

Grao en Bioloxía

Memoria do Traballo de Fin de Grao

Efecto dos extractos das algas *Cystoseira baccata* e *Himanthalia elongata* sobre a xerminación de sementes de interese agrícola

Efecto de los extractos de las algas *Cystoseira baccata* e *Himanthalia elongata* sobre la germinación de semillas de interés agrícola

Effect of seaweeds *Cystoseira baccata* and *Himanthalia elongata* extracts in the germination of crop seeds.



Ana Belén Fachado Baña

Julio, 2019

Director(es) Académico(s): Néstor Carillo Barral

Índice

1. Resumen	1
2. Introducción	3
2.1. Germinación y semillas	3
2.1.1. ¿Qué es la germinación?.....	3
2.1.2. Regulación de la germinación.....	4
2.1.2. Importancia de la germinación en las plantas y en la agricultura	4
2.2. <i>Capsicum annum</i> L.	5
2.3. <i>Daucus carota</i>	6
2.4. Algas y germinación.....	7
2.4.1. Algas en Galicia	7
2.4.2. Aplicaciones de los extractos de algas	7
2.5. <i>Cystoseira baccata</i> (S.G. Gmelin) Silva	8
2.6. <i>Himanthalia elongata</i> (L.) S.F.Gray	9
3. Objetivos.....	10
4. Material y métodos.....	10
4.1. Material vegetal	10
4.1.1. Semillas	10
4.1.2. Algas.....	10
4.2. Extractos	11
4.3. Ensayos de germinación	11
4.4. Análisis estadístico	11
5. Resultados.....	12
5.1. Velocidad de germinación: “t50”	14
6. Discusión	16
7. Conclusiones.....	18
8. Bibliografía.....	19

1. Resumen

La germinación es una etapa clave para el desarrollo exitoso de las plantas. Los extractos de algas pueden funcionar como bioestimulantes al presentar fitohormonas u otros compuestos que mejoran las tasas de germinación, destacando los extractos de algas pardas como los más efectivos. En nuestro estudio utilizamos extractos de dos especies de algas pardas, *Cystoseira bacata* e *Himanthalia elongata*, para comprobar su efecto en la germinación las semillas de dos especies hortícolas, *Capsicum annum* y *Daucus carota*. Ambos extractos mostraron un efecto inhibitorio sobre la germinación, especialmente a altas concentraciones. Sin embargo, la viabilidad de las semillas no se vio afectada.

Resumo

A xerminación é unha etapa clave para o desenvolvemento exitoso das plantas. Os extractos de algas poden funcionar como biostimulantes ao presentar fitohormonas ou outros compostos que melloran as taxas de xerminación, destacando os extractos de algas pardas como o máis eficaz. No noso estudo utilizamos extractos de dúas especies de algas mariñas, *Cystoseira bacata* e *Himanthalia elongata*, para probar o seu efecto na xerminación das sementes de dúas especies hortícolas, *Capsicum annum* e *Daucus carota*. Ambos extractos amosaron un efecto inhibitor sobre a xerminación, especialmente a altas concentracións. Porén, a viabilidade das sementes non se viu afectada.

Abstract

Germination is a key stage for the successful development of plants. Seaweeds extracts can function as biostimulants by presenting phytohormones or other compounds that improve germination rates. Brown seaweed extracts are the most effective. In our study we use extracts from two species of brown seaweed, *Cystoseira bacata* and *Himanthalia elongata*, to test their effect on seed germination of two horticultural species, *Capsicum annum* and *Daucus carota*. Both extracts showed an inhibitory effect on germination, especially at high concentrations. However, the viability of the seeds was not affected.

Palabras clave: Extractos de algas, germinación, *Himanthalia elongata*, *Cystoseira baccata*, pimiento, zanahoria.

2. Introducción

2.1. Germinación y semillas

2.1.1. ¿Qué es la germinación?

Una de las etapas más importantes del ciclo vital de las plantas superiores es la semilla. La semilla es la unidad de dispersión de la planta y es capaz de sobrevivir bajo condiciones adversas durante largos períodos, hasta que las condiciones sean favorables para la supervivencia de la planta (Weitbrecht *et al.*, 2011).

El desarrollo de la semilla consta de dos fases: el desarrollo del embrión (embriogénesis) y la maduración de las semillas. Durante la maduración la semilla acumula nutrientes, se establece la dormición y se desarrolla la tolerancia a la desecación (Bentsink y Koornneef, 2017).

Antes de producirse la germinación, la semilla se encuentra en estado de dormición. Esto quiere decir que se encuentra en un estado de latencia temporal hasta que las condiciones sean convenientes para el crecimiento de la plántula. La dormición permite que las semillas superen los periodos desfavorables para la germinación, lo cual es muy importante para la ecología de las plantas y para la agricultura (Bentsink y Koornneef, 2017).

Existen varios procesos para reducir el grado de dormición de la semilla, pero los más estudiados son la estratificación y el “after-ripening”. La estratificación (Walck *et al.*, 1999) se produce al someter a la semilla a condiciones de bajas temperaturas y elevada humedad. Por otro lado el “after-ripening” se produce al almacenarse la semilla en seco y a temperatura ambiente varios meses después de la cosecha (Finch-Savage *et al.*, 2007). Durante el “after-ripening”, el nivel de dormición de la semilla disminuye, aumenta el rango de temperatura para la germinación, disminuye la concentración de ABA y se incrementa la de GA. También aumenta la sensibilidad de las semillas a la luz y pierden la necesidad de nitrato, lo que conduce a un aumento de la velocidad de germinación (Leubner-Metzger y Finch-Savage, 2006).

La germinación comienza con la absorción de agua de forma pasiva por la semilla seca (imbibición). El proceso de captación de agua se divide en tres fases: una captación inicial rápida (imbibición), una fase de meseta en la que no hay entrada de agua en la semilla, y finalmente un aumento en la captación de agua de forma activa durante el alargamiento del eje embrionario, que rompe las capas de la cubierta de la semilla completando la germinación (Kucera *et al.*, 2005).

En las semillas de angiospermas el embrión está rodeado por el endospermo y la testa. Cuando el embrión se alarga y la radícula atraviesa las capas que la rodean, se completa la germinación “sensu stricto”. Estas cubiertas del embrión suponen una barrera mecánica que debe ser superada por el potencial de crecimiento del embrión (Kucera *et al.*, 2005).

En la testa existen unos puntos de rotura predeterminados que facilitan la germinación si comprometer la estructura de la semilla. Además, tanto la testa como el endospermo deben debilitarse para que ocurra la germinación. Este proceso está mediado por enzimas, que pueden ser liberadas por el endospermo o por el embrión (Bentsink y

Koornneef , 2017). El debilitamiento de las cubiertas y el crecimiento del embrión son promovidos por GA e inhibidos por ABA (Baskin y Baskin, 2004).

2.1.2. Regulación de la germinación

Para que se produzca la germinación los requisitos fundamentales son: agua, oxígeno y una temperatura adecuada. Pero la semilla también es sensible a otros factores como la luz y el nitrato. En general, todas estas circunstancias regulan la germinación de la semilla al influir en el metabolismo y señalización de dos fitohormonas: el ácido abscísico (ABA) y las giberelinas (GAs) (Leubner-Metzger y Finch-Savage, 2006).

ABA y GAs, actúan en diferentes sitios y momentos durante la vida de la semilla. El ABA induce la dormición durante la maduración de la semilla, mientras que las GAs desempeñan un papel clave en la liberación de ese estado de latencia, además de promover la germinación. Estas dos hormonas pueden actuar al mismo tiempo sobre la dormición y la germinación por lo que es la relación ABA: GA y no la cantidad de hormonas lo que controla la germinación. Durante el estado de dormición se da una mayor biosíntesis de ABA y degradación de GAs que mantiene una alta relación ABA: GA e impide que la germinación progrese (Leubner-Metzger y Finch-Savage, 2006).

Otras hormonas, como los brasinoesteroides, el etileno y las auxinas, también están implicados en el control de la germinación, pero su efecto es menor y suelen actuar influyendo a través del ABA y GAs (Baskin y Baskin, 2004).

2.1.3. Importancia de la germinación en las plantas y en la agricultura

Un buen potencial de germinación en las semillas es importante para la agricultura, ya que una escasa germinación o un crecimiento a destiempo de las plantas puede suponer grandes pérdidas económicas (Bentsink y Koornneef, 2017).

Las semillas están expuestas constantemente a condiciones ambientales adversas a lo largo de las diferentes etapas de germinación. Durante estas etapas las plantas están sometidas a factores estrés como temperaturas extremas, sequía y cambios de salinidad (Sharma *et al.*, 2014). La tasa de supervivencia de la mayoría de las especies de cultivos sometidos a diferentes condiciones de estrés ambiental se reduce considerablemente, lo que reduce el rendimiento (Masondo *et al.*, 2018).

La temperatura es uno de los factores climáticos más importantes que afectan significativamente la germinación de las semillas mediante la inhibición de la emergencia de la radícula y el crecimiento posterior de las plántulas. Las bajas temperaturas pueden inhibir completamente la germinación provocando una parada metabólica en la semilla que no germinará hasta que se someta a una temperatura adecuada. Por otro lado las altas temperaturas también pueden impedir la germinación (termoinhibición; Probert, 2000).

A su vez, la sequía y el estrés por salinidad pueden provocar la inhibición o germinación tardía de semillas y desarrollo de las plántulas, además del efecto tóxico de los iones de sodio y de cloruro (Ghaderiardakani *et al.*, 2019).

Estos factores de estrés provocan respuestas fisiológicas similares por parte de las semillas, las cuales pueden entrar en un estado de dormición secundaria que evita su germinación en condiciones desfavorables.(Masondo *et al.*, 2018).

Una buena opción para mejorar la germinación es el uso de bioestimulantes que contrarresta el efecto del estrés abiótico. Los bioestimulantes de plantas son sustancias o microorganismos que mejoran la absorción y eficiencia de los nutrientes, la tolerancia al estrés abiótico, el crecimiento y el desarrollo de la planta (Sharma *et al.*, 2014). Por lo tanto también influyen positivamente en la calidad de los cultivos. Asimismo, suponen un beneficio económico y ecológico para los agricultores (Masondo *et al.*, 2018).

El uso de extractos de algas como bioestimulantes es una opción prometedora para una agricultura sostenible, que apunta a reducir el uso de fertilizantes minerales y pesticidas ya que es una buena alternativa al uso convencional de fertilizantes químicos. Utilizando extractos de algas marinas como estimulantes para el crecimiento de las plantas se ha logrado obtener una mayor tasa de germinación, mejorar el desarrollo del sistema radicular, así como aumentar el área foliar, número de hojas, peso de la planta, calidad de la fruta y vigor de la planta (Di Filippo-Herrera *et al.*, 2018).

2.2. *Capsicum annuum* L. (Pimiento)

Para este trabajo elegimos dos especies de cultivo común en Galicia: pimiento (*Capsicum annuum*) y zanahoria (*Daucus carota*).

Capsicum annuum (**Tabla 1**) es la especie de pimiento más ampliamente cultivada. España es el país europeo en el que está más extendido el cultivo de pimiento (FAO, 2002) pero a nivel mundial también es muy apreciado, sobre todo en Asia donde se encuentra el 65% de la producción (FAOSTAT, 2019).

Tabla 1: Clasificación taxonómica la especie *Capsicum annuum* L.

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Subfamilia	Solanoideae
Género	Capsicum

En España, durante 2017 (**Figura 1**), el cultivo de pimiento se extendía por unas 20.500 ha y la producción es de unas 1.300.000 toneladas, lo que se traduce en una media de 63 toneladas por ha (FAOSTAT, 2019).

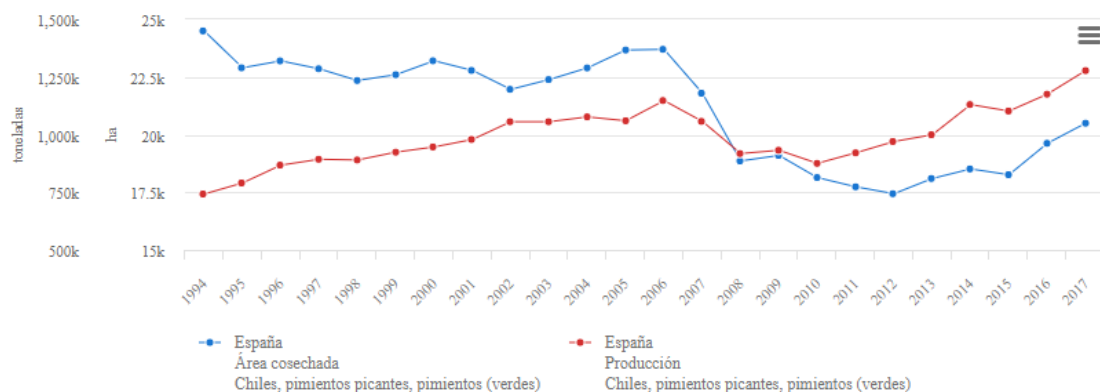


Figura 1: Datos de la producción de pimientos verdes en España (1994-2017) obtenida de la FAOSTAT (2019).

2.3. *Daucus carota* L. (Zanahoria)

Respecto a *Daucus carota* (**Tabla 2**), también es un cultivo muy extendido. A nivel mundial, Asia es el continente donde más se cultiva, acumulando el 54,4% de la producción (FAOSTAT, 2019).

Tabla 2: Clasificación taxonómica de la especie *Daucus carota* L.

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Apiales
Familia	Apiaceae
Subfamilia	Apioideae
Género	Daucus

Los últimos datos, de 2017 (**Figura 2**), recogen que en España el cultivo de zanahoria ocupa unas 6400 ha, de las que se extraen unas 400.000 toneladas. Lo cual equivale a 63 toneladas por ha (FAOSTAT, 2019).

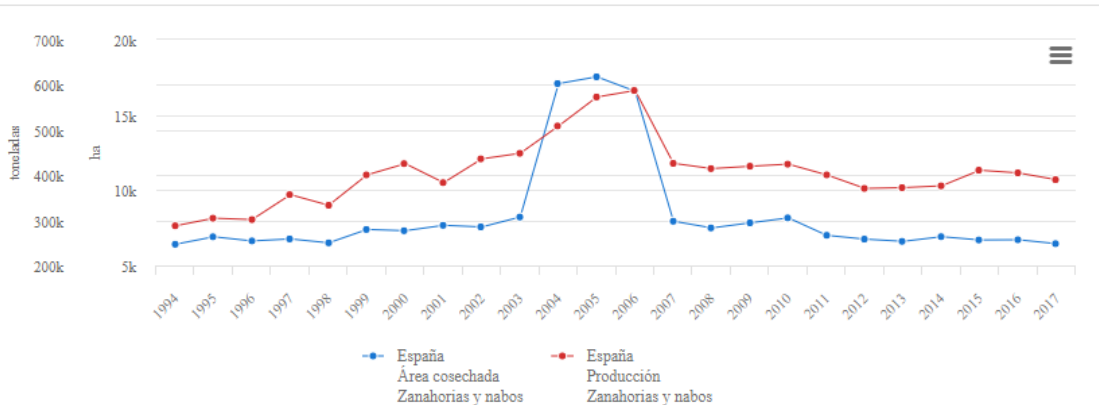


Figura 2: Datos de la producción de zanahoria en España (1994-2017) obtenida de la FAOSTAT (2019).

2.4. Algas y germinación

2.4.1. Algas en Galicia

Galicia es una comunidad autónoma situada al noroeste de la Península Ibérica, bañada por el Océano Atlántico y el Mar Cantábrico por lo que abarca un gran tramo de costa extremadamente accidentada con múltiples entrantes y salientes. Las formaciones más características de la costa gallega son las rías, aunque también existen grandes secciones ocupadas por playas y áreas arenosas costeras con dunas y marismas litorales, por lo que su situación geográfica es óptima para el desarrollo de una gran diversidad de vegetación marina (Cremades *et al.*, 2004).

El medio marino gallego alberga una gran riqueza específica de vegetación acuática, tanto en la zona costera como más allá de ella. Esta diversidad biológica incluye un amplio abanico de especies de diversos tamaños, desde macroalgas de más de 3 metros hasta microalgas. La vegetación marina, al igual que la terrestre, tiene múltiples aplicaciones en diversos ámbitos debido a sus nutrientes y propiedades características (Tasende, 2016).

En Galicia las algas poseen un gran interés económico ya que se comercializan en gastronomía, cosmética, ganadería (como suplemento mineral para ganado), farmacología, agricultura, combustibles, colorantes, etc. desde hace mucho tiempo (González *et al.*, 1998).

Las algas también desempeñan un papel muy importante en la formación y funcionamiento de ecosistemas costeros ya que son los principales productores primarios de estos. Actúan en nuestras costas desempeñando funciones necesarias como el reciclaje de nutrientes, convierten el CO₂ en oxígeno y sirven de alimento y refugio a multitud de organismos (Tasende, 2016).

2.4.2. Aplicaciones de los extractos de algas

Los habitantes de la costa fueron los primeros en darle uso a las algas que aparecían en las playas, recogiénolas y esparciéndolas por sus terrenos, utilizándolas a modo de

fertilizantes, a principios del siglo XIX. Solía tratarse de grandes algas pardas que, debido al alto contenido en fibra y gran riqueza mineral, conferían propiedades beneficiosas al suelo, como una mayor capacidad de absorción y retención de agua y una fuente de nutrientes para las plantas cultivadas en esos terrenos (FAO, 2004).

Durante el siglo XX se empezó a desarrollar una pequeña industria basada en comercializar el alga seca y molida pero esta industria se vio mermada con la llegada de los fertilizantes químicos (FAO, 2004).

Actualmente, sigue siendo común entre los agricultores la recogida de las arribazones (algas que llegan a las playas tras los temporales) que luego son utilizadas como abono para los cultivos (Simón y Copena, 2014). Además, debido al aumento de la preocupación de la población por el medio ambiente y al incremento del interés por la agricultura orgánica, el uso de extractos líquidos de algas como fertilizantes se encuentra en expansión. Múltiples estudios científicos demuestran la eficacia de estos productos por lo que son ampliamente aceptados entre los agricultores. Entre sus beneficios se encuentran, mejoran la absorción de los nutrientes del suelo, proporcionan resistencia a algunas plagas, mejoran la germinación de las semillas y aumentan la resistencia a cambios ambientales (Di Filippo-Herrera *et al.*, 2018).

Durante 1991, fueron utilizadas 10000 toneladas de algas húmedas para obtener 1000 toneladas de extractos con un valor de 4,5 millones de euros. Desde entonces el mercado se ha duplicado debido al reconocimiento de la eficacia de estos productos (FAO, 2004).

Los extractos de algas marinas se comercializan como biofertilizantes líquidos o bioestimulantes que contienen una variedad de componentes que promueven el crecimiento de las plantas, entre los que se incluyen los reguladores del crecimiento de las plantas (fitohormonas), minerales y oligoelementos, moléculas de amonio cuaternario, poliuronidos y moléculas basadas en lípidos, por ejemplo, esteroides (Ghaderiardakani *et al.*, 2019).

También está muy extendido el uso de compost de algas como fertilizante ya que las algas presentan numerosos nutrientes que mejoran la calidad del suelo, modificando sus características químicas, físicas y biológicas (Cole *et al.* 2016). El compostaje es una buena solución para la molesta acumulación de algas que crecen incontroladamente en algunos entornos naturales, es una forma de darle una segunda vida a todas las algas residuales que son retiradas asiduamente (Han *et al.*, 2014).

2.5. *Cystoseira baccata* (S.G. Gmelin) Silva

Se trata de un alga parda de la familia Cystoseiraceae (**Tabla 3**) que puede alcanzar grandes tamaños de hasta 1'5 metros de longitud, es de color pardo oliváceo que ennegrece con la desecación, consistencia coriácea y aspecto arborescente (**Figura 3**) (Bárbara *et al.*, 1987).

Tabla 3: Clasificación taxonómica del alga *Cystoseira baccata*.

Reino	Protoctista
División	Heterokontophyta
Clase	Phaeophyceae
Orden	Fucales
Familia	Cystoseiraceae
Género	Cystoseira

Se fija al sustrato mediante un disco basal ancho del que sale el eje principal que es ancho, aplanado y crece en zig-zag. La ramificación es alterna y en un solo plano.

Las ramas secundarias son más pequeñas y, dependiendo de la época del año, portan receptáculos alargados y cilíndricos. En verano llevan vesículas aeríferas redondeadas y de hasta 1 cm.

Esta alga se distribuye por las charcas mareales en el horizonte inferior del nivel mesolitoral y en el infralitoral de las costas semiexpuestas y protegidas (Bárbara *et al.*, 1987).



Figura 3: *Cystoseira baccata* (S.G. Gmelin). Tomado de Wikipedia, 2019.

2.6. *Himanthalia elongata* (L.) S.F.Gray

Comúnmente conocida como cinta, correa o espagueti de mar, también se trata de un alga parda, en este caso de la familia Himanthaliaeae (**Tabla 4**).

Tabla 4: Clasificación taxonómica del alga *Himanthalia elongata*.

Reino	Protoctista
División	Heterokontophyta
Clase	Phaeophyceae
Orden	Fucales
Familia	Himanthaliaceae
Género	Himanthalia

Es un alga de gran porte que puede alcanzar hasta los 3 metros de longitud por 2 cm de anchura (**Figura 4**). Posee una estructura basal perenne con aspecto de copa de 2 a 3 cm

de diámetro de la que, durante la primavera, crecen dos largas correas que se van dividiendo dicotómicamente. Estas correas son órganos reproductores que cuando maduran tienen pequeñas manchas oscuras en la superficie, donde se forman los gametos. Cuando acaba el periodo de reproducción, estas correas se desprenden y sólo queda la parte basal (Bárbara *et al.*, 1987).



Figura 4: *Himanthalia elongata* (L.). Tomado de Wikipedia, 2019.

3. Objetivos

La intención de este trabajo es estudiar el efecto de algas pardas gallegas en la germinación de semillas de interés agrícola, altamente comercializadas y de abundante consumo. Por ello, los objetivos planteados son:

- Determinar cómo influye el extracto del alga *Cystoseira baccata* en la germinación de *Daucus carota* (zanahoria) y *Capsicum annuum* (pimiento).
- Determinar cómo influye el extracto del alga *Himanthalia elongata* en la germinación de *Daucus carota* (zanahoria) y *Capsicum annuum* (pimiento).

4. Material y métodos

4.1. Material vegetal:

4.1.1. Semillas

Para nuestro estudio utilizamos semillas comerciales de dos especies: *Daucus carota* (zanahoria) y *Capsicum annuum* var. *annuum* (pimiento italiano). Escogimos estas dos especies porque ambas son comúnmente cultivadas en Galicia, proceden de diferentes familias y tienen distintos tiempos de germinación.

4.1.2. Algas

En este trabajo empleamos dos algas pardas procedentes de rías gallegas: *Cystoseira baccata* e *Himanthalia elongata* (espagueti de mar). El alga *Cystoseira baccata* fue proporcionada por el Dr. Ignacio Bárbara Criado, que se encargó de su obtención, limpieza y secado. Con respecto al alga *Himanthalia elongata* fue comprada en estado deshidratado.

Posteriormente, ambas algas fueron molidas y tamizadas hasta obtener un polvo fino.

4.2. Extractos

Para elaborar el extracto del alga, añadimos 0'2 gramos del alga en polvo a 10 ml de agua destilada estéril.

Posteriormente, mantenemos la mezcla en agitación durante 15 minutos a temperatura ambiente y después la calentamos en un termobloque a 80°C durante 30 minutos. Finalmente, dejamos enfriar la mezcla y la filtramos a vacío, obteniendo el extracto madre al 2% a partir del cual obtuvimos el resto de concentraciones.

Para nuestro experimento decidimos someter a las semillas a 4 concentraciones distintas del extracto: 2%, 0'5%, 0'05% y H₂O (control).

4.3. Ensayos de germinación

Evaluamos el efecto de los extractos de ambas algas sobre la germinación de las semillas de zanahoria y pimiento. Todos los experimentos se realizaron por duplicado.

Las semillas fueron previamente esterilizadas para evitar la proliferación de hongos u otros microorganismos. Para la esterilización utilizamos una solución de hipoclorito sódico comercial diluido al 1%, sumergimos las semillas durante 15 minutos y posteriormente realizamos varios lavados con agua destilada estéril.

Para cada concentración de extracto utilizamos 3 placas. En cada placa colocamos 2 papeles de filtro y vertimos 3 ml del extracto a la concentración correspondiente. Luego sembramos 50 semillas por placa distribuidas equitativamente para evitar posibles interferencias entre ellas y para facilitar su conteo.

Después apilamos las placas e incluimos una placa sólo con agua en los extremos de cada torre para mantener la hidratación. A continuación, las introducimos en una bolsa cerrada y las situamos en una cámara con condiciones adecuadas para la germinación: 16 h de luz a 25°C y 8h de oscuridad a 18°C.

Determinamos el porcentaje de germinación cada 24h durante los primeros 7 días en el caso de zanahoria y 10 días en el caso de pimiento. Tres días después llevamos a cabo un último conteo para comprobar el porcentaje máximo de germinación que alcanzaron. Se consideraron germinadas aquellas semillas en las que la radícula ha atravesado las cubiertas y es claramente visible.

A partir de los ensayos de germinación, calculamos el indicador t₅₀, según el método descrito en Fahimi *et al.* (2013).

$$t_{50} = t_i + \frac{[\left(\frac{N}{2} - n_i\right)(t_i - t_j)]}{n_i - n_j}$$

4.4. Análisis estadístico

Para realizar nuestro análisis estadístico utilizamos el programa **Statgraphics**. Realizamos una prueba ANOVA en los datos paramétricos y Kruskal-Wallis en los no paramétricos para observar si hay diferencias estadísticamente significativas entre las

diferentes t50 de cada tratamiento. En todos los casos se consideraron significativos aquellos resultados con un p-valor < 0.05.

5. Resultados

En los ensayos de germinación evaluamos el efecto de los extractos de ambas especies de algas, *Cystoseira baccata* e *Himanthalia elongata*, a diferentes concentraciones (H₂O, 0'05%, 0'5% y 2%) sobre la germinación de semillas y determinamos el porcentaje de germinación cada 24h.

Tras la determinación de semillas germinadas realizada durante los experimentos observamos los datos reflejados en las gráficas (**Figuras 1, 2, 3 y 4**).

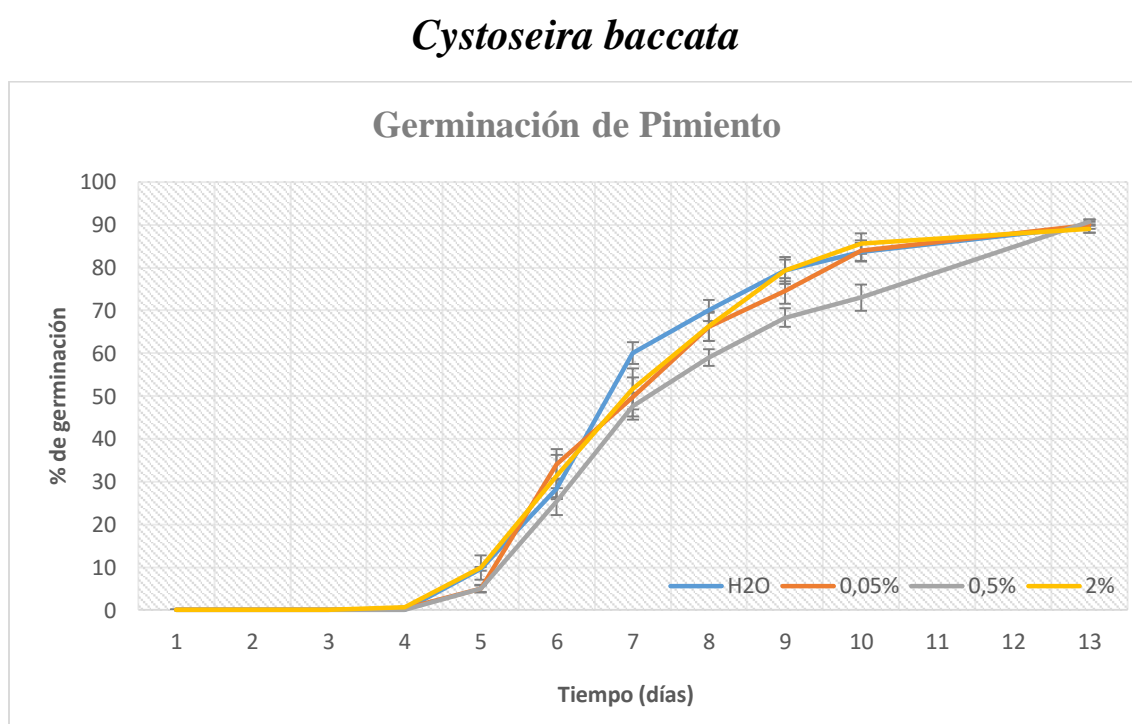


Figura 1: Porcentaje de germinación de *Capsicum annuum* a lo largo del tiempo en las diferentes concentraciones (% P/V) de extracto del alga *Cystoseira baccata*.

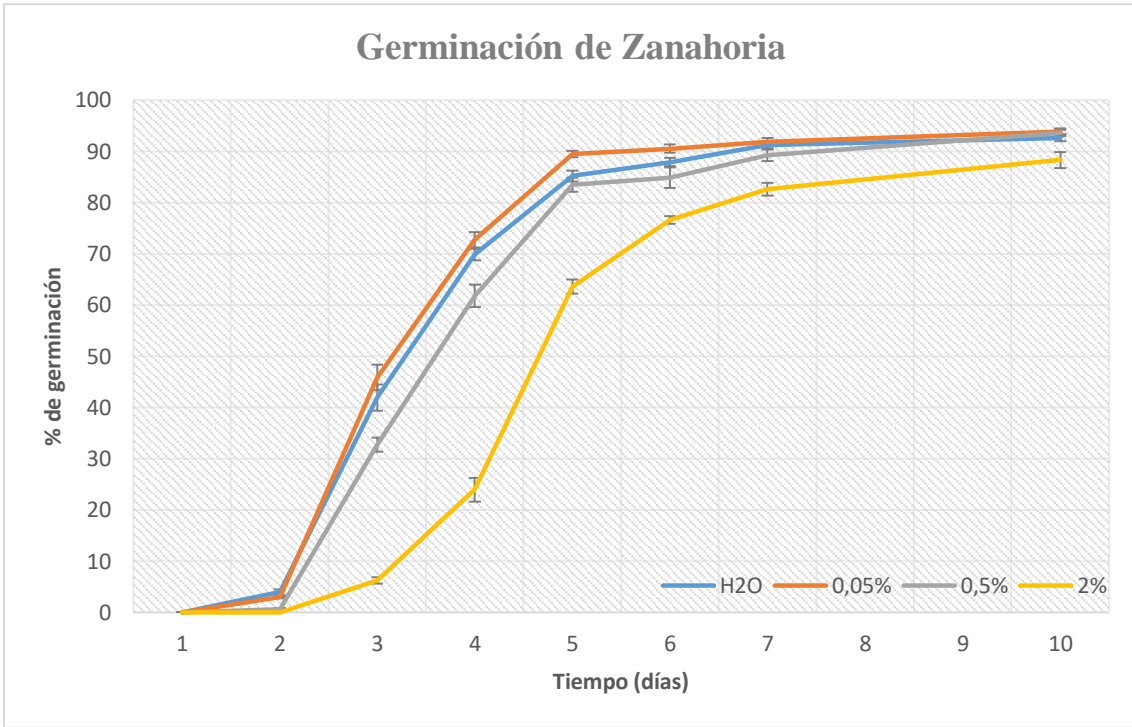


Figura 2: Porcentaje de germinación de *Daucus carota* a lo largo del tiempo en las diferentes concentraciones (% P/V) de extracto del alga *Cystoseira baccata*.

Himanthalia elongata

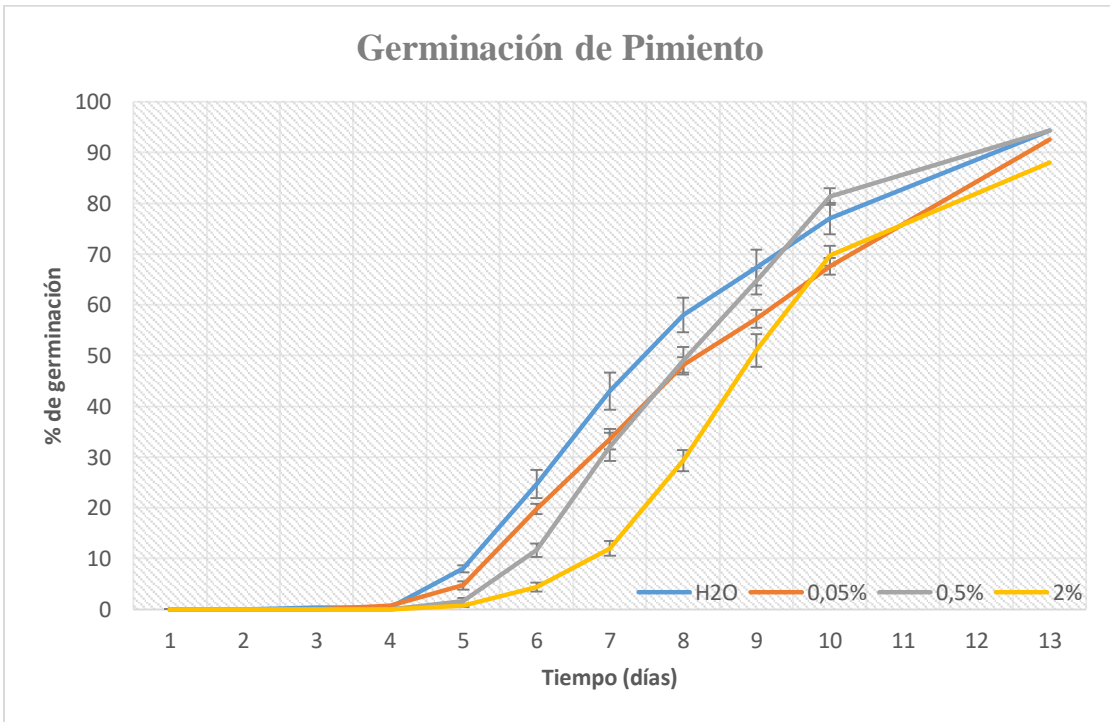


Figura 3: Porcentaje de germinación de *Capsicum annuum* a lo largo del tiempo en las diferentes concentraciones (% P/V) de extracto del alga *Himanthalia elongata*.

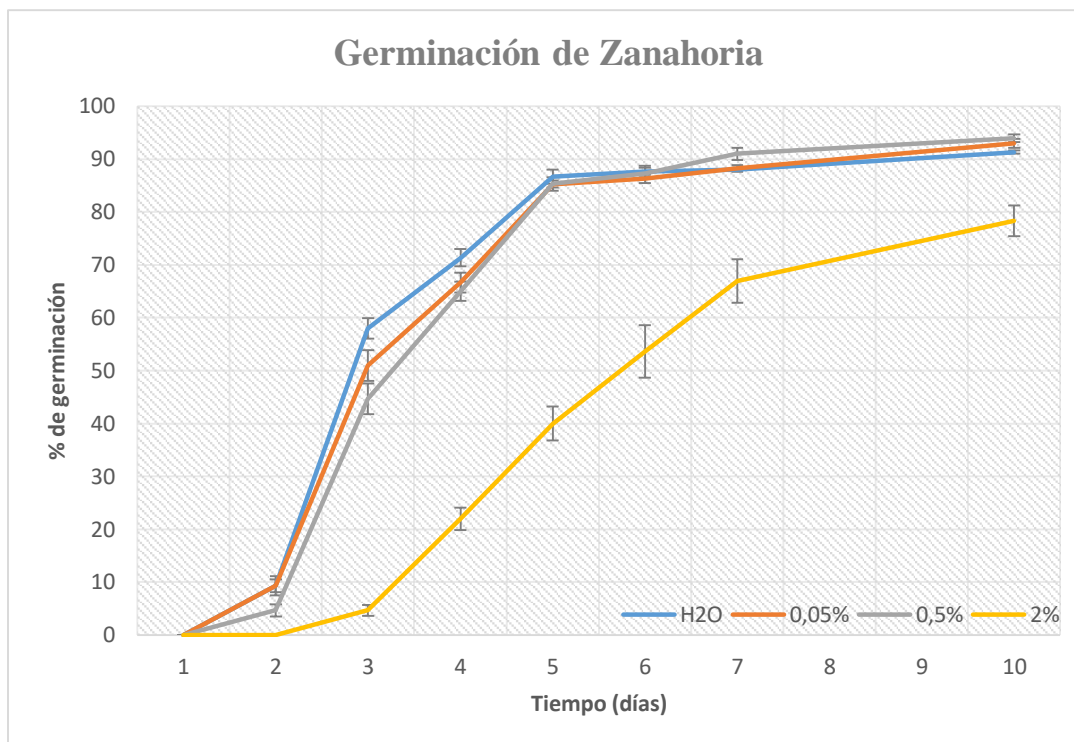


Figura 4: Porcentaje de germinación de *Daucus carota* a lo largo del tiempo en las diferentes concentraciones (% P/V) del extracto del alga *Himanthalia elongata*.

En general, se aprecia un efecto inhibitor de los extractos de ambas algas ya que, en la mayoría de los experimentos, contemplamos que las semillas sometidas a una mayor concentración (2%) tardan más tiempo en germinar.

Además, aunque no se midió el eje radicular, pudo apreciarse a simple vista que el crecimiento de éste tras la germinación es más lento en las semillas sometidas a concentraciones del 2%, mostrando un menor tamaño que el resto de tratamientos.

El porcentaje máximo de germinación de las semillas comerciales se aproximó al 90% por lo que en ningún tratamiento, incluido el control, se alcanzó el 100% de germinación durante el tiempo del experimento. Las distintas concentraciones de los extractos no alteraron, en general, el máximo porcentaje de germinación exceptuando el caso de zanahoria con el alga *Himanthalia elongata*, pero no se puede descartar que con el tiempo llegase a alcanzar el 90%.

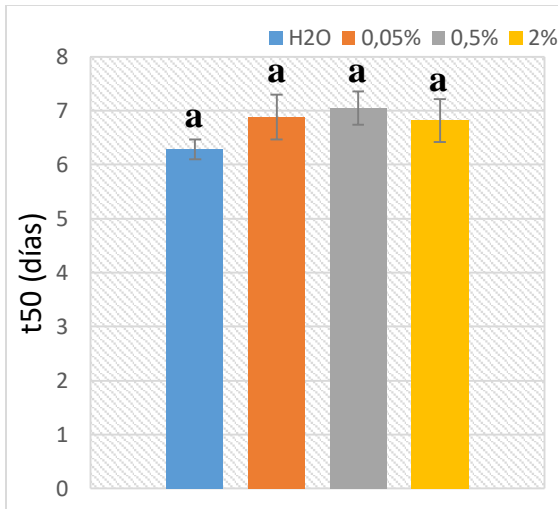
5.1. Velocidad de germinación: “t50”

Para facilitar la interpretación y análisis estadístico de nuestros datos, decidimos calcular el indicador t50 que refleja el tiempo necesario para alcanzar el 50% de germinación y es un indicador fiable de la velocidad de germinación.

Los resultados obtenidos se pueden observar en las **Figuras 5 y 6**. Los valores de t50 son distintos en ambas semillas debido a que, en condiciones normales, la especie *Daucus carota* (zanahoria) posee tiempos de germinación más cortos mientras que la especie *Capsicum annuum* (pimiento) tarda más días en iniciar y alcanzar su máximo porcentaje de germinación.

Cystoseira baccata

Pimiento (*Capsicum annuum*)



Zanahoria (*Daucus carota*)

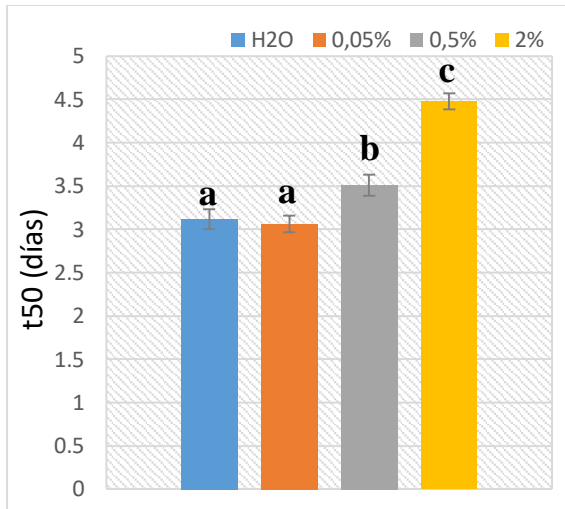
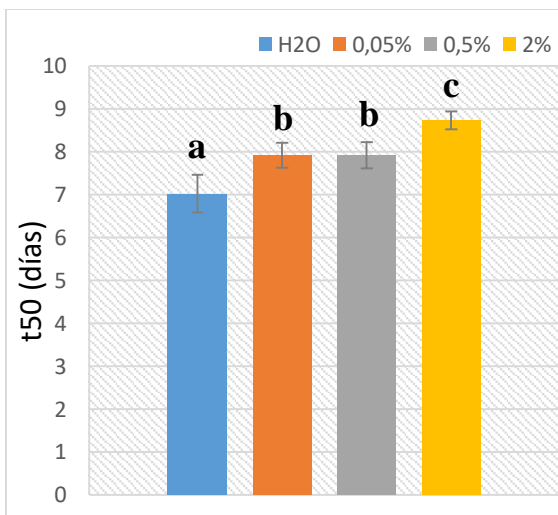


Figura 5: t50 de semillas de pimiento y zanahoria germinadas en diferentes concentraciones (% P/V) de extracto de *Cystoseira baccata*. Las letras diferentes indican diferencias significativas.

Himanthalia elongata

Pimiento (*Capsicum annuum*)



Zanahoria (*Daucus carota*)

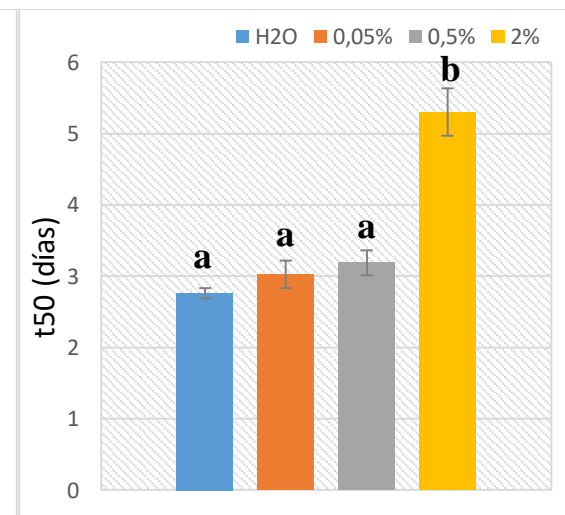


Figura 6: t50 de semillas de pimiento y zanahoria germinadas en diferentes concentraciones (% P/V) de extracto de *Himanthalia elongata*. Las letras diferentes indican diferencias significativas.

En la **Figuras 5** observamos que el extracto del alga *Cystoseira baccata* no tiene efecto alguno en la germinación de semillas de pimiento ya que no se observan diferencias estadísticamente significativas en t50, ni entre los tratamientos ni en comparación con el control. Sin embargo, en zanahoria si se aprecian diferencias que aumentan progresivamente en las concentraciones mayores (0,5% y 2%), lo cual indica un descenso en la velocidad de germinación.

Respecto a *Himanthalia elongata* (**Figura 6**), se observa un efecto del extracto del alga en la germinación de ambas especies.

6. Discusión

Diversos estudios demuestran que los extractos de algas presentan propiedades bioestimulantes que influyen positivamente en la germinación, siendo las algas pardas las que proporcionan los mejores resultados (Di Filippo-Herrera *et al.*, 2018).

Los extractos de algas pardas son los más utilizados en la agricultura y es el grupo más investigado (Khan *et al.*, 2009). Además de aumentar las tasas de germinación, mejoran la tolerancia de las plantas contra las tensiones ambientales como la sequía, la salinidad y las heladas. El desarrollo de tolerancia al estrés es de suma importancia ya que la mayoría de las plantas son más sensibles a los factores ambientales durante la germinación (Rayirath *et al.*, 2009).

Durante nuestro ensayo de germinación, no apreciamos un efecto estimulante, sino que por el contrario, observamos un efecto inhibitorio de los extractos de ambas algas pardas: *Cystoseira baccata* e *Himanthalia elongata*.

Analizando la velocidad de germinación, mediante el indicador t50 determinamos que el extracto del alga *Cystoseira baccata* no provocó cambios en pimiento ya que no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. Sin embargo, en zanahoria si se aprecian diferencias estadísticamente significativas que aumentan progresivamente en las concentraciones mayores (0,5% y 2%), en las cuales el tiempo necesario para alcanzar el 50% de germinación es mayor. Esto sugiere un efecto inhibitorio del extracto cuando se utilizan concentraciones mayores o iguales a 0,5%.

Respecto a *Himanthalia elongata*, se observan diferencias estadísticamente significativas en ambos casos, mostrando un efecto inhibitorio en las concentraciones mayores como ocurre con *C. baccata*. En pimiento observamos leves diferencias incluso a bajas concentraciones, mientras que en zanahoria se observa un efecto muy acusado, pero únicamente a altas concentraciones.

Existe cierta controversia respecto a qué sustancias atribuir los efectos beneficiosos de los extractos de algas. Las especies hortícolas tratadas con extractos de algas marinas muestran respuestas fisiológicas similares a las tratadas con sustancias reguladoras del crecimiento de plantas. Entre los componentes orgánicos de las algas encontramos macronutrientes y micronutrientes, aminoácidos, vitaminas y las siguientes fitohormonas: auxinas, citoquininas, giberelinas, ácido abscísico y brassinoesteroides (Kumary Sahoo, 2011). Estas hormonas vegetales provocan fuertes respuestas fisiológicas en dosis bajas. Las algas marrones y verdes, también contienen betaínas que alivian el estrés osmótico inducido por la salinidad y la sequía (Hernández-Herrera *et al.*, 2014)

El efecto inhibitorio de los extractos de *C. baccata* e *H. elongata* observado en nuestro estudio podría deberse a la presencia de hormonas que retrasen la germinación, o a la presencia de sustancias que sean perjudiciales para las propias semillas. Sin embargo, este último caso parece menos probable debido a que, aunque se produce una

ralentización de la germinación, la viabilidad de las semillas no se ve afectada. El porcentaje máximo de germinación no disminuye, por lo que queda descartado un efecto tóxico de importancia.

Los extractos de algas pueden tener tanto efectos positivos como inhibitorios en la germinación de las semillas dependiendo de la concentración, por lo que deben usarse con precaución. Aunque en la mayoría de los casos, su aplicación a bajas concentraciones conduce a un aumento beneficioso de las tasas de germinación de semillas, los efectos inhibitorios en el desarrollo temprano pueden superar cualquier beneficio si la concentración del extracto es demasiado alta (Ghadariardakani *et al.*, 2019).

Para nuestro estudio, hemos escogido un rango amplio de concentraciones, ajustado a otros trabajos publicados con algas pardas. No obstante, las concentraciones óptimas varían en función de la especie y el método de extracción utilizado, por lo que no podemos descartar que concentraciones menores pudiesen resultar más favorables (Hernández-Herrera *et al.*, 2014). Con concentraciones demasiado altas del extracto puede producirse una alteración del potencial hídrico del medio, reduciendo la capacidad de las semillas para absorber agua (Hernández-Herrera *et al.*, 2014).

Nosotros hemos utilizado un método de extracción neutro, que en otros casos ha demostrado buenos resultados como inductor de la germinación, pero hay otras formas de extracción, entre las que destacan la ácida y la alcalina. Cada extracto suele presentar propiedades diferentes ya que los compuestos extraídos varían (Di Filippo-Herrera *et al.*, 2018).

Algunos estudios determinan que la eficacia del extracto aumenta a medida que el pH y la temperatura del proceso de extracción aumentan, apostando por extractos alcalinos. Sin embargo la mayoría de estos estudios se basan en las mejoras de crecimiento de la planta por lo que el uso de un método alcalino de extracción no se asocia directamente con una mejora en las tasas de germinación (Briceño-Domínguez *et al.*, 2014).

Otros estudios apuestan por extractos ácidos demostrando que influyen positivamente en la imbibición, germinación y crecimiento de plántulas. El porcentaje de ácido es la variable más importante en la liberación de monosacáridos. La tasa de imbibición puede ser influenciada por características tales como el porcentaje de carbohidratos, minerales y proteínas contenidos en los extractos (Castella *et al.*, 2017).

Los extractos de las algas pardas mejoran la tolerancia de las plantas contra las tensiones ambientales como la sequía, la salinidad y las bajas temperaturas. Sin embargo, los mecanismos implicados en esta mejora siguen siendo en gran medida desconocidos (Rayirath *et al.*, 2009). Algunos estudios asocian esta tolerancia al estrés salino con la presencia de exopolisacáridos (Baouchi *et al.*, 2016). Además, en algunos casos el efecto inductor de los extractos de algas es más evidente cuando la germinación se produce en condiciones de estrés (Masondo *et al.*, 2018). Por lo tanto, aunque los extractos utilizados en este trabajo no tengan un efecto positivo sobre la germinación en las condiciones estudiadas, sería interesante ver si estos resultados mejorarían bajo condiciones de estrés.

Los mecanismos moleculares desencadenados por los extractos de algas son difíciles de establecer, ya que presentan una gran complejidad de moléculas bioactivas. Además, la sensibilidad a dichas moléculas puede ser muy variable en función de la especie utilizada y de las características de sus semillas (Di Filippo-Herrera *et al.*, 2018).

El efecto inhibitorio que hemos observado, unido al buen funcionamiento que se ha demostrado con otras algas pardas, pone de manifiesto la utilidad de los extractos de algas. Pero sobre todo evidencia la necesidad de estudiar su composición, y determinar qué sustancias son las que están actuando como promotoras o inhibidoras del crecimiento y la germinación. Es importante que se sigan desarrollando investigaciones relacionadas con extractos de algas que permitan conocer su mecanismo de acción y las sustancias implicadas, ya que podría ser un método eficaz para maximizar la productividad de los cultivos bajo tensiones bióticas y abióticas (Sharma *et al.*, 2014).

7. Conclusiones

- El extracto del alga *Cystoseira baccata* produjo una reducción en la velocidad de germinación de *Daucus carota* (zanahoria). Esta reducción fue más evidente a concentraciones mayores del extracto pero no se observó en las semillas de *Capsicum annuum* (pimiento). En ninguna de las especies el extracto afecta a la viabilidad de las semillas.
- El extracto del alga *Himanthalia elongata* produjo una reducción en la velocidad de germinación de *Daucus carota* (zanahoria) y *Capsicum annuum* (pimiento). Esta reducción fue más evidente a concentraciones mayores del extracto, especialmente en zanahoria. En este caso, el extracto tampoco influye en la viabilidad de las semillas.

Conclusión

- O extracto da alga *Cystoseira baccata* produciu unha redución na velocidade de xerminación de *Daucus carota* (cenoria). Esta redución foi mais evidente a concentracións maiores do extracto pero non se observou nas sementes de *Capsicum annuum* (pemento). En ningunha das especies o extracto afecta á viabilidade das sementes.
- O extracto da alga *Himanthalia elongata* produciu unha redución na velocidade de xerminación de *Daucus carota* (cenoria) e *Capsicum annuum* (pemento). Esta redución foi mais evidente a concentracións maiores do extracto, especialmente en cenoria. Neste caso, o extracto tampouco influíu na viabilidade das sementes.

Conclusions

- The extract of the seaweed *Cystoseira baccata* produced a reduction in the germination rate of *Daucus carota* (carrot). This reduction was most evident at higher concentrations of the extract but it was not observed in the seeds of *Capsicum annuum* (pepper). In none of the species does the extract affect the viability of the seeds.

- The extract of the seaweed *Himanthalia elongata* produced a reduction in the germination rate of *Daucus carota* (carrot) and *Capsicum annuum* (pepper). This reduction was most evident at higher concentrations of the extract, especially in carrots. In this case, the extract does not influence the viability of the seeds either.

8. Bibliografía

- Baouchi, A. El, Bendaou, N., y Abdelaziz, S. (2016). Halophilic microalgae *Dunaliella salina* extracts improve seed germination and seedling growth of *Triticum aestivum* L. under salt stress. (December). <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2016.1148.2>
- Bárbara, I. y Cremades, J. (1987). Guía de las algas del litoral gallego. Ayuntamiento de Coruña, Casa de las Ciencias, A Coruña.
- Baskin, J. y Baskin, C. (2004). Research o pinion A classification system for seed dormancy. (2004), 1–16. <https://doi.org/10.1079/SSR2003150>
- Briceño-Domínguez, D., Hernández-Carmona, G., Moyo, M., Stirk, W. y van Staden, J. (2014). Plant growth promoting activity of seaweed liquid extracts produced from *Macrocystis pyrifera* under different pH and temperature conditions. *Journal of Applied Phycology*, 26(5), 2203–2210. <https://doi.org/10.1007/s10811-014-0237-2>
- Castella, Nos-Barriga, L. G., Santacruz-Ruvalcaba, F., Hernández-Carmona, G., Ramírez-Briones, E., y 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>
- Cole, A. J., Roberts, D. A., Garside, A. L., Nys, R. De. y Paul, N. A. (2016). Seaweed compost for agricultural crop production. 629–642. <https://doi.org/10.1007/s10811-015-0544-2>
- Cremades, J., Bárbara, I. y Veiga, A.J. (2004). Intertidal vegetation and its commercial potential on the shores of Galicia (NW Iberian Peninsula). *Thalassas*, 20 (2): 69-80.
- Di Filippo-Herrera, D. A., Muñoz-Ochoa, M., Hernández-Herrera, R. M., & Hernández-Carmona, G. (2018). Biostimulant activity of individual and blended seaweed extracts on the germination and growth of the mung bean. *Journal of Applied Phycology*, (November). <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1680-2>
- FAO: <http://www.fao.org> (2019).
- FAO. (2004). Global aquaculture outlook in the next decades: an analysis of national aquaculture production forecasts to 2030. FAO Fisheries Circular No. C1001. Roma (en prensa).
- FAOSTAT: <http://www.fao.org/faostat> (2019).

- Ghaderiardakani, F., Collas, E., Damiano, D. K., Tagg, K., Graham, N. S. y Coates, J. C. (2019). Effects of green seaweed extract on Arabidopsis early development suggest roles for hormone signalling in plant responses to algal fertilisers. *Scientific Reports*, 9(1), 1–32. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-38093-2>
- González, C.; García, O. y Míguez, L. (1998). *Algas mariñas de Galicia*. Edicións Xerais de Galicia, S.A.
- Han, W., Clarke, W., & Pratt, S. (2014). Composting of waste algae : A review. *Waste Management*, 34(7), 1148–1155. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2014.01.019>
- Hernández-Herrera, R. M., Santacruz-Ruvalcaba, F., Ruiz-López, M. A., Norrie, J. y Hernández-Carmona, G. (2014). 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>
- Khan, W., Rayirath, U. P., Subramanian, S., Jithesh, M. N., Rayorath, P., Hodges, D. M., Prithiviraj, B. (2009). Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *Journal of Plant Growth Regulation*, 28(4), 386–399. <https://doi.org/10.1007/s00344-009-9103-x>
- Koornneef, Maarten. y Bentsink, L. (2017). Seed dormancy and germination. *Current Biology*, 27(17), R874–R878. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.05.050>
- Kucera, B., Cohn, M. A., y Leubner-metzger, G. (2005). Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. 281–307. <https://doi.org/10.1079/SSR2005218>
- Kucera, B., Volke, F., Leubner-metzger, G., Manz, B., Mu, K., Technik, B. y Resonanz, A. M. (2005). Water Uptake and Distribution in Germinating Tobacco Seeds Investigated in Vivo by Nuclear Magnetic Resonance Imaging 1 [w]. 138(July), 1538–1551. <https://doi.org/10.1104/pp.105.061663.1538>
- Kumar, G. y Sahoo, D. (2011). Effect of seaweed liquid extract on growth and yield of *Triticum aestivum* var. Pusa Gold. *Journal of Applied Phycology*, 23(2), 251–255. <https://doi.org/10.1007/s10811-011-9660-9>
- Leubner-Metzger, G. y Finch-Savage, W. E. (2006). Seed dormancy and the control of germination. *Journal of Applied Physics*, 44(10), 4478–4481. <https://doi.org/10.1063/1.1661985>
- 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(August 2017), 43–48. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.08.017>
- Probert, R.J. (2000). The role of temperature in the regulation of seed dormancy and germination. In: Fenner, M. (Ed.), *Seeds: The Ecology of Regeneration in Plant Communities*. CABI, London, UK, pp. 292.

- Rayirath, P., Benkel, B., Mark Hodges, D., Allan-Wojtas, P., MacKinnon, S., Critchley, A. T. y Prithiviraj, B. (2009). Lipophilic components of the brown seaweed, *Ascophyllum nodosum*, enhance freezing tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, 230(1), 135–147. <https://doi.org/10.1007/s00425-009-0920-8>
- Sharma, H. S. S., Fleming, C., Selby, C., Rao, J. R. y 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(1), 465–490. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0101-9>
- Simón, X. y Copena, D. (2014). *Propostas agroecolóxicas ao industrialismo. Recursos compartidos e respostas colectivas [Páxinas 697-1.353] ISBN 978-84-617-2311-9 [Coord.]*
- Tasende, M. G. (2016). *Explotación de las macroalgas marinas : Galicia como caso de estudio hacia una gestión sostenible de los recursos. Xunta de Galicia, (January 2015).*
- Walck, J., Baskin, C. y Baskin, J. (1999). Seeds of *Thalictrum mirabile* (Ranunculaceae) require cold stratification for loss of nondeep simple morphophysiological dormancy. <https://doi.org/10.1139/b99-149>
- Weitbrecht, K., Muller, K. and Leubner-Metzger, G. (2011). First off the mark : early seed germination. 62(10), 3289–3309. <https://doi.org/10.1093/jxb/err030>
- Finch-Savage, W.E., Cassandra S. C. Cadman, Peter E. Toorop, P.E., Lynn1, J. y Henk W. M. (2007). Seed dormancy release in *Arabidopsis Cvi* by dry after- ripening , low temperature, nitrate and light shows common quantitative patterns of gene expression directed by environmentally specific sensing. 60–78. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2007.03118.x>
- Wikipedia: <https://es.wikipedia.org> (2019).