertilizantes a base de algas marinas. Trabajo monográfico para optar el título de Ingeniero Agrónomo, Lima – Perú, Universidad Nacional Agraria La Molina Facultad De Agronomía. pp:36.
- Yokoya, N.S., W.A. Stirk, J. van Staden, O. Novák, V. Turecková, A. Pencik & M. Struad. 2010. Endogenous cytokinins, auxins and abscisic acid in red algae from Brazil. *J. Phycol.*, 46: 1198-12050

- Yu, Z., y Dahlgren, R. A. (2000). Evaluation of Methods for Measuring Polyphenols in Conifer Foliage. *Journal of Chemical Ecology*, 26(9), 2119–2140. <https://doi.org/10.1023/A:1005568416040> .
- Zermeño, G.A., López R. B. R., Melendres A. A. I., Ramírez R. H., Cárdenas P.J. O., Munguía L. P. (2015). Extracto De Alga Marina Y Su Relación Con Fotosíntesis Y Rendimiento De Una Plantación De Vid. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. (12). pp. 2437- 2446
- Zhou, B., Wang, J., Guo, Z., Tan, H., y Zhu, X. (2006). A simple colorimetric method for determination of hydrogen peroxide in plant tissues. *Plant Growth Regulation*, 49(2-3), 113–118. [doi:10.1007/s10725-006-90](https://doi.org/10.1007/s10725-006-90)