



**UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**

**Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias**

**Respuesta en el desarrollo y composición  
nutrimental de la planta de tomate  
(*Solanum lycopersicum*) en interacción  
con el hongo micorrízico arbuscular  
(*Rhizophagus intraradices*) y el extracto  
del alga marina (*Ulva lactuca*)**

**Tesis**

**que para obtener el grado de**

**Maestra en Ciencias en Biosistemática y  
Manejo de Recursos Naturales y  
Agrícolas**

**Presenta**

**Iliana Getsemany Balderrama Soto**

**Zapopan, Jalisco**

**Diciembre de 2019**



**UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**

---

**Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias**

**Respuesta en el desarrollo y  
composición nutrimental de la  
planta de tomate (*Solanum  
lycopersicum*) en interacción con el  
hongo micorrízico (*Rhizophagus  
intraradices*) y el extracto del alga  
marina (*Ulva lactuca*)**

**Tesis  
que para obtener el grado de  
Maestra en Ciencias en  
Biosistemática y Manejo de  
Recursos Naturales y Agrícolas**

**Presenta  
Iliana Getsemany Balderrama Soto**

**Directora  
Dra. Rosalba Mireya Hernández  
Herrera**

**Zapopan, Jalisco**

**Diciembre de 2019**



# UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias

**Respuesta en el desarrollo y composición nutrimental de la planta de tomate (*Solanum lycopersicum*) en interacción con el hongo micorrízico arbuscular (*Rhizophagus intraradices*) y el extracto del alga marina (*Ulva lactuca*)**

Por

**Iliana Getsemany Balderrama Soto**

**Maestría en Ciencias en Biosistemática y Manejo de Recursos Naturales y Agrícolas**

Aprobado por:

  
\_\_\_\_\_  
**Dra. Rosalba Mireya Hernández Herrera**  
Directora de Tesis e integrante del jurado


27- Noviembre-2019  
Fecha

  
\_\_\_\_\_  
**Dra. Cécilia Neri Luna**  
Asesora del Comité Particular e integrante del jurado

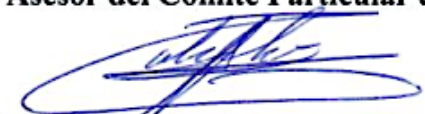
27 Noviembre 2019  
Fecha

  
\_\_\_\_\_  
**Dra. Carla Vanessa Sánchez Hernández**  
Asesora del Comité Particular e integrante del jurado

27 - Noviembre - 2019  
Fecha

  
\_\_\_\_\_  
**Dr. Fernando Santacruz Ruvalcaba**  
Asesor del Comité Particular e integrante del jurado

27- Noviembre- 2019  
Fecha

  
\_\_\_\_\_  
**Dr. Eduardo Salcedo Pérez**  
Sinodal e integrante del jurado

27 Noviembre 2019  
Fecha

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco principalmente a Dios por darme la vida, guiarme en el camino y por sus infinitas bendiciones hasta el día de hoy.

A mi madre Lilliana Soto Mendivil, por traerme al mundo y regalarme lo más importante que me pudo dar, su amor, tiempo y educación, por brindarme las herramientas para enfrentarme al mundo y formar la mujer que soy hoy en día. Le estaré eternamente agradecida.

A mi novio Manuel Gallardo Sánchez, por estar siempre conmigo y apoyarme en los buenos y malos momentos, gracias por amarme, cuidarme y aconsejarme.

A la Universidad de Guadalajara y a la Junta Académica de la Maestría en Ciencias en Biosistemática y Manejo de Recursos Naturales y Agrícolas, por aceptarme dentro del programa y darme el privilegio de ser estudiante de esta reconocida institución.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por permitirme ser beneficiaria de la beca de maestría.

Muy especialmente a mi directora de tesis la Dra. Rosalba Mireya Hernández Herrera, por creer y confiar en mí, que aún sin conocerme me dio la oportunidad de formar parte de su equipo de trabajo y quién con su conocimiento, consejos y motivación me orientó durante todo este proceso.

De igual manera a mis asesores la Dra. Cecilia Neri Luna, la Dra. Carla Vanesa Sánchez Hernández y el Dr. Fernando Santacruz Ruvalcaba, por darme su confianza y abrirme la puerta de sus laboratorios y oficinas, teniendo siempre una buena disposición de ayudar, por todo su tiempo, asesorías, correcciones, paciencia y por guiarme en el desarrollo de esta investigación. Y es gracias a todo ese trabajo en equipo que hoy puedo culminar con este proyecto.

También al Dr. Eduardo Salcedo Pérez, por aceptar formar parte de mi jurado evaluador como sinodal durante el examen de titulación.

A todos los docentes que me impartieron clases, por haberme compartido sus conocimientos, los cuales también contribuyeron a mi formación como estudiante.

Y a todos mis compañeros y amigos, que tuve el placer de conocer dentro y fuera de las aulas y laboratorios, de los cuales aprendí mucho y me llevo grandes enseñanzas de cada uno de ellos. En especial agradezco a mi amiga Carolina Álvarez Barajas por abrirme las puertas de su casa sin condición y mostrarme siempre su apoyo y confianza.

## **DEDICATORIA**

Dedico este logro a toda mi familia y en general a todos aquellos que creyeron en mí. Pero principalmente a mi mamá, a mi hermana Ivonne y a mi novio, quienes son mi principal motivo para seguir adelante, ya que con su amor y apoyo incondicional me han demostrado que puedo contar con ellos en todo momento, me impulsan a vencer cualquier adversidad y me inspiran a querer ser una mejor persona y a seguir superándome, por que quiero que siempre se sientan orgullosos de mí. Los amo con todo mi corazón.

## ÍNDICE

<b>1</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>ANTECEDENTES</b> .....	<b>3</b>
<b>2.1</b>	<b>PLANTA DE TOMATE</b> .....	<b>3</b>
2.1.1	Origen y distribución.....	3
2.1.2	Clasificación taxonómica .....	3
2.1.3	Morfología.....	3
2.1.4	Etapas fenológicas del tomate .....	6
2.1.5	Importancia comercial.....	7
<b>2.2</b>	<b>ALGA MARINA (<i>ULVA LACTUCA</i> L.)</b> .....	<b>8</b>
2.2.1	Hábitat y distribución.....	8
2.2.2	Clasificación taxonómica .....	9
2.2.3	Morfología.....	9
2.2.4	Etapas del ciclo de vida.....	11
2.2.5	Importancia comercial y aplicaciones. ....	12
<b>2.3</b>	<b>HONGO MICORRÍFICO ARBUSCULAR (HMA)</b> .....	<b>16</b>
2.3.1	Origen y hábitat .....	16
2.3.2	Clasificación taxonómica de <i>Rhizophagus intraradices</i> N.C. Schenck y G.S. Sm.....	16
2.3.3	Morfología.....	17
2.3.4	Ciclo de vida.....	20
2.3.5	Factores que influyen en el proceso y establecimiento de la simbiosis micorrízica.....	22
2.3.6	Importancia y aplicaciones.....	27
<b>2.4</b>	<b>BIOESTIMULANTES UTILIZADOS EN LA AGRICULTURA</b> .....	<b>33</b>
<b>2.5</b>	<b>RESPUESTAS DE LAS PLANTAS A LOS BIOESTIMULANTES</b> .....	<b>34</b>
<b>2.6</b>	<b>USO DE LAS ALGAS MARINAS COMO BIOESTIMULANTES EN LA AGRICULTURA</b> ...	<b>36</b>
<b>2.7</b>	<b>USO E IMPORTANCIA DE LOS HMA COMO BIOESTIMULANTES EN LA AGRICULTURA</b> .....	<b>37</b>

2.8	EFFECTO DE LOS EXTRACTOS DE ALGAS MARINAS SOBRE EL CRECIMIENTO DE LOS HMA .....	39
3	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	42
4	JUSTIFICACIÓN.....	42
5	HIPÓTESIS .....	43
6	OBJETIVOS .....	43
7	MATERIAL Y MÉTODOS .....	44
7.1	ÁREA DE ESTUDIO .....	44
7.2	MATERIAL BIOLÓGICO.....	44
7.2.1	Obtención del alga marina.....	44
7.2.2	Obtención de la semilla de tomate .....	45
7.2.3	Obtención del inóculo micorrícico.....	45
7.3	ELABORACIÓN DE EXTRACTOS.....	45
7.4	COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ALGA Y DEL EXTRACTO .....	45
7.5	CONDICIONES DE CRECIMIENTO DE LA PLANTA EN INVERNADERO .....	46
7.5.1	Preparación de las semillas.....	46
7.5.2	Preparación del sustrato.....	46
7.5.3	Inoculación del sustrato con el HMA.....	46
7.6	DISEÑO EXPERIMENTAL Y TRATAMIENTOS .....	47
7.7	DETERMINACIÓN DE LA COLONIZACIÓN MICORRÍCICA.....	48
7.8	PARÁMETROS DE CRECIMIENTO Y RENDIMIENTO EN LAS PLANTAS DE TOMATE	48
7.9	CONTENIDO DE NUTRIENTES EN LAS PLANTAS DE TOMATE .....	49
7.9.1	Determinación de nitrógeno total (N) .....	49
7.9.2	Determinación de fósforo (P) .....	50
7.9.3	Determinación de carbohidratos totales (CT).....	51
7.10	ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	51
8	RESULTADOS .....	52
8.1	ANÁLISIS DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ALGA MARINA ( <i>ULVA LACTUCA</i> L.) Y DE SU EXTRACTO LÍQUIDO. ....	52



<b>8.2</b>	<b>EVALUACIÓN SOBRE LA COLONIZACIÓN DEL HMA (<i>RHIZOPHAGUS INTRARADICES</i> N.C. SCHENCK Y G.S. SM.) Y EFECTO DEL EXTRACTO DEL ALGA MARINA (<i>ULVA LACTUCA</i> L.) EN PLANTAS DE TOMATE .....</b>	<b>54</b>
<b>8.3</b>	<b>PROMOCIÓN DE CRECIMIENTO EN PLANTAS DE TOMATE .....</b>	<b>56</b>
8.3.1	Longitud y área de raíz.....	56
8.3.2	Longitud tallo, área foliar y número de hojas y peso fresco .....	59
8.3.3	Número de flor, número y peso de fruto .....	62
<b>8.4</b>	<b>COMPOSICIÓN NUTRIMENTAL DE LAS PLANTAS DE TOMATE .....</b>	<b>64</b>
8.4.1	Evaluación de la cantidad de fósforo .....	64
8.4.2	Evaluación del porcentaje de nitrógeno total .....	65
8.4.3	Evaluación de la cantidad de carbohidratos totales .....	66
<b>9</b>	<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>67</b>
<b>10</b>	<b>CONCLUSIÓN.....</b>	<b>76</b>
<b>11</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>77</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Morfología de la planta de tomate. Tomado de <a href="http://www.depositphotos.com">http://www.depositphotos.com</a> ....	4
Figura 2. Fenología de la planta de tomate. Tomado de <a href="http://www.depositphotos.com">http://www.depositphotos.com</a> .....	7
Figura 3. Distribución geográfica de <i>Ulva lactuca</i> . Tomado de <a href="http://www.discoverlife.org">http://www.discoverlife.org</a>	9
Figura 4. Morfología del alga marina <i>Ulva lactuca</i> . Tomado de <a href="http://cronodon.com/BioTech/Algal_Bodies.html">http://cronodon.com/BioTech/Algal_Bodies.html</a> .....	10
Figura 5. Ciclo de vida de <i>Ulva</i> sp., ejemplo de alternancia de generaciones isomórficas. Tomado de Macaya (2011). .....	11
Figura 6. Taxonomía de los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) propuesta por Redecker <i>et al.</i> (2013) *Evidencia insuficiente, pero ninguna acción formal tomada. Tomado de Souza (2015). .....	17
Figura 7. Estructuras morfológicas de <i>Rhizophagus intraradices</i> . (a) hifas cenocíticas intraradicales, (b) arbusculos intracelulares, (c) vesículas, (d) hifas extraradicales, (e) esporas. ....	19
Figura 8. Capas (L1, L2 y L3) de la pared de las esporas en <i>Rhizophagus intraradices</i> . Tomado de International Culture Collection of (vesicular) Arbuscular Micorrhizal Fungi (2019). .....	19
Figura 9. Tipos morfológicos de simbiosis en <i>Rhizophagus intraradices</i> . (a) colonización tipo Arum, (b) colonización tipo París. Tomado de Berbara <i>et al.</i> (2006). .....	19
Figura 10. Secuencia de eventos morfogenéticos del hongo micorrícico arbuscular ( <i>Rhizophagus intraradices</i> ) para su establecimiento dentro de las raíces de tomate: (a) germinación de la spora y ramificación de hifas, (b) formación del apresorio sobre las células epidérmicas, (c) penetración a través de las células epidérmicas, (d) crecimiento intercelular a partir de la hifa de penetración, (e) desarrollo del micelio extraradical en el suelo, (f) formación de los arbusculos y vesículas, (g) formación de esporas. Escala de medición 20 µm. ....	21
Figura 11. Los modos de acción del bioestimulante y sus correlaciones. Tomado de Posmyk y Szafrńska (2016). .....	35
Figura 12. Métodos de aplicación de extractos de algas marinas, y sus efectos en las plantas y mecanismos de acción. Tomado de Battacharyya <i>et al.</i> (2015). .....	37

Figura 13. Ubicación geográfica del sitio de colecta de <i>Ulva lactuca</i> . Tomado de google maps.....	44
Figura 14. Estructuras fúngicas de <i>Rhizophagus intraradices</i> en raíces de plantas de tomate: (a-d) Plantas regadas con solución nutritiva a concentración baja (- de P, 0.05 g·L); (a) Control = Plantas; (b) RI = Plantas inoculadas con <i>Rhizophagus intraradices</i> ; (c) EA = Plantas con extracto de alga ( <i>Ulva lactuca</i> 0.2 %); (d) RI + EA = Plantas con <i>Rhizophagus intraradices</i> y extracto de alga. (e-h) Plantas regadas con solución nutritiva a concentración alta (+ de P, 0.23 g·L) (e) Control = Plantas; (f) RI = Plantas inoculadas con <i>Rhizophagus intraradices</i> ; (g) EA = Plantas con extracto de alga ( <i>Ulva lactuca</i> 0.2 %); (h) RI + EA = Plantas con <i>Rhizophagus intraradices</i> y extracto de alga. Escala de medición 20 $\mu$ m.....	54
Figura 15. Efecto de <i>Rhizophagus intraradices</i> (RI), extracto de alga <i>Ulva lactuca</i> 0.2 % (EA) y ambos (RI + EA). (a y b) longitud de la raíz, (c y d) área de raíz en plantas de tomate. Los valores corresponden a la media (n=14). Diferentes letras en las columnas indican diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) según prueba Tukey.....	57
Figura 16. Raíces de las plantas de tomate regadas con solución nutritiva a concentración baja (- de P, 0.05 g·L); alta (+ de P, 0.23 g·L). Con diferentes tratamientos: Control = Plantas; RI = Plantas inoculadas con <i>Rhizophagus intraradices</i> ; EA = Plantas con extracto de alga ( <i>Ulva lactuca</i> 0.2 %); RI + EA = Plantas con <i>Rhizophagus intraradices</i> y extracto de alga.....	58
Figura 17. Tejido aéreo de las plantas de tomate regadas con solución nutritiva a concentración baja (- de P, 0.05 g·L); alta (+ de P, 0.23 g·L). Con diferentes tratamientos: Control = Plantas; RI = Plantas inoculadas con <i>Rhizophagus intraradices</i> ; EA = Plantas con extracto de alga ( <i>Ulva lactuca</i> 0.2 %); RI + EA = Plantas con <i>Rhizophagus intraradices</i> y extracto de alga.....	61
Figura 18. Efecto de <i>Rhizophagus intraradices</i> (RI), extracto de alga <i>Ulva lactuca</i> 0.2 % (EA) y ambos (RI + EA). (a y b) número de flores, (c y d) número de frutos, (e y f) peso de frutos en plantas de tomate. Los valores corresponden a la media (n = 14). Diferentes letras en las columnas indican diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) según prueba Tukey. ....	63

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Tratamientos del diseño experimental .....	47
Cuadro 2. Análisis químico proximal de <i>Ulva lactuca</i> .....	52
Cuadro 3. Análisis químico del extracto de <i>Ulva lactuca</i> .....	53
Cuadro 4. Niveles de colonización de <i>Rhizophagus intraradices</i> en plantas de tomate ( <i>Solanum lycopersicum</i> ).....	55
Cuadro 5. Efecto promotor de crecimiento en tejido aéreo de las plantas de tomate.....	60
Cuadro 6. Cantidad de fósforo en las plantas de tomate.....	64
Cuadro 7. Porcentaje de nitrógeno total en las plantas de tomate.....	65
Cuadro 8. Cantidad de carbohidratos totales en la parte foliar de las plantas de tomate.....	66

## RESUMEN

En los últimos años ha aumentado el interés por desarrollar productos y estrategias de manejo respetuosas con el medioambiente para mejorar el rendimiento y la calidad de los cultivos. Es por ello que el objetivo principal del estudio fue evaluar la respuesta en el desarrollo, composición nutrimental y micorrización de las plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en interacción con el hongo micorrícico arbuscular (*Rhizophagus intraradices* N.C. Schenck y G.S. Sm.) y el extracto de alga marina (*Ulva lactuca* L.). Se realizó un experimento en condiciones de invernadero en donde se evaluaron 8 tratamientos con diferente dosis de solución nutritiva (fósforo (P) bajo a 0.05 g·L y P alto a 0.23 g·L): Control = Plantas, RI = Plantas con hongo micorrícico arbuscular, EA = Plantas con extracto de alga (0.2 %) y RI + EA = Plantas con hongo micorrícico arbuscular y extracto de alga. A los tres meses de la siembra se cosecharon las plantas y se evaluaron parámetros de desarrollo (área de raíz y foliar, longitud de raíz y tallo, número de hojas y peso fresco, número de flores y frutos y peso de frutos), composición nutrimental (cantidad de fósforo, nitrógeno y carbohidratos totales) y porcentaje de micorrización. De acuerdo a los resultados se puede concluir que el tratamiento EA estimuló el desarrollo de estructuras fúngicas y la colonización de *R. intraradices* en las raíces de las plantas regadas con solución nutritiva a baja concentración de P y favoreció el desarrollo del fruto independientemente de la concentración de P. El tratamiento RI promovió el desarrollo de las raíces (longitud y área) en ambas concentraciones de P y el contenido de nitrógeno y carbohidratos totales en las plantas con solución nutritiva a baja concentración de P. El tratamiento RI + EA promovió el desarrollo de la raíz y el contenido de carbohidratos totales, en plantas con solución nutritiva a alta concentración de P.

## ABSTRACT

In recent years there has been an increasing interest in developing products and management strategies in order to improve the yield and quality of crops but in the same time protecting the environment. The main objective of the study was to evaluate the response in the development, nutritional composition and mycorrhization of tomato plants (*Solanum lycopersicum* L.) in interaction with the mycorrhizal fungus (*Rhizophagus intraradices* N.C. Schenck y G.S. Sm.) and seaweed extract (*Ulva lactuca* L.). An experiment was carried out in greenhouse conditions where 8 treatments with different doses of nutrient solution (phosphorus (P) low at 0.05 g·L and P high at 0.23 g·L) were evaluated: Control = Plants, RI = plants with arbuscular mycorrhizal fungus, EA = Plants with algae extract (0.2 %) and RI + EA = Plants with arbuscular mycorrhizal fungus and algae extract. Three months after planting the plants were harvested and development parameters were evaluated (root and leaf area, root and stem length, number of leaves and fresh weight, number of flowers and fruits and final weight of fruits), nutritional composition (quantity of phosphorus, nitrogen and total carbohydrates) and percentage of mycorrhization. According to the results, it can be concluded that the EA treatment stimulated the development of fungal structures and the colonization of *R. intraradices* in the roots of the irrigated plants with nutritive solution at low concentration of P and stimulated the development of the fruit independently of the concentration of P. The RI treatment promoted the development of roots (length and area) in both concentrations of P and the total nitrogen and carbohydrate content in the plants grown up with nutrient solution at a low concentration of P. The RI + EA treatment promoted the development of the root and total carbohydrate content, in plants watered with nutritive solution at high concentration of P.

## 1 INTRODUCCIÓN

Las últimas décadas han sido testigo de un gran crecimiento en el uso de bioestimulantes en la agricultura, por lo que su estudio se ha intensificado principalmente en la investigación para conseguir nuevos compuestos que puedan incrementar el rendimiento y la calidad de los cultivos (Calvo *et al.*, 2014).

Un bioestimulante vegetal se puede definir como cualquier sustancia o microorganismo aplicado a las plantas con la finalidad de mejorar la eficiencia nutricional, la tolerancia al estrés abiótico y/o los rasgos de calidad del cultivo, independientemente de su contenido de nutrientes. Los bioestimulantes pueden obtenerse de una gran diversidad de fuentes naturales, y se categorizan principalmente de la siguiente manera: ácidos húmicos y fúlvicos, hidrolizados de proteínas y otros compuestos que contienen N, extractos de algas marinas y botánicos, compuestos inorgánicos, hongos y bacterias benéficos (du Jardin, 2015).

Se ha demostrado que incluso en pequeñas cantidades los bioestimulantes influyen en varios procesos metabólicos, como respiración, fotosíntesis, síntesis de ácidos nucleicos y absorción de iones, así como en procesos de señalización reduciendo la respuesta negativa de la planta al estrés (Posmyk y Szafrńska, 2016). Debido a lo anterior, se considera que la aplicación de bioestimulantes en los cultivos permite mayores niveles de sostenibilidad mediante la reducción de aplicaciones excesivas de fertilizantes y su impacto en la contaminación ambiental (Halpern *et al.*, 2015).

La aplicación de extractos algales ha sido una interesante alternativa que se ha estudiado en los últimos años, debido a que las sustancias bioactivas extraídas se utilizan en cultivos agrícolas y hortícolas modernos como bioestimulantes, ya que contienen potentes propiedades que mejoran el crecimiento y rendimiento de las plantas a través de beneficios metabólicos, desencadenando vías de respuesta a enfermedades y aumentando la tolerancia al estrés (Castellanos-Barriga *et al.*, 2017; Arioli *et al.*, 2015). Se ha demostrado que incluso a bajas concentraciones los extractos de algas marina, son capaces de inducir una serie de respuestas fisiológicas a las plantas, tales como promoción del crecimiento, cambios en la floración y el rendimiento, así como en el incremento del contenido nutricional en los productos comestibles y su duración, asimismo, se ha demostrado que las aplicaciones de

diferentes tipos de extractos aumentan la tolerancia de las plantas a condiciones adversas de salinidad, sequía y temperaturas extremas (Battacharyya *et al.*, 2015).

Además, de todas las propiedades benéficas mencionadas, son un producto totalmente amigable con el medioambiente ya que reducen los impactos ambientales negativos. Por otra parte, debido a que las macroalgas marinas están disponibles en abundancia en las aguas templadas y tropicales de México, son un recurso local de bajo costo a lo largo de las áreas agrícolas costeras y representan un gran potencial para la eventual explotación comercial (Hernández-Herrera *et al.*, 2014 a, b).

Otra excelente estrategia de manejo que se ha estudiado son los hongos micorrícicos arbusculares (HMA), los cuales forman una simbiosis mutualista con las raíces de un alto porcentaje de plantas (Aguilera *et al.*, 2007; Buendía *et al.*, 2016). Los HMA estimulan positivamente el crecimiento de las plantas y proporcionan una mejor resistencia a las plagas y enfermedades transmitidas por el suelo, así como también al estrés abiótico, asimismo, contribuyen a mejorar el estado nutricional, generando incrementos en el rendimiento y en la eficiencia de la fertilización (Alfonso y Galán, 2006).

El establecimiento de la simbiosis entre HMA y plantas hospederas implica una secuencia de eventos de reconocimiento que conduce a las integraciones morfológicas y fisiológicas de los dos simbioses. No obstante, se habla de especificidad entre HMA y hospedante, debido a las respuestas del HMA a las condiciones edáficas del suelo, diferentes metabolismos de las plantas, arquitectura de raíces y estrategias ecológicas (Barrer, 2009). Es por ello que se ha reconocido que los HMA poseen una extraordinaria importancia ecológica y económica, debido a los beneficios que reportan a la mayoría de las plantas terrestres, además de sustentar los programas basados en la conservación medioambiental (Rodríguez-Yon *et al.*, 2004).

Sin embargo, se han realizado pocos estudios sobre los efectos de las algas marinas en conjunto con los HMA en el desarrollo de las plantas. Por lo tanto, el objetivo principal de este estudio es evaluar los efectos de los bioestimulantes extracto del alga *Ulva lactuca* L. y el hongo micorrícico arbuscular (*Rhizophagus intraradices* N.C. Schenck y G.S. Sm.) sobre la respuesta en el desarrollo, composición nutrimental y micorrización de las plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en condiciones de invernadero.



## **2 ANTECEDENTES**

### **2.1 Planta de tomate**

#### **2.1.1 Origen y distribución**

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) se originó en la región andina actualmente ocupada por Chile, Bolivia, Ecuador, Colombia y Perú hasta toda la América Tropical (Bai y Lindhout, 2007). El caso particular de México, generalmente se consideran como centros de domesticación del tomate las áreas de Veracruz y Puebla (Fornaris, 2007), en el sur de México el tomate es conocido también como jitomate, la palabra procede del náhuatl “*xictli*”, ombligo y “*tomatl*”, tomate, que significa tomate de ombligo. Después de la llegada de los españoles a México, empezaron a distribuir el tomate a lo largo de sus colonias en el Caribe y posterior a la conquista de Sudamérica, también lo llevaron a Filipinas y desde ahí entro al continente asiático (Pérez y Castro, 2011).

#### **2.1.2 Clasificación taxonómica**

De acuerdo con Peralta *et al.* (2005) el tomate pertenece a la Clase: *Dicotyledoneas*, Orden: *Solanales*, Familia: *Solanaceae*, Tribu: *Solaneae*, Género: *Solanum*, Especie: *Solanum lycopersicum* L. que incluye >3000 especies. La clasificación filogenética de las solanáceas ha sido revisada recientemente y el género *Lycopersicon* se ha reintegrado al género *Solanum* con su nueva nomenclatura, la sección de *Solanum lycopersicon* incluye el tomate cultivado (*S. lycopersicum*) que es la única especie domesticada y 12 parientes silvestres adicionales (Bai y Lindhout, 2007).

#### **2.1.3 Morfología**

El tomate es una planta dicotiledónea, herbácea y perenne (cultivada como anual) y se considera como una planta con metabolismo C3 (Argerich *et al.*, 2013). Las semillas en el tomate fisiológicamente maduro se encuentran rodeadas de un material gelatinoso que normalmente llena las celdas de la fruta (Fornaris, 2007) son de color ocre, de forma discoidal, tienen de 3 a 5 mm de diámetro y su superficie está cubierta por vellosidades y

pequeñas escamas (Estrada, 2010). La planta está compuesta tanto de un sistema foliar como radicular (Figura 1).

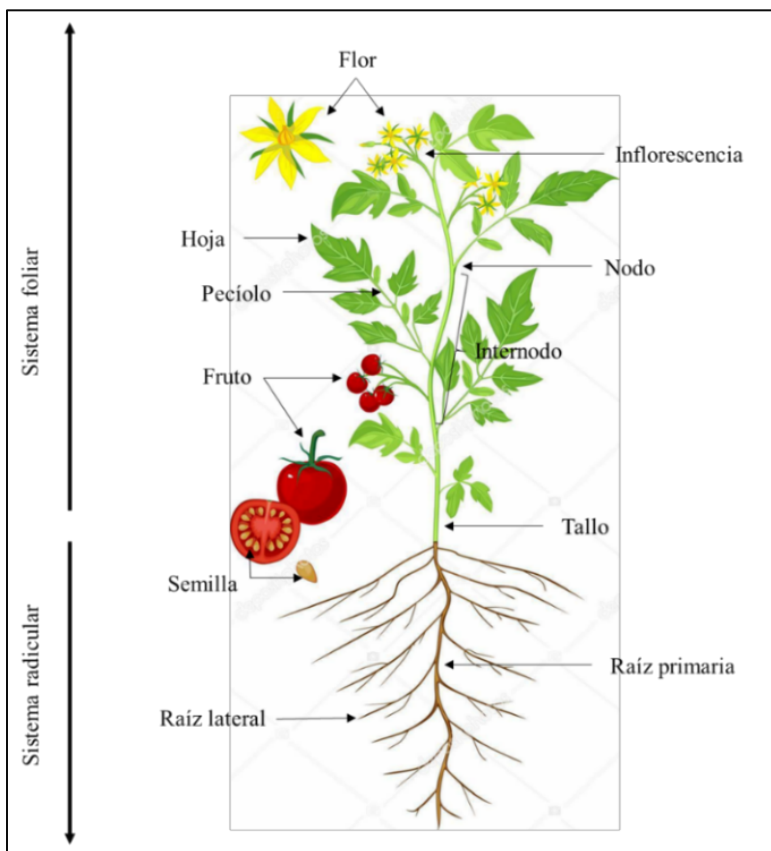


Figura 1. Morfología de la planta de tomate. Tomado de <http://www.depositphotos.com>

La planta forma un tallo principal y un sistema de ramificaciones laterales, en todas las variedades comerciales el tallo principal es erecto de los primeros 30 a 60 cm de desarrollo, después por simples razones de peso es decumbente (cae sobre el suelo). El tallo típico tiene de 2 a 4 cm de diámetro en la base y está cubierto por pelos glandulares y no glandulares que salen de la epidermis (Estrada, 2010). El desarrollo del tallo es variable en función de distintos cultivares, existiendo dos tipos fundamentales de crecimiento, determinado o definido, en donde el tallo principal detiene su crecimiento como consecuencia de la formación de una inflorescencia terminal (Argerich *et al.*, 2013), la producción se obtiene en un período relativamente corto, esta característica es muy importante porque permite concentrar la cosecha en un período determinado según sea la necesidad del mercado (Pérez *et al.*, 2013), y cultivares de crecimiento indeterminado o indefinido, que tienen la

particularidad de poseer siempre en su ápice un meristemo de crecimiento que produce un alargamiento continuo del tallo principal, normalmente aparece una inflorescencia cada tres hojas en forma indefinida (Argerich *et al.*, 2013), estos cultivares son ideales para establecer plantaciones en invernadero (Pérez *et al.*, 2013).

Las hojas son dentadas, y frecuentemente rizadas pero también pueden ser lisas (Fornaris, 2007), se disponen sobre los tallos alternadamente, son generalmente compuestas y pinnadas (Pavan *et al.*, 2009), constituidas generalmente de 7 a 9 foliolos lobulados o dentados, pudiendo aparecer en el raquis de la hoja pequeños foliolillos (cada uno de hasta 8 cm) (Argerich *et al.*, 2013). Cabe mencionar que tanto las hojas como el tallo están densamente cubiertos por pelos glandulares que excretan el olor característico del tomate (Pavan *et al.*, 2009).

La floración del tomate se produce en forma de racimos, simples o ramificados, siendo normal que en cada inflorescencia pueda haber entre 3 y 10 flores, las cuales son hermafroditas, regulares y péndulas, de polinización autógama (Argerich *et al.*, 2013). Tienen un diámetro de alrededor de 3 cm en plena floración, su cáliz verde y persistente está compuesto en la mayoría de los casos de seis lóbulos o segmentos lanceolados (sépalos), pubescentes en el lado externo, posee una corola amarilla en forma de estrella con seis pétalos, aunque en algunos cultivares las flores tienen cinco sépalos y cinco pétalos, usualmente la flor tiene seis estambres cuyas anteras amarillas están unidas para formar un tubo; rodeado por éstas se encuentra el pistilo, el pedicelo es corto y curvo hacia abajo, asumiendo una posición pendiente, a mitad del pedicelo se observa un engrosamiento que corresponde a una zona de abscisión, siendo común en esta especie el que un gran número de flores caigan prematuramente (Fornaris, 2007).

De acuerdo con Fornaris (2007) la fruta es botánicamente una baya carnosa, dividida en su interior en dos a 18 lóculos o celdas (5 a 10 celdas en los cultivares comerciales del tipo de fruta grande). Posee una forma redonda, más o menos globosa o piriforme, de color generalmente rojo en la maduración (aunque algunas variedades pueden presentar otras coloraciones), su diámetro puede variar de 1 a 15 cm (Argerich *et al.*, 2013). La fruta en estadios inmaduros presenta en su superficie una leve vellosidad que luego desaparece, puede ser lisa o lobulada y brillante al madurar (Fornaris, 2007).

El sistema de raíces es pivotante (Pérez y Castro, 2011), constituido por una raíz principal que puede alcanzar de 80 a 100 cm de profundidad, provista de una gran cantidad de ramificaciones secundarias y acompañado por un gran número de raíces adventicias surgidas desde la base de los tallos (Argerich *et al.*, 2013) y tiene como funciones la absorción y transporte de nutrientes, así como la sujeción y anclaje de la planta al suelo (Estrada, 2010).

#### **2.1.4 Etapas fenológicas del tomate**

La fenología del cultivo comprende las etapas que forman su ciclo de vida, por lo que dependiendo de cada una de ellas serán sus demandas nutricionales, necesidades hídricas, susceptibilidad o resistencia a insectos y enfermedades. En el cultivo del tomate, se observan 3 etapas de crecimiento durante su ciclo de vida (Figura 2). La etapa inicial comienza con la germinación de la semilla y se caracteriza por el rápido aumento en la materia seca, donde la planta invierte su energía en la síntesis de nuevos tejidos de absorción y para llevar a cabo fotosíntesis, dura aproximadamente 21 d. La etapa vegetativa se inicia después de la germinación y dura entre 25 a 30 d antes de la floración, la planta no forma estructuras reproductivas, en el caso del tomate, este crecimiento se extiende hasta formar 7 y 12 hojas verdaderas (según los cultivares, la temperatura y el fotoperíodo), en esto se requiere de mayores cantidades de nutrientes para satisfacer las necesidades de las hojas y ramas en crecimiento y expansión. El cambio de crecimiento vegetativo a reproductivo, se caracteriza por la aparición de órganos florales, por lo tanto, la etapa reproductiva se inicia a partir de la floración y tiene una duración de 30 d aproximadamente, una vez formadas las primeras hojas el ápice vegetativo cambia a reproductivo y se forma el primer racimo floral, finalmente la fructificación, dura entre 30 o 40 d, y se caracteriza porque el crecimiento de la planta se detiene y los frutos extraen los nutrientes necesarios para su crecimiento y maduración (Pérez *et al.*, 2013; Argerich *et al.*, 2013).

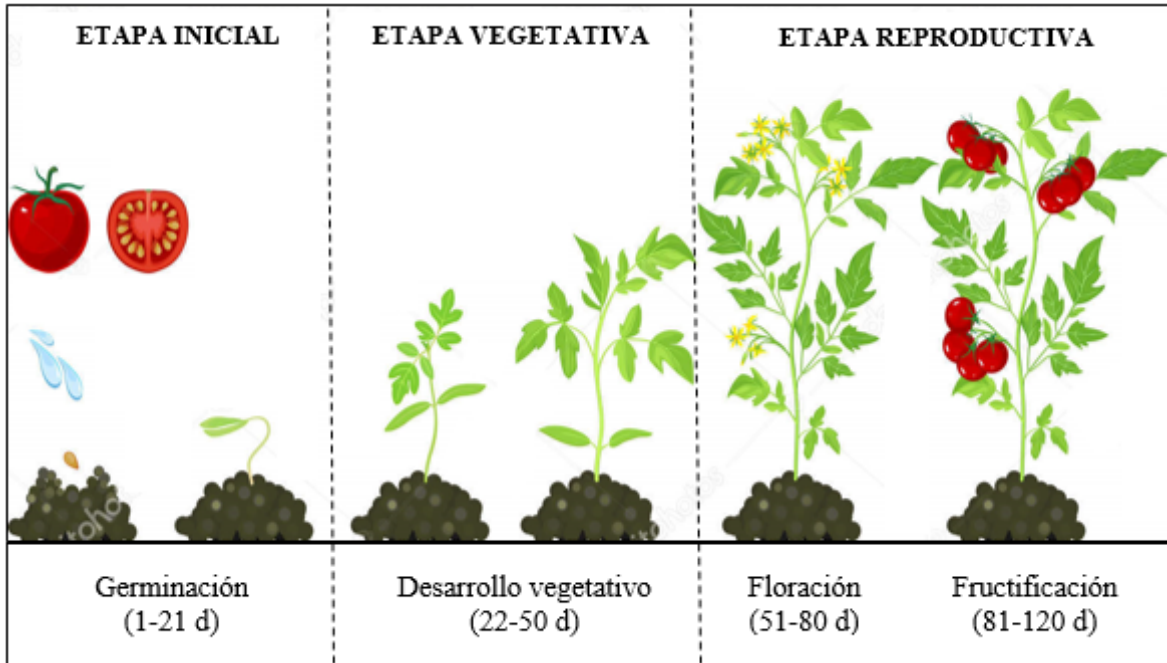


Figura 2. Fenología de la planta de tomate. Tomado de <http://www.depositphotos.com>

### 2.1.5 Importancia comercial

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es considerado el segundo cultivo de hortalizas de mayor importancia en muchos países del mundo, y se consume en grandes cantidades, debido a sus propiedades nutricionales, funcionales y saludables, así mismo su importancia agrícola radica en la adaptabilidad que posee para obtener elevadas producciones, ya que permite que se explote tanto en climas tropicales como en templados de diversas regiones de México (Santiago *et al.*, 1998; Jayathunge *et al.*, 2015).

Durante años, México ha sido el principal proveedor a nivel mundial de tomate, en el 2017 tuvo una participación en el mercado internacional de 25.11 % del valor de las exportaciones mundiales, y actualmente su producción interna satisface 100 % de los requerimientos nacionales; asimismo, la demanda de importaciones mundiales ha aumentado 39.41 % en la última década, lo que ha generado un incremento en las exportaciones mexicanas principalmente con destino a Estados Unidos. En el 2030, se estima un aumento en la demanda mundial de 8.92 a 11.78 millones de toneladas (MMt) (un crecimiento acumulado

de 32.10 %), mientras que la producción nacional de tomate tiende a incrementarse de 3.35 a 7.56 MMt, lo cual representa un crecimiento acumulado de 125.80 % (SAGARPA, 2017). De acuerdo con el dato más reciente (marzo de 2018) la producción acumulada de tomate rojo se incrementó 7 % con respecto a lo cosechado en marzo (2017), al obtenerse 3.2 MMt; dicho incremento equivale a 219 mil toneladas adicionales. La producción de esta hortaliza se concentra principalmente en cinco entidades federativas que generan 54 % del volumen nacional: Sinaloa (23 %), San Luis Potosí (11 %), Michoacán (8 %) y Jalisco (6 %) y Baja California que ha sido la entidad con la mayor caída (casi 34 %) en su producción. (SAGARPA y SIAP, 2018).

## **2.2 Alga marina (*Ulva lactuca* L.)**

### **2.2.1 Hábitat y distribución**

*U. lactuca* L. es el miembro más abundante de las Chlorophytas, es una macroalga cosmopolita presente en casi todos los mares del mundo (Figura 3), desde la zona intermareal a la submareal (Pacheco-Ruíz, 2002) y puede crecer en abundancia en costas rocosas, muros y muelles del mar, estuarios protegidos, drenajes poco profundos con menos de 2 cm de agua, estanques de 1-2 m de profundidad o sublitoral de hasta 20 m, pero también en grandes masas flotantes en lagunas y pozas salobres (Hoek *et al.*, 2002; Pettett, 2009). Se caracteriza por una alta resistencia y tolerancia a cambios drásticos en su entorno, son poco dependientes a la eutrofización e incluso resistentes a la contaminación, por lo tanto puede encontrarse en aguas dulces, salobres o saladas hasta sobre la nieve (Pedroche *et al.*, 2005). *U. lactuca* es común desde climas tropicales a polares, aunque las cepas muy probablemente varían entre las regiones (Bruhn *et al.*, 2011), crece bien en un rango de temperatura entre 10-25 °C (Breure, 2014) y tolera una amplia gama de salinidades (Orduña-Rojas y Longoria-Espinoza, 2006). Generalmente, presenta su crecimiento en invierno y alcanza su máxima biomasa a finales de primavera (mayo-junio) y decae en verano-otoño (Pacheco-Ruíz, 2002).

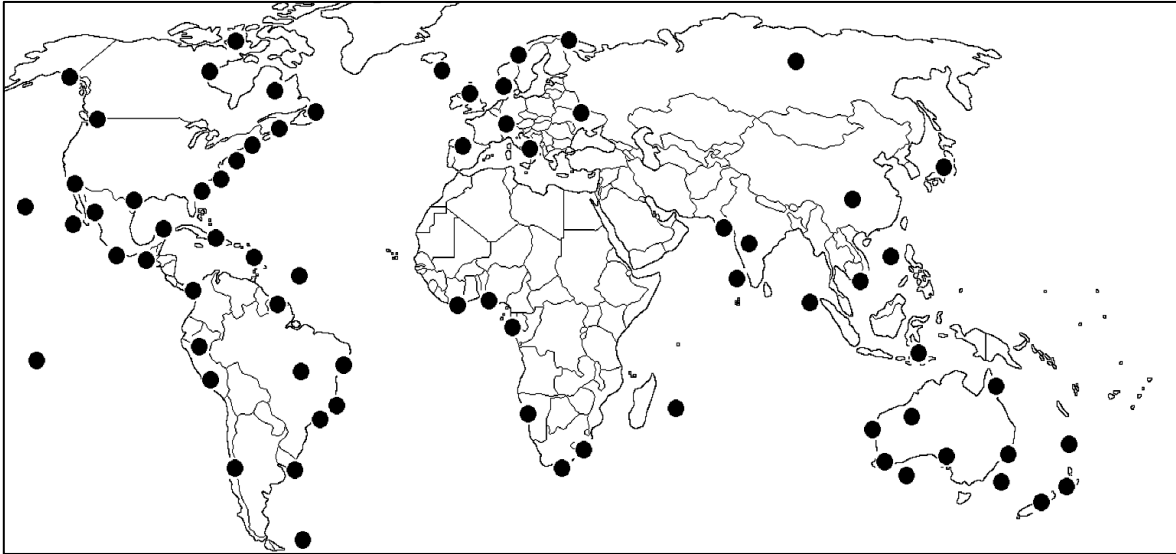


Figura 3. Distribución geográfica de *Ulva lactuca*. Tomado de <http://www.discoverlife.org>

### 2.2.2 Clasificación taxonómica

De acuerdo con López (2015) el alga marina *Ulva* pertenece al Reino: Plantae, Phylum: Chlorophyta, Clase: *Ulvophyceae*, Orden: *Ulvales*, Familia: *Ulvaceae*, Género: *Ulva* y Especie: *Ulva lactuca* (Linnaeus 1753).

### 2.2.3 Morfología

*Ulva lactuca* L. es conocida por el nombre común de lechuga de mar, por su parecido morfológico a la lechuga (El Ashry *et al.*, 2011). Según Ortiz (2011) se puede describir como un alga laminar (Figura 4), se caracteriza por presentar hojas de talos membranosos ampliamente expandidas lobadas o profundamente hendidas con o sin perforaciones de hasta 30 cm de largo, con márgenes ondulados de un grosor de entre 40 y 55  $\mu\text{m}$  en el borde de la lámina, en la parte media hasta 85  $\mu\text{m}$  y en la región basal entre 80 y 100  $\mu\text{m}$  (Norris, 2010). Presenta hojas anuales con crecimiento difuso-marginal de color verde claro a intenso, debido a que posee clorofila *a* y *b*, las cuales proporcionan su típica coloración (Cañedo, 2015). De acuerdo a Robertson-Andersson *et al.* (2008) la gama de colores de *U. lactuca* tiene relación con el contenido de nitrógeno, es decir cuanto más intenso es el color verde, mayor es el contenido de nitrógeno, no obstante, en ocasiones el talo puede poseer una tonalidad

amarillenta, lo que ocurre cuando hay nutrientes limitados, además también se blanquea cuando hay una exposición al aire durante largos períodos de tiempo (Pettett, 2009).

El talo en *U. lactuca* es discromático (dos células gruesas) con cada una de las células de forma cuadrangular a poligonal dispuestas irregularmente en pequeños campos circulares o cuadrangulares, con un solo cloroplasto laminar o en forma de copa principalmente en la cara exterior de la célula, que contiene de uno a tres pirenoides (Pettett, 2009; López, 2015). El talo crece a través de la división celular intercalar, en la cual las nuevas paredes celulares se colocan siempre en ángulos rectos con respecto al plano del talo (Hoek *et al.*, 2002). Asimismo, *U. lactuca* posee un disco basal (Hayden *et al.*, 2003) conocido como rizoide conformado con células rizoides (células basales multinucleadas) con el cual se fija al sustrato y puede tolerar lapsos largos de desecación (Boraso de Zaixso, 2004).

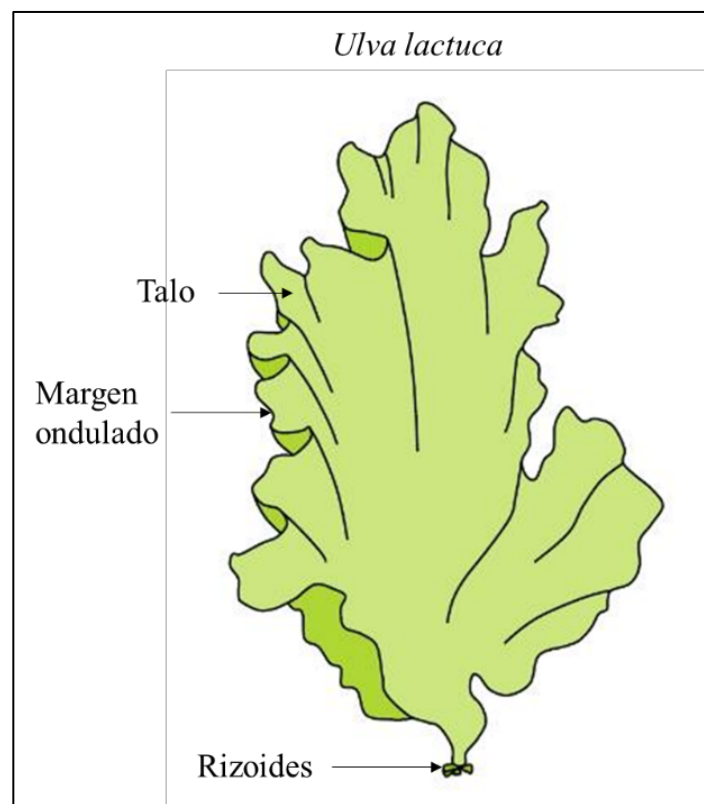


Figura 4. Morfología del alga marina *Ulva lactuca*. Tomado de [http://cronodon.com/BioTech/Algal\\_Bodies.html](http://cronodon.com/BioTech/Algal_Bodies.html)



#### 2.2.4 Etapas del ciclo de vida

El ciclo de vida de *Ulva lactuca* L. incluye una generación de gametofitos haploides y una generación de esporofitos diploides. Esta especie tiene un ciclo de vida isomorfo, diplohaplónico, con determinación del sexo haplogenotípico; es anisogamo (Figura 5).

En los talos haploides (gametofitos), se forman gametos biflagelados en las células marginales por división celular meiótica. La unión de los gametos solo puede ocurrir entre gametos masculinos y femeninos. Los gametos masculinos son ligeramente más pequeños que los femeninos y la fusión es anisógama. El cigoto diploide germina inmediatamente y esto se convierte en un esporofito diploide, que es morfológicamente similar al gametofito. Las células en las partes marginales de la lámina del esporofito se someten a meiosis y se dividen para producir una cantidad de cuadriflagelados, meiosporas haploides. La mitad de las meiosporas dan origen a gametofitos masculinos, mientras que la otra mitad se convierte en gametofitos femeninos. La determinación sexual haplogenotípica por lo tanto debe ocurrir durante la meiosis (Hoek *et al.*, 2002).

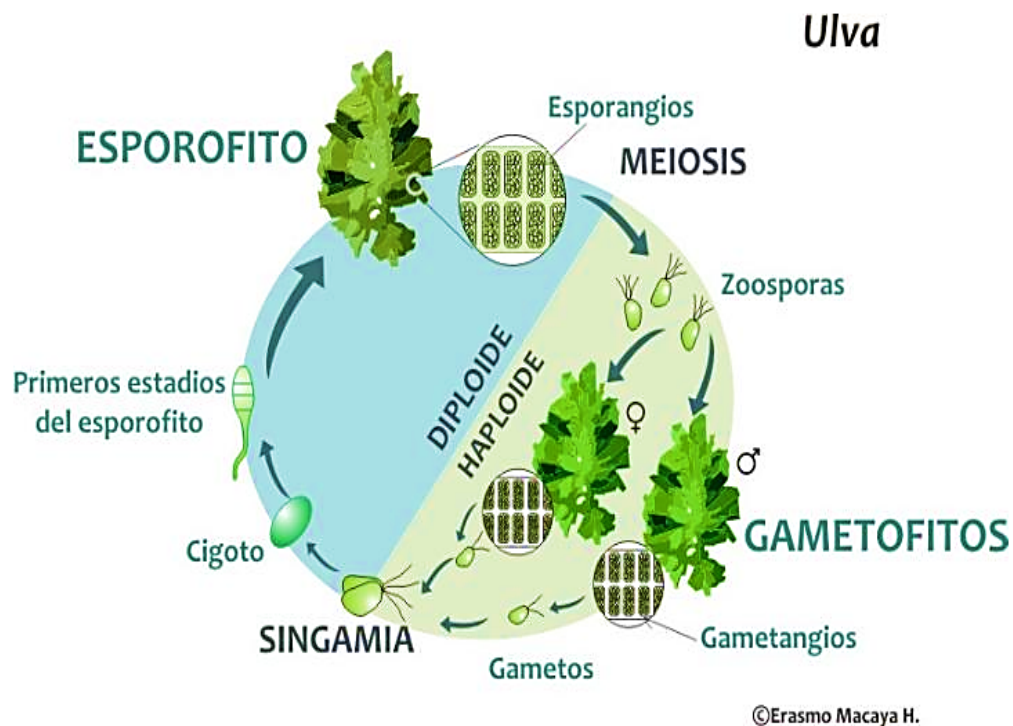


Figura 5. Ciclo de vida de *Ulva* sp., ejemplo de alternancia de generaciones isomórficas. Tomado de Macaya (2011).

### **2.2.5 Importancia comercial y aplicaciones.**

En los últimos años *Ulva lactuca* L. ha sido objeto de varias investigaciones, debido a que contiene componentes comercialmente valiosos susceptibles a ser explotados para aplicaciones tanto en el área de la industria alimenticia, farmacéutica, cosmetológica, energética, como en la agrícola (Dominguez y Loret, 2019).

#### **Alimenticia**

Las algas verdes han estado presentes en la dieta de los humanos desde la antigüedad, se consideran alimentos con una fuente alternativa rica en nutrimentos (Bocanegra *et al.*, 2009; Wong y Cheung, 2001). Al parecer, las algas marinas muestran una gran variación en la composición de nutrientes que está relacionada con varios parámetros ambientales y condiciones ecológicas como temperatura del agua, salinidad, luz, estación del año y área geográfica (Abudabos *et al.*, 2013), por lo que su composición bioquímica depende en gran medida de las condiciones de crecimiento y por lo tanto de la estación. De acuerdo con Bruhn *et al.* (2011) *U. lactuca* tiene un contenido total de sólidos (TS) entre 9.6 % y 20.4 %, proteínas 7 %, lípidos 0.3 % y un 62 % de carbohidratos, cabe destacar que con altas cargas externas de nitrógeno, el contenido de proteínas puede superar el 40 %. Su contenido equilibrado de Na, Fe y K es nutricionalmente beneficioso (Lordan *et al.*, 2011). Comer *U. lactuca* es seguro y es un valioso recurso, debido a que tiene un alto contenido de proteínas, fibras dietéticas solubles e insolubles, vitaminas, minerales, polisacáridos y clorofila, así como una proporción baja en grasa y calorías (Bocanegra *et al.*, 2009; Ortiz *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2018). Además, es una excelente fuente de aminoácidos esenciales, algunos de ellos, como la histidina, se encuentran en niveles comparables a los que se encuentran en las legumbres y los huevos (Lordan *et al.*, 2011). Todo esto en conjunto, hace que *U. lactuca* sea un excelente alimento equilibrado y nutricional de mayor calidad para el consumo humano, capaz de prevenir enfermedades de la sociedad moderna (Breure, 2014).

#### **Farmacéutica**

Se ha estudiado que *Ulva* posee polisacáridos y oligosacáridos, los cuales tienen actividades antivirales, antitumorales, anticoagulantes, anticuerpos antipeptidos, hepatoprotectores, inmunoestimulantes, antidepresivos y ansiolíticos (Cardoso *et al.*, 2014; Sari-

Chmayssem *et al.*, 2019), y se solicitan cada vez más para productos farmacéuticos. Además, *Ulva* contiene compuestos fenólicos, clorofila y carotenoides, que pueden considerarse como captadores de radicales libres activos (Cesário *et al.*, 2018). Se ha reportado que *Ulva lactuca* L. posee gran aporte de minerales en especial calcio el cual tiene relevancia en el tratamiento del control de la osteoporosis (Ortiz, 2011). Otros estudios *in vivo* demuestran que de *U. lactuca* se han obtenido derivados glucosilados de esteroides los cuales han evidenciado actividad anti-inflamatoria, así como también que es fuente de compuestos con actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Vibrio harveyi*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Candida albicans* (López, 2015). Además, Abd-Ellatef *et al.* (2017) estudiaron la actividad antitumoral de los polisacáridos aislados de *U. lactuca*, y demostraron que esta alga marina tiene un potente efecto antiproliferativo y citotóxico contra la línea celular de carcinoma de mama *in vitro*, asimismo tiene efectos quimiopreventivos potenciales contra el adenoma de mama inducido por hiperplasia *in vivo*. De igual manera, Mansori *et al.* (2016) usaron extractos acuosos de *Ulva* para la síntesis de nanopartículas de oro y plata, con lo cual observaron que tienen una excelente biocompatibilidad en células sanas y fueron altamente citotóxicos contra las líneas celulares de cáncer colorrectal.

### **Cosmetológica**

Los componentes bioactivos encontrados en las algas marinas son muy prospectivos para ser aplicados en cosméticos (Nurjanah *et al.*, 2016). Entre las diversas clases de componentes presentes en algas verdes como *Ulva lactuca* L., se encuentran: polisacáridos sulfatados, péptidos, carotenoides, ácidos grasos, fitohormonas, aminoácidos tipo micospolina, flavonoides, entre otros. Se ha demostrado que dichos compuestos son activos en el cuidado de la piel antienvjecimiento, el tratamiento anticelulítico y adelgazamiento, además de tener propiedades antioxidantes, fotoprotectoras, hidratantes y blanqueadoras (Bedoux *et al.*, 2014). El ulvano es el principal polisacárido presente en *U. lactuca*, y está abriendo camino para nuevas aplicaciones potenciales. El interés reciente por el ulvano surge de sus propiedades químicas, fisicoquímicas y biológicas únicas que están comenzando a describirse. En primer lugar, de acuerdo con Leiro *et al.* (2007) el ulvano presenta similitudes con los glicosaminoglicanos, como la condroitina y el sulfato de dermatán, ubicuos en el tejido de la piel. Además, al ser un polisacárido rico en restos de ramnosa, puede inducir la

proliferación celular y la biosíntesis de colágeno (Faury *et al.*, 2011). Por otro lado, según lo reportado por Bocanegra *et al.* (2009); Costa *et al.* (2010); Kuda y Ikemori (2009) tiene propiedades antioxidantes comprobadas y una alta capacidad de hidratación. De hecho, la presencia de ácido glucurónico dentro de la cadena del ulvano confiere propiedades hidratantes a este polisacárido, importante para proteger la piel y prevenir daños por exposición a ambientes secos (Kim *et al.*, 2008). Estas particularidades refuerzan el valor del ulvano para aplicaciones cosméticas.

### **Energética**

La valorización de la biomasa de *Ulva lactuca* L. para la producción de biocombustibles está llamando la atención sobre tres aspectos: la biorremediación para el ecosistema, una fuente de energía renovable y el ahorro económico (Chemodanov *et al.*, 2017). A nivel industrial, de acuerdo con Bruhn *et al.* (2011) *U. lactuca* es vista como una de las mejores fuentes de biomasa para producir biocombustibles, debido a su alto rendimiento potencial de aproximadamente 24 toneladas (peso seco) ha<sup>-1</sup> y<sup>-1</sup>. Además, la tasa de crecimiento y la productividad son altas en comparación con las de los cultivos terrestres, ya que su producción no requiere tierra cultivable y fertilizantes, puede crecer en solución salina y aguas residuales, así como también pueden resistir situaciones difíciles para sobrevivir bajo condiciones estresantes, tiene una mayor capacidad para secuestrar CO<sub>2</sub> atmosférico y una alta eficiencia fotosintética (Raikova *et al.*, 2017). Por su parte, la producción del bioetanol de tercera generación a partir de macroalgas marinas depende principalmente del desarrollo de un pretratamiento factible desde el punto de vista ecológico (es decir, hidrólisis), un paso de sacarificación altamente eficaz y, finalmente, un paso de fermentación de bioetanol eficiente. De acuerdo con Breure (2014), los polisacáridos en *U. lactuca* son fáciles de hidrolizar debido al bajo contenido de lignina, dando como resultado altas concentraciones de bioetanol por unidad de peso. De igual manera, *Ulva* podría ser una alternativa a los cultivos oleaginosos convencionales porque contienen aceite, adecuado para reacciones de esterificación / transesterificación para la producción de biodiesel (Saqib *et al.*, 2013; Soliman *et al.*, 2018).

## **Agrícola**

El interés en el uso de algas marinas aumentó en las últimas décadas, ya que han sido utilizadas como fertilizantes, fungicidas y herbicidas (Hamed *et al.*, 2018). En otras palabras, estudios recientes han demostrado que, los extractos de algas se utilizan ampliamente en cultivos hortícolas, principalmente por su efecto estimulante en el crecimiento de las plantas e incremento en la tolerancia de los cultivos al estrés abiótico (salinidad, temperaturas extremas, deficiencia de nutrientes y sequía), así como al estrés biótico (patógenos, parásitos y depredadores), debido a sus componentes químicos, que incluyen polisacáridos complejos, ácidos grasos, vitaminas, fitohormonas y nutrientes minerales (Battacharyya *et al.*, 2015).

No obstante, en la actualidad el efecto de *Ulva lactuca* L. como biofertilizante o bioestimulante aún no se ha investigado adecuadamente, sin embargo, existen algunas evidencias como las de Hernández-Herrera *et al.* (2014, 2016) donde se demostró que los extractos acuosos y enriquecidos con polisacáridos obtenidos de *U. lactuca* promovieron la germinación y estimularon el crecimiento de las plantas de tomate en comparación con los controles. Asimismo, el estudio de Castellanos-Barriga *et al.* (2017) demostró que el extracto de alga de *U. lactuca* a una concentración de 0.2 % mejoró significativamente las tasas de germinación de las semillas, la producción de peso fresco y seco de frijol mungo, así como concentración de clorofila, carbohidratos y contenido de proteína respecto a las plantas que se les aplicó el extracto.

## 2.3 Hongo micorrícico arbuscular (HMA)

### 2.3.1 Origen y hábitat

Las comunidades vegetales formadoras de suelo que colonizaron los ecosistemas terrestres durante el Paleozoico temprano (419 a 470 Ma) probablemente fueron similares a las costras fotoautotróficas biológicas del suelo moderno (algas, musgos y hepáticas), que forman simbiosis con hongos y cianobacterias (Martin *et al.*, 2017). Los HMA son organismos biótrofos obligados ya que para completar su ciclo de vida necesitan colonizar una planta hospedadora y establecer la simbiosis. Esta íntima asociación entre HMA y plantas terrestres tiene registros fósiles de más de 460 millones de años (Ma) (Redecker *et al.*, 2000). El origen de los HMA se remonta al Ordovicio, como sugieren tanto los registros fósiles, como los resultados de datación molecular. Es en este periodo de tiempo cuando se produce la colonización del medio terrestre por las plantas a partir de un medio acuoso. Por ello, se ha hipotetizado que los HMA tuvieron un papel determinante en esta transición, ayudando a los antecesores de las plantas actuales en la absorción de nutrientes de baja movilidad (ejemplo: fosfato) y agua. La historia evolutiva de los HMA es crucial para el entendimiento del origen monofilético o no de estos hongos (Schüßler, 2000; Schüßler *et al.*, 2001).

Los HMA predominan en agro-ecosistemas, pastizales, desiertos, bosques templados, caducifolios y lluviosos tropicales. Las plantas en las que se ha reportado esta asociación son briófitas (musgos y hepáticas), pteridofitas, gimnospermas y angiospermas, todas con raíces verdaderas (Neri-Luna y Villarreal-Ruiz, 2012; Read *et al.*, 2000).

### 2.3.2 Clasificación taxonómica de *Rhizophagus intraradices* N.C. Schenck y G.S. Sm.

Los HMA son uno de los grupos de hongos del suelo más importantes y se colocaron en el Phylum *Glomeromycota*, el cual, se divide en cuatro órdenes, once familias, veinticinco géneros y más de doscientas especies (Redecker *et al.*, 2013)

*R. intraradices* pertenece al Reino: Fungi, Phylum: Glomeromycota, Clase: *Glomeromycetes*, Orden: *Glomerales*, Familia: *Glomeraceae*, Género: *Rhizophagus* y Especie: *intraradices* (N.C. Schenck y G.S. Sm) (Souza, 2015) (Figura 6).

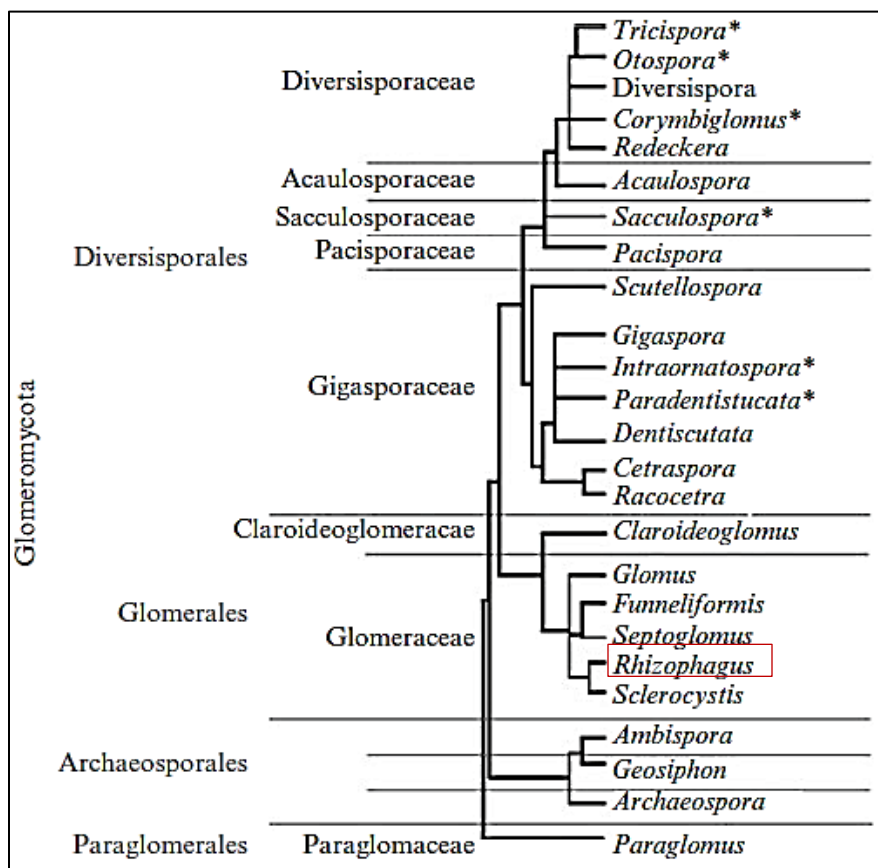


Figura 6. Taxonomía de los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) propuesta por Redecker *et al.* (2013) \*Evidencia insuficiente, pero ninguna acción formal tomada. Tomado de Souza (2015).

### 2.3.3 Morfología

La taxonomía e identificación que los HMA tienen tradicionalmente se basa en la morfología de sus grandes esporas multinucleadas (40 a 800  $\mu\text{m}$ ) (Redecker *et al.*, 2000), aunque actualmente se complementan con una serie de técnicas moleculares (Öpik *et al.*, 2013; Crossay *et al.*, 2017).

Algunos atributos distintivos de *Rhizophagus intraradices* N.C. Schenck y G.S. Sm. son hifas cenocíticas (Figura 7a), colonización intracelular en células corticales, formación de arbuscúlos (Figura 7b) y vesículas (Figura 7c), presencia de hifas extraradicales de forma cilíndrica a ligeramente acampanada, de 11-18  $\mu\text{m}$  (promedio = 15  $\mu\text{m}$ ) de ancho (Figura 7d). Las esporas son asexuales de color blanco, crema pálido a marrón amarillento, a veces con un tinte verde, aunque el color es muy variable, poseen una forma globosa, subglobosa,

irregular, con muchas esporas elípticas (especialmente las extraídas de raíces micorrizadas) y su tamaño va de 40-140  $\mu\text{m}$ , con un promedio de 93.3  $\mu\text{m}$  (n = 170) (Figura 7e).

La pared de las esporas está conformada por tres capas (L1, L2 y L3), con solo la primera capa presente en las esporas juveniles y la pared de hifas subyacente (por lo que son incoloros), L2 y L3 se forman secuencialmente en la pared de la espora y en la pared de la hifa subyacente, las dos capas externas son las únicas presentes en las primeras etapas de formación de esporas, y ambas se adelgazan o se degradan con la maduración de las esporas, las subcapas de L3 también pueden separarse a lo largo de la longitud de la hifa, aunque son menos numerosas. Durante la germinación un tubo germinal emerge del lumen de la hifa subyacente, parece surgir de la subcapa más interna de L3. Algunos especímenes muestran tubos germinales que surgen de extremos rotos de fragmentos de hifas a cierta distancia de la espora por el mismo mecanismo. Este comportamiento podría explicar la alta infectividad de fragmentos de hifas de hongos en esta especie (Figura 8).

De acuerdo con Gallaud (1905) existen dos tipos morfológicos de micorrizas arbusculares, basadas en las características de las interfaces simbióticas y difieren en estructuras fúngicas. Los cuales son tipo Arum, se caracteriza por la formación de hifas intercelulares entre los arbusculos intracelulares y dentro de las células corticales (Figura 9a) y tipo París, los hongos forman espirales de hifas intracelulares extensas y espirales arbusculares en la corteza de la raíz sin fase intercelular (Figura 9b). *R. intraradices* se caracteriza por poseer ambos (Aarle *et al.*, 2005; Dickson, 2004; Armstrong y Peterson, 2002), no obstante se cree que los dos tipos de colonización dependen completamente de la especie de la planta huésped (Brundrett y Kendrick, 1990). Sin embargo, se ha encontrado que las especies de hongos también pueden influir en el tipo de colonización (Cavagnaro *et al.*, 2001).

En la micorrización comúnmente se forman numerosas vesículas o esporas cerca de los puntos de entrada junto con la red de hifas y arbusculos. La colonización arbuscular parece alcanzar un pico más temprano que muchos otros hongos en *Rhizophagus*, con raíces más antiguas que a menudo contienen una extensa red de hifas (menos arbusculos) y numerosas esporas intraradicales, las cuales tienden a distribuirse en forma parche en algunas especies hospedadoras y se forman en grupos densos en otros hospedadores (International Culture Collection of (vesicular) Arbuscular Micorrhizal Fungi, 2019).



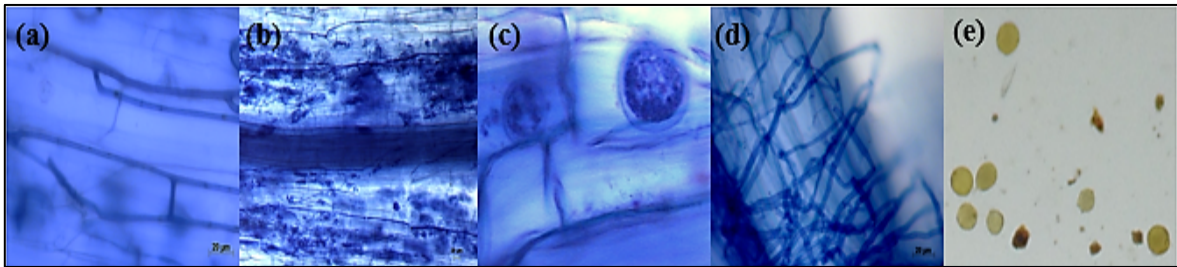


Figura 7. Estructuras morfológicas de *Rhizophagus intraradices*. (a) hifas cenocíticas intraradicales, (b) arbúsculos intracelulares, (c) vesículas, (d) hifas extraradicales, (e) esporas.

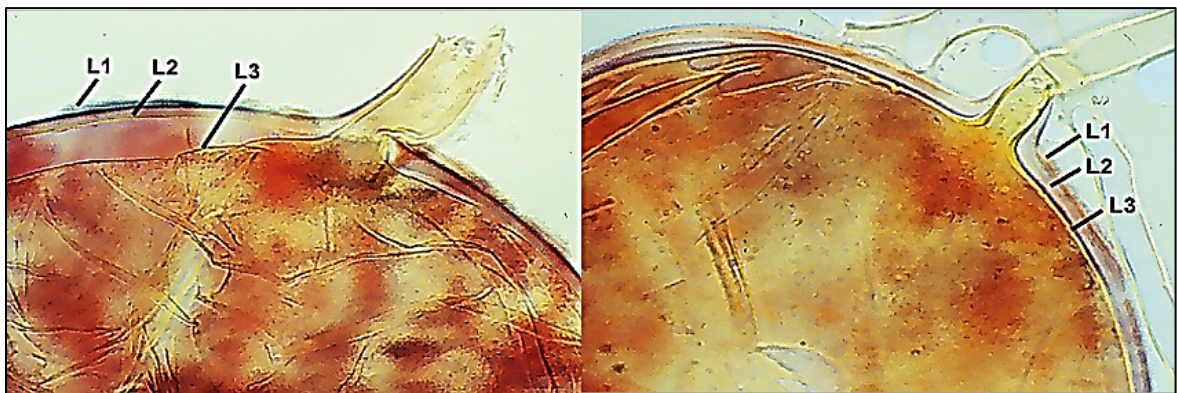


Figura 8. Capas (L1, L2 y L3) de la pared de las esporas en *Rhizophagus intraradices*. Tomado de International Culture Collection of (vesicular) Arbuscular Micorrhizal Fungi (2019).

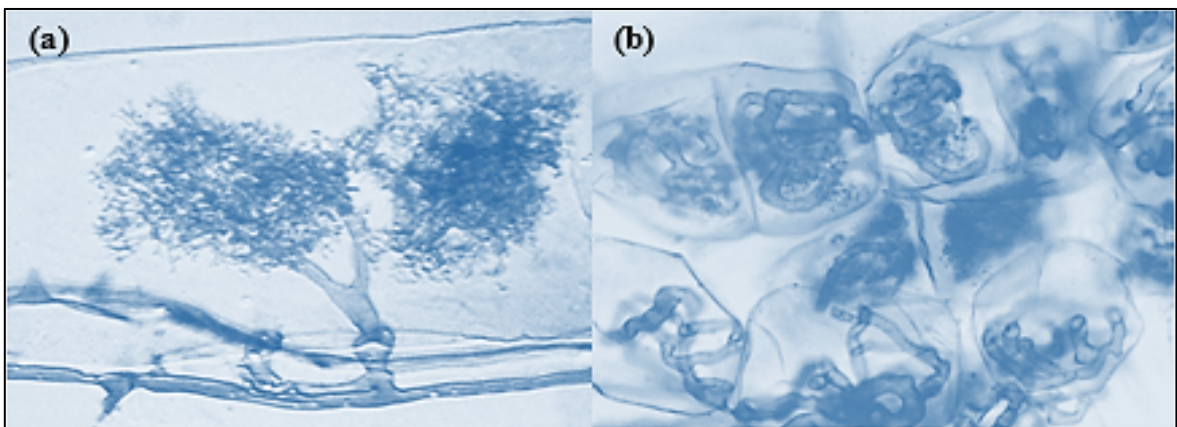


Figura 9. Tipos morfológicos de simbiosis en *Rhizophagus intraradices*. (a) colonización tipo Arum, (b) colonización tipo París. Tomado de Berbara *et al.* (2006).

#### 2.3.4 Ciclo de vida

La formación de la simbiosis micorrízica arbuscular es un complejo proceso caracterizado por distintos estadios del establecimiento entre el hongo y la planta donde de acuerdo con Barea *et al.* (2008); Aguilera *et al.* (2007) se distinguen las siguientes fases: (1) Germinación de la spora y ramificación de hifas, la cual se ve estimulada por la presencia de los exudados radicales, está influenciada por determinados microorganismos del suelo y fundamentalmente, por las condiciones fisico-químicas del suelo cuando la temperatura y humedad son favorables (Figura 10a); (2) formación del apresorio sobre las células epidérmicas, producto del aumento de la presión hidrostática en la zona apical de la hifa infectiva, a partir del cual se desarrollan ramificaciones infectivas cortas (Figura 10b); (3) penetración radical a través de los pelos radicales o de las células epidérmicas mediante presión ejercida por la hifa en crecimiento sobre la pared celular, lo cual hace que esta última se curve alrededor de la hifa y se vuelva mucho más delgada en las células corticales, esto ocurre por la combinación de procesos mecánicos y enzimáticos (Figura 10c); (4) crecimiento intercelular a partir de la hifa de penetración que se extiende entre las células de la epidermis hacia la corteza de la raíz, sin penetrar el sistema vascular ni los meristemos radicales (Figura 10d); (5) desarrollo del micelio extraradical en el suelo con la formación de las estructuras ramificadas de absorción, las que aumentan considerablemente la superficie de absorción de la planta y su capacidad para captar nutrientes y agua (Figura 10e); (6) formación de los arbusculos intracelularmente (sitio en donde se lleva a cabo el intercambio de nutrimentos entre ambos simbiosis), con el consiguiente aumento en la superficie de contacto entre el HMA y la planta, en este estadio, también se pueden formar vesículas (reservorios de carbono que presentan gran cantidad de lípidos) y células auxiliares, en dependencia de la especie fúngica (Figura 10f); (7) formación de esporas, cerrándose el ciclo de vida de los HMA (Figura 10g).

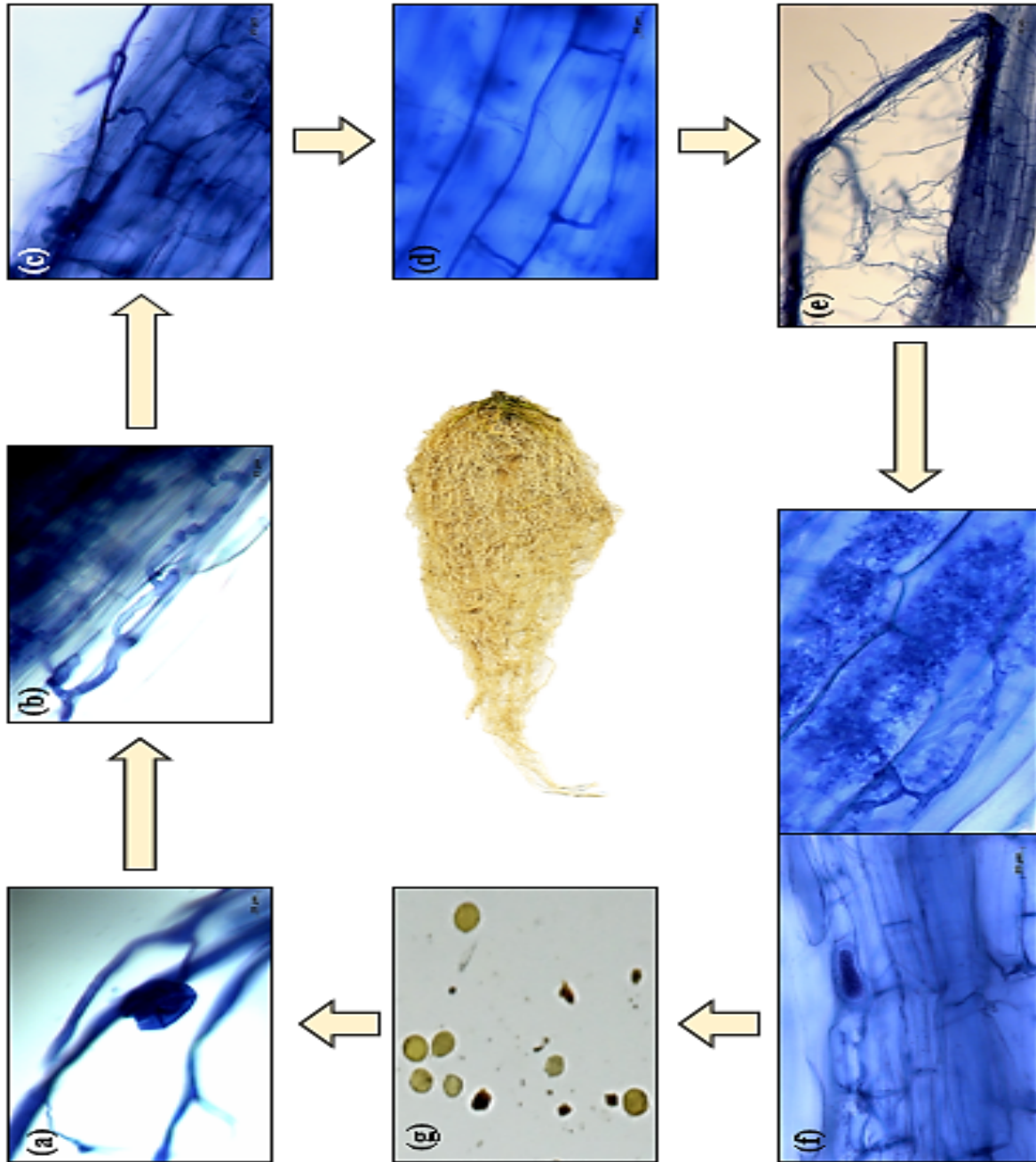


Figura 10. Secuencia de eventos morfológicos del hongo micorrícico arbuscular (*Rhizophagus intraradices*) para su establecimiento dentro de las raíces de tomate: (a) germinación de la espora y ramificación de hifas, (b) formación del apresorio sobre las células epidérmicas, (c) penetración a través de las células epidérmicas, (d) crecimiento intercelular a partir de la hifa de penetración, (e) desarrollo del micelio extraradical en el suelo, (f) formación de los arbúsculos y vesículas, (g) formación de esporas. Escala de medición 20  $\mu\text{m}$ .

### **2.3.5 Factores que influyen en el proceso y establecimiento de la simbiosis micorrícica**

Existen varios factores que afectan el establecimiento y funcionamiento de la simbiosis micorrícica ya sea a nivel de ecosistemas naturales o agroecosistemas, en los cuales, se ha demostrado que las características edafológicas (textura, pH, materia orgánica, humedad, niveles de nutrientes, organismos que habitan), condiciones climáticas (luz, temperatura, geografía), factores bióticos (interacción con otros organismos), entre otros, intervienen en la germinación de esporas, la colonización de las raíces y la eficiencia de los HMA (Khalil *et al.*, 1992). Por lo tanto, el conocimiento de los diferentes factores que influyen en la biología de la población de HMA es esencial en cualquier intento de usarlos en la conservación del medioambiente, biotecnología o en la agricultura sostenible.

Los factores edafológicos son importantes causando variación en la colonización del HMA y la población de esporas. Hay evidencia que soporta la hipótesis de que las propiedades del suelo ejercen una gran influencia en los HMA. Por ejemplo, Posada *et al.* (2008) encontraron una mayor cantidad de esporas de HMA en los sitios de mayor fertilidad, de modo que 9 de las 11 propiedades que definen la fertilidad del suelo se relacionaron de manera directa y significativa con esta variable. Por su parte, Oehl *et al.* (2010) observaron que la diversidad y composición de la comunidad de HMA dependió fuertemente del tipo de suelo y la intensidad de su uso. Según Jeffries y Barea (2012), los suelos compactados reducen la fertilidad del suelo y la distribución de las raíces de las plantas y de las hifas de los HMA en la rizósfera. Otros estudios, relacionan la ocurrencia y abundancia de determinadas especies de HMA con las características físicas y químicas del suelo, tales como textura, pH, y contenido de materia orgánica y nutrientes, particularmente con la disponibilidad de P (González-Cañizares, 2018); de este modo, las condiciones edáficas pueden ejercer una fuerte presión selectiva sobre los HMA, resultando en cambios en la composición de la comunidad de estos microorganismos (Mathimaran *et al.*, 2005).

La fertilidad del suelo también interviene en el proceso de formación y desarrollo de la simbiosis micorrícica (Diederichs y Moawad, 1993). Se ha demostrado que la colonización micorrícica arbuscular disminuye cuando los niveles de P se incrementan, sin embargo, cuando los niveles de P asimilable en el suelo son bajos, se favorece en la planta la síntesis

de la enzima fosfatasa, lo que permite el establecimiento y desarrollo del HMA (Mujica-Pérez, 2009). Las variaciones en la respuesta de la colonización de raíces y el número de esporas al P del suelo podrían atribuirse a una serie de factores como: a) especies de HMA que colonizan las raíces, ya que las especies y las cepas varían en su sensibilidad al P, b) la variada respuesta del crecimiento de la raíz del huésped a los niveles cambiantes de P, o c) cambios en la permeabilidad de la membrana celular a concentraciones variables de P celular, que afectan el grado de colonización y esporulación del HMA (Khanam *et al.*, 2006). Sorprendentemente, los últimos estudios parecen indicar que es el nivel de N y no el de P el que más influye en la distribución de las HMA (Fitzsimons *et al.*, 2008), se ha demostrado que existe una correlación negativa entre los niveles N mineral del suelo y la presencia de HMA en las raíces de plantas (Jumpponen *et al.*, 2005; Santos-González *et al.*, 2007), aunque este último autor también plantea la probabilidad de que bajo condiciones de una abundancia relativa de N, las raíces pudieran ser colonizadas predominantemente por especies de HMA con alguna preferencia por este elemento. En otro estudio, Sigüenza *et al.* (2006) encontraron que la aplicación excesiva de fertilizante nitrogenado, principalmente en suelos bien abastecidos de P, altera la colonización de las raíces por los HMA, decrece el desarrollo de las hifas extramatriciales, modifica el funcionamiento de la relación simbiote-hospedero y cambia la composición de las comunidades de HMA, pudiendo prevalecer especies con una capacidad inferior o menos eficientes para promover el crecimiento de las plantas. Además, de acuerdo con Bradley *et al.* (2006) los cambios de pH inducidos por las aplicaciones de altas dosis de N durante períodos prolongados de tiempo también pueden contribuir a modificar las poblaciones y comunidades de HMA.

La cantidad de agua del suelo tiene una influencia variada en la colonización por los HMA y el número de esporas. En general, la humedad óptima para el crecimiento de las plantas, también es adecuada para la colonización y esporulación los HMA (Khanam *et al.*, 2006). Los HMA se caracterizan por favorecerla absorción de agua por las plantas en condiciones fluctuantes de humedad del suelo (Sylvia *et al.*, 1993), sin embargo, la información sobre los efectos de la humedad del suelo sobre la micorrización y la abundancia de esporas es muy limitada. De acuerdo con un estudio de Allen y Allen (1984) la humedad del suelo se correlacionó positivamente con la colonización por HMA y la abundancia de esporas.

Por otro lado, Hayman y Tavares (1985) reportaron que la variación en el pH del suelo puede afectar el desarrollo y el funcionamiento de los HMA al alterar la concentración de muchos nutrientes e iones tóxicos en una solución del suelo, así como los iones de hidrógeno. Otros trabajos demuestran que con valores extremos de pH y bajos niveles de oxígeno en el suelo, el desarrollo los HMA se inhibe (Mujica-Pérez, 2009).

De acuerdo con Linderman (1992), las poblaciones e interacciones de los microorganismos rizosféricos pueden afectar positiva o negativamente la estructura y diversidad de comunidades de HMA. Las bacterias fijadoras de N de la micorrizósfera tienen el potencial de influir en los HMA (Johansson *et al.*, 2004), actualmente existen muchos estudios que demuestran que estas bacterias promueven el establecimiento de los HMA a través de una mejor y mayor germinación de esporas (El Gamal *et al.*, 2009; Aguirre-Medina *et al.*, 2011; Suhail, 2013 b). Por el contrario, otros estudios que utilizan pasteurización, fumigación o esterilización de suelos han demostrado que la presencia de algunas bacterias también puede inhibir la germinación de esporas o la esporulación de HMA (Tommerup, 1985; Wilson *et al.*, 1988; Xavier y Germida, 2003).

Las diferentes condiciones climáticas y geográficas dan lugar a dominancia de diferentes tipos de HM en cada bioma, por ejemplo en suelos de bajas latitudes con altas tasas de mineralización y presencia de herbáceas y plantas leñosas predominan los HMA (Martínez y Pugnaire, 2009). Öpik *et al.* (2006) observaron que las comunidades de HMA difieren entre ecosistemas y que la diversidad de taxones disminuye del bosque tropical al pastizal, al bosque templado y a los ecosistemas degradados. Estos datos a gran escala sirven para conocer su distribución a nivel global. Mandyam y Jumpponen (2008); Saito y Sugawara (2010), demostraron la existencia de una marcada estacionalidad, tanto en la actividad de la simbiosis como en la presencia de propágulos infectivos del hongo, cuyos niveles de colonización y presencia de arbusculos, vesículas o esporas, alcanzaron sus máximos valores en el verano, como consecuencia de la mayor actividad metabólica de la planta y humedad del suelo. Los estudios de Johnson *et al.* (2003) realizados en un amplio rango de ecosistemas de pastizales, indicaron que la distribución de las estructuras micorrícicas es dinámica a través del tiempo y puede incrementar o decrecer en respuesta a las variaciones estacionales de las precipitaciones, temperatura y radiación solar, además advierten la necesidad de tomar

precauciones a la hora de extrapolar los estudios de las variables micorrícicas en cultivos de ciclo largo basados en una simple fecha de muestreo.

En condiciones de campo, la luz juega un papel decisivo en el desarrollo de las micorrizas. Esta relación entre la radiación solar y los niveles de colonización se explica a partir del incremento de la tasa fotosintética en presencia de una adecuada radiación fotosintéticamente activa (PAR, por sus siglas en inglés), lo que implica una mayor producción e intercambio de fotoasimilados y mayor posibilidad de mantener un simbiote con altos valores de colonización (Mujica-Pérez, 2009).

Según estudios realizados por Harley y Smith (1983) la temperatura tiene una relación directamente proporcional con el porcentaje de colonización micorrícica y establecieron tres rangos que explican el funcionamiento óptimo de la simbiosis: hasta 30°C se incrementa, de 31-39°C decrece y con temperaturas de 40°C se inhibe por completo, así como la germinación de las esporas y el desarrollo de otros propágulos.

A nivel de agroecosistemas, los impactos humanos, como el cambio de las prácticas de gestión agrícola, erosión, alteración del suelo, minería, labranza, así como el cambio de las propiedades químicas y físicas del suelo, conducen a una reducción de la diversidad de la comunidad de HMA en el suelo (Fuchs y Haselwandter, 2008).

Oehl *et al.* (2004) demostraron que el uso intensivo de prácticas agrícolas entre ellas la labranza pesada, conduce a una reducción de la diversidad de HMA en sitios agrícolas en comparación con los campos tratados con menos intensidad, en donde se observa una capa superior del suelo con mayor diversidad. Según lo reportado por Jeffries y Barea (2012) la intensidad del pastoreo producido por animales herbívoros, es otro factor que afecta el funcionamiento de los HMA. Ellos encontraron que tres especies de pastos, sometidas a defoliaciones, respondieron diferente con respecto a los cambios en la dinámica de micorrización. Por ejemplo, en *Digitaria* y *Lolium* la colonización disminuyó, pero la cantidad de hifas en el suelo no fue afectada, en cambio, en *Themeda*, quien es susceptible al pastoreo, no hubo cantidades de hifas en el suelo después de la defoliación. Helgason *et al.* (2002) compararon la diversidad de especies de HMA presentes en bosques y suelos agrícolas, su estudio reveló que la diversidad de especies de HMA en el sitio agrícola es mucho menor que en el suelo forestal. Un trabajo similar realizaron Jha *et al.* (1992), quienes evaluaron suelos forestales degradados y encontraron una población de HMA

significativamente menor que en los hábitats forestales menos perturbados, concluyendo que la alteración del suelo y la vegetación afecta negativamente a la población microbiana, incluidas las esporas de HMA.

Otro factor importante que afecta el desarrollo de los HMA en el suelo deriva del impacto de elementos tóxicos. La perturbación de las comunidades del suelo, así como los cambios en los parámetros químicos y físicos pueden considerarse como las principales razones de los cambios en la composición y diversidad de HMA (Fuchs y Haselwandter, 2008). Algunos investigadores han observado que los fertilizantes químicos excesivos tienen efectos adversos sobre la colonización y población de esporas (Khanam *et al.*, 2006). En un suelo contaminado que albergaba restos de residuos químicos industriales, Vallino *et al.* (2006) encontraron una diversidad muy baja de HMA en las raíces. De igual manera, Johnson *et al.* (2003) realizaron un estudio en agroecosistemas de pastizales, donde observaron que la disponibilidad de nutrientes en el suelo controlaba el crecimiento de las estructuras intra y extrarradicales. Por lo que, la distribución de arbusculos e hifas extrarradicales disminuía significativamente cuando los pastos habían sido suficientemente fertilizados, ya que la entrega de tales recursos a la planta hospedera a través de los HMA perdía importancia.

Por otro lado, se ha observado que los fertilizantes orgánicos y materia orgánica generalmente incrementan la formación de estructuras micorrícicas arbusculares (Muthukumar y Udaiyan, 2002; da Silva *et al.*, 2008), ya que influyen sobre la estructura, pH, cantidad de nutrientes y retención de humedad en el suelo, lo que actúa directa o indirectamente sobre la eficiencia y el desarrollo de los HMA (Jeffries y Barea, 2012), debido a la presencia de ciertos compuestos orgánicos y a la propia mineralización de la materia orgánica (Gryndler *et al.*, 2009). Los beneficios de las enmiendas orgánicas en las poblaciones de HMA también se atribuyen a su efecto en las propiedades físicas del suelo, cuya mejora incrementa la actividad microbiana e influye positivamente en la distribución de los nutrientes (Gosling *et al.*, 2006; Alguacil *et al.*, 2009).

Debido a la agricultura intensiva, los roles naturales de los organismos micorrizosféricos han sido marginados, ya que las comunidades microbianas en los sistemas agrícolas



convencionales se han modificado debido a la labranza intensiva (Mcgonigle y Miller, 1996; Sturz *et al.*, 1997) y a los altos aportes de fertilizantes inorgánicos, herbicidas y pesticidas (Gianinazzi *et al.*, 2003), es por ello que la diversidad de los HMA en estos sistemas se ha reducido (Mäder *et al.*, 2002).

Por último, de acuerdo a Bingham y Biondini (2009) el establecimiento de pastizales también modifica las comunidades de HMA, así como su abundancia y efectividad. Debido a que la reducción de la diversidad de especies vegetales que ocurre cuando se establece una especie de pasto en monocultivo, puede disminuir significativamente la diversidad de especies de HMA, llegando a prevalecer aquellas que mejor se adaptan a la nueva condición, pero no necesariamente las más eficientes para producir un funcionamiento micorrízico adecuado.

### **2.3.6 Importancia y aplicaciones**

La importancia de los HMA ha aumentado en la última década debido a que son un componente esencial en los ecosistemas terrestres naturales y transformados del planeta, por lo tanto, se consideran un recurso natural involucrado en numerosos servicios ecosistémicos, entre los que destacan la biofertilización (incremento en la absorción de nutrientes, desarrollo y crecimiento vegetal), bioprotección (tensiones ambientales, toxicidad de metales pesados, estrés hídrico y protección contra patógenos y enfermedades) y estabilización del suelo (compactación y estructura) (Aguilera *et al.*, 2007; Neri-Luna y Villareal- Ruíz, 2012; Fayuan, 2017).

#### **Biofertilización**

Hoy en día, se sabe que los HMA pueden mejorar el estado nutricional especialmente a través de la adquisición de P y el crecimiento de las plantas hospedadoras. Aguirre-Medina *et al.* (2017) estudiaron el impacto de la interacción de *Rhizophagus intraradices* N.C. Schenck y G.S. Sm. con la fertilización empleando diferentes dosis de P en el rendimiento de *Phaseolus vulgaris*. Los resultados probaron que la inoculación de plantas con *R. intraradices* promovió un mejor vigor, crecimiento y rendimiento del grano. En particular, el rendimiento del grano

inoculado con el HMA presentó valores similares a los obtenidos con una fertilización inorgánica de  $40 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$  de  $\text{P}_2\text{O}_5$ , lo que indicó que la fertilización inorgánica puede ser completamente sustituida por *R. intraradices*. Asimismo, Sokolski *et al.* (2011) aislaron cuatro genes transportadores de fosfato (TP) de las hifas de HMA e identificaron genes TP de 25 cepas de 10 especies de *Glomus*, lo cual indica que es probable que los genes TP ocurran ampliamente en los HMA y probablemente, los genes TP en tejidos vegetales también están regulados por dichos hongos. De acuerdo a Fayuan (2017) y Smith *et al.* (2003) los mecanismos directos e indirectos subyacentes a la mejora de P en tejidos vegetales por los HMA se resumen de la siguiente manera: (1) Las hifas extraradicales del HMA pueden absorber P directamente y translocarlo más rápidamente a estructuras del mismo hongo dentro de las raíces; (2) Los HMA tiene una alta afinidad hacia el P, y su transporte es mucho más rápido en hifas que en raíces; (3) Las hifas de los HMA son mucho más delgadas que los pelos radicales y pueden absorber P desde fuera de la zona de agotamiento de P donde las raíces no pueden alcanzar, y al mismo tiempo, tienen un área de superficie relativamente más grande, por lo tanto, expanden el área de absorción total de la raíz del huésped; (4) Puede adquirir P del suelo compactado; (5) Los HMA secretan ácidos orgánicos que ayuda a activar P poco soluble; (6) también secretan fosfatasa que hidroliza las fuentes orgánicas de P en formas disponibles; (7) Pueden regular los genes de transporte de P en plantas y en sí mismos en condiciones deficientes de P; (8) Estimulan las rizobacterias que promueven el crecimiento de las plantas, especialmente, otros microorganismos relacionados con el ciclo del P. En otro estudio, Nzanza *et al.* (2011) investigaron la interacción del hongo promotor del crecimiento vegetal (*Trichoderma harzianum*) y los HMA en el crecimiento y desarrollo de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cultivadas en condiciones de invernadero. Los resultados demostraron que las plantas tratadas con *T. harzianum* y / o HMA mejoraron la longitud del brote y raíz, la biomasa seca del brote y raíz, por lo que tienen el potencial de mejorar el crecimiento y desarrollo de las plántulas de tomate. Por último, Padmavathi *et al.* (2015) evaluaron el efecto de *Rhizophagus* spp. y *Acinetobacter junii* en la promoción de crecimiento de plantas de *S. lycopersicum* y *Capsicum annum*. Los resultados demostraron que la inoculación doble promovió el crecimiento de las plantas, ya que hubo un aumento en el rendimiento del fruto ( $1.98 \text{ kg planta}^{-1}$ ) y biomasa ( $30.36 \text{ g de tomate}$ ;  $10.67 \text{ g de pimiento}$ ), acumulación de fosfato en los brotes ( $2.06 \text{ mg mL}^{-1}$  tomate;  $2.26 \text{ mg mL}^{-1}$  pimiento), tuvieron

93 % de colonización de la raíz, número de esporas (238 tomate, 242 pimiento) y glomalina (16.75 mg mL<sup>-1</sup> tomate; 18.09 mg mL<sup>-1</sup> pimiento) en ambas plantas.

### **Bioprotección**

Se ha demostrado que los HMA mejoran la resistencia de las plantas al estrés abiótico y biótico.

El estrés hídrico (salinidad y sequía) puede producir estrés osmótico y limitar a las plantas para absorber agua. Los HMA pueden ajustar el potencial osmótico de las plantas asociadas a ellos a través de la mayor acumulación de productos orgánicos (por ejemplo: prolina, glicina betaína, carbohidratos como sacarosa y manitol e iones no orgánicos como K y Cl), por lo que ayuda a las plantas hospedantes a crecer mejor bajo deficiencia hídrica (Porcel *et al.*, 2012). En un estudio realizado por Hajiboland *et al.* (2010) se investigaron los mecanismos subyacentes al alivio del estrés salino por la micorrización, en plantas de *Solanum lycopersicum* L. con diferente tolerancia a la salinidad, los resultados indicaron que la micorrización alivió la reducción salina de la absorción de P, Ca y K y mejoró las relaciones Ca / Na y K / Na en las plantas, así como también las tasas netas de asimilación de nutrientes al elevar la conductancia estomática y proteger los procesos fotoquímicos de PSII contra la salinidad. Estos autores argumentaron que las diferencias de las plantas en las respuestas de crecimiento a la salinidad y la micorrización podrían deberse por las diferencias en el equilibrio iónico, fotoquímica y el intercambio de gases de las hojas. Al parecer la función de las defensas antioxidantes puede ser responsable de la diferente capacidad de respuesta al HMA de los cultivares bajo salinidad, con lo cual concluyeron que los HMA puede proteger a las plantas contra el estrés oxidativo producido por la sal. En otro estudio relacionado con estrés hídrico Li *et al.* (2014) investigaron la importancia relativa de la micorrización de *Rhizophagus intraradices* y los pelos radiculares en las relaciones hídricas de plantas de cebada en condiciones óptimas de agua o de sequía. Los resultados experimentales indicaron que hubo un aumento significativo en la concentración de P, potencial hídrico de las hojas, tasa fotosintética, tasa de transpiración, conductancia estomática y eficiencia del uso del agua, por lo que se cree que el HMA casi podría compensar la ausencia de pelos radiculares en condiciones de estrés por sequía.

Hoy en día, los ecosistemas han sido contaminados con metales pesados debido a diversas actividades humanas y naturales (Gaur y Adholeya, 2004), las cuales generalmente conducen a la pérdida de la capa superior del suelo y vegetación, a la disminución de la biodiversidad del suelo y producen entornos extremadamente hostiles, incluidos suelos muy infértiles, con grandes cantidades de desechos y altas concentraciones de contaminantes, que a su vez limitan la revegetación natural y la restauración del suelo, es por ello, que se han llevado a cabo experimentos de invernadero y campo (*in situ*) en donde se ha implementado el uso de especies de HMA en suelos destruidos o contaminados. La mayor parte de estos trabajos confirman que los HMA benefician la supervivencia, crecimiento y nutrición de las plantas y mejoran la estructura del suelo y por lo tanto, el restablecimiento de la vegetación (Fayuan, 2017). Debido a lo anterior, los HMA constituyen un componente funcional importante del sistema suelo-planta que es crítico para la productividad sostenible en suelos degradados, ya que juegan un papel vital en la tolerancia y acumulación de metales (Gaur y Adholeya, 2004), el micelio externo de los HMA proporciona una zona más amplia de volumen del suelo al extenderse más allá de la zona de exploración de raíces, proporcionando así acceso a una mayor cantidad de metales pesados presentes en la rizosfera (Del Val *et al.*, 1999). Otra característica importante de esta simbiosis es que los HMA pueden favorecer el establecimiento y crecimiento de las plantas a pesar de los altos niveles de metales pesados del suelo, debido a una mejor nutrición, disponibilidad de agua y propiedades de agregación del suelo asociadas con la simbiosis micorrícica (Kabir y Koide, 2000; Rillig y Steinberg, 2002). Spagnoletti y Lavado (2015) investigaron los efectos de *R. intraradices* en plantas de soja cultivadas en suelos contaminados con arsénico (As), los resultados indicaron que la inoculación con este HMA mejoró tanto los parámetros morfológicos de las plantas, como la colonización micorrícica y disminuyó la acumulación de As en las plantas (de 7.8 mg As kg<sup>-1</sup> a 6.0 mg As kg<sup>-1</sup>), por lo que la inoculación del HMA mostró potencial para reducir la toxicidad de As en áreas contaminadas, a través de un efecto de dilución, menor toma de As por las raíces y mejor tolerancia de la soya a este elemento.

Por otra parte, la mayor resistencia de las plantas micorrícicas contra los patógenos de las raíces, proporciona una bioprotección como un servicio ecosistémico dentro de la agricultura sostenible, ya que puede ser activa contra un amplio espectro de patógenos y podría complementar la resistencia cuantitativa innovadora de alelos múltiples obtenida por el

fitomejoramiento (Gianinazzi *et al.*, 2010). Diversos trabajos han demostrado el efecto benéfico de los HMA en el aumento de la tolerancia de las plantas al estrés biótico causado por los patógenos del suelo que interactúan con muchas especies de plantas. Lo anterior, se ha demostrado para una serie de hongos patógenos u Oomycetes como *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Verticillium*, *Thielaviopsis*, *Aphanomyces*, *Phytophthora* y *Pythium*, así como también para nemátodos de los géneros *Heterodera*, *Meloidogyne*, *Pratylenchus* y *Radopholus* (Harrier y Watson, 2004; Whipps, 2004). Datnoff *et al.* (1995); Akköprü y Demir (2005); Fierro-Coronado *et al.* (2013) realizaron estudios muy similares en donde evaluaron la capacidad bioprotectora de *R. intraradices* contra el hongo patógeno *Fusarium oxysporum* en plantas de tomate. Los resultados mostraron que el índice de pudrición por *Fusarium* fue menor y se redujo la gravedad de la enfermedad entre 8.6-58.6 % en las plantas micorrizadas en comparación con las plantas no colonizadas, así como también se registraron aumentos significativos en el peso de las raíces, peso fresco de la planta (hasta 198 %) y en el rendimiento del fruto (14.3 %). Estos hallazgos sugieren que *R. intraradices* confiere tolerancia a *Fusarium* en plantas de tomate y se cree que este mecanismo puede estar parcialmente influenciado por una mejor nutrición de fosfato.

### **Estructura del suelo**

Por otro lado, los agregados, especialmente los estables al agua, son uno de los indicadores más importantes para una estructura adecuada del suelo. Los HMA proporcionan enlaces directos entre las raíces y el suelo, por lo que pueden contribuir potencialmente a la agregación y estabilidad de la estructura del suelo por la acción combinada de hifas extraradicales y la producción de una proteína llamada glomalina (Bedini *et al.*, 2009) que afecta la retención de humedad del suelo (Miransari, 2010). De acuerdo con Rillig y Mummey (2006), el papel del micelio fúngico de los HMA en la formación o estabilización de agregados se puede resumir en tres mecanismos: (1) Bioquímico: productos de micelios fúngicos, que incluyen glomalina, mucílagos, polisacáridos y otros compuestos extracelulares, hidrofobinas y proteínas afines; (2) Biológicos: microbiota influenciada por el micelio y la cadena trófica del suelo; y (3) Biofísicos: alineamiento y alteración de las relaciones hídricas.

Bearden y Petersen (2000) estudiaron la influencia de los HMA en un cultivo de *Sorgo bicolor*, demostrando que éstos contribuyen a la estabilización de los agregados de diferentes tamaños del suelo en un vertisol indio semiárido, y su efecto fue significativo después de una temporada de crecimiento. Esta respuesta se asoció tanto con hifas de los HMA como con la estimulación del crecimiento de la raíz.

De acuerdo con Miransari (2014), la biodiversidad de los microorganismos es un indicador importante de la fertilidad y calidad del suelo. Además de las raíces, los HMA pueden interactuar con otros organismos del suelo, especialmente los microorganismos de la rizósfera. Hasta cierto punto, la simbiosis micorrícica puede definirse como asociaciones tripartitas, que incluyen plantas, HMA y bacterias (Bonfante y Anca, 2009). Se ha confirmado que los HMA y las rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas (PGPR, por sus siglas en inglés) pueden interactuar sinérgicamente para estimular el crecimiento de las plantas a través de diversos mecanismos, como es la mejor adquisición de nutrientes y la inhibición de los patógenos del suelo (Artursson *et al.*, 2006), estas interacciones pueden ser de importancia crucial para el crecimiento de las plantas y, por lo tanto, la productividad del ecosistema (Fayuan, 2017). Ardestani *et al.* (2019) estudiaron las interacciones de *Rhizophagus intraradices* y los grupos microbianos del suelo en una comunidad de gramíneas donde se evaluaron la biomasa de brotes y raíces y la respiración microbiana. Los resultados mostraron la importancia de los HMA en la biomasa vegetal y su interacción con diferentes especies de plantas y grupos microbianos, por lo que serían útil extrapolar estas investigaciones a un entorno natural.

## **2.4 Bioestimulantes utilizados en la agricultura**

Hoy en día no existe una definición legal o regulatoria de bioestimulantes vegetales en ninguna parte del mundo, lo cual impide una enumeración y categorización detallada, por lo que varios autores (Calvo *et al.*, 2014; du Jardin, 2012 y 2015; Halpern *et al.*, 2015) han coincidido en categorizar los principales bioestimulantes de la siguiente manera:

### **a) Ácidos húmicos y fúlvicos**

Los ácidos húmicos son constituyentes naturales de la materia orgánica del suelo, como resultado de la descomposición de residuos vegetales, animales y microbianos, pero también de la actividad metabólica de los microorganismos del suelo que utilizan estos sustratos (du Jardin, 2012).

### **b) Hidrolizados de proteínas y otros compuestos que contienen N**

Los productos basados en proteínas se pueden dividir en varias categorías principales: hidrolizados de proteínas que consisten en una mezcla de péptidos y aminoácidos de origen animal o vegetal y aminoácidos individuales tales como glutamato, glutamina, prolina y glicina betaína, ayudan a la estimulación del crecimiento de las plantas e incrementar la tolerancia al estrés biótico y abiótico (Calvo *et al.*, 2014).

### **c) Extractos de algas marinas**

Los extractos de algas marinas son el producto más utilizado en cultivos hortícolas, disponibles como extractos líquidos o en forma de polvo soluble. Los extractos líquidos se pueden aplicar cerca de la raíz de la planta, esto se puede lograr mezclando los extractos con agua de riego y aplicando como riego por goteo a los cultivos, también se usan como aerosoles foliares en una variedad de cultivos de flores, vegetales y árboles (Battacharyya *et al.*, 2015).

### **d) Quitosano y otros biopolímeros**

El quitosano es una forma desacetilada de la quitina biopolímera, producida de forma natural e industrial, varios poli y oligómeros de origen biológico o variantes (hemi) sintéticas se

utilizan cada vez más en la agricultura como inductores de la defensa de las plantas, incluidos los polisacáridos de algas marinas (du Jardin, 2015).

#### **e) Compuestos inorgánicos**

Los elementos químicos que promueven el crecimiento de las plantas y pueden ser esenciales para taxones particulares pero no son requeridos por todas las plantas, se denominan elementos beneficiosos, los cinco principales elementos beneficiosos son Al, Co, Na, Se y Si (du Jardin, 2015).

#### **f) Hongos benéficos**

Se ha considerado que los hongos benéficos son microorganismos capaces de aumentar la absorción de nutrientes de las plantas y el crecimiento del cultivo, especialmente en condiciones adversas del suelo, a éstos se les conoce como potenciadores metabólicos y bioestimulantes. Entre los microorganismos beneficiosos, se encuentran los HMA los cuales se asocian con la gran mayoría de las plantas superiores (Colla *et al.*, 2015).

#### **g) Bacterias benéficas**

Las bacterias promotoras de crecimiento en las plantas (PGPB, por sus siglas en inglés) se encuentran ampliamente distribuidas en el suelo o en la rizósfera y promueven a la planta crecimiento bajo algunas condiciones, asimismo, se ha demostrado que las PGPB tiene una serie de efectos positivos sobre el control de patógenos (Halpern *et al.*, 2015).

### **2.5 Respuestas de las plantas a los bioestimulantes**

Las plantas tratadas con bioestimulantes expresan una serie de respuestas benéficas, tales como: conducen a un mayor contenido de nutrientes en sus tejidos, mejor composición mineral de los tejidos vegetales, influyen en el crecimiento de las plantas y alteraciones metabólicas positivas, cambios en el metabolismo del nitrógeno, especialmente debido a su contenido en hormonas y otras moléculas de señalización, aumentan la respiración de la raíz y su formación, así como la germinación y viabilidad de las semillas, mejoran la resistencia natural de la planta contra enfermedades y plagas, aumentan significativamente la longitud y



densidad de los pelos radicales, lo que sugiere que estas sustancias inducen una "respuesta de adquisición de nutrientes" mediante un aumento del área de absorción, influyen positivamente en la actividad y la expresión génica de las enzimas que participan en el metabolismo primario y secundario de la planta. Por ejemplo, promueven la expresión de genes que codifican transportadores de micronutrientes, producción de compuestos fenólicos, efectos quelantes para algunos aminoácidos (como prolina) que pueden proteger a las plantas contra los metales pesados pero también contribuyen a la movilidad y adquisición de los micronutrientes, aumentan la tolerancia de las plantas al estrés abiótico / biótico, mejoran la calidad y el rendimiento del cultivo (Nardi *et al.*, 2016). Además, el bombeo de protones por las ATPasas de la membrana plasmática también contribuye al aumento de la pared celular y por consecuencia del crecimiento celular y de órganos (Jindo *et al.*, 2012). Los bioestimulantes también pueden mejorar la actividad de los microorganismos de la rizósfera los cuales producen enzimas, hormonas y/o reguladores del crecimiento en el suelo y plantas, a la vez que ayudan en el proceso fotosintético (Bulgari *et al.*, 2015), (Figura 11).

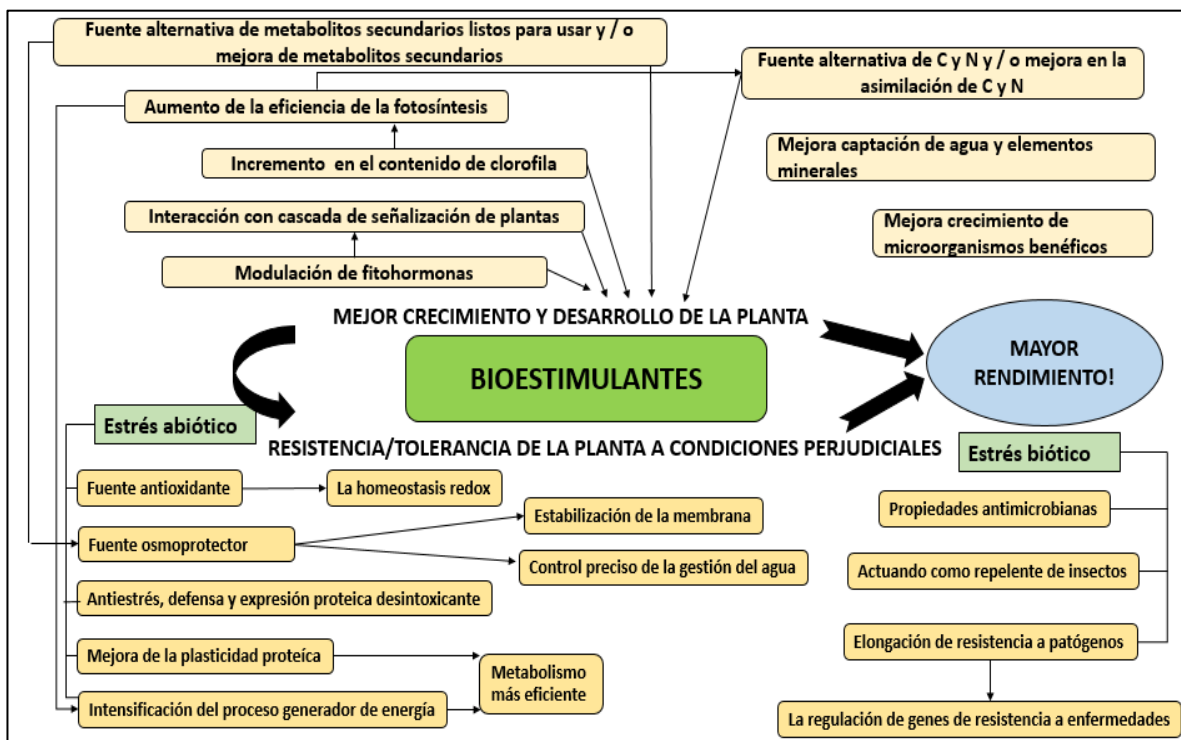


Figura 11. Los modos de acción del bioestimulante y sus correlaciones. Tomado de Posmyk y Szafrńska (2016).

## 2.6 Uso de las algas marinas como bioestimulantes en la agricultura

Las algas se han utilizado durante miles de años, ya sea directamente o después del compostaje como una enmienda del suelo para mejorar su fertilidad y productividad de los cultivos (Craigie, 2011). Tras el desarrollo inicial de un proceso para producir extractos líquidos de algas marinas en la década de 1950, una variedad de productos comerciales de extractos de algas están ahora disponibles en todo el mundo para su uso en agricultura y horticultura (Khan *et al.*, 2009). Se ha documentado que estos extractos actúan como quelantes, mejorando tanto la utilización de nutrientes minerales por plantas como la estructura del suelo, lo que puede estimular el crecimiento de las raíces. Los extractos de algas marinas también actúan como bioestimulantes, favoreciendo la germinación y establecimiento de semillas, aumentando el crecimiento, rendimiento y producción de flores y frutos, incrementando la resistencia al estrés biótico, abiótico y la vida útil poscosecha (Khan *et al.*, 2011, Craigie, 2011). Los efectos bioestimulantes a menudo se han atribuido a la presencia de hormonas de crecimiento de plantas y compuestos relacionados de bajo peso molecular presentes en los extractos (Tarakhovskaya *et al.*, 2007), pero otras investigaciones sugieren que moléculas más grandes como polisacáridos y polifenoles únicos también pueden ser importantes como bioestimulantes, aleloquímicos y para aumentar la resistencia al estrés (Zhang *et al.*, 2003). La mayoría de los extractos de algas marinas comerciales están hechos de algas marinas marrones, que incluyen *Ascophyllum nodosum*, *Fucus*, *Laminaria*, *Sargassum* y *Turbinaria spp* (Hong *et al.*, 2007). Los procesos de fabricación de extractos comerciales son generalmente patentados, pero pueden incluir el uso de agua, ácidos o álcalis como extractantes con o sin calefacción, o la alteración física de las algas marinas utilizando molienda a baja temperatura o alta presión. El producto final se prepara en forma líquida o como una formulación seca y se puede combinar con fertilizantes de plantas y micronutrientes (Craigie, 2011). Los extractos son activos como bioestimulantes a bajas concentraciones (diluidos a 1: 1,000 o más), lo que sugiere que los efectos observados son probablemente distintos de los asociados con una función nutricional directa. Los extractos de algas marinas son una mezcla compleja de componentes que pueden variar según la fuente de algas marinas, época de recolección y el proceso de extracción utilizado (Shekhar *et al.*, 2012) . Contienen una amplia gama de componentes orgánicos y minerales que incluyen

polisacáridos únicos y complejos que no están presentes en plantas terrestres como laminarina, fucoidan, alginatos y hormonas vegetales (Khan *et al.*, 2009) (Figura 12).

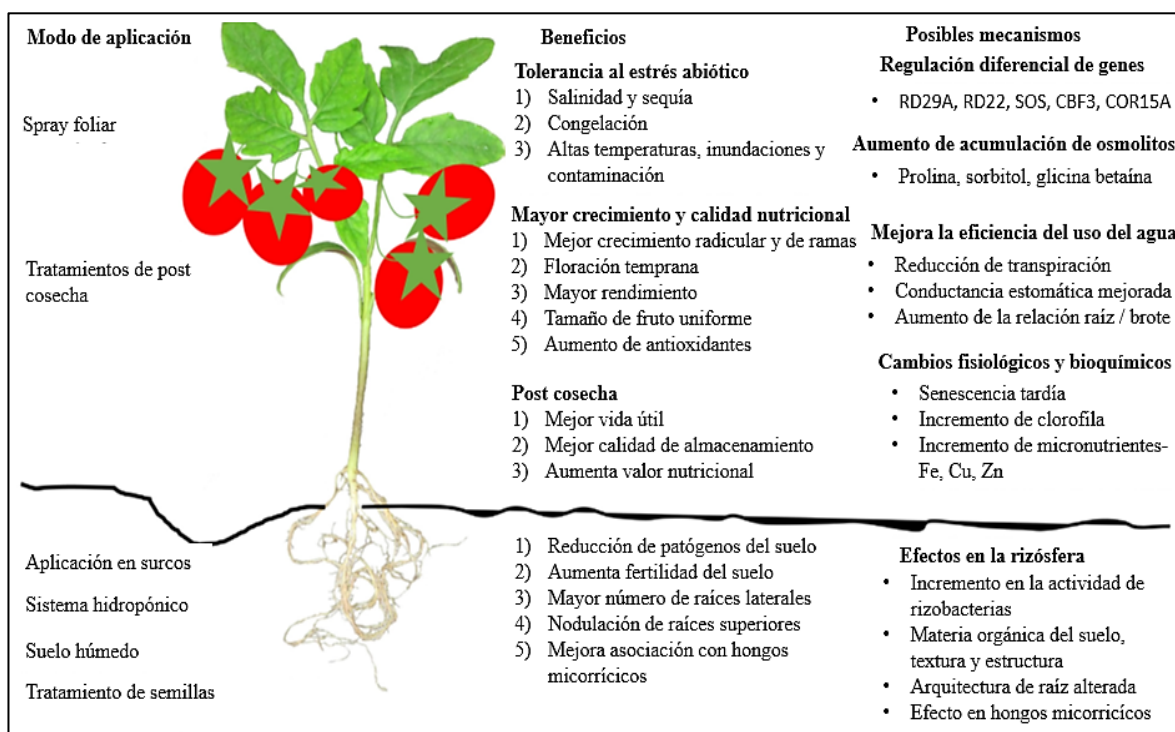


Figura 12. Métodos de aplicación de extractos de algas marinas, y sus efectos en las plantas y mecanismos de acción. Tomado de Battacharyya *et al.* (2015).

## 2.7 Uso e importancia de los HMA como bioestimulantes en la agricultura

En la actualidad, la simbiosis micorrícica tiene gran importancia, ya que en diversos estudios se ha demostrado el efecto benéfico de los HMA en el mejoramiento de la nutrición, aprovechamiento del uso del agua, crecimiento y adaptación de las plantas ante diversas condiciones de estrés producido por factores bióticos y abióticos (Lovera y Cuenca, 2007). El beneficio que aporta la simbiosis micorrícica arbuscular a las plantas ha sido bien documentado, dando especial énfasis a la estimulación del crecimiento y la nutrición de las mismas, especialmente en aquellas de interés hortícola, frutícola y forestal. Los HMA incrementan el crecimiento y desarrollo al mejorar el estado nutricional de las plantas y favorecer su adaptación a condiciones ambientales extremas como: áreas erosionadas, suelos

con baja fertilidad, condiciones de salinidad y en áreas contaminadas por diversos agentes orgánicos e inorgánicos (Alarcón y Ferrera-Cerrato, 2000).

La importancia de los HMA en la nutrición de las plantas ha aportado nuevos criterios sobre la contribución de estos simbiontes en la asimilación de nutrientes. De acuerdo con Barea (1991), con el establecimiento del HMA y el desarrollo de sus hifas, las plantas aumentan el área de exploración radical y se favorece la absorción de diferentes nutrientes como N, K, Ca, Mg, B, Fe y en especial el ión fosfato.

Rodríguez-Yon *et al.* (2004) realizaron un estudio comparativo del comportamiento en los patrones de colonización de seis cepas de HMA (antiguamente llamados *Glomus fasciculatum*, *G. clarum*, *G. mosseae*, *Glomus* sp.1, *G. intraradices* y *Acaulospora scrobiculata*) en su interacción con plántulas de tomate var. Amalia, donde se observó un efecto positivo de la inoculación en la altura, peso fresco y seco aéreo, radical y total, así como respuestas específicas de las plántulas de tomate en función de las cepas de HMA inoculadas, con relación a las actividades enzimáticas de quitinasa,  $\beta$ -1,3-glucanasa y fenilalanina amonio liasa (PAL, por sus siglas en inglés), destacándose la cepa *G. fasciculatum* como la más efectiva. Asimismo, Zouari *et al.* (2014) demostraron que la simbiosis micorrícica arbuscular puede beneficiar el metabolismo del tomate mediante un análisis de ARN-Seq de la raíz de la planta. Se encontró que los frutos de las plantas micorrícicas muestran dos "firmas" transcriptómicas: los genes característicos de una fruta carnosa climatérica y los genes característicos del estado micorrícico, como los transportadores de fosfato y sulfato. Por otra parte, las plantas micorrizadas bajo condiciones nutritivas bajas producen frutos con un contenido de nutrientes similar al de las plantas no micorrícicas bajo condiciones nutritivas altas, lo que indica que los HMA pueden ayudar a reemplazar el fertilizante exógeno para los cultivos frutales. Rivera *et al.* (2007), encontraron que en plantas de tomate el HMA (*G. fasciculatum*) resultó benéfico para la disponibilidad de nutrientes en suelos de fertilidad media y alta, *G. clarum* para suelos de fertilidad baja y media y *A. scrobiculata* solo en suelos de baja fertilidad. Tyagi *et al.* (2017) estudiaron la influencia diferencial del HMA (*Rhizophagus intraradices* N.C. Schenck y G.S. Sm.) y el hongo endófito (*Piriformospora indica*), en la tolerancia a la sequía en el mijo africano (*Eleusine coracana*), donde se observó que en las plantas inoculadas con *R. intraradices* hubo mejor crecimiento de plántulas bajo sequía, mayor biomasa, menor pérdida de

electrolitos, malondialdehído y peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) y aumento en el contenido de prolina en las hojas, así como de flavonoides en las plántulas. La acumulación de fenoles fue influenciada tanto por *R. intraradices* como por *P. indica* bajo estrés hídrico.

## **2.8 Efecto de los extractos de algas marinas sobre el crecimiento de los HMA**

Kuwada *et al.* (1999; 2005; 2006a) realizaron una investigación sobre los efectos de los extractos de dos algas marinas *Laminaria japonica* y *Undaria pinnatifida* en el crecimiento hifal del HMA *Glomus ramisporophora* y en el crecimiento de las raíces de naranja trifoliada. Los datos indicaron que los extractos (en particular la disolución a 25 % de MeOH) obtenidos de ambas algas marinas contenían sustancias estimulantes del desarrollo para el HMA y que las disoluciones aplicadas al suelo estimularon el crecimiento de las raíces en naranja trifoliada. Además, extrajeron e identificaron manitol de *L. japonica* y evaluaron junto con otros alcoholes de azúcar y polisacáridos del alga marina, el efecto en el crecimiento *in vitro* de hifas del HMA *Gigaspora margarita* y la colonización de la raíz en naranja trifoliada. Los resultados indicaron que el manitol es un alcohol de azúcar y la carragenina un polisacárido estimularon significativamente el crecimiento de hifas y que la aplicación de manitol incluso a bajo concentraciones promovió la colonización de raíces y aumentó el crecimiento de las plantas. Estos autores investigaron los efectos de los extractos de algas rojas (*Gracilaria verrucosa*, *Gelidium amansii* y *Eucheuma cottonii*) y verdes (*Chlorella pyrenoidosa*) sobre el crecimiento *in vitro* de hifas de los HMA *G. margarita* y *Glomus caledonium* y evaluaron el desarrollo y crecimiento de los HMA en plántulas de papaya y esquejes de maracuyá. Las aplicaciones de las fracciones de cada tipo de alga aumentaron significativamente el crecimiento *in vitro* de las hifas, y la colonización de la raíz en ambos tipos de plántulas, lo que ocasionó la promoción del crecimiento de dichas plantas. Estos resultados sugieren que las algas rojas y verdes no sólo contienen sustancias estimulantes para el crecimiento del hongo, sino que también contribuyen al desarrollo del establecimiento de la simbiosis micorrícica en plantas superiores.

El Gamal *et al.* (2009) evaluaron el efecto estimulante de dos especies de algas, *Nostoc muscorum* y *Ulva lactuca* sobre el desarrollo de HMA y su impacto en el crecimiento de la planta de haba en presencia de *Rhizobium leguminosarum* con niveles bajos de fertilizantes (N y P). Se observaron diferencias significativas entre los tratamientos debido a la aplicación

de algas, HMA y *Rhizobium*, en el número y peso seco de la nodulación, longitud del brote y raíz, peso seco, número de ramas y vainas, peso de semillas y valor nutricional de las plantas. Además, se registró cambios de la actividad biológica en la rizósfera mediante la determinación de enzimas deshidrogenasa, nitrogenasa y nódulos del suelo, así como el porcentaje de colonización de la raíz por HMA y el contenido de pigmento de las hojas, en comparación con los otros tratamientos probados.

Suhail (2013a, b) evaluó el efecto de un extracto comercial líquido a base de algas marinas usando diferentes concentraciones y una mezcla de dos HMA (*Glomus fasciculatum* y *Acaulospora laevis*) sobre el crecimiento y desarrollo de plantas de pepino (*Cucumis sativus*). Los resultados indicaron que hubo un aumento significativo en la longitud de la planta, peso fresco y seco, área foliar, número de hojas, rendimiento por planta y total, así como en el porcentaje de clorofila cuando se aplicó el extracto de algas ( $2.5 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$ ) en las plantas inoculadas con la mezcla de los HMA, en comparación con las plantas no inoculadas.

Por otra parte, en un segundo trabajo se evaluó el efecto de la inoculación del HMA (*A. leavies*), la bacteria fijadora de nitrógeno (*Azospirillum brasilens*) y el mismo extracto comercial anterior de algas marinas en plantas de cebolla regadas con agua salada ( $0.5 \text{ ds} \cdot \text{m}^{-1}$ ). Este estudio indicó que la triple inoculación con *A. leavies*, *A. brasilens* y el extracto de algas marinas aumentó significativamente tanto la altura de la planta, longitud de raíz, peso fresco y seco, como la población de *Azospirillum* y porcentaje de colonización micorrícica de las plantas de cebolla más que la inoculación solo con el HMA, bacteria fijadora o extracto de algas marinas, así como el control con o sin agua salada.

Por otro lado, Paszt *et al.* (2011; 2015) evaluaron el efecto de diferentes fertilizantes orgánicos y enmiendas (estiércol bovino granulado seco, extracto de vermicomposta, extracto húmico, extracto de plantas, extracto de algas marinas reforzadas con ácidos húmicos y fúlvicos, consorcio de organismos benéficos del suelo, producto de la producción de levadura y solución de titanio) sobre el crecimiento de las raíces, la abundancia de HMA y la riqueza de especies en la rizósfera de plantas de fresa. De acuerdo con los resultados el tratamiento al que se le aplicó extracto de algas marinas reforzadas con ácidos húmicos y fúlvicos tuvieron el efecto más benéfico sobre la formación de esporas de HMA y un efecto positivo en los parámetros de crecimiento de raíz, pero también indujo una reducción de la cantidad de nutrientes minerales en el suelo. Sin embargo, en el segundo trabajo se evaluaron

los mismos fertilizantes orgánicos y enmiendas para ver el efecto sobre la abundancia y diversidad de micorrizas, así como sobre el crecimiento de las raíces en plantas de fresa. Se observó que todos los tratamientos incluyendo el extracto de algas marinas reforzadas con ácidos húmicos y fúlvicos afectaron la diversidad de especies de HMA presentes en el suelo rizosférico, pero a pesar de proporcionar una cantidad significativamente baja de nutrientes, mejoraron las características de crecimiento de la raíz en comparación con la fertilización mineral.

### 3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Hoy en día la agricultura tiene que producir cultivos de manera más sostenible, haciendo esto un trabajo arduo para los científicos, ya que, la agricultura convencional sigue contribuyendo a la pérdida de biodiversidad, cambio climático y a la degradación de los sistemas terrestres y de agua dulce (Solomon *et al.*, 2016). Bajo el panorama anterior, además surge el grave y constante problema de la alimentación, ya que alimentar a una población mundial creciente en medio del cambio climático requiere optimizar la confiabilidad en el uso de los recursos y reducir los impactos ambientales de la producción de alimentos (Soman *et al.*, 2017). Debido a dicha problemática la producción agrícola podría verse gravemente afectada, lo cual pone en riesgo la seguridad alimentaria a nivel global y local (Altieri y Nicholls, 2017). Ante dicho escenario, Kavallari (2017) mencionó que si se continua con las mismas prácticas agrícolas (uso excesivo de productos químicos, uso inadecuado de pesticidas y recursos hídricos, poca rotación de cultivos, deforestación), en un futuro no se podrá satisfacer la demanda de productos agrícolas, lo cual solo se logrará haciéndolo de manera sostenible.

### 4 JUSTIFICACIÓN

Ante la creciente necesidad de desarrollar productos y estrategias de manejo respetuosas con el medioambiente para mejorar la productividad y aumentar significativamente las ganancias de los cultivos, el presente estudio tiene como finalidad analizar las respuestas de desarrollo en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*) al utilizar la combinación de los extractos del alga verde (*Ulva lactuca*) y el hongo micorrízico arbuscular (*Rhizophagus intraradices*). Lo anterior quizás permita establecer posibles vínculos funcionales reflejados en efectos positivos o negativos sobre el crecimiento de la planta, del HMA y sobre la interacción planta-HMA, planta-extracto de alga y planta-HMA-extracto de alga. El conocimiento generado será relevante para valorar la importancia del uso en conjunto de estos dos bioestimulantes como parte de una estrategia de manejo de los recursos naturales, con menor impacto ambiental en la agricultura.



## 5 HIPÓTESIS

Existe un efecto sinérgico entre el hongo micorrícico arbuscular (*Rhizophagus intraradices*) y el extracto del alga marina (*Ulva lactuca*) en la promoción de crecimiento de las plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*).

## 6 OBJETIVOS

### General

Evaluar la respuesta en el desarrollo, composición nutrimental y micorrización de las plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*) en interacción con el hongo micorrícico arbuscular (*Rhizophagus intraradices*) y tratamiento con extracto de alga marina (*Ulva lactuca*) a nivel de invernadero.

### Específicos

1. Analizar la composición química del alga marina (*U. lactuca*) y de su extracto líquido.
2. Examinar el efecto del extracto del alga marina (*U. lactuca*) sobre la colonización del hongo micorrícico arbuscular (*R. intraradices*) en plantas de tomate (*S. lycopersicum*).
3. Evaluar los parámetros de desarrollo en plantas de tomate (*S. lycopersicum*) tratadas independientemente con el extracto del alga marina (*U. lactuca*), el hongo micorrícico arbuscular (*R. intraradices*) y en combinación de ambos.
4. Determinar la composición nutrimental de las plantas de tomate (*S. lycopersicum*) tratadas independientemente con el extracto de (*U. lactuca*), el hongo micorrícico arbuscular (*R. intraradices*) y en combinación de ambos.

## 7 MATERIAL Y MÉTODOS

### 7.1 Área de estudio

El experimento se llevó a cabo en el Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA) de la Universidad de Guadalajara, ubicado en el km 15.5 de la carretera Guadalajara-Nogales, con una latitud Norte de 20°44'48.78" y longitud Oeste de 103°30.55.74" a 1,670 msnm. El crecimiento de las plantas se realizó en el área de invernadero y el trabajo experimental se llevó a cabo tanto en el Laboratorio de Ecofisiología Vegetal en el Departamento de Ecología y el Laboratorio de Biotecnología en el Departamento de Botánica y Zoología.

### 7.2 Material biológico

#### 7.2.1 Obtención del alga marina

*Ulva lactuca* L. se colectó en febrero de 2018 en una zona intermareal del Puerto de Topolobampo, Ahome, Sinaloa ubicado en las coordenadas: latitud Norte de 25° 36' 00" y longitud Oeste de 109° 04' 00" (Figura 13). Se realizó un proceso de lavado con agua de grifo y secado al sol, posteriormente se pulverizó en un NutriBullet®.



Figura 13. Ubicación geográfica del sitio de colecta de *Ulva lactuca*. Tomado de google maps.

### **7.2.2 Obtención de la semilla de tomate**

Durante el experimento se trabajó con semillas de tomate certificadas (*Solanum lycopersicum* L. var. Río Fuego), la cual se compró a la empresa (Kristen Seed®). La variedad de la semilla se escogió de acuerdo a experimentos previos.

### **7.2.3 Obtención del inóculo micorrízico**

La cepa utilizada para el presente trabajo fue del HMA (*Rhizophagus intraradices* N.C. Schenck y G.S. Sm.) del producto comercial “BIOfertilizante micorriza® del INIFAP”. El cual consiste en esporas, hifas y fragmentos de raíces colonizados por el HMA, con aproximadamente 64 esporas/g de inóculo.

### **7.3 Elaboración de extractos**

De acuerdo con Hernández-Herrera *et al.* (2014 a) y Kavipriya *et al.* (2011), con la muestra pulverizada de *Ulva lactuca* L. se prepararon extractos líquidos al 0.2 % de la siguiente manera: a 2 g de polvo de alga seca se le adicionó 1 L de agua destilada, la cual se llevó a un autoclave a 121 °C por 15 min y 18 lb/in<sup>2</sup>, posteriormente se filtró con papel filtro Whatman No. 40. Se mantuvo en refrigeración a 4 °C hasta su aplicación.

### **7.4 Composición química del alga y del extracto**

Se analizó una muestra de 100 g de *Ulva lactuca* L. de acuerdo con los métodos de la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC, 1990), el contenido de humedad se determinó mediante secado a 100 °C hasta peso constante en una estufa de aire (Novatech) y la materia seca se determinó gravimétricamente como residuo restante después del secado. El contenido de cenizas se determinó mediante calcinación a 550 °C en una mufla (Inotek). El contenido de fibra cruda se determinó mediante digestión y calcinación a 550 °C. El contenido de extracto éter se determinó mediante extracción Soxhlet y el contenido de nitrógeno se determinó por micro-Kjeldahl. Para calcular el contenido de proteína, se utilizó el factor de conversión de 5.38 (Lourenço *et al.*, 2002). La estimación indirecta de carbohidratos se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación: porcentaje de carbohidratos =

100 – (% de proteína + % de extracto de éter). Los datos de carbohidratos totales y reducidos fueron tomados del trabajo de Hernández-Herrera *et al.* (2016).

La composición química del extracto se analizó en el Laboratorio Ambiental y de Abonos Orgánicos del CUCBA, el nitrógeno se obtuvo mediante el método de Kjeldahl, el fósforo mediante espectrofotómetro y potasio, sodio, magnesio, calcio, cobre, manganeso, fierro y zinc mediante absorción atómica.

## **7.5 Condiciones de crecimiento de la planta en invernadero**

### **7.5.1 Preparación de las semillas**

Las semillas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) se lavaron durante 1 h con agua de grifo y se desinfectaron superficialmente agitando suavemente en una solución de NaClO (5 %) durante 3 min y se enjuagaron 6 veces durante 5 min y 4 veces durante 20 min en agua desionizada (Gamalero *et al.*, 2004). Las semillas se germinaron en cajas de Petri con papel de filtro Whatman No. 40 húmedo con agua destilada estéril a 24 °C durante 3 d (Copetta *et al.*, 2011).

### **7.5.2 Preparación del sustrato**

La arena y vermiculita se tamizaron con ayuda de Rotab y tamices con mallas de 0.5 y 1-2 mm, hasta obtener un tamaño de partícula entre 0.5-2 mm (Gaur y Adholeya, 2000). Posteriormente, se realizó una mezcla de arena/vermiculita (1:1 v/v) de acuerdo con Cervantes-Gómez *et al.* (2016) y Copetta *et al.* (2011). El sustrato se esterilizó a 121 °C durante 30 min en autoclave y se dejó reposar durante 15 d antes de utilizarse (Trevors, 1996).

### **7.5.3 Inoculación del sustrato con el HMA**

Las semillas de tomate germinadas se sembraron en macetas de plástico de 1 L de capacidad, previamente llenadas con la mezcla de sustrato estéril. Se generaron dos grupos de plantas, el primero consistió en plantas no inoculadas con el HMA y el segundo en aquellas plantas a las cuales se les incorporó 50 g de inóculo micorrícico (*Rhizophagus intraradices* N.C. Schenck y G.S. Sm.) (la cantidad fue establecida debido a ensayos realizados previamente).

La inoculación se realizó de acuerdo al método de Menge y Timer (1982) el cual consiste en colocar el inóculo en forma de bandas de 3 a 5 cm bajo la superficie del sustrato.

Las plantas se mantuvieron en condiciones de invernadero durante 90 d a una temperatura de  $30 \pm 2$  °C, una radiación fotosintéticamente activa (RFA) media de  $3100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  y una humedad relativa (HR) de 50 % con un fotoperiodo luz/oscuridad de 16/8 h. Las macetas se regaron diariamente con 100 mL agua desionizada para mantener la humedad y dos veces a la semana se les aplicó 100 mL de extracto del alga al 0.2 % y/o solución nutritiva de Rorison (SN): ( $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $0.248 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $0.476 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{K}_2\text{HPO}_4\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ,  $0.23 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{FeNaEDTA}$ ,  $0.025 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{MnSO}_4\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $2.24 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ,  $2.88 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $(\text{Na}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $0.44 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ,  $0.4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ;) (Hajiboland *et al.*, 2010). Un segundo esquema de nutrición incluyó un ajuste de  $\text{K}_2\text{HPO}_4\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , 0.05 g para favorecer la colonización micorrícica (Cervantes-Gómez *et al.*, 2016).

## 7.6 Diseño experimental y tratamientos

Se estableció un experimento de bloques al azar con 8 tratamientos con 14 repeticiones (Cuadro 1).

Cuadro 1. Tratamientos del diseño experimental

SN (-) P (0.05 g·L)	SN (+) P (0.23 g·L)
1) Control = Plantas	5) Control = Plantas
2) RI = Plantas con HMA	6) RI = Plantas con HMA
3) EA = Plantas con extracto de alga	7) EA = Plantas con extracto de alga
4) RI + EA = Plantas con HMA y extracto de alga	8) RI + EA = Plantas con HMA y extracto de alga

## 7.7 Determinación de la colonización micorrícica

Al finalizar el experimento, transcurridos los 90 d posteriores a la siembra, se eligieron aleatoriamente 6 plantas por tratamiento donde hubiera HMA, las raíces se sacaron de las macetas con cuidado y se lavaron con agua de grifo, posteriormente se cortaron y fijaron en etanol (50 %) y se mantuvieron a 4 °C hasta su análisis. La técnica de tinción se realizó de acuerdo a Kormanik y McGraw (1982) donde las raíces se cortaron en trozos de 1 cm aproximadamente y se clarificaron durante 5 min a 90 °C en KOH (10 %), se acidificaron por inmersión en HCL (0.1 M) durante 24 h y se tiñeron con azul de tripano (0.05 %) a 90 °C durante 40 min, enseguida se pusieron en una solución para desteñir de lactoglicerol (ácido láctico: glicerina: agua desionizada, 14:1:1 v/v/v) durante 15 d. Para cuantificar el porcentaje de colonización por el HMA (*Rhizophagus intraradices* N.C. Schenck y G.S. Sm.) en las raíces, se empleó el método de intersección magnificada (McGonigle y Miller, 1990). Las raíces se montaron sobre portaobjetos de forma horizontal y cada raíz se escaneó metódicamente empleando un objetivo 40x con la ayuda de un microscopio (Axiostar plus, Carl Zeiss, Gottingen, *Germany*) y un eje de una retícula cruzada se alineó con el eje largo de cada raíz encontrada. Se hizo un registro de presencia o ausencia de estructuras micorrícicas (arbúsculos, vesículas o hifas) tocados por el eje de la retícula que cruzaba la raíz, se contabilizaron al menos 100 campos por muestra. Los recuentos se registraron como porcentaje de la longitud de la raíz colonizada (% LRC), mediante la siguiente formula:

$$\% \text{ LRC} = 100 \times \frac{\text{Número de intersecciones con estructuras del HMA}}{\text{Número total de intersecciones contadas}}$$

## 7.8 Parámetros de crecimiento y rendimiento en las plantas de tomate

Los siguientes parámetros morfológicos de crecimiento y rendimiento se evaluaron en las 14 plantas de cada tratamiento, 90 días después de la siembra. Las plantas completas se sacaron de las macetas con cuidado y se lavaron las raíces con agua de grifo, posteriormente se escanearon las plantas y se midió el área de raíz y foliar (cm<sup>3</sup>), longitud de raíz y tallo (cm), número de hojas y peso fresco (g<sup>-1</sup>) con la ayuda del programa IMAEJ. Para los parámetros

de rendimiento se evaluó el número de flores y frutos exactamente al mismo tiempo y el peso de los frutos ( $\text{g}^{-1}$ ) sin importar su madurez.

## 7.9 Contenido de nutrientes en las plantas de tomate

Se utilizaron 14 plantas por tratamiento (previamente evaluadas en su morfología) para determinar contenido de nitrógeno total (N), fósforo (P) y carbohidratos totales (CT). El tejido vegetal se secó a  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  en una estufa de secado (Novatech) hasta peso constante, se molió en un NutriBullet®, se pasó a través de un tamiz de 0.5 mm y posteriormente se realizó el análisis químico.

### 7.9.1 Determinación de nitrógeno total (N)

Para determinar el contenido de nitrógeno total en hojas y raíz de las plantas se empleó el método micro Kjeldahl (método 955.04 de la AOAC, 1990). Primero se pesó 100 mg de muestra seca y libre de grasa por cada tratamiento y se colocaron en tubos de ensayo de 50 mL, luego se les adicionó 1.1 g de sales catalíticas  $\text{KSO}_4$  y  $\text{Cu}_2\text{SO}_4$  en proporción 2:1 (p/p) y 4 mL de ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) al 98 %, después los tubos se colocaron en un digestor por 3 h aproximadamente, hasta que alcanzaron una temperatura de  $370\text{ }^{\circ}\text{C}$  (la temperatura fue aumentando gradualmente para evitar proyecciones violentas del ácido sulfúrico). Las muestras se dejaron enfriar y luego se colocaron en un destilador de vapor de agua, después se neutralizaron con hidróxido de sodio (NaOH) al 35 %, el destilado se recuperó con 25 mL de una solución ácido bórico ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ) al 2 % y se le añadió unas gotas de una solución preparada con rojo de metileno y verde bromocresol en metanol usado como indicador en la reacción. Posteriormente, las muestras fueron tituladas con una solución de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  al 0.05 N, se registró el volumen gastado en la titulación por muestra y se calculó el contenido de nitrógeno total de las muestras, empleando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de nitrógeno} = \frac{Eq \times N \times mL \times 100}{M}$$

Donde:

Eq = Equivalentes químicos de nitrógeno

N = Normalidad del ácido sulfúrico en la titulación

mL = Mililitros gastados de ácido sulfúrico en la titulación

M = Peso de la muestra en gramos

### 7.9.2 Determinación de fósforo (P)

El análisis para determinar contenido de P disponible en hojas de las plantas se realizó de acuerdo con el método de Mengel y Kirkby (1987). Las muestras de tejido se secaron a 50 °C durante 24 h y se molieron, posteriormente se pesaron 250 mg por muestra y se colocaron en crisoles de porcelana, los cuales se colocaron en una mufla (Inotek) a una temperatura de 500 °C durante 2 h, transcurrido el tiempo se sacaron las muestras de la mufla y se dejaron enfriar. Las cenizas se pasaron a tubos de ensayo de 50 mL, después se les adicionó 25 mL de ácido clorhídrico (HCL) al 0.3 M y se agitaron, se dejaron en reposo hasta que la solución se aclaró. Después se tomaron 2 mL de muestra y 2 mL de solución patrón de fosfato (fosfato dihidrogenado de potasio (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) 0.21 g·L) y se añadieron 18 mL de la solución de trabajo para desarrollo de color molibdato de amonio (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub> Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>, tartrato de antimonio y potasio (C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>K<sub>2</sub>O<sub>15</sub>Sb<sub>2</sub>), ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO) y ácido ascórbico (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>) y se dejaron reposando por 20 min. Por último, se midió la absorbancia usando una longitud de onda de 660 nm en un espectrofotómetro (Jenway-7305).

De manera simultánea, se preparó una curva de calibración, para lo cual se preparó una solución estándar de P de 200 ppm, y de esta solución se obtuvo otra a 5 ppm y se siguieron los mismos pasos que en las muestras.

Para obtener los resultados se empleó la siguiente fórmula:

$$P \left( \frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) = \text{ppm en CC} \times D_m \times D_v$$

Donde:

ppm en CC = partes por millón en la curva de calibración

D<sub>m</sub> = dilución de masa (volumen de solución extractora /g de muestra)

D<sub>v</sub> = dilución de volumen (aforo/alícuota).



### **7.9.3 Determinación de carbohidratos totales (CT)**

El análisis para determinar contenido de carbohidratos totales en las hojas de las plantas se realizó de acuerdo con la metodologías de Carnal y Black (2008); Smogyi (1952). Primero se pesó 1 g de muestra por tratamiento y se colocaron en tubos de ensayo de 25 mL, a los cuales se le adicionó 5 mL de etanol (80 %), se mezcló y calentó a 75 °C durante 5 min en baño María, después se centrifugó a 10,700 rpm por 5 min a -4 °C y se recuperó el sobrenadante, en el precipitado se repitieron los pasos anteriores y se combinaron ambos sobrenadantes. La mezcla de sobrenadantes obtenidos se centrifugó a 13,100 rpm durante 25 min a -4 °C. El sobrenadante obtenido se aforó a 25 mL con etanol (80 %), por último, se tomó una alícuota de 0.1 mL del sobrenadante aforado por muestra, se añadió 2 mL de reactivo de antrona (200 mg en 100 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 95-98 %). Se preparó un blanco de calibración con agua destilada (0.1 mL), se agitó y se colocan los tubos en baño María a 80 °C durante 10 min y se dejó enfriar durante 2 min. Por último, se midió la absorbancia a 620 nm en un espectrofotómetro (Jenway-7305). Los resultados se presentan en referencia a una curva estándar de glucosa de 200 ppm, para determinar la concentración de glucosa presente en las muestras.

### **7.10 Análisis estadístico**

Los experimentos se analizaron utilizando un diseño completamente aleatorizado. Primero se realizó la prueba de normalidad-Shapiro-Wilk para probar normalidad en los datos cuando ( $P \geq 0.05$ ), los datos no normales se transformaron con la prueba Box-Cox, luego los datos se regresaron a la originalidad para seguir trabajando con ellos. Después se realizó la prueba de homogeneidad de varianzas-Bartlett cuando ( $P \geq 0.05$ ).

Los datos paramétricos se analizaron con ANOVA de un factor y los datos no paramétricos se analizaron con la prueba de Kruskal-Wallis, para observar diferencias entre los tratamientos. Para la comparación de medias se utilizó la prueba de diferencia mínima Tukey cuando ( $P \leq 0.05$ ). Para el análisis de dos tratamientos se utilizó la prueba T-student cuando ( $P \leq 0.05$ ). Lo anterior se realizó con ayuda del programa estadístico R y el paquete R-Commander ( Copyright © R Foundation for Statistical Computing, Version 3.5.1).

## 8 RESULTADOS

### 8.1 Análisis de la composición química del alga marina (*Ulva lactuca* L.) y de su extracto líquido.

Con la finalidad de saber lo que proporcionaba el alga marina (*U. lactuca*) con la cual se preparó el extracto, se llevó a cabo un análisis de composición química cuyos resultados se presentan en el Cuadro 2. Cabe destacar, que *U. lactuca* contiene mayor cantidad de carbohidratos y menor cantidad de NT.

Cuadro 2. Análisis químico proximal de *Ulva lactuca*

Composición	%
Carbohidratos	34.4
Cenizas	24.9
Proteína cruda	16.8
Fibra cruda	16.4
Humedad	4.2
Extracto etéreo	3.3
Nitrógeno total	2.7

Basado en % de peso seco ( $100 \text{ g}^{-1}$ ). Los valores son la media de  $n = 14$  repeticiones.

Con el propósito de conocer el contenido nutricional del extracto del alga marina para emplearlo como bioestimulante en las plantas de tomate, se llevó a cabo un análisis químico, en el cual se determinaron 10 elementos, entre ellos 6 macronutrientes (fósforo, nitrógeno, calcio, potasio, sodio, magnesio siendo este último el de mayor concentración) y 4 micronutrientes (cobre, zinc, manganeso, hierro siendo este último el de mayor concentración). Los resultados indican que *U. lactuca* contiene azúcares como glucosa, sacarosa y muy bajo contenido de fructosa (Cuadro 3).

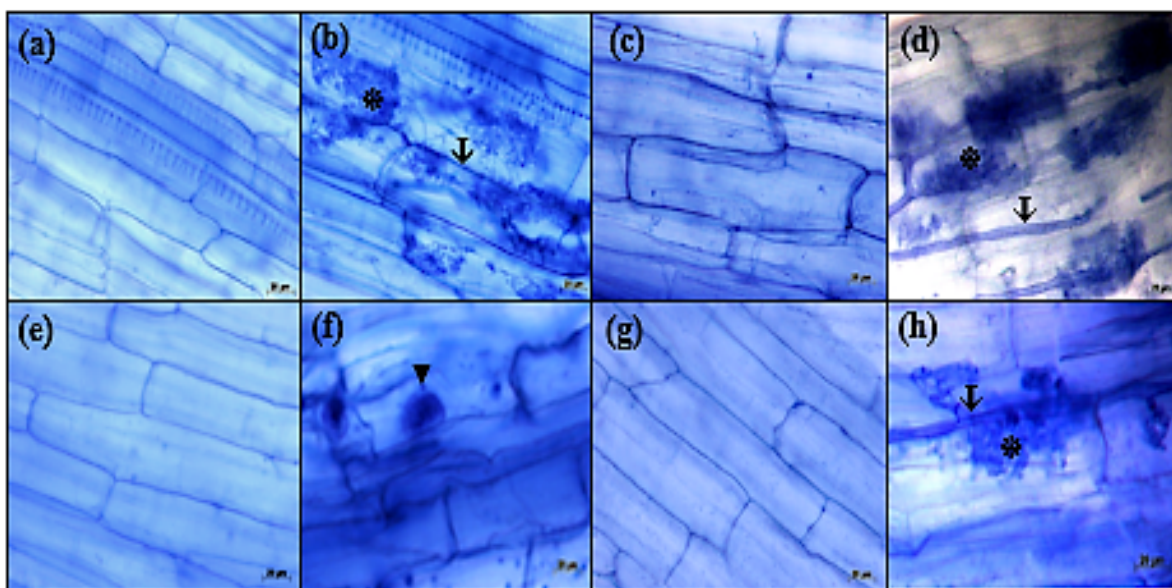
Cuadro 3. Análisis químico del extracto de *Ulva lactuca*

<b>Macronutrientes</b>	<b>mg·L<sup>-1</sup></b>
Magnesio (Mg)	124
Calcio (Ca)	41
Nitrógeno (N)	30
Potasio (K)	17
Fósforo (P)	9
Sodio (Na)	6.3
<b>Micronutrientes</b>	<b>mg·L<sup>-1</sup></b>
Hierro (Fe)	15
Manganeso (Mn)	1.3
Zinc (Zn)	1.2
Cobre (Cu)	0.7
<b>Contenido de azúcares totales y reducidos*</b>	<b>μmol·g<sup>-1</sup></b>
Glucosa	0.15
Sacarosa	0.28
Fructosa	0.02
Almidones	(no detectado)

Basado en mg·L<sup>-1</sup> para valores de macro y micronutrientes y μmol·g<sup>-1</sup> para contenido de azúcares totales y reducidos. Los valores son la media de n = 2 muestras. (\*) Datos tomados de Hernández-Herrera *et al.* (2016).

## 8.2 Evaluación sobre la colonización del HMA (*Rhizophagus intraradices* N.C. Schenck y G.S. Sm.) y efecto del extracto del alga marina (*Ulva lactuca* L.) en plantas de tomate

En este estudio, en las raíces de las plantas en donde se aplicaron los tratamientos con RI y RI + EA tanto con solución nutritiva (SN) a baja (-) y alta (+) concentración de P se observó la presencia del HMA a través de las típicas estructuras fúngicas que lo caracterizan (hifas, arbuscúlos y vesículas; Figura 14b, d, f, h). Paralelamente, se llevó a cabo la evaluación de los tratamientos de control y EA, en donde se corroboró que las raíces estuvieran totalmente limpias, es decir, sin presencia alguna de colonización micorrícica (Figura 14a, c, e y g).



SIMBOLOS: \*, arbuscúlo; ▼, vesícula; ↓, hifa intraradical.

Figura 14. Estructuras fúngicas de *Rhizophagus intraradices* en raíces de plantas de tomate: (a-d) Plantas regadas con solución nutritiva a concentración baja (- de P, 0.05 g·L); (a) Control = Plantas; (b) RI = Plantas inoculadas con *Rhizophagus intraradices*; (c) EA = Plantas con extracto de alga (*Ulva lactuca* 0.2 %); (d) RI + EA = Plantas con *Rhizophagus intraradices* y extracto de alga. (e-h) Plantas regadas con solución nutritiva a concentración alta (+ de P, 0.23 g·L) (e) Control = Plantas; (f) RI = Plantas inoculadas con *Rhizophagus intraradices*; (g) EA = Plantas con extracto de alga (*Ulva lactuca* 0.2 %); (h) RI + EA = Plantas con *Rhizophagus intraradices* y extracto de alga. Escala de medición 20  $\mu$ m.

En los tratamientos que fueron inoculados con el HMA se determinó la presencia de hifas, arbusculos y vesículas, después se calculó el porcentaje de longitud de raíz colonizada (% LRC). Los resultados indicaron que, en las raíces de las plantas de tomate regadas con solución nutritiva a baja concentración de P, no se observó diferencia significativa ( $P \geq 0.05$ ) en hifas y vesículas entre las plantas que fueron inoculadas solamente con RI y aquellas con RI + EA. En cambio, se encontró que las raíces de las plantas que fueron inoculadas con RI + EA tuvieron mayor cantidad de arbusculos y % LRC ( $P \leq 0.05$ ) que aquellas que solamente fueron inoculadas con RI (Cuadro 4).

En cuanto a las raíces de las plantas irrigadas con solución nutritiva a alta concentración de P, se observó que no hubo diferencia significativa ( $P \geq 0.05$ ) entre los dos tratamientos evaluados (RI) y (RI + EA) en ninguna de las estructuras fúngicas, por lo que tampoco en el % LRC (Cuadro 4).

Cuadro 4. Niveles de colonización de *Rhizophagus intraradices* en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*)

SN	Hifas		Arbusculos		Vesículas		% LRC	
	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
<b>RI</b>	49.5a	37.5a	8.8a	15.5a	0.0a	1.7a	49.2a	44.8a
<b>RI + EA</b>	52.3a	45.8a	<b>65.5b</b>	25.0a	0.0a	1.2a	<b>82.6b</b>	61.0a

Plantas regadas con solución nutritiva a concentración baja (- de P, 0.05 g·L); alta (+ de P, 0.23 g·L). RI = Plantas inoculadas *Rhizophagus intraradices*; RI + EA = Plantas con *Rhizophagus intraradices* y extracto de alga (*Ulva lactuca* 0.2 %). Los valores corresponden a la media (n = 6). Diferentes letras en las columnas indican diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) según prueba T-student.

### 8.3 Promoción de crecimiento en plantas de tomate

#### 8.3.1 Longitud y área de raíz

Las plantas de tomate irrigadas con la solución nutritiva a baja concentración de P e inoculadas con RI, así como las plantas que recibieron EA incrementaron la longitud de la raíz significativamente ( $P \leq 0.05$ ). Sin embargo, las plantas que recibieron ambos bioestimulantes (RI + EA) no mostraron efecto significativo ( $P \geq 0.05$ ) en el crecimiento de la raíz. Los valores registrados fueron para RI de  $33.4 \pm 7.2$  cm, EA de  $32.5 \pm 7.9$  cm y RI + EA de  $31.6 \pm 8.5$  cm, respecto al control con  $26.3 \pm 6.5$  cm de longitud (Figura 15a).

Por otro lado, las plantas regadas con la solución nutritiva a alta concentración de P exhibieron un incremento significativo ( $P \leq 0.05$ ) en la longitud de la raíz tanto las inoculadas con RI ( $31.1 \pm 8.1$  cm) como aquellas con la combinación RI + EA ( $36.1 \pm 5.5$  cm) respecto a las plantas control las cuales mostraron una longitud de  $25.6 \pm 4.6$  cm. Finalmente, se observó un comportamiento diferente en las plantas que solo recibieron EA, ya que se inhibió el crecimiento de la raíz (Figura 15b).

En cuanto al área de raíz, se observó que las plantas irrigadas con la solución nutritiva a baja concentración de P fue mayor ( $P \leq 0.05$ ) en las que se inocularon con RI ( $144.3 \pm 24.2$  cm<sup>3</sup>) respecto al resto de los tratamientos (Figura 15c).

Las plantas regadas con la solución nutritiva a alta concentración de P mostraron un efecto significativo ( $P \leq 0.05$ ) incrementando el área de raíz, en el tratamiento RI ( $117.6 \pm 28.5$  cm<sup>3</sup>) y RI + EA ( $145.5 \pm 31.9$  cm<sup>3</sup>) siendo este mucho mayor con respecto al control ( $95.1 \pm 17.2$  cm<sup>3</sup>) (Figura 15d).

Las fotografías de las raíces de las plantas de tomate, se observan en la (Figura 16).

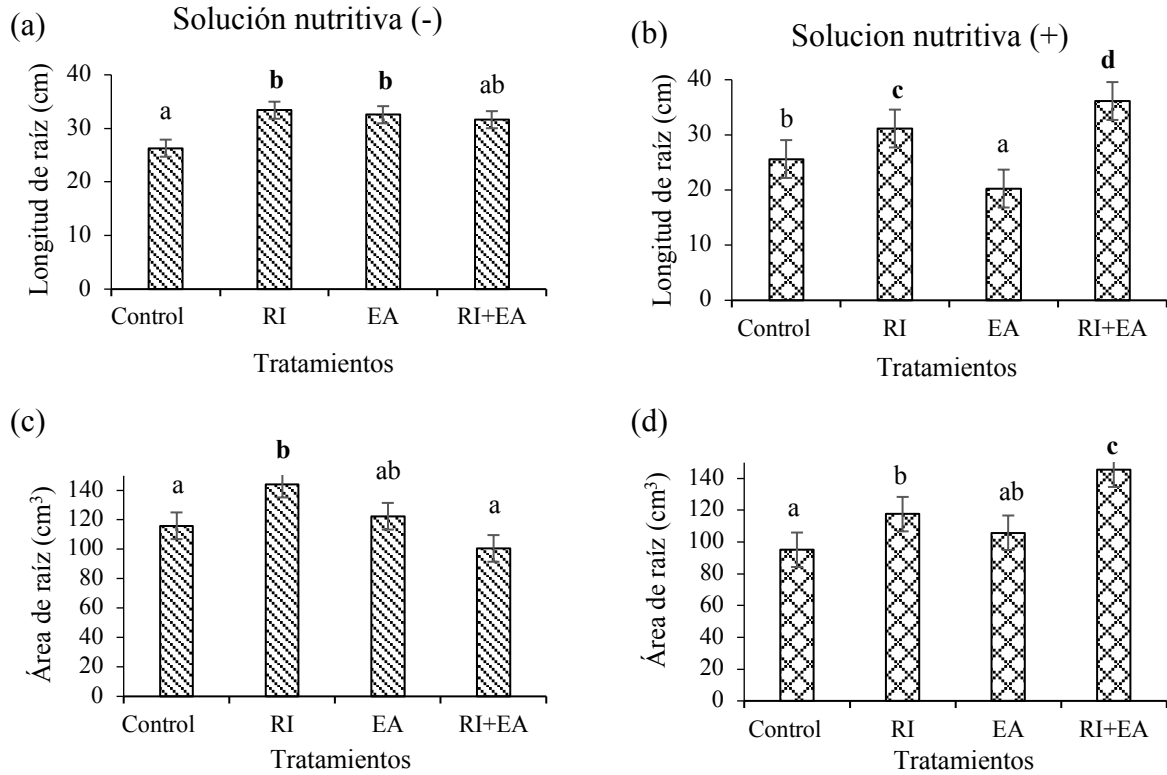


Figura 15. Efecto de *Rhizophagus intraradices* (RI), extracto de alga *Ulva lactuca* 0.2 % (EA) y ambos (RI + EA). (a y b) longitud de la raíz, (c y d) área de raíz en plantas de tomate. Los valores corresponden a la media (n=14). Diferentes letras en las columnas indican diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) según prueba Tukey.

Tratamientos	Solución nutritiva	
	(-)	(+)
Control		
RI		
EA		
RI + EA		

Figura 16. Raíces de las plantas de tomate regadas con solución nutritiva a concentración baja (- de P, 0.05 g·L); alta (+ de P, 0.23 g·L). Con diferentes tratamientos: Control = Plantas; RI = Plantas inoculadas con *Rhizophagus intraradices*; EA = Plantas con extracto de alga (*Ulva lactuca* 0.2 %); RI + EA = Plantas con *Rhizophagus intraradices* y extracto de alga.



### **8.3.2 Longitud tallo, área foliar y número de hojas y peso fresco**

Los tratamientos no mostraron efectos significativos ( $P \geq 0.05$ ) sobre la promoción de crecimiento en el tejido aéreo de las plantas (área foliar, número de hojas, longitud de tallo y peso fresco de brotes), en comparación con las plantas control.

Sin embargo, se puede observar una tendencia, que en todos los tratamientos las plantas irrigadas con la solución nutritiva a baja concentración de P se desarrollaron más en todos los parámetros evaluados con respecto a las plantas regadas con la solución nutritiva a alta concentración de P, aunque estadísticamente no se logró probar esto. En particular, las plantas de tomate regadas con la solución nutritiva a alta concentración de P e inoculadas con RI, presentaron tallos de menor longitud, área foliar y peso fresco (Cuadro 5).

Las fotografías del tejido aéreo de las plantas de tomate, se observan en la (Figura 17).

Cuadro 5. Efecto promotor de crecimiento en tejido aéreo de las plantas de tomate

Solución nutritiva	Área foliar (cm <sup>2</sup> )		Número de hojas		Longitud de tallo (cm)		Peso fresco de brotes (g)	
	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
<b>Control</b>	185.3±11.6a	153.6±13.5a	70.9±3.8a	76.4±4.9a	54.6±2.6a	48.9±2.6a	16.2±0.7a	15.9±0.9a
<b>RI</b>	179.8±11.6a	133.8±13.5a	73.3±3.8a	63.2±4.9a	56.7±2.6a	40.2±2.6a	15.5±0.7a	13.1±0.9a
<b>EA</b>	170.5±11.6a	136.8±13.5a	62.3±3.8a	60.4±4.9a	47.2±2.6a	44.0±2.6a	15.4±0.7a	15.2±0.9a
<b>RI + EA</b>	161±11.6a	135.8±13.5a	63.7±3.8a	65.3±4.9a	48.3±2.6a	45.9 ±2.6a	14.4±0.7a	14.7±0.9a

Plantas regadas con solución nutritiva a concentración baja (- de P, 0.05 g·L); alta (+ de P, 0.23 g·L). Control = Plantas; RI = Plantas inoculadas con *Rhizophagus intraradices*; EA = Plantas con extracto de alga (*Ulva lactuca* 0.2 %); RI + EA = Plantas con *Rhizophagus intraradices* y extracto de alga. Los valores corresponden a la media (n = 14 ± error estándar).









Tratamientos	Solución nutritiva	
	(-)	(+)
Control		
RI		
EA		
RI + EA		

Figura 17. Tejido aéreo de las plantas de tomate regadas con solución nutritiva a concentración baja (- de P, 0.05 g·L); alta (+ de P, 0.23 g·L). Con diferentes tratamientos: Control = Plantas; RI = Plantas inoculadas con *Rhizophagus intraradices*; EA = Plantas con extracto de alga (*Ulva lactuca* 0.2 %); RI + EA = Plantas con *Rhizophagus intraradices* y extracto de alga.

### 8.3.3 Número de flor, número y peso de fruto

Las plantas de tomate irrigadas con la solución nutritiva a baja y alta concentración de P, mostraron un patrón muy similar en el número de flores, en donde no se registró diferencias significativas ( $P \geq 0.05$ ) en ninguno de los tratamientos evaluados. Sin embargo, se observó una tendencia en las plantas que recibieron los tratamientos RI, EA y RI + EA las cuales presentaron menor cantidad de flores, debido a que cuando se realizó la evaluación estas ya se habían convertido en frutos (Figura 18a, b).

En cuanto al número de fruto, se observó que las plantas regadas con la solución nutritiva a baja concentración de P, mostraron un incremento favorable significativo ( $P \leq 0.05$ ) cuando se aplicó el EA ( $2 \pm 0.8$ ) y la combinación RI + EA ( $1.5 \pm 0.7$ ), respecto al tratamiento control en donde no se encontraron frutos en el momento de la evaluación (Figura 18c).

Lo mismo ocurrió en las plantas irrigadas con la solución nutritiva a alta concentración de P, la cantidad de frutos fue significativamente mayor ( $P \leq 0.05$ ) en las plantas tratadas con EA ( $2 \pm 0.9$ ) y la combinación RI + EA ( $2 \pm 1$ ), en comparación con los tratamientos control y RI (Figura 18d).

Finalmente, el número de frutos estuvo correlacionado con un mayor peso fresco de los mismos. Por ejemplo, las plantas regadas tanto con la solución nutritiva a baja y alta concentración de P el peso de los frutos fue significativamente mayor ( $P \leq 0.05$ ) en las que se aplicó el EA y la combinación RI + EA, cabe destacar que la respuesta fue mucho mayor cuando se aplicó solamente el EA (Figura 18e y f).

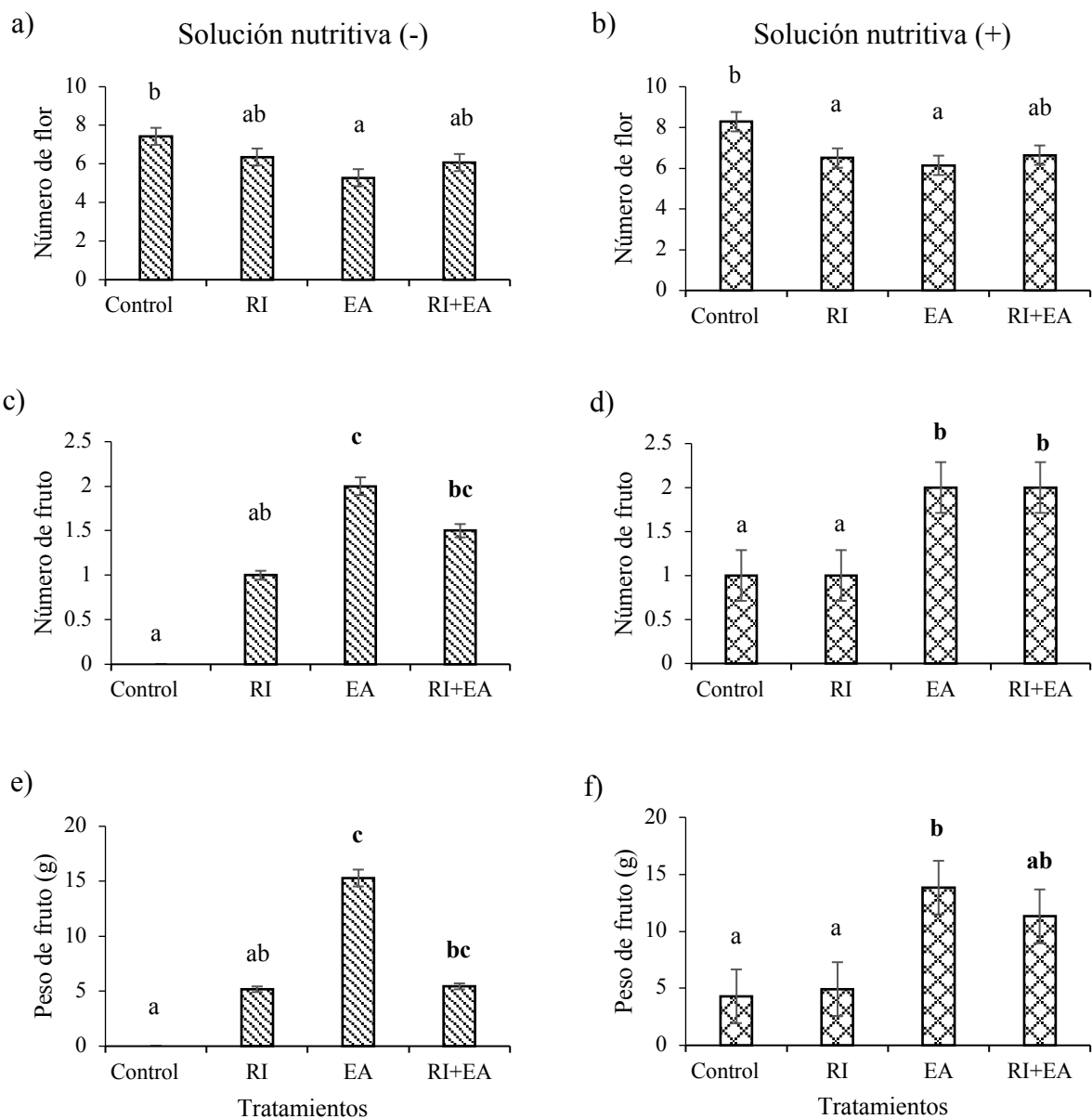


Figura 18. Efecto de *Rhizophagus* intraradices (RI), extracto de alga *Ulva lactuca* 0.2 % (EA) y ambos (RI + EA). (a y b) número de flores, (c y d) número de frutos, (e y f) peso de frutos en plantas de tomate. Los valores corresponden a la media (n = 14). Diferentes letras en las columnas indican diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) según prueba Tukey.

## 8.4 Composición nutrimental de las plantas de tomate

### 8.4.1 Evaluación de la cantidad de fósforo

No se registraron diferencias significativas ( $P \geq 0.05$ ) en cuanto al porcentaje de P contenido en las plantas para ninguno de los tratamientos evaluados. Sin embargo, se observó una tendencia en las plantas que fueron regadas con la solución nutritiva a alta concentración de P, las cuales presentaron mayor contenido de P en su tejido foliar con un rango de  $7.3 \pm 0.3$  -  $8.4 \pm 0.3$  g·kg, a diferencia de las plantas que recibieron la solución nutritiva a baja concentración de P con un rango de  $2.5 \pm 0.2$  -  $2.8 \pm 0.2$  g·kg (Cuadro 6).

Cuadro 6. Cantidad de fósforo en las plantas de tomate

Solución nutritiva	Fósforo (g·kg)	
	(-)	(+)
<b>Control</b>	2.8±0.2a	8.4±0.3a
<b>RI</b>	2.6±0.2a	8.0±0.3a
<b>EA</b>	2.7±0.2a	7.3±0.3a
<b>RI + EA</b>	2.5±0.2a	8.2±0.3a

Plantas regadas con solución nutritiva a concentración baja (- de P, 0.05 g·L); alta (+ de P, 0.23 g·L). Control = Plantas; RI = Plantas inoculadas con *Rhizophagus intraradices*; EA = Plantas con extracto de alga (*Ulva lactuca* 0.2 %); RI + EA = Plantas con *Rhizophagus intraradices* y extracto de alga. Los valores corresponden a la media ( $n = 14 \pm$  error estándar).

### 8.4.2 Evaluación del porcentaje de nitrógeno total

Las plantas regadas con solución nutritiva a baja concentración de P e inoculadas con RI registraron incrementos significativos ( $P \leq 0.05$ ) en cuanto al contenido de NT, respecto al resto donde se aplicaron los demás tratamientos. Por otro lado, las plantas regadas con solución nutritiva a alta concentración de P y tratadas con RI + EA presentaron los valores más bajos ( $P \leq 0.05$ ) de N (Cuadro 7).

Cuadro 7. Porcentaje de nitrógeno total en las plantas de tomate

Solución nutritiva	% de Nitrógeno total	
	(-)	(+)
<b>Control</b>	2.3±0.2a	2.3±0.06b
<b>RI</b>	<b>2.5±0.2b</b>	2.3±0.06b
<b>EA</b>	2.2±0.2a	2.2±0.06ab
<b>RI + EA</b>	2.0±0.2a	2.0±0.06a

Plantas regadas con solución nutritiva a concentración baja (- de P, 0.05 g·L); alta (+ de P, 0.23 g·L). Control = Plantas; RI = Plantas inoculadas con *Rhizophagus intraradices*; EA = Plantas con extracto de alga (*Ulva lactuca* 0.2 %); RI + EA = Plantas con *Rhizophagus intraradices* y extracto de alga. Los valores corresponden a la media ( $n = 14 \pm$  error estándar). Diferentes letras en las columnas indican diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) según prueba Tukey

### 8.4.3 Evaluación de la cantidad de carbohidratos totales

En cuanto a la cantidad de CT presentes en las plantas regadas con solución nutritiva a baja concentración de P, se observó un aumento significativo ( $P \leq 0.05$ ) en el tratamiento con RI, respecto al resto de los tratamientos (Cuadro 8).

Por otro lado, las plantas regadas con la solución nutritiva a alta concentración de P y tratadas con ambos bioestimulantes (RI + EA) exhibieron un incremento significativo ( $P \leq 0.05$ ) en la cantidad de CT, en comparación con los demás tratamientos evaluados (Cuadro 8).

Cuadro 8. Cantidad de carbohidratos totales en la parte foliar de las plantas de tomate

Carbohidratos totales (mg·L)		
Solución nutritiva	(-)	(+)
Control	29.4±1.3a	35.5 ±1.3b
RI	<b>37.4±1.3b</b>	24.4±1.3a
EA	28.8±1.3a	32.1±1.3b
RI + EA	31.1±1.3a	<b>43.3±1.3c</b>

Plantas regadas con solución nutritiva a concentración baja (- de P, 0.05 g·L); alta (+ de P, 0.23 g·L). Control = Plantas; RI = Plantas inoculadas con *Rhizophagus intraradices*; EA = Plantas con extracto de alga (*Ulva lactuca* 0.2 %); RI + EA = Plantas con *Rhizophagus intraradices* y extracto de alga. Los valores corresponden a la media ( $n = 14 \pm$  error estándar). Diferentes letras en las columnas indican diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) según prueba Tukey.



## 9 DISCUSIÓN

En el análisis químico de *Ulva lactuca* L. se observó que los azúcares totales (34.4 %) y cenizas (24.9 %) fueron los componentes más abundantes, coincidiendo con otros estudios usando la misma especie (Castro-González *et al.*, 1996). De acuerdo, con Jegou y Lahaye (1993) los carbohidratos en las algas verdes están constituidos principalmente de ramnosa, xilosa, arabinosa, manano, galactano y glucano. Recientemente, Jiang *et al.* (2016) realizaron una hidrólisis termoquímica de *U. lactuca*, y confirmaron el contenido de ramnosa, xilosa y arabinosa así como de otros carbohidratos presentes en la macroalga. A pesar de ello, se considera importante continuar con esta serie de análisis químicos para determinar potenciales compuestos que pudieran estar presentes en *U. lactuca*. El contenido de proteínas (16.8 %) fue mayor que lo reportado (11.8 %) por Hernández-Herrera *et al.* (2016). La cantidad de lípidos fue de 3.3 %, lo cual coincide con lo reportado por Polat y Ozogul (2008), en ambos casos el valor estuvo por encima del intervalo determinado para algas marinas que es menor a 3 % (Wong y Cheung, 2012). En contraste, el contenido de fibra obtenida fue menor (16.4 %) en comparación con lo reportado en *U. lactuca*, por Yaich *et al.* (2011) que fue del 31.29 %.

En cuanto al análisis químico de los macro y micronutrientes del extracto de *U. lactuca*, este refleja que el magnesio fue el elemento en mayor cantidad, lo cual coincide con lo sugerido por Frikha *et al.* (2011) quienes mencionan que en las algas verdes, la mayor concentración de macronutrientes corresponde a Mg.

Conforme a Tuney *et al.* (2007), las diferencias entre el contenido de los componentes químicos de *U. lactuca* y su extracto con respecto a otros trabajos, quizás se puedan atribuir a varios factores como: temporadas estacionales, condiciones ambientales y localización geográfica, así como el protocolo para la preparación y extracción de algas (ya sean frescas o secas). Es decir, por lo regular los entornos en los que viven las algas cambian constantemente (temperatura, acceso a la luz, salinidad, reflujos y flujos), por ello, para sobrevivir en estas condiciones extremas y desfavorables, la mayoría de las algas desarrollaron mecanismos de protección y producen una gran variedad de compuestos que tienen actividades biológicas potenciales (Ibañez *et al.*, 2012). Por ejemplo, las algas verdes (Chlorophytas) producen polisacáridos (celulosa, xileno, ulvano), aminoácidos, proteínas, vitaminas (B12, K, C, E, A, D), macro y microelementos (K, Ca, Mg, Na, Fe, Zn, Cu, Co, I,

B, Mo, Mn y Ni), hormonas vegetales (citoquininas, auxinas, ácido abscísico), aceites, grasas, ácidos grasos poliinsaturados (ácido graso omega-3: ácido eicosapentaenoico y ácido docosahexaenoico y ácido graso omega-6: ácido  $\gamma$ -linolénico y ácido araquidónico), pigmentos (carotenoides, clorofilas, ficobilinas), entre otros compuestos bioactivos (Michalak y Chojnacka, 2014). Recientemente, se ha logrado demostrar que algunos de los productos de las algas marinas intervienen en el metabolismo celular de las plantas y aumentan el crecimiento y rendimiento de los cultivos (Lee *et al.*, 2010), utilizándose como suplementos nutricionales, bioestimulantes o biofertilizantes en la agricultura y horticultura (Miao y Tao, 2009).

Principalmente, en la evaluación de la colonización de raíces por el HMA los resultados indicaron que hubo mayor número de estructuras fúngicas y un alto porcentaje de micorrización en las raíces de las plantas regadas con la solución nutritiva a baja concentración de P y la combinación los dos bioestimulantes (RI+EA).

En previos estudios se ha reportado que la germinación de las esporas de HMA se ve afectada de manera inconsistente por el contenido de P en el suelo, se ha determinado que, en un suelo con baja concentración de P, las raíces de sorgo excretaron grandes cantidades de azúcares y que tal excreción fue menor en suelos enriquecidos con fosfato exógeno. Por lo que, la colonización del HMA *Glomus fasciculatus* fue mucho más pronunciada en las condiciones del suelo pobres en P (Graham *et al.*, 1981; Giovannetti *et al.*, 2010). Tales resultados sostienen que aparentemente los azúcares excretados por las raíces de las plantas promueven la germinación de esporas de HMA y mantienen el crecimiento de hifas infectivas (Bonfante-Fasolo *et al.*, 2004). En otro estudio, Thomson *et al.* (1991) encontraron que la colonización de la raíz por *Scutellospora calospora* se redujo cuando se aplicó P a una parte de la raíz mientras que la otra se mantuvo en un sistema de suelo con concentración severamente deficiente del nutrimento. Aunque esta parte del sistema radical estuvo en contacto con esporas e hifas del hongo, se observó que la formación de micorrizas fue mínima. De ello se desprende que la reducción en la colonización está mediada por la planta, debido a que un nivel adecuado de P en el vegetal pudiera relacionarse directamente con un decremento de los carbohidratos solubles excretados por la raíz y considerados como importantes en la regulación de la formación de la simbiosis.

En el presente trabajo se observó que el extracto de *U. lactuca* tuvo un efecto positivo sobre el desarrollo de *Rhizophagus intraradices* N.C. Schenck y G.S. Sm. en las raíces de las plantas de tomate, y entre los compuestos responsables posiblemente de dicho crecimiento se encuentran las hormonas de crecimiento y la vitamina E contenida en *U. lactuca* (Khan *et al.*, 2009; Ortiz *et al.* 2006). Esto coincide con los resultados de los estudios de Kuwada *et al.* (2006a), quienes demostraron que la vitamina E presente en los extractos a partir del alga verde (*Chlorella pyrenoidosa*) estimularon significativamente el crecimiento de hifas de *G. margarita* y *G. caledonium in vitro* y desarrollaron la formación de HMA en las raíces de papaya y maracuyá. De igual manera, Kuwada *et al.* (2006b) afirmaron que los extractos de algas pardas, rojas y verdes aumentaron en el crecimiento de hifas de *G. margarita* en la raíz de la planta, debido a que contienen hormonas de crecimiento como auxinas, citoquininas y giberelinas (las cuales están presentes también en *U. lactuca* (Ramya *et al.*, 2010) y por consecuencia promueven la absorción de nutrientes, aumentan el crecimiento (a través de la influencia positiva de ciertas sustancias producidas por el HMA como son auxinas y giberelinas) y rendimiento de la planta, a través de una mayor área de raíz efectiva, penetración de sustrato, activación y excreción de diversas enzimas.

Por otro lado, los exudados de las raíces de las plantas juegan un papel importante en el establecimiento de la simbiosis de los HMA y estimulan el crecimiento y la ramificación de las hifas fúngicas (Harrison, 1998; Vierheilig *et al.*, 2003). Dicho proceso solo puede ocurrir en presencia de señales liberadas por las raíces del huésped (Czarnota *et al.*, 2003). La composición de los exudados de la raíz puede ser compleja y varía desde enzimas extracelulares, mucílago, azúcares simples, polisacáridos, compuestos fenólicos, aminoácidos, ácidos orgánicos, flavonoides, terpenoides, carbono, proteínas, vitaminas (tiamina, ácido nicotínico, biotina), macromoléculas nitrogenadas como nucleósidos, purinas, moléculas inorgánicas o gaseosas como  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2$  y otras biomoléculas (Monther y Kamaruzaman, 2012). De acuerdo con los resultados del análisis de *U. lactuca* se determinó que contiene azúcares y proteínas, además contiene aminoácidos, ácidos grasos, vitaminas (Ortiz *et al.*, 2006; Frikha *et al.*, 2011), polisacáridos, polifenoles, carbono, ácidos orgánicos (Violle *et al.*, 2018; Dominguez y Loret, 2019), mucílago (Abirami y Kowsalya, 2011), flavonoides y terpenoides (Sava y Sîrbu, 2010; Elmegeed *et al.*, 2014; Alagan *et al.*,

2017). Es probable que dichos compuestos de *U. lactuca* intervengan en las plantas durante el proceso de exudación de las raíces para promover el desarrollo de la simbiosis micorrícica.

Así mismo, se observó que en las plantas tratadas con extracto de alga (0.2 %) y regadas con la solución nutritiva a baja concentración de P presentaron un aumento significativo en la longitud de raíz. Algunos autores como Nedumaran y Perumal (2009); Kumari *et al.* (2011); Anisimov *et al.* (2013) subrayan la existencia de una fuerte relación entre la dosis de solución de algas y su eficacia, ya que obtuvieron el mayor crecimiento de peso de brotes y raíces al aplicar extractos de algas en dosis bajas. Lo anterior se confirma con los estudios de Kavipriya *et al.* (2011); Castellanos-Barriga *et al.* (2017) quienes demostraron que al aplicar extracto de *U. lactuca* a baja concentración (0.2 %) en plántulas de *Vigna radiata* la germinación de las semillas y la longitud de raíz aumentaron significativamente. Dicho resultado puede estar relacionado con el análisis químico del extracto donde se observó que *U. lactuca* contiene macroelementos: N, P, K, Mg y Ca, microelementos: Fe, Mn, Zn y Cu y compuestos orgánicos como carbohidratos, proteínas, los cuales son indispensables para todos los procesos de crecimiento y desarrollo de las plantas (por ejemplo, crecimiento de raíces, fotosíntesis, maduración, floración) así como en la regulación de los procesos fisicoquímicos y ayudan a la absorción de otros nutrientes (Villares *et al.*, 2007; Pilon-Smits *et al.*, 2009).

De igual forma, en el presente trabajo se observó un aumento significativo en la longitud y área de raíz cuando las plantas fueron inoculadas con *R. intraradices* y regadas con la solución nutritiva a baja concentración de P. Lo cual coincide con el estudio de Copetta *et al.*, (2011), quienes encontraron que el inóculo con *Glomus mosseae*, *G. caledonium*, *G. viscosum*, *G. intraradices* y *G. coronatum*, mejoró el desarrollo de la raíz en plantas de tomate. En la misma línea de investigación, Berta *et al.* (2002); Gamalero *et al.* (2004) mostraron que con el establecimiento de *Glomus mosseae* en plantas de tomate, se favoreció la arquitectura de raíz, aumentó el área radical, optimizando la entrada y el transporte de nutrientes, particularmente, mejorando la nutrición con fósforo. No obstante, los HMA poseen la capacidad de estimular la formación de raíces debido a la actividad fisiológica de

estos endófitos para sintetizar reguladores del crecimiento como auxinas y citocininas (Gianinazzi-Pearson *et al.*, 1991).

Cuando las plantas fueron inoculadas con el HMA y regadas con la solución nutritiva a alta concentración de P, se observó un incremento significativo en la longitud de raíz. Además, en las plantas tratadas simultáneamente con ambos bioestimulantes (RI+EA) se registraron los valores máximos en la longitud y área de raíz. Zodape *et al.* (2008) y Gollan y Wright, (2006) mencionan que los extractos de algas aumentan la proliferación y el establecimiento de las raíces, esto se debe posiblemente a que las algas contienen beta caroteno, tiamina, riboflavina, vitamina K, auxinas, citoquininas, giberelinas, polisacáridos, minerales, entre otros compuestos activos que tienen un papel importante en el aumento de la división celular. También, se sabe que los componentes químicos del extracto de algas marinas inducen el crecimiento y la colonización de las raíces por los HMA en el suelo (Kuwada *et al.*, 2000; 2006a, b).

Respecto a la evaluación de los parámetros morfológicos de la parte aérea de las plantas existe numerosa información del efecto de los hongos micorrícicos (Berta *et al.*, 2002; Gamalero *et al.*, 2004) y los extractos de algas (Crouch *et al.*, 1990, 1992; Khan *et al.*, 2009), así como el empleo de altas y bajas concentraciones de fosfato en las plantas (Breuillin *et al.*, 2010; Balzergue *et al.*, 2011). Sin embargo, en el presente trabajo no hubo incrementos significativos en los parámetros (área foliar, número de hojas, longitud de tallo y peso fresco de brotes) entre los tratamientos cuando se aplicaron los bioestimulantes.

Durante la evaluación de los parámetros de desarrollo en flor y fruto, lo primero que se observó fue que en las plantas control, regadas con ambas concentraciones de P prevaleció una mayor cantidad de flores y por consiguiente, hubo menor cantidad de frutos y peso en los mismos.

En el resto de las plantas cuando se realizó la medición de las flores, estas ya se habían convertido en frutos. Es por ello que, en el número y peso de frutos hubo un aumento significativo en las plantas tratadas con el extracto de *U. lactuca* (0.2 %) cuando fueron regadas con ambas concentraciones de P, lo cual resulta lógico ya que en donde hubo mayor

número de frutos el peso fue proporcional. No obstante, en las plantas tratadas con ambos bioestimulantes (RI+EA) y regadas con alta concentración de P, se observó un aumento significativo solo en el número de frutos. Por lo tanto, dichos resultados coinciden con el trabajo de Jensen (2004) quien señaló que el uso de extractos de algas marinas en la nutrición de las plantas conduce a un mayor aumento en el número de frutos y en el rendimiento total, debido a que contienen muchos macro y micronutrientes, tal y como se observó en los resultados del análisis del extracto de *U. lactuca*. También con el experimento que realizaron Stirk y Staden (1998) se observó que la aplicación del extracto comercial de alga marina (Kelpak) favoreció el número de flores y estimuló la producción temprana de fruta y la maduración en las plantas de tomate, así como el incremento del peso fresco de la fruta. En otro estudio realizado por Crouch y Van Staden (1992) atribuyeron que el aumento en el número de flores y una mejor fructificación se debía al crecimiento más vigoroso de las plantas tratadas con extractos de algas, ya que estos proveen mayor contenido de reguladores de crecimiento en las plantas, principalmente citoquinina (Van Staden y Cook, 1986), la cual esta presente en *U. lactuca* (Ramya *et al.*, 2010), que pudieron haber aumentado la movilización de nutrientes hacia las frutas que se constituyen como una demanda fuerte de nutrientes y fotoasimilados. También hay trabajos en donde se reporta que la inoculación de HMA incrementan el rendimiento de producción de tomate. Como es el caso William (2007) quienes obtuvieron un aumento de 40 % en el rendimiento de tomate en vivero con la inoculación de *Glomus mosseae* y *Scutellospora calospora*. En otro estudio Regvar *et al.* (2003) quienes inocularon plántulas de tomate de dos meses de edad con una mezcla de micorrizas autóctonas y observaron un aumento del 26 % en el rendimiento. En un experimento de campo Mohandas (1987), inoculó plántulas de tomate con el HMA (*G. fasciculatum*) y obtuvo un aumento de 13 % en el rendimiento del fruto. En cuanto a lo reportado para ambos bioestimulantes, se puede comparar con el estudio de Suhail (2013 b) quién encontró que al aplicar extracto de alga en plantas de pepino inoculadas con *G. intraradices* el número de las hojas, frutas y peso seco total aumentó en 24 %, 17 % y 22 %, respectivamente.

La asociación simbiótica de raíces con HMA es una estrategia por la cual las plantas facilitan su adquisición de elementos minerales del suelo (Neumann y George, 2010). Mediante

diferentes enfoques experimentales (empleando isótopos radiactivos o estables de elementos nutricionales en combinación, *in vivo* o *in vitro*), se ha demostrado la absorción, el transporte y el suministro a la planta huésped de P y N con varias combinaciones de planta / HMA y en diferentes condiciones ambientales (George *et al.*, 1992; Smith *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2002). En lo que respecta, a los resultados obtenidos del análisis de absorción de nutrientes, se observó que no hubo diferencias significativas en la cantidad de P en las plantas de los distintos tratamientos, por el contrario, se esperaba como resultado mayor incremento de P en las plantas con bioestimulantes y aún más en las plantas donde se observó mayor colonización micorrícica. Debido a que el P es uno de los nutrimentos que más se ha estudiado en relación con su absorción mediada por los HMA (Zhu *et al.*, 2003), la información bibliográfica al respecto es extensa (Bolan, 1991; Li *et al.*, 2006; Javot *et al.*, 2007; Smith *et al.*, 2011). En este estudio *R. intraradices* no tuvo capacidad de absorción de P, se cree que dicho comportamiento se pudo deber a la biología del HMA y a las condiciones en las se encontraba, así como también a las características de la planta hospedadora. Aguilera *et al.* (2007) mencionaron que es posible que diferentes especies o cepas de HMA difieran en la eficiencia con la cual toman el P. En un experimento, Pearson y Jakobsen (1993) observaron diferencias en la absorción de P en tres diferentes especies de HMA que se encontraban asociados a *Cucumis sativus*. Así, *G. caledonium* probó poseer mayor rapidez al absorber P y translocarlo, que *Glomus* sp. y que *Scutellospora calospora*. Por otra parte, según lo reportado por Powell y Daniel (1978) la efectividad en la absorción de P por plantas colonizadas puede variar también dependiendo de la fuente del nutrimento.

En relación al porcentaje de N presente en el tejido foliar de las plantas, se pudo observar que hubo un aumento significativo en las plantas inoculadas con *R. intraradices* cuando fueron regadas con la solución nutritiva a baja concentración de P. Este resultado está sustentado con los estudios de George *et al.* (1995), Hernández y Chailloux (2004) y Copetta *et al.* (2011) quienes obtuvieron que el contenido de N incrementó significativamente cuando las plantas de tomate fueron inoculadas con HMA. Existe evidencia de que los HMA pueden ayudar a la planta a obtener nutrientes minerales, principalmente al usar su extensa red de hifas externas, que ramifican e invaden las regiones de la rizósfera, es decir, contribuye a aumentar la disponibilidad y la captación de macro y micronutrientes (Krishna y Bagyaraj,

1991). Esto se puede asociar con el crecimiento de las raíces, puede ser que con raíces colonizadas por HMA pudieron absorber más nutrientes incluso de lugares distantes (Zodape *et al.*, 2008). Finalmente, es preciso señalar que el papel de los HMA en la absorción de nutrientes diferentes a P, cobra cada día mayor relevancia, ya que existen evidencias de que las hifas externas tienen la capacidad para absorber y traslocar nutrimentos como N, K, Ca, Mg, Si, Cu, Zn, B y Fe, dado que se han encontrado concentraciones más altas de estos elementos en plantas micorrizadas (Nakano *et al.*, 2001).

Además, se observó que hubo un aumento significativo en el contenido de carbohidratos totales las plantas inoculadas con *R. intraradices* cuando fueron regadas con la solución nutritiva a baja concentración de P. Dichos resultados, coinciden con el estudio de McArthur y Knowles (1993), quienes caracterizaron las interacciones morfológicas y bioquímicas entre el HMA (*Glomus fasciculatum*) y plantas de papa (*Solanum tuberosum*) con diferentes concentraciones de P, obteniendo mayor cantidad de azúcares en brotes y raíces de plantas con bajo P. En otro trabajo similar, Da Silveira *et al.* (2003) evaluaron la influencia de la inoculación de seis especies de HMA (*G. clarum*, *G. etunicatum*, *G. manihotis*, *Acaulospora scrobiculata*, *Scutellospora heterogama*, *Gigaspora margarita*) en la nutrición mineral y el contenido de carbohidratos en plantas de aguacate, y observaron que todas las especies de HMA aumentaron las cantidades de carbohidratos en la parte aérea de las plantas. Por otro lado, también se observó un aumento significativo de CT en las plantas con el tratamiento de ambos bioestimulantes (RI+EA) cuando fueron regadas con la solución nutritiva a alta concentración de P. El aumento de carbohidratos puede deberse a la presencia de magnesio en el extracto de *U. lactuca*, que podría haber desencadenado la síntesis de clorofila y, con ello, aumentar las tasas fotosintéticas (Ramya *et al.*, 2015). No se encontraron trabajos reportados que evalúen la cantidad de CT presentes en plantas tratadas con ambos bioestimulantes, pero, si hay información de trabajos con extractos de algas. Por ejemplo Mohammed (2009), evaluó el efecto del extracto de algas marinas y fertilizante de urea como aplicación foliar en plantas de pepino, sobre el crecimiento vegetativo y el rendimiento del pepino, los resultados indicaron que hubo un efecto significativo debido al extracto de algas en todos los parámetros evaluados incluyendo los carbohidratos. Del igual forma, Babu y Rengasamy (2012) evaluaron el efecto de un extracto líquido de algas marinas a diferentes



concentraciones sobre plántulas de arroz (*Oryza sativa*), cacahuete (*Arachis hipogaea*) y chile (*Capsicum annum*), el estudio reveló que con bajas concentraciones del extracto (1 % y 2 %) hubo un aumento significativo sobre la cantidad de carbohidratos en las plantas. En el trabajo de Castellanos-Barriga *et al.* (2017), se evaluó el efecto de los extractos líquidos del alga marina (*Ulva lactuca*) a diferentes concentraciones sobre el crecimiento de las plántulas de frijol mungo (*Vigna radiata*), observaron que la concentración de azúcares totales y reductores fue mayor en las plantas tratadas con casi todos los tratamientos en concentraciones más altas (0.8 % y 1 %), sin embargo, no hubo diferencias significativas con la concentración más baja de extracto (0.2 %), tal como fue el caso de los resultados en el presente estudio. Con esta evaluación se esperaba encontrar menor cantidad de CT en los tratamientos en donde hubo mayor cantidad de frutos (tratamiento con extracto de alga), debido a que cuando la planta produce frutos, los carbohidratos disponibles en la planta se van directo a éstos (Herold, 1980). Por otra parte; hubo mayor cantidad de carbohidratos en los tratamientos en donde hubo menor cantidad de frutos, como fue el caso del tratamiento con *R. intraradices* con la solución nutritiva a baja concentración de P. En el caso del tratamiento RI+ EA con la solución nutritiva a alta concentración de P, sorprendió que tuviera la mayor cantidad de CT, ya que este tratamiento también tuvo alta cantidad de frutos, se cree que la planta tenía suficientes CT, que pudo proveer a los frutos y seguir reservando en el tejido foliar.

## 10 CONCLUSIÓN

1. El alga marina *Ulva lactuca* contiene alta concentración de carbohidratos, moderada cantidad de proteínas y fibra, y un contenido bajo de lípidos y nitrógeno total.
2. El extracto de alga presenta altas cantidades de macro y micronutrientes como: magnesio, calcio y nitrógeno, lo cual se relaciona con la capacidad promotora de crecimiento en plantas por ello se puede considerar bioestimulante.
3. El extracto de *U. lactuca* estimuló el desarrollo de estructuras fúngicas y la colonización de *Rhizophagus intraradices* en las raíces de las plantas de tomate regadas con solución nutritiva a baja concentración de P y promovió la formación de frutos en las plantas regadas con ambas concentraciones de P.
4. El tratamiento con el hongo micorrícico arbuscular (*R. intrarradices*) promovió tanto el desarrollo de las raíces (longitud y área) en las plantas de tomate regadas con ambas concentraciones de P, así como el contenido de nitrógeno y carbohidratos totales en las plantas regadas con solución nutritiva a baja concentración de P.
5. No se observó un efecto sinérgico en la promoción de crecimiento y rendimiento de tomate, al aplicar de forma conjunta el extracto de *U. lactuca* y la inoculación con el hongo micorrícico (*R. intrarradices*). No obstante, la presencia de ambos bioestimulantes promovió tanto el desarrollo de las raíces y el contenido de carbohidratos totales, particularmente en plantas regadas con solución nutritiva a alta concentración de P, así como el porcentaje de colonización micorrícica en plantas regadas con baja concentración de P.

## 11 BIBLIOGRAFÍA

Abd-Ellatef, G. E. F., Ahmed, O. M., Abdel-Reheim, E. S., & Abdel-Hamid, A. H. Z. (2017). *Ulva lactuca* polysaccharides prevent Wistar rat breast carcinogenesis through the augmentation of apoptosis, enhancement of antioxidant defense system, and suppression of inflammation. *Breast Cancer: Targets and Therapy*, 9, 67–83. <https://doi.org/10.2147/BCTT.S125165>.

Abirami, R. G., & Kowsalya, S. (2011). Nutrient and nutraceutical potentials of seaweed biomass *Ulva lactuca* and *Kappaphycus alvarezii*. *Agricultural Science and Technology*, 5(1), 1–7.

Abudabos, A. M., Okab, A. B., Aljumaah, R. S., Samara, E. M., Abdoun, K. A., & Al-Haidary, A. A. (2013). Nutritional value of green seaweed (*Ulva lactuca*) for broiler chickens. *Italian Journal of Animal Science*, 12(2), 177–181. <https://doi.org/10.4081/ijas.2013.e28>.

Aguilera, L. I., Olalde, V., Rubí, M., & Contreras, R. (2007). Micorrizas arbusculares. *Ciencia Ergo-Sum*, 14, 299–307. <http://www.redalyc.org/pdf/104/10414307.pdf>.

Aguirre-Medina, J. F., Moroyoqui-Ovilla, D. M., Mendoza-López, A., Cadena-Iñiguez, J., Avendaño-Arrazate, C. H., & Aguirre-Cadena, J. F. (2011). Hongo endomicorrízico y bacteria fijadora de nitrógeno inoculadas a *Coffea arabica* en vivero. *Agronomía Mesoamericana*, 22(1), 71–80. <https://doi.org/1021-7444>.

Aguirre Medina, J. F., Aguirre-Cadena, J. F., Cadena-Iñiguez, J., Arevalo-Galarza, M. D. L., Rosas-Quijano, R., & Galvez-Lopez, D. (2017). Influence of *Rhizophagus intraradices* and phosphorus fertilization on growth, yield and N P content in grain of *Phaseolus vulgaris*. *Legume Research*, 40(4), 735–740. <https://doi.org/10.18805/lr.v0i0.8413>.

Akköprü, A., & Demir, S. (2005). Biological control of *Fusarium* wilt in tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* by AMF *Glomus intraradices* and some rhizobacteria.

*Journal of Phytopathology*, 153(9), 544–550. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2005.01018.x>.

Alagan, V., Valsala, R., & Rajesh, K. (2017). Bioactive chemical constituent analysis, in vitro antioxidant and antimicrobial activity of whole plant methanol extracts of *Ulva lactuca* Linn. *British Journal of Pharmaceutical Research*, 15(1), 1–14. <https://doi.org/10.9734/bjpr/2017/31818>.

Alarcón, A., & Ferrera-Cerrato, R. (2000). Manejo de la micorriza arbuscular en sistemas de propagación de plantas frutícolas. *Terra*, 17, 179–191.

Alfonso, E. T., & Galán, A. L. (2006). Evaluación Agrobiológica de la coinoculación Micorrizas-Rizobacterias en Tomate. *Agronomía Costarricense*, 30(1), 65–73. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43630106>.

Alguacil, M. D. M., Díaz-Pereira, E., Caravaca, F., Fernández, D. A., & Roldán, A. (2009). Increased diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in a long-term field experiment via application of organic amendments to a semiarid degraded soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(13), 4254–4263. <https://doi.org/10.1128/AEM.00316-09>.

Allen, E. B., & Allen, M. F. (1984). Competition between plants of different successional stages: mycorrhizae as regulators. *Canadian Journal of Botany*, 62(12), 2625–2629. <https://doi.org/10.1139/b84-356>.

Alonso-Contreras, R., Aguilera-Gómez, L. I., Rubí-Arriaga, M., González-Huerta, A., & Olalde-Portugal, V. (2013). Influencia de hongos micorrícicos arbusculares en el crecimiento y desarrollo de *Capsicum annuum* L. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 4(1), 77–88.

Altieri, M. A., & Nicholls, C. I. (2017). The adaptation and mitigation potential of traditional agriculture in a changing climate. *Climatic Change*, 140(1), 33–45. <https://doi.org/10.1007/s10584-013-0909-y>.

Anisimov, M., Chaikina, E., Klykov, A., & Rasskazov, V. (2013). Effect of seaweeds extracts on the growth of seedling roots of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) is depended on the season of algae collection. *Agriculture Science Developments*, 2(8), 67–75. [www.tijournals.com](http://www.tijournals.com).

AOAC. (1990). Association of official analytical chemists. Official methods of analysis. 15<sup>th</sup> Ed. Washington, D.C. 1, 1-771.

Ardestani, M. M., Jílková, V., Bonkowski, M., & Frouz, J. (2019). The effect of arbuscular mycorrhizal fungi *Rhizophagus intraradices* and soil microbial community on a model plant community in a post-mining soil. *Plant Ecology*, 220(9), 789–800. <https://doi.org/10.1007/s11258-019-00953-w>.

Argerich, C., Troilo, L., Fazzone, M. R., Izquierdo, J., Strassera, M. E., Balcaza, L., & Iribarren, M. J. (2013). Manual de buenas prácticas agrícolas en la cadena de tomate. *FAO*, 1–258.

Arioli, T., Mattner, S. W., & Winberg, P. C. (2015). Applications of seaweed extracts in Australian agriculture: past, present and future. *Journal of Applied Phycology*, 27(5), 2007–2015. <https://doi.org/10.1007/s10811-015-0574-9>.

Armstrong, L., & Peterson, R. (2002). The interface between the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and root cells of *Panax quinquefolius*: a Paris-type mycorrhizal association. *Micologia*, 94(4), 587–595. <https://doi.org/https://doi.org/10.1080/15572536.2003.11833187>.

Artursson, V., Finlay, R. D., & Jansson, J. K. (2006). Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. *Environmental Microbiology*, 8(1), 1–10. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2005.00942.x>.

Babu, S., & Rengasamy, R. (2012). Effect of *Kappaphycus alvarezii* SLF treatment on Seed germination, growth and development of seedling in some crop plants. *Industrial Research*, 1(4), 186–195.

Bai, Y., & Lindhout, P. (2007). Domestication and breeding of tomatoes: What have we gained and what can we gain in the future?. *Annals of Botany*, 100(5), 1085–1094. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm150>.

Balzergue, C., Puech-Pags, V., Bécard, G., & Rochange, S. (2011). The regulation of arbuscular mycorrhizal symbiosis by phosphate in pea involves early and systemic signalling events. *Journal of Experimental Botany*, 62(3), 1049–1060. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq335>.

Barea, J. M., Ferrol, N., Azcón-Aguilar, C., & Azcón, R. (2008). Mycorrhizal Symbioses. *The Ecophysiology of Plant-Phosphorus Interactions*. Springer Science + Business Media B.V. 7, 143–163.

Barea, M. (1991). Vesicular-arbuscular mycorrhizae as modifiers of soil fertility. *Springer-Verlag New York Inc. Advances in Soil Science*, 15, 1–40. [https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-1-4612-3030-4\\_1](https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-1-4612-3030-4_1).

Barrer, S. E. (2009). El uso de hongos micorrízicos arbusculares como una alternativa para la agricultura. *Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 5(1), 123–132. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(83\)80219-8](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(83)80219-8).

Battacharyya, D., Babgohari, M., Rathor, P., & Prithiviraj, B. (2015). Seaweed extracts as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196, 39–48. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.012>.

Bearden, B. N., & Petersen, L. (2000). Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on soil structure and aggregate stability of a vertisol. *Plant and Soil*, 218(1–2), 173–183.

<https://doi.org/10.1023/A:1014923911324>.

Bedini, S., Pellegrino, E., Avio, L., Pellegrini, S., Bazzoffi, P., Argese, E., & Giovannetti, M. (2009). Changes in soil aggregation and glomalin-related soil protein content as affected by the arbuscular mycorrhizal fungal species *Glomus mosseae* and *Glomus intraradices*. *Soil Biology and Biochemistry*, *41*(7), 1491–1496. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.04.005>.

Bedoux, G., Hardouin, K., Burlot, A. S., & Bourgoignon, N. (2014). Bioactive components from seaweeds: Cosmetic applications and future development. *Advances in Botanical Research*. Elsevier. *71*, 345-378 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-408062-1.00012-3>.

Barbara, R., Souza, F. A., & Fonseca, H. (2006). III - Fungos micorrízicos arbusculares : muito além da nutrição. In M. S. Fernandes (Ed.), *Nutrição Mineral de Plantas*. Aveiro, Portugal. 1-17.

Berta, G., Fusconi, A., & Hooker, J. (2002). Arbuscular mycorrhizal modifications to plant root systems: scale, mechanisms and consequences. *Mycorrhizal Technology in Agriculture*, 71–85.

Bingham, M. A., & Biondini, M. (2009). Mycorrhizal hyphal length as a function of plant community richness and composition in restored northern tallgrass prairies (USA). *Rangeland Ecology and Management*, *62*(1), 60–67. <https://doi.org/10.2111/08-088>.

Bocanegra, A., Bastida, S., Benedí, J., Ródenas, S., & Sánchez-Muniz, F. J. (2009). Characteristics and nutritional and cardiovascular-health properties of seaweeds. *Journal of Medicinal Food*, *12*(2), 236–258. <https://doi.org/10.1089/jmf.2008.0151>.

Bolan, N. S. (1991). A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant and Soil*, *134*(2), 189–207. <https://doi.org/10.1007/BF00012037>.

Bonfante-Fasolo, P., Genre, A., & Bianciotto, V. (2004). The colonization strategies of arbuscular mycorrhizal fungi: An overview of their cellular interactions with plants and bacteria. *Universidad de Guanajuato, Guanajuato, México*. 19-28.

Bonfante-Fasolo, P., & Anca, I. A. (2009). Plants, Mycorrhizal Fungi, and Bacteria: A Network of Interactions. *Annual Review of Microbiology*, 63(1), 363–383. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.091208.073504>.

Boraso de Zaixso, A. L. (2004). Marine chlorophyta of Argentina. *Historia Natural (Segunda Serie)*, 3(11), 95–119.

Bradley, K., Drijber, R. A., & Knops, J. (2006). Increased N availability in grassland soils modifies their microbial communities and decreases the abundance of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(7), 1583–1595. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.11.011>.

Breuillin, F., Schramm, J., Hajirezaei, M., Ahkami, A., Favre, P., Druège, U., Hause, B., Bucher, M., Kretschmar, T., Bossolini, E., Kuhlemeier, C., Martinoia, E., Franken, P., Scholz, U., & Reinhardt, D. (2010). Phosphate systemically inhibits development of arbuscular mycorrhiza in *Petunia hybrida* and represses genes involved in mycorrhizal functioning. *Plant Journal*, 64(6), 1002–1017. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2010.04385.x>.

Breure, M. S. (2014). Exploring the potential for using seaweed (*Ulva lactuca*) as organic fertiliser. MSc Thesis Plant Production Systems. Wageningen University. PPS-80436. 1-69.

Bruhn, A., Dahl, J., Nielsen, H. B., Nikolaisen, L., Rasmussen, M. B., Markager, S., & Jensen, P. D. (2011). Bioenergy potential of *Ulva lactuca*: Biomass yield, methane production and combustion. *Bioresource Technology*, 102(3), 2595–2604. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.10.010>.



Brundrett, M., & Kendrick, B. (1990). The roots and mycorrhizas of herbaceous woodland plants: I. Quantitative aspects of morphology. *New Phytologist*, *114*(3), 457–468. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1990.tb00414.x>.

Buendia, L., Wang, T., Girardin, A., & Lefebvre, B. (2016). The LysM receptor-like kinase SLLYK10 regulates the arbuscular mycorrhizal symbiosis in tomato. *New Phytologist*, *210*(1), 184–195. <https://doi.org/10.1111/nph.13753>.

Bulgari, R., Cocetta, G., Trivellini, A., Vernieri, P., & Ferrante, A. (2015). Biostimulants and crop responses: A review. *Biological Agriculture and Horticulture*, *31*(1), 1–17. <https://doi.org/10.1080/01448765.2014.964649>.

Calvo, P., Nelson, L., & Kloepper, J. W. (2014). Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant and Soil*, *383*(1–2), 3–41. <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2131-8>.

Cañedo, C. B. I. (2015). Crecimiento de *Ulva* sp. en respuesta al enriquecimiento con nutrientes en condiciones de laboratorio. Universidad Autonoma de Baja California Sur. 1-49.

Cardoso, S., Carvalho, L., Silva, P., Rodrigues, M., Pereira, O., & Pereira, L. (2014). Bioproducts from seaweeds: A review with special focus on the Iberian Peninsula. *Current Organic Chemistry*, *18*(7), 896–917. <https://doi.org/10.2174/138527281807140515154116>.

Carnal, N. W., & Black, C. C. (2008). Soluble sugars as the carbohydrate reserve for CAM in pineapple leaves : Implications for the role of pyrophosphate:6-phosphofructokinase in glycolysis. *Plant Physiology*, *90*(1), 91–100. <https://doi.org/10.1104/pp.90.1.91>.

Castellanos-Barriga, L. G., Santacruz-Ruvalcaba, F., Hernández-Carmona, G., Ramírez-Briones, E., & Hernández-Herrera, R. M. (2017). Effect of seaweed liquid extracts from *Ulva lactuca* on seedling growth of mung bean (*Vigna radiata*). *Journal of Applied Phycology*, *29*(5), 2479–2488. <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1082-x>.

Castro-González, M.I; Pérez-Gil, F., & Pérez-Estrella, S; Carrillo-Domínguez, S. (1996). Chemical composition of the green alga *Ulva lactuca*. *Ciencias marinas*. 22(27), 205–213.

Cavagnaro, T. R., Gao, L. L., Smith, F. A., & Smith, S. E. (2001). Morphology of arbuscular mycorrhizas is influenced by fungal identity. *New Phytologist*, 151(2), 469–475. <https://doi.org/10.1046/j.0028-646X.2001.00191.x>.

Cervantes-Gámez, R. G., Bueno-Ibarra, M. A., Cruz-Mendivil, A., Calderón-Vázquez, C. L., Ramírez-Douriet, C. M., Maldonado-Mendoza, I. E., & López-Meyer, M. (2016). Arbuscular mycorrhizal symbiosis-induced expression changes in *Solanum lycopersicum* leaves revealed by RNA-seq analysis. *Plant Molecular Biology Reporter*, 34(1), 89–102. <https://doi.org/10.1007/s11105-015-0903-9>.

Cesário, M. T., da Fonseca, M. M. R., Marques, M. M., & de Almeida, M. C. M. D. (2018). Marine algal carbohydrates as carbon sources for the production of biochemicals and biomaterials. *Biotechnology Advances*. 36(3), 798–817. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.02.006>.

Chemodanov, A., Jinjikhashvily, G., Habiby, O., Liberzon, A., Israel, A., Yakhini, Z., & Golberg, A. (2017). Net primary productivity, biofuel production and CO<sub>2</sub> emissions reduction potential of *Ulva sp.* (Chlorophyta) biomass in a coastal area of the Eastern Mediterranean. *Energy Conversion and Management*, 148, 1497–1507. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2017.06.066>.

Colla, G., Roupael, Y., Di Mattia, E., El-Nakhel, C., & Cardarelli, M. (2015). Co-inoculation of *Glomus intraradices* and *Trichoderma atroviride* acts as a biostimulant to promote growth, yield and nutrient uptake of vegetable crops. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(8), 1706–1715. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6875>.

Copetta, A., Bardi, L., Bertolone, E., & Berta, G. (2011). Fruit production and quality of tomato plants (*Solanum lycopersicum* L.) are affected by green compost and arbuscular

mycorrhizal fungi. *Plant Biosystems*, 145(1), 106–115.  
<https://doi.org/10.1080/11263504.2010.539781>.

Costa, L. S., Fidelis, G. P., Cordeiro, S. L., Oliveira, R. M., Sabry, D. A., Câmara, R. B. G., & Rocha, H. A. O. (2010). Biological activities of sulfated polysaccharides from tropical seaweeds. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 64(1), 21–28.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2009.03.005>.

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

Crossay, T., Antheaume, C., Redecker, D., Bon, L., Chedri, N., Richert, C., & Amir, H. (2017). New method for the identification of arbuscular mycorrhizal fungi by proteomic-based biotyping of spores using MALDI-TOF-MS. *Scientific Reports*, 7(1), 1–16.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-14487-6>.

Crouch, I. J., Beckett, R. P., & Staden, J. van. (1990). Effect of seaweed concentrate on the growth and mineral nutrition of nutrient-stressed lettuce. *Journal of Applied Phycology*, 2(3), 269–272. <https://doi.org/10.1007/BF02179784>.

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/BF02185785>.

Czarnota, M. A., Rimando, A. M., & Weston, L. A. (2003). Evaluation of seven Sorghum (*Sorghum* sp.) accessions. *Journal of Chemical Ecology*, 29(9), 2073–2083.

da Silva, D. K. A., Silva, F. S. B. da, Yano-Melo, A. M., & Maia, L. C. (2008). Uso de vermicomposto favorece o crescimento de mudas de gravioleira (*Annona muricata* L. 'Morada') associadas a fungos micorrízicos arbusculares. *Acta Botanica Brasilica*, 22(3), 863–869. <https://doi.org/10.1590/s0102-33062008000300021>.

da Silveira, S., De Souza, P. V. D., Koller, O., & Schwarz, S. (2003). Elementos minerales y carbohidratos en plantones de aguacate `Carmen` inoculados con micorrizas arbusculares. In *Proceedings V World Avocado Congress (Actas V Congreso Mundial del Aguacate)*. 415–420.

Datnoff, L.E., Nemeček, S., & Pernezny, K. (1995). Biological control of *Fusarium* crown and root rot of tomato in Florida using *Trichoderma* and *Glomus intraradices*. *Biological Control*, 5, 427–431.

Del Val, C., Barea, J. M., & Azcón-Aguilar, C. (1999). Assessing the tolerance to heavy metals of arbuscular mycorrhizal fungi isolated from sewage sludge-contaminated soils. *Applied Soil Ecology*, 11(2–3), 261–269. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(98\)00153-X](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(98)00153-X).

Dickson, S. (2004). The Arum-Paris continuum of mycorrhizal symbioses. *New Phytologist*, 163(1), 187–200. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01095.x>.

Diederichs, C., & Moawad, A. M. (1993). The potential of VA mycorrhizae for plant nutrition in the tropics. *Angewandte Botanik*, 67(3–4), 91–96.

Dobromilska, R., Gubarewicz, K., & Mikiciuk, M. (2008). Evaluation of cherry tomato yielding and fruit mineral composition after using-of Bio-algeen S-90 preparation. *Journal of Elementology*, 13(4), 491–499.

Dominguez, H., & Loret, E. P. (2019). *Ulva lactuca*, A Source of Troubles and Potential Riches. *Marine Drugs*, 17(6), 1–20. <https://doi.org/10.3390/md17060357>.

du Jardin, P. (2012). The Science of Plant Biostimulants - A bibliographic analysis. *Report on Biostimulants*, (Contract 30-CE0455515/00-96), 1-37.

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>.

El Ashry, E. S. H., Choudhary, M. I., Kandil, S. H., El Nemr, A., Gulzar, T., & Shobier, A. H. (2011). Studies on the constituents of the green alga *Ulva lactuca*. *Chemistry of Natural Compounds*, 47(3), 335–338. <https://doi.org/10.1007/s10600-011-9926-0>.

El Gamal, M., Massoud, O. N., & Salem, O. M. . (2009). The promotive effect of algae and *Rhizobium leguminosarum* on arbuscular mycorrhizal fungi activity and their impact on faba bean plant. *Botany and Microbiol*, 24, 15.

Elmegeed, D. F. A., Ghareeb, D. a, & El-saadani, M. (2014). Phytochemical constituents and bioscreening activities of green algae (*Ulva Lactuca*). *International Journal of Agricultural Policy and Research*, 2(11), 373–378. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.15739/IJAPR.009>.

Estrada, V. (2010). Germinación de semillas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Var. Rio grande con dos niveles de niveles de lombricomposta bajo lombricomposta bajo condiciones de laboratorio. *Universidad Autonoma Agraria Antonio Narro*. 1-47.

Faury, G., Molinari, J., Mariko, B., Raveaud, S., Huber, P., Velebny, V., & Robert, L. (2011). Receptors and aging: Structural selectivity of the rhamnase-receptor on fibroblasts as shown by Ca<sup>2+</sup>-mobilization and gene-expression profiles. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 53(1), 106–112. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.archger.2010.05.017>

Fayuan, W. (2017). Arbuscular Mycorrhizas and Ecosystem Restoration. In *Arbuscular Mycorrhizas and Stress Tolerance of Plants*. Republic of China: Springer Nature Singapore Pte Ltd. 11, 245–292. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-4115-0>.

Ferrini, F., & Nicese, F. (2002). Response of English oak (*Quercus robur* L.) trees to biostimulants application in the urban environment. *Journal of Arboriculture*, 28(2), 70–75. <https://doi.org/0278-5226>.

Fierro-Coronado, R. A., Castro-Moreno, M. G., Ruelas-Ayala, R. D., Apodaca-Sánchez, M. A., & Maldonado-Mendoza, I. E. (2013). Induced protection by *Rhizophagus intraradices* against *Fusarium* wilt of tomato. *Interciencia*, 38(1), 48–53.

Fitzsimons, M. S., Miller, R. M., & Jastrow, J. D. (2008). Scale-dependent niche axes of arbuscular mycorrhizal fungi. *Oecologia*, 158(1), 117–127. <https://doi.org/10.1007/s00442-008-1117-8>.

Fornaris, G. (2007). Características de la planta. Conjunto Tecnológico para la Producción de Tomate de Ensalada. *Universidad de Puerto Rico*. 1-6.

Frikha, F., Kammoun, M., Hammami, N., Mchirgui, R. A., Belbahri, L., Gargouri, Y., & Ben-Rebah, F. (2011). Chemical composition and some biological activities of marine algae collected in Tunisia. *Ciencias Marinas*, 37(2), 113–124. <https://doi.org/10.7773/cm.v37i2.1712>.

Fuchs, B., & Haselwandter, K. (2008). Arbuscular mycorrhiza of endangered plant species: Potential impacts on restoration strategies. *Mycorrhiza*, 25(6020), 565–579. [https://doi.org/10.1007/978-3-540-78826-3\\_27](https://doi.org/10.1007/978-3-540-78826-3_27).

Gallaud, I. (1905). Études sur les Mycorrhizes Endotrophes. Lille, France: le Bigot Frères. *Revue Générale de Botanique*, 17, 5–48, 6–83, 123–136, 223–239, 313–325, 425–433, 47.

Gamalero, E., Trotta, A., Massa, N., Copetta, A., Martinotti, M. G., & Berta, G. (2004). Impact of two fluorescent pseudomonads and an arbuscular mycorrhizal fungus on tomato plant growth, root architecture and P acquisition. *Mycorrhiza*, 14(3), 185–192. <https://doi.org/10.1007/s00572-003-0256-3>.

Gaur, A., & Adholeya, A. (2004). Prospects of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. *Current Science*, 86(4), 528–534.

Gaur, A., & Adholeya, A. (2000). Effects of the particle size of soil-less substrates upon AM fungus inoculum production. *Mycorrhiza*, *10*(1), 43–48. <https://doi.org/10.1007/s005720050286>.

George, E., Häussler, K.-U., Vetterlein, D., Gorgus, E., & Marschner, H. (1992). Water and nutrient translocation by hyphae of *Glomus mosseae*. *Canadian Journal of Botany*, *70*(11), 2130–2137. <https://doi.org/10.1139/b92-265>.

George, E., Marschner, H., & Jakobsen, I. (1995). Role of arbuscular mycorrhizal fungi in uptake of phosphorus and nitrogen from soil. *Critical Reviews in Biotechnology*, *15*(3–4), 257–270. <https://doi.org/10.3109/07388559509147412>.

Gianinazzi-Pearson, V., Gianinazzi, S., Guillemain, J. P., Trouvelot, A., & Duc, G. (1991). Genetic and cellular analysis of resistance to vesicular arbuscular (VA) mycorrhizal fungi in pea mutants. *Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture*, *10*, 336–342. [https://doi.org/10.1007/978-94-015-7934-6\\_52](https://doi.org/10.1007/978-94-015-7934-6_52).

Gianinazzi, S., Golotte, A., Binet, M. N., van Tuinen, D., Redecker, D., & Wipf, D. (2010). Agroecology: The key role of arbuscular mycorrhizas in ecosystem services. *Mycorrhiza*, *20*(8), 519–530. <https://doi.org/10.1007/s00572-010-0333-3>.

Gianinazzi, S., Schüepp, H., Barea, J. M., & Haselwandter, K. (2003). Mycorrhizal technology in agriculture: from genes to bioproducts. 2001. *Mycorrhiza*, *13*(1), 53–54. <https://doi.org/10.1007/s00572-002-0217-2>.

Giovannetti, M., Avio, L., & Sbrana, C. (2010). Fungal spore germination and pre-symbiotic mycelial growth – physiological and genetic aspects. In H. Koltai & Y. Kapulnik (Eds.), *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function* (Second Edn), 3–33. Springer. [https://doi.org/10.1007/978-90-481-9489-6\\_1](https://doi.org/10.1007/978-90-481-9489-6_1).

Gollan, J. R., & Wright, J. T. (2006). Limited grazing pressure by native herbivores on the invasive seaweed *Caulerpa taxifolia* in a temperate Australian estuary. *Marine and Freshwater Research*, 57(7), 685. <https://doi.org/10.1071/mf05253>.

González-Cañizares, P. (2018). Manejo efectivo de la simbiosis micorrízica arbuscular vía inoculación y la fertilización mineral en pastos del género *Brachiaria*. *Universidad Agraria de La Habana*. 1-161. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.27770.95685>.

Gosling, P., Hodge, A., Goodlass, G., & Bending, G. D. (2006). Arbuscular mycorrhizal fungi and organic farming. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 113(1–4), 17–35. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2005.09.009>.

Graham, J. H., Leonard, R. T., & Menge, J. A. (1981). Membrane-mediated decrease in root exudation responsible for phosphorus inhibition of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation. *Plant Physiology*, 68(3), 548–552. <https://doi.org/10.1104/pp.68.3.548>.

Gryndler, M., Hršelová, H., Cajthaml, T., Havránková, M., Řezáčová, V., Gryndlerová, H., & Larsen, J. (2009). Influence of soil organic matter decomposition on arbuscular mycorrhizal fungi in terms of asymbiotic hyphal growth and root colonization. *Mycorrhiza*, 19(4), 255–266. <https://doi.org/10.1007/s00572-008-0217-y>.

Hajiboland, R., Aliasghar zad, N., Laiegh, S. F., & Poschenrieder, C. (2010). Colonization with arbuscular mycorrhizal fungi improves salinity tolerance of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants. *Plant and Soil*, 331(1), 313–327. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0255-z>.

Halpern, M., Bar-Tal, A., Ofek, M., Minz, D., Muller, T., & Yermiyahu, U. (2015). The Use of biostimulants for enhancing nutrient uptake. *Advances in Agronomy*. 130, 1-34. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2014.10.001>.



Hamed, S. M., Abd El-Rhman, A. A., Abdel-Raouf, N., & Ibraheem, I. B. M. (2018). Role of marine macroalgae in plant protection and improvement for sustainable agriculture technology. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 7(1), 104–110. <https://doi.org/10.1016/j.bjbas.2017.08.002>.

Harley, J. L., & Smith, S. E. (1983). Mycorrhizal symbiosis. Academic Press, Ed. New York, USA. 1-483.

Harrier, L. A., & Watson, C. A. (2004). The potential role of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi in the bioprotection of plants against soil-borne pathogens in organic and/or other sustainable farming systems. *Pest Management Science*, 60(2), 149–157. <https://doi.org/10.1002/ps.820>.

Harrison, M. J. (1998). Development of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Current Opinion in Plant Biology*, 1(4), 360–365. [https://doi.org/10.1016/1369-5266\(88\)80060-8](https://doi.org/10.1016/1369-5266(88)80060-8).

Hayden, H. S., Blomster, J., Maggs, C. A., Silva, P. C., Stanhope, M. J., & Waaland, J. R. (2003). Linnaeus was right all along: *Ulva* and *Enteromorpha* are not distinct genera. *European Journal of Phycology*, 38(3), 277–294. <https://doi.org/10.1080/1364253031000136321>.

Hayman, D., & Tavares, M. (1985). Plant growth responses to vesicular arbuscular mycorrhiza. XV. Influence of soil pH on the symbiotic efficiency of different endophytes. *The New Phytologist*, 100, 367–377.

Helgason, T., Merryweather, J. W., Denison, J., Wilson, P., Young, J. P. W., & Fitter, A. H. (2002). Selectivity and functional diversity in arbuscular mycorrhizas of co-occurring fungi and plants from a temperate deciduous woodland. *Journal of Ecology*, 90(2), 371–384. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2745.2001.00674.x>.

Hernández-Herrera, R. M., Santacruz-Ruvalcaba, F., Ruiz-López, M. A., Norrie, J., & Hernández-Carmona, G. (2014a). Effect of liquid seaweed extracts on growth of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum* L.). *Journal of Applied Phycology*, 26(1), 619–628. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0078-4>.

Hernández-Herrera, R. M., Santacruz-Ruvalcaba, F., Zañudo-Hernández, J., & Hernández-Carmona, G. (2016). Activity of seaweed extracts and polysaccharide-enriched extracts from *Ulva lactuca* and *Padina gymnospora* as growth promoters of tomato and mung bean plants. *Journal of Applied Phycology*, 28(4), 2549–2560. <https://doi.org/10.1007/s10811-015-0781-4>.

Hernández-Herrera, R. M., Virgen-Calleros, G., Ruiz-López, M., Zañudo-Hernández, J., Délano-Frier, J. P., & Sánchez-Hernández, C. (2014b). Extracts from green and brown seaweeds protect tomato (*Solanum lycopersicum*) against the necrotrophic fungus *Alternaria solani*. *Journal of Applied Phycology*, 26(3), 1607–1614. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0193-2>.

Hernández, M. I., & Chailloux, M. (2004). Las micorrizas arbusculares y las bacterias rizosféricas como alternativa a la nutrición mineral del tomate. *Cultivos Tropicales*, 25(2), 5–12.

Herold, A. A. (1980). By of photosynthesis regulation the missing sink activity-the missing link. *New Phytologist*, 86(2), 131–144. <http://www.jstor.org/stable/2432101>.

Hoek, C., Mann, D.G., & Jahns, H. (2002). Algae: an introduction to phycology. *Cambridge University Press*. New York, USA. 1-646.

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>.

Ibañez, E., Herrero, M., Mendiola, J.A., & Castro-Puyana, M. (2012). Extraction and characterization of bioactive compounds with health benefits from marine resources: macro and micro algae, cyanobacteria, and invertebrates. *Marine Bioactive Compounds: Sources, Characterization and Applications*, 2, 55–98. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-1247-2>.

International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Micorrhizal Fungi. (2019). *Rhizophagus intraradices*. <https://invam.wvu.edu/>.

Javot, H., Pumplin, N., & Harrison, M. J. (2007). Phosphate in the arbuscular mycorrhizal symbiosis: Transport properties and regulatory roles. *Plant, Cell and Environment*, 30(3), 310–322. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2006.01617.x>.

Jayathunge, K. G. L. R., Grant, I. R., Linton, M., Patterson, M. F., & Koidis, A. (2015). Impact of long-term storage at ambient temperatures on the total quality and stability of high-pressure processed tomato juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 32(DOI: 10.1016), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.10.003>.

Jeffries, P., & Barea, J. M. (2012). Arbuscular mycorrhiza: A key component of sustainable plant-soil ecosystems. *Fungal Associations, 2nd Edition*, 9, 51–75. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-30826-0\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-642-30826-0_4).

Jegou, D., & Lahaye, M. (1993). Chemical characteristics of insoluble dietary fibre from sea-lettuce (*Uva lactuca*). *Proceedings of the Nutrition Society*, 52(2): 122.

Jensen, E. (2004). Seaweed, factor fancy. *Organic Broadcaster*, 12(3), 1713–1720.

Jha, D. K., Sharma, G. D., & Mishra, R. R. (1992). Ecology of soil microflora and mycorrhizal symbionts in degraded forests at two altitudes. *Biology and Fertility of Soils*, 12(4), 272–278. <https://doi.org/10.1007/BF00336043>.

Jiang, R., Linzon, Y., Vitkin, E., Yakhini, Z., Chudnovsky, A., & Golberg, A. (2016). Thermochemical hydrolysis of macroalgae *Ulva* for biorefinery: Taguchi robust design

method. *Scientific Reports*, 6, 1–14. <https://doi.org/10.1038/srep27761>.

Jindo, K., Martim, S. A., Navarro, E. C., Pérez-Alfocea, F., Hernandez, T., Garcia, C., & Canellas, L. P. (2012). Root growth promotion by humic acids from composted and non-composted urban organic wastes. *Plant and Soil*, 353(1–2), 209–220. <https://doi.org/10.1007/s11104-011-1024-3>.

Johansson, J. F., Paul, L. R., & Finlay, R. D. (2004). Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. *Microbiology Ecology*, 48(1), 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.femsec.2003.11.012>.

Johnson, D., Vandenkoornhuyse, P. J., Leake, J. R., Gilbert, L., Booth, R. E., Grime, J. P., & Read, D. J. (2003). Plant communities affect arbuscular mycorrhizal fungal diversity and community composition in grassland microcosms. *New Phytologist*, 161(2), 503–515. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00938.x>.

Jumpponen, A., Trowbridge, J., Mandyam, K., & Johnson, L. (2005). Nitrogen enrichment causes minimal changes in arbuscular mycorrhizal colonization but shifts community composition - Evidence from rDNA data. *Biology and Fertility of Soils*, 41(4), 217–224. <https://doi.org/10.1007/s00374-005-0845-8>.

Kabir, Z., & Koide, R. T. (2000). The effect of dandelion or a cover crop on mycorrhiza inoculum potential, soil aggregation and yield of maize. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 78(2), 167–174. [https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(99\)00121-8](https://doi.org/10.1016/S0167-8809(99)00121-8).

Kavallari, A. (2017). El futuro de la alimentación y la agricultura mundial en peligro, advierte la FAO. <https://news.un.org/es/story/2017/02/1374071>.

Kavipriya, R., Dhanalakshmi, P. K., Jayashree, S., & Thangaraju, N. (2011). Seaweed extract as a biostimulant for legume crop, green gram. *J. Ecobiotechnol*, 3(8), 16–19.

Khalil, S., Loynachan, T. E., & McNabb, H. S. (1992). Colonization of soybean by mycorrhizal fungi and spore population in Iowa soils. *Agron J* 84: *Agronomy Journal Abstract*, 84(5), 832–836. <https://doi.org/doi:10.2134/agronj1992.00021962008400050014x>.

Khan, W., Rayirath, U.P., Subramanian, S., Jithesh, M.N., Rayorath, P., Hodges D.M., Critchley, A.T., Craigie, J.S., Norrie, J., & Prithiviraj, B. (2011). Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *J Plant Growth Regul*, 67(7), 636–641. <https://doi.org/10.1007/s00344-009-9103-x>.

Khan, W., Hiltz, D., Critchley, A. T., & Prithiviraj, B. (2009). Bioassay to detect *Ascophyllum nodosum* extract-induced cytokinin-like activity in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Applied Phycology*, 23(3), 409–414. <https://doi.org/10.1007/s10811-010-9583-x>.

Khanam, D., Mridha, M. A. U., Solaiman, A. R. M., & Hossain, T. (2006). Effect of edaphic factors on root colonization and spore population of arbuscular mycorrhizal fungi. *Bulletin of the Institute of Tropical Agriculture, Kyushu University*, 29(1), 97–104. <https://doi.org/10.11189/bita.29.97>.

Kim, S. K., Ravichandran, Y. D., Khan, S. B., & Kim, Y. T. (2008). Prospective of the cosmeceuticals derived from marine organisms. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 13(5), 511–523. <https://doi.org/10.1007/s12257-008-0113-5>.

Kormanik, P. P., & McGraw, A. C. (1982). Quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizas in plant roots. *Methods and Principles of Mycorrhizal Research*, 37–45.

Krishna, K.R., & Bagyaraj, D. J. (1991). Role of vesicular arbuscular mycorrhiza in the uptake of micronutrient. *Groundnut Plants*, 20, 173–175.

Kuda, T., & Ikemori, T. (2009). Minerals, polysaccharides and antioxidant properties of aqueous solutions obtained from macroalgal beach-casts in the Noto Peninsula, Ishikawa, Japan. *Food Chemistry*, 112(3), 575–581. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.008>.

Kumari, R., Kaur, I., & Bhatnagar, A. K. (2011). Effect of aqueous extract of *Sargassum johnstonii* Setchell & Gardner on growth, yield and quality of *Lycopersicon esculentum* Mill. *Journal of Applied Phycology*, 23(3), 623–633. <https://doi.org/10.1007/s10811-011-9651-x>.

Kuwada, K., Kuramoto, M., Utamura, M., Matsushita, I., & Ishii, T. (2006b). Isolation and structural elucidation of a growth stimulant for arbuscular mycorrhizal fungus from *Laminaria japonica* Areschoug. *Journal of Applied Phycology*, 18(6), 795–800. <https://doi.org/10.1007/s10811-006-9095-x>.

Kuwada, K., Ishii, T., Matsushita, I., Matsumoto, I., & Kadoya, K. (1999). Effect of Seaweed Extracts on Hyphal Growth of Vesicular- Arbuscular Mycorrhizal Fungi and their Infectivity on Trifoliolate Orange Roots. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*. [https://doi.org/68\(2\) : 321 – 326](https://doi.org/68(2) : 321 – 326).

Kuwada, K., Kuramoto, M., Utamura, M., Matsushita, I., Shibata, Y., & Ishii, T. (2005). Effect of mannitol from *Laminaria japonica*, other sugar alcohols, and marine alga polysaccharides on in vitro hyphal growth of *Gigaspora margarita* and root colonization of trifoliolate orange, 279–286. <https://doi.org/10.1007/s11104-005-4985-2>.

Kuwada, K., Wamocho, L. S., Utamura, M., Matsushita, I., & Ishii, T. (2006a). Effect of red and green algal extracts on hyphal growth of arbuscular mycorrhizal fungi, and on mycorrhizal development and growth of papaya and passionfruit. *Agronomy Journal*, 98(5), 1340–1344. <https://doi.org/10.2134/agronj2005.0354>.

Lee, J. Y., Yoo, C., Jun, S. Y., Ahn, C. Y., & Oh, H. M. (2010). Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae. *Bioresource Technology*, 101, S75–S77. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.03.058>.

Leiro, J. M., Castro, R., Arranz, J. A., & Lamas, J. (2007). Immunomodulating activities of acidic sulphated polysaccharides obtained from the seaweed *Ulva rigida* C. Agardh.

*International Immunopharmacology*, 7(7), 879–888.  
<https://doi.org/10.1016/j.intimp.2007.02.007>.

Li, T., Lin, G., Zhang, X., Chen, Y., Zhang, S., & Chen, B. (2014). Relative importance of an arbuscular mycorrhizal fungus (*Rhizophagus intraradices*) and root hairs in plant drought tolerance. *Mycorrhiza*, 24(8), 595–602. <https://doi.org/10.1007/s00572-014-0578-3>.

Li, H., Smith, S. E., Holloway, R. E., Zhu, Y., & Smith, F. A. (2006). Arbuscular mycorrhizal fungi contribute to phosphorus uptake by wheat grown in a phosphorus-fixing soil even in the absence of positive growth responses. *New Phytologist*, 172(3), 536–543. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01846.x>.

Li, J. Y., Yang, F., Jin, L., Wang, Q., Yin, J., He, P., & Chen, Y. (2018). Safety and quality of the green tide algal species *Ulva prolifera* for option of human consumption: A nutrition and contamination study. *Chemosphere*, 210, 1021–1028. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.07.076>.

Linderman, R. G. (1992). Vesicular-Arbuscular Mycorrhizae and Soil Microbial Interactions. *Horticultural Crops Research Laboratory*, 3(54), 1–26. <https://doi.org/10.2134/asaspecpub54.c3>.

Llonín, D., & Medina, N. (2002). Nutrición Mineral con N, P Y K en la Simbiosis Hongos Micorrizógenos-Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en Ferralsols. *Cultivos Tropicales*, 23(4), 83–88.

López G., G. E. (2015). Evaluación de la Actividad Antimicrobiana de *Ulva lactuca*. Departamento Académico de Biología Marina. *Universidad Autónoma de Baja California Sur*. 1-40.

Lordan, S., Ross, R. P., & Stanton, C. (2011). Marine bioactives as functional food ingredients: Potential to reduce the incidence of chronic diseases. *Marine Drugs*, 9(6), 1056–

1100. <https://doi.org/10.3390/md9061056>.

Lourenço, S. O., Barbarino, E., De-Paula, J. C., Pereira, L. O. D. S., & Lanfer Marquez, U. M. (2002). Amino acid composition, protein content and calculation of nitrogen-to-protein conversion factors for 19 tropical seaweeds. *Phycological Research*, 50(3), 233–241. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1835.2002.00278.x>.

Lovera, M., & Cuenca, G. (2007). Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and mycorrhizal potential of the soil from a natural and a disturbed savannah from La Gran Sabana, Venezuela. *Interciencia*, 32(2), 108–114.

Macaya, H. (2011). Principales Ciclos de Vida en Macroalgas. [http://www.algalab.com/gal\\_ciclo/index.html](http://www.algalab.com/gal_ciclo/index.html).

Mäder, P., Fließbach, A., Dubois, D., Gunst, L., Fried, P., & Urs, N. (2002). Soil fertility and biodiversity in organic farming. *American Association for the Advancement of Science*, 269(2), 1694–1697. <http://www.jstor.org/stable/3076892>.

Mandyam, K., & Jumpponen, A. (2008). Seasonal and temporal dynamics of arbuscular mycorrhizal and dark septate endophytic fungi in a tallgrass prairie ecosystem are minimally affected by nitrogen enrichment. *Mycorrhiza*, 18(3), 145–155. <https://doi.org/10.1007/s00572-008-0165-6>.

Mansori, M., Chernane, H., Latique, S., Benaliat, A., Hsissou, D., & El Kaoua, M. (2016). Effect of seaweed extract (*Ulva rigida*) on the water deficit tolerance of *Salvia officinalis* L. *Journal of Applied Phycology*, 28(2), 1363–1370. <https://doi.org/10.1007/s10811-015-0671-9>.

Martin, F. M., Uroz, S., & Barker, D. G. (2017). Ancestral alliances: Plant mutualistic symbioses with fungi and bacteria. *Science*, 356(6340). <https://doi.org/10.1126/science.aad4501>.



Martínez, L. B., & Pugnaire, F. I. (2009). Interacciones entre las comunidades de hongos formadores de micorrizas arbusculares y de plantas. Algunos ejemplos en los ecosistemas semiáridos. *Ecosistemas*, 18(2), 44–54. <https://doi.org/10.7818/re.2014.18-2.00>.

Mathimaran, N., Ruh, R., Vulllioud, P., Frossard, E., & Jansa, J. (2005). *Glomus intraradices* dominates arbuscular mycorrhizal communities in a heavy textured agricultural soil. *Mycorrhiza*, 16(1), 61–66. <https://doi.org/10.1007/s00572-005-0014-9>.

McArthur, D. A. J., & Knowles, N. R. (1993). Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the response of potato to phosphorus deficiency. *Plant Physiology*, 101(1), 147–160. <https://doi.org/10.1104/pp.101.1.147>.

McGonigle, T. P., & Miller, M. H. (1996). Development of fungi below ground in association with plants growing in disturbed and undisturbed soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 28(3), 263–269. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(95\)00129-8](https://doi.org/10.1016/0038-0717(95)00129-8).

McGonigle, T. P., & Miller, M. H. (1990). How to quantify amf colonization on root. Objective measurement of colonization by VA mycorrhizal fungi. 495-501. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1990.tb00476.x>.

Menge, J. A., & Timer, L. M. (1982). Procedures for inoculation of plants with vesicular-arbuscular mycorrhizae in the laboratory, greenhouse and field. *The American Phytopathological Society*, 59–69.

Mengel, K., & Kirkby, E. A. (1987). Principles of Plant Nutrition. 4th ed. *International Potash Institute*. Bern, Switzerland.

Miao, H., & Tao, W. (2009). The mechanisms of ozonation on cyanobacteria and its toxins removal. *Separation and Purification Technology*, 66(1), 187–193. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2008.11.008>.

Michalak, I., & Chojnacka, K. (2014). Algal extracts: Technology and advances. *Engineering in Life Sciences*, 25(50–372), 1–32. <https://doi.org/10.1002/elsc.201400139>.

Miransari, M. (2010). Contribution of arbuscular mycorrhizal symbiosis to plant growth under different types of soil stress. *Plant Biology*, 12(4), 563–569. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2009.00308.x>.

Miransari, M. (2014). Use of microbes for the alleviation of soil stresses: Volume 2: Alleviation of soil stress by pgpr and mycorrhizal fungi. 1–184. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0721-2>.

Mohammed, A. S. (2009). Effect of nitrogen fertilizer and seaweed extracts on vegetative growth and yield of cucumber. *Diyala Agricultural Sciences Journal*, 1(2), 134–145. <https://doi.org/2073-9524>.

Mohandas, S. (1987). Field response of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill 'Pusa Ruby') to inoculation with a VA mycorrhizal fungus *Glomus fasciculatum* and with *Azotobacter vinelandii*. *Plant and Soil*, 98(2), 295–297. <https://doi.org/10.1007/BF02374833>.

Monther, M. T., & Kamaruzaman, S. (2012). Arbuscular mycorrhizal fungi and plant root exudates bio-communications in the rhizosphere. *African Journal of Microbiology Research*, 6(46), 7295–7301. <https://doi.org/10.5897/ajmr12.2250>.

Mujica-Pérez Y. (2009). Efectividad de la inoculación líquida con HMA en la nutrición del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en suelo ferralítico rojo lixiviado. *Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas*. 1-72.

Muthukumar, T., & Udaiyan, K. (2002). Growth and yield of cowpea as influenced by changes in arbuscular mycorrhiza in response to organic manuring. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 188(2), 123–132. <https://doi.org/10.1046/j.1439-037X.2002.00544.x>.

Nakano, A., Takahashi, K., & Kimura, M. (2001). Effect of host shoot clipping on carbon and nitrogen sources for arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*, 10(6), 287–293. <https://doi.org/10.1007/s005720000091>.

Nardi, S., Pizzeghello, D., Schiavon, M., & Ertani, A. (2016). Plant biostimulants: physiological responses induced by protein hydrolyzed-based products and humic substances in plant metabolism. *Scientia Agricola*, 73(1), 18–23. <https://doi.org/10.1590/0103-9016-2015-0006>.

Nedumaran, T., & Perumal, P. (2009). Effect of Seaweed Liquid Fertilizer on the Germination and Growth of Seedling of Mangrove. *Journal of Phytology*, 1(3), 142–146.

Neumann, E., & George, E. (2010). Nutrient uptake: the arbuscular mycorrhiza fungal symbiosis as a plant nutrient acquisition strategy. In H. Koltai & Y. Kapulnik (Eds.), *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function* (Second Edi) 137–169. Springer. [https://doi.org/10.1007/978-90-481-9489-6\\_1](https://doi.org/10.1007/978-90-481-9489-6_1).

Neri-Luna, C., & Villarreal-Ruiz, L. (2012). Simbiosis micorrícica: un análisis de su relevante función ecosistémica y en la provisión de servicios ambientales. *Universidad de Guadalajara*, 3, 37–62. Retrieved from [https://www.researchgate.net/profile/Luis\\_Villarreal-Ruiz/publication/262414032\\_37\\_3\\_simbiosis\\_micorrícica\\_un\\_anlisis/links/00b49537a3f8c79da3000000.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Luis_Villarreal-Ruiz/publication/262414032_37_3_simbiosis_micorrícica_un_anlisis/links/00b49537a3f8c79da3000000.pdf).

Norris, J. N. (2010). Marine algae of the Northern Gulf of California: *Chlorophyta* and *Phaeophyceae*. *Smithsonian contributions to botany* Smithsonian Institution Scholarly Press, Ed. Whashington D.C. 94, 1-289.

Nurjanah, N. M., Hidayat, T., & Sudirdjo, F. (2016). Characteristics of Seaweed as Raw Materials for Cosmetics. *Aquatic Procedia*, 7, 177–180. <https://doi.org/10.1016/j.aqpro.2016.07.024>.

Nzanza, B., Marais, D., & Soundy, P. (2011). Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) seedling growth and development as influenced by *Trichoderma harzianum* and arbuscular mycorrhizal fungi. *African Journal of Microbiology Research*, 5(4), 425–431. <https://doi.org/10.5897/AJMR10.870>.

Oehl, F., Laczko, E., Bogenrieder, A., Stahr, K., Bösch, R., van der Heijden, M., & Sieverding, E. (2010). Soil type and land use intensity determine the composition of arbuscular mycorrhizal fungal communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(5), 724–738. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.01.006>.

Oehl, F., Sieverding, E., Mäder, P., Dubois, D., Ineichen, K., Boller, T., & Wiemken, A. (2004). Impact of long-term conventional and organic farming on the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. *Oecologia*, 138(4), 574–583. <https://doi.org/10.1007/s00442-003-1458-2>.

Õpik, M., Moora, M., Liira, J., & Zobel, M. (2006). Composition of root-colonizing arbuscular mycorrhizal fungal communities in different ecosystems around the globe. *Journal of Ecology*, 94(4), 778–790. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2006.01136.x>.

Õpik, M., Zobel, M., Cantero, J. J., Davison, J., Facelli, J. M., Hiiesalu, I., & Moora, M. (2013). Global sampling of plant roots expands the described molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*, 23(5), 411–430. <https://doi.org/10.1007/s00572-013-0482-2>.

Orduña-Rojas, J., & Longoria-Espinoza, R. M. (2006). Metal Content in *Ulva lactuca* (Linnaeus) from Navachiste Bay (Southeast Gulf of California) Sinaloa, Mexico. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 77(4), 574–580. <https://doi.org/10.1007/s00128-006-1102-z>.

Ortiz, J., Romero, N., Robert, P., Araya, J., López-Hernández, J., Bozzo, C., & Ríos, A. (2006). Dietary fiber, amino acid, fatty acid and tocopherol contents of the edible seaweeds

*Ulva lactuca* and *Durvillaea antarctica*. *Food Chemistry*, 99(1), 98–104. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.027>.

Ortiz, V. J. (2011). Composición Nutricional y Funcional de las Algas Clorofíceas Chilenas: *Codium fragile* y *Ulva lactuca*. *Universidad de Chile*. 1–25.

Pacheco-Ruíz. (2002). Biomass and potential commercial utilization of *Ulva lactuca* (Chlorophyta, Ulvaceae) beds along the north-west coast of the Gulf of California, 41, 199–201.

Padmavathi, T., Dikshit, R., & Seshagiri, S. (2015). Effect of *Rhizophagus* spp. and plant growth-promoting *Acinetobacter junii* on *Solanum lycopersicum* and *Capsicum annum*. *Revista Brasileira de Botanica*, 38(2), 273–280. <https://doi.org/10.1007/s40415-015-0144-z>.

Paszt, L. S., Malusá, E., Sumorok, B., Canfora, L., Derkowska, E., & Głuszek, S. (2015). The Influence of Bioproducts on Mycorrhizal Occurrence and Diversity in the Rhizosphere of Strawberry Plants under Controlled Conditions. *Advances in Microbiology*, 05(01), 40–53. <https://doi.org/10.4236/aim.2015.51005>.

Paszt, L. S., Sumorok, B., Malusá, E., Gluszek, S., & Derkowska, E. (2011). The Influence of Bioproducts on Root Growth and Mycorrhizal Occurrence in the Rhizosphere of Strawberry Plants ‘Elsanta’. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 19(1), 13–34. [http://www.inhort.pl/files/journal\\_pdf/journal\\_2011\\_1/full2011\\_1\\_.pdf](http://www.inhort.pl/files/journal_pdf/journal_2011_1/full2011_1_.pdf).

Pavan, S., van Heusden, A. W., & Bai, Y. (2009). *Solanum lycopersicum* (Tomato). *Encyclopedia of Life Sciences*. 1-4. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0003686>.

Pearson, J. N., & Jakobsen, I. (1993). Symbiotic exchange of carbon and phosphorus between cucumber and three arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 124(3), 481–488. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1993.tb03839.x>.

Pedroche, F. F., Silva, P. C., Aguilar-Rosas, L. ., Dreckmann, K. M., & Aguilar-Rosas, R. (2005). Catálogo de Algas Marinas Bentónicas del Pacífico de México, Cholorophycota. 38th ed. Editorial: *Universidad de Baja California Sur*.1-146.

Peralta, I. E., Knapp, S., & Spooner, D. M. (2005). New Species of Wild Tomatoes from Northern Peru. *Systematic Botany*, 30(2), 424–434. <https://doi.org/10.1600/0363644054223657>.

Pérez, J., Hurtado, G., Aparicio, V., Argueta, Q., & Larín, M. A. (2013). Guía Técnica Cultivo de Tomate. *Centro Nacional de Tecnología Agropecuariay Forestal*. 1-48. <http://www.centa.gob.sv/docs/guias/hortalizas/Guia Tomate.pdf>.

Pérez, M., & Castro, R. (2011). Jitomate en invernadero. *Universidad de Chapingo*. Edo. De México. 1-133.

Pettett, P. (2009). Preliminary investigation into the induction of reproduction in *Ulva* spp . in Southeast Queensland for mass cultivation purposes. *University of the Sunshine Coast*. 1-71.

Pilon-Smits, AH, E., Quinn, C. F., Tapken, W., Malagoli, M., & Schiavon, M. (2009). Physiological functions of beneficial elements. *Current Opinion in Plant Biology*, 12(3), 267–274. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2009.04.009>.

Polat, S., & Ozogul, Y. (2008). Biochemical composition of some red and brown macro algae from the Northeastern Mediterranean Sea. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 59(7–8), 566–572. <https://doi.org/https://doi.org/10.1080/09637480701446524>.

Porcel, R., Aroca, R., & Ruiz-Lozano, J. M. (2012). Salinity stress alleviation using arbuscular mycorrhizal fungi. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 32(1), 181–200. <https://doi.org/10.1007/s13593-011-0029-x>.

Posada, R. H., Franco, L. A., Ramos, C., Plazas, L. S., Suárez, J. C., & Álvarez, F. (2008). Effect of physical, chemical and environmental characteristics on arbuscular mycorrhizal fungi in *Brachiaria decumbens* (Stapf) pastures. *Journal of Applied Microbiology*, *104*(1), 132–140. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03533.x>.

Posmyk, M. M., & Szafrńska, K. (2016). Biostimulators: a new trend towards solving an old problem. *Frontiers in Plant Science*, *7*, 1–6. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00748>.

Powell, C. L., & Daniel, J. (1978). Mycorrhizal fungi stimulate uptake of soluble and insoluble phosphate fertilizer from a phosphate-deficient soil. *New Phytologist*, *80*(2), 351–358. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1978.tb01568.x>.

Raikova, S., Le, C. D., Beacham, T. A., Jenkins, R. W., Allen, M. J., & Chuck, C. J. (2017). Towards a marine biorefinery through the hydrothermal liquefaction of macroalgae native to the United Kingdom. *Biomass and Bioenergy*, *107*, 244–253. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2017.10.010>.

Ramya, S. S., Nagaraj, S., & Vijayanand, N. (2010). Biofertilizing Efficiency of brown and green algae on growth, biochemical and yield parameters of *Cyamopsis tetragonoloba* (5L) taub. *Recent Research in Science and Technology*, *2*(5), 45–52.

Ramya, S. S., Vijayanand, N., & Rathinavel, S. (2015). Foliar application of liquid biofertilizer of brown alga *Stoechospermum marginatum* on growth, biochemical and yield of *Solanum melongena*. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, *4*(3), 167–173. <https://doi.org/10.1007/s40093-015-0096-0>.

Read, D. J., Duckett, J. G., Francis, R., Ligrone, R., & Russell, A. (2000). Symbiotic fungal associations in “lower” land plants. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *355*(1398), 815–831. <https://doi.org/10.1098/rstb.2000.0617>.

Redecker, D., Morton, J. B., & Bruns, T. D. (2000). Ancestral lineages of arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomales*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *14*(2), 276–284. <https://doi.org/10.1006/mpev.1999.0713>.

Redecker, D., Schüßler, A., Stockinger, H., Stürmer, S. L., Morton, J. B., & Walker, C. (2013). An evidence-based consensus for the classification of arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomeromycota*). *Mycorrhiza*, *23*(7), 515–531. <https://doi.org/10.1007/s00572-013-0486-y>.

Regvar, M., Vogel-Mikuš, K., & Ševerkar, T. (2003). Effect of AMF inoculum from field isolates on the yield of green pepper, parsley, carrot, and tomato. *Folia Geobotanica*, *38*(2), 223–234. <https://doi.org/10.1007/BF02803154>.

Rillig, M. C., & Mummey, D. L. (2006). Mycorrhizas and soil structure. *New Phytologist*, *171*(1), 41–53. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01750.x>.

Rillig, M. C., & Steinberg, P. D. (2002). Glomalin production by an arbuscular mycorrhizal fungus: A mechanism of habitat modification? *Soil Biology and Biochemistry*, *34*(9), 1371–1374. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(02\)00060-3](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(02)00060-3).

Rivera, R., Fernández, F., Fernández, K., Ruiz, L., Sánchez, C., & Riera, M. (2007). Advances in the Management of Effective Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis in Tropical Ecosystems. In T. H. Press (Ed.), *Mycorrhizae in Crop Production* (pp. 151–195). <https://doi.org/10.1300/5425>.

Rivero, J., Gamir, J., Aroca, R., Pozo, M. J., & Flors, V. (2015). Metabolic transition in mycorrhizal tomato roots. *Frontiers in Microbiology*, *6*, 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00598>.

Robertson-Andersson, D. V., Potgieter, M., Hansen, J., Bolton, J. J., Troell, M., Anderson, R. J., & Probyn, T. (2008). Integrated seaweed cultivation on an abalone farm in South Africa. *Journal of Applied Phycology*, *20*(5), 579–595. <https://doi.org/10.1007/s10811-007->



9239-7.

Rodríguez-Yon, Y., De la Noval-Pons, B., Fernández-Martín, F., & Rodríguez-Hernández, P. (2004). Comparative study of behaviour of six arbuscular mycorrhizal fungi when colonize tomato plants (*Lycopersicon esculentum* M. var “Amalia”). *Ecología Aplicada*, 3, 162–171.

SAGARPA. (2017). Planeación Agrícola Nacional 2017-2030. Jtomate mexicano. 1-20.

SAGARPA & SIAP. (2018). Boletín mensual de la producción Tomate rojo (Jitomate). 1. [http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola\\_siap\\_gobmx/ResumenProducto.do](http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/ResumenProducto.do)

Saito, K., & Sugawara, K. (2010). Seasonal variation of arbuscular mycorrhizal fungal colonization for coexisting plant species in Miscanthus-type semi-natural grassland. *Journal of Integrated Field Science*, 7, 29–35.

Santiago, J., Mendoza, M., & Borrego, F. (1998). Evaluación de Tomate (*Lycopersicon esculentum*, MILL ) en Invernadero: Criterios Fenológicos y Fisiológicos. *Agronomía Mesoamericana*, 9(1), 59–65.

Santos-González, J. C., Finlay, R. D., & Tehler, A. (2007). Seasonal dynamics of arbuscular mycorrhizal fungal communities in roots in a seminatural grassland. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(17), 5613–5623. <https://doi.org/10.1128/AEM.00262-07>.

Saqib, A., Tabbssum, M. R., Rashid, U., Ibrahim, M., Gill, S. S., & Mehmood, M. A. (2013). Marine macro algae ulva: A potential feed-stock for bioethanol and biogas production. *Asian Journal of Agriculture and Biology*, 1(3), 155–163.

Sari-Chmayssem, N., Taha, S., Mawlawi, H., Guégan, J. P., Jeftić, J., & Benvegny, T. (2019). Extracted ulvans from green algae *Ulva linza* of Lebanese origin and amphiphilic derivatives: evaluation of their physico-chemical and rheological properties. *Journal of Applied Phycology*, 31(3), 1931–1946. <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1668-y>.

Sava, C., & Sîrbu, R. (2010). Analytical study of the determination of flavonoids in Black Sea algae. *Ovidius University Annals of Chemistry*, *21*(1), 29–34.

Schübler, A., Schwarzott, D., & Walker, C. (2001). A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *The British Mycological Society*, *105*(12), 1413–1421. <https://doi.org/10.1017/S0953756201005196>.

Schübler, A. (2000). *Glomus claroideum* forms an arbuscular mycorrhiza-like symbiosis with the hornwort *Anthoceros punctatus*. *Mycorrhiza*, *10*(1), 15–21. <https://doi.org/10.1007/s005720050282>.

Shekhar, S. H. S., Lyons, G., McRoberts, C., McCall, D., Carmichael, E., Andrews, F., & McCormack, R. (2012). Brown seaweed species from Strangford Lough: Compositional analyses of seaweed species and biostimulant formulations by rapid instrumental methods. *Journal of Applied Phycology*, *24*(5), 1141–1157. <https://doi.org/10.1007/s10811-011-9744-6>.

Sigüenza, C., Corkidi, L., & Allen, E. B. (2006). Feedbacks of soil inoculum of mycorrhizal fungi altered by N deposition on the growth of a native shrub and an invasive annual grass. *Plant and Soil*, *286*(1–2), 153–165. <https://doi.org/10.1007/s11104-006-9034-2>.

Smith, F. A., Jakobsen, I., & Smith, S. E. (2000). Spatial differences in acquisition of soil phosphate between two arbuscular mycorrhizal fungi in symbiosis with *Medicago truncatula*. *New Phytologist*, *147*(2), 357–366. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2000.00695.x>.

Smith, S., Smith, A., & Jakobsen, I. (2003). Mycorrhizal Fungi Can Dominate Phosphate Supply to Plants Irrespective of Growth Responses. *Plant Physiology*, *133*, 16–20. <https://doi.org/10.1104/pp.103.024380>.

Smith, S. E., Jakobsen, I., Grønlund, M., & Smith, F. A. (2011). Roles of arbuscular mycorrhizas in plant phosphorus nutrition: Interactions between pathways of phosphorus uptake in arbuscular mycorrhizal roots have important implications for understanding and manipulating plant phosphorus acquisition. *Plant Physiology*, *156*(3), 1050–1057. <https://doi.org/10.1104/pp.111.174581>.

Smogyi, M. (1952). Notes on sugar determination. *Journal of Biological Chemistry*, *195*(0021–9258), 19–23.

Sokolski, S., Dalpé, Y., & Piché, Y. (2011). Phosphate transporter genes as reliable gene markers for the identification and discrimination of arbuscular mycorrhizal fungi in the genus *Glomus*. *Applied and Environmental Microbiology*, *77*(5), 1888–1891. <https://doi.org/10.1128/AEM.00919-10>.

Soliman, R. M., Younis, S. A., El-Gendy, N. S., Mostafa, S. S. M., El-Temtamy, S. A., & Hashim, A. I. (2018). Batch bioethanol production via the biological and chemical saccharification of some Egyptian marine macroalgae. *Journal of Applied Microbiology*, *125*(2), 422–440. <https://doi.org/10.1111/jam.13886>.

Solomon, D., Lehmann, J., Fraser, J. A., Leach, M., Amanor, K., Frausin, V., & Fairhead, J. (2016). Indigenous African soil enrichment as a climate-smart sustainable agriculture alternative. *Frontiers in Ecology and the Environment*, *14*(2), 71–76. <https://doi.org/10.1002/fee.1226>.

Soman, C., Dangl, J. L., Bennett, A., Morsy, M., Friesen, M. L., Busby, P. E., & Kremer, J. (2017). Research priorities for harnessing plant microbiomes in sustainable agriculture. *PLOS Biology*, *15*(3), e2001793. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2001793>.

Souza, T. (2015). Glomeromycota Classification. *Handbook of Arbuscular Mycorrhizal Fungi*, *5*, 87-128. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-24850-9>.

Spagnoletti, F., & Lavado, R. (2015). The arbuscular mycorrhiza *Rhizophagus intraradices* reduces the negative effects of arsenic on soybean plants. *Agronomy*, 5(2), 188–199. <https://doi.org/10.3390/agronomy5020188>.

Stirk, W., & Staden, J. (1998). Seaweed products as biostimulants in Agriculture. *University of KwaZulu-Natal Pietermaritzburg*. South Africa. 1-32.

Sturz, A. V., Carter, M. R., & Johnston, H. W. (1997). A review of plant disease, pathogen interactions and microbial antagonism under conservation tillage in temperate humid agriculture. *Soil and Tillage Research*, 41(3–4), 169–189. [https://doi.org/10.1016/S0167-1987\(96\)01095-1](https://doi.org/10.1016/S0167-1987(96)01095-1).

Suhail, F. M. (2013a). Effect of mycorrhizal fungi inoculation and seaweed extract spray on some growth characters and yield of cucumber *Cucumis sativus* L. *Journal of Genetic and Environmental Resources Conservation*, 1(3), 209–214.

Suhail, F. M. (2013b). Effect inoculation of an arbuscular mycorrhizal fungus (*Cualospora leavies*) and nitrogen fixer *Azospirillum brasilens* and seaweed extract in plant growth onions irrigated with salty water. *International Journal of Agricultural Science and Research (IJASR)*, 3(2), 257–264.

Sylvia, D. M., Hammond, L. C., Bennett, J. M., Haas, J. H., & Linda, S. B. (1993). Field response of maize to a VAM fungus and water management. *Agronomy Journal*, 85(2), 193. <https://doi.org/10.2134/agronj1993.00021962008500020006x>.

Tarakhovskaya, E. R., Maslov, Y. I., & Shishova, M. F. (2007). Phytohormones in algae. *Russian Journal of Plant Physiology*, 54(2), 163–170. <https://doi.org/10.1134/S1021443707020021>.

Thomson, B.D., Robson, A.D., & Abbott, L. (1991). Soil mediated effects of phosphorus supply on the formation of mycorrhizas by *Scutellispora calospora* (Nicol. & Gerd.) Walker

& Sanders on subterranean clover. *New Phytologist*, 118(3), 463–469. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1991.tb00028.x>.

Tommerup, I. C. (1985). Inhibition of spore germination of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in soil. *Transactions of the British Mycological Society*, 85(2), 267–278. [https://doi.org/10.1016/s0007-1536\(85\)80188-1](https://doi.org/10.1016/s0007-1536(85)80188-1).

Trevors, J. (1996). Sterilization and inhibition of microbial activity in soil. *Journal of Microbiological Methods*, 26(1–2), 53–59. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0167-7012\(96\)00843-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0167-7012(96)00843-3).

Tuney, I., Cadirci, B. H., Unal, D., & Sukatar, A. (2007). Locational and organic solvent variation in antimicrobial activities of crude extracts of marine algae from the coast of Izmir (Turkey). *Fresenius Environmental Bulletin*, 16(4), 428–434.

Tyagi, J., Varma, A., & Pudake, R. N. (2017). Evaluation of comparative effects of arbuscular mycorrhiza (*Rhizophagus intraradices*) and endophyte (*Piriformospora indica*) association with finger millet (*Eleusine coracana*) under drought stress. *European Journal of Soil Biology*, 81, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2017.05.007>.

Vallino, M., Massa, N., Lumini, E., Bianciotto, V., Berta, G., & Bonfante, P. (2006). Assessment of arbuscular mycorrhizal fungal diversity in roots of *Solidago gigantea* growing in a polluted soil in Northern Italy. *Environmental Microbiology*, 8(6), 971–983. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2006.00980.x>.

Van Aarle, I. M., Cavagnaro, T. R., Smith, S. E., Smith, F. A., & Dickson, S. (2005). Metabolic activity of *Glomus intraradices* in Arum- type and Paris-type arbuscular mycorrhizal colonization. *New Phytologist*, 166(2), 611–618. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01340.x>.

Van Staden, J., & Cook, E. L. (1986). Cytokinins and fruit production. *Acta Horticulturae*, 179(5), 73–81. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1986.179.4>.

Vierheilig, H., Lerat, S., & Piché, Y. (2003). Systemic inhibition of arbuscular mycorrhiza development by root exudates of cucumber plants colonized by *Glomus mosseae*. *Mycorrhiza*, 13(3), 167–170. <https://doi.org/10.1007/s00572-002-0219-0>.

Villares, R., Carral, E., Lorenzana, F., & López, E. M. (2007). Drift-seaweed evaluation for fertilizer use in Galiza (Northwest Spain): tissue elemental characterization and site-sampling differences. *Journal of Sustainable Agriculture*, 31(1), 45–60. <https://doi.org/10.1300/J064v31n01>.

Violle, N., Rozan, P., Demais, H., Nyvall Collen, P., & Bisson, J. F. (2018). Evaluation of the antidepressant- and anxiolytic-like effects of a hydrophilic extract from the green seaweed *Ulva* sp. in rats. *Nutritional Neuroscience*, 21(4), 248–256. <https://doi.org/10.1080/1028415X.2016.1276704>.

Wang, B., Funakoshi, D. M., Dalpé, Y., & Hamel, C. (2002). Phosphorus-32 absorption and translocation to host plants by arbuscular mycorrhizal fungi at low root-zone temperature. *Mycorrhiza*, 12(2), 93–96. <https://doi.org/10.1007/s00572-001-0150-9>.

Whipps, J. M. (2004). Prospects and limitations for mycorrhizas in biocontrol of root pathogens. *Canadian Journal of Botany*, 82(8), 1198–1227. <https://doi.org/10.1139/B04-082>.

William, A. M. (2007). The role of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable tomato production. *The University of Adelaide*. Faculty of Sciences. 1-197.

Wilson, G. W. T., Hetrick, B. A. D., & Kitt, D. G. (1988). Suppression of mycorrhizal growth response of big bluestem by non-sterile soil. *Mycologia*, 80(3), 338–343. <https://doi.org/10.2307/3807630>.

Wong, K. H., & Cheung, P. C. K. (2012). Nutritional evaluation of some subtropical red and green seaweeds. Part I-proximate composition, amino acid profiles and some physico-chemical properties. *Science Translational Medicine*, 4(125). <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3003979>.

Wong, K. H., & Cheung, P. C. K. (2001). Nutritional evaluation of some subtropical red and green seaweeds Part II. In vitro protein digestibility and amino acid profiles of protein concentrates. *Food Chemistry*, 72(1), 11–17. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00176-X](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00176-X).

Xavier, L. J. C., & Germida, J. J. (2003). Bacteria associated with *Glomus clarum* spores influence mycorrhizal activity. *Soil Biology and Biochemistry*, 35(3), 471–478. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(03\)00003-8](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(03)00003-8).

Yaich, H., Garna, H., Besbes, S., Paquot, M., Blecker, C., & Attia, H. (2011). Chemical composition and functional properties of *Ulva lactuca* seaweed collected in Tunisia. *Food Chemistry*, 128(4), 895–901. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.114>.

Zhang, X., Ervin, E. ., & Schmidt, R. (2003). Physiological effects of liquid applications of a seaweed extract and a humic acid on creeping bentgrass. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 128(4), 492–496.

Zhu, Y. G., Smith, F. A., & Smith, S. E. (2003). Phosphorus efficiencies and responses of barley (*Hordeum vulgare* L.) to arbuscular mycorrhizal fungi grown in highly calcareous soil. *Mycorrhiza*, 13(2), 93–100. <https://doi.org/10.1007/s00572-002-0205-6>.

Zodape, S. T., Kawarkhe, V. J., Patolia, J. S., & Warade, A. D. (2008). Effect of liquid seaweed fertilizer on yield and quality of okra (*Abelmoschus esculentus* L.). *Journal of Scientific and Industrial Research*, 67(12), 1115–1117.

Zouari, I., Salvioli, A., Chialval, M., Noverol, M., Miozzi, L., Tenore, G.C., Bagnaresi, P., & Bonfante, P. (2014). From root to fruit: RNA-Seq analysis shows that arbuscular mycorrhizal symbiosis may affect tomato fruit metabolism. *BMC Genomics*, *15*, 221.