



Dirección de Investigación
Subdirección de Programación y Evaluación



Proyecto de Investigación 2018

Unidad:	Saltillo	División:	Agronomía	Departamento:	Horticultura
Tema estratégico (ANA/PEP):	Hacer más eficiente la aplicación de fertilizantes mediante biomoléculas.				
Línea de investigación:	Fisiología de la Producción en Agricultura Protegida				
Título del proyecto:	Aplicación de extractos hidrotérmicos de macroalgas como bioestimulantes en plantas de tomate.				
Presupuesto solicitado (Máximo \$75,000)	\$60,000	El proyecto es:	Nuevo	<input checked="" type="checkbox"/>	Continuación
Tipo de investigación:	Básica	Aplicada	<input checked="" type="checkbox"/>	Tecnológica	e-mail del responsable
Vinculación:	Si	No	<input checked="" type="checkbox"/>	Fondos concurrentes:	Qfb_sgm@hotmail.com
Cooperante(s):					
Entidad (es):	Coahuila	Municipio (s):	Saltillo		
Localidades:	Saltillo				
A realizar durante el(los) año(s):	2018 2019				
Participantes		Adscripción (Clave Depto.)	Expediente No.	Firma	
Responsable	Dra. Susana González Morales	CONACYT-UAAAN	100062		
Colaborador:	Dr. Armando Robledo Olivo	425204001	4048		
Colaborador:	Dr. Marcelino Cabrera De La Fuente	425102001	3864		
Colaborador:	Dr. Adalberto Benavides Mendoza	425102001	3303		
Colaborador:	Dra. Rosa María Rodríguez Jasso	Externo	Externo		
		Grado por obtener	Matrícula	Firma	
Tesista:	Eva Carmona Rodríguez	Maestría	41110075		
Programa Docente:	Maestría en Ciencias en Horticultura				
Tesista:					
Programa Docente:					
Tesista:					
Programa Docente:					
	Vo. Bo.		Autoriza		
Firma y sello					
Nombre	Dr. Victor Manuel Reyes Salas Jefe de Departamento		Dr. Armando Robledo Olivo Subdirector de Programación y Evaluación		

1.-Título del proyecto

Presupuesto solicitado:

Aplicación de extractos hidrotérmicos de macroalgas como bioestimulantes en plantas de tomate.	\$60,000
--	----------

2.- Introducción

La actividad agrícola intensiva ha tenido impactos negativos en el ambiente provocando una disminución de la diversidad biológica, salinidad de los suelos, lixiviación de nutrientes, contaminación de cuerpos de aguas, debido a la aplicación de un alto volumen de plaguicidas y fertilizantes químicos (Campos *et al.*, 2015; García-Gutiérrez *et al.*, 2012; Cueto y Figueroa 2012). Debido a esto, hoy en día se ha promovido la aplicación de extractos de algas verdes, pardas y rojas con el objetivo de mejorar la eficiencia de la nutrición, acondicionador del suelo, bioestimulante promotor del crecimiento y rendimiento de las plantas, además de proporcionar protección ante agentes bióticos y abióticos y aumentar la calidad nutracéutica. Esta aplicación ha mostrado una amplia variedad de respuestas beneficiosas en plantas cultivadas, pues los resultados en los rendimientos y la calidad de las cosechas son muy satisfactorios, por la incorporación de la materia orgánica (Vásquez, 2014; López, 2000; Hernández, 2013). Estos extractos al contener en una fracción no volátil los principios activos, obtenidos mediante diversas técnicas de extracción y entre estas destaca la extracción en fluidos supercríticos (hidrotérmico) ya que es más respetuosa con el medio ambiente que los métodos de extracción convencionales (Gonzalez, 2004). Este proceso se utiliza para modificación estructural de los materiales entre ellos la despolimerización de la hemicelulosa (oligómeros, monómeros), alteración/degradación de la lignina (compuestos fenólicos) y el aumento de la disponibilidad de la celulosa (Ruiz, 2015).

Las propiedades funcionales de los extractos varían con la proporción de los compuestos presentes y debido a esto se han realizados estudios como los de López (2000), con aplicación de extractos de algas en cultivos de maíz, trigo y arroz los cuales han alcanzado rendimientos extras de 1 a 3 t ha⁻¹, cuando se les ha aplicado de 1 a 3 L ha⁻¹ de ALGAENZIMS MR, que es un extracto de algas marinas hecho en México. Sin embargo, por otro lado, uno de los extractos más utilizados son los de *Ascophyllum nodosum*, pues fomenta a la planta a producir sus propias hormonas y contribuye en la absorción y translocación de nutrientes presentes en el suelo (López 2014).

Otros estudios muestran que el extracto acuoso de *Macrocystis pyrifera*, en pepino presenta un efecto óptimo de bioactividad tipo auxina-enraizamiento de 4.1 ± 0.4 raíces y de bioactividad tipo citoquinina-incremento de biomasa de 22.7 ± 0.8 mg. Mientras que en la bioactividad tipo citoquinina-síntesis de clorofila, no se observó un incremento significativo de la síntesis de clorofila (Vásquez, 2014). Mientras que los resultados después de la aplicación de *Sargassum* spp. mostraron que la aplicación del alga al suelo y foliar aumento el contenido de clorofila de las hojas de vid y al aplicarlo al suelo aumento la acidez, mientras que al hacerlo vía foliar y directa al suelo disminuyo el pH (Zermeño, 2015).

La preocupación por la degradación de los recursos naturales asociada a la utilización de los fertilizantes químicos actualmente ha promovido la aplicación de bioestimulantes en diversos cultivos agrícolas y hortícolas. La presente investigación será desarrollada con el fin de obtener información sobre el efecto bioestimulante y efectividad biológica de los extractos obtenidos, para disminuir la aplicación de fertilizantes y plaguicidas y al mismo tiempo darle un uso a la biomasa marina que se produce y se desecha durante el ciclo del alga.

Objetivos

OBJETIVO GENERAL: Estudiar el efecto bioestimulante de extractos hidrotérmicos de tres algas marinas sobre plantas de tomate.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Caracterización de tres macroalgas marinas (*Macrocystis pyrifera*, *Sargassum* spp y *Eisenia arborea*).
2. Producción y caracterización de los extractos hidrotérmicos de las tres macroalgas marinas.
3. Evaluación de la efectividad biológica de los tres extractos hidrotérmicos de macroalgas en plantas de tomate variedad Río Grande.

Hipótesis

Al menos uno de los extractos hidrotérmicos a partir de macroalgas aplicados vía foliar y riego, promoverá un efecto

3.-Revisión de Literatura

Macroalgas

Las macroalgas son organismos que contienen clorofila, bajo diversas formas. Los medios de reproducción (gametos, esporas, propágulos multicelulares) carecen de una capa de células protectoras y comprende a las *Rhodophyta*, las *Phaeophyta* y las *Chlorophyta*; son morfológicamente mucho menos complejas que las plantas vasculares, ya que carecen de raíces, tallos, hojas, flores y frutos, lo mismo que de tejidos de conducción. Pueden transformar en materia orgánica los compuestos inorgánicos que toman del medio gracias a la energía luminosa y a través del proceso fotosintético y presentan coloraciones diferentes que depende de la proporción relativa de los pigmentos presentes (verdes, pardas y rojas). Pueden ser bentónicas, si viven fijas a un sustrato o al fondo y planctónicas, si son libres y forman parte del plancton. Se encuentran en Baja California Norte – Sur, Costas del Caribe, Océano Pacífico y Antártico (Etcheverry 1986).

Presentan un talo tridimensional y no tiene que sostener el peso, pero tienen que hacer frente a las enormes fricciones del oleaje y las corrientes, los periódicos procesos de y a una enorme presión por microherbívoros y organismos epi-endofitos. Estas capacidades adaptativas se las conferieron los distintos tipos de ficocoloides (hidrocoloides) que recubren sus paredes celulares. El contenido en celulosa de las macroalgas marinas esta entre el 1-8% y poseen muchos más xilanos y mananos que las terrestres (García y Quintana., 2017).

Importancia y Función Ecológica de las macroalgas

Son responsables de más del 50% de la fijación del CO₂, mediante la fotosíntesis y representan una riqueza potencial extraordinaria, ya que son un recurso de gran importancia económica debido a su alta demanda.

Pueden servir de alimento a un tercer nivel de consumidores y el ciclo de materia viva se completa gracias a la acción de los organismos descomponedores transformando la materia orgánica en sales minerales que nuevamente serán utilizadas por las macroalgas. Las Algas no sólo son productoras de materia orgánica, sino que desempeñan un papel importante en la producción y concentración de algunos elementos y compuestos químicos, como nitrógeno orgánico, fósforo, azufre, zinc y otros fertilizantes que, aunque presentes en pequeña proporción, son imprescindibles para la vida en la mar, sin olvidar su papel como productoras de oxígeno, liberado en la actividad fotosintetizadora (Llera y Álvarez., 2007).

Desde el punto de vista ambiental, la biodiversidad de las macroalgas sirven como sustrato y refugio a numerosas especies de peces e invertebrados, reduciendo la pesca de ciertas especies amenazadas como las tortugas marinas, caracol de pala y langosta (Ondarza y Rincones., 2008).

Utilización de las macroalgas

La utilización de las macroalgas en la dieta alimentaria humana tiene muchos años atrás. Estas tienen diferentes usos dependiendo de la especie, entre algunos es utilizada como materia prima para elaborar diferentes coloides, como el agar, los carragenanos y el alginato. Gracias a sus propiedades fisicoquímicas, estas sustancias actúan como agentes gelificantes, espesantes y estabilizadores (Mendoza ,1999).

Son además un valioso recurso natural para la industria de alimentos, cosméticos y biotecnológica. Su explotación en nuestro país puede contribuir a mejorar la realidad socioeconómica de muchas comunidades costeras, las cuales, en su mayoría, viven en condiciones de extrema pobreza, además de sus cualidades nutricionales, así como para la elaboración de dietas balanceadas para animales (Ondarza y Rincones, 2008).

Ciclos de vida y fenología

En comparación con los estudios fenológicos de plantas vasculares, los de macroalgas marinas no se han fundamentado en una definición exacta (Etcheverry, 1986). No son objeto de estudio de la fenología, ya que generalmente se determinan en investigaciones de laboratorio. Ello, porque sus ciclos de vida incluyen fases microscópicas (esporas, gametos, propágulos multicelulares) que son difíciles de estudiar directamente en el campo. Estas presentan alternancia de generaciones nucleares, son principalmente del tipo heteromórfico y las distintas fases responden a diferentes a las condiciones ambientales (Espinoza-Avalos, 2005).

Extractos de macroalgas y su aplicación en la agricultura

Es mucha la literatura que trata sobre el uso de algas marinas y sus derivados en la agricultura y son muchos los países que siguen esta práctica, pues los resultados en los rendimientos y la calidad de las cosechas son muy satisfactorios, así como el mejoramiento de las condiciones del suelo por la incorporación de la materia orgánica (López 2000). Los extractos de macroalgas son utilizados por su elevado contenido en fibra, macro y micronutrientes, aminoácidos, vitaminas y hormonas promotoras de crecimiento (auxinas y giberelinas).

Se encuentran estudios de diferentes formas de obtención de sustancias bioactivas de las macroalgas y su eficiencia en comparación de testigos y algunos autores reportan que en un extracto a base de aplicación de agua y calor (hidrotérmico) se obtiene una fracción acuosa rica en minerales y nutrientes.

Entre algunas técnicas de extracción están: líquido-sólido, fraccionada, por ultrasonido, por solución, filtración, destilación y líquido-líquido. Y algunos extractantes usados: metanol, agua, ácido clorhídrico o sulfúrico, etanol, cloroformo, hexano, etc.

La aplicación de extractos de algas verdes, pardas y rojas como acondicionador del suelo o fertilizante foliar ha mostrado amplia variedad de respuestas beneficiosas en el crecimiento y rendimiento de plantas cultivadas (Vásquez, 2014). La calidad depende tanto de la especie elegida como del proceso industrial de extracción-solubilización del ficocoloide (hidrólisis ácida o alcalina, temperatura, duración, etc). Hay extractos comerciales que venden hoy en día y no indican las especies de algas empleadas, ni el proceso seguido para su elaboración, además se debe tomar en cuenta que no todas las algas sirven para todas las aplicaciones y no tienen el mismo efecto (García y Quintana., 2017).

Esto se ve reflejado al utilizar extractos de *Ulva lactuca* y *Padina gymnospora*, en semillas de *Solanum lycopersicum* ya que muestran una mejor respuesta de germinación y en consecuencia mayor vigor e incrementos en la longitud de las plántulas. Además se observó que los tratamientos empleados directamente al sustrato resultaron más eficaces en la longitud del tallo raíz y peso de la planta que al ser aplicadas foliarmente y por otra parte confirieron resistencia a *Arternaria solanii* (Hernández, 2013). Mientras que al aplicar un bioestimulante concentrado a base de extractos de algas marinas pardas por Granados, (2015) en el cultivo de berenjena se obtuvo un rendimiento bruto de 27117.35 kg/ha, y una producción de 24849.98 kg/ha.

Biofertilizantes y biostimulantes

Actualmente se emplean una amplia gama de productos denominados bioestimulantes (sustancia o microorganismo que sea capaz de mejorar la respuesta de las plantas al estrés biótico o abiótico, mejorar cualquier rasgo importante para el cultivo), como una alternativa para la producción de cultivos, estos van desde extractos de plantas como pueden ser los extractos de algas marinas y los compuestos por aminoácidos mientras que los biofertilizantes a base de extractos de algas marinas son materiales naturales que incrementan crecimiento, rendimiento y mejora la calidad de los cultivos (García, 2017; Zermeño *et al.*, 2015).

El desarrollo de nuevos productos se ha realizado para la protección y nutrición vegetal. A veces denominados Bioplaguicidas o Biofertilizantes, o Bioestimulantes según su funcionalidad, están siendo cada vez más utilizados en la agricultura mundial como complemento o alternativa al uso de los plaguicidas tradicionales (FAO, 2017). Y por su uso, los biofertilizantes se podrían dividir en 4 grandes grupos; fijadores de nitrógeno, solubilizadores de fósforo, captadores de fósforo y promotores del crecimiento vegetal (Lira, 2017).

Se describen efectos positivos a través de la microflora del suelo, con la promoción de bacterias promotoras del crecimiento de las plantas y antagonistas patógenos en suelos supresores. En las plantas, los efectos nutricionales a través de la provisión y los micro y macronutrientes indican que actúan como fertilizantes, además de otros papeles, también se reportan efectos sobre la germinación de las semillas, asociados a los efectos hormonales (citoquininas, auxinas, ácido abscísico y giberelinas) identificados en extractos de algas marinas (Craigie, 2011). Estos biofertilizantes pueden presentar grandes ventajas como una producción a menor costo, protección del ambiente y aumento de la fertilidad y biodiversidad del suelo (Lira, 2017).

4.- Procedimiento Experimental

Se llevarán a cabo 3 etapas en este proyecto:

ETAPA 1: Caracterización de las tres macroalgas (*Macrocystis pyrifera*, *Sargassum* spp y *Eisenia arborea*).

Las macroalgas estudiadas se secarán a 60°C por 48 horas y se caracterizarán según los siguientes análisis:

Variable	Técnica
Minerales	ICP-plasma
Proteínas totales	(Bradford, 1976)
Fitohormonas	Ácido indolacético, trans-zeatina y Giberelina GA4 por HPLC. <i>et al.</i> , 2008; Dobrev y Kamínek, 2002).
Carbohidratos totales	Antrona

Actividad Antioxidante	DPPH
Fenoles	(Ketsa and Atantee, 1998).
Sulfatos	Folin-Ciocalteu (109)
Perfil de monosacáridos	HPLC

ETAPA 2: Producción de extractos hidrotérmicos de las tres macroalgas

Se realizará en un reactor batch de conducción-convección bajo condiciones no isotérmicas a 160°C. Se producirán 3 litros de extracto, el cual se caracterizará con los mismos análisis y técnicas de la etapa anterior.

ETAPA 3: Prueba de efectividad biológica en plantas de tomate variedad Río grande.

Se establecerá el experimento con 5 tratamiento (los tres extractos de macroalgas, un producto comercial a base de macroalgas y un testigo absoluto). Los extractos se aplicarán de dos formas (foliar y vía riego). Las aplicaciones se realizarán en tres ocasiones durante el ciclo de producción (trasplante, floración y producción). Se llevará a cabo un diseño en bloques completamente al azar, cada tratamiento contará con 15 repeticiones (1 planta como unidad experimental). La dosis que se evaluará para los extractos y producto comercial será de 1 L ha⁻¹. Para el análisis de datos se realizará un ANOVA y prueba de media (Tuckey p<0.05). Las variables que se analizarán en la etapa 3 son las siguientes:

Variables asociadas a crecimiento

Altura de planta
 Diámetro de tallo
 Longitud de raíz
 Biomasa seca aérea y radicular
 Rendimiento

Tolerancia a estrés

Variable	Técnica
Actividad enzimática fenilalanina amonio liasa(PAL).	(Paynet <i>et al.</i> , 1971).
Cuantificación de peróxido de hidrógeno.	(Patterson <i>et al.</i> , 1984).
Ácido salicílico	HPLC (Kramell <i>et al.</i> , 1995, Michelena <i>et al.</i> , 2001).
Ácido jasmónico	HPLC (Forcat <i>et al.</i> , 2008).

Calidad nutraceutica en el fruto

Variable	Técnica
Sólidos solubles totales	Refractómetro
Actividad antioxidante	DPPH

Licopeno	HPLC (Shi <i>et al.</i> , 1999).
Minerales	ICP-plasma

Cronograma de Actividades para el 2018.

Actividad por realizar	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
ETAPA 1: Producción de los extractos hidrotérmicos de macroalgas	X	X	X									
ETAPA 2: Caracterización de los extractos hidrotérmicos de macroalgas.	X	X	X									
ETAPA 3: Prueba de efectividad biológica en plantas de tomate.			X	X	X	X	X	X				
Medición de variables agronómicas.								X	X			
Medición de variables bioquímicas.								X	X	X	X	X

Cronograma de distribución de presupuesto para el 2018.

Actividad por realizar	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
ETAPA 1: Producción de los extractos hidrotérmicos de macroalgas	X	X	X									
ETAPA 2: Caracterización de los extractos hidrotérmicos de macroalgas.	X	X	X									
ETAPA 3: Prueba de efectividad biológica en plantas de tomate.			X									
Medición de variables agronómicas.			X									
Medición de variables bioquímicas.			X									

Duración total del proyecto

Año de Inicio	2017	Año estimado de conclusión	2019
---------------	------	----------------------------	------

5.-Productos Esperados

- 1 Tesis de maestría
- 1 artículo publicado
- Asistencia a 1 Congreso Internacional.

6.-Literatura Citada

Campos, S., R. López A.R., Cruz, M. W. 2015. Impacto ambiental y limitantes de la sustentabilidad de la actividad agrícola en la región frailesca. 20° Encuentro Nacional sobre Desarrollo Regional en México. Cuernavaca, Morelos del 17 al 20 de noviembre de AMECIDER – CRIM, UNAM,pp.26

Craigie, J.S., 2011. Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. *J. Appl. Phycol.* 23, 371–393.

Cueto, W. J. A. y Figueroa, V. U., 2012. Impacto ambiental de la fertilización y recomendaciones para mejorar la eficiencia en el uso de nutrimentos. Exposición INIFAP, Querétaro, Qro. 9 y10 de Agosto.pp.37

Espinoza-Avalos, Julio. (2005). Fenología de macroalgas marinas. *Hidrobiológica*, 15(1), 109-122. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-88972005000100010&lng=es&tlng=es.

Etcheverry, D. H.1986. Algas Marinas Bentónicas De Chile. Instituto de Oceanología. Universidad de Valparaíso, Viña del Mar –

- García, R. G., Quintana A. Martel. 2017. Usos y aplicaciones de macroalgas, microalgas y cianobacterias en agricultura ecológica. Instituto de Algología Aplicada, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Cátedra Iberoamericana. <http://fci.uib.es/Servicios/libros/conferencias/seae/Usos-y-aplicaciones-de-macroalgas-microalgas-y.cid221515>
- García, S.D. 2017. Función de los Aminoácidos como Bioestimulantes. Serie Nutrición Vegetal Núm. 93. Artículos Técnicos de INTAGRI. México. 2 p.
- García-Gutiérrez. C. y Rodríguez-Meza G. D., 2012. Problemática y riesgo ambiental por el uso de plaguicidas en Sinaloa. Universidad Autónoma Indígena de México El Fuerte, México. Vol. (8), núm. (3b), pp. 1-10
- González, v. A. A. 2004. Obtención de aceites esenciales y extractos etanolicos de plantas del Amazonas. Universidad Nacional de Colombia, Sede Manizales, Departamento De Ingeniería Química. Pp.100
- Granados, E. E. F. 2015. Efecto De Bioestimulantes Foliare En El Rendimiento Del Cultivo De Berenjena; Ocos, San Marcos. Tesis De Grado Licenciatura En Ciencias Agrícolas Con Énfasis En Cultivos Tropicales Facultad De Ciencias Ambientales Y Agrícolas. Pp.60
- Hernández, H.R. M., 2013. Efecto de extractos de algas marinas como promotores de crecimiento e inductores de resistencia en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*). Tesis. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. pp.71
- Lira, S. R. H. 2017. Uso de Biofertilizantes en la Agricultura Ecológica. Serie Agricultura Orgánica Núm. 14. Artículos Técnicos de INTAGRI. México. 9 p.
- Llera, G. E. M., y Álvarez, R. J. 2007. Algas Marinas De Asturias. Consejería de Medio Ambiente, Ordenación del Territorio e Infraestructuras y Obra Social "la Caixa".pp.286
- López., C. B., 2000. Enzimas-algas: posibilidades de su uso para estimular la producción agrícola y mejorar los suelos. TERRA Vol.(17), núm. (3).pp. 6
- Ondarza, B. M., Rincones, R. E. 2008.El Cultivo De Algas Marinas: Alternativa Industrial En Acuicultura Sustentable A Mediano Y Largo Plazo. Universidad Autónoma de Tamaulipas Ciudad Victoria, México. Ciencia UAT, vol. (83), núm. (2). pp. 68-73
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). 2017. Bioplaguicidas, Biofertilizantes, Bioestimulantes. Tema 19 Del Programa CAC/40 CRD/28 Programa Conjunto Fao/Oms Sobre Normas. Período De Sesiones Centro Internacional De Conferencias De Ginebra (CICG), Ginebra (Suiza) 17-22 De Julio.pp.2
- Ruiz, H. A., 2015 Proceso Hidrotérmico Aplicado a las Biorefinerías y Al Contexto De Los Residuos Mexicanos. Grupo de Biorefinería, Departamento de Investigación en Alimentos, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila, XVI Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería.21 al 26 Junio Guadalajara, Jalisco, México.pp.1
- Santillán, M. L. 2016. Así funcionan los biofertilizantes. Universidad Nacional Autónoma de México. http://ciencia.unam.mx/leer/570/Asi_funcionan_los_biofertilizantes
- Vásquez, Y. L.2014. Bioactividad Tipo Auxina Y Citoquinina De Extractos De Macroalgas Sobre Cotiledones De *Cucumis Sativus* L. Tesis Para obtener el Título Profesional de Bióloga. Universidad Nacional Mayor De San Marcos. Lima – Perú. Pág.66
- Zermeño, G.A., López R. B. R., Melendres A. A. I., Ramírez R. H., Cárdenas P.J. O., Munguía L. P. 2015. Extracto De Alga Marina Y Su Relación Con Fotosíntesis Y Rendimiento De Una Plantación De Vid. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. (12). pp. 2437- 2446