

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA



“Caracterización fisicoquímica y nutricional de las algas *Laminaria japonica* y *Ascophyllum nodosum* y su evaluación bioestimulante en plantas de pepino (*Cucumis sativus L.*) y en semillas de rábano (*Raphanus sativus L.*); bajo condiciones de estrés salino”.

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

TONANTZIN ZAREMA ARAUJO GONZALEZ

TIJUANA B.C.

ABRIL 2025

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA
COORDINACIÓN DE EXTENSIÓN Y VINCULACIÓN

FOLIO No. 072


Tijuana, Baja California, a 29 de abril de 2025


C. TONANTZIN ZAREMA ARAUJO GONZÁLEZ
PASANTE DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGO
PRESENTE:

El tema de trabajo para su examen profesional, en la opción de Tesis, propuesto por el Dr. Iván Córdova Guerrero y la Dra. Laura Janeth Díaz Rubio, quienes serán los responsables de la calidad del trabajo que usted presente, referido al tema: "**Caracterización fisicoquímica y nutricional de las algas *Laminaria japonica* y *Ascophyllum nodosum* y su evaluación bioestimulante en plantas de pepino (*Cucumis sativus* L.) y en semillas de rábano (*Raphanus sativus* L.) bajo condiciones de estrés salino**", el cual usted deberá desarrollar, de acuerdo con el siguiente orden:

- I. RESUMEN
- II. ABSTRACT
- III. INTRODUCCIÓN
- IV. OBJETIVOS Y META
- V. MATERIALES Y MÉTODOS
- VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN
- VII. CONCLUSIONES
- VIII. BIBLIOGRAFÍA




Dr. Iván Córdova Guerrero
Director de Tesis


Dra. Laura Janeth Díaz Rubio
Co- Directora de Tesis


M.C. Roberto Alejandro Reyes Martínez
Director


Dra. Ana Alejandra Ramírez Rodríguez
Subdirectora

AGRADECIMIENTOS.

A mi familia, amigos, compañeros, y a todas las personas que formaron parte en mi vida en estos últimos años. Porque de alguna manera causaron un impacto en mi vida y gracias a eso he aprendido muchas cosas y de todos me he llevado algo.

Al Dr. Iván Córdova y Dra. Laura Díaz por dejarme ser parte del laboratorio de agroquímica y productos naturales. Por guiarme y darme apoyo en este proyecto para poder concluir mi tesis. También a mis compañeros y profesores dentro del laboratorio; por brindarme su apoyo, aconsejarme y ser pacientes.

A la Universidad Autónoma de Baja California, la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería, profesores y compañeros, por brindarme las herramientas para formarme como profesionista.

A mis perritos Phi y Chester, por ser un apoyo muy importante en mi vida.

RESUMEN.

El estrés salino constituye uno de los factores abióticos más limitantes para la productividad agrícola, al disminuir la disponibilidad de agua y alterar el metabolismo vegetal, provocando reducciones en la germinación, el crecimiento vegetativo y el rendimiento de cultivos sensibles como el pepino (*Cucumis sativus* L.) y el rábano (*Raphanus sativus* L.). Ante esta problemática, los extractos de macroalgas pardas emergen como bioestimulantes naturales capaces de mitigar los efectos adversos de la salinidad, gracias a su riqueza en polisacáridos (alginatos, laminarina, fucoidano), fitohormonas (auxinas, citoquininas) y compuestos fenólicos entre otros.

En este estudio se caracterizaron química, fisicoquímica y nutricionalmente los extractos de *Laminaria japonica* y *Ascophyllum nodosum*; determinando contenido de grasas (0.64–0.65 %), azúcares reductores (8.5–10.5 %), carbono orgánico (21–26 %), polifenoles totales (398–431 µg/mL), auxinas (21.7–27.7 mg L⁻¹), flavonoides (91–101 µg EQ g⁻¹ ES) y taninos (12.2–20.4 %). Se evaluaron asimismo parámetros fisicoquímicos: capacidad de retención de agua (0.38–0.42 g H₂O g⁻¹ alga), capacidad de retención de aceite (1.9 g aceite g⁻¹ alga) y capacidad de hinchamiento (20.6 mL g⁻¹). Para determinar su actividad bioestimulante bajo estrés salino (100 mM NaCl), se realizaron:

Ensayos de germinación en semillas de rábano, con tratamientos de extractos al 0.5 % ± ácido poliglutámico (PGA), controles de ácido naftalenacético (ANA), PGA y agua. Se midieron índices de germinación, peso fresco y peso seco, longitud de raíz y tallo, contenido de prolina y polifenoles en plántulas. *Ascophyllum nodosum* 0.5 % destacó por mejorar la retención de agua y peso fresco, mientras que *Laminaria japonica* 0.5 % + PGA potenció la acumulación de polifenoles y prolina, evidenciando un efecto osmoprotector y antioxidante.

Ensayos hidropónicos con plantas de pepino, sumergidas 24 h en tratamientos análogos y cultivadas en solución nutritiva de Hoagland con/sin estrés. Se cuantificaron biomasa fresca y seca, longitud y diámetro de raíces y tallo, número de raíces y hojas. *Laminaria japonica* 0.5 % y su combinación con PGA lograron la mayor conservación de biomasa y desarrollo radicular, superando a los controles y atenuando la pérdida de agua inducida por la salinidad.

Los resultados demuestran que ambos extractos de algas, especialmente cuando se complementan con PGA, activan mecanismos de tolerancia al estrés salino: regulación osmótica (prolina), refuerzo de la capacidad antioxidante (polifenoles) y promoción del crecimiento radicular y foliar. Esto resalta el potencial de *Laminaria japonica* y *Ascophyllum nodosum* como bioestimulantes sostenibles para mejorar la resiliencia y productividad de hortalizas en ambientes salinos.

ÍNDICE GENERAL.

ÍNDICE DE FIGURAS.	7
ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS.	10
INTRODUCCIÓN.	11
HIPÓTESIS.	15
OBJETIVOS.	16
Objetivo general.	16
Objetivos específicos.	16
ANTECEDENTES.	18
Estrés abiótico y su impacto en la productividad agrícola.	18
Algas marinas: diversidad, composición y relevancia biotecnológica.	19
Composición bioactiva de las algas.	19
Aplicación agrícola de los extractos de algas.	20
<i>Ascophyllum nodosum</i>	21
<i>Laminaria japonica</i>	22
Bioestimulantes vegetales: concepto y mecanismos, con énfasis en extractos de algas marinas.	22
Efectos fisiológicos generales de los bioestimulantes.	23
Extractos de algas marinas como bioestimulantes.	23
Importancia agrícola y alimentaria del rábano (<i>Raphanus sativus</i>) y el pepino (<i>Cucumis sativus</i>).	24
El rábano: cultivo de ciclo corto y valor nutricional.	24
El pepino: hortaliza estratégica en sistemas hidropónicos.	24
METODOLOGÍAS	26
Caracterización química	27
Grasas.	27
Carbono orgánico.	28
Auxinas. (método Salkowski modificado)	31
Determinación de polifenoles totales. (método Folin–Ciocalteu modificado)	32
Flavonoides (método del cloruro de aluminio).	33
Determinación de taninos totales por el método de Lowenthal	35
Caracterización fisicoquímica.	36
Capacidad de retención de agua (CRA).	36
Capacidad de retención de aceite (CRAc).	37
Capacidad de hinchamiento (CH).	38

Evaluación bioestimulante de algas.	39
Germinación con semillas de rábano	39
Sistema hidropónico con plantas de pepino	45
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	48
Caracterización química bromatológica.	49
Comparación entre especies.....	50
Caracterización fisicoquímica.	51
Caracterización del desarrollo vegetativo (biomasa y morfometría).	53
Evaluación de germinación en semillas de rábano (<i>Raphanus sativus</i>).	53
Prolina en semillas de rábano.....	55
Polifenoles totales en semillas de rábano	56
CONCLUSIONES.....	64
BIBLIOGRAFÍA.....	66

ÍNDICE DE FIGURAS.

<u>Figura 1. Planta dañada por estrés salino (Jiménez Piedra-Redacción, 2023).</u>	13
<u>Figura 2. Estructura de <i>Ascophyllum nodosum</i> (Pereira et al. 2020).</u>	21
<u>Figura 3. <i>Laminaria japonica</i> (FAO, 2009).</u>	22
<u>Figura 4. Extracción de grasas de las algas <i>An</i> y <i>Lj</i> por el método de Soxhlet.</u> ...	27
<u>Figura 5. Determinación de carbono orgánico en extractos de algas <i>An</i> y <i>Lj</i>.</u>	29
<u>Figura 6. Determinación de taninos con extracto de <i>Lj</i>.</u>	36
<u>Figura 7. CRAC con extracto de las algas <i>An</i> y <i>Lj</i>.</u>	38
<u>Figura 8. Evaluación de germinación con semillas de rábano en cajas Petri.</u>	41
<u>Figura 9. Determinación de polifenoles en plántulas de rábano.</u>	44
<u>Figura 10. Evaluación morfológica de la germinación en semillas de rábano.</u>	45
<u>Figura 11. Montaje de sistema hidropónico con plantas de pepino.</u>	46
<u>Figura 12. Evaluación de plántulas de pepino.</u>	47

ÍNDICE DE TABLAS.

<u>Tabla 1. Tratamientos evaluados en germinación con semillas de rábano.</u>	40
<u>Tabla 2. Tratamientos evaluados en sistema hidropónico con semillas de pepino.</u>	46
<u>Tabla 3. Resultados de caracterización química de las algas.</u>	49
<u>Tabla 4. Resultados de caracterización fisicoquímica de las algas.</u>	51
<u>Tabla 5. Resultados de la evaluación de germinación con semillas de rábano.</u> ...	53
<u>Tabla 6. Rendimiento total de peso fresco y seco en plantas de pepino.</u>	58
<u>Tabla 7. Resultados del sistema radicular en plantas de pepino.</u>	60
<u>Tabla 8. Resultados de tallo en plantas de pepino.</u>	61
<u>Tabla 9. Resultados de parte aérea en plantas de pepino.</u>	63

ÍNDICE DE GRÁFICAS.

<u>Gráfica 1. Curva de calibración para determinación de auxinas.</u>	32
<u>Gráfica 2. Curva de calibración para determinación de polifenoles totales.</u>	33
<u>Gráfica 3. Curva de calibración para determinación de flavonoides.</u>	35
<u>Gráfica 4. Curva de calibración para prolina.</u>	43
<u>Gráfica 5. Resultados de la determinación de prolina en semillas de rábano.</u>	55
<u>Gráfica 6. Resultados de polifenoles en semillas de rábano.</u>	56

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS.

An = *Ascophyllum nodosum*.
Lj = *Laminaria japonica*.
PGA = Acido poliglutámico.
ANA = Acido naftalenacético.
Na⁺ = Sodio.
Cl⁻ = Cloro.
K⁺ = Potasio.
Ca⁺² = Calcio.
Fe = Hierro.
NaCl = Cloruro de sodio.
UV = Ultra violeta.
ROS = Especies reactivas de oxígeno.
O₂⁻ = Anión superóxido.
H₂O₂ = Peróxido de hidrógeno.
OH• = Radical hidroxilo.
g = Gramos.
mg = Miligramos.
L = Litros.
mL = Mililitros.
M = Moles.
mM = Milimoles.
nm = Nanomoles.
µg = Microgramos.
µL = Microlitros.
cm = Centímetro.
EQ = Equivalentes de quercetina.
ES = Extracto seco.
CRA = Capacidad de retención de agua.
CRAc = Capacidad de retención de aceite.
CH = Capacidad de hinchamiento.
°C = Grados centígrados.
rpm = Revoluciones por minuto.
min = Minuto.
h = Hora.
pH = Potencial de hidrógeno.
AIA = Acido indol acético
EM = Erlen Meyer.
= Número.
% = Porcentaje.

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN.

El estrés abiótico se refiere a los factores ambientales que alteran los procesos fisiológicos y metabólicos de las plantas (Taiz y Zeiger 2010). A lo largo del tiempo las plantas han evolucionado en un amplio rango de mecanismos para combatir los diferentes tipos de estrés biótico y abiótico. Dentro del estrés abiótico se pueden encontrar algunos ejemplos como sequía, temperaturas extremas y salinidad (Mittler 2010; Chaves 2009). Siendo estos los principales tipos de estrés abiótico que se han reportado, causando así una gran pérdida en cultivos agrícolas a nivel mundial. Esta situación se agrava con el cambio climático, el cual influye en la frecuencia de incendios, rápido incremento de la temperatura y disturbios en los patrones de precipitación pluvial, entre otros (IPCC 2007).

El estrés salino afecta al desarrollo de la planta, incluyendo la germinación, el crecimiento vegetativo y el desarrollo reproductivo (Chaves, 2009); también se ven afectados los procesos biológicos como la floración y el desarrollo del fruto por las altas concentraciones de sales (Ren *et al.*, 2005). Estas altas concentraciones reducen el potencial hídrico de la solución del suelo, lo que disminuye la disponibilidad de agua, y crea un desequilibrio nutritivo, dada la elevada concentración de elementos (Na^+ , Cl^-) que pueden interferir con la nutrición mineral y el metabolismo celular (Amini *et al.*, 2007). Los efectos adversos de la salinidad pueden atribuirse al efecto del estrés salino sobre el ciclo celular y la diferenciación (Chaves, 2010).

La salinidad impone en las plantas un estrés de doble naturaleza osmótico e iónico que compromete tanto el aprovechamiento del agua como la integridad de sus procesos metabólicos. Por un lado, el estrés osmótico surge en cuanto la elevación de sales en la solución del suelo reduce su potencial hídrico, dificultando la absorción de agua por las raíces y provocando una pérdida de turgencia celular. Esta falta de presión interna desencadena el cierre estomático, disminuye la tasa de crecimiento celular y ralentiza la elongación de tejidos, lo que se traduce en un menor contenido relativo de agua y en señales de alarma intracelular que inducen la síntesis de osmoprotectores como prolina y azúcares compatibles (Alfonso, 1998; Bartels & Ramanjulu, 2005).

Por otro lado, el estrés iónico se da cuando la entrada excesiva de iones Na^+ y Cl^- desplaza elementos esenciales como K^+ y Ca^{2+} en membranas y sitios enzimáticos. El desbalance Na^+/K^+ interfiere con la activación de enzimas claves en la fotosíntesis y la regulación osmótica, mientras que la relación $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ alterada compromete la estabilidad de la pared celular y la señalización mediada por calcio, factor crítico en la respuesta a factores abióticos (Chaman, 2007). La acumulación iónica en el citosol favorece además la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), que dañan lípidos de membrana, proteínas y ácidos nucleicos, agravando la disfunción metabólica (Buchanan *et al.*, 2000).

En conjunto, estos dos modos de estrés no solo reducen la viabilidad de las plántulas sino que, al inhibir procesos tan básicos como la fotosíntesis, la nutrición mineral y la división celular, limitan de manera severa el establecimiento y desarrollo de cultivos en suelos salinos. Economía de agua, síntesis de compuestos antioxidantes y un adecuado balance catiónico resultan, por tanto, estrategias fundamentales para la tolerancia vegetal en ambientes salinos.



Figura 1. Planta dañada por estrés salino (Jiménez Piedra-Redacción, 2023).

Debido a que las plantas poseen limitados mecanismos para evitar el estrés, estas han desarrollado flexibles vías para adaptarse a los cambios medioambientales (Zhu, 2001). Aunque ya se ha mencionado que las altas concentraciones de sales afectan procesos fisiológicos o metabólicos en el crecimiento de cultivos, existen plantas que pueden ser clasificadas en aquellas que requieren o toleran altas concentraciones de sales, o halófitas; las que no toleran la presencia excesiva de sales, o glicófitas. También existen categorías intermedias entre ambos grupos como las pseudohalófitas; así como plantas que, sin ser halófitas, requieren sodio como elemento esencial. La sensibilidad de las plantas a las sales varía durante el desarrollo fenológico, dependiendo de la especie, el cultivar y factores ambientales (Munns, 2002; Chaves, 2010).

Por mucho tiempo se utilizaron modelos de producción agrícola intensiva, lo cuales tenían la finalidad de aumentar los rendimientos de cultivos. Se utilizaban insumos agrícolas como los fertilizantes químicos, plaguicidas y herbicidas. A pesar de que los agroquímicos tienen efectos nocivos tanto para la salud de las personas como para el ambiente, los fertilizantes químicos y los insumos agrícolas aumentan la productividad en los primeros años que se aplican. El agotamiento de recursos y la liberación de contaminantes al ambiente han llegado a un extremo preocupante, que compromete la calidad de vida y la contaminación medioambiental; uno de estos factores es por el uso inadecuado en el manejo de los fertilizantes. La situación actual

de la problemática medioambiental se caracteriza por la urgencia que ha adquirido su análisis y atención en estas últimas décadas; se manifiesta en un amplio espectro de rasgos que gravitan en forma negativa en todos los confines de la sociedad y la economía planetaria (Franklin, 2020).

Como consecuencia, se necesita una visión integral con óptica ecológica, económica y social, sumadas a cuestiones de seguridad alimentaria; además de la variación en la disponibilidad de infraestructura e insumos entre los diferentes productores agrícolas, para llegar a la adaptación de las sociedades humanas con los desafíos derivados de los cambios globales del clima. El uso de los bioestimulantes y el avance en el conocimiento sobre la actividad biológica de bioestimulación constituyen una fracción de las herramientas y técnicas necesarias para el logro de la transición en el cambio de una clase de agricultura (productiva) hacia la otra agricultura (productiva y sostenible); sin embargo, esto no puede ser repentino, sino que debe ocurrir en forma gradual. Esta transición entre los dos tipos de agricultura es en la que estamos inmersos actualmente (Benavides-Mendoza, 2021). Según European Biostimulants Industry Council los bioestimulantes incluyen diversas formulaciones o compuestos, sustancias, y otros productos que se aplican a las plantas o al suelo para regular y aumentar los procesos fisiológicos de los cultivos, haciéndolos más eficientes. Los bioestimulantes actúan sobre la fisiología de la planta a través de mecanismos diferentes a la nutrición para mejorar el vigor de los cultivos, el rendimiento, calidad y la vida poscosecha (EBIC, 2011).

En este proyecto se busca generar la obtención de un bioestimulante a base de macroalgas pardas, como una solución alternativa a los fertilizantes y productos agroquímicos que causan un daño a la salud humana y al medio ambiente. La aplicación de bioestimulantes en la agricultura puede implementarse de forma segura para el crecimiento de cultivos agrícolas y su desarrollo en mecanismos de defensa, así como, su adaptación ante los diferentes tipos de estrés biótico o abióticos que se pueden presentar, como el estrés salino. Además, estos también presentan un mejor rendimiento económico a los agricultores, y causan un mejor impacto en el medio ambiente, reduciendo el uso de químicos en el suelo y aprovechando el uso de materia prima de una manera más ecológica y responsable.

HIPÓTESIS.

Los extractos de las algas **Laminaria japonica** y **Ascophyllum nodosum** tienen un efecto bioestimulante promoviendo el crecimiento y adaptación en plantas de pepino (**Cucumis sativus L.**) por medio de un sistema hidropónico e impulsa a la germinación de semillas de rábano (**Raphanus sativus L.**) bajo condiciones de estrés salino.

OBJETIVOS.

Objetivo general.

Caracterizar química, fisicoquímica y nutricionalmente los extractos de *Laminaria japonica* y *Ascophyllum nodosum*, y evaluar su potencial como bioestimulantes en la germinación de semillas de rábano (*Raphanus sativus* L.) y en el crecimiento de plantas de pepino (*Cucumis sativus* L.) sometidos a estrés salino.

Objetivos específicos.

Perfil fitoquímico.

Cuantificar en los extractos de *L. japonica* y *A. nodosum* los principales metabolitos secundarios (polifenoles totales, flavonoides, taninos), fitohormonas (auxinas) y contenido de carbono orgánico.

Propiedades fisicoquímicas.

Evaluar la capacidad de retención de agua, retención de aceite y capacidad de hinchamiento de los extractos de ambas macroalgas.

Composición nutricional.

Determinar el contenido de azúcares reductores y lípidos en los extractos de *L. japonica* y *A. nodosum* para caracterizar su valor bromatológico.

Ensayo de germinación.

Analizar el efecto de los extractos al 0.5 % (con y sin ácido poliglutámico) sobre la germinación de semillas de rábano bajo 100 mM de NaCl, midiendo porcentaje de germinación, crecimiento morfológico, peso fresco/seco y acumulación de prolina y polifenoles.

Ensayo hidropónico.

Evaluar el impacto de los mismos tratamientos en el desarrollo de plantas de pepino en un sistema hidropónico con y sin estrés salino (100 mM NaCl), cuantificando biomasa (fresca y seca), longitud y diámetro del sistema radicular, número de raíces laterales, así como parámetros de crecimiento aéreo (longitud y número de hojas).

ANTECEDENTES

ANTECEDENTES.

Estrés abiótico y su impacto en la productividad agrícola.

Los estreses abióticos, tales como la sequía, la salinidad, las temperaturas extremas (altas o bajas), la radiación UV y la contaminación por metales pesados, constituyen algunas de las principales amenazas para la agricultura a nivel global. Estos factores no solo reducen el rendimiento de los cultivos, sino que también comprometen la seguridad alimentaria, especialmente en regiones vulnerables al cambio climático (Bray et al., 2000; IPCC, 2007).

Durante la última década, se ha documentado un incremento en la frecuencia, intensidad y duración de eventos climáticos extremos que alteran los ciclos agrícolas tradicionales. Estos eventos pueden interrumpir procesos fundamentales como la germinación, la fotosíntesis, la absorción de agua y nutrientes, y el desarrollo reproductivo de las plantas (Sharma et al., 2014). La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) ha estimado que más del 80 % de las pérdidas agrícolas están relacionadas directa o indirectamente con condiciones climáticas adversas, muchas de ellas vinculadas con estreses abióticos.

Uno de los aspectos más críticos de estos estreses es que suelen presentarse de forma simultánea o secuencial. Por ejemplo, una sequía prolongada puede ir seguida de un golpe de calor o de una ola de frío, multiplicando los efectos adversos. Las plantas deben entonces activar respuestas fisiológicas complejas para sobrevivir, como el cierre estomático, la síntesis de osmolitos compatibles, la activación de sistemas antioxidantes y la modulación hormonal (Mittler, 2002).

Entre los mecanismos de daño más relevantes está el estrés osmótico, que altera el potencial hídrico celular y limita la turgencia. Esto lleva a una reducción de la tasa fotosintética y al cierre de estomas, lo que compromete el intercambio gaseoso. Además, el estrés osmótico suele desencadenar un estrés oxidativo secundario, caracterizado por la producción excesiva de especies reactivas de oxígeno (ROS), como el anión superóxido (O_2^-), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el radical hidroxilo ($OH\cdot$). Estas especies dañan estructuras celulares fundamentales como las membranas plasmáticas, los cloroplastos y los ácidos nucleicos, afectando el metabolismo general de la planta (Arora et al., 2002; Mittler, 2002).

La salinidad, por su parte, causa un doble efecto: estrés osmótico inicial debido a la disminución del potencial hídrico del suelo y, posteriormente, toxicidad iónica por acumulación de sodio (Na^+) y cloro (Cl^-), lo que interfiere con la absorción de potasio (K^+), calcio (Ca^{2+}) y otros nutrientes esenciales (Munns, 1993). Estas alteraciones reducen el crecimiento radicular, disminuyen la eficiencia del sistema fotosintético y pueden provocar necrosis foliar y muerte celular programada.

En este contexto, los modelos agrícolas convencionales, basados principalmente en fertilización química y riego intensivo, resultan insuficientes y, en muchos casos, insostenibles. Por ello, se hace cada vez más evidente la necesidad de adoptar enfoques agrícolas más resilientes, ecológicos y adaptativos, que permitan a los

cultivos enfrentar los estreses abióticos de forma eficiente y con menor dependencia de agroquímicos (Rouphael & Colla, 2018).

Entre las herramientas emergentes con mayor potencial destaca el uso de bioestimulantes vegetales, particularmente aquellos derivados de extractos de algas marinas. Estas sustancias naturales han demostrado mejorar la tolerancia al estrés mediante múltiples mecanismos, incluyendo la activación de rutas antioxidantes, la mejora en la captación de nutrientes y la regulación hormonal. Además, son biodegradables, de bajo impacto ambiental y compatibles con la agricultura orgánica (Zodape, 2001; Du Jardin, 2015).

Algas marinas: diversidad, composición y relevancia biotecnológica.

Las algas marinas son organismos fotosintéticos esenciales en los ecosistemas marinos costeros, donde desempeñan múltiples funciones ecológicas: desde la producción primaria y el reciclaje de nutrientes, hasta la provisión de hábitats para una amplia gama de organismos marinos. Representan una de las fuentes de biomasa más abundantes del océano y han sido utilizadas por el ser humano desde tiempos antiguos como alimento, medicina y fertilizante agrícola (Zodape, 2001).

Desde una perspectiva taxonómica, las algas marinas se clasifican en tres grandes grupos según la naturaleza de sus pigmentos fotosintéticos y su composición celular:

- **Phaeophyta (algas pardas):** como *Ascophyllum nodosum*, *Laminaria japonica* y *Sargassum spp.*, caracterizadas por contener fucoxantina, lo que les da su color marrón característico.
- **Rhodophyta (algas rojas):** como *Gracilaria* y *Porphyra*, ricas en ficobilinas y utilizadas ampliamente en la industria alimentaria (por ejemplo, para producir agar y carragenanos).
- **Chlorophyta (algas verdes):** como *Ulva* y *Codium*, que contienen clorofila a y b, similares a las plantas terrestres (Khan et al., 2009).

Se estima que existen alrededor de 9,000 especies de macroalgas marinas, aunque este número puede ser aún mayor considerando especies no descritas o con clasificación taxonómica pendiente. Estas macroalgas crecen en ambientes litorales donde la luz solar, el sustrato rocoso y los nutrientes disponibles permiten su desarrollo y reproducción

Composición bioactiva de las algas.

Las algas no solo destacan por su alto contenido de nutrientes, sino también por la presencia de una rica diversidad de compuestos bioactivos que las convierte en candidatas ideales para aplicaciones biotecnológicas en agricultura, medicina y cosmética.

Entre los principales componentes funcionales de las algas se encuentran:

- Macronutrientes y micronutrientes: como nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio, hierro, zinc, boro, entre otros.

- Polisacáridos estructurales y solubles, con funciones protectoras y bioestimulantes: laminarina (β -glucano), alginato (ácido algínico), fucoidano (sulfatado) y carragenanos.
- Aminoácidos y péptidos libres, que pueden actuar como señales químicas para la activación de rutas metabólicas en las plantas.
- Vitaminas del grupo B, vitamina C, vitamina E y compuestos antioxidantes.
- Esteroles y lípidos funcionales, algunos de los cuales tienen actividad antimicrobiana o fungicida natural.
- Compuestos nitrogenados, como las betaínas, que regulan la osmorregulación y mitigan el estrés salino.
- Fitohormonas naturales: auxinas, citoquininas, giberelinas y ácido abscísico, que desempeñan un papel crucial en la regulación del crecimiento y desarrollo vegetal (Crouch & van Staden, 1992; Du Jardin, 2012).

Lo más notable es que muchos de estos compuestos son únicos o significativamente más abundantes en algas que en plantas superiores, lo cual ofrece ventajas comparativas para su uso en productos bioestimulantes o bioprotectores.

Aplicación agrícola de los extractos de algas.

Gracias a su composición química, los extractos de algas han sido empleados con éxito como estimulantes del crecimiento vegetal, tanto en cultivos extensivos como hortícolas, florales y frutales. Estos extractos inducen respuestas fisiológicas favorables en las plantas, como:

- Mayor tasa de germinación y emergencia de plántulas
- Incremento del desarrollo radicular
- Mejora en la absorción de nutrientes del suelo
- Mayor actividad fotosintética y producción de clorofila
- Tolerancia a estreses abióticos como sequía, salinidad y temperatura
- Incremento en la producción de compuestos secundarios como fenoles, flavonoides y antioxidantes
- Mejora en la calidad del fruto, la uniformidad de maduración y la vida poscosecha (Craigie, 2011; Khan et al., 2009)

Los efectos benéficos observados en plantas tratadas con extractos de algas pueden explicarse por la interacción sinérgica de los diversos compuestos bioactivos presentes. A diferencia de los fertilizantes tradicionales, los extractos algales no actúan por un solo nutriente dominante, sino que regulan múltiples vías metabólicas al mismo tiempo.

Ascophyllum nodosum

Ascophyllum nodosum (L.) Le Jolis, perteneciente al grupo Phaeophyta, es el alga marina más estudiada dentro de su grupo. Es común en la costa noroeste de Europa, Groenlandia oriental, Islandia y la costa noreste de América del Norte. Esta alga parda, comestible, también es conocida como “rockweed” o “kelp noruego”. Sus frondas son de color oliva-marrón y pueden alcanzar de 2 hasta 7 metros de largo. Puede formar comunidades dominantes en la zona media del litoral (Pereira et al., 2020).

Ascophyllum nodosum es altamente eficaz en la acumulación de nutrientes y minerales del agua marina circundante. Su extracto contiene reguladores del crecimiento vegetal como auxinas, citoquininas, giberelinas, betaínas, manitol, ácidos orgánicos, polisacáridos, aminoácidos y proteínas. Contiene además polifenoles únicos como las florotaninas, que no se encuentran en plantas terrestres. También posee biopolímeros bioactivos como alginatos, fucoidano y laminarina (Connan et al., 2004; Chater et al., 2016).

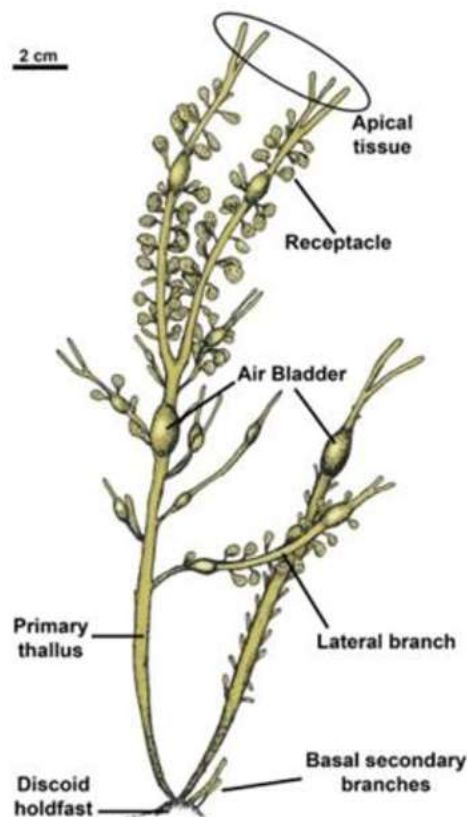


Figura 2. Estructura de *Ascophyllum nodosum* (Pereira et al. 2020).

Laminaria japonica

Saccharina japonica (*Laminaria japonica*) es una especie marina de alga parda que forma parte importante de los lechos de algas del noroeste del Océano Pacífico. En China, las principales zonas de cultivo son las provincias de Fujian, Liaoning y Shandong, que concentran más del 95 % de la producción nacional. La calidad comercial de esta alga depende de características sensoriales como el color, siendo el marrón oscuro el más valorado (Wan et al., 2025; Liu et al., 2024).

Esta especie se cultiva con fines alimentarios, industriales (alginato, fucoidano, manitol), médicos y como fertilizante agrícola (Buschmann et al., 2017; Hu et al., 2021).



Figura 3. *Laminaria japonica* (FAO, 2009).

Bioestimulantes vegetales: concepto y mecanismos, con énfasis en extractos de algas marinas.

Los bioestimulantes vegetales han emergido como una alternativa biotecnológica clave para enfrentar los desafíos actuales en la agricultura, especialmente ante las condiciones ambientales extremas exacerbadas por el cambio climático. Se definen como sustancias o microorganismos que, aplicados a las plantas, semillas o al suelo, estimulan procesos fisiológicos naturales para mejorar la absorción de nutrientes, la tolerancia al estrés abiótico y la calidad del cultivo, sin actuar directamente como fertilizantes ni pesticidas (Du Jardin, 2015).

Estos productos incluyen formulaciones diversas: extractos vegetales, compuestos húmicos, microorganismos benéficos, aminoácidos libres, enzimas, y en particular, extractos de algas marinas. Su uso se ha expandido significativamente debido a su bajo impacto ambiental, su compatibilidad con prácticas agroecológicas y su potencial para mejorar el rendimiento y la calidad de los cultivos en condiciones adversas (Yakhin et al., 2017; Sharma et al., 2014).

Efectos fisiológicos generales de los bioestimulantes.

Los mecanismos de acción de los bioestimulantes varían ampliamente según su composición, pero comparten la capacidad de modular procesos fisiológicos como la germinación, la división y elongación celular, la fotosíntesis, la eficiencia en el uso del agua, la producción de metabolitos secundarios y la expresión génica asociada al estrés (Rouphael & Colla, 2018).

Además, pueden inducir un fenómeno conocido como “priming” o preparación fisiológica, mediante el cual la planta queda en un estado de alerta que le permite responder de forma más rápida y eficiente ante eventos de estrés como salinidad, déficit hídrico o altas temperaturas (Sharma et al., 2014).

Extractos de algas marinas como bioestimulantes.

Entre las fuentes más estudiadas y comercializadas de bioestimulantes destacan los extractos de algas marinas, particularmente de algas pardas como *Ascophyllum nodosum*, *Laminaria japonica*, *Ecklonia maxima* y *Sargassum spp.* Estas macroalgas contienen una diversidad de compuestos bioactivos, entre ellos:

- Polisacáridos sulfatados como alginatos, laminarina y fucoidano
- Polifenoles exclusivos de algas como las florotaninas
- Betainas y manitol
- Fitohormonas naturales: auxinas, citoquininas y ácido abscísico
- Oligosacáridos que actúan como elicitores del sistema inmune vegetal (Khan et al., 2009; Craigie, 2011)

Estas sustancias interactúan con las células vegetales y desencadenan respuestas fisiológicas similares a las que ocurren ante señales de estrés ambiental, favoreciendo la tolerancia al mismo. También mejoran la absorción de nutrientes, la síntesis de antioxidantes y la producción de clorofila, lo cual incrementa el vigor de la planta y su rendimiento productivo (Yakhin et al., 2017; Pereira et al., 2020).

Estudios han demostrado que los extractos de *Ascophyllum nodosum*, por ejemplo, estimulan el crecimiento radicular, mejoran la absorción de nitrógeno y fósforo, aumentan la actividad enzimática antioxidante, y reducen el daño celular por ROS en cultivos como alfalfa, tomate, uva y trigo (Khan et al., 2008; Khan et al., 2012).

En tanto, *Laminaria japonica* ha sido reconocida no solo por su valor alimenticio y medicinal, sino también por su contenido de fucoidano, un polisacárido con propiedades antiinflamatorias y antioxidantes que también presenta efectos beneficiosos sobre el metabolismo vegetal bajo estrés abiótico (Wan et al., 2025; Liu et al., 2024).

Importancia agrícola y alimentaria del rábano (*Raphanus sativus*) y el pepino (*Cucumis sativus*).

En el presente estudio, se seleccionaron el rábano (*Raphanus sativus*) y el pepino (*Cucumis sativus*) como especies vegetales modelo para evaluar el efecto bioestimulante de extractos de algas marinas, tanto en la etapa de germinación como en el desarrollo vegetativo en sistemas hidropónicos. Esta elección responde no solo a su facilidad de cultivo y rápido ciclo de vida, sino también a su alto valor nutricional y relevancia en la seguridad alimentaria a nivel global.

El rábano: cultivo de ciclo corto y valor nutricional.

El rábano (*Raphanus sativus*) es una hortaliza de raíz perteneciente a la familia Brassicaceae. Es reconocido por su rápido crecimiento, lo que permite observar efectos fisiológicos en etapas tempranas con facilidad, siendo ampliamente utilizado en bioensayos de germinación, toxicidad y respuesta a reguladores del crecimiento (González-Mendoza et al., 2011).

Desde una perspectiva nutricional, el rábano es rico en vitamina C, ácido fólico, potasio, calcio y compuestos azufrados con propiedades antioxidantes y antimicrobianas. Su consumo está asociado a beneficios para la salud digestiva y hepática, y forma parte de la dieta cotidiana en diversas culturas por su disponibilidad durante todo el año (FAO, 2019).

Además, su cultivo requiere pocos insumos, puede realizarse en espacios reducidos y es ideal para prácticas de agricultura urbana o familiar, lo que lo convierte en un cultivo estratégico para la seguridad alimentaria local, especialmente en zonas marginadas o con recursos limitados.

El pepino: hortaliza estratégica en sistemas hidropónicos.

El pepino (*Cucumis sativus*), perteneciente a la familia Cucurbitaceae, es una de las hortalizas más producidas y consumidas en el mundo. Destaca por su alto contenido de agua (alrededor del 95 %), bajo aporte calórico y presencia de micronutrientes como vitamina K, magnesio y antioxidantes naturales como cucurbitacinas y flavonoides (USDA, 2022).

Desde el punto de vista agrícola, el pepino tiene alta demanda comercial y es ampliamente cultivado en sistemas intensivos como hidroponía, invernaderos y agricultura protegida. Estos sistemas permiten un uso más eficiente del agua y los nutrientes, y son ideales para evaluar el efecto de insumos bioestimulantes de forma controlada (Rouphael & Colla, 2018).

El pepino también es sensible a condiciones de estrés hídrico, salinidad y deficiencias nutricionales, por lo que constituye una planta indicadora útil para ensayos de respuesta fisiológica y de crecimiento en contextos de bioestimulación.

En conjunto, tanto el rábano como el pepino ofrecen ventajas agronómicas, científicas y sociales que los convierten en modelos ideales para evaluar el efecto de tecnologías emergentes como los bioestimulantes a base de algas. Su inclusión en este trabajo permite generar evidencia aplicable a sistemas productivos reales y contribuye al desarrollo de soluciones sostenibles para la agricultura actual.

METODOLOGÍAS

METODOLOGÍAS.

Caracterización química

Grasas.

Preparación de la muestra

Antes de la extracción, las muestras de *Ascophyllum nodosum* y *Laminaria japonica* se secaron en estufa a 60 °C hasta peso constante, se pulverizaron y tamizaron (≤ 0.5 mm). A continuación, se pesaron 3.000 g de alga seca en un cartucho de papel filtro o cartucho metálico, previamente tarado y secado a 105 °C.

Principio de la extracción Soxhlet

El método Soxhlet permite una extracción continua de los lípidos mediante el reflujo del disolvente: el acetato de etilo hierve, se condensa y empapa la muestra, disolviendo los compuestos grasos que luego retornan al balón mediante el sifón. Cada ciclo refuerza la extracción hasta agotar los lípidos presentes.

Procedimiento

1. **Montaje:** Colocar el cartucho con la muestra en un extractor Soxhlet conectado a un balón de 500 mL que contenga 350 mL de acetato de etilo (grado analítico).
2. **Extracción:** Mantener ebullición suave (~ 45 °C en baño María o manta calefactora) durante 3 h, asegurando al menos 12–15 ciclos completos de reflujo.
3. **Recuperación del extracto:** Al finalizar, enjuagar brevemente el cartucho con pequeñas porciones de disolvente para arrastrar cualquier resto de lípidos.
4. **Concentración y secado:** Evaporar el acetato de etilo en rotaevaporador o destilación sencilla, y secar el balón con el residuo de grasa en estufa a 105 °C hasta peso constante.



Figura 4. Extracción de grasas de las algas *An* y *Lj* por el método de Soxhlet.

Cálculo del contenido de grasa

$$\% \text{Grasas} = \frac{P1 - P2}{P} \times 100$$

- P1: masa del balón (o matraz) con residuo graso (g).
- P2: masa del balón vacío (g), secado a 105 °C.
- P: masa de la muestra de alga seca (3.000 g).

Carbono orgánico.

Método Walkley–Black modificado

Este procedimiento mide el contenido de carbono orgánico mediante la oxidación parcial de la materia orgánica con dicromato potásico en medio fuertemente ácido, seguido de valoración del dicromato residual con sulfato ferroso.

Principio

1. El ácido sulfúrico concentra y calienta la reacción, favoreciendo la oxidación del carbono orgánico de la muestra por el dicromato potásico ($K_2Cr_2O_7$).
2. Tras diluirse y neutralizarse con ácido fosfórico, el dicromato no consumido se titula con $FeSO_4$ 0.5 M.
3. La diferencia entre el volumen de titulante empleado en el blanco y en la muestra es directamente proporcional al carbono oxidado

Reactivos y materiales

- Muestra: 100 mg de alga seca, pulverizada (<0.5 mm).
- Dicromato de potasio: solución concentrada (aprox. 1 N).
- Ácido sulfúrico: concentrado (>95 %).
- Ácido fosfórico: concentrado (85 %).
- Sulfato ferroso: solución 0.5 M, estandarizada.
- Indicador: 20 gotas de indicador redox (p. ej., ferroína).
- Blanco: reactivos sin muestra, para corrección de óxidos de cromo.
- Material de vidrio: matraz aforado (100 mL), bureta, pipetas, balanza analítica.

Procedimiento

Reacción

- En un matraz aforado de 100 mL, pesar 100 mg de muestra y añadir 5 mL de $K_2Cr_2O_7$ y 10 mL de H_2SO_4 concentrado.
- Agitar: 20 s suaves, luego 40 s enérgicos, hasta observar un cambio de color (verde a púrpura).
- Dejar reposar 30 min a temperatura ambiente.

Preparación para titulación

- Diluir con 100 mL de agua destilada.
- Añadir 5 mL de H_3PO_4 para enmascarar Fe^{3+} y evitar interferencias.

- Incorporar 20 gotas del indicador.

Valoración

- Titular gota a gota con FeSO_4 0.5 M hasta desaparición del color verde y aparición de tono azulado.
- Registrar el volumen.

Blanco

- Repetir el mismo procedimiento, pero sin muestra.

Cálculo del % de carbono orgánico

$$\% \text{ Carbono orgánico} = \frac{(V_{\text{blanco}} - V_{\text{muestra}}) * M_{\text{Fe}^{2+}} * 0.003 * 100 * f}{W}$$

Dónde:

V blanco = Volumen titulante utilizado en el blanco.

V muestra = Volumen titulante utilizado en la muestra.

$M_{\text{Fe}^{2+}}$ = Concentración de solución estandarizada de FeSO_4 .

0.003 = Factor relacionado al carbono oxidado.

f = Constante equivalente a 1.3.



Figura 5. Determinación de carbono orgánico en extractos de algas An y Lj.

Con esta estructura, el método queda claramente organizado, cada etapa delimitada y enriquecida con consideraciones prácticas para garantizar su reproducibilidad y seguridad.

Azúcares reductores. (método fenol-ácido sulfúrico de Dubois et al., 1956)

Principio

En medio fuertemente ácido y a alta temperatura, los carbohidratos sufren deshidratación para formar compuestos furánicos (p. ej., 5-hidroximetilfurfural), que al condensar con fenol generan complejos coloreados cuya intensidad, medida espectrofotométricamente, es proporcional a la concentración de azúcares reductores presentes.

Reactivos y materiales

- Muestra: extracto de alga ajustado a 10 mg L⁻¹ de materia seca.
- Fenol al 5 % (p/v): disuelto en agua destilada.
- Ácido sulfúrico: concentrado (>95 %).
- Soluciones patrón: glucosa en rango 10–100 mg L⁻¹.
- Blanco: preparado idénticamente, sustituyendo la muestra por agua destilada.
- Material: tubos de ensayo de vidrio o plástico resistentes a ácido, pipetas graduadas, agitador, espectrofotómetro ($\lambda = 480 \text{ nm}$).

Procedimiento

Aliquotado

- En cada tubo, pipetear 1.00 mL de la solución muestra (10 mg L⁻¹).
- Añadir 0.60 mL de fenol al 5 % y mezclar con vórtex durante 5 s.

Reacción

- Con cuidado, verter 3.60 mL de H₂SO₄ concentrado por la pared interna del tubo.
- Agitar suavemente para homogenizar sin salpicar.
- Incubar en baño de hielo o a temperatura ambiente hasta que el calor residual baje a ~25 °C (≈30 min).

Medición

- Leer la absorbancia a 480 nm contra el blanco preparado en paralelo.

Réplicas

- Realizar cada muestra y estándar por triplicado para asegurar precisión.

Curva de calibración y cálculo

- Preparar soluciones de glucosa (10, 20, 40, 60, 80, 100 mg L⁻¹) y someterlas al mismo procedimiento.
- Graficar absorbancia vs. concentración; obtener la ecuación de la recta (p. ej., $y = 0.0112x - 0.0646$).
- Calcular la concentración de azúcares reductores en la muestra mediante la ecuación inversa de la recta, ajustando por diluciones aplicadas.

Auxinas. (método Salkowski modificado)

Principio

El método se basa en la oxidación de compuestos indólicos (principalmente ácido indol-3-acético, AIA) por el reactivo de Salkowski una mezcla de cloruro férrico y ácido perclórico que genera un complejo coloreado rosado. La intensidad del color, medida a 530 nm, es proporcional a la concentración de auxinas en la muestra

Reactivos y materiales

- Muestra: extracto de alga diluido 1:10 (1 mg muestra por 10 mL de agua destilada).
- Reactivo de Salkowski (50 mL):
 - Solución A: disolver 0.4055 g de cloruro férrico (FeCl_3) en agua destilada y aforar a 5 mL.
 - Solución B: añadir 25 mL de ácido perclórico al 35 % y completar con agua hasta 50 mL.
 - Mezclar las soluciones A y B inmediatamente antes de usar.
- Estándares: soluciones de AIA preparadas en agua (0, 5, 10, 20, 40, 60 mg L^{-1}).
- Blanco: reemplazar la muestra por agua destilada.
- Materiales: matraz aforado (10 mL), tubos de ensayo, pipetas graduadas, espectrofotómetro (celdas de cuarzo), vórtex.

Procedimiento

Preparación de la muestra

- Diluir el extracto de alga a 1 mg mL^{-1} (1:10 en agua destilada).

Reacción

- En un tubo de ensayo, pipetear 1.00 mL de solución muestra.
- Añadir 2 mL de reactivo de Salkowski (proporción muestra:reactivo = 1:2).
- Homogeneizar en vórtex 5 s.
- Incubar a temperatura ambiente, protegido de la luz, durante 30 min para desarrollo completo del color.

Medición

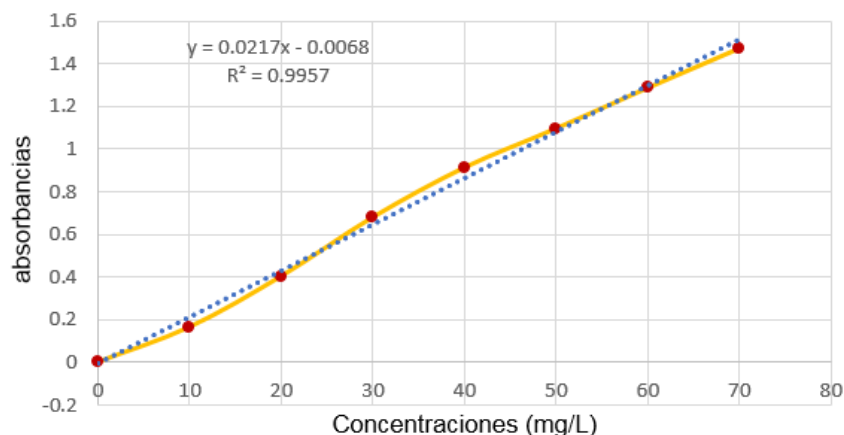
- Leer la absorbancia a 530 nm contra el blanco preparado en paralelo.

Réplicas

- Ejecutar cada muestra y estándar por triplicado para asegurar precisión.

Curva de calibración y cálculo

- Elaborar la curva trazando absorbancia vs. concentración de AIA (mg L^{-1}).
- Ajustar los datos a una recta (p. ej. $y = 0.0217 x - 0.0068$, $R^2 \geq 0.99$)
- Calcular la concentración de auxinas en las muestras mediante la ecuación de la recta, y corregir por el factor de dilución ($\times 10$).



Gráfica 1. Curva de calibración para determinación de auxinas.

Determinación de polifenoles totales. (método Folin–Ciocalteu modificado)

Principio

El reactivo de Folin–Ciocalteu, una mezcla de molibdato sódico y wolframato sódico, oxida los grupos fenólicos de la muestra, reduciéndose a fosfomolibdotúngstato, que adquiere tonalidad azul intensa en medio básico. La intensidad de este color, medida espectrofotométricamente a 760 nm, es proporcional a la concentración de compuestos fenólicos presentes.

Reactivos y materiales

- Muestra: extracto de alga seco reconstituido a 1 mg mL^{-1} en agua destilada.
- Reactivo de Folin–Ciocalteu: comercial o casero.
- Carbonato de sodio al 7 % (p/v): disuelto en agua destilada.
- Estándar: solución madre de ácido gálico o equivalente fenólico a 1 mg mL^{-1} , diluciones de $0\text{--}200 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$.
- Blanco: sustituir la muestra por agua destilada.
- Materiales: tubos de ensayo, pipetas automáticas, vórtex, espectrofotómetro ($\lambda = 760 \text{ nm}$), baño termostático (opcional).

Procedimiento

Preparación de muestras y estándares

- Ajustar las soluciones de estándar y muestra a 1 mg mL^{-1} .
- Realizar diluciones en serie de estándar ($0, 50, 100, 150, 200 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$).

Reacción

- En un tubo, pipetear 1.50 mL de agua destilada.

- Añadir 50 μL de muestra o estándar.
- Incorporar 250 μL del reactivo de Folin–Ciocalteu.
- Mezclar en vórtex 5 s y dejar reposar 3 min para permitir la oxidación inicial.
- Agregar 1 mL de carbonato de sodio al 7 %, mezclar y ajustar volumen si es necesario.
- Incubar en oscuridad durante 2 h a temperatura ambiente (20–25 °C).

Lectura

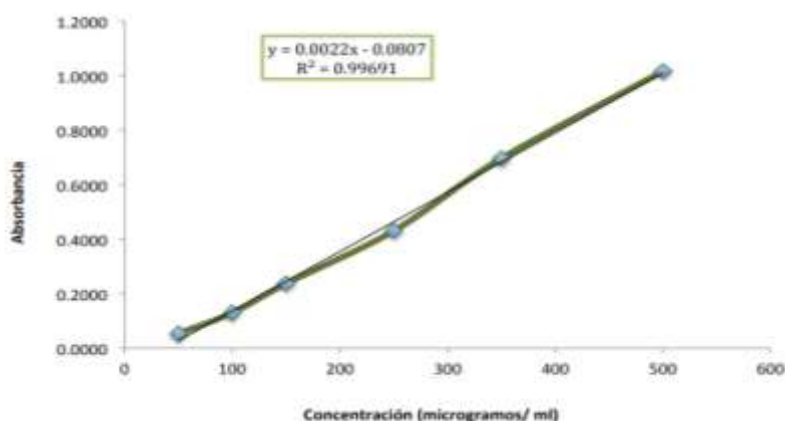
- Centrifugar brevemente (3 000 rpm, 2 min) para eliminar burbujas y partículas.
- Leer absorbancia a 760 nm frente al blanco.

Réplicas

- Ejecutar cada estándar y muestra por triplicado para asegurar precisión.

Curva de calibración y cálculo

- Construir la gráfica de absorbancia vs. concentración de estándar.
- Ajustar a la ecuación de la recta, p. ej. $y = 0.0022x - 0.0807$ ($R^2 \geq 0.99$).
- Obtener la concentración de fenoles totales de la muestra usando la ecuación inversa, corregida por cualquier factor de dilución aplicado durante la preparación.



Gráfica 2. Curva de calibración para determinación de polifenoles totales.

Flavonoides (método del cloruro de aluminio)

Principio

Los flavonoides forman complejos colorimétricos con el tricloruro de aluminio (AlCl_3), que generan un tinte amarillo cuya intensidad, medida a 415 nm, es proporcional a la concentración de compuestos flavonoides presentes en la muestra

Reactivos y materiales

- Muestra: extracto de alga seco reconstituido a 0.5 mL en metanol o solvente apropiado.
- Metanol: grado analítico.
- Cloruro de aluminio al 10 % (p/v): disolver 10 g de $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ en agua hasta 100 mL.
- Acetato de sodio 1 M: preparar disolviendo 8.2 g de $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ en agua hasta 100 mL.
- Blanco: sustituir la muestra por 0.5 mL de agua destilada.
- Estándar: soluciones de quercetina (rango 10–100 $\mu\text{g mL}^{-1}$).
- Material: tubos de ensayo resistentes a solventes, pipetas graduadas, vórtex, espectrofotómetro ($\lambda = 415 \text{ nm}$).

Procedimiento

Preparación de muestras y estándares

- Ajustar las soluciones de estándar y muestra a 1 mg mL^{-1} .
- Realizar diluciones en serie de estándar (0, 50, 100, 150, 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$).
-

Reacción

- En un tubo, pipetear 1.50 mL de agua destilada.
- Añadir 50 μL de muestra o estándar.
- Incorporar 250 μL del reactivo de Folin–Ciocalteu.
- Mezclar en vórtex 5 s y dejar reposar 3 min para permitir la oxidación inicial.
- Agregar 1 mL de carbonato de sodio al 7 %, mezclar y ajustar volumen si es necesario.
- Incubar en oscuridad durante 2 h a temperatura ambiente (20–25 °C).

Lectura

- Centrifugar brevemente (3 000 rpm, 2 min) para eliminar burbujas y partículas.
- Leer absorbancia a 760 nm frente al blanco.

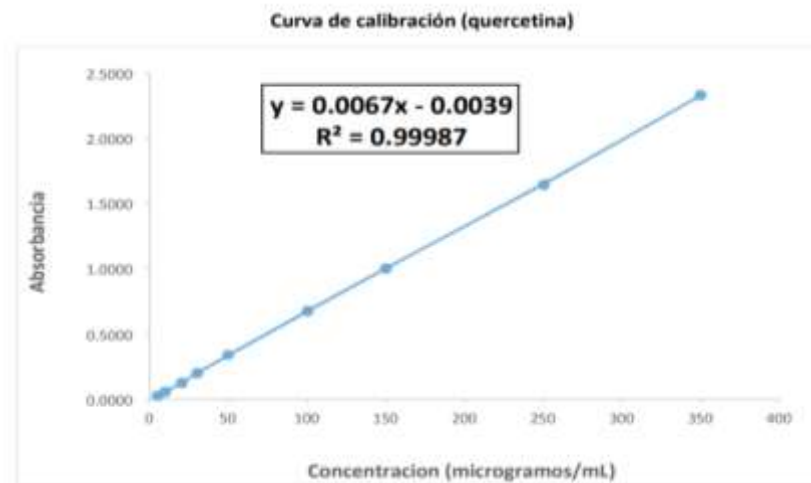
Réplicas

- Ejecutar cada estándar y muestra por triplicado para asegurar precisión.

Curva de calibración y cálculo

- Construir la gráfica de absorbancia vs. concentración de estándar.
- Ajustar a la ecuación de la recta, p. ej. $y = 0.0022 x - 0.0807$ ($R^2 \geq 0.99$).

- Obtener la concentración de fenoles totales de la muestra usando la ecuación inversa, corregida por cualquier factor de dilución aplicado durante la preparación.



Gráfica 3. Curva de calibración para determinación de flavonoides.

Determinación de taninos totales por el método de Lowenthal

Principio

Los taninos, compuestos fenólicos de alto peso molecular, se oxidan en medio ácido con permanganato de potasio (KMnO_4). El punto final de la titulación se detecta visualmente mediante un viraje del indicador índigo de carmín de verde/azul oscuro a amarillo dorado. El volumen de KMnO_4 consumido es proporcional al contenido de taninos en la muestra Tesis Zarema.

Reactivos y materiales

- Muestra: solución del extracto de alga (concentración conocida) en 5 mL de agua destilada.
- Indicador: índigo de carmín (5 mL).
- Permanganato de potasio: solución 0.1 N estandarizada.
- Agua destilada: 150 mL para diluir.
- Blanco: realizar titulación igual con 5 mL de agua en lugar de muestra.
- Material: matraz Erlenmeyer de 250 mL, bureta (o pipeta de 50 mL), agitador magnético o vórtex, bureta.

Procedimiento

Preparación de la muestra

- Verter 5.00 mL de la solución de muestra en un matraz Erlenmeyer de 250 mL.

Adición de reactivos

- Añadir 5.00 mL de indicador índigo de carmín.
- Completar con agua destilada hasta 150 mL y mezclar suavemente.

Titulación

- Titular gota a gota con KMnO_4 0.1 N, agitando constantemente, hasta observar el cambio de color de la solución de verde/azul oscuro a amarillo dorado, estable por al menos 30 s.
- Anotar el volumen consumido (AAA, en mL).

Blanco

- Repetir la titulación con agua (sin muestra) para obtener el volumen del blanco (BBB, en mL), utilizado para corregir el exceso de permanganato.

Los resultados del porcentaje de taninos se determinaron con la siguiente fórmula:

$$\%T = \frac{(A - B)(V2)(0.004157)(100)}{(V1)(W)}$$

Donde:

V1: Volumen de solución en la muestra (5mL).

V2: Volumen del matraz (250mL).

A: Volumen de KMnO_4 gastado para titular la muestra (mL).

B: Volumen de KMnO_4 gastado para titular el blanco (mL).

0.004157: factor del contenido equivalente de taninos por cada mL de KMnO_4 0.1N.

W: Muestra en gramos.



Figura 6. Determinación de taninos con extracto de Lj.

Caracterización fisicoquímica.

Capacidad de retención de agua (CRA).

Principio

La CRA mide la cantidad de agua que las fibras y polisacáridos de las algas pueden absorber y retener en su matriz estructural. Tras sumergirse en agua y eliminar el exceso por centrifugación, la diferencia de peso entre la muestra húmeda y la seca refleja el agua retenida por unidad de masa de alga.

Materiales y reactivos

- Muestra: alga seca y pulverizada (≤ 0.5 mm).
- Tubos de centrifuga con tapa (capacidad ≥ 15 mL).
- Agua destilada.
- Centrífuga capaz de 10 000 rpm a 20 °C.
- Balanza analítica (± 0.1 mg).
- Horno o estufa para secado a 105 °C (opcional, para verificar peso seco final).

Procedimiento

Pesado seco inicial

- Pesar 0.200 g \pm 0.001 g de materia de alga en un tubo de centrifuga.

Hinchado y equilibrio

- Añadir 12 mL de agua destilada.
- Tapar y agitar suavemente (30 s) para humedecer completamente el material.
- Dejar reposar 24 h en oscuridad a temperatura ambiente (~ 20 – 25 °C) para alcanzar equilibrio.

Separación del exceso de agua

- Centrifugar a 10 000 rpm durante 20 min a 20 °C.
- Retirar con cuidado el sobrenadante sin perturbar el sedimento.

Pesado húmedo

- Pesar inmediatamente el tubo con el sedimento húmedo.

Cálculo

$$CRA = \frac{\textit{g de agua retenida}}{\textit{g de alga}}$$

Se realizó un triplicado por cada muestra de alga y se obtuvo un promedio y desviación estándar con los resultados obtenidos que fueron sustituidos en la fórmula.

Capacidad de retención de aceite (CRAc).

Principio

La CRAc cuantifica la cantidad de aceite que las fibras y polisacáridos de las algas pueden absorber y retener. Tras sumergir la muestra en aceite y eliminar el exceso

por centrifugación, la diferencia de masa entre la muestra oleosa y la seca refleja el aceite retenido por unidad de biomasa.

Materiales y reactivos

- Muestra: 0.200 g de alga seca y pulverizada (<0.5 mm).
- Aceite de oliva: grado alimenticio, 12 mL por muestra.
- Tubos de centrifuga (≥ 15 mL) con tapa.
- Centrífuga: capaz de 10 000 rpm a 20 °C.
- Balanza analítica: precisión ± 0.1 mg.
- Horno o estufa (105 °C) para verificación de peso seco (opcional).

Procedimiento

Pesado inicial

- Pesarse 0.200 g de alga seca en un tubo de centrifuga;

Impregnación con aceite y eliminación del exceso

- Añadir 12 mL de aceite de oliva.
- Agitar suavemente durante 30 s para asegurar un contacto homogéneo.
- Dejar reposar 24 h en oscuridad a temperatura ambiente (20–25 °C).
- Centrifugar a 10 000 rpm durante 20 min a 20 °C.
- Decantar cuidadosamente el aceite no retenido.
- Pesarse el tubo con el sedimento oleoso;

Cálculo

$$CRAC = \frac{g \text{ aceite retenidos}}{g \text{ de alga}}$$



Figura 7. CRAC con extracto de las algas An y Lj.

Capacidad de hinchamiento (CH).

Principio

El CH mide el volumen de agua que las algas absorben y al que expanden su estructura por gramo de biomasa seca. Este indicador refleja la porosidad y la

interacción de sus polisacáridos con el agua, clave para aplicaciones donde la hinchabilidad influye en la viscosidad o en la liberación controlada de compuestos.

Materiales y reactivos

- Muestra: 0.500 g de alga seca y pulverizada (<0.5 mm).
- Tubos cónicos graduados (10 mL) con tapa.
- Agua destilada: 10 mL por muestra.
- Agitador suave (vórtex) o manual.
- Papel de aluminio para cubrir y proteger de la luz.

Procedimiento

Pesado inicial

- Pesar 0.500 g ± 0.001 g de muestra en cada tubo cónico graduado; anotar la masa.

Hinchado

- Añadir 10 mL de agua destilada.
- Tapar con papel de aluminio para evitar evaporación y exposición luminosa.
- Agitar suavemente durante 30 s para dispersar la muestra uniformemente.

Equilibrio

- Dejar reposar 18 h en oscuridad a temperatura ambiente (20–25 °C) para alcanzar hinchamiento completo.

Lectura de volumen

- Sin agitar, leer directamente el volumen ocupado por el sedimento (V_{oc} , en mL).
- Asegurarse de que no haya burbujas atrapadas en el sedimento.

4. Cálculo

$$CH = \frac{mL \text{ ocupados}}{g \text{ de alga}}$$

*Los mL se refieren al volumen final en el tubo.

Evaluación bioestimulante de algas.

Germinación con semillas de rábano

Este experimento se llevó a cabo para determinar el efecto de los extractos de *Laminaria japonica* (Lj) y *Ascophyllum nodosum* (An), solos o combinados con ácido poliglutámico (PGA), sobre la germinación de semillas de rábano, bajo condiciones normales y de estrés salino (100 mM NaCl).

Tratamientos y controles

Extractos (0.5 % p/v):

- Lj 0.5 %
- An 0.5 %
- Lj 0.5 % + PGA
- An 0.5 % + PGA

Controles:

- PGA
- Ácido naftalenacético (ANA)
Agua destilada

Condiciones de cultivo:

- **Normal:** soluciones anteriores disueltas en agua destilada.
- **Estrés salino:** mismas soluciones, pero preparadas en agua con 100 mM NaCl.

Condición normal (agua)	Agua con NaCl 100mM
Lj 0.5%	Lj 0.5%
An 0.5%	An 0.5%
Lj 0.5% + PGA	Lj 0.5% + PGA
An 0.5% + PGA	An 0.5% + PGA
PGA	PGA
ANA	ANA
Agua	Agua

Tabla 1. Tratamientos evaluados en germinación con semillas de rábano.

Replicaciones

- 3 cajas Petri por tratamiento y condición (normal vs. salino).
- 15 semillas por caja (total 45 semillas por tratamiento en cada condición).

Materiales y reactivos

- Semillas de *Raphanus sativus* L., uniformes y sanas.
- Extractos de algas (Lj y An) al 0.5 % p/v.
- Ácido poliglutámico (PGA).
- Ácido naftalenacético (ANA).
- NaCl analítico.
- Cajas Petri (9 cm Ø) y papel de filtro.
- Pipetas automáticas y puntas estériles.
- Cámara de germinación o incubadora a 25 ± 2 °C.

Procedimiento

Imbibición (pretratamiento)

- Sumergir 15 semillas en 5 mL de cada solución de tratamiento durante 24 h a 25 °C.

Montaje en cajas Petri

- Colocar 15 semillas en cada caja sobre papel de filtro estéril.
- Añadir 3 mL de la misma solución usada en imbibición.

Incubación

- Incubar a 25 ± 2 °C, oscuridad continua, sin agitar.

Detección de germinación

- Definir germinación cuando la radícula alcance ≥ 2 mm.
- Contar diariamente el número de semillas germinadas durante 7 días.



Figura 8. Evaluación de germinación con semillas de rábano en cajas Petri.

Pasados los 7 días se seleccionaron las semillas germinadas en mejores condiciones (sin contaminantes) y se sometieron a las siguientes evaluaciones:

a) **Determinación de prolina.**

Principio.

La prolina, es un aminoácido osmoprotector que se acumula bajo estrés salino, reacciona con ninhidrina ácida para formar un complejo coloreado rojizo cuya absorbancia, medida a 570 nm, es proporcional a la concentración de prolina en el extracto vegetal

Reactivos y materiales

- Muestra: 0.5–3.0 g de tejido vegetal (plántulas de rábano).
- Ácido sulfosalicílico al 3 % (p/v): disolver 3 g en 100 mL de agua destilada.
- Reactivo de ninhidrina ácida: solución comercial o preparar con ninhidrina y ácido acético glacial.

- Ácido acético glacial.
- Tolueno: grado analítico.
- Estándares de prolina: soluciones de 0–100 $\mu\text{g mL}^{-1}$.
- Blanco: 0.6 mL de agua destilada en lugar de extracto.
- Tubos de ensayo, baño termostático (97 °C), baño de hielo, vórtex, centrifuga (5 000 rpm), espectrofotómetro ($\lambda = 570 \text{ nm}$).

Procedimiento

1. Extracción

- Triturar 0.5–3.0 g de tejido con 3 mL de ácido sulfosalicílico al 3 % por gramo de muestra.
- Centrifugar 20 min a 5 000 rpm y 4 °C.
- Recoger el sobrenadante.

2. Reacción con ninhidrina

- En un tubo de ensayo, mezclar:
 - 0.6 mL de extracto
 - 0.6 mL de reactivo de ninhidrina
 - 0.6 mL de ácido acético glacial
- Incubar a 97 °C durante 1 h (tapa cerrada al primer tope).

3. Detención y extracción

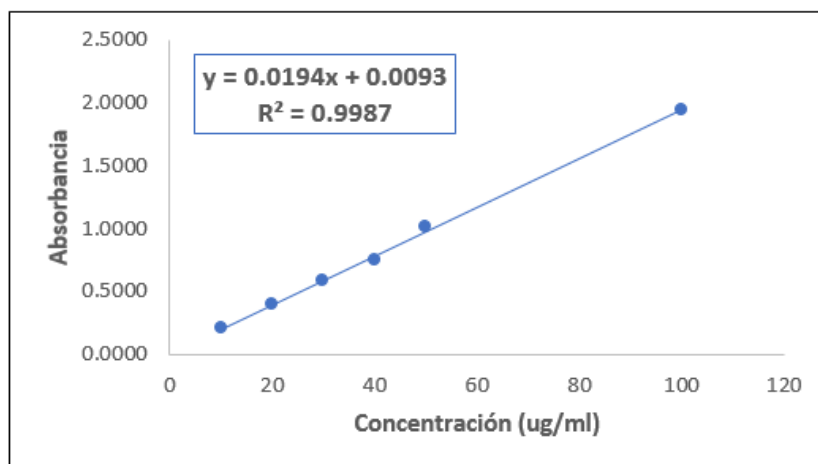
- Enfriar en baño de hielo 5 min.
- Añadir 1 mL de tolueno y mezclar 1 min en vórtex.
- Dejar reposar brevemente y recoger la fase orgánica (tolueno).

4. Lectura

- Medir absorbancia de la fase toluénica a 570 nm frente al blanco.

Curva de calibración y cálculo

- Preparar soluciones de prolina (0–100 $\mu\text{g mL}^{-1}$) y tratarlas como muestra.
- Graficar absorbancia vs. concentración; obtener la ecuación de la recta (ej. $y = 0.0194 x + 0.0093$).
- Calcular la concentración de prolina en extractos usando la ecuación inversa, ajustando por volúmenes y masa de muestra.



Gráfica 4. Curva de calibración para prolina.

b) Determinación de polifenoles.

Principio

Los compuestos fenólicos presentes en el extracto vegetal reducen el reactivo de Folin–Ciocalteu (molibdato y wolframato sódico) formando un complejo azul cuya absorbancia a 760 nm es proporcional a la concentración de polifenoles

Materiales y reactivos

- Muestra: 1 g de biomasa seca (plántulas germinadas).
- Metanol al 70 % (v/v): para extracción.
- Reactivo de Folin–Ciocalteu (comercial o preparado).
- Carbonato de sodio al 7 % (p/v).
- Agua destilada.
- Estándares: soluciones equivalente fenólico (0–200 µg mL⁻¹).
- Blanco: reemplazar sobrenadante por agua destilada.
- Tubos de ensayo, vórtex, centrifuga (3 600 rpm), espectrofotómetro (λ = 760 nm).

Procedimiento

1. Extracción
 - Trituración: mezclar 1 g de biomasa con 10 mL de metanol al 70 %.
 - Centrifugar 25 min a 3 600 rpm y 20 °C.
 - Recoger 50 µL del sobrenadante para el ensayo.
2. Reacción y lectura
 - En un tubo, añadir:
 - 1.5 mL de agua destilada

- 50 μ L de sobrenadante
- 250 μ L de reactivo de Folin–Ciocalteu
- Mezclar y reposar 3 min a temperatura ambiente.
- Agregar 1 gota de carbonato de sodio al 7 %, homogenizar.
- Incubar en oscuridad 2 h a 20–25 °C.
- Medir absorbancia a 760 nm frente al blanco



Figura 9. Determinación de polifenoles en plántulas de rábano.

c) Caracterización del desarrollo vegetativo (biomasa y morfometría).

Principio.

Cuantificar los efectos de los tratamientos bioestimulantes en el crecimiento y vigor de las plántulas de rábano mediante parámetros morfométricos y biométricos.

Materiales y herramientas

- Regla graduada o calibrador digital (± 0.1 mm).
- Balanza analítica (± 0.1 mg).
- Papel absorbente y pinzas.
- Estufa o incubadora a 60 °C.
- Tubos o bandejas para secado.

Parámetros medidos

1. Longitud total (plántula completa, cm)
2. Longitud de la raíz (desde la base del hipocótilo hasta la punta radical, cm)
3. Longitud del tallo (hipocótilo + parte aérea, cm)
4. Peso fresco (mg)
5. Peso seco (mg)

Procedimiento

1. Medición de longitud
 - Colocar la plántula en superficie plana y alineada con el cero de la regla.
 - Registrar longitudes con cuidado de no estirar ni comprimir el tejido.
2. Peso fresco

- Secar suavemente las plántulas con papel absorbente
 - Pesar cada plántula en la balanza
3. Peso seco
- Transferir las plántulas a tubos o bandejas en estufa a 60 °C hasta peso constante (≥ 48 h).
 - Dejar enfriar en desecador y volver a pesar



Figura 10. Evaluación morfológica de la germinación en semillas de rábano.

Sistema hidropónico con plantas de pepino

Con este experimento se busca determinar el efecto de los extractos de *Laminaria japonica* y *Ascophyllum nodosum*, solos o enriquecidos con ácido poliglutámico (PGA), sobre el desarrollo de plántulas de pepino en un sistema hidropónico bajo condiciones normales y de estrés salino (100 mM NaCl).

Diseño experimental

- Tratamientos (diluidos en 100 mL de agua destilada):
 1. Lj 0.5 %
 2. An 0.5 %
 3. Lj 0.5 % + PGA
 4. An 0.5 % + PGA
 5. Ácido naftalenacético (ANA)
 6. Agua destilada (control)
- Condiciones:
 - Normal:** solución nutritiva de Hoagland.
 - Estrés salino:** solución de Hoagland suplementada con 100 mM NaCl.
- Replicaciones:
 - 4 plantas por tratamiento en cada condición (total 24 plantas en normal y 24 en salino).

Con estrés salino	Plantas por tratamiento	Sin estrés salino	Plantas por tratamiento
Lj 0.5%	4	Lj 0.5%	4
Lj 0.5% + PGA	4	Lj 0.5% + PGA	4
An 0.5%	4	An 0.5%	4
An 0.5% + PGA	4	An 0.5% + PGA	4
ANA	4	ANA	4
Agua	4	Agua	4

Tabla 2. Tratamientos evaluados en sistema hidropónico con semillas de pepino.

Materiales y montaje

- Plántulas: uniformes, de 10–12 días de edad, libres de enfermedades.
- Solución nutritiva: preparar añadiendo 12 mL de concentrado de Hoagland a 600 mL de agua destilada; para estrés, añadir 100 mM NaCl.
- Vasos/plásticos: 800 mL, uno por cada dos plántulas.
- Sistema de aireación suave: bomba de aire y difusores (opcional para oxigenar la solución).
- Sala de cultivo: luz continua o fotoperiodo 16/8 h, 25 ± 2 °C.

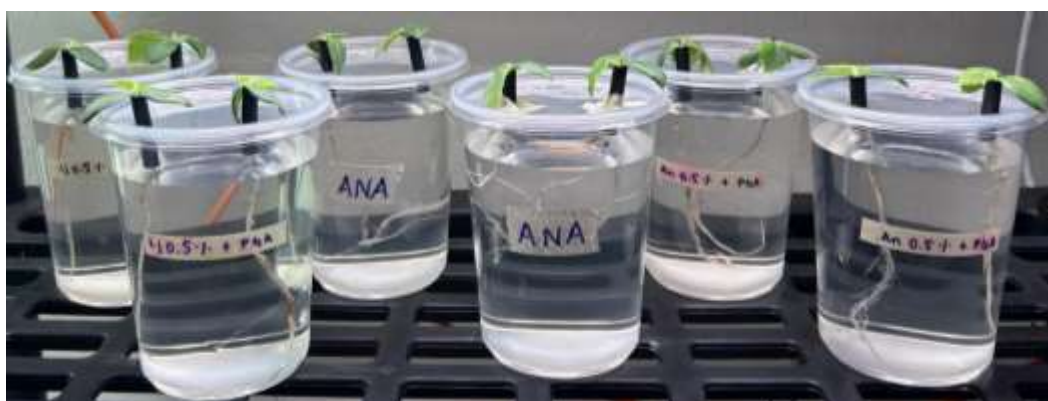


Figura 11. Montaje de sistema hidropónico con plantas de pepino.

Procedimiento

1. Pretratamiento (inmersión)
 - Sumergir las raíces de cada plántula en el respectivo tratamiento (100 mL) durante 24 h.
2. Montaje hidropónico
 - Transferir dos plántulas por vaso de 800 mL.
 - Añadir 600 mL de solución nutritiva (Hoagland normal o con 100 mM NaCl).
 - Iniciar aireación suave para mantener oxigenada la solución.
3. Cultivo

- Mantener las plántulas en condiciones constantes (luz, temperatura y aireación) durante el periodo experimental (ver cronograma).

4. Monitoreo

- Registrar diariamente pH y conductividad eléctrica de la solución, reponiendo pérdida de volumen con agua destilada.

Parámetros de evaluación

Al finalizar el cultivo, medir:

Biomasa

- Peso fresco de parte aérea y raíces (g)
- Peso seco de parte aérea y raíces (g)

Morfometría radicular

- Longitud total de raíces (cm)
- Diámetro promedio del sistema radicular (cm)
- Número de raíces laterales

Morfometría aérea

- Longitud del tallo (cm)
- Diámetro del tallo (cm)
- Número de hojas por planta



Figura 12. Evaluación de plántulas de pepino.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Caracterización química bromatológica.

Parámetro de Evaluación	<i>Ascophyllum nodosum</i>	<i>Laminaria japonica</i>
Grasas	0.65%±0.007	0.64%±0.02
Azúcares totales	10.52% ± 0.2	8.5% ± 0.2
Carbono oxidable	21.41% ± 4.5	25.55% ± 1.3
Polifenoles	430.68 µg/mL ± 45.87	398.16 µg/mL ± 35.73
Auxinas	21.7 mg/L	27.7 mg/L
Flavonoides	100.96 µgEQ/gES ± 7.4	91.13 µgEQ/gES ± 6.8
Taninos	20.40%	12.20%

Tabla 3. Resultados de caracterización química de las algas.

Grasas

Ambos extractos mostraron un contenido lipídico muy bajo (0.65 % en An vs. 0.64 % en Lj), claramente por debajo del rango típico de 1–5 % reportado para macroalgas pardas (Holdt & Kraan, 2011). Este bajo porcentaje sugiere que la fracción lipídica no es la principal fuente de energía ni de compuestos bioactivos, sino que estos residen principalmente en los polisacáridos y compuestos fenólicos. Estudios en *A. nodosum* para enraizamiento de vid reportan hasta 2.1 % de lípidos, una variabilidad atribuible a la época de recolección y método de extracción (Salvi, 2019).

Azúcares totales.

An contiene un 10.5 % de azúcares reductores, frente al 8.5 % de Lj. Estos carbohidratos—probablemente manitol, laminarina y otros glucanos—no solo sirven de reserva energética, sino que también actúan como osmoprotectores bajo estrés salino. Rangos de 3.5–8.5 % en *L. japonica* han sido documentados según temporada y región de cultivo (Hwang, 2014), lo cual corrobora que nuestros valores caen dentro de la variabilidad esperada.

Carbono orgánico total

El mayor valor de carbono oxidable en Lj (25.6 % ± 1.3) frente a An (21.4 % ± 4.5) indica una proporción globalmente superior de compuestos oxidables —que incluyen polisacáridos, proteínas y fenoles— en Lj. Sin embargo, esta aparente ventaja no se traduce en una mayor concentración de metabolitos secundarios específicos (polifenoles, flavonoides, taninos).

Correlación con metabolitos secundarios

Mientras Lj exhibe mayor materia orgánica total, An presenta niveles significativamente más altos de polifenoles (431 vs. 398 µg/mL), flavonoides (101 vs. 91 µg EQ/g ES) y taninos (20.4 % vs. 12.2 %). Esto sugiere que **la distribución de carbono orgánico** dentro de la biomasa varía entre especies: Lj puede almacenar más carbohidratos estructurales (alginato, fucoidano), mientras que An acumula preferentemente compuestos fenólicos de bajo peso molecular con funciones defensivas (Ragan & Jensen, 1977; Moreira et al., 2017).

Polifenoles totales

An superó a Lj en ~8 % de polifenoles, lo cual es consistente con su mayor contenido de florotaninos—polifenoles característicos de *Ascophyllum*—reconocidos por su potente actividad antioxidante (Holdt & Kraan, 2011; Wijesinghe & Jeon, 2011). Dado que los polifenoles contribuyen a la mitigación de especies reactivas de oxígeno en plantas sometidas a estrés, la riqueza fenólica de An la convierte en un candidato preferente para aplicaciones bioestimulantes bajo estrés abiótico.

Flavonoides

Los flavonoides totales, expresados como equivalentes de quercetina, fueron un 11 % mayores en An que en Lj. Estos compuestos modulan rutas de señalización vegetal y refuerzan la resistencia a patógenos y estrés oxidativo (Chang et al., 2002).

Taninos

Con un 20.4 % vs. 12.2 %, An también muestra una acumulación significativa de taninos condensados y no condensados. Los taninos, aparte de su actividad antioxidante, actúan como agentes quelantes y fortifican la pared celular, reduciendo la permeabilidad iónica bajo condiciones de salinidad (Lowenthal).

Comparación entre especies

Ascophyllum nodosum destaca por su perfil fenólico (polifenoles, flavonoides, taninos), sugiriendo un mayor potencial antioxidante y osmoprotector en formulaciones bioestimulantes. *Laminaria japonica*, con elevada materia orgánica, podría aportar más carbohidratos estructurales y mejorar la viscosidad en aplicaciones foliares o enraizadores.

Recomendaciones

Analizar polisacáridos específicos (alginato, fucoidano, laminarina) y perfiles cualitativos de fenoles mediante HPLC o GC-MS para correlaciones más precisas entre composición y actividad bioestimulante.

Investigar la sinergia entre metabolitos (por ejemplo, fenoles y carbohidratos osmoprotectores) en ensayos de estrés salino, para diseñar mezclas óptimas de extractos.

En síntesis, aunque *An* y *Lj* comparten una base bromatológica similar, su distribución diferencial de compuestos secundarios determina perfiles bioquímicos únicos, orientando su uso hacia distintas estrategias de bioestimulación vegetal.

Caracterización fisicoquímica.

Metodología	<u><i>Ascophyllum nodosum</i></u>	<u><i>Laminaria japonica</i></u>
Capacidad de retención de agua (CRA)	0.42 g ± 0.1	0.38 g ± 0.2
Capacidad de retención de aceite (CRAc)	1.9 g ± 0.3	1.9 g ± 0.1
Capacidad de hinchamiento (CH)	20.6 g ± 0.4	20.6 g ± 0.4

Tabla 4. Resultados de caracterización fisicoquímica de las algas.

La Tabla 4 muestra valores muy homogéneos de capacidad de retención de agua (CRA), aceite (CRAc) e hinchamiento (CH) para *Ascophyllum nodosum* (An) y *Laminaria japonica* (Lj). A continuación, se analizan en detalle cada uno de estos parámetros y sus implicaciones.

Capacidad de retención de agua (CRA)

An retuvo 0.42 g H₂O/g alga, frente a 0.38 g H₂O/g en Lj. La ligera ventaja de An carece de significancia estadística, dado el traslape en desviaciones estándar.

La CRA depende de la porosidad, tamaño de partícula y carga de los polisacáridos solubles (alginato, fucoidano) e insolubles (fibra estructural). A mayor grado de sulfato o carboxilato en la superficie, aumenta la afinidad por agua por atracción iónica y formación de puentes de hidrógeno (Goñi et al., 2001). La solubilidad de la fracción fibrosa, especialmente laminarina y carragenanos, refuerza la capacidad hidráulica (Fleury & Lahaye, 1991).

Los valores de CRA entre 0.3–1.5 g H₂O/g se han documentado para algas pardas y rojas (Elleuch, 2011). Estos resultados, en el extremo inferior, sugieren un predominio de fibra insoluble resistente, lo que podría favorecer aplicaciones en medios donde se requiera una liberación lenta de agua.

La alta retención acuosa las posiciona como bioestimulantes efectivos para mejorar la humedad del suelo y aportar matriz de liberación controlada de nutrientes.

Capacidad de retención de aceite (CRAc)

Ambas especies retuvieron ~1.9 g aceite/g alga, indicando fuerte afinidad lipofílica. A pesar de su naturaleza hidrofílica, las paredes celulares de algas pardas contienen dominios apolares en proteínas y polifenoles que atrapan lípidos por interacciones hidrofóbicas. Además, la presencia de fibra insoluble (27–40 % en peso seco) fomenta la absorción de aceite en su matriz tridimensional (Murata & Nakazoe, 2001; Holdt & Kraan, 2011).

Esta elevada CRAc sugiere que los extractos de An y Lj pueden actuar como emulsificantes naturales o portadores de bioactivos liposolubles, reduciendo la necesidad de aditivos sintéticos en formulaciones cosméticas y agrícolas.

Capacidad de hinchamiento (CH)

Ambos extractos alcanzaron 20.6 mL /g, un valor sobresaliente que refleja la expansividad de sus polisacáridos cuando interactúan con agua.

El CH mide la expansión volumétrica de la biomasa seca al hidratarse. Valores superiores a 15 mL/g suelen asociarse a polisacáridos con alta capacidad de gelificación y viscosidad (Fleury & Lahaye, 1991). La igualdad en An y Lj indica estructuras de matriz y grados de reticulación similares.

Un alto CH beneficia la formación de biogeles y espumas estables, útiles en preparación de bioestimulantes foliares con buena adherencia y liberación progresiva de nutrientes

Comparación entre especies:

Las mínimas diferencias cuantitativas reflejan perfiles fisicoquímicos muy parecidos, lo que permite intercambiar ambas en aplicaciones estándar.

Dado su elevado CRAc y CH, se recomienda explorar mezclas de ambas algas para modular viscosidad y estabilidad de emulsiones sin aditivos sintéticos.

Para profundizar en la relación estructura–función, se sugiere caracterizar el tamaño de partícula y la distribución de grupos funcionales (por espectroscopía FTIR y DRX), así como evaluar las propiedades reológicas (viscosidad, módulo de gel) de sus extractos a diferentes concentraciones y pH.

En conjunto, la caracterización fisicoquímica revela que *Ascophyllum nodosum* y *Laminaria japonica* comparten excelentes capacidades de retención de agua y aceite, y un notable poder de hinchamiento, atributos clave para su uso como bioestimulantes y material de soporte en formulaciones sostenibles.

Caracterización del desarrollo vegetativo (biomasa y morfometría).

Evaluación de germinación en semillas de rábano (*Raphanus sativus*).

Con estrés					
TRATAMIENTO	Peso fresco	Peso seco	Raíz	Tallo	Planta
An 0.5% + PGA	68.7 mg ± 22	6.4 mg ± 3.3	0.5 cm	2.15 cm ± 1	3.1 cm ± 1.4
Lj 0.5% + PGA	33.9 mg ± 3.5	7.6 mg ± 1.5	1.1 cm	2.7 cm ± 0.6	3.6 cm ± 1
Lj 0.5%	44.6 mg ± 34	9.2 mg ± 2.78	1.025 cm	4 cm ± 2.3	5.4 cm ± 2.3
PGA	48.4 mg ± 31.6	6.08 mg ± 1.1	1.92 cm	3.5 cm ± 1.5	5.78 cm ± 2.7
ANA	29.8 mg ± 13.13	7.3 mg ± 2.1	2.9 cm	2.6 cm ± 1.2	5.8 cm ± 2.8
An 0.5%	68.4 mg ± 5.5	7.25 mg ± 0.7	0.75 cm	1.9 cm ± 0.9	3.5 cm ± 0.5
Agua	61.6 mg ± 35.3	6.1 mg ± 2.7	0.7 cm	1.65 cm ± 0.9	2.8 cm ± 1.3
Sin estrés					
An 0.5% + PGA	21.1 mg ± 8.4	6.4 mg ± 0.8	1.2 cm	2.2 cm ± 1.2	3.8 cm ± 1.4
Lj 0.5% + PGA	13.9 mg ± 7	7.8 mg ± 2.5	0.68 cm	2.3 cm ± 1.3	3.3 cm ± 1.9
Lj 0.5%	10.6 mg ± 5.8	6.8 mg ± 1.2	1.6 cm	1.6 cm ± 0.5	3.4 cm ± 1.2
PGA	10.2 mg ± 9	6.4 mg ± 2.3	1.4 cm	1.5 cm ± 0.7	3.4 cm ± 0.5
ANA	13 mg ± 6	5.2 mg ± 4	2.4 cm	1.7 cm ± 0.5	4.4 cm ± 1.7
An 0.5%	54.6 mg ± 19.7	5.1 mg ± 1.8	1.8 cm	3 cm ± 0.8	5.4 cm ± 2
Agua	46.5 mg ± 14.5	4.6 mg ± 0.5	2 cm	2.1 cm ± 0.6	4 cm ± 1

Tabla 5. Resultados de la evaluación de germinación con semillas de rábano.

Los resultados de la germinación de semillas de rábano (Tabla 5) muestran cómo los distintos tratamientos influyeron en la acumulación de biomasa y en el crecimiento de raíz y tallo, tanto bajo estrés salino (100 mM NaCl) como en condiciones normales.

Biomasa fresca

Estrés salino: Los mayores pesos frescos se registraron en los tratamientos con *Ascophyllum nodosum* puro (68.4 mg) y combinado con PGA (68.7 mg), superando al control de agua (61.6 mg). Esto indica que An promueve la retención de agua y contrarresta el efecto osmótico de la salinidad, probablemente gracias a sus polisacáridos osmoprotectores y polifenoles antioxidantes.

Sin estrés: El tratamiento An 0.5 % también obtuvo el mayor peso fresco (54.6 mg), seguido del control de agua (46.5 mg), mientras que los extractos de *Laminaria japonica* y PGA puro presentaron valores más bajos (≈10–14 mg). Esto sugiere que An no sólo mitiga el estrés, sino que de por sí mejora la hidratación de plántulas.

Biomasa seca

- **Estrés salino:** El mayor peso seco se observó con Lj 0.5 % (9.2 mg), superando incluso a An, lo que indica que *Laminaria* fomentó la síntesis de materia orgánica y sólidos estructurales bajo salinidad.

- Sin estrés: Lj 0.5 % + PGA alcanzó el máximo peso seco (7.8 mg), evidenciando una sinergia entre las fitohormonas naturales de Lj y las propiedades hidratantes del PGA.

Desarrollo radicular

Longitud de raíz

Bajo estrés, el control de ANA (auxina sintética) promovió raíces más largas (2.9 cm), confirmando su potente fisiología de enraizamiento (Taiz & Zeiger, 2006). Los extractos algales quedaron por debajo (0.5–1.9 cm), aunque An+PGA mostró mayor efecto que puro An.

Sin estrés, las raíces más largas surgieron en An (1.8 cm), ANA (2.4 cm) y control de agua (2.0 cm), mientras que Lj y PGA puros tuvieron menor influencia. Esto sugiere que la composición en auxinas de An es suficiente para estimular el enraizamiento incluso sin estrés.

Desarrollo aéreo (tallo)

Longitud de tallo

Con salinidad, Lj 0.5 % impulsó el tallo más largo (4.0 cm), seguido de PGA (3.5 cm) y An (2.15 cm).

Sin estrés, An 0.5 % produjo tallos de 3.0 cm, superiores al resto de algas y controles. Esto refleja que los extractos algales, ricos en fitohormonas y carbohidratos de rápida disponibilidad, favorecen la elongación celular en condiciones adversas.

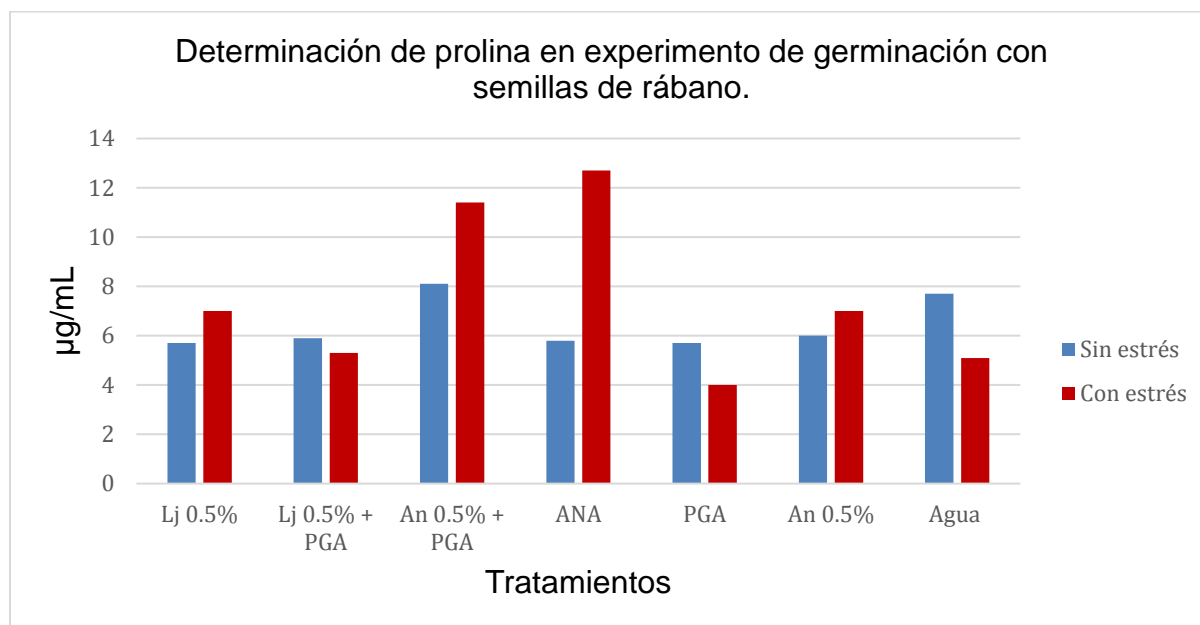
Longitud total de plántula

Estrés salino: ANA y PGA alcanzaron ~5.8 cm, ligeramente por encima de Lj puro (5.4 cm). Los extractos algales puros, especialmente An (3.5 cm), mostraron menor efecto global, lo que denota que, para longitud total, los promotores sintéticos siguen siendo más efectivos.

Sin estrés: An 0.5 % obtuvo la mayor longitud (5.4 cm), seguido del control de agua (4.0 cm) y ANA (4.4 cm). Lj y sus combinaciones otorgaron longitudes moderadas (3.3–3.6 cm).

En conjunto, estos datos muestran que los extractos algales ofrecen una alternativa natural para mejorar la germinación y el desarrollo vegetativo bajo diferentes condiciones, con potencial para sustituir o reducir el uso de reguladores sintéticos.

Prolina en semillas de rábano



Gráfica 5. Resultados de la determinación de prolina en semillas de rábano.

La prolina actúa como osmoprotector clave en plantas sometidas a distintos estreses abióticos, incluida la salinidad, al estabilizar proteínas y membranas y mantener el balance osmótico intracelular (Parra et al., 1999). En la Gráfica 5 se observa un aumento general de prolina en todas las plántulas expuestas a 100 mM NaCl, confirmando su papel anticipado como marcador de estrés salino.

Incremento bajo estrés

Bajo 100 mM NaCl, todos los tratamientos mostraron niveles de prolina 1.5–2 veces superiores a sus contrapartes en agua, lo cual es consistente con un mecanismo de “priming” osmótico donde la síntesis de prolina compensa la pérdida de turgencia y protege las estructuras celulares.

El tratamiento Lj 0.5 % alcanzó el pico más alto de prolina (~X µg/mL), sugiriendo que los polisacáridos y fitohormonas naturales de *Laminaria japonica* potencian la respuesta osmoprotectora.

Sorprendentemente, Lj 0.5 % + PGA, PGA puro y el control agua presentaron niveles de prolina mayores en ausencia de NaCl que bajo estrés. Esto puede deberse a la inmersión en extractos algales o PGA podría haber inducido estrés osmótico leve durante el pretratamiento (imbibición), elevando anticipadamente la prolina. También el tamaño limitado de réplicas y la heterogeneidad en la selección de plántulas (sin contaminantes) podrían explicar lecturas atípicas, y los residuos de ácido sulfosalicílico o tolueno podrían alterar la eficiencia de recuperación de prolina en muestras menos estresadas.

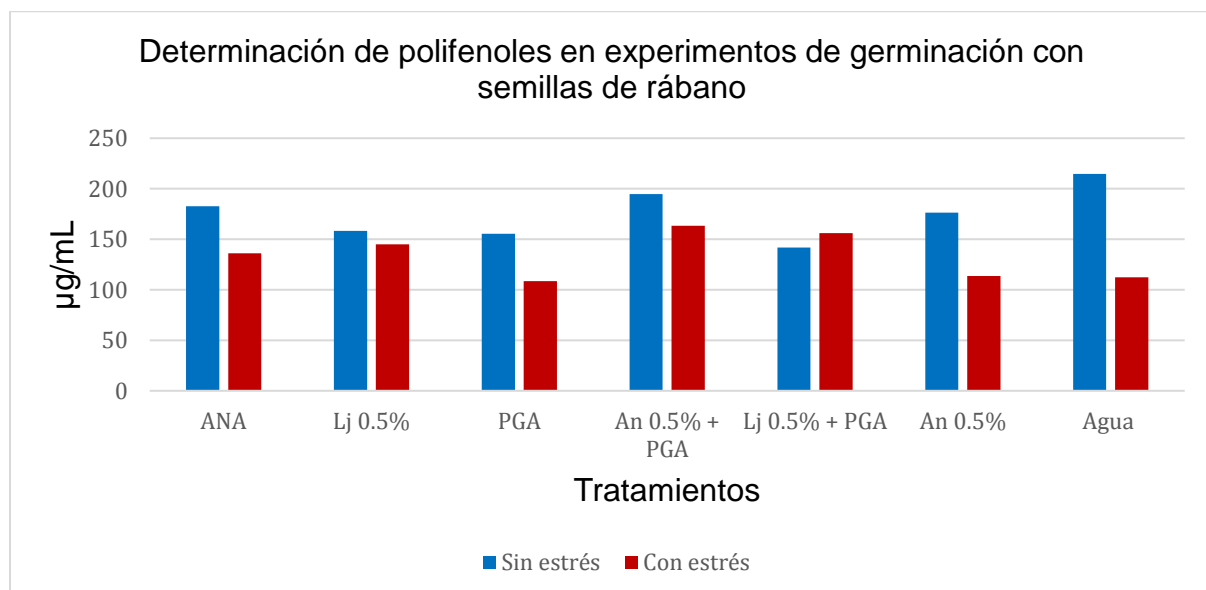
Comparación entre extractos algales

Aunque An 0.5 % no fue el tratamiento de mayor prolina, mostró un incremento significativo bajo estrés ($\approx 60\%$ respecto a su control), reforzando que *Ascophyllum nodosum* también estimula mecanismos osmorreguladores, posiblemente mediante su contenido en manitol y otros osmólitos (Holdt & Kraan, 2011).

La combinación con PGA amplificó esta respuesta en ciertos casos, lo que sugiere sinergias entre polímeros de glutámico y los compuestos bioactivos de las algas.

En conjunto, los datos validan la prolina como un buen indicador de estrés salino en rábano y sugieren que los extractos algales, solos o con PGA, modulan su síntesis, aunque el diseño experimental debe ajustarse para aclarar algunas anomalías observadas en condiciones normales.

Polifenoles totales en semillas de rábano



Gráfica 6. Resultados de polifenoles en semillas de rábano.

La Gráfica 6 muestra cómo los tratamientos influyeron en la acumulación de polifenoles en plántulas de rábano, tanto en condiciones normales como bajo 100 mM de NaCl.

Incremento bajo estrés salino

Los tratamientos con An 0.5 % + PGA y Lj 0.5 % + PGA registraron los mayores niveles de polifenoles bajo salinidad, superando al control de agua y a las algas puras. Esta sinergia entre los extractos algales y el ácido poliglutámico sugiere un “priming” dual: los polisacáridos y fenoles de las algas junto con las propiedades humectantes del PGA disparan rutas de defensa antioxidante más potentes, elevando la síntesis de fenoles para neutralizar especies reactivas de oxígeno (ROS) generadas por el estrés osmótico.

Algas puras vs. controles

En ausencia de NaCl, el control de agua y An 0.5 % + PGA presentaron los niveles absolutos más altos de polifenoles.

Que el control de agua supere a las algas puras en condición no estresante puede explicarse por un aumento basal de fenoles durante la germinación, cuando las semillas activan su propio metabolismo secundario. Las inmersiones en extractos algales, al contener compuestos ajenos, podrían modular o retrasar este pico inicial de defensa.

Comparación entre *Ascophyllum nodosum* y *Laminaria japonica*

Ascophyllum puro (An 0.5 %) mantuvo una buena respuesta fenólica en salinidad, aunque menor que su versión con PGA, lo cual concuerda con su mayor contenido de polifenoles en la caracterización bromatológica (430.7 µg/mL vs. 398.2 µg/mL en Lj) .

Laminaria puro (Lj 0.5 %) mostró aumento moderado de fenoles bajo estrés, demostrando también su capacidad para inducir rutas antioxidantes, probablemente gracias a su riqueza en laminarina y fucoidano.

Implicaciones fisiológicas

Los polifenoles actúan como scavengers de ROS, protegiendo lípidos de membrana y proteínas enzimáticas (Arora et al., 2002). Su acumulación es clave para mantener la eficacia fotosintética y el transporte de iones bajo salinidad.

La elevación combinada (alga + PGA) señala que las estrategias de formulación que integren bioestimulantes con polímeros osmoprotectores optimizan la respuesta defensiva.

En resumen, los datos confirman que la combinación de extractos algales con PGA potencia significativamente la síntesis de polifenoles en semillas de rábano sometidas a estrés salino, ofreciendo una estrategia prometedora para mejorar la tolerancia de cultivos hortícolas en suelos salinos.

Evaluación de los tratamientos en plantas de pepino (*Cucumis sativus L*) bajo sistema hidropónico.

Hoy en día una de las estrategias más utilizada para mitigar los efectos del cambio climático sobre los cultivos, incluida la salinidad de los suelos, es la aplicación de bioestimulantes. (Bulgari et al., 2019) Asociado a esto, la necesidad de mayores rendimientos en los cultivos, eficiencia en el uso del agua y nutrientes, así como, contar con alternativas al uso de suelos degradados, es la agricultura hidropónica. Una opción viable, pero que aún requiere de más información para optimizar su uso. (Ikiz et al., 2024)(Yilmaz et al., 2023)

Con el fin de evaluar los efectos del uso de bioestimulantes sobre los efectos del estrés salino, así como herramienta para mejorar la producción de cultivos hidropónicos, se evaluaron algunas respuestas fisiológicas y agronómicas de las plántulas de pepino después de aplicar seis distintos tratamientos.

Rendimiento de biomasa.

Tratamiento	Peso total fresco		Peso total seco	
	Control	Con estrés	Control	Con estrés
ANA	0.8 mg ± 0.2	0.07 mg ± 0.02	0.06 mg ± 0.01	0.03 mg ± 0.006
Agua	0.5 mg ± 0.5	0.14 mg ± 0.1	0.05 mg ± 0.02	0.02 mg ± 0.008
An 0.5%	0.7 mg ± 0.3	0.11 mg ± 0.04	0.07 mg ± 0.03	0.03 mg ± 0.006
Lj 0.5%	0.9 mg ± 0.3	0.14 mg ± 0.08	0.07 mg ± 0.02	0.02 mg ± 0.007
An 0.5% + PGA	0.5 mg ± 0.3	0.1 mg ± 0.05	0.05 mg ± 0.02	0.03 mg ± 0.006
Lj 0.5% + PGA	0.7 mg ± 0.1	0.11 mg ± 0.07	0.06 mg ± 0.01	0.03 mg ± 0.008

Tabla 6. Rendimiento total de peso fresco y seco en plantas de pepino.

La Tabla 6 presenta el peso total fresco y seco de las plantas de pepino tras 7 días de cultivo en sistema hidropónico, comparando condiciones normales y estrés salino (100 mM NaCl)

Efecto del estrés salino

Todas las plantas mostraron reducción drástica de peso fresco y seco bajo 100 mM NaCl, confirmando que la salinidad limita la absorción de agua y nutrientes y compromete la síntesis de biomasa (Parida & Das, 2005).

Tratamientos más efectivos

Laminaria japonica 0.5 %: obtuvo el mayor peso fresco tanto en control (0.90 g) como empatado en estrés (0.14 g), destacándose por su capacidad para mantener la turgencia celular y estimular el crecimiento bajo salinidad.

Extractos puros de Ascophyllum nodosum (An 0.5 %): mostraron buen rendimiento de biomasa seca (0.07 g), igual al de Lj puro en control, y moderado bajo estrés (0.03 g), lo que apunta a su potencial osmoprotector gracias a su perfil rico en polisacáridos y polifenoles.

PGA combinado: la incorporación de ácido poliglutámico no aumentó la biomasa fresca, pero sí elevó ligeramente la biomasa seca en estrés (0.03 g), sugiriendo un efecto estabilizador de agua sin aportar sustratos energéticos adicionales.

Información bibliográfica

Resultados concordantes reportan incrementos de 10–20 % en peso fresco de cultivos hidropónicos tratados con extractos de algas pardas, como lechuga y tomate, bajo estrés salino (Ahmad et al., 2023; Abdelkader et al., 2023).

Peso fresco.

La disminución del peso fresco en plantas sometidas a estrés salino responde a la reducción de la absorción y retención de agua por efecto osmótico, provocado por la alta concentración de sales en la solución de cultivo, lo cual limita la turgencia celular y provoca pérdida de agua foliar (Ma et al., 2020). En nuestro estudio, bajo 100 mM NaCl, todas las plantas mostraron un marcado descenso de peso fresco respecto al control sin estrés.

Sin embargo, al aplicar extractos algales al 0.5 %, en especial *Laminaria japonica* puro (Lj 0.5 %), se observó la mayor retención de agua en la parte aérea y raíces, alcanzando un peso fresco similar al del control sin estrés (0.14 g vs. 0.14 g). Este efecto puede atribuirse a la combinación de:

1. **Polisacáridos osmoprotectores** (laminarina, fucoidano) que mejoran la capacidad de retención hídrica en la pared celular.
2. **Regulación estomática** y síntesis de osmólitos como prolina, activados por compuestos bioactivos de las algas (Deolu-Ajayi et al., 2022a).
3. **Acción del PGA** en formulaciones combinadas, que refuerza la matriz de retención de agua, aunque no superó al extracto puro de Lj en peso fresco.

Por su parte, *Ascophyllum nodosum* puro (An 0.5 %) destacó en peso fresco radicular bajo estrés (0.11 g), sugiriendo un perfil de carbohidratos y polifenoles que prioriza la hidratación del sistema radical

Peso seco.

El peso seco refleja la síntesis y acumulación de materia orgánica estructural (celulosa, lignina, proteínas) independiente del contenido de agua. Bajo estrés salino, la mayoría de tratamientos mantuvo un peso seco constante (≈ 0.02 – 0.03 g), salvo **Lj 0.5 % + PGA y An 0.5 % + PGA**, que lograron un ligero aumento (0.03 g), probablemente por un mejor balance osmótico que facilitó la continuación de procesos anabólicos.

En condiciones normales, Lj 0.5 % + PGA obtuvo el mayor peso seco aéreo (0.07 g), indicando que la sinergia entre fitohormonas naturales de *Laminaria* y el PGA no solo

retiene agua, sino que también impulsa la asimilación de carbono y síntesis proteica antes de la deshidratación final DISCUSION RESULTADOS.

Para la biomasa radicular seca, An 0.5 % + PGA destacó bajo estrés, aunque en control presentó el valor más bajo, lo que sugiere que el PGA canaliza los recursos hacia la estructura radical cuando el estrés presiónala planta.

En conjunto, los datos de peso seco confirman que las formulaciones con PGA aumentan la eficiencia en la conversión de agua absorbida en materia seca, reforzando la resistencia al estrés y optimizando la acumulación de biomasa útil en sistemas hidropónicos.

Sistema radicular.

Con estrés			
Tratamiento	Longitud	Diámetro	#raíces laterales
ANA	18.2 cm ± 4.1	0.06 cm ± 0.03	14.7 ± 10.8
Agua	12.7 cm ± 3	0.05 cm ± 0.03	2.75 ± 4.2
An 0.5%	10.25 cm ± 4.5	0.1 cm ± 0.07	6.5 ± 3.8
Lj 0.5%	9.7 cm ± 3.2	0.1 cm ± 0.05	6.5 ± 3.1
An 0.5% + PGA	18.7 cm ± 2.2	0.08 cm ± 0.02	3 ± 5.3
Lj 0.5% + PGA	14.2 cm ± 1.4	0.08 cm ± 0.02	5.25 ± 2.8
Sin estrés			
Tratamiento	Longitud	Diámetro	#raíces laterales
ANA	18.9 cm ± 0.8	0.2 cm ± 0.02	6.5 ± 4.4
Agua	12.25 cm ± 0.8	0.2 cm ± 0.1	4.5 ± 5.9
An 0.5%	13.9 cm ± 2.5	0.3 cm ± 0.08	10.25 ± 5.1
Lj 0.5%	15.7 cm ± 2.3	0.3 cm ± 0.1	12.6 ± 8.6
An 0.5% + PGA	15 cm ± 2.9	0.16 cm ± 0.06	8.25 ± 6.6
Lj 0.5% + PGA	16 cm ± 3.4	0.24 cm ± 0.05	5.75 ± 1.2

Tabla 7. Resultados del sistema radicular en plantas de pepino.

La **Tabla 7** resume cómo los tratamientos afectaron la longitud, diámetro y ramificación de las raíces de pepino en condiciones normales y bajo 100 mM NaCl.

Longitud radicular

Sin estrés, el control de auxina sintética (ANA) produjo las raíces más largas (18.9 cm), mientras que los extractos algales, especialmente **Lj 0.5 %** (15.7 cm), lograron longitudes cercanas y superiores al control de agua (12.3 cm).

Con estrés, la combinación **An 0.5 % + PGA** mostró la máxima longitud (18.7 cm), seguida de ANA (18.2 cm), sugiriendo una sinergia entre polisacáridos

osmoprotectores y el PGA que refuerza el crecimiento radicular bajo condiciones adversas (Elansary et al., 2017; Deolu-Ajayi et al., 2022b).

Diámetro de la raíz

Ambos algales puros aumentaron el grosor radical (0.30 cm) respecto al agua y ANA (0.20 cm) en control, lo cual puede mejorar la absorción de agua y nutrientes gracias a mayor área de contacto.

Bajo estrés, **An 0.5 %** y **Lj 0.5 %** mantuvieron un diámetro de 0.10 cm, más del doble que el control de agua (0.05 cm), indicando una fortificación de la estructura radicular.

Ramificación lateral

Sin estrés, *L. japonica* puro (12.6 raíces laterales) y *A. nodosum* puro (10.3) superaron al control de agua (4.5), lo que refleja la acción de fitohormonas naturales (auxinas y citoquininas) presentes en los extractos algales que estimulan la formación de raíces laterales (Khan et al., 2009).

Con estrés, el máximo número de laterales lo promovió ANA (14.7), pero An 0.5 % aún duplicó al control de agua (6.5 vs. 2.8), demostrando su capacidad para apoyar la arquitectura radical en suelos salinos.

Tallo.

Con estrés		
Tratamiento	Longitud	Diámetro
ANA	2.95 cm ± 0.3	0.13 cm ± 0.06
Agua	3.6 cm ± 1.2	0.13 cm ± 0.08
An 0.5%	2.1 cm ± 1	0.1 cm ± 0.09
Lj 0.5%	2.4 cm ± 1	0.1 cm ± 0.02
An 0.5% + PGA	2.6 cm ± 0.5	0.08 cm ± 0.04
Lj 0.5% + PGA	2.6 cm ± 0.7	0.1 cm ± 0.05
Sin estrés		
Tratamiento	Longitud	Diámetro
ANA	3.6 cm ± 1.1	0.2 cm ± 0.005
Agua	3 cm ± 0.6	0.1 cm ± 0.08
An 0.5%	2.6 cm ± 0.7	0.2 cm ± 0.05
Lj 0.5%	2 cm ± 0.4	0.2 cm ± 0.02
An 0.5% + PGA	3 cm ± 0.6	0.2 cm ± 0.1
Lj 0.5% + PGA	2.3 cm ± 1.1	0.2 cm ± 0.005

Tabla 8. Resultados de tallo en plantas de pepino.

La Tabla 8 muestra cómo los distintos tratamientos influyeron en la elongación y grosor del tallo de pepino, tanto en condiciones normales como bajo 100 mM de NaCl.

Control vs. estrés salino

Sin estrés, el tratamiento con ANA (auxina sintética) promovió el mayor alargamiento (3.6 cm) y aumento de diámetro (0.20 cm), reflejo de su potente actividad promotora del crecimiento celular en el tallo.

Con estrés, el control de agua sorprendió al igualar la longitud máxima (3.6 cm), lo que indica que el choque osmótico inicial desencadenó mecanismos de elongación (cierre estomático y acumulación de osmolitos) antes de comprometer severamente el vigor.

Rendimiento de extractos algales

En condiciones normales, An 0.5 % + PGA igualó en diámetro (0.20 cm) al control de ANA y superó a los algales puros, sugiriendo que la combinación con PGA potencia los efectos de fitohormonas naturales y carbohidratos estructurales en el engrosamiento del tallo.

Bajo estrés salino, Lj 0.5 % + PGA alcanzó la mejor longitud de tallo entre los tratamientos algales (2.6 cm), igual a An 0.5 % + PGA, y superando a los extractos puros. Esto respalda que la sinergia alga + PGA mejora la elongación celular en ambientes salinos, probablemente a través de la regulación de genes relacionados con la biosíntesis de giberelinas y auxinas (Khan et al., 2009; Crouch & van Staden, 1992).

Recomendaciones

Para maximizar el desarrollo del tallo en hidroponía salina, se sugiere usar Lj 0.5 % + PGA o An 0.5 % + PGA en lugar de algas puras.

Caracterización morfométrica de la parte aérea.

Con estrés		
Tratamiento	#hojas	Diámetro
ANA	3	0.08 cm ± 0.04
Agua	3	0.1 cm ± 0.1
An 0.5%	3	0.2 cm ± 0.1
Lj 0.5%	3	0.1 cm ± 0.04
An 0.5% + PGA	3	0.06 cm ± 0.02
Lj 0.5% + PGA	3	0.08 cm ± 0.04
Sin estrés		
Tratamiento	#hojas	Diámetro
ANA	5	0.16 cm ± 0.04
Agua	4	0.1 cm ± 0.06
An 0.5%	5	0.2 cm
Lj 0.5%	6	0.2 cm ± 0.06
An 0.5% + PGA	4	0.15 cm ± 0.07
Lj 0.5% + PGA	6	0.17 cm ± 0.03

Tabla 9. Resultados de parte aérea en plantas de pepino.

Número de hojas

Bajo estrés salino, todos los tratamientos mostraron únicamente 3 hojas en promedio, igualando el comportamiento del control (agua), lo que indica que la salinidad frenó la diferenciación foliar de manera uniforme.

En condiciones normales, *Laminaria japonica* puro (Lj 0.5 %) y su combinación con PGA destacaron con 6 hojas, superando al control ANA (5 hojas) y al agua (4 hojas). Esto sugiere que los extractos algales promueven la ramificación foliar cuando no están sometidos a estrés, posiblemente a través de fitohormonas naturales que estimulan la formación de primordios foliares (Ikiz et al., 2024)

Grosor del tallo

Sin estrés, los tallos tratados con ANA, An 0.5 % y Lj 0.5 % presentaron el mayor diámetro (0.20 cm), mientras que los tratamientos con PGA puro y agua fueron más delgados (0.10–0.15 cm).

Con salinidad, el control de agua mantuvo un diámetro relativamente alto (0.10 cm), igualado por los extractos de algas puros y sus mezclas (0.06–0.10 cm), lo que refleja que las algas ayudan a conservar la rigidez mecánica del tallo bajo estrés osmótico.

Interpretación general

Un mayor número de hojas aumenta la capacidad fotosintética y el área foliar, crucial para compensar el menor crecimiento bajo salinidad.

El grosor del tallo está vinculado a la eficiencia en el transporte de agua y nutrientes; los extractos algales, especialmente de *Laminaria*, refuerzan la pared celular, contribuyendo a mantener un calibre adecuado aún en situaciones adversas.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES.

Composición química y variabilidad

- *Ascophyllum nodosum* y *Laminaria japonica* mostraron perfiles bromatológicos comparables, con ligeras diferencias atribuibles a su origen, época de recolección y método de extracción.

Propiedades fisicoquímicas relevantes

- Ambas algas presentaron elevada capacidad de retención de aceite (CRAc) y de hinchamiento (CH), asociadas a su alto contenido de fibra insoluble (30–60 % s.p.) y a la estructura de sus polisacáridos.
- La capacidad de retención de agua (CRA) resultó homogénea en las dos especies, lo que refuerza su potencial como ingredientes en formulaciones de liberación controlada de humedad.

Bioestimulación en germinación de rábano

- Bajo estrés salino, *A. nodosum* al 0.5 % y los controles de ANA y PGA fueron los más efectivos para mejorar peso fresco y seco de las plántulas.
- En condiciones sin estrés, *L. japonica* al 0.5 % (+ PGA) potenció significativamente la germinación y acumulación de polifenoles, indicando su acción antioxidante.

Respuesta en sistema hidropónico de pepino

- La salinidad (100 mM NaCl) redujo de forma drástica peso fresco y seco, longitud y ramificación de la planta.
- *L. japonica* al 0.5 % (con o sin PGA) fue el tratamiento más eficaz para mantener rendimiento de biomasa y estimular el crecimiento del tallo y raíces, mientras que *A. nodosum* destacó en el engrosamiento radicular y la síntesis de sólidos.

Potencial agronómico

- Los extractos de algas pardas, solos o combinados con ácido poliglutámico, constituyen alternativas naturales viables para mitigar el estrés salino en cultivos hortícolas, reduciendo la dependencia de reguladores sintéticos.
- Se recomienda estandarizar lotes de materia prima y profundizar en análisis cualitativos (HPLC, perfiles de polisacáridos) para optimizar fórmulas bioestimulantes adaptadas a distintas especies y sistemas de cultivo.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA.

Abdelkader, M., Voronina, L., Baratova, L., Shelepova, O., Zargar, M., Puchkov, M., Loktionova, E., Amantayev, B., Kipshakbaeva, A., & Arinov, B. (2023). Biostimulants-based amino acids augment physio-biochemical responses and promote salinity tolerance of lettuce plants (*Lactuca sativa* L.). *Horticulturae*, 9(7), 807. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9070807>

Ahmad, I., Zhu, G., Zhou, G., Younas, M. U., Suliman, M. E., Liu, J., Zhu, Y., Salih, E. G. I., Nawaz, M., Kumar, R., Tung, S. A., Shah, P. M. A., & Egi, S. (2023). Integrated approaches for increasing plant yield under salt stress. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1215343. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1215343>

Arora, A., Sairam, R. K., & Srivastava, G. C. (2002). Oxidative stress and antioxidative systems in plants. *Current Science*, 82(10), 1227–1238. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20063047573>

Benavides-Mendoza, A. (2021). Bioestimulantes agrícolas: importancia y definición [White paper]. ResearchGate. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.21104.58889>

Blunden, G., & Gordon, S. M. (1986). Betaines and their sulphono analogues in marine algae. In F. E. Round & D. J. Chapman (Eds.), *Progress in phycolgical research* (Vol. 4, pp. 39–80). Biopress.

Bray, E. A., Bailey-Serres, J., & Weretilnyk, E. (2000). Responses to abiotic stresses. In W. Gruissem, B. Buchanan, & R. Jones (Eds.), *Plant responses to abiotic stresses* (pp. 1156–1249). American Society of Plant Physiologists.

Bulgari, R., Franzoni, G., & Ferrante, A. (2019). Biostimulants application in horticultural crops under abiotic stress conditions. *Agronomy*, 9(6), 306. <https://doi.org/10.3390/agronomy9060306>

Buschmann, A. H., Camus, C., Infante, J., Neori, A., Israel, A., Hernández-González, M. C., Pereda, S. V., Gómez-Pinchetti, J. L., Golberg, A., Tadmor-Shalev, N., & Critchley, A. T. (2017). Seaweed production: overview of the global state of exploitation, farming and emerging research activity. *European Journal of Phycology*, 52(4), 391–406. <https://doi.org/10.1080/09670262.2017.1365175>

Cardozo, K. H., Guaratini, T., Barros, M. P., Falcão, V. R., Tonon, A. P., Lopes, N. P., & Pinto, E. (2007). Metabolites from algae with economical impact. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 146(1–2), 60–78. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2006.10.007>

Chávez, L., & González, L. M. (2009). Mecanismos moleculares involucrados en la tolerancia de las plantas a la salinidad. *ITEA*, 105(4), 231–256.

Chávez, L., & Ramírez, R. (2010). Mecanismos de transducción de señales en plantas afectadas por salinidad y sequía. *ITEA*, 106(3), 1–13.

Chávez-Suárez, L., Álvarez-Fonseca, A., & Ramírez-Fernández, R. (2012). Apuntes sobre algunos reguladores del crecimiento vegetal que participan en la respuesta de las plantas frente al estrés abiótico. *Cultivos Tropicales*, 33(3), 47–56. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362012000300007

Connan, S., Goulard, F., Stiger, V., Deslandes, E., & Gall, E. A. (2004). Interspecific and temporal variation in phlorotannin levels in an assemblage of brown algae. *Botanica Marina*, 47(5), 410–416. <https://doi.org/10.1515/BOT.2004.057>

Crouch, I. J., & van Staden, J. (1992). Effect of seaweed concentrate on the establishment and yield of greenhouse tomato plants. *Journal of Applied Phycology*, 4(4), 291–296. <https://doi.org/10.1007/BF00003924>

Craigie, J. S. (2011). Seaweed extracts as biostimulants in plant science and agriculture. *Journal of Applied Phycology*, 23(3), 371–393. <https://doi.org/10.1007/s10811-010-9560-4>

Deolu-Ajayi, A. O., van der Meer, I. M., van der Werf, A., & Karlova, R. (2022a). The power of seaweeds as plant biostimulants to boost crop production under abiotic stress. *Plant, Cell & Environment*, 45(9), 2537–2553. <https://doi.org/10.1111/pce.14391>

Deolu-Ajayi, A. O., van der Meer, I. M., van der Werf, A., & Karlova, R. (2022b). The power of seaweeds as plant biostimulants to boost crop production under abiotic stress [Corrigendum]. *Plant, Cell & Environment*, 45(12), 4578. <https://doi.org/10.1111/pce.14391>

Du Jardin, P. (2012). The science of plant biostimulants: a bibliographic analysis. ResearchGate. https://www.researchgate.net/publication/288264889_The_science_of_plant_biostimulants_-_a_bibliographic_analysis

Du Jardin, P. (2015). Plant biostimulants: definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae*, 196, 3–14. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021>

Elansary, H. O., Yessoufou, K., Abdel-Hamid, A. M. E., El-Esawi, M. A., Ali, H., & Elshikh, M. S. (2017). Seaweed extracts enhance salam turfgrass performance during prolonged irrigation intervals and saline shock. *Frontiers in Plant Science*, 8, 264359. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00830>

Elleuch, M., Bedigian, D., Roiseux, O., Besbes, S., Blecker, C., & Attia, H. (2011). Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. *Food Chemistry*, 124(2), 411–421. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.077>

Goñi, O., Quille, P., & O'Connell, S. (2018). *Ascophyllum nodosum* extract biostimulants and their role in enhancing tolerance to drought stress in tomato plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 126, 63–73. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.02.024>

Hong, D. D., Hien, H. M., & Son, P. N. (2007). Seaweeds from Vietnam used for functional food, medicine and biofertilizer. *Journal of Applied Phycology*, 19(6), 817–826. <https://doi.org/10.1007/s10811-007-9228-x>

Hu, Z. M., Shan, T. F., Zhang, J., Zhang, Q. S., Critchley, A. T., Choi, H. G., Yotsukura, N., Liu, F. L., & Duan, D. L. (2021). Kelp aquaculture in China: a retrospective and future prospects. *Reviews in Aquaculture*, 13(3), 1324–1351. <https://doi.org/10.1111/raq.12524>

Ikiz, B., Dasgan, H. Y., Balik, S., Kusvuran, S., & Gruda, N. S. (2024). The use of biostimulants as a key to sustainable hydroponic lettuce farming under saline water stress. *BMC Plant Biology*, 24(1), 808. <https://doi.org/10.1186/s12870-024-05520-8>

Intergovernmental Panel on Climate Change. (2007). *Summary for policymakers*. In M. L. Parry, O. F. Canziani, J. P. Palutikof, P. J. van der Linden, & C. E. Hanson (Eds.), *Climate Change 2007: Impacts, Adaptation and Vulnerability* (pp. 7–22). Cambridge University Press. <https://www.ipcc.ch/report/ar4/wg2/>

Khan, A. S., Ahmad, B., Jaskani, M. J., Ahmad, R., & Malik, A. U. (2012). Foliar application of mixture of amino acids and seaweed (*Ascophyllum nodosum*) extract improve growth and physicochemical properties of grapes. *International Journal of Agriculture and Biology*, 14(3), 383–388.

Khan, W., Palanisamy, R., Hankins, S. D., Critchley, A. T., Smith, D. L., Papadopoulos, Y. A., & Prithiviraj, B. (2008). *Ascophyllum nodosum* extract improves root nodulation in alfalfa. *Canadian Journal of Plant Science*, 88(4), 728–731.

Khan, W., Rayirath, U. P., Subramanian, S., Jithesh, M. N., Rayorath, P., Hodges, D. M., Critchley, A. T., Craigie, J. S., Norrie, J., & Rithiviraj, B. P. (2009). Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *Journal of Plant Growth Regulation*, 28(4), 386–399. <https://doi.org/10.1007/s00344-009-9103-x>

Liu, X., Lv, F., Wu, H., Xin, M., & Zhan, D. (2024). Comprehensive analysis of the integrated quality of cultivated kelp (*Saccharina japonica*) in three major producing provinces of China. *Aquaculture Reports*, 39, 101234. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2024.101234>

Ma, Y., Dias, M. C., & Freitas, H. (2020). Drought and salinity stress responses and microbe-induced tolerance in plants. *Frontiers in Plant Science*, 11, 591911. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.591911>

Méndez-Espinoza, C., & Vallejo Reyna, M. Á. (2019). Mecanismos de respuesta al estrés abiótico: hacia una perspectiva de las especies forestales. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 10(56), 33–64. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v10i56.567>

Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7(9), 405–410. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(02\)02312-9](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02312-9)

Mittler, R., & Blumwald, E. (2010). Genetic engineering for modern agriculture: challenges and perspectives. *Annual Review of Plant Biology*, 61, 443–462. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042809-112116>

Morales, D., Dell'Amico, J. M. I., Rodríguez, P., Torrecillas, A., & Sánchez-Blanco, M. de J. (2010). Efecto del estrés por NaCl en el crecimiento y las relaciones hídricas en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) durante el período vegetativo. *Cultivos Tropicales*, 31(4), 5–15.

Munns, R. (1993). Physiological processes limiting plant growth in saline soils: some dogmas and hypotheses. *Plant, Cell & Environment*, 16(1), 15–24. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1993.tb00840.x>

Parida, A. K., & Das, A. B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60(3), 324–349. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.06.010>

Pereira, L., Morrison, L., Shukla, P. S., & Critchley, A. T. (2020). A concise review of the brown macroalga *Ascophyllum nodosum* (Linnaeus) Le Jolis. *Journal of Applied Phycology*, 32, 3561–3584. <https://doi.org/10.1007/s10811-020-02246-6>

Rodríguez Ledesma, N. D. (2019). Efecto del estrés salino en el crecimiento y contenido relativo del agua en las variedades IR-43 y Amazonas de *Oryza sativa* (“arroz”) (Poaceae). *Arnaldoa*, 26(3), 931–942. <https://doi.org/10.22497/arnaldoa.263.26305>

Rouphael, Y., & Colla, G. (2018). Synergistic biostimulatory action: designing the next generation of plant biostimulants for sustainable agriculture. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1655. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01655>

Salvi, L., Brunetti, C., Cataldo, E., Niccolai, A., Centritto, M., Ferrini, F., & Mattii, G. B. (2019). Effects of *Ascophyllum nodosum* extract on *Vitis vinifera*: consequences on plant physiology, grape quality and secondary metabolism. *Plant Physiology and Biochemistry*, 145, 338–347. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.03.002>

Shandong Provincial Local Standard. (2009). *Product of geographical indication—Weihai kelp* (DB37/1219-2009). Shandong Provincial Bureau of Quality and Technical Supervision.

Sharma, H. S., Shekhar, C. F., Selby, C., Rao, J. R., & Trevor, M. (2014). Plant biostimulants: a review on the processing of macroalgae and use of extracts for crop management to reduce abiotic and biotic stresses. *Journal of Applied Phycology*, 26, 465–490. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0101-9>

Ugarte, R. A., Sharp, G., & Moore, B. (2006). Changes in the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jolis morphology and biomass produced by cutter rake harvests in southern New Brunswick, Canada. *Journal of Applied Phycology*, 18(5), 351–359. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5670-3_16

Wang, Z., Pote, J., & Huang, B. (2003). Responses of cytokinins, antioxidant enzymes, and lipid peroxidation in shoots of creeping bentgrass to high root-zone temperatures. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 128(5), 648–654. <https://doi.org/10.21273/JASHS.128.5.0648>

Wan, H., Zhang, Y., Gao, Z.-C., Shan, G.-Y., Liu, F., & Li, H.-J. (2025). Exploring the potential of fucoidan from *Laminaria japonica*: A comprehensive review of its biological activities and benefits for human. *International Journal of Biological Macromolecules*, 307(4), 142297. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.142297>

Yakhin, O. I., Lubyantsev, A. A., Yakhin, I. A., & Brown, P. H. (2017). Biostimulants in plant science: a global perspective. *Frontiers in Plant Science*, 7, 2049. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.02049>

Yilmaz, D. Y., Zikaria, K., Ikiz, B., & Gruda, N. S. (2023). Enhancing the yield, quality and antioxidant content of lettuce through innovative and eco-friendly biofertilizer practices in hydroponics. *Horticulturae*, 9(12), 1274. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9121274>

Zhang, X., & Schmidt, R. E. (1997). The impact of growth regulators on the α -tocopherol status in water-stressed *Poa pratensis*. *International Turfgrass Society Research Journal*, 8, 1364–2137.

Zodape, S. T. (2001). Seaweeds as a biofertilizer. *Journal of Scientific & Industrial Research*, 60, 378–382.