



Analysis of the effect as biostimulants of *Sargassum vulgare* and *Ulva fasciata* extracts on *Lens esculenta* growth

Análisis del efecto de extractos de *Sargassum vulgare* y *Ulva fasciata* como bioestimulantes del crecimiento de *Lens esculenta*

Lucia Teresa Mendoza-Morales^{1,2}, Angela Catalina Mendoza-González², Luz Elena Mateo- Cid², Angélica Rodríguez-Dorantes^{1*}

¹Laboratorio de Fisiología Vegetal, Departamento de Botánica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Mexico City 11340, Mexico.

²Laboratorio de Ficología, Departamento de Botánica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Mexico City 11340, Mexico.

*Corresponding author

E-mail address: rodorantes@yahoo.com.mx; anrodo2000@hotmail.com
(A. Rodríguez-Dorantes)

Article history:

Received: 25 August 2019 / Received in revised form: 11 October 2019 / Accepted: 12 October 2019 / Published online: 17 October 2019.

<https://doi.org/10.29267/mxjb.2019.4.4.15>

ABSTRACT

The use of biostimulants obtained from mix of compounds and/or organisms constitutes a promising tool that increases the efficient approach of nutrients and plants tolerance under stress conditions. Seaweeds are an important sustainable marine source and extracts from them have been applied as plant biostimulants. In this work, the effect of *Lens esculenta* seeds imbibition with aqueous extracts from two seaweeds as biostimulants of the seedlings growth of this plant was analyzed. It was shown a notably hormetic effect that induced the promotion of the *L. esculenta* seedlings growth, when it was exposed to different concentrations of aqueous extracts of *Sargassum vulgare* (5%) and *Ulva fasciata* (5% and 10%). It was showed that the use of the lowest aqueous extract concentration at early imbibition of seeds is a potential biostimulant for the promotion of plantlets growth, favoring their adaptation under stress condition.

Keywords: aqueous extracts, bioassays, biostimulants

RESUMEN

El empleo de bioestimulantes a partir de mezclas de sustancias y/o organismos es una herramienta prometedora que incrementa el uso eficiente de nutrientes y la tolerancia de las plantas bajo condiciones de estrés. Las macroalgas (seaweeds) son una fuente marina renovable importante y los extractos de ellas se han aplicado como bioestimulantes de plantas. Este trabajo analizó el efecto de la imbibición de semillas de *Lens esculenta* con extractos acuosos de dos macroalgas como bioestimulantes del crecimiento de las plántulas de esta especie. En este estudio se mostró un efecto hormético notable que indujo la promoción del crecimiento de las plántulas de *L. esculenta* expuestas a las concentraciones de *Sargassum vulgare* de 5% y de *Ulva fasciata* de 5% y 10%. Lo que evidenció que el empleo de éstos a bajas concentraciones en procesos de imbibición de semillas, los recomiendan como biostimulantes potenciales para la promoción del crecimiento de plantas que favorecen su adaptación ante cualquier condición de estrés.

Palabras clave: extractos acuosos, bioensayos, bioestimulantes

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad el empleo de bioestimulantes a partir de mezclas de sustancias y/o organismos se considera una herramienta prometedora que favorece no solamente el uso eficiente de nutrientes; sino también promueve la tolerancia de las plantas bajo condiciones de estrés (Colla *et al.*, 2015; Nardi *et al.*, 2016; Ertani *et al.*, 2018). Los métodos de extracción de los compuestos bioactivos que aseguran su actividad además de su efectividad son variados y críticos (Colla *et al.*, 2015; Godlewska *et al.*, 2016; Michalak *et al.*, 2016) lo que incrementa su complejidad en el efecto sobre las plantas, debido a que éstas poseen diferente sensibilidad a una o más moléculas bioactivas (Ertari *et al.*, 2011, 2013, 2014; Guinan *et al.*, 2013). Las especies de macroalgas (seaweeds) se consideran una fuente marina renovable importante (Sahoo, 2000) y los extractos derivados de ellas se han aplicado como bioestimulantes de plantas (Cassan *et al.*, 1992; Calvo *et al.*, 2014). Dentro de los compuestos que se han identificado como activadores de mecanismos de defensa en las plantas y promotores de su crecimiento se tienen a los polifenoles como el floroglucinol, los polisacáridos como los alginatos, carragenanos y oligosacáridos, las betaínas, los aminoácidos, las vitaminas y algunos con actividad similar a las fitohormonas, como las citocininas (Durand *et al.*, 2003; Stirk *et al.*, 2003) auxinas (Stirk *et al.*, 2004) giberelinas (Wildgoose *et al.*, 1978). Se ha reportado también que los extractos de éstas en bajas concentraciones inducen un amplio espectro de respuestas fisiológicas positivas en las plantas que incluyen el incremento en su crecimiento, la síntesis de clorofila, la calidad de los frutos (Hong *et al.*, 2007; Rayorath *et al.*, 2008; Khan *et al.*, 2009; Pereira *et al.*, 2009; Calvo *et al.*, 2014; Goñi *et al.*, 2016), la germinación temprana, la floración y la fructificación (Mancuso *et al.*, 2006; Sivasankari *et al.*, 2006; Roussos *et al.*, 2009; Ali *et al.*, 2015; Satish *et al.*, 2015); estimulan la

proliferación de raíces secundarias (Mugnai *et al.*, 2008; Pereira *et al.*, 2009; Spinelli *et al.*, 2010); así como también promueven la inmunidad, la resistencia a patógenos y potencian la tolerancia de las plantas a una variedad de condiciones de estrés; tales como la salinidad, desecación o temperatura extremas (Joubert & Lefranc, 2008; Sharma *et al.*, 2014). El objetivo de este trabajo consistió en analizar el efecto de la imbibición de semillas de *Lens esculenta* con extractos acuosos de dos macroalgas como bioestimulantes del crecimiento de las plántulas de esta especie.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Preparación del extracto acuoso de *Sargassum vulgare* y *Ulva fasciata*

Se recolectaron manualmente ejemplares de *Sargassum vulgare* (C. Agardh) y *Ulva fasciata* (Delile) en fase reproductiva, de la zona intermareal a un metro de profundidad en la playa “El pulpo”, ubicada en la Barra de Cazonas, Municipio de Cazonas de Herrera, en el estado de Veracruz (20° 43' 33.98" N y 97° 11' 90.72" W) en la época de lluvias (Julio, 2018); lavaron varias veces con agua de mar para remover el exceso de arena, impurezas y eliminar los epibiontes y transportaron al laboratorio, para lavarse nuevamente con agua corriente para eliminar totalmente los epibiontes y el exceso de sal, secaron al aire bajo sombra y se fraccionaron los ejemplares para su pulverización con el empleo de un molino Nutribullet® para la obtención de la harina algal. Los extractos acuosos de las harinas de ambas especies se obtuvieron aplicando una metodología modificada a la de Kumar & Sahoo (2011), Vinoth *et al.* (2012) y Godlewska *et al.* (2016), como sigue: las harinas de ambas especies se tamizaron a través de un tamiz de latón Duvesa® (malla 16 y 1mm de abertura) y se depositaron 25g de cada una en vasos de precipitado con la adición de 300mL de agua bidestilada, colocaron en un baño de incubación a 80°C por 45 minutos, después de este tiempo, los extractos se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se filtraron a través de papel filtro de poro mediano, para obtener el extracto acuoso final que se consideró como el concentrado (100%) según lo reportado por Bhosle *et al.* (1975) y Kumar & Sahoo (2011). Los extractos acuosos se almacenaron a 4°C hasta su empleo para los bioensayos.

2.2 Efecto de los extractos acuosos de *S. vulgare* y *U. fasciata* sobre el crecimiento de *L. esculenta*

Se emplearon semillas comerciales de *Lens esculenta* (Moench), que se desinfectaron bajo condiciones de esterilidad con hipoclorito de sodio al 10% por tres minutos, enjuagaron con agua bidestilada estéril y depositaron por 30 minutos a temperatura ambiente en frascos estériles que contenían 50mL de las diferentes concentraciones de los extractos acuosos de cada especie de macroalga (*Sargassum* (S) y *Ulva* (U)): S5%, S10%, S20%, U5%, U10% y U20%. La condición Testigo se estableció con la imbibición de semillas desinfectadas en 50mL de

agua bidestilada estéril por 30 minutos a temperatura ambiente. Una vez embebidas las semillas tanto en los extractos acuosos como en el agua bidestilada estéril, se depositaron 5 semillas por frasco de vidrio con tapas Magenta (Sigma-Aldrich, Co.), que contenía 50 mL de solución mineral (0.20 M $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, 1.15 M $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 0.4M $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1.2 M KNO_3 , 1.2×10^{-2} M H_3BO_3 , 1.2×10^{-4} M $\text{CuCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 2.3×10^{-3} M ZnCl_2 , 4.4×10^{-4} M $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 6×10^{-6} M $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, Fe-EDTA (7.1×10^{-3} M $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ + 7.2×10^{-3} M EDTA- Na_2), pH = + 6.0) con la adición de 3g/L de Phytigel (Sigma-Aldrich, Co.). Los bioensayos se desarrollaron por cuadruplicado para cada condición experimental y se mantuvieron en una cámara de crecimiento, con incubación a 28°C y fotoperíodo de 16 h luz y 8 h oscuridad (con lámparas fluorescentes Phillips T8 32 Watts 5000°K), por un período de 8 días. Después de este tiempo las plántulas se cosecharon de los frascos de cultivo, se contó el número de nudos totales de ellas (N) y se fotografiaron para realizar las mediciones de la longitud total (LT, cm), longitud del brote (LB, cm) y longitud radical (LR, cm) con el empleo del programa de mediciones Motic Images 2000 Ver. 1.3, para el análisis de las imágenes. Se separó el material del brote y radical y se determinó el peso fresco (PF) y se dejó a 70°C a temperatura constante por 24 horas para obtener su peso seco (PS).

La evaluación del efecto de los extractos acuosos sobre el crecimiento de las plántulas de *L. esculenta* se realizó a través del cálculo de la relación de la longitud del brote (LB) entre la longitud de la raíz (LR); del porcentaje del crecimiento del brote: $\%CB = \text{LBext} / \text{LBt} \times 100$; donde “LBext” es la longitud del brote medida en presencia del extracto acuoso y “LBt” es la longitud del brote medida en ausencia del extracto (Testigo), del porcentaje del crecimiento de la raíz, como $\%CR = \text{LRext} / \text{LRt} \times 100$; donde “LRext” es la longitud radical medida en presencia del extracto acuoso y “LRt” es la longitud radical medida en ausencia del extracto (Testigo) y de la medición del Índice de Vigor de las plántulas (IV) calculado con el empleo de la fórmula de Cokkizgin & Cokkizgin (2010): $\text{IV} = [\text{LPB} + \text{LPR}] \times \text{PG}$ donde, LPB es la longitud promedio del brote, LPR es la longitud promedio de la raíz y PG es el porcentaje de germinación.

2.3 Evaluación de la fitotoxicidad de los extractos acuosos de *S. vulgare* y *U. fasciata* sobre el crecimiento de las plántulas de *L. esculenta*

Se evaluó la posible fitotoxicidad de los compuestos presentes en los extractos acuosos de ambas macroalgas con la evaluación del Índice de Elongación Radical propuesto por Bagur-González *et al.* (2011) ($\text{IER} = \text{Elongext} - \text{Elongt} / \text{Elongt}$, donde Elongext es la longitud promedio de las raíces de las plántulas de *L. esculenta* crecidas bajo las diferentes concentraciones de los extractos acuosos probados y Elongt es la longitud promedio de las raíces de las plántulas crecidas en agua destilada (Testigo)); con valores de toxicidad que van desde -1 (máxima toxicidad) a > 0, de acuerdo con las categorías propuestas: A= de 0 a -0.25 baja toxicidad, B= de -0.25 a -0.5 toxicidad moderada, C= de -0.5 a -0.75 alta

toxicidad y D= de -0.75 a -1.0 , toxicidad muy alta; valores del índice > 0 indican que se dio la estimulación del crecimiento de la radícula conocido como hormesis.

2.4 Análisis estadístico de los resultados

A todos los resultados obtenidos se les aplicó un análisis de varianza (ANDEVA) y prueba de Tukey-Kramer de comparación múltiple, empleando el paquete estadístico GraphPad InStat, V2.03. Se realizó también un análisis de componentes principales (ACP), que consideró la asociación de una matriz de datos que incluyó las diferentes condiciones experimentales probadas (T, S5%, S10%, S20%, U5%, U10% y U20%) y los parámetros del crecimiento medidos en las plántulas de *L. esculenta* (LB, LR, LT, relación LB /LR, PF, PS, N), que se evaluó por la correlación de Pearson, utilizando el programa PAST versión 2.02 (Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis) de Hammer *et al.* (2001).

3. RESULTADOS

La Fig. 1 muestra las variaciones en la longitud del brote (Fig. 1a) y la longitud de la raíz (Fig. 1b) obtenidas en las plántulas de *L. esculenta* en donde la longitud de ambos parámetros disminuyó conforme se incrementó la concentración del extracto acuoso en particular el de *S. vulgare* con diferencias estadísticamente significativas entre los extractos de esta especie con las plantas Testigo ($P < 0.001$). La respuesta obtenida del índice LB/LR con respecto a las plantas Testigo evidenció la secuencia: $1.82 > 1.51 > 1.22$ entre los extractos acuosos de U20%, U10% y U5%, respectivamente. Para los extractos acuosos de *S. vulgare*, la secuencia fue de $2.46 > 1.79 > 1.50$, con los extractos de 5%, 20% y 10%, respectivamente; lo que mostró que bajo ambas condiciones experimentales se obtuvo un incremento en el desarrollo del brote con respecto a la raíz.

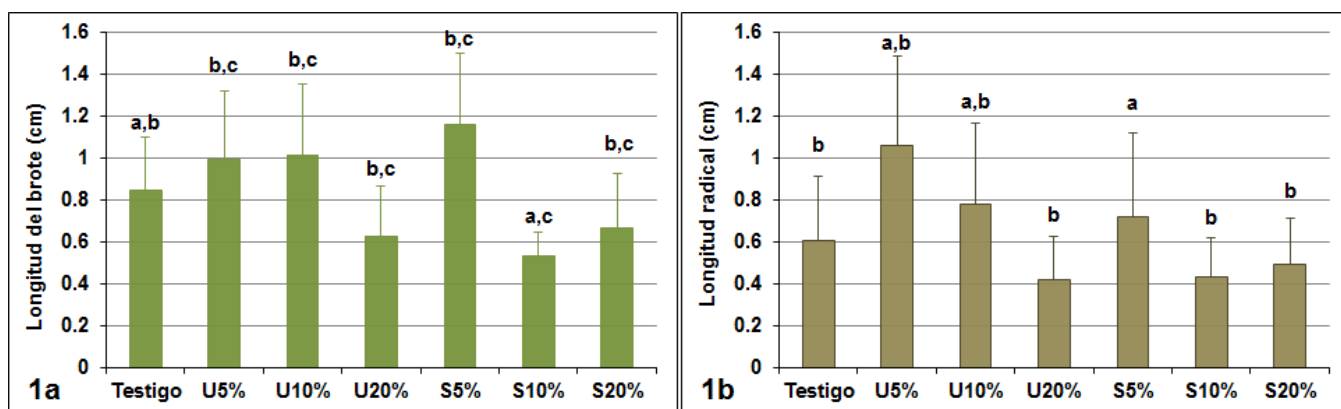


Fig. 1. Evaluación del crecimiento de las plántulas de *Lens esculenta*: **a)** longitud del brote y **b)** longitud de la raíz ($n = 20$), ($a = P < 0.01$ y $b = P < 0.001$).

La Fig. 2 da evidencia del efecto de los extractos acuosos sobre la biomasa vegetal, con mayor peso fresco obtenido en las plántulas de *L. esculenta* con el extracto acuoso de U5% y U10% y con un efecto inhibitor del crecimiento en términos de la biomasa obtenida con el extracto de *S. vulgare* bajo las tres concentraciones probadas (con diferencias significativas, entre $P < 0.01$ y $P < 0.05$) (Fig. 2a). Se obtuvieron resultados de pesos secos bajos comparados con los obtenidos en las plantas sin exposición a los extractos, notándose también una ausencia de diferencias estadísticamente significativas entre todas las condiciones experimentales (Fig. 2b).

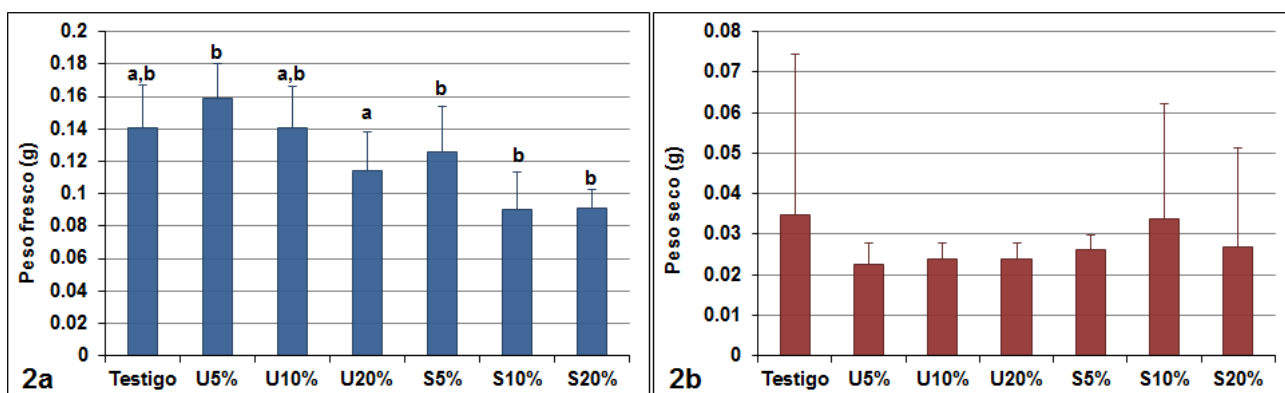


Fig. 2. Evaluación del rendimiento de las plántulas de *Lens esculenta*: **a)** peso fresco y **b)** peso seco (n = 20), (a = $P < 0.01$ y b = $P < 0.001$).

En la Tabla 1 los valores obtenidos del IV también muestran el efecto positivo de las bajas concentraciones de los extractos acuosos probados de ambas macroalgas. No obstante que se obtuvieron bajos porcentajes de germinación se indujo el crecimiento de las plántulas de *L. esculenta* (S5% = 188%, U5% = 195% y U10% = 179%).

Tabla 1. Determinación del índice de vigor de las plántulas de *Lens esculenta*

Experimentos	LPB*	LPR*	PG*	IV*
Testigo	0.84	0.6	95.98	145.12
S5%	1.16	0.71	70.73	188.02
S10%	0.53	0.43	94.65	87.19
S20%	0.66	0.49	89.3	104.41
U5%	0.99	1.05	78.59	195.28
U10%	1.01	0.78	63.99	179.49
U20%	0.62	0.42	79.93	73.1

***LPB:** longitud promedio del brote; **LPR:** longitud promedio de la raíz; **PG:** porcentaje de germinación; **IV:** índice de vigor.

La asociación de las variables medidas y las condiciones experimentales representadas en el ACP (Fig. 3) mostraron una agrupación negativa entre las respuestas del crecimiento de las plántulas de *L. esculenta* con los extractos acuosos de S10%, S20% y U20%. La asociación positiva evidente entre las variables medidas en las plántulas de *L. esculenta* corresponde a la longitud del brote, la relación LB/LR y el número de nudos con las condiciones experimentales T y S5%. Y la más notable que se obtuvo de la promoción del crecimiento con la imbibición de las semillas con los extractos acuosos de U5% y U10%, en su asociación con las variables medidas de los pesos fresco y seco de la biomasa obtenida, la longitud radical y la longitud total de las plántulas de *L. esculenta*.

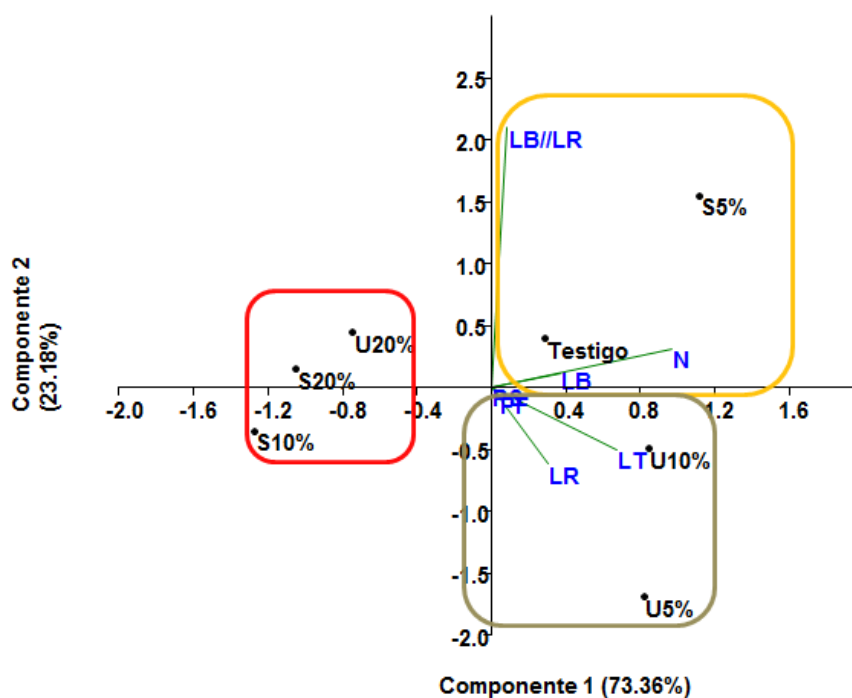


Fig. 3. Análisis de componentes principales (ACP) de la representación de las interacciones entre las condiciones experimentales probadas y las variables de crecimiento medidas de *L. esculenta*.

4. DISCUSIONES

El porcentaje del crecimiento del brote de las plantas de *L. esculenta* expuestas a los extractos acuosos de ambas especies de macroalgas presentó el siguiente orden de respuesta: S5% (137%) > U10% (119%) > U5% (117%) > S20% (78%) >

U20% (73%) > S10% (63%) y del crecimiento radical el siguiente orden: U5% (175%) > U10% (129%) > S5% (118%) > S20% (81%) > S10% (71%) > U20% (69%), donde para ambos casos la imbibición de las semillas en los extractos acuosos de las concentraciones más bajas (5% y 10%) mostraron el efecto directo de la inducción del crecimiento de las plántulas y la concentración del 20% de los extractos acuosos de ambas especies de macroalgas inhibieron éste. Se ha definido como “priming” al proceso por el cual las semillas se hidratan en diferentes soluciones que disparan o inducen el inicio de ciertos procesos metabólicos (como pueden ser la síntesis de proteínas) en el inicio de la germinación (Jisha *et al.*, 2012; Paparella *et al.*, 2015) y Jisha *et al.* (2012) mencionan que la aplicación de agentes químicos derivados de compuestos naturales y/o sintéticos denominados “seed priming agents” como el hidro priming, el osmo priming, el priming químico, el priming hormonal, el priming biológico, el redox priming y el priming de matriz sólida, potencian procesos fisiológicos en las semillas con su imbibición temprana que como consecuencia mejoran el desarrollo de los brotes de las plántulas, su frecuencia de enraizamiento y su índice de vigor. Masondo *et al.* (2018) han empleado compuestos derivados de macroalgas considerados como bioestimulantes aplicados como agentes “priming” para la germinación y crecimiento de las plántulas de *Ceratotheca triloba* bajo ciertas condiciones de estrés abiótico. En este estudio la imbibición de las semillas de *L. esculenta* fue un proceso de “priming” con los extractos acuosos de *S. vulgare* y *U. fasciata* que además de inducir la respuesta germinativa promovieron el crecimiento de las plántulas. En cuanto a los resultados reportados sobre el efecto positivo de la aplicación de extractos de macroalgas a bajas concentraciones se tienen los de Ahmed & Sehwawy (2013), Parthiban *et al.* (2013), Pramanick *et al.* (2013) y Vijayanand *et al.* (2014), quienes han descrito que éstos poseen efectos positivos en el crecimiento y las respuestas bioquímicas de las plantas. Jeannin *et al.* (1991); Aldworth & van Staden (1987) y Crouch & van Staden (1993) y Battacharyya *et al.* 2015, proponen que los efectos promotores del crecimiento de los extractos de macroalgas están relacionados de manera indirecta o directa con el efecto de las fitohormonas presentes en éstos, del tipo de macroalga empleada para la extracción así como de su manejo y procesamiento después de su recolecta natural. Erulan *et al.* (2009) reportan que la aplicación de extractos líquidos de macroalgas a bajas concentraciones favorecen el incremento en los parámetros de crecimiento medidos en las plantas tales como la longitud del brote, la longitud radical, el área foliar, los pesos frescos y secos de la biomasa obtenida y el contenido de humedad en los tejidos; así como la respuesta bioquímica en parámetros tales como las clorofilas “a” y “b”, proteínas, azúcares y almidón, entre otros. Zhang & Schmidt (1997) anotan que las altas concentraciones de los extractos de macroalgas a las que se exponen las plantas, pueden ocasionar una disminución en su crecimiento debido al efecto de una alta concentración de solutos que afectan la osmolaridad. En cuanto a los ensayos de toxicidad basados en la elongación radical, éstos pueden realizarse con diversas especies que incluyen plantas de importancia económica, que son de fácil acceso y que además, germinan y crecen rápidamente (Fletcher *et al.* 1985). Es importante destacar que, durante los primeros días de desarrollo de las plántulas, ocurren numerosos procesos fisiológicos en los que la presencia de una sustancia tóxica

puede interferir en su supervivencia y su desarrollo normal (Sobrero & Ronco 2008). En este estudio; el efecto fitotóxico de los extractos acuosos de *S. vulgare* según la clasificación de Bagur-González *et al.* (2011), determinó que estos se clasificaron entre una toxicidad baja (-0.18) a la concentración de S20% y de toxicidad moderada a las concentraciones de S10% (-0.28) y de U20% (-0.30). Se obtuvo un efecto hormético notable que indujo la promoción del crecimiento de las plántulas de *L. esculenta* expuestas a las concentraciones de S5% (0.18) y de U10% y U5% con valores de índices IER de 0.29 y 0.75, respectivamente. Cabe mencionar que la hormesis es un proceso que está presente en todos los organismos y en toxicología se define como una respuesta bifásica a un compuesto tóxico (estresor) el cual a dosis bajas induce un efecto benéfico y a altas dosis produce un efecto tóxico (Calabrese & Mattson, 2011). A nivel fisiológico esto se puede traducir como una respuesta adaptativa de un organismo a nivel bajo de un factor de estrés acompañado por una sobrecompensación cuando el reajuste de la homeostasis se ha interrumpido; con relación al origen biológico de los bioestimulantes, éstos modifican los procesos fisiológicos de las plantas incrementando su productividad y protección bajo condiciones de estrés. Por lo que a los bioestimulantes se le denomina también inductores y éstos son factores que disparan el crecimiento de las plantas en la forma de dosis-respuesta a bajas concentraciones. Poco se conoce acerca de la evaluación de la hormesis en plantas por compuestos derivados de macroalgas (Vargas-Hernández *et al.*, 2017). En este estudio, la respuesta hormética obtenida a las concentraciones bajas de los extractos acuosos de ambas macroalgas constituye un punto importante para considerarlos como inductores.

Finalmente, en este estudio se dio la evidencia de que la aplicación de los extractos acuosos obtenidos de *Sargassum vulgare* y *Ulva fasciata* y su empleo en bajas concentraciones como agentes de imbibición temprana en la germinación de *Lens esculenta*, promovieron el crecimiento de las plántulas durante los primeros días de su desarrollo con la respuesta particular de éstas con los extractos de *S. vulgare* (5%) y de *U. fasciata* (5% y 10%) como biostimulantes potenciales y considerarse entonces como una posible fuente de reguladores del crecimiento adecuadas para la promoción de las respuestas fisiológicas tempranas que favorezcan la adaptación de las plantas ante cualquier condición de estrés.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a la Secretaría de Investigación y Posgrado del Instituto Politécnico Nacional, el apoyo financiero otorgado al Proyecto SIP: 20181504, para la realización de este trabajo. Los autores agradecen a la Beca de Estímulo Institucional de Formación de Investigadores (BEIFI-IPN), la Comisión de Operaciones y Fomento de Actividades Académicas (COFAA-IPN), al EDI (Estímulo al Desempeño de Investigadores-I.P.N.) y al Sistema Nacional de Investigadores (SNI-CONACyT).

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

REFERENCIAS

- Ahmed M.Y. & Sehrawy E.L. 2013. Effect of seaweed extract on fruiting of Hindy Bisinnara mango trees. *Journal of American Science*. 9: 539-544.
- Aldworth S.J. & van Staden J. 1987. The effect of seaweed concentrate on seedling transplants South African Journal of Botany. 53: 187-189.
- Ali N., Farrell A., Ramsubhag A. & Jayaraman J. 2015. The effect of *Ascophyllum nodosum* extract on the growth, yield and fruit quality of tomato grown under tropical conditions. *Journal of Applied Phycology*. 28: 1353-1362.
- Bagur-González M.G., Estepa-Molina C., Martín-Peinado F. & Morales-Ruano S. 2011. Toxicity assessment using *Lactuca sativa* L. bioassay of the metal(loid)s As, Cu, Mn, Pb and Zn in soluble-in-water saturated soil extracts from an abandoned mining site. *Journal of Soils and Sediments*. 11: 281-289.
- Battacharyya D., Babgohari M.Z., Rathor P. & Prithviraj, B. 2015. Seaweed extracts as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*. 196: 39-48.
- Bhosle N.B., Untawale A.G. & Dhargalkar, V.K. 1975. Effect of seaweed extract on the growth of *Phaseolus vulgaris* L. *Indian Journal of Marine Sciences*. 4: 208-210.
- Calabrese E.J. & Mattson M.P. 2011. Hormesis provides a generalized quantitative estimate of biological plasticity. *Journal of Cell Communication and Signalling*. 5:25-38.
- Calvo P., Nelson L. & Kloepper J. W. 2014. Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant and Soil*. 383: 3-41.
- Cassan L., Jean I., Lamaze J. & Morotgaudry J.F. 1992. The effect of the *Ascophyllum nodosum* extract Geomer GA14 on the growth of spinach. *Botanica Marina*. 35: 437-439.
- Cokkizgin A. & Cokkizgin H. 2010. Effects of lead (PbCl₂) stress on germination of lentil (*Lens culinaris* Medic.) lines. *African Journal of Biotechnology*. 9: 8608-8612.
- Colla G., Nardi S., Cardarelli M., Ertani A., Lucini L., Canaguier R. & Rouphael Y. 2015. Protein hydrolysates as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*. 196: 28-38.
- Crouch I.J. & van Staden J. 1993. Evidence for the presence of plant growth regulators in commercial seaweed products. *Plant Growth Regulation*. 13: 21-29.
- Durand N., Briand X. & Meyer C. 2003. The effect of marine bioactive substances (NPRO) and exogenous cytokinins on nitrate reductase activity in *Arabidopsis thaliana*. *Physiologia Plantarum*. 119: 489-493.

Ertani A., Schiavon M., Altissimo A., Franceschi C. & Nardi S. 2011. Phenol-containing organic substances stimulate phenylpropanoid metabolism in *Zea mays*. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 174: 496-503.

Ertani A., Pizzeghello D., Altissimo A. & Nardi S. 2013. Use of meat hydrolysate derived from tanning residues as plant biostimulant. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 176: 287-295.

Ertani A., Pizzeghello D., Francioso O., Sambo P., Sanchez-Cortes S. & Nardi S. 2014. *Capsicum chinensis* L. growth and nutraceutical properties are enhanced by biostimulants in a long-term period: chemical and metabolomic approaches. *Frontiers in Plant Science*. 5:375.

Ertani A., Francioso O., Tinti A., Schiavon M., Pizzeghello D. & Nardi S. 2018. Evaluation of seaweed extracts from *Laminaria* and *Ascophyllum nodosum* spp. as biostimulants in *Zea mays* L. using a combination of chemical, biochemical and morphological approaches. *Frontiers in Plant Science*. 9:428.

Erulan M., de Smet I., Vassileva V. & de Rybel B. 2009. Receptor-like kinase *acr4* restricts formative cell divisions in the *Arabidopsis* root. *Science*. 322: 594-597.

Fletcher J.S., Muhitch M.J., Vann D.R., McFarlane J.C. & Benenati F.E. 1985. Review: PHYTOTOX database evaluation of surrogate plant species recommended by the U.S. Environmental Protection Agency and the Organization of Economic Cooperation and Development. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 4: 523-532.

Godlewska K., Michalak I., Tuhy A. & Chojnacka K. 2016. Plant growth biostimulants based on different methods of seaweed extraction with water. *BioMed Research International*. 2016: 1-11.

Goñi O., Fort A., Quille P., McKeown P.C., Spillane C. & O'Connell S. 2016. Comparative transcriptome analysis of two *Ascophyllum nodosum* extract biostimulants: same seaweed but different. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 64: 2980-2989.

Guinan K.J., Sujeeth N., Copeland R.B., Jones P.W., O'Brien N.M., Sharma H.S.S., Prouteau P.F.J. & O'Sullivan J.T. 2013. Discrete roles for extracts of *Ascophyllum nodosum* in enhancing plant growth and tolerance to abiotic and biotic stresses. *Acta Horticulturae*. 1009: 127-135.

Hammer ϕ ., Harper D.A.T. & Ryan P.D. 2001. Past: Paleontological Statistics Software for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica*. 4: 9.

Hong D.D., Hien H.M. & Son P.N. 2007. Seaweeds from Vietnam used for functional food, medicine and fertilizer. *Journal of Applied Phycology*. 19: 817-826.

Jeannin I., Lescure J.C. & Morot-Gaudry J.F. 1991. The effects of aqueous seaweed sprays on the growth of maize. *Botanica Marina*. 34: 469-473.

Jisha K.C., Vijayakumari K. & Puthur J.T. 2012. Seed priming for abiotic stress tolerance: an overview. *Acta Physiologiae Plantarum*. 35: 1381-1396.

Joubert J.M. & Lefranc G. 2008. Seaweed biostimulants in agriculture: recent studies on mode of action two types of products from alga: growth and nutrition stimulants and stimulants of plant Demence reactions. *Book of Abstracts: Biostimulants in Modern Agriculture*. Warsaw: 16.

Khan W., Rayirath U.P, Subramanian S., Jithesh N.M.N., Rayorath P., Hodges M.D., Critchley A.T., Craigie J.S., Norrie J. & Prithiviraj B. 2009. Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *Journal of Plant Growth Regulation*. 28: 386-399.

Kumar G. & Sahoo D. 2011. Effect of seaweed liquid extract on growth and yield of *Triticum aestivum* var. Pusa Gold. *Journal of Applied Phycology*. 23: 251-255.

Mancuso S., Azzarello E., Mugnai S. & Briand, X. 2006. Marine bioactive substances (IPA extract) improve foliar ion uptake and water stress tolerance in potted *Vitis vinifera* plants. *Advances in Horticultural Science*. 20:156-161.

Masondo N.A., Kulkarni M.G., Finnie J.F. & van Staden J. 2018. Influence of biostimulants-seed-priming on *Ceratotheca triloba* germination and seedling growth under low temperatures, low osmotic potential and salinity stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 147: 43-48.

Michalak I., Chojnacka K., Dmytryk A., Wilk R., Gramza M. & Rój E. 2016. Evaluation of supercritical extracts of algae as biostimulants of plant growth in field trials. *Frontiers in Plant Science*. 7: 1591.

Mugnai S., Azzarello E., Pandolfi C., Salamagne S., Briand X. & Mancuso S. 2008. Enhancement of ammonium and potassium root influxes by the application of marine bioactive substances positively affects *Vitis vinifera* plant growth. *Journal of Applied Phycology*. 20: 177-182.

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: 18-23.

Paparella S., Araújo S.S., Rossi G., Wijayasinghe M., Carbonera D. & Balestrazzi A. 2015. Seed priming: state of the art and new perspectives. *Plant Cell Reporter*. 34: 1281-1293.

Parthiban C., Saranya C., Hemalatha A., Kavitha B. & Anantharaman P. 2013. Effect of seaweed liquid fertilizer of *Spatoglossum asperum* on the growth and pigment content of *Vigna radiata*. International Journal of Recent Scientific Research. 4: 1418-1421.

Pereira L., Amado A.M., Critchley A.T., van de Velde F. & Ribeiro-Claro P.J.A. 2009. Identification of selected seaweed polysaccharides (phycocolloids) by vibrational spectroscopy (FTIR-ATR and FT-Raman). Food Hydrocolloids. 23: 1903-1909.

Pramanick B., Brahmachari K. & Ghosh A. 2013. Effect of seaweed saps on growth and yield improvement of green gram. African Journal of Agricultural Research. 8: 1180-1186.

Rayorath P., Jithesh M.N., Farid A., Khan W., Palanisamy R., Hankins S.D., Critchley A.T. & Prithviraj B. 2008. Rapid bioassays to evaluate the plant growth promoting activity of *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. using a model plant, *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. Journal of Applied Phycology. 20: 423-429.

Roussos P.A., Denaxa N. K. & Damvakaris, T. 2009. Strawberry fruit quality attributes after application of plant growth stimulating compounds. Scientia Horticulturae. 119: 138-146.

Sahoo, D. 2000. Farming the ocean. In: Seaweeds Cultivation and Utilization. Aravali Books International. New Delhi, India, pp. 40.

Satish L., Ceasar S.A., Shilpha J., Rency S.A., Rathinapriya P. & Ramesh M. 2015. Direct plant regeneration from in vitro-derived shoot apical meristems of finger millet (*Eleusine coracana* (L.) Gaertn.). In Vitro Cellular and Developmental Biology. 51: 192-200.

Sharma H.S.S., Fleming C., Selby C., Rao J.R. and & Martin T. 2014. Plant biostimulants: a review on the processing of macroalgae and use of extracts for crop management to reduce abiotic and biotic stresses. Journal of Applied Phycology. 26: 465-490.

Sivasankari S., Venkatesalu V., Anantharaj M. & Chandrasekaran M. 2006. Effect of seaweed extracts on the growth and biochemical constituents of *Vigna sinensis*. Bioresource Technology. 97: 1745-1751.

Sobrero M.C. & Ronco A. 2008. Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga *Lactuca sativa* L. En: Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo. La experiencia en México. (P. Ramírez Romero y A. Mendoza Cantú, Comp.). Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, México pp. 55-68.

Spinelli F., Fiori G., Noferini M., Sprocatti M. & Costa G. 2010. A novel type of seaweed extract as a natural alternative to the use of iron chelates in strawberry production. *Scientia Horticulturae*. 125: 263-269.

Stirk W.A., Novak O., Strnad M. & van Staden J. 2003. Cytokinins in macroalgae. *Plant Growth Regulation*. 41: 13-24.

Stirk W.A., Arthur G.D., Lourens A.F., Novak O., Strnad M. & van Staden J. 2004. Changes in cytokinin and auxin concentrations in seaweed concentrates when stored at an elevated temperature. *Journal of Applied Phycology*. 16: 31-39.

Vargas-Hernandez M., Macias-Bobadilla I., Guevara-Gonzalez R.G., Romero-Gomez S.J., Rico-Garcia E., Ocampo-Velazquez R., Alvarez-Arquieta L.L. & Torres-Pacheco I. 2017. Plant hormesis management with biostimulants of biotic origin in agriculture. *Frontiers in Plant Science*. 8:1762.

Vijayanand N., Ramya S.S. & Rathinavel S. 2014. Potential of liquid extracts of *Sargassum wightii* on growth, biochemical and yield parameters of cluster bean plant. *Asian Pacific Journal of Reproduction*. 3: 150-155.

Vinoth S., Gurusaravanan P. & Jayabalan N. 2012. Effect of seaweed extracts and plant growth regulators on high-frequency *in vitro* mass propagation of *Lycopersicon esculentum* L. (tomato) through double cotyledonary nodal explant. *Journal of Applied Phycology*. 24: 1329-1337.

Wildgoose P.B., Blunden G. & Jewers K. 1978. Seasonal variation in gibberellin activity of some species of Fucaceae and Laminariaceae. *Botanica Marina*. 21: 63-65.

Zhang X. & Schmidt R.E. 1997. The impact of growth regulators on the A – tocopherol status in water – stressed *Poa pratensis* L. *International Turfgrass Society Research Journal*. 8: 1364-1373.