

UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA



**MICROALGAS COMO FUENTE DE
BIOESTIMULANTES AGRÍCOLAS: UNA REVISIÓN**

POR

TANIA ABIGAIL MALDONADO VENEGAS

**MEMORIA PRESENTADA A LA
FACULTAD DE AGRONOMÍA DE LA
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
PARA OPTAR AL TÍTULO DE
INGENIERO AGRÓNOMO.**

CHILLÁN – CHILE
2023

**UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**MICROALGAS COMO FUENTE DE
BIOESTIMULANTES AGRÍCOLAS: UNA REVISIÓN**

POR

TANIA ABIGAIL MALDONADO VENEGAS

**MEMORIA PRESENTADA A LA
FACULTAD DE AGRONOMÍA DE LA
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
PARA OPTAR AL TÍTULO DE
INGENIERO AGRÓNOMO.**

**CHILLÁN – CHILE
2023**

Aprobada por:

Profesor Asociada, María D. López B.
Licenciada en Química, Dr.

Guía

Profesor Asistente, Karin Albornoz M.
Ing. Agrónomo, M.S., Ph.D.

Asesor

Profesor Asociado, Cristian Agurto M.
Licenciado en Biología Marina, PhD.

Asesor

Profesor Asociado, Guillermo Wells M.
Ing. Agrónomo, Mg. Cs.

Decano

RECONOCIMIENTOS

Proyecto: Nutrimar Bío Bío: Innovación en alimentos algales (FIC-BIP 40026757-0).

TABLA DE CONTENIDOS

	Página
RESUMEN.....	7
SUMMARY.....	7
INTRODUCCIÓN.....	8
DESARROLLO Y DISCUSIÓN.....	10
CONCLUSIONES.....	26
REFERENCIAS.....	27
ANEXOS.....	35

INDICE DE FIGURAS Y TABLAS

	Página
Figura 1 Fotobiorreactores utilizados en el cultivo de microalgas: (A) estanque abierto de canal, (B) placa plana, (C) tubular y (D) Columna vertical.....	22
Tabla 1 Principales compuestos bioactivos presentes en las microalgas/cianobacterias, y sus funciones en los cultivos.....	13
Tabla 2 Efectos del uso de extractos de microalgas y cianobacterias en la estimulación directa del crecimiento de las plantas.....	16
Tabla 3 Efectos del uso de extractos de microalgas y cianobacterias frente a factores de estrés abiótico.....	20

MICROALGAS COMO FUENTE DE BIOESTIMULANTES AGRÍCOLAS: UNA REVISIÓN

MICROALGAE AS A SOURCE OF BIOSTIMULANTS: A REVIEW

Palabras índice adicionales: Compuestos bioactivos, cianobacterias, *Chlorella* spp, *Dunaliella salina*, agricultura sostenible.

RESUMEN

En los últimos años, los bioestimulantes vegetales han sido propuestos como una herramienta de apoyo clave para abordar los desafíos de productividad y sostenibilidad ambiental que enfrenta el sistema agrícola.

Los bioestimulantes a base de microalgas (MBS) están ganando especial atención por ser una rica fuente de compuestos bioactivos y nutrientes capaces de inducir mejoras significativas en términos de rendimiento, calidad y protección de diferentes cultivos. Sin embargo, el desarrollo de estos productos aún permanece en gran medida sin explotar. Esta revisión hace un alcance sobre los efectos benéficos de los MBS que han sido reportados en investigaciones recientes, y los principales compuestos bioactivos que intervienen en estos procesos. También se describen los métodos para producir y procesar la biomasa de microalgas, sus limitantes, y nuevos enfoques de economía circular que apuntan a la obtención de un producto económica y ambientalmente viable. Además, se aborda el porqué de la adopción de los MBS por sobre otros bioestimulantes, como los extractos provenientes principalmente de macroalgas pardas.

SUMMARY

In recent years, plant biostimulants have been proposed as a key support tool to address the productivity and environmental sustainability challenges facing the agricultural system.

Microalgae-based biostimulants (MBS) are gaining special attention for being a rich source of bioactive compounds and nutrients capable of inducing significant improvements in terms of yield, quality and protection of different crops. However, the development of these products still remains largely untapped. This review

provides an overview of the beneficial effects of MBS that have been reported in recent research, and the main bioactive compounds involved in these processes. It also describes the methods to produce and process microalgae biomass, their limitations, and new circular economy approaches that aim to obtain an economically and environmentally viable product. In addition, it addresses the reasons for the adoption of MBS over other biostimulants, such as extracts mainly from brown macroalgae.

INTRODUCCIÓN

El sistema agrícola mundial se enfrenta a un escenario de producción cada vez más complejo, que exige soluciones sustanciales y sostenibles a dos grandes desafíos: i) Mejorar la calidad y el rendimiento de los cultivos para satisfacer a una creciente población mundial, al mismo tiempo que se previenen las pérdidas causadas por factores bióticos y abióticos que actualmente corresponden a 30-40% y 60-70% respectivamente; y ii) Minimizar la huella ambiental, y los problemas de salud humana, asociados a las prácticas agrícolas convencionales (Kapoor *et al.*, 2021).

El modelo agrícola que predomina hoy en día es lo que se conoce como agricultura convencional, entendido como un sistema productivo de carácter artificial, basado de forma intensiva en insumos tales como fertilizantes minerales y pesticidas (Franquesa, 2016), que si bien, desde que fueron introducidos hasta la fecha, han permitido un progreso sustancial para la humanidad (Cooper y Dobson, 2007), también representan una grave amenaza no resuelta para la salud humana y el medio ambiente (Fenner *et al.*, 2013). Por ejemplo, la aplicación excesiva de fertilizantes y el uso ineficiente de nitrógeno y fósforo en sus formulaciones, son los principales responsables del deterioro ambiental vinculado a la agricultura (Kanter, 2018), que se traducen en un aumento en la salinidad del suelo, la acumulación de metales pesados, eutrofización del agua y la acumulación de nitrato, siendo este último el contaminante químico más común encontrado en los acuíferos subterráneos del mundo y uno de los daños más preocupantes (FAO, 2018).

Entre las metodologías más actuales para reducir el uso de agroquímicos, se ha propuesto el uso de bioestimulantes vegetales, ya que actúan sobre la fisiología

vegetal a través de diferentes vías, mejorando el crecimiento de los cultivos, los rendimientos, la calidad, la absorción de nutrientes, la tolerancia al estrés abiótico y la vida útil de los productos cosechados (Rouphael *et al.*, 2018; Ronga *et al.*, 2019), además, promueven la degradación y humificación de las sustancias orgánicas del suelo (Caradonia *et al.*, 2019). Los bioestimulantes se adoptaron inicialmente en la agricultura orgánica para producciones hortícolas de alto valor, sin embargo, más recientemente, se han extendido a la producción de cultivos tradicionales, respondiendo también a los requisitos de factibilidad y sustentabilidad económica en su producción (Del Buono, 2021).

Los bioestimulantes vegetales pueden derivar de una amplia variedad de materiales, hasta la fecha, los extractos de algas son la categoría predominante del mercado (Kapoore *et al.*, 2021). Según su tamaño, las algas se dividen en dos grupos principales: Macroalgas y microalgas. Las macroalgas son organismos macroscópicos, multicelulares, que pueden alcanzar longitudes incluso superiores a los 60 m. Mientras que las microalgas son organismos microscópicos, unicelulares o filamentosos, de tamaños que van de ~ 1 a ~ 900 μm (Ronga *et al.*, 2019).

La mayoría de las algas utilizadas para fines agrícolas corresponden a macroalgas pardas, recolectadas en la naturaleza, cuya composición bioquímica se ve obstaculizada por factores estacionales, y ambientales (Kapoore *et al.*, 2021), incluso la misma materia prima procesada por diferentes métodos de extracción conduce a extractos con diferentes características (Craigie *et al.*, 2011). Estas situaciones han llevado a la comunidad científica y a las empresas e industrias privadas a enfocarse en la producción de microalgas (Chiaiese *et al.*, 2018; Ronga *et al.*, 2019), que ofrecen una plataforma sostenible como fuente renovable de bioestimulante, cuya gran ventaja por sobre el uso de las macroalgas es que pueden ser cultivadas de manera controlada, alcanzando altas tasas de crecimiento en un corto tiempo, bajo condiciones relativamente simples, (Puglisi *et al.*, 2018; Kapoore *et al.*, 2021). La investigación que compara los bioestimulantes de macro y microalgas sugiere también una actividad bioestimulante similar (Oancea *et al.*, 2013). La gran dificultad recae en que su implementación comercial se ve limitada principalmente por el costo de producción asociado (Kapoore *et al.*, 2021) ya que,

para producir la biomasa de microalgas, se deben diseñar procesos específicos de cultivo y post-tratamiento para preservar las sustancias activas que poseen (Arnau, 2016).

La presente revisión describe el potencial de la integración de los bioestimulantes a base de microalgas dentro de los planes de manejo de los cultivos, además de mencionar las ventajas y limitaciones que supone el cultivo de microalgas a escala industrial.

DESARROLLO Y DISCUSIÓN

Capítulo I. Bioestimulantes vegetales

El concepto “*bioestimulante*” ha sido objeto de un riguroso debate durante la última década, provocando la aparición y evolución de numerosas definiciones a lo largo del tiempo (Rouphael y Colla, 2018). Recientemente, bajo el nuevo reglamento de la Unión Europea (UE) 2019/1009, se define por primera vez, y de forma oficial, a un producto bioestimulante como: “*sustancias, mezclas, o microorganismos, cuya función es estimular los procesos de nutrición y desarrollo de las plantas con el objetivo de mejorar aspectos como la calidad, eficiencia en el uso de nutrientes, la tolerancia al estrés abiótico, o para incrementar la disponibilidad de nutrientes inmovilizados en el suelo o la rizósfera*”.

Según esta definición, los bioestimulantes son descritos sobre la base de sus funciones agrícolas, independientemente del contenido de nutrientes que estos posean, por ello, es importante recalcar que los bioestimulantes no son fertilizantes, puesto que no proveen nutrientes directamente a las plantas, sino que facilitan la adquisición de nutrientes apoyando los procesos metabólicos en el suelo y las plantas (Rouphael y Colla, 2018; Drobek, *et al.*, 2019; Bulgari *et al.*, 2019; Madende y Hayes, 2020).

1.1 Clasificación de los bioestimulantes

La clasificación actual se basa en el origen de la materia prima, aunque esta elección no siempre proporciona la información correcta sobre la actividad biológica del producto (Bulgari *et al.*, 2019). Así, los bioestimulantes se clasifican en dos grupos: de origen microbiano y no microbiano. Dentro de los bioestimulantes

microbianos se reconocen: (i) hongos de micorriza arbuscular (HMA) y (ii) bacterias fijadoras de N de cepas pertenecientes a los géneros *Rhizobium*, *Azotobacter* y *Azospirillum* (Colla y Rouphael, 2020). Mientras que los extractos de algas, las sustancias húmicas y fúlvicas, los hidrolizados de proteínas, entre otros, se encuentran dentro de la categoría no microbiana (Colla y Rouphael, 2020; Kapoore *et al.*, 2021).

1.2 Extractos algales

Los extractos de algas, son la categoría de bioestimulantes de origen no microbiano, más conocida actualmente, y representan el 40 % del mercado total de bioestimulantes, incluidas las macro y microalgas (Colla y Rouphael, 2020). Aunque, existe una clara diferencia en que los bioestimulantes de macroalgas son la categoría más consolidada del mercado (Kapoore *et al.*, 2021), debido a que su costo de producción es relativamente bajo, en contraste con su considerable capacidad para estimular aumentos sustanciales en la biomasa vegetal (Del Buono, 2021).

Las algas marinas se han utilizado durante milenios para mejorar la fertilidad del suelo y la productividad de los cultivos, ya sea directamente o después del compostaje como enmienda (Craigie *et al.*, 2011). A partir de la década de 1950 el uso de algas fue sustituido en gran medida por extractos hechos de diferentes especies de macroalgas (Feliu, 2017). Las macroalgas pardas, pertenecientes a los géneros: *Ascophyllum*, *Ecklonia*, *Fucus*, *Laminaria* y *Sargassum* han sido identificadas como las principales fuentes de bioestimulantes para los cultivos, por sus beneficios relacionados a la promoción del crecimiento vegetal, resistencia al estrés abiótico y mejora en la calidad de vida útil y poscosecha (Rouphael y Colla, 2018). Estos efectos bioestimulantes a menudo se han atribuido a la presencia de hormonas de crecimiento vegetal y compuestos relacionados de bajo peso molecular, aunque otras investigaciones sugieren que moléculas más grandes, como polisacáridos y polifenoles, también pueden ser importantes (Calvo *et al.*, 2014).

Si bien los extractos provenientes de macroalgas están ampliamente disponibles en todo el mundo para su uso en la agricultura, aún no es posible encontrar

productos bien caracterizados con un desempeño confiable en el mercado, lo cual se debe principalmente a la alta variabilidad de la materia prima, causada por factores estacionales, y ambientales (Sharma *et al.*, 2013; Calvo *et al.*, 2014).

Inclusive la misma materia prima procesada por diferentes métodos de extracción conduce a extractos con diferentes características (Craigie *et al.*, 2011), lo que dificulta la tarea por estandarizar su composición e identificar sus mecanismos de acción (Colla y Rouphael, 2020). Existen también algunas prácticas asociadas a su recolección que hoy en día imposibilitan la sostenibilidad de este recurso (Sharma *et al.*, 2013; Kapoore *et al.*, 2021).

1.3 Bioestimulantes a partir de microalgas

Los bioestimulantes a base de microalgas (MBS) han llamado enormemente la atención de la comunidad científica y las empresas/industrias privadas, porque son una fuente renovable de bioestimulante, y su cultivo permite solucionar algunos de los problemas mencionados con anterioridad, ya que la calidad del extracto puede determinarse más fácilmente bajo condiciones controladas y adaptarse para producir bioactivos específicos (Kapoore *et al.*, 2021).

Las microalgas pertenecen a un grupo diverso de microorganismos fotosintéticos unicelulares o multicelulares, procarióticos o eucarióticos que incluyen cianobacterias o algas verde-azuladas (bacterias gramnegativas), microalgas verdes y diatomeas. Tanto las microalgas verdes como las cianobacterias son organismos ubicuos que pueden tolerar, proliferar e incluso dominar hábitats asociados a problemas de salinidad, sequía, temperaturas subóptimas y supraóptimas, y contaminación por metales pesados (Colla y Rouphael, 2020).

Ambos grupos también participan en la mineralización, y movilización de nutrientes orgánicos e inorgánicos, en la producción de compuestos bioactivos (polisacáridos, hormonas de crecimiento, compuestos antimicrobianos, entre otros), que mejoran el crecimiento y desarrollo de las plantas, volviéndolos opciones adecuadas como agentes bioestimulantes (Renuka *et al.*, 2018).

Hasta la fecha, las especies dominantes de microalgas con acción bioestimuladora son: *Chlorella vulgaris*, *Acutodesmus dimorphus*, *Scenedesmus platensis*, *Scenedesmus quadricauda*, *Dunaliella salina*, *Chlorella ellipsoidea*,

Chlorella infusionum, *Spirulina maxima* y *Calothrix elenkinii* (Colla y Roupael, 2020).

1.4 Metabolitos presentes en microalgas y cianobacterias con acción bioestimulante.

Las microalgas producen una notable diversidad de metabolitos biológicamente activos. Entre estos, los compuestos fenólicos, los terpenoides, los ácidos grasos libres, los polisacáridos, los carotenoides y las fitohormonas son de particular interés, ya que han sido identificados como promotores del crecimiento vegetal (Singh *et al.*, 2017; Han *et al.*, 2018; Gonçalves, 2021; Pan *et al.*, 2019) (Tabla 1).

La cantidad y calidad de estos metabolitos dependen en gran medida de las especies de microalgas y la técnica de extracción utilizada (Puglisi *et al.*, 2018).

Tabla 1. Principales compuestos bioactivos presentes en microalgas/cianobacterias, y sus funciones en los cultivos.

Metabolitos	Microalgas/Cianobacterias	Funciones
Compuestos fenólicos	<i>Arthrospira platensis</i> , <i>Nostoc muscorum</i> , <i>Botryococcus braunii</i> , <i>Chaetoceros calcitrans</i> , <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Isochrysis galbana</i> , <i>Isochrysis sp.</i> , <i>Neochloris oleoabundans</i> , <i>Odontella sinensis</i> , <i>Phaeodactylum tricornutum</i> , <i>Saccharina japónica</i> , <i>Skeletonema costatum</i> , <i>Tetraselmis suecica</i> .	Protección a los cultivos frente a condiciones de estrés biótico y abiótico.
Terpenoides	<i>Chondrococcus hornemanni</i> , <i>Hypnea pannosa</i> , <i>Oscillatoria perornata</i> , <i>Planktothricoids raciborskii</i> , <i>Plocamium cornutum</i> , <i>Plocamium leptophyllum</i> , <i>Portieria hornemann</i> , <i>Pseudanabaena articulate</i> ; <i>Pseudanabaena sp.</i> , <i>Sphaerococcus coronopifolius</i> , <i>Synechocystis sp.</i> , <i>Thermosynechococcus elongatus</i> .	Protección de los cultivos contra bacterias, insectos y otros organismos. Estimulación del crecimiento y desarrollo preliminar de plantas. Atracción de polinizadores.
Ácidos grasos libres	<i>Anabaena sp.</i> , <i>Chlorella sp.</i> , <i>Dunaliella sp.</i> , <i>Nanocloropsis</i> , <i>Porphyridium</i> , <i>Scenedesmus sp.</i> , <i>Arthrospira sp.</i> , <i>Nostoc sp.</i> , <i>Phaeodactylum tricornutum</i>	Protección de cultivos contra patógenos u otras condiciones de estrés biótico y abiótico.
Polisacáridos	<i>Aphanothece sp.</i> , <i>Arthrospirasp.</i> , <i>Chlamydomonas sp.</i> , <i>Chlorella sp.</i> , <i>Cylindrotheca sp.</i> , <i>Dunaliella sp.</i> , <i>Navicula sp.</i> , <i>Nostoc sp.</i> , <i>Phaeodactylum sp.</i> , <i>Porphyridium sp.</i> , <i>Rhodella sp.</i> , <i>Scytonema sp.</i>	Mejora de la calidad del suelo. Estimulación del crecimiento vegetal. Protección de los cultivos frente a condiciones de estrés biótico y abiótico.
Carotenoides	<i>Chlorella spp.</i> , <i>Dunaliella salina</i> , <i>Haematococcus pluvialis</i> , <i>Murielopsis sp.</i> ,	Biorremediación y fertilización de suelos.

	<i>Phaeodactylum tricornutum</i> , <i>Arthrospira platensis</i> .	Protección de cultivos contra condiciones de estrés biótico y abiótico. Fortificación de cultivos.
Fitohormonas	<i>Arthrospira sp.</i> , <i>Chlamydomonas sp.</i> , <i>Chlorella spp.</i> , <i>Porphyridium sp.</i> , <i>Protococcus sp.</i> , <i>Scenedesmus sp.</i>	Estimulación del crecimiento vegetal. Regulación de actividades celulares en cultivos. Respuesta de cultivos a condiciones de estrés.

Fuente: Adaptado de The Use of Microalgae and Cyanobacteria in the Improvement of Agricultural Practices: A Review on Their Biofertilising, Biostimulating and Biopesticide Roles. Por, Gonçalves, 2021. 11(2): 871–871.

Compuestos fenólicos

En las microalgas, los fenoles se consideran metabolitos secundarios y su producción y liberación está determinada por diversas condiciones físicas, químicas y ambientales (Gonçalves, 2021). Estos compuestos desempeñan un papel importante en el crecimiento, la reproducción y la protección contra diversas condiciones de estrés biótico y abiótico, debido a sus propiedades antimicrobianas, fungicidas y antioxidantes (Foo *et al.*, 2017; Pan *et al.*, 2019).

Terpenoides

Los terpenoides destacan por sus propiedades antimicrobianas, aleloquímicas y antioxidantes, con gran impacto en la protección de los cultivos. Además, se ha informado que los terpenoides pueden desempeñar un papel importante durante el crecimiento y desarrollo preliminar de las plantas, así como en la atracción de polinizadores (Gershenson y Dudareva, 2007; Gonçalves, 2021).

Ácidos grasos libres

Los ácidos grasos libres han sido identificados como agentes antibacterianos, y antioxidantes. Por ejemplo, los FFA son ácidos grasos no esterificados que se encuentran típicamente en extractos crudos de microalgas y cianobacterias, cuya aplicación resulta favorable en la protección de los cultivos precisamente por sus propiedades antimicrobianas, antifúngicas y antioxidantes. Pero también se utilizan para mejorar el crecimiento de las plantas (Lin *et al.*, 2016; Pan *et al.*, 2019).

Polisacáridos

Los polisacáridos tienen un papel preponderante en la mejora de la calidad del suelo, con importante actividad como acondicionadores del suelo, y transportadores de nutrientes (Pan *et al.*, 2019). Algunos estudios también han demostrado que los polisacáridos pueden actuar en la estimulación del crecimiento de las plantas y en la defensa de las plantas contra factores bióticos y abióticos (Ronga *et al.*, 2019; Gonçalves, 2021).

Carotenoides

Por lo general, las microalgas producen altas cantidades de carotenoides. El alfa y el betacaroteno, la luteína, el licopeno, la betacriptoxantina y la zeaxantina son los tipos comunes de carotenoides encontrados en las algas. Estos carotenoides se utilizan ampliamente en las prácticas agrícolas; como la remediación de suelos contaminados, como antioxidantes, como biofertilizantes y biopesticidas ya que también aumentan la protección de los cultivos (Pan *et al.*, 2019). También se aplican para aumentar la disponibilidad de provitamina A, contribuyendo al desarrollo de cultivos biofortificados (Gonçalves, 2021).

Fitohormonas

Entre los compuestos bioactivos mencionados, se debe prestar especial atención a las fitohormonas. Las fitohormonas son mensajeros químicos involucrados en un amplio espectro de procesos fisiológicos y bioquímicos de las plantas superiores, por ejemplo, pueden influir en procesos metabólicos, incluida la fotosíntesis, la respiración celular, la síntesis de ácidos nucleicos y la absorción de nutrientes (Ronga *et al.*, 2019). Se ha establecido que diferentes géneros de cianobacterias y microalgas acumulan y liberan significativamente un grupo diverso de fitohormonas que incluyen auxinas, giberelinas (GA), citoquininas (CK) y etileno (ET) que están involucradas en el crecimiento y desarrollo de las plantas (Singh *et al.*, 2017).

Stirk *et al.*, (2002) cuantificaron los contenidos de auxina y citoquinina en 24 cepas de microalgas de las familias Chlorophyceae, Trebouxiophyceae, Ulvophyceae y Charophyceae. La tendencia general fue que la cis-zeatina era la citoquinina predominante. Además, las microalgas también pueden contener cantidades importantes de giberelinas y brasinoesteroides. Los brasinoesteroides se

reconocen como una nueva clase de compuestos que tienen una función dual, actúan como hormonas promotoras del crecimiento y tienen un papel en la protección contra el estrés abiótico (Ronga *et al.*, 2019).

Otros compuestos de interés agrícola

Además de los compuestos mencionados en la tabla 1, las microalgas también contienen aminoácidos con efectos positivos sobre el crecimiento de las plantas y el rendimiento de los cultivos (Ronga *et al.*, 2019). El triptófano es fundamental para el metabolismo de las plantas, ya que sirve como bloque de construcción para proteínas, precursor de hormonas vegetales como la auxina y el ácido salicílico, y compuestos secundarios aromáticos con múltiples funciones biológicas (Colla *et al.*, 2017). Además del triptófano, la arginina sirve como precursor de las poliaminas, que participan en muchos procesos biológicos importantes, como la embriogénesis, la organogénesis (en particular, la iniciación y el desarrollo de las flores, el cuajado, la maduración y la senescencia de las hojas), así como en la protección contra el estrés osmótico (Kalamaki *et al.*, 2009; Chiaiese *et al.*, 2018).

1.5 Efectos inducidos por los bioestimulantes a base de microalgas (MBS)

1.5.1. Estimulación directa del crecimiento

En los últimos años, diversos estudios experimentales que prueban la acción de extractos de microalgas, en condiciones de campo abierto e invernadero, han demostrado que estimulan la germinación, la floración, el crecimiento de plántulas, la biomasa de brotes y raíces, aumentan el contenido de pigmentos, y mejoran la absorción de nutrientes, en diferentes cultivos (Chiaiese *et al.*, 2018; Ronga *et al.*, 2019) (Tabla 2).

Tabla 2. Efectos del uso de extractos de microalgas y cianobacterias en la estimulación directa del crecimiento de las plantas.

Microalga	Cultivo	Mejoras observadas	Referencia
<i>Chlorella vulgaris</i>	Lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.)	Mejora el crecimiento, tanto en peso fresco como seco, en las primeras etapas de desarrollo. Aumento del contenido de pigmentos.	(Faheed y Fattah, 2008)

<i>Spirulina platensis</i>	Rúcula (<i>Eruca sativa</i>), amaranto rojo (<i>Amaranthus gangeticus</i>), pak choy (<i>Brassica rapa</i> ssp. <i>chinensis</i>), kai lan (<i>Brassica oleracea alboglabra</i>)	Aumento del peso seco de las plántulas.	(Wuang <i>et al.</i> , 2016)
<i>Acutodesmus dimorphus</i>	Tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.)	Aumento en el porcentaje de germinación, mejoras en el crecimiento de las plantas.	(Garcia-Gonzalez y Sommerfeld, 2016)
<i>Chlorella pyrenoidosa</i> , <i>Chlorella ellipsoidea</i> , <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Chlorella sorokiniana</i> , <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> , <i>Aphanothece</i> sp., <i>Scenedesmus obliquus</i> , <i>Scenedesmus dimorphus</i> , <i>Arthrospira platensis</i> , <i>Spirulina maxima</i> , <i>Dunaliella salina</i> , <i>Porphyridium</i> sp., <i>Tetraselmis suecica</i> , <i>Tetraselmis marina</i> , <i>Tetraselmis</i> sp., <i>Nanochloropsis gaditana</i> , <i>Isochrysis galbana</i> y <i>Chlorella marina</i> .	Tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.)	Mayor longitud de raíces y brotes, aumento de peso seco.	(Mutale-joan <i>et al.</i> , 2020)
<i>Anabaena vaginicola</i> , <i>Nostoc calcicola</i>	Tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.), Pepino (<i>Cucumis sativus</i> L.) y Calabaza (<i>Cucurbita maxima</i> Duch. ex Lam.).	Aumento en el crecimiento vegetativo de las plantas, mayor longitud de raíz, y altura de la planta, aumento en el peso fresco y seco de las raíces.	(Shariatmaddari <i>et al.</i> , 2013)
<i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Scenedesmus quadricauda</i>	Remolacha Azucarera (<i>Beta vulgaris</i> L.)	Mejora en la absorción de nutrientes, mayor longitud total de la raíz, longitud de raíz fina, y número de puntas de raíz.	(Barone <i>et al.</i> , 2017)

<i>Scenedesmus sp.</i>	Petunia x hybrida	Desarrollo acelerado de brotes y raíces, e incidencia temprana de floración.	(Plaza <i>et al.</i> , 2018)
<i>Chlorella sorokiniana</i>	Trigo (<i>Triticum aestivum</i> L.)	Aumento en la longitud de la planta, incremento de la biomasa seca total, parcial y subterránea.	(Kholssi <i>et al.</i> , 2019)

Fuente: Elaboración propia

En el trabajo realizado por Faheed y Abd-El Fattah (2008) se informó sobre el efecto de promoción del crecimiento, tanto en peso fresco como seco, en las primeras etapas de desarrollo para plantas de lechugas germinadas en un medio que contenía *Chlorella vulgaris* (2 y 3 g de extracto seco de microalgas kg⁻¹ de suelo).

En el mismo estudio, la mejora del crecimiento de la planta, es decir, brote, peso seco de la raíz y longitud, se asoció con la estimulación de la biosíntesis de carotenoides y pigmentos de clorofila, lo que puede haber mejorado la actividad fotosintética. De manera similar, la aplicación de *Spirulina platensis* mejoró el crecimiento de diferentes vegetales de hoja como la rúcula, el amaranto rojo, el pak choy, entre otros (Wuang *et al.*, 2016). García-González y Sommerfeld (2016) indicaron que también las hortalizas de fruto, como el tomate, se ven influenciadas positivamente por la aplicación de extractos microalgales.

Mutale-joan *et al.* (2020) investigaron los efectos bioestimulantes de 18 extractos crudos (CBE) obtenidos de microalgas y cianobacterias sobre el crecimiento de plantas de tomate, en donde se observaron mejoras en la longitud de raíces y brotes, así como en el peso seco. En el mismo estudio se compararon las propiedades bioestimulantes de microalgas y cianobacterias de agua dulce y salada, sin diferencias claras, lo que sugiere que las propiedades bioestimulantes de las microalgas y las cianobacterias son independientes de sus fuentes de agua.

Las cianobacterias *Anabaena vaginicola* y *Nostoc calcicola*, se utilizaron como extractos para diferentes vegetales como pepino (*Cucumis sativus* L.), tomate (*Solanum lycopersicum* L.) y calabaza (*Cucurbita maxima* Duch. ex Lam.). El análisis de comparación arrojó una diferencia significativa entre las plantas tratadas y los controles, especialmente en los factores de crecimiento vegetativo, como la

longitud de la raíz y la altura de la planta, así como el peso fresco y seco de las raíces (Shariatmadari *et al.*, 2013).

En la investigación de Barone *et al.* (2017) se trataron plantas de remolacha azucarera (*Beta vulgaris* L.) con extractos de *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus quadricauda*, dando como resultado valores significativamente más altos para las características de la raíz relacionadas con la exploración del suelo y la absorción de nutrientes, como la longitud total de la raíz, la longitud de la raíz fina y el número de puntas de raíz, en comparación con las plantas no tratadas.

La aplicación foliar de extractos de *Scenedesmus sp.* a una concentración de 10 g L⁻¹ logró estimular el crecimiento en plantas de Petunia (*Petunia x hybrida*) en términos de desarrollo acelerado de brotes y raíces, e incidencia temprana de floración (Plaza *et al.*, 2018). El uso de microalgas para promover el crecimiento vegetal también ha sido reportado para trigo (Kholssi *et al.*, 2019), donde los tratamientos con filtrado de *Chlorella sorokiniana* tuvieron efecto en la longitud de la planta además de incrementar en 30 % la biomasa seca total, parcial en un 22 %, y subterránea en un 51 %.

1.5. 2. Efectos de las microalgas en el suelo

Los estudios sobre los BMS también han destacado su acción en la promoción de la calidad del suelo, principalmente mejorando la estructura del mismo (Yilmaz y Sönmez, 2017; Abinandan *et al.*, 2019; Marks *et al.*, 2019) y recuperando tierras degradadas (Chamizo *et al.*, 2019; Roncero-Ramos *et al.*, 2020).

Uno de los principales mecanismos responsables de la mejora de las comunidades microbianas del suelo se relaciona con la producción de exopolisacáridos. Los exopolisacáridos secretados por muchas especies de microalgas proporcionan carbono orgánico para el crecimiento y desarrollo de microbios beneficiosos, lo que conduce a la formación de biopelículas útiles en la rizósfera (Xiao y Zheng, 2016).

1.5.3. Tolerancia al estrés abiótico

A menudo los cultivos se ven afectados por una serie estreses abióticos, lo que dificulta aún más que estos alcancen rendimientos óptimos (Ronga *et al.*, 2019).

Diversos estudios destacan que la sequía y la salinidad son las consecuencias más graves del cambio climático antropogénico en los sistemas agrícolas (Del Buono, 2021), y se espera que tengan un impacto negativo aún mayor (Rouphael & Colla, 2020). La Tabla 3 proporciona información sobre las mejoras observadas en diferentes cultivos expuestos a condiciones de salinidad y estrés hídrico, luego de ser tratados con extractos de microalgas y cianobacterias.

Tabla 3. Efectos del uso de extractos de microalgas y cianobacterias frente a factores de estrés abiótico.

Microalga	Cultivo	Mejoras observadas	Referencia
<i>Dunaliella salina</i>	Tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.)	Aumento en el crecimiento de las plantas. Alivia los efectos provocados por NaCl.	(El Arroussi <i>et al.</i> , 2018)
Chlorella ellipsoidea, Spirulina maxima	Trigo (<i>Triticum aestivum</i> L.)	Mejora la tolerancia a la salinidad.	(Abd El-Baky <i>et al.</i> , 2010)
<i>Dunaliella salina</i> , <i>Phaeodactylum tricornutum</i>	Semillas de Pimiento morrón (<i>Capsicum annuum</i> L.)	Mitiga el estrés salino durante el proceso de germinación en semillas.	(Guzmán-Murillo <i>et al.</i> , 2012)
<i>Oscillatoria agardhii</i>	Trigo (<i>Triticum aestivum</i> L.)	Alivia el estrés hídrico, aumento de la actividad de las enzimas hidrolíticas y de defensa (catalasa, superóxido dismutasa y peroxidasa), Aumento del rendimiento de grano, y mejora de los parámetros de calidad de la planta.	(Haggag <i>et al.</i> , 2018)

Fuente: Elaboración propia.

El Arroussi *et al.* (2018) informaron que los exopolisacáridos de *D. salina* mitigan el efecto de diferentes niveles de salinidad en el tomate, al aumentar la actividad enzimática antioxidante, los compuestos fenólicos y metabolitos clave como el neofitadieno, el tocoferol, el estigmasterol y el 2,4-diterc-butilfenol, que se consideran componentes clave de los principales mecanismos contra el estrés

oxidativo. Extractos de *Chlorella ellipsoidea* y *Spirulina maxima* mejoraron la tolerancia a la salinidad en plantas de trigo (*Triticum aestivum* L.), regadas con agua de mar (Abd El-Baky *et al.*, 2010). Extractos de *Dunaliella salina* y *Phaeodactylum tricornutum* mitigaron el estrés salino durante el proceso de germinación en semillas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) (Guzmán-Murillo *et al.*, 2012). Los resultados de la investigación de Haggag *et al.* (2018) mostraron que el trigo tratado con la cianobacteria *Oscillatoria agardhii* tuvo un efecto significativo en la formación de grano, rendimiento de grano, y los componentes de la planta de trigo, tanto en tierras semiáridas como en condiciones normales. El tratamiento incrementó las enzimas antioxidantes como catalasa (CAT), peroxidasa (POD), superóxido dismutasa (SOD), así como el % de proteína cruda y glutamina.

Capítulo II. Producción de biomasa de microalgas

El proceso de producción de biomasa incluye varios pasos como: cultivo, cosecha, deshidratación y extracción de los compuestos bioactivos (Balasubramaniam *et al.*, 2021).

2.1 Cultivo

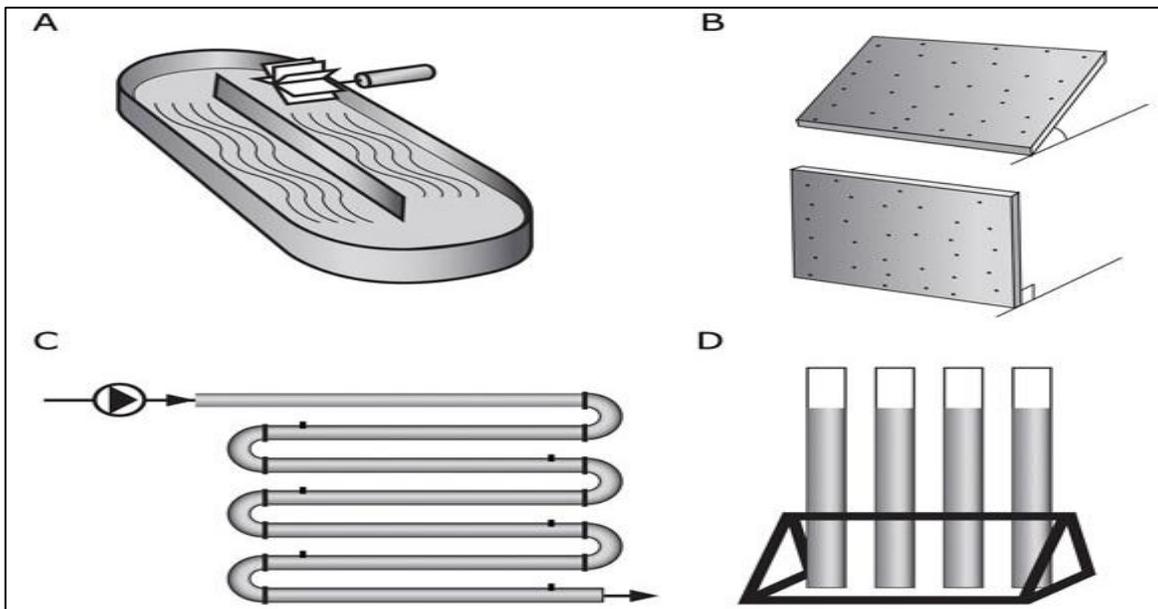
Para la producción de biomasa de microalgas existen 2 diseños básicos: sistemas abiertos, donde la biomasa está expuesta a las condiciones medioambientales; y sistemas cerrados, denominados fotobiorreactores o PBR (por sus siglas en inglés), con poco o ningún contacto con el medio externo (Hernández-Pérez y Labbé, 2014) (Figura 1). La mayoría de los sistemas de producción industrial construidos antes de los años 90 fueron esencialmente sistemas abiertos tipo canal también llamados “raceways” (Fig. 1A). Estos sistemas, están constituidos por canales poco profundos (10- 50cm) en forma de circuito cerrado, en los que el medio de cultivo es impulsado mediante paletas rotatorias (Ronga *et al.*, 2019).

Las ventajas de los sistemas abiertos radican en su bajo costo y facilidad de construcción y operación, así como en su alta durabilidad (Hernández-Pérez y Labbé, 2014). Como desventajas se encuentran la baja accesibilidad de las células a la luz, baja concentración celular, necesidad de grandes extensiones de terreno, alto riesgo de contaminación, costosa recuperación del producto de medios diluidos, y dificultad para el control de la temperatura (cualquier enfriamiento se logra solo

mediante la evaporación, por ello la pérdida de agua puede ser significativa (Chisti, 2007)). Estos sistemas se limitan a especies robustas, como *Spirulina* spp., *Dunaliella* spp. y *Chlorella*. spp., que son capaces de crecer bajo condiciones extremas (Chiaiese *et al.*, 2018).

Los PBR son sistemas cerrados que se pueden diseñar en una variedad de configuraciones, por ejemplo, PBR de placa plana (Fig 1B), tubular (Fig. 1C), y de columna vertical (Fig. 1D). Se han utilizado para el cultivo de *Porphyridium cruentum*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Arthrospira platensis*, *Nannochloropsis* sp., *Chlorella sarokiniana*, *Haematococcus pluvialis*, *Tetraselmis suecica*, *Chlorella vulgaris*, entre otras (Jorquera *et al.*, 2010). Los PBR destacan por; i) facilidad para cosechar la biomasa, ii) mantenimiento del cultivo sin contaminación, iii) mejor control de las condiciones de cultivo y iv) menor inversión de capital en el fotobiorreactor (Flores *et al.*, 2023).

Figura 1. Fotobiorreactores utilizados en el cultivo de microalgas: (A) Estanque de canal abierto, (B) Placa plana, (C) Tubular y (D) Columna vertical.



Fuente: Hernández-Pérez y Labbé, 2014.

Dentro de los diferentes diseños de fotobiorreactores existentes, los PBR tubulares y de placa plana (Figura 1) son los que más atención han recibido en la última

década por su notable capacidad para establecer cultivos de alta densidad celular (Flores et al., 2023). En el trabajo de Chisti (2007) se compararon los métodos de fotobiorreactor (tubular) vs estanque raceway, para una producción anual de 100 t de biomasa. Los datos reportados para productividad volumétrica fueron de 1.535 vs. 0.117 ($\text{kg m}^{-3} \text{d}^{-1}$); para productividad de metro cuadrado 0.072 vs 0.035 ($\text{kg m}^{-2} \text{d}^{-1}$), y para concentración de biomasa en caldo 4.00 vs 0.14 (kg m^{-3}), en PBR y estanque abierto respectivamente (Chisti, 2007).

2.1.1 Nuevos enfoques para el cultivo de microalgas

El cultivo de microalgas a escala comercial para la obtención de productos como los bioestimulantes podría ser económicamente inviable, debido a que se utilizan grandes cantidades de fertilizantes químicos (Renuka et al., 2016). El uso de desechos y aguas residuales provenientes de diversas industrias se está evaluando como un enfoque novedoso para mejorar la viabilidad económica del cultivo (Renuka et al., 2018). Las microalgas se han cultivado con éxito en aguas residuales de cerdos (Zhu et al., 2013), aguas residuales de acuicultura (Ansari et al., 2017; Guldhe et al., 2017), aguas residuales del procesamiento de soja y papas (Hongyang et al., 2011; Hernández et al., 2013), efluentes de fábricas de alfombras (Chinnasamy et al., 2010), aguas residuales domésticas (Renuka et al., 2013), entre otras. En general, las aguas residuales son ricas en nutrientes, como formas orgánicas e inorgánicas de C, N y P, que las microalgas pueden utilizar de manera efectiva (Emparan et al., 2019), aunque también se pueden encontrar otros compuestos indeseables como metales pesados y otros contaminantes emergentes (Acién et al., 2016). Especies como *Scenedesmus quadricauda*, *Chlorella miniata*, *Chlorella vulgaris* y *Chlorella sorokiniana* destacan por eliminar de manera eficiente metales pesados en las aguas residuales, además de poder crecer en medios contaminados (Candela, 2015). Los materiales de desecho sólidos también se están investigando como fuente de nutrientes para el cultivo de microalgas, como; desechos provenientes de alimentos (Lau et al., 2014), basura de las aves de corral (Bhatnagar et al., 2011) y desechos lácteos (Abreu et al., 2012). Por otro lado, Zhang et al. (2017) y Barone et al. (2018) propusieron la coproducción de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) con las microalgas *Chlorella infusionum*, *C.*

vulgaris, y *S. quadricauda*, utilizando un sistema hidropónico. Ambos estudios reportaron que el co-cultivo hidropónico ejerció un gran beneficio para el crecimiento tanto de plantas de tomate como de microalgas. Un supuesto mecanismo bioestimulador involucrado podría estar asociado con la fotosíntesis de las microalgas que constantemente entregan oxígeno a la solución nutritiva hidropónica.

2.2 Cosecha

La cosecha de la biomasa microalgal, es un proceso intensivo, que demanda un alto costo energético y operacional (Jimenez Escobedo y Castillo Calderón, 2021). Algunos estudios sugieren que la recolección de microalgas representa entre el 20-30% del costo total de producción (Barros *et al.*, 2015; Tan *et al.*, 2020).

La cosecha de microalgas por lo general involucra uno o más pasos, y puede lograrse mediante el uso de varios procesos físicos, químicos o biológicos para obtener la separación sólido-líquido deseada. Hasta la fecha, la sedimentación, la centrifugación, la filtración y la ultrafiltración son los métodos de recolección más utilizados. En algunos casos, se aplican técnicas adicionales, como, por ejemplo, la floculación o una combinación de más técnicas, como la floculación-flotación (Michalak *et al.*, 2017).

Las características del cultivo como: tamaño, densidad, y el valor agregado del producto final son algunos de los factores que influyen en la selección de una técnica de recolección (Balasubramaniam *et al.*, 2021).

2.3 Deshidratación de la biomasa

Para el proceso de deshidratado existen tres métodos normalmente utilizados: secado al sol, secado por aspersión y liofilización (Balasubramaniam *et al.*, 2021).

Secado al sol: permite obtener biomasa seca con menos de 10% de humedad y biológicamente es catalogada como de buena calidad, además es el método más barato. Sin embargo, las principales desventajas son los largos periodos de secado, necesidad de grandes superficies, y riesgo de pérdida y/o deterioro del material (Oscanoa *et al.*, 2020).

Secado por aspersión: consiste en producir polvo seco a partir de una fina aspersión de gotas en suspensión que está en contacto continuo con aire caliente

en un recipiente grande. Este método se puede operar de forma continua, el polvo producido es muy fino y el secado rápido puede mantener un producto de buena calidad. Este método resulta muy eficiente, pero algunos componentes, como los pigmentos, pueden deteriorarse significativamente y el costo de la operación es elevado (Balasubramaniam *et al.*, 2021).

Liofilización: es un proceso de deshidratación directa de productos congelados mediante un mecanismo de sublimación (Balasubramaniam *et al.*, 2021). Esta técnica es costosa, especialmente para las operaciones a gran escala, pero facilita la extracción de elementos intracelulares, como los aceites (Oscanoa *et al.*, 2020).

Otro método utilizado es el secado en tambores o rodillos, este se destaca por ser uno de los más eficientes en términos de consumo energético, además permite secar líquidos de alta viscosidad; consiste en esparcir una ligera capa sobre la superficie de un par de tambores que están girando y siendo calentados por dentro mediante vapor (Oscanoa *et al.*, 2020).

2.4 Técnicas de extracción de compuestos bioactivos derivados de microalgas

Con el fin de aumentar el rendimiento de extracción de compuestos activos, muy a menudo se aplican diferentes procedimientos de pretratamiento de la biomasa antes de la extracción. Estos métodos implican la disrupción celular por medios mecánicos, térmicos, físicos, químicos y enzimáticos (Michalak *et al.*, 2017).

Las técnicas de extracción convencionales que se utilizan para el aislamiento de los compuestos bioactivos incluyen: maceración, saponificación, y extracción Soxhlet con diferentes solventes orgánicos, aunque más recientemente se han adoptado nuevos métodos, como la extracción asistida por microondas (MAE), fluido supercrítico (SFE), líquido presurizado (PLE) y extracción asistida por ultrasonido (EAU) (Michalak *et al.*, 2017), lo que permite la entrega de extractos en un entorno libre de solventes, más seguro tanto para las plantas como para los humanos (Chiaiese *et al.*, 2018).

Capítulo III. Perspectivas sobre el cultivo de microalgas y desarrollo de MBS

Una de las principales limitantes del cultivo de microalgas a gran escala, son los altos costos asociados con la producción y el procesamiento de biomasa, que

repercuten en el costo de los bioestimulantes a valores que no pueden competir con el precio real de los compuestos de base química (Gonçalves, 2021).

Se deben desarrollar técnicas de cultivo más avanzadas para aumentar la productividad de las microalgas a menor costo. En cuanto a la viabilidad ambiental, a menudo se cuestiona que el cultivo de microalgas requiere una gran cantidad de agua y fertilizantes, por lo tanto, es fundamental la implementación de enfoques de biorrefinería y economía circular, con la integración de flujos de desechos para el cultivo de microalgas (Kapoor *et al.*, 2021).

Se requiere más investigación para poder determinar el momento exacto en que deben ser suministrados los MBS para obtener buenos resultados. ya que, aún es difícil determinar cómo influye la etapa fenológica del cultivo, el tipo de aplicación óptimo (foliar/suelo/semilla), la frecuencia de aplicación, junto con los niveles de concentración adecuados (Ronga *et al.*, 2019). Tampoco se sabe con exactitud la persistencia de los MBS tras ser aplicados (Ronga *et al.*, 2019; Rouphael y Colla, 2018). Esta información es relevante puesto que ayudará a determinar y planificar la tasa de aplicaciones necesarias. Varias pruebas experimentales han revelado que diferentes cultivos responden de manera diferente a la concentración y la tasa de aplicación del extracto, por lo tanto, es fundamental dirigir la investigación a cultivos específicos en cuanto a la optimización de la aplicación de los MBS (Ronga *et al.*, 2019).

La investigación futura también debe poder revelar la composición, ocurrencia, ubicación y distribución de los compuestos bioactivos objetivo en las células de las microalgas, porque es necesario desarrollar más MBS que tengan propiedades bioestimulantes precisas (Chiaiese *et al.*, 2018; Ronga *et al.*, 2019).

CONCLUSIONES

1. Los bioestimulantes formulados a partir de extractos microalgales representan una alternativa innovadora y sostenible para el sector agrícola, con gran potencial de crecimiento debido a los efectos benéficos que generan sobre los cultivos, como una mayor absorción de nutrientes, tolerancia al estrés abiótico, e incremento del rendimiento y calidad.

2. El éxito de los MBS depende en gran medida de la viabilidad económica de la producción de biomasa. Las aguas residuales ricas en nutrientes, y el uso de nuevas técnicas de cultivo de bajo costo, podrían ser estrategias efectivas para aumentar la rentabilidad de los sistemas de cultivo y potenciar el desarrollo de la economía circular.
3. El elevado número de especies de microalgas existentes podría dar origen a la selección de nuevas cepas con diferente composición bioquímica y/o con mejores características de adaptabilidad para su cultivo.
4. Se requiere más investigación para comprender mejor los cambios inducidos por los MBS, en la producción de cultivos.
5. Es fundamental dirigir la investigación de los MBS a cultivos específicos, ya que, cada uno puede responder de manera diferente dependiendo de la etapa fenológica, la dosis de aplicación, la frecuencia, y el formato utilizado.

REFERENCIAS

1. Abd El-Baky, H. H., El-Baz, F. K., & El Baroty, G. S. 2010. Enhancing antioxidant availability in wheat grains from plants grown under seawater stress in response to microalgae extract treatments. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 90(2): 299–303.
2. Abinandan, S., Subashchandrabose, S. R., Venkateswarlu, K., & Megharaj, M. 2019. Soil microalgae and cyanobacteria: the biotechnological potential in the maintenance of soil fertility and health. *Critical reviews in biotechnology*. 39(8): 981-998.
3. Abreu, A. P., Fernandes, B., Vicente, A. A., Teixeira, J., & Dragone, G. 2012. Mixotrophic cultivation of *Chlorella vulgaris* using industrial dairy waste as organic carbon source. *Bioresource technology*. 118: 61-66.
4. Ación, F. G., Gómez-Serrano, C., Morales-Amaral, M. M., Fernández-Sevilla, J. M., & Molina-Grima, E. 2016. Wastewater treatment using microalgae: how realistic a contribution might it be to significant urban wastewater treatment? *Applied Microbiology and Biotechnology*. 100(21): 9013–9022.
5. Ansari, F. A., Singh, P., Guldhe, A., & Bux, F. 2017. Microalgal cultivation using aquaculture wastewater: Integrated biomass generation and nutrient remediation. *Algal Research*, 21:169–177.

6. Arnau, L. 2016. Techno-Economic Feasibility Study for the Production of Microalgae Based Plant Biostimulant. Degree Project. Master in Chemical Engineering for Energy and the Environment. Royal Institute of Technology. School of Chemical Science and Engineering. Stockholm, Sweden.
7. Balasubramaniam, V., Gunasegavan, R. D.-N., Mustar, S., Lee, J. C., & Mohd Noh, M. F. 2021. Isolation of Industrial Important Bioactive Compounds from Microalgae. *Molecules*. 26(4): 943.
8. Barone, V., Baglieri, A., Stevanato, P., Broccanello, C., Bertoldo, G., Bertaggia, M., Cagnin, M., Pizzeghello, D., Moliterni, V. M. C., Mandolino, G., Fornasier, F., Squartini, A., Nardi, S., & Concheri, G. 2017. Root morphological and molecular responses induced by microalgae extracts in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Journal of Applied Phycology*. 30(2): 1061–1071.
9. Barone, V., Puglisi, I., Fragalà, F., Lo Piero, A. R., Giuffrida, F., & Baglieri, A. 2018. Novel bioprocess for the cultivation of microalgae in hydroponic growing system of tomato plants. *Journal of Applied Phycology*. 31(1): 465–470.
10. Barros, A. I., Gonçalves, A. L., Simões, M., & Pires, J. C. M. 2015. Harvesting techniques applied to microalgae: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 41: 1489–1500.
11. Bhatnagar, A., Chinnasamy, S., Singh, M., & Das, K. C. 2011. Renewable biomass production by mixotrophic algae in the presence of various carbon sources and wastewaters. *Applied Energy*. 88(10): 3425–3431.
12. Bulgari, R., Franzoni, G., & Ferrante, A. 2019. Biostimulants Application in Horticultural Crops under Abiotic Stress Conditions. *Agronomy*. 9(6): 306.
13. Calvo, P., Nelson, L. M., & Kloepper, J. W. 2014. Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant and Soil*. 383(1-2): 3–41.
14. Candela, R. 2015. Las microalgas y el tratamiento de aguas residuales: conceptos y aplicaciones. Una revisión bibliográfica. Monografía de grado, Ingeniero Ambiental. Universidad Nacional Abierta y a Distancia, Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente. Bucaramanga, Colombia.
<https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/12170/91541023.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
15. Caradonia, F., Battaglia, V., Righi, L., Pascali, G., & La Torre, A. 2019. Marco regulatorio de bioestimulantes vegetales: perspectivas en Europa y situación actual a nivel internacional. *Revista de Regulación del Crecimiento Vegetal*. 38(2): 438-448.

16. Chamizo, S., Adessi, A., Certini, G., & De Philippis, R. 2019. Cyanobacteria inoculation as a potential tool for stabilization of burned soils. *Restoration Ecology*. 28(S2).
17. Chiaiese, P., Corrado, G., Colla, G., Kyriacou, M. C., & Rouphael, Y. 2018. Renewable Sources of Plant Biostimulation: Microalgae as a Sustainable Means to Improve Crop Performance. *Front. Plant Sci.* 9: 1872.
18. Chinnasamy, S., Bhatnagar, A., Hunt, R. W., & Das, K. C. 2010. Microalgae cultivation in a wastewater dominated by carpet mill effluents for biofuel applications. *Bioresource Technology*. 101(9): 3097–3105.
19. Chisti, Y. (2007). Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, 25(3): 294–306.
20. Colla, G., Hoagland, L., Ruzzi, M., Cardarelli, M., Bonini, P., Canaguier, R., & Rouphael, Y. 2017. Biostimulant Action of Protein Hydrolysates: Unraveling Their Effects on Plant Physiology and Microbiome. *Frontiers in Plant Science*, 8.
21. Colla, G., y Rouphael, Y. 2020. Microalgae: New Source of Plant Biostimulants. *Agronomy*. 10(9): 1240.
22. Cooper, J. y Dobson, H. 2007. Los beneficios de los plaguicidas para la humanidad y el medio ambiente. *Protección de Cultivos*. 26 (9): 1337-1348.
23. Craigie, J. S. 2011. Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. *Journal of Applied Phycology*. 23(3): 371–393.
24. Del Buono, D. 2021. Can biostimulants be used to mitigate the effect of anthropogenic climate change on agriculture? It is time to respond. *Science of the Total Environment*. 751: 141763.
25. Drobek, M., Fraç, M., & Cybulska, J. 2019. Plant Biostimulants: Importance of the Quality and Yield of Horticultural Crops and the Improvement of Plant Tolerance to Abiotic Stress—A Review. *Agronomy*. 9(6): 335.
26. El Arroussi, H., Benhima, R., Elbaouchi, A., Sijilmassi, B., EL Mernissi, N., Aafsar, A., Meftah-Kadmiri, I., Bendaou, N., & Smouni, A. 2018. *Dunaliella salina* exopolysaccharides: a promising biostimulant for salt stress tolerance in tomato (*Solanum lycopersicum*). *Journal of Applied Phycology*. 30(5): 2929–2941.
27. Emparan, Q., Harun, R., & Danquah, M. K. 2019. Role of phycoremediation for nutrient removal from wastewaters: a review. *Appl. Ecol. Environ. Res.* 17(1): 889-915.

28. EUR-Lex - 32019R1009 - EN - EUR-Lex. 2022. Europa.eu. <<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/?uri=celex%3A32019R1009>>. [Consulta: 14 noviembre 2022].
29. F. Faheed, & Fattah, Z. 2008. Effect of *Chlorella vulgaris* as bio-fertilizer on growth parameters and metabolic aspects of lettuce plant. <<https://www.semanticscholar.org/paper/Effect-of-Chlorella-vulgaris-as-bio-fertilizer-on-Faheed-Fattah/a33f6d3372cb73a34a37b095ecdd0482fa09fbd6>>. [Consulta: 29 diciembre 2022].
30. FAO. 2018. More people, more food, worse water? A global review of water pollution from agriculture. <<https://n9.cl/phhmb>>. [Consulta: 08 de noviembre 2022].
31. Feliu, D. 2017. Extractos de algas en la agricultura. AEFA - Asociación Española de Fabricantes de Agronutrientes. <<https://n9.cl/fevle>>. [Consulta: 10 de noviembre 2022].
32. Fenner, K., Canonica, S., Wackett, L.P. and Elsner, M. 2013 Evaluating Pesticide Degradation in the Environment, Blind Spots and Emerging Opportunities. *Science*. 341: 752-758.
33. Flores, C. C., Peña-Castro, Julián Mario, Flores-Cotera, L. B., & Cañizares-Villanueva, R. O. 2023. Avances en el diseño conceptual de fotobiorreactores para el cultivo de microalgas. *Interciencia*. 28(8): 450–456.
34. Foo, S. C., Yusoff, F. Md., Ismail, M., Basri, M., Yau, S. K., Khong, N. M. H., Chan, K. W., & Ebrahimi, M. 2017. Antioxidant capacities of fucoxanthin-producing algae as influenced by their carotenoid and phenolic contents. *Journal of Biotechnology*. 241: 175–183.
35. Franquesa, M. 2016. Agricultura Convencional. *Agroptima*; *Agroptima*. <<https://www.agroptima.com/es/blog/agricultura-convencional/#:~:text=En%20su%20concepto%2C%20la%20agricultura,%C3%ADmicos%20que%20sean%20sint%C3%A9ticos%2C%20etc.>>. [Consulta: 08 noviembre 2022].
36. Garcia-Gonzalez, J., y Sommerfeld, M. 2016. Biofertilizer and biostimulant properties of the microalga *Acutodesmus dimorphus*. *Journal of Applied Phycology*. 28(2): 1051–1061.
37. Gershenzon, J., & Dudareva, N. 2007. The function of terpene natural products in the natural world. *Nature Chemical Biology*. 3(7): 408–414.

38. Gonçalves, A. L. 2021. The Use of Microalgae and Cyanobacteria in the Improvement of Agricultural Practices: A Review on Their Biofertilising, Biostimulating and Biopesticide Roles. *Applied Sciences*. 11(2): 871.
39. Guldhe, A., Ansari, F. A., Singh, P., & Bux, F. 2017. Heterotrophic cultivation of microalgae using aquaculture wastewater: A biorefinery concept for biomass production and nutrient remediation. *Ecological Engineering*. 99: 47–53.
40. Guzmán-Murillo, M. A., Ascencio, F., & Larrinaga-Mayoral, J. A. 2012. Germination and ROS detoxification in bell pepper (*Capsicum annuum* L.) under NaCl stress and treatment with microalgae extracts. *Protoplasma*. 250(1): 33–42.
41. Haggag, W., Hoballah, M., & Ali, R. 2018. Applications of nano biotechnological microalgae product for improve wheat productiv-ity in semai aird areas. *Int. J. Agric. Technol*. 14: 675-692.
42. Han, X., Zeng, H., Bartocci, P., Fantozzi, F., & Yan, Y. 2018. Phytohormones and Effects on Growth and Metabolites of Microalgae: A Review. *Fermentation*. 4(2): 25.
43. Hernández, D., Riaño, B., Coca, M., & García-González, M. C. 2013. Treatment of agro-industrial wastewater using microalgae–bacteria consortium combined with anaerobic digestion of the produced biomass. *Bioresource Technology*. 135: 598–603.
44. Hernández-Pérez, A., & Labbé, J. I. 2014. Microalgas, cultivo y beneficios. *Revista de Biología Marina Y Oceanografía*. 49(2): 157–173.
45. Hongyang, S., Yalei, Z., Chunmin, Z., Xuefei, Z., & Jinpeng, L. 2011. Cultivation of *Chlorella pyrenoidosa* in soybean processing wastewater. *Bioresource Technology*. 102(21): 9884–9890.
46. Jimenez Escobedo, M., & Castillo Calderón, A. 2021. Microalgal biomass with high potential for the biofuels production. *Scientia Agropecuaria*. 12(2): 265–282.
47. Jorquera, O., Kiperstok, A., Sales, E. A., Embiruçu, M., & Ghirardi, M. L. (2010). Comparative energy life-cycle analyses of microalgal biomass production in open ponds and photobioreactors. *Bioresource Technology*. 101(4): 1406–1413.
48. Kalamaki, M. S., Merkouropoulos, G., & Kanellis, A. K. (2009). Can ornithine accumulation modulate abiotic stress tolerance in *Arabidopsis*? *Plant signaling & behavior*. 4(11): 1099-1101.

49. Kanter, D.R. 2018. Nitrogen pollution: a key building block for addressing climate change. *Climatic Change*. 147(1–2): 11 – 21.
50. Kapoore, R. V., Wood, E. E., & Llewellyn, C. A. 2021. Algae biostimulants: A critical look at microalgal biostimulants for sustainable agricultural practices. *Biotechnology Advances*. 49: 107754.
51. Kholssi, R., Marks, E. A. N., Miñón, J., Montero, O., Debdoubi, A., & Rad, C. 2019. Biofertilizing Effect of *Chlorella sorokiniana* Suspensions on Wheat Growth. *Journal of Plant Growth Regulation*.38(2): 644–649.
52. Lau, K. Y., Pleissner, D., & Lin, C. S. K. (2014). Recycling of food waste as nutrients in *Chlorella vulgaris* cultivation. *Bioresource Technology*. 170: 144–151.
53. Lin, J. T., Liu, S. C., Hu, C. C., Shyu, Y. S., Hsu, C. Y., & Yang, D. J. 2016. Effects of roasting temperature and duration on fatty acid composition, phenolic composition, Maillard reaction degree and antioxidant attribute of almond (*Prunus dulcis*) kernel. *Food chemistry*. 190: 520-528.
54. Madende, M., & Hayes, M. 2020. Fish By-Product Use as Biostimulants: An Overview of the Current State of the Art, Including Relevant Legislation and Regulations within the EU and USA. *Molecules*. 25(5): 1122.
55. Marks, E. A. N., Montero, O., & Rad, C. 2019. The biostimulating effects of viable microalgal cells applied to a calcareous soil: Increases in bacterial biomass, phosphorus scavenging, and precipitation of carbonates. *Science of the Total Environment*. 692: 784–790.
56. Michalak, I., Katarzyna Chojnacka, Agnieszka Dmytryk, 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: 1591–1591.
57. Mutale-joan, C., Redouane, B., Najib, E., Yassine, K., Lyamlouli, K., Laila, S., Zeroual, Y., & Hicham, E. A. 2020. Screening of microalgae liquid extracts for their bio stimulant properties on plant growth, nutrient uptake and metabolite profile of *Solanum lycopersicum* L. *Sci. Rep.* 10:2820.
58. Oancea, F., Velea, S., Fătu, V., Mincea, C., & Ilie, L. 2013. Micro-algae based plant biostimulant and its effect on water stressed tomato plants. *ROM. J. Plant Prot.* 6: 104-117.
59. Oscanoa Huaynate, Alberto, Cervantes, M., & Febrero, P. 2020. Manual para la producción de biomasa microalgal en condiciones de invernadero.

60. Pan, S., Jeevanandam, J., & Danquah, M. K. 2019. Benefits of Algal Extracts in Sustainable Agriculture. *Grand Challenges in Algae Biotechnology*. 501–534.
61. Plaza, B. M., Gómez-Serrano, C., Acién-Fernández, F. G., & Jimenez-Becker, S. 2018. Effect of microalgae hydrolysate foliar application (*Arthrospira platensis* and *Scenedesmus* sp.) on *Petunia x hybrida* growth. *Journal of Applied Phycology*. 30(4): 2359–2365.
62. Puglisi, I., Barone, V., Sidella, S., Coppa, M., Broccanello, C., Gennari, M., & Baglieri, A. 2018. Biostimulant activity of humic-like substances from agro-industrial waste on *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus quadricauda*. *European Journal of Phycology*. 53(3): 433-442.
63. Renuka, N., Guldhe, A., Prasanna, R., Singh, P., & Bux, F. 2018. Microalgae as multi-functional options in modern agriculture: current trends, prospects and challenges. *Biotechnology Advances*. 36(4): 1255–1273.
64. Renuka, N., Prasanna, R., Sood, A., Ahluwalia, A. S., Bansal, R., Babu, S., Singh, R., Shivay, Y. S., & Nain, L. 2016. Exploring the efficacy of wastewater-grown microalgal biomass as a biofertilizer for wheat. *Environmental Science and Pollution Research*. 23(7): 6608–6620.
65. Renuka, N., Sood, A., Ratha, S. K., Prasanna, R., & Ahluwalia, A. S. 2013. Evaluation of microalgal consortia for treatment of primary treated sewage effluent and biomass production. *Journal of Applied Phycology*. 25(5): 1529–1537.
66. Roncero-Ramos, B., Muñoz-Martín, M. A., Cantón, Y., Chamizo, S., Rodríguez-Caballero, E., & Mateo, P. 2020. Land degradation effects on composition of pioneering soil communities: An alternative successional sequence for dryland cyanobacterial biocrusts. *Soil Biology and Biochemistry*. 146: 107824.
67. Ronga, D., Biazzi, E., Parati, K., Carminati, D., Carminati, E., & Tava, A. 2019. Microalgal Biostimulants and Biofertilisers in Crop Productions. *Agronomy*. 9(4): 192.
68. Rouphael, Y., & Colla, G. 2018. Synergistic Biostimulatory Action: Designing the Next Generation of Plant Biostimulants for Sustainable Agriculture. *Front. Plant Sci*. 9:1655
69. Rouphael, Y., & Colla, G. 2020. Editorial: Biostimulants in Agriculture. *Front. Plant Sci*. 11:40
70. Rouphael, Y., Spíchal, L., Panzarová, K., Casa, R., & Colla, G. 2018. High-throughput plant phenotyping for developing novel biostimulants: from lab to field or from field to lab?. *Front. Plant Sci*. 9: 1197.

71. Shariatmadari, Z., Riahi, H., Seyed Hashtroudi, M., Ghassempour, A., & Aghashariatmadary, Z. 2013. Plant growth promoting cyanobacteria and their distribution in terrestrial habitats of Iran. *Soil Science and Plant Nutrition*. 59(4): 535-547.
72. Sharma, H. S. S., Fleming, C., Selby, C., Rao, J. R., & Martin, T. 2013. 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.
73. Singh, R., Parihar, P., Singh, M., Bajguz, A., Kumar, J., Singh, S., Singh, V. P., & Prasad, S. M. 2017. Uncovering Potential Applications of Cyanobacteria and Algal Metabolites in Biology, Agriculture and Medicine: Current Status and Future Prospects. *Frontiers in Microbiology*, 8.
74. Stirk, W. A., Ördög, V., Van Staden, J., & Jäger, K. (2002). *Journal of Applied Phycology*, 14(3): 215–221.
75. Tan, J. S., Lee, S. Y., Chew, K. W., Lam, M. K., Lim, J. W., Ho, S.-H., & Show, P. L. 2020. A review on microalgae cultivation and harvesting, and their biomass extraction processing using ionic liquids. *Bioengineered*. 11(1): 116–129.
76. Wuang, S. C., Khin, M. C., Chua, P. Q. D., & Luo, Y. D. 2016. Use of *Spirulina* biomass produced from treatment of aquaculture wastewater as agricultural fertilizers. *Algal Research*. 15: 59–64.
77. Xiao, R., & Zheng, Y. 2016. Overview of microalgal extracellular polymeric substances (EPS) and their applications. *Biotechnology Advances*. 34(7): 1225–1244.
78. Yilmaz, E., & Sönmez, M. 2017. The role of organic/bio–fertilizer amendment on aggregate stability and organic carbon content in different aggregate scales. *Soil and Tillage Research*. 168: 118–124.
79. Zhang, J., Wang, X., & Zhou, Q. 2017. Co-cultivation of *Chlorella* spp and tomato in a hydroponic system. *Biomass and Bioenergy*. 97: 132–138.
80. Zhu, L., Wang, Z., Shu, Q., Takala, J., Hiltunen, E., Feng, P., & Yuan, Z. 2013. Nutrient removal and biodiesel production by integration of freshwater algae cultivation with piggery wastewater treatment. *Water Research*. 47(13): 4294–4302.

ANEXOS

Anexo 1. Productos con acción Bioestimuladora a base de microalgas comercializados a nivel nacional e internacional.

Producto	Empresa	Acceso
Humi +	BIO-CO2	https://bio-co2.cl/
AlgaFert	Biorizon Biotech	https://www.biorizon.es/productos_biorizon/linea-nutricionales/micro/
AgriAlgae®	ALGAENERGY S.A.	https://fliphtml5.com/pbac/jusk
mash®	BIONOVA ALGAE, S.L.	https://bionovaalgae.com/mash/
SEANERGY	AGRILAND SAC	https://www.agrilandglobal.com/wp-content/uploads/2020/03/SEANERGY-ficha-tecnica.pdf

Fuente: Elaboración propia