



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MÉXICO**



FACULTAD DE CIENCIAS

**EVALUACIÓN DE LA ADICIÓN DE UN
BIOESTIMULANTE (*Dunaliella salina*) EN
UN CULTIVO DE MAÍZ (*Zea mays* L.) EN
SISTEMA DE MILPA**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE
BIÓLOGA**

PRESENTA

GODÍNEZ DE LA ROSA VIVIANA

DIRECTORES

DR. JORGE ALBERTO LUGO DE LA FUENTE

DRA. ROCIO VACA PAULÍN

TOLUCA, MÉXICO, SEPTIEMBRE 2025

RESUMEN

Ante la creciente demanda de producción de cereales y el auge de prácticas agrícolas de alto impacto ambiental como el uso de agroquímicos y el monocultivo, retomar sistemas tradicionales de cultivo como la milpa combinados con bioestimulantes orgánicos a base de microalgas representa una alternativa viable para mitigar el impacto ecológico y fomentar una agricultura sostenible que contribuya a garantizar la seguridad alimentaria, el rescate de valores tradicionales y la conservación de la riqueza biológica (Ebel *et al.*, 2017; Kapoore *et al.*, 2021).

Este estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de la adición de *Dunaliella salina* a un cultivo de la variedad de maíz criollo rojo (*Zea mays* L.) asociado con frijol (*Phaseolus vulgaris*) y calabaza (*Cucurbita* spp.) en sistema de milpa, a través de parámetros de germinación, morfométricos, fisiológicos y de productividad para identificar su capacidad bioestimulante. Para ello, se aplicaron tratamientos con *D. salina* al 0%, 0.5%, 1% y 1.5% en condiciones controladas y se determinó el porcentaje de germinación bajo un diseño en bloques aleatorizados. Posteriormente, se evaluó en campo el tratamiento al 1% en un sistema de milpa, con aplicaciones semanales foliares y al suelo durante nueve semanas. Se registraron variables fisiológicas (índice SPAD), fenológicas (porcentaje de avance Vt-R1, R2 y R6), morfométricas (altura y área foliar), de productividad (peso de planta, peso húmedo y seco de mazorca, así como peso de 100 granos) y rendimiento total. Los datos se analizaron mediante ANOVA y MANOVA, seguidos de prueba de Tukey al 90% de confianza, utilizando el software Statgraphics Centurion XVI®.

Los resultados mostraron mayor porcentaje de germinación con la aplicación de 1% de microalga; asimismo, en el sistema de milpa se observó un aumento significativo en el índice SPAD de las hojas basales en etapas tempranas ($p < 0.10$); así como, un incremento en el peso húmedo y seco de la mazorca, peso húmedo de la planta y peso de 100 granos, además de una tendencia a mayor altura e índice foliar. De igual forma, la aplicación de microalga reflejó un patrón de mejora en la uniformidad y progresión del desarrollo reproductivo, aumentando la frecuencia de plantas que completaron la madurez.

Así, la aplicación de *D. salina* como bioestimulante en el cultivo de maíz en sistema de milpa puede mejorar las características morfológicas y fisiológicas del cultivo, así como su rendimiento, lo que la posiciona como una alternativa ecológica y sostenible frente al uso de agroquímicos y monocultivo.

Palabras clave: Maíz, microalga, bioestimulante, milpa, *Dunaliella salina*, productividad.

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN	12
II. MARCO TEÓRICO	14
1. EL MAÍZ	14
1.2 Origen y taxonomía	14
1.3 Morfología	15
1.3.1 Índice de Área Foliar	16
1.4 Actividad fisiológica	17
1.4.1 Concentración de clorofila o índice verde	17
1.5 Condiciones agroecológicas	18
1.6 Fenología del cultivo de maíz	18
1.7 Usos e importancia nacional	20
2. LA MILPA: UN SISTEMA TRADICIONAL DE CULTIVO	21
3. BIOESTIMULANTES Y BIOFERTILIZANTES	23
4. MICROALGAS	24
4.1 Género <i>Dunaliella</i>	25
4.2 Aplicaciones biotecnológicas de <i>Dunaliella salina</i>	26
4.3 Microalgas como una nueva alternativa sostenible	27
III. JUSTIFICACIÓN	29
IV. OBJETIVOS	30
GENERAL	30
ESPECÍFICOS	30
V. HIPÓTESIS	30
VI. MATERIALES Y MÉTODOS	31
1. Germinación en hortalizas: estudio exploratorio	31
2. Germinación en maíz	32
3. Cultivo en milpa	33
VII. RESULTADOS	37
1. GERMINACIÓN	37
<i>Germinación en hortalizas</i>	37
<i>Germinación en maíz</i>	38
2. FISIOLÓGÍA	39
<i>Cuantificación de clorofila</i>	39
<i>Etapas reproductivas</i>	41

Espigación (VT-R1).....	41
Jiloteo (R2)	42
Maduración de mazorca (R6)	43
3. MORFOMETRÍA.....	44
<i>Altura de planta</i>	44
<i>Área foliar</i>	45
4. PRODUCTIVIDAD	46
<i>Peso húmedo de planta</i>	46
<i>Peso húmedo de mazorca</i>	47
<i>Peso seco de mazorca</i>	48
<i>Peso de 100 granos</i>	49
5. INTERVALOS DE CONFIANZA OBTENIDOS POR VARIABLE	50
VIII. DISCUSIÓN	51
GERMINACIÓN	51
<i>Germinación en hortalizas: estudio exploratorio</i>	51
<i>Germinación en maíz</i>	53
FISIOLOGÍA.....	54
<i>Cuantificación de clorofila</i>	54
<i>Etapa reproductivas</i>	56
MORFOMETRÍA.....	57
PRODUCTIVIDAD	58
INTERVALOS DE CONFIANZA OBTENIDOS POR VARIABLE	61
IX. CONCLUSIONES	62
X. REFERENCIAS	64

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Secuencia morfológica de la posible evolución de la mazorca del teosinte al maíz (Hernández, 2009).....	14
Figura 2. Sección transversal del grano de maíz (Pomeranz, 1987).....	16
Figura 3. Etapas fenológicas del cultivo de maíz (Golik <i>et al.</i> , 2018).	19
Figura 4. Estructura general de un sistema de milpa en "triada mesoamericana".	22
Figura 5. Estructuras principales de <i>Dunaliella salina</i> (Traducido de Heakal <i>et al.</i> , 2010).....	26
Figura 6. Productos con potencial agrícola derivados de las microalgas (Alvarez <i>et al.</i> , 2020)	28
Figura 7. Diseño experimental propuesto para la germinación de hortalizas.	31
Figura 8. Diseño experimental en bloques aleatorizados propuesto para la germinación de maíz.	32
Figura 9. Ubicación geográfica de la parcela de cultivo a una escala 1:1000. Toma satelital de Google Earth® con datos del INEGI (2025).	33
Figura 10. Diseño experimental en bloques alternados de la parcela cultivada. ...	35
Figura 11. Porcentaje de germinación de semillas de maíz con la adición de diferentes concentraciones de microalga.	38
Figura 12. Concentración de clorofila (índice SPAD) en hojas basales a través del tiempo sin o con la aplicación de microalga.	39
Figura 13. Concentración de clorofila (índice SPAD) en hojas punta a través del tiempo en plantas de maíz sin o con la adición de microalga.....	40
Figura 14. Porcentaje de plantas de maíz que presentaron espigación (VT-R1) sin o con aplicación de microalga.	41
Figura 15. Porcentaje de plantas de maíz que presentaron jiloteo (R2) sin o con la aplicación de microalga.	42
Figura 16. Porcentaje de maduración de mazorcas (R6) sin o con la aplicación de microalga.....	43
Figura 17. Altura de planta de maíz sin o con la adición de microalga.	44
Figura 18. Área foliar de plantas de maíz sin o con la adición de microalga.	45

Figura 19. Peso húmedo de planta sin o con la adición de microalga.	46
Figura 20. Peso húmedo de mazorca sin o con la adición de microalga.	47
Figura 21. Peso seco de mazorca sin o con la adición de microalga.	48
Figura 22. Peso de 100 granos sin o con la adición de microalga.....	49

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Etapas de desarrollo (fenología estándar) de la planta de maíz.	20
Tabla 2. Porcentaje de germinación en hortalizas.	37
Tabla 3. Intervalos de confianza* obtenidos para cada variable.	50

I. INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.) es una planta perteneciente a la familia de las Poáceas y es uno de los granos más antiguos conocidos, siendo su cultivo de gran importancia socioeconómica y cultural en México, destacando por su valor nutricional y su integración como base de la gastronomía mexicana desde la época prehispánica. Es una especie completamente domesticada y es una de las más productivas gracias a que posee un metabolismo tipo C4; es decir, posee una alta tasa fotosintética (FAO, 2001).

El maíz presenta un alto potencial de producción de carbohidratos, siendo amplificada esta característica dentro de sistemas tradicionales como la milpa, un sistema agrícola construido a partir del conocimiento tradicional basado en el policultivo que asocia al maíz con especies como el frijol (*Phaseolus* sp.) y la calabaza (*Cucurbita* sp.), conocida como la “triada mesoamericana”. Este sistema ha demostrado ser resiliente y sostenible a partir de la sinergia que estas especies comparten, mejora el rendimiento y la adaptabilidad ante perturbaciones externas que derivan a estrés y erosión del suelo. Por otro lado, a causa de la creciente demanda poblacional en la producción de alimentos que define uno de los mayores retos actuales para lograr la seguridad alimentaria y nutricional, se ha promovido el uso intensivo de agroquímicos y el monocultivo que traen consigo un fuerte impacto ambiental, pobreza agroecológica y erosión de suelos representando nuevos desafíos ambientales que requieren soluciones innovadoras y sostenibles (Ebel *et al.*, 2017; Leyva-Trinidad *et al.*, 2020).

En este contexto, el uso de bioestimulantes a base de microalgas surge como una alternativa prometedora para optimizar la producción y prácticas agrícolas. Los géneros de este tipo de microorganismos más estudiados son los géneros *Chlorella* sp., *Acutodesmus* sp., *Scenedesmus* sp., *Spirulina* sp. y *Calothrix* sp. los cuales han mostrado ser efectivos en la mejora del crecimiento vegetal, la germinación y la mitigación del estrés abiótico asociado a su alto contenido de macro y micronutrientes, metabolitos primarios (carbohidratos), aminoácidos clave (triptófano y arginina), vitaminas, osmolitos y polisacáridos (Colla y Roupheal, 2020).

Es por ello por lo que surge la importancia de estudiar otros géneros y/o especies que puedan presentar esta misma capacidad bioestimulante para promover el uso de las microalgas como un complemento sustentable y ambientalmente responsable de las prácticas agrícolas.

II. MARCO TEÓRICO

1. EL MAÍZ

El maíz es una planta de regiones tropicales perteneciente a la familia de las monocotiledóneas que se caracteriza por tener tallos rectos, largos y macizos con cubierta frondosa de hojas compuestas por limbo, vaina y lígula. Presenta un porte elevado que logra alcanzar los 6 a 8 m de altura, además de desarrollar un sistema radicular fibroso y caulinar de pocos macollos que le dan soporte a toda la planta (Sánchez Ortega y Pérez-Urrutia, 2014).

1.2 Origen y taxonomía

El origen del maíz (*Zea mays* L.) ha sido ampliamente discutido; sin embargo, se le adjudica su origen dentro del continente americano, específicamente en el sur de México, donde comenzó a diversificarse y cultivarse hace aproximadamente 7,000 años a partir de la mutación de su pariente silvestre más cercano, el Teosinte (Figura 1). Este cultivo, a partir de su domesticación, se convirtió en el elemento central de las civilizaciones mesoamericanas maya y azteca, donde desempeñó un papel clave en sus prácticas religiosas, festividades y alimentación, y fue hasta finales del siglo XV, tras el descubrimiento de América, que este grano se difundió desde su centro de origen para integrarse a los elementos culturales y gastronómicos de múltiples culturas alrededor del mundo (FAO, 1993; Hernández, 2009).

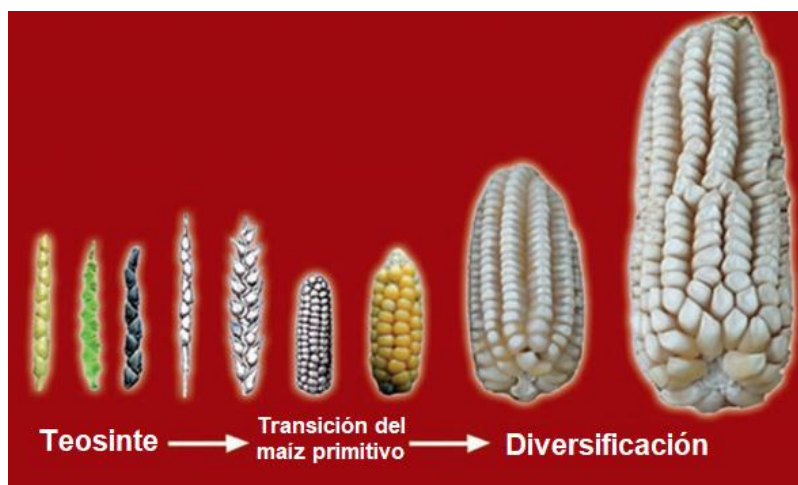


Figura 1. Secuencia morfológica de la posible evolución de la mazorca del teosinte al maíz (Hernández, 2009).

Pertenece a la tribu de las Maydeas dentro de la familia de Poáceas, grupo que incluye a cultivos de interés agrícola como el trigo, arroz, avena, sorgo, cebada y caña de azúcar, siendo considerada *Zea mays* L. como la especie de mayor importancia económica dentro de su género, con una clasificación taxonómica bien definida (Sánchez Ortega y Pérez-Urrutia, 2014).

Reino Plantae

División Magnoliophyta

Clase Liliopsida

Subclase Commelinidae

Orden Poales

Familia Poaceae

Género *Zea*

Especie *Zea mays* L.

1.3 Morfología

Botánicamente, el maíz es una planta herbácea gramínea, de crecimiento anual y monoica; es decir, presenta una inflorescencia masculina y una femenina separadas dentro de la misma planta, con una estrategia reproductiva por polinización cruzada (Sánchez Ortega y Pérez-Urrutia, 2014).

De acuerdo con la descripción dada por Martínez-Tapia (2024), posee un sistema radicular fasciculado y robusto que aporta alimentación a la planta, así como cierto grado de fijación al sustrato, aunado a la aparición de raíces adventicias que refuerzan estas funciones y que se encuentran distribuidas en la zona basal del tallo que es simple y erecto, de gran longitud y sin ramificaciones, y con una médula esponjosa. Cuenta con un sistema nodular constituido por el 48% de la masa total de la planta. Por su parte, las hojas son largas y lanceoladas, con filotaxia alterna, paralelinervez y con haz veloso, desprendiéndose de nodos con pequeñas lígulas.

Su floración está determinada por dos tipos de inflorescencia que se encuentran en ubicaciones diferentes dentro la planta. La inflorescencia masculina es la panoja (conocida comúnmente como espigón, penacho o espiga) ubicada en la fracción

superior de la planta y compuesta por tres estambres que producen más de 1 millón de granos de polen; mientras que, las inflorescencias femeninas llamadas mazorcas o jilotes se resguardan en la región media-superior de la planta, estas producen entre 500 a 1000 óvulos, alineados en 16 a 20 hileras de 30 a 50 óvulos cada una, cubiertas de tricomas y que se transforman posteriormente en carióspsides desnudas (Figura 2), cuyas partes fundamentales son el pericarpio, endospermo, germen y funículo (Guacho, 2014; Sánchez Ortega y Pérez-Urrutia, 2014; Endicott *et al.*, 2015).

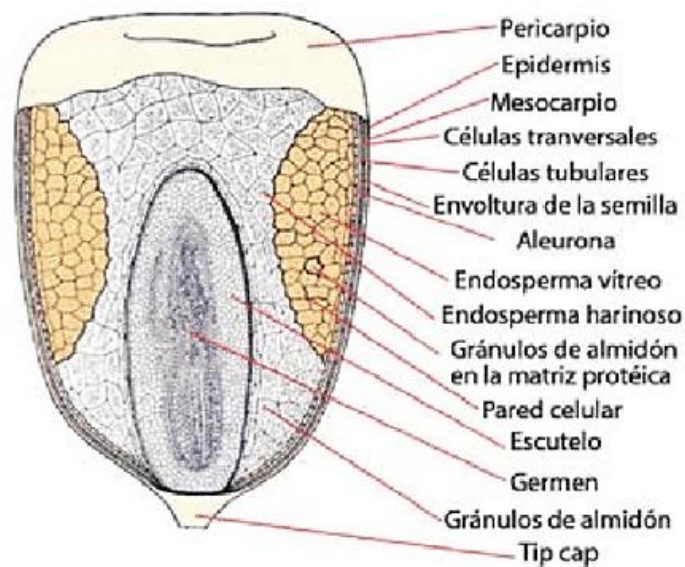


Figura 2. Sección transversal del grano de maíz (Pomeranz, 1987).

1.3.1 Índice de Área Foliar

El índice de área foliar (IAF) constituye un parámetro agronómico clave para evaluar la dinámica de desarrollo de cultivos, ya que integra información fisiológica y ecológica relevante. Este indicador no solo sirve como base para calcular la demanda hídrica y nutricional de la planta, sino también para analizar la eficiencia fotosintética, la vulnerabilidad a estrés biótico por plagas o enfermedades y el balance energético del cultivo. La importancia del IAF radica en su correlación directa con procesos ecofisiológicos fundamentales como la interceptación lumínica, productividad primaria y regulación hídrica (Mendoza-Pérez *et al.*, 2015).

1.4 Actividad fisiológica

Al maíz se le clasifica como una planta con metabolismo tipo C4, esto quiere decir que produce *ácido oxaloacético*, un compuesto de 4 carbonos, como primer compuesto sintetizado en la ruta metabólica integrada a su adaptación evolutiva para evitar la fotorrespiración. Gracias a esta adaptación, las plantas tipo C4 compensan el consumo energético de ATP con una eficiencia amplificada en el uso del agua, un mayor crecimiento y mayor eficiencia fotosintética bajo altas temperaturas, sin embargo, no las exime de ser intolerantes al estrés hídrico o salino (Sánchez Ortega y Pérez-Urrutia, 2014).

1.4.1 Concentración de clorofila o índice verde

La radiación solar desempeña un papel esencial en el crecimiento vegetal, ya que las hojas capturan energía lumínica para impulsar el proceso fotosintético. La eficiencia de un cultivo para interceptar la radiación está directamente relacionada con su superficie foliar por unidad de área, parámetro cuantificado mediante el índice de área foliar (Endicott *et al.*, 2015).

Entre los pigmentos biológicos, la clorofila destaca como el más abundante en la naturaleza. Su característico color verde surge de la absorción selectiva de las longitudes de onda azul y roja del espectro visible, reflejando bandas correspondientes al verde. La concentración de clorofila en las hojas puede alcanzar hasta 1 g/m², aunque esta varía significativamente según factores como la especie, edad foliar, estado nutricional y condiciones de irradiación previas (Reol, 2003; Endicott *et al.*, 2015).

En el ámbito agronómico, los métodos de diagnóstico rápido permiten evaluar el estado nutricional de los cultivos, particularmente los niveles de nitrógeno (N), mediante indicadores biológicos *in situ*. Una herramienta ampliamente utilizada es el medidor portátil de clorofila SPAD 502 (Soil Plant Analysis Development), que estima de manera no destructiva el contenido de clorofila midiendo la transmitancia lumínica a 650 nm y 940 nm (Castillo y Ligarreto, 2010).

1.5 Condiciones agroecológicas

El cultivo del maíz se clasifica por la latitud y ambiente siendo el **maíz tropical** cultivado en ambientes cálidos entre el ecuador y los 30° latitud sur y los 30° latitud norte, y el **maíz de zonas templadas** cultivado en climas fríos en latitudes más allá de los 34° sur; con requerimientos térmicos mínimos de 12.8 °C y máximos de 40.3 °C, siendo el intervalo de 26.7 a 29.4 °C el óptimo para su crecimiento (FAO, 2001; Ávila *et al.*, 2014).

Al ser una planta principalmente cultivada bajo temporal y en poca proporción bajo riego, la cantidad de agua necesaria para la correcta evapotranspiración del maíz se encuentra entre 400 a 800 mm, aunado a fotoperiodos cuantitativos cortos (OGTR, 2008).

Por otra parte, el maíz se puede desarrollar versátilmente en suelos que van desde suelos pedregosos en pendientes pronunciadas hasta suelos de aluvión profundo en zonas costeras, siendo aquellos suelos profundos permeables con pH ligeramente ácido a ligeramente alcalino, sin problemas salinos y alto contenido de materia orgánica, nitrógeno, fósforo y potasio, aireados y con buen drenaje los que presentan producciones mayores (Ávila *et al.*, 2014).

1.6 Fenología del cultivo de maíz

Las fases de desarrollo por las que atraviesa el cultivo de maíz es lo que constituye su fenología, donde se producen cambios importantes en la morfología y fisiología de la planta a medida que avanza el tiempo desde la siembra de las semillas de maíz hasta la cosecha del cultivo.

Esta fenología (Figura 3, Tabla 1), puede darse a distintas escalas de complejidad, pero la división más socorrida (descrita por Ritchie y Hanway en 1982) está determinada por los cambios en los caracteres morfológicos externos y fisiológicos internos, compuesta por dos grandes etapas: la **etapa vegetativa** con subperiodos identificados con la letra V y que corresponde a la emergencia y expansión del número total de hojas, y la **etapa reproductiva** con subperiodos identificados con

la letra R que inicia con la aparición de los estigmas, pasando por momentos de llenado del grano y concluyendo con la madurez de la mazorca (Golik *et al.*, 2018).

La primera etapa que enmarca la formación y diferenciación de distintos tejidos comienza con la **emergencia** (VE), donde la semilla cultivada absorbe del 30 al 35% de su peso en agua, pasando por la aparición de la primera hoja verdadera (V1) y avanza numéricamente con la formación de las subsecuentes (Vn) hasta la **aparición de la panoja**; es decir, la inflorescencia masculina (VT). La segunda etapa es la reproductiva (R1-6) que inicia con la **espigación**; es decir, la aparición de la inflorescencia masculina que está lista para liberar el polen, acompañado del aumento en el peso de las hojas y otras partes de la planta; continuando con el **jiloteo** o emergencia de mazorcas jóvenes con su estigma receptivo para la polinización, y una vez que se produce la fertilización da inicio el desarrollo de los granos en la mazorca hasta su **madurez fisiológica** después de los 60 a 65 días a partir de la aparición de los estigmas, enmarcada por el alcance del peso seco máximo de los granos para su cosecha (FAO, 1993; Guacho, 2014; Endicott *et al.*, 2015).

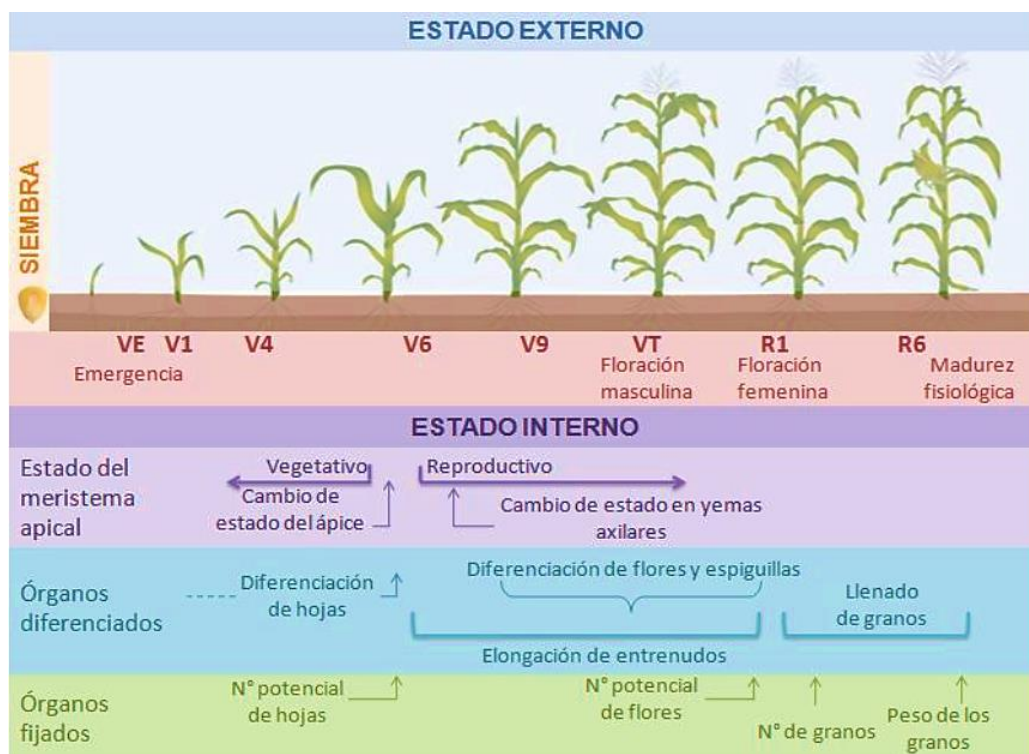


Figura 3. Etapas fenológicas del cultivo de maíz (Golik *et al.*, 2018).

Tabla 1. Etapas de desarrollo (fenología estándar) de la planta de maíz.

Etapas vegetativas		Etapas reproductivas	
VE	Emergencia	R1	Aparición de los estigmas
V1	Primera hoja	R2	Blíster
V2	Segunda hoja	R3	Grano lechoso
V3	Tercera hoja	R4	Grano pastoso
V(n)	Enésima hoja	R5	Grano dentado
VT	Aparición de las panojas	R6	Grano maduro

1.7 Usos e importancia nacional

Desde tiempos prehispánicos, el maíz ha sido el alimento más emblemático de la gastronomía e identidad mexicana, siendo actualmente el cereal más consumido en México. Existen a nivel mundial más de 220 variedades comestibles lo que ha permitido su amplio uso tanto industrial como culinario, englobando su versatilidad en la cocina desde preparaciones dulces hasta saladas, y solo en nuestro país se han identificado al menos 600 formas distintas de prepararlo. Entre sus usos más comunes se destacan diez alimentos principales como el aceite de maíz, harina de maíz (para elaboración de panes y tortillas), bocadillos salados, cereales, jarabe de maíz, goma de mascar, caramelos, fécula de maíz, gelatina y productos dietéticos (Gobierno de México, 2019).

En 2021, se registró una producción de más de 27 millones de toneladas, cultivándose en los 32 estados del país, con 7 millones de hectáreas destinadas a su cultivo, convirtiendo a México en el 7° productor a nivel mundial; asimismo, la producción de granos a nivel nacional alcanzó el 88.2% (Gobierno de México, 2023). Se considera un elemento pilar en la alimentación humana y animal debido al aporte nutricional y productivo que brinda, representando un 32.8% del valor de la producción del sector agrícola nacional (Martínez-Reyes *et al.*, 2018).

Por otra parte, es importante destacar que la alta producción de estos cultivos ha representado un fuerte impacto a nivel ambiental tanto por el extendido uso de

agroquímicos en la fertilización y protección ante plagas como por el cambio de uso del suelo, ya que de acuerdo con el INEGI (2023), en 2022 la superficie destinada al sector agrícola en nuestro país alcanzó las 32.1 millones de hectáreas, correspondiendo a la intensificación de la agricultura con el fin de satisfacer la demanda poblacional de alimentos que de acuerdo a proyecciones realizadas por Alexandratos y Bruinsma (2012), exigirá un aumento de 60% en producción en los próximos 30 años; haciendo que la seguridad alimentaria dependa de la implementación de nuevas técnicas para asegurar la sustentabilidad agrícola, así como la conservación de las condiciones óptimas del suelo.

2. LA MILPA: UN SISTEMA TRADICIONAL DE CULTIVO

La milpa, cuyo nombre proviene del náhuatl *milli* (cultivo) y *pan* (locativo), es un sistema tradicional de policultivo en temporal y sin intervención de agromaquinaria centrado en el maíz y acompañado de diversas plantas comestibles, medicinales, ornamentales y útiles como abono.

Este sistema se basa en la sinergia entre múltiples especies cultivadas en un mismo espacio, donde principalmente se destaca la denominada "triada mesoamericana" (Figura 4), compuesta por maíz (*Zea mays* L.), calabaza (*Cucurbita* spp.) y frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), donde el crecimiento vertical del tallo de maíz brinda un soporte estructural para la expansión de los zarcillos del frijol, el cual fija el nitrógeno atmosférico en el suelo dejándolo disponible a los demás cultivos, mientras que la calabaza cubre ampliamente el suelo limitando el crecimiento de malezas, la propagación de plagas y manteniendo la humedad del sustrato y de las raíces adventicias del maíz (Buenrostro, 2009; Jácome y Montes, 2014).

Un sistema de milpa, no se limita a esta triada, sino que puede incluir una gran variedad de plantas anuales y perennes de acuerdo con el clima, suelo, vegetación y costumbres alimenticias, pudiendo integrar hasta 50 especies diferentes, intercalando ciclos de producción cortos y largos, manteniendo una alta diversidad inter e intraespecífica. Por lo que además de su valor cultural y agrodiverso, la milpa

fomenta la producción local y ha representado un medio esencial de obtención de cereales para autoconsumo en comunidades indígenas y rurales (Buenrostro, 2009).

Con ello dentro de sus ventajas destacan su resistencia a perturbaciones bióticas por plagas y arvenses, una disminución a la pérdida completa de la cosecha, optimización de tiempos de producción, alta adaptabilidad a factores de estrés abiótico, eficiencia en el aprovechamiento de recursos como luz, agua y nutrientes así como área de cultivo disponibles, control biológico de enfermedades y reducción de erosión edáfica al minimizar el uso de insumos químicos y maquinaria (Ebel *et al.*, 2017; Leyva-Trinidad *et al.*, 2020).

No obstante, a mediados del siglo XXI las políticas gubernamentales han promovido la agroindustrialización, el monocultivo, mecanización, mejoramiento genético y agroquímicos en lugar de las prácticas tradicionales como la milpa; provocando resistencia a plaguicidas, erosión, infertilidad del suelo y contaminación ambiental.

Además, el cambio climático amenaza este sistema tradicional con pronósticos que enmarcan una reducción del 10% en la producción de maíz, debido a una mayor actividad fotosintética en plantas por aumento de CO₂ y temperatura, y una mineralización acelerada del suelo, alterando las poblaciones microbianas, reduciendo la actividad micorrízica y aumentando los ciclos reproductivos de plagas (Ebel *et al.*, 2017).

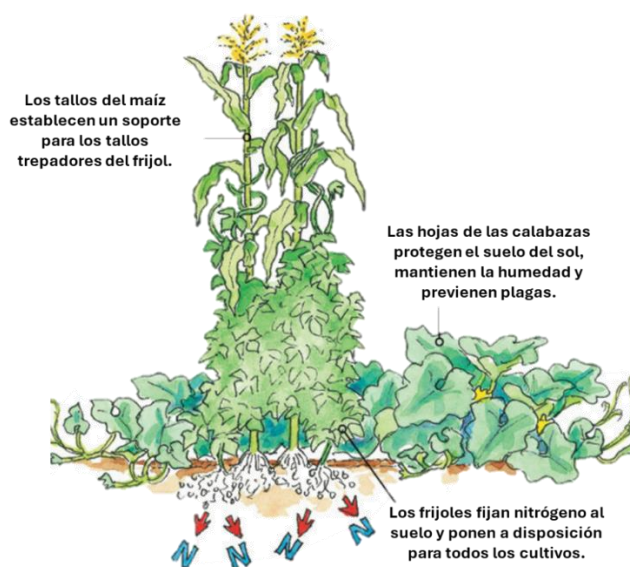


Figura 4. Estructura general de un sistema de milpa en "triada mesoamericana".

3. BIOESTIMULANTES Y BIOFERTILIZANTES

Ante los desafíos actuales dentro del sector agrícola y ambiental, impulsados por la creciente demanda de alimentos para una población mundial en constante expansión, se ha incrementado el empleo de insumos agroquímicos (fertilizantes sintéticos, semillas mejoradas genéticamente, pesticidas e insecticidas) con el objetivo de maximizar el rendimiento de los cultivos en ciclos productivos reducidos y mitigar las pérdidas por plagas y patógenos en etapas pre y postcosecha. Estos productos sintéticos suministrados excesivamente, pese a que proporcionan nutrientes necesarios para aumentar la productividad agrícola, solo son absorbidos en cantidades limitadas (entre el 30 al 40%) por las plantas, y el resto se almacena en el suelo exacerbando la contaminación ambiental por procesos de eutrofización en los cuerpos de agua, el deterioro y la pérdida de la fertilidad del suelo, el debilitamiento de los sistemas radiculares de las plantas, así como la acumulación de metales pesados en el tejido vegetal y contaminantes inorgánicos en el suelo.

De este modo, el estudio y uso de bioestimulantes y biofertilizantes han demostrado desempeñar un papel clave como alternativa ecológica, gracias a su capacidad para fomentar el crecimiento vegetal y mejorar la absorción de nutrientes esenciales como nitrógeno, fósforo y potasio, respondiendo a la demanda de alimentos orgánicos y a la necesidad de promover prácticas agrícolas ambientalmente responsables (Kapoor *et al.*, 2021; Miranda *et al.*, 2024).

Los biofertilizantes son productos orgánicos formulados a partir de microorganismos específicos que se aplican directamente a las plantas o al suelo de cultivo con el objetivo de mejorar la disponibilidad de nutrientes y promover el crecimiento y rendimiento vegetal. Su mecanismo de acción no depende de la cantidad o del contenido nutricional del inoculante en sí, sino de procesos biológicos de colonización de la rizosfera y tejidos internos de la planta, la solubilización y fijación de nutrientes, y la síntesis de sustancias promotoras del crecimiento (Daniel *et al.*, 2022).

Por su parte, los bioestimulantes son sustancias que se aplican en cantidades reducidas a la planta, semillas o sustratos de cultivo en formulaciones específicas, capaces de modificar procesos fisiológicos con el fin de promover el crecimiento, desarrollo o la respuesta al estrés de las plantas, ya que contienen distintos compuestos orgánicos y minerales aprovechables por los tejidos vegetales como metabolitos primarios y/o secundarios, reguladores del crecimiento y nutrientes (Halpern *et al.*, 2015; Du Jardin, 2015). Se categorizan en no microbianos, como hidrolizados de proteínas o sustancias húmicas (ácidos húmicos, fúlvicos y huminas), o bien, microbianos, como extractos de algas y microorganismos (bacterias, hongos, levaduras y microalgas) (Rouphael y Colla, 2020).

Mientras que un biofertilizante contiene microorganismos benéficos que enriquecen el suelo y favorecen el crecimiento vegetal, un bioestimulante es una formulación orgánica que activa procesos biológicos como la fotosíntesis y la respiración. Ambos buscan proporcionar nutrimentos esenciales, pero los bioestimulantes destacan por su rápida absorción y capacidad para mejorar la tolerancia al estrés, la calidad y el rendimiento de los cultivos, regula los procesos metabólicos, produciendo metabolitos secundarios y aumenta los antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos (Alvarez *et al.*, 2021; Kapoore *et al.*, 2021; Anastacio-Angel *et al.*, 2024).

4. MICROALGAS

Las microalgas son microorganismos mayormente eucariotas unicelulares que realizan procesos fotosintéticos y habitan principalmente en cuerpos de agua como ríos, lagos y océanos siendo parte del fitoplancton, siendo los productores primarios de energía y materia orgánica para la fauna acuática. Son simbioses de importancia ecológica por su rol en la formación de relaciones con pólipos en las poblaciones de corales y con hongos en los líquenes (Thoré *et al.*, 2023).

Históricamente, su cultivo con fines de investigación científica inició alrededor de 1890 con la identificación y aislamiento del alga verde *Chlorella* y con fines comerciales en la década de 1970 con la producción de *Arthrospira* y *Chlorella*. Han sido aprovechadas debido a que presentan una amplia gama de aplicaciones

biotecnológicas y comerciales, especialmente valoradas en la producción de alimentos, aditivos, cosméticos, medicinas y suplementos. Además, son fuente de moléculas bioactivas como ficobilinas, β -caroteno, ácidos grasos poliinsaturados y vitaminas. Su mercado global se estimó en 32.6 mil millones de dólares en 2017, con proyecciones de alcanzar 53.43 mil millones para 2026 (Guo *et al.*, 2020; Thoré *et al.*, 2023).

4.1 Género *Dunaliella*

Las microalgas del género *Dunaliella* pertenecen a la familia Polyblepharidaceae (Orden Volvocales) con 28 especies identificadas, siendo las especies más conocidas: *D. tertiolecta*, *D. salina*, *D. primolecta*, *D. bioculata*, *D. viridis* y *D. bandawil* (Çelebi *et al.*, 2021).

De acuerdo con la descripción morfológica dada por Borowitzka (1990), los miembros del género *Dunaliella* son microalgas verdes unicelulares halófilas de formas ovoide, esférica, piriforme, fusiforme o elipsoidal, que presentan dos flagelos de igual longitud y un único cloroplasto central en forma de copa con un pirenoide rodeado de granos de almidón, y con tamaños que rondan entre 5 a 25 μm de largo y de 3 a 13 μm de ancho. No poseen una pared celular rígida, sino que se delimitan por una membrana delgada y elástica que le permite adaptar su morfología ante las variaciones de presión osmótica exterior (Figura 5). En su mayoría son autotróficas gracias a su alto contenido de clorofila *a* y *b*, así como carotenoides, neoxantina, luteína, violaxantina y zeaxantina. Se multiplican por división longitudinal o, de forma menos común, por reproducción sexual tipo isogamia, donde dos células se fusionan para formar un cigoto.

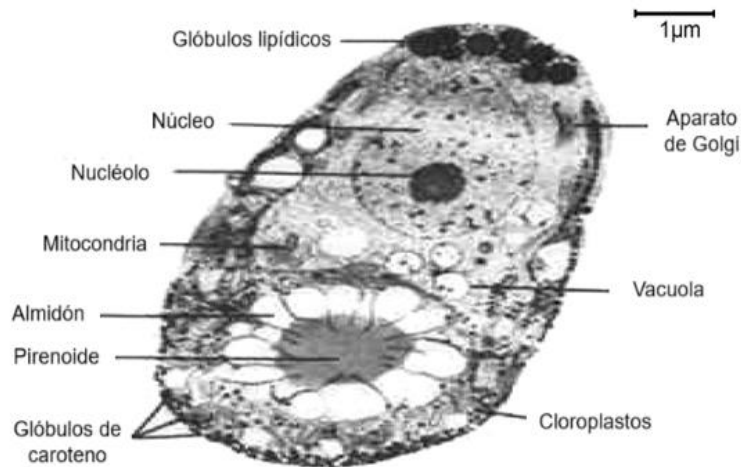


Figura 5. Estructuras principales de *Dunaliella salina* (Traducido de Heakal *et al.*, 2010).

4.2 Aplicaciones biotecnológicas de *Dunaliella salina*

Dunaliella salina es una especie de microalga halófila de gran valor industrial y ambiental, cuyas aplicaciones derivan de su capacidad fisiológica de adaptación y su perfil bioquímico.

Presentan una amplia capacidad para acumular β -caroteno en altas concentraciones -representando hasta el 14% de su peso seco- bajo condiciones de estrés lumínico y salino; lo que la convierte en la principal fuente natural de producción de este pigmento que es aprovechado como colorante alimenticio y suplemento nutricional por su actividad provitamina A y antioxidante, clave en la prevención de enfermedades degenerativas. Su producción de glicerol osmorregulador tiene aplicaciones en la industria cosmética en forma de hidratantes y en la farmacéutica como excipiente en medicamentos.

En el área ambiental, se destaca su aplicación en la biorremediación por su crecimiento acelerado en aguas hipersalinas permitiendo la descontaminación de efluentes industriales, capturando metales pesados, eliminando nitrógeno inorgánico, fósforo y CO_2 , contribuyendo a la mitigación del cambio climático. También ha sido explorado su potencial en enfoques de bioenergía, ya que los lípidos que acumula se pueden convertir en biodiésel; mientras que, su biomasa

residual sirve como fertilizante orgánico. Todas estas aplicaciones son viables gracias a su cultivo de bajo costo en sistemas abiertos, como salinas o fotobiorreactores (Hosseini Tafreshi y Shariati, 2009; Çelebi *et al.*, 2021; Barbosa *et al.*, 2023).

4.3 Microalgas como una nueva alternativa sostenible

Las microalgas han ganado interés científico como recurso potencial gracias a los diversos productos derivados que se pueden obtener a partir de ellas (Figura 6) para la fertilización orgánica y el reacondicionamiento de suelos, debido a sus capacidades de enriquecer los suelos, fijar el nitrógeno atmosférico y aumentar la disponibilidad de microelementos esenciales. Además, las aplicaciones de extractos de microalgas han demostrado propiedades antibacterianas, antimicóticas y mejoras en la producción de cultivos como maíz, trigo y arroz, incrementando el rendimiento entre un 10% y 30%, gracias a la estimulación de la actividad microbiana del suelo y la síntesis de metabolitos secundarios en las plantas (Ronga *et al.*, 2019). Estos microorganismos fotosintéticos —como *Chlorella*, *Spirulina* y *Scenedesmus*— son ricos en compuestos bioactivos (aminoácidos, polisacáridos, hormonas vegetales y pigmentos) que actúan como bioestimulantes naturales, mejorando la germinación, el crecimiento radicular y la tolerancia al estrés abiótico (sequía, salinidad). Además, su capacidad para fijar nitrógeno atmosférico (en cianobacterias como *Nostoc*) y solubilizar fosfatos, los convierte en biofertilizantes eficientes, reduciendo la dependencia de insumos químicos (Baweja *et al.*, 2019; El-Moursy *et al.*, 2019; Alam *et al.*, 2020).

Su producción en sistemas de biorreactores o estanques abiertos es altamente escalable y sostenible, ya que requieren menos recursos hídricos y emiten menos CO₂ comparado con la producción y uso de fertilizantes convencionales. Su integración en la agricultura no solo optimiza la productividad, sino que también alinea las prácticas agrícolas con los principios de la economía circular, al aprovechar residuos orgánicos como medio de cultivo para estas especies (Ronga *et al.*, 2019; Colla y Rouphael, 2020).

Estudios recientes destacan los beneficios de aplicar extractos de microalgas en cultivos; Shariatmadari y colaboradores (2013), observaron que la aplicación foliar en pepino, calabaza y tomate aumenta el peso seco y húmedo, longitud de raíces y tamaño de hojas; Dineshkumar *et al.* (2019), reportaron mejoras en la germinación, crecimiento y rendimiento del maíz al combinar microalgas con estiércol animal; y El-Adl *et al.* (2022), estudiaron cómo los exopolisacáridos y el β -caroteno de *Dunaliella salina* mitigan el estrés salino en cultivos de calabaza y tomate.

Si bien persisten desafíos técnicos para escalar su producción a niveles industriales y optimizar formulaciones que puedan competir con los agroquímicos sintéticos, el potencial de las microalgas es innegable, no solo mejoran la productividad agrícola, sino que redefinen los paradigmas de producción alimentaria al reconciliar altos rendimientos con sostenibilidad ambiental. La investigación actual se enfoca en desarrollar cepas mejoradas, protocolos de aplicación precisos y sinergias con otras prácticas agroecológicas para consolidar esta prometedora herramienta biotecnológica (Baweja *et al.*, 2019; El-Moursy *et al.*, 2019).

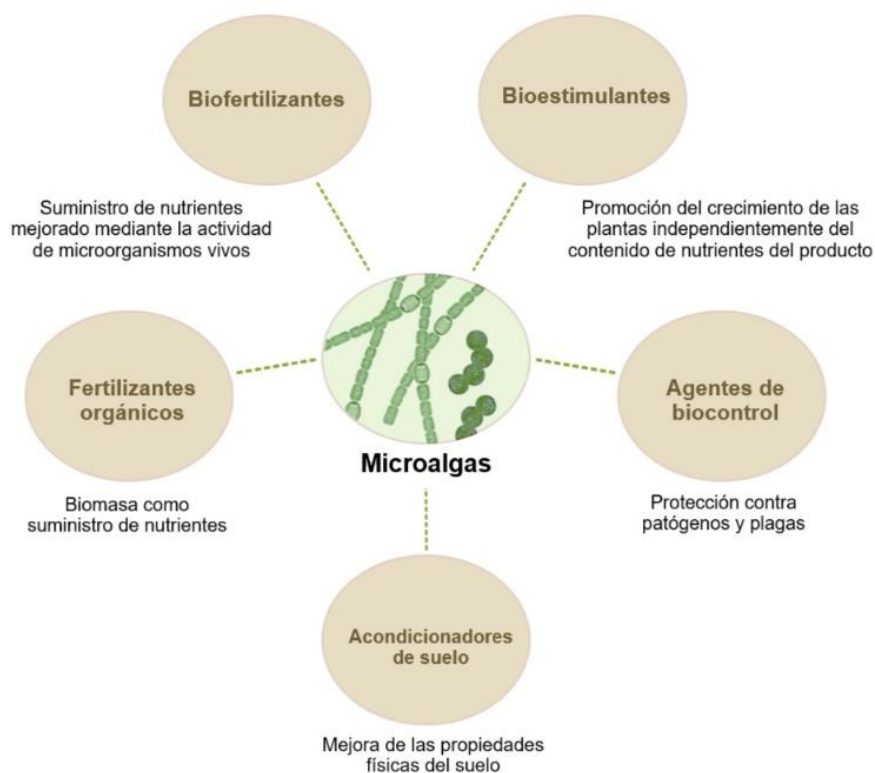


Figura 6. Productos con potencial agrícola derivados de las microalgas (Alvarez *et al.*, 2020)

III. JUSTIFICACIÓN

El presente trabajo surge ante la necesidad crítica de desarrollar alternativas sostenibles que garanticen la productividad agrícola del maíz en el sistema de milpa, un modelo agroecológico tradicional de profunda relevancia cultural y socioeconómica en México. En el contexto actual marcado por el cambio climático, la degradación de suelos y la creciente demanda de alimentos, se propone evaluar el efecto bioestimulante de la microalga *Dunaliella salina* —rica en compuestos bioactivos como β -carotenos, glicerol y antioxidantes— como innovación tecnológica para mejorar el crecimiento morfométrico, fisiológico y el rendimiento del cultivo. Esta aproximación no solo busca reducir la dependencia de insumos químicos sintéticos, cuyo uso excesivo genera impactos ambientales adversos, sino también integrar el conocimiento tradicional con herramientas biotecnológicas modernas, fortaleciendo así la resiliencia de los sistemas agrícolas. Al vincular ciencia aplicada con saberes ancestrales, este estudio aporta evidencia para posicionar a la milpa como un modelo clave para enfrentar los retos globales de seguridad alimentaria y adaptación climática, ofreciendo soluciones escalables que equilibren innovación y pertinencia cultural en el ámbito agroalimentario mexicano.

IV. OBJETIVOS

GENERAL

Evaluar el efecto bioestimulante de la adición foliar de *Dunaliella salina* a un cultivo de maíz en sistema de milpa a través de parámetros de germinación, morfométricos, fisiológicos y de productividad.

ESPECÍFICOS

Determinar el efecto de diferentes concentraciones de *Dunaliella salina* en el porcentaje de germinación de semillas de maíz y diversas hortalizas.

Analizar la influencia de la aplicación foliar de *D. salina* en los parámetros morfométricos (altura y área foliar) y fisiológicos (contenido de clorofila) del cultivo de maíz.

Evaluar el impacto de *D. salina* como bioestimulante en el avance del desarrollo reproductivo y el rendimiento agronómico del cultivo de maíz.

V. HIPÓTESIS

La aplicación foliar de *Dunaliella salina* en un cultivo de maíz criollo rojo en sistema de milpa aumentará significativamente el porcentaje de germinación, el crecimiento vegetativo (área foliar y altura de planta), la actividad fisiológica (concentración de clorofila y progresión de etapas reproductivas), la productividad (peso húmedo de planta, peso húmedo y seco de mazorca, peso de 100 granos) y rendimiento total en comparación con un cultivo regado con agua, demostrando su efecto como bioestimulante natural y sostenible.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

1. Germinación en hortalizas: estudio exploratorio

1.1 Diseño experimental

De 5 almacigueras de 13 x 26 pocillos se rellenaron 3 bloques separados de 13 x 8 pocillos con sustrato orgánico peat moss humedecido con agua destilada, sembrando 312 semillas de cada hortaliza (jitomate, acelga, rábano, espinaca y betabel) en cada almaciguera. Se prepararon 3 concentraciones de bioestimulante: 0% (Control), 0.1% y 0.5% de solución líquida de pasta de microalga (*D. salina*) respetivamente pesada y disuelta en agua destilada. Se realizó un periodo de riego con los tratamientos y control cada 2 días durante un plazo total de 18 días, manteniendo las almacigueras en un lugar asoleado indirectamente y humedeciendo con agua destilada cuando fue necesario (Figura 7).

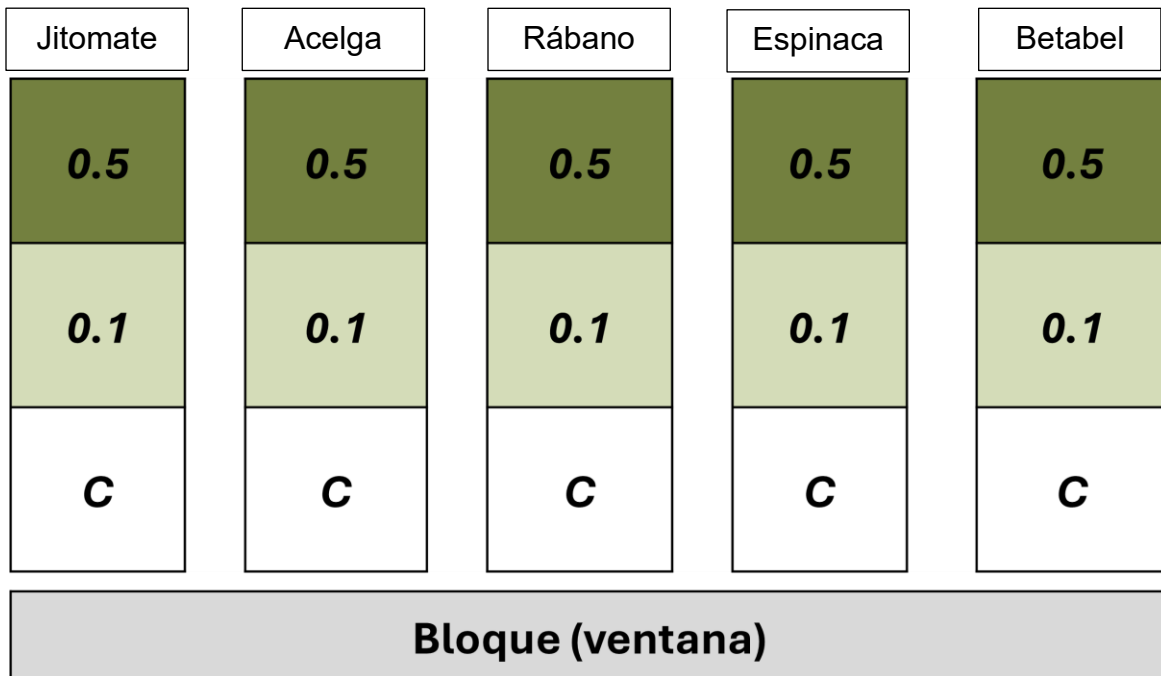


Figura 7. Diseño experimental propuesto para la germinación de hortalizas.

1.2 Índice de germinación

Al finalizar el periodo de riego, se cuantificaron el total de plántulas emergidas por almaciguera de acuerdo con la especie y el tratamiento aplicado y se calculó el porcentaje de germinación de cada hortaliza.

2. Germinación en maíz

2.1 Diseño experimental

De 5 almacigueras de 13 x 26 pocillos se marcaron 4 bloques separados de 13 x 5 pocillos con sustrato orgánico peat moss humedecido con agua corriente, sembrando 260 semillas de maíz criollo rojo. Se emplearon 4 tratamientos de bioestimulante con 5 repeticiones cada uno bajo un diseño en bloques completamente aleatorios, los tratamientos fueron: 0% (Control), 0.5%, 1% y 1.5% (Figura 8).

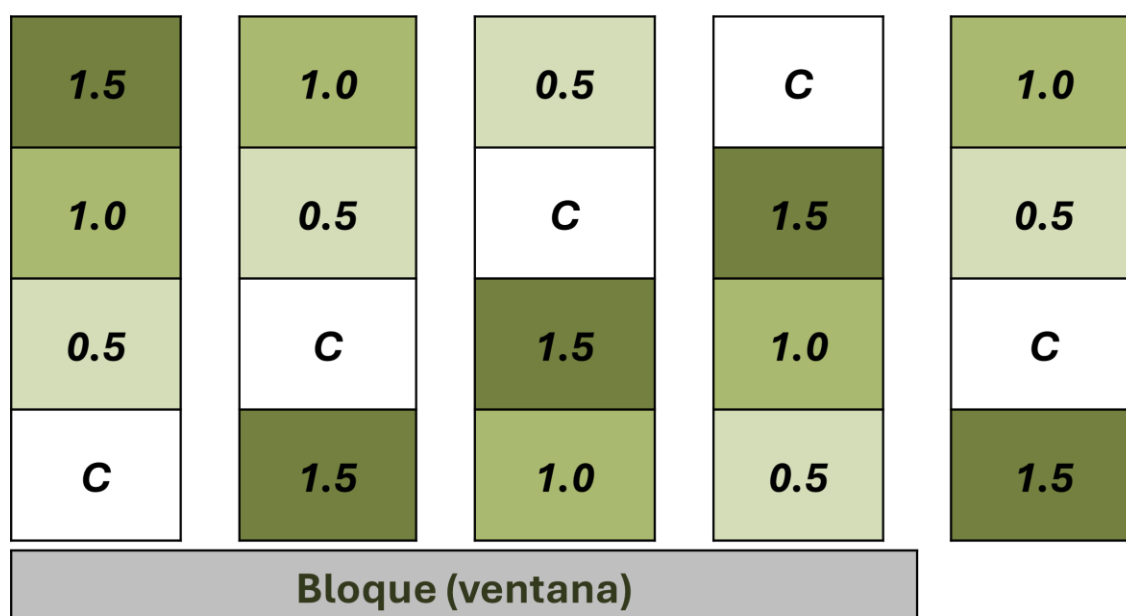


Figura 8. Diseño experimental en bloques aleatorizados propuesto para la germinación de maíz.

Los tratamientos consistieron en una solución líquida de la pasta de microalga (*D. salina*) disuelta en agua corriente con la cual se hicieron riegos cada 2 días durante un periodo de 18 días, manteniendo las almacigueras con luz indirecta y humedecidas con agua corriente cuando fue necesario.

2.2 Índice de germinación

Al finalizar el periodo de riego, se cuantificaron el total de plántulas emergidas por almaciguera de acuerdo con el tratamiento aplicado y se calculó el porcentaje de germinación.

2.3 Análisis estadístico

Se realizó un ANOVA para un diseño en bloques completamente aleatorios y una prueba de Tukey para detectar diferencias significativas en el porcentaje de germinación en función de la concentración de bioestimulante empleada con un nivel de confianza del 90% usando el software Statgraphics Centurion XVI®.

3. Cultivo en milpa

3.1. Zona de estudio

El trabajo de campo se realizó en una parcela ubicada dentro del campus “El Cerrillo, Piedras Blancas” de la UAEMéx (Figura 9), el cual se localiza dentro del municipio de Toluca, Estado de México en las coordenadas 19°24' 33" latitud norte, 99° 41' 27" longitud oeste y a 2,671 msnm (INEGI, 2025).



Figura 9. Ubicación geográfica de la parcela de cultivo a una escala 1:1000. Toma satelital de Google Earth® con datos del INEGI (2025).

La región se caracteriza por presentar mayormente un clima templado subhúmedo de altiplano, con un régimen de lluvias en verano, de mayor humedad, marcada oscilación térmica y marcha de temperatura tipo Ganges (C(w₂)(w)b(i)g). La precipitación total se encuentra entre los 700 a 2,000 mm y la temperatura media anual es de 24 °C, con una marcada variación estacional que fluctúa entre los 2°C y 16°C a lo largo del año. Un aspecto distintivo de este patrón climático es la marcha de temperatura tipo ganges, lo que significa que el mes más cálido corresponde a mayo (antes del solsticio de verano), lo que representa una particularidad fenológica que influye significativamente en los ciclos de crecimiento de la vegetación natural y los cultivos característicos de la zona (INEGI, 2010, Díaz-López *et al.*, 2011).

Posee un relieve en llanura, lomerío y sierra con una geología constituida por un 36.91% de roca ígnea extrusiva (volcanoclástico, andesita y basalto), 8.38% de roca sedimentaria (brecha sedimentaria) y 15.03% de suelo (aluvial y lacustre); así como una edafología con suelos dominantes del tipo phaeozem (21.64%), andosol (18.32%) y vertisol (16.56%), y presencia de múltiples cuerpos de agua (INEGI, 2010).

3.2 Diseño experimental

El trabajo de campo se llevó a cabo en una parcela cultivada en sistema de milpa compuesta de la variedad de maíz criollo rojo, frijol y calabaza con un tamaño total de 10 m de largo por 4 m de ancho, distribuido en 14 surcos totales de 0.5 m de ancho por 4 m de largo y alrededor de 50 plantas de maíz sembradas por cada uno.

De estos 14 surcos se destinaron 10 surcos centrales de forma intercalada empleando un total de 4 surcos como controles (C), 6 surcos como tratamiento de microalga (T) y 2 surcos en cada extremo para ser considerados fuera de la parcela útil (Figura 10).

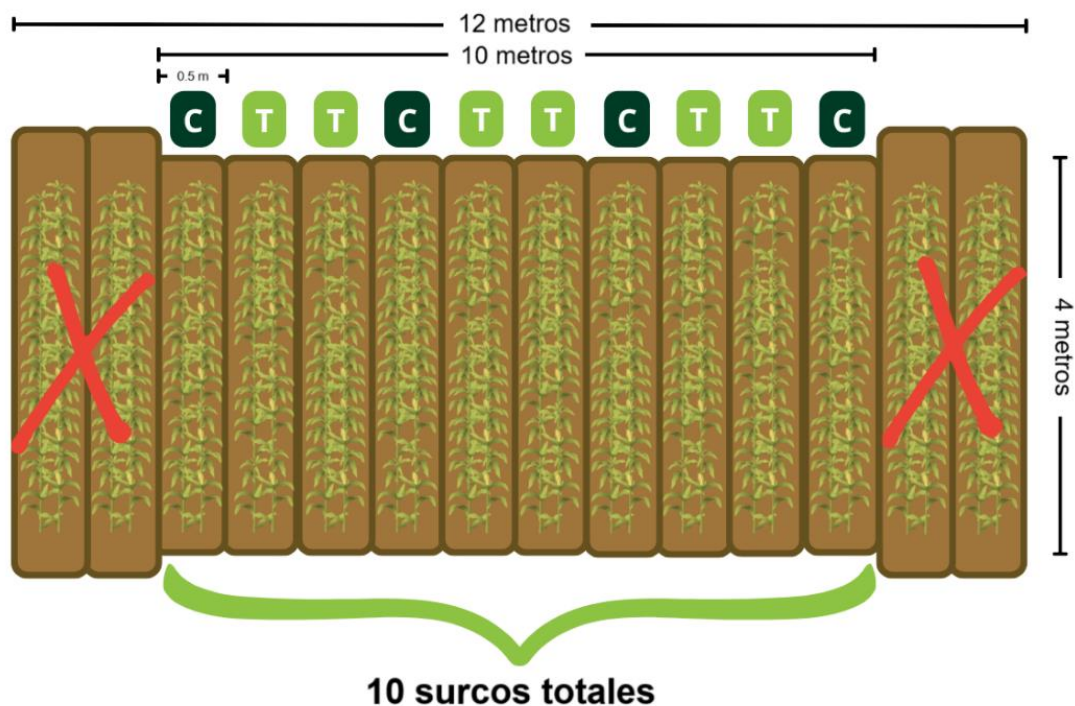


Figura 10. Diseño experimental en bloques alternados de la parcela cultivada.

En un garrafón de 20 L se preparó la solución líquida de la pasta de microalga disuelta en agua corriente de acuerdo con la concentración de bioestimulante al 1% determinada a partir de los resultados de los experimentos de germinación antes descritos. Las aplicaciones del bioestimulante de microalga se realizaron una vez por semana a partir de la etapa V3 del maíz, de manera foliar y al suelo con ayuda de un aspersor de mano de 3 L durante 9 semanas y con un volumen de cerca de 1 y 2 litros por surco considerando la temporada de lluvia.

Se muestrearon y etiquetaron 5 plantas por surco seleccionadas de manera sistemática, haciendo un total de 50 unidades muestrales.

3.3 Análisis de campo

3.3.1 Actividad fisiológica foliar

Se tomó y registró *aproximadamente* a la misma hora del día la cuantificación del índice de clorofila (unidades SPAD) de 2 hojas basales y 2 hojas puntas de cada una de las 5 plantas etiquetadas de los surcos control y tratamiento usando un medidor SPAD 502 Plus Minolta®.

Las mediciones se llevaron a cabo un día antes de la primera aplicación del bioestimulante y posteriormente cada semana durante 9 semanas.

3.3.2 Monitoreo de etapas reproductivas

Durante el periodo de desarrollo del cultivo, se registró la cantidad de plantas dentro de la muestra que presentaron *espigación*, enmarcado por emergencia total de la espiga (VT-R1); *jiloteo*, definido por la aparición de los estigmas en los nodos (R2), y *maduración* al completar el llenado de los granos de las mazorcas para su posterior cosecha (R6), con ello se calcularon los porcentajes de plantas que presentaron estas tres etapas tanto en el control como en el tratamiento.

3.3.3 Mediciones morfométricas

Al finalizar el periodo de desarrollo del cultivo, se extrajeron las plantas etiquetadas por surco para medir y registrar la altura de la planta, así como el ancho y largo de una hoja base y una hoja punta con ayuda de un flexómetro de 20 m, con el fin de determinar el índice de Área Foliar (IAF) por el método destructivo según lo determinado por Wilhelm y colaboradores (2000):

$$\text{IAF} = \text{largo de hoja (cm)} \times \text{ancho de hoja (cm)} \times 0.75 \text{ (coeficiente de corrección para maíz)}$$

Asimismo, se determinó el peso húmedo de las plantas y mazorcas totales por surco empleando una balanza granataria. Adicionalmente se sometieron a secado a las mazorcas de las plantas muestreadas durante dos semanas cuantificando su peso seco y posteriormente se desgranaron para obtener el peso de 100 granos.

3.4 Análisis estadístico

Se realizaron análisis estadísticos tipo MANOVA y pruebas de t-student para detectar diferencias en la cuantificación de clorofila y el porcentaje de plantas que presentaron las etapas reproductivas a través del tiempo; asimismo, se obtuvieron los gráficos descriptivos e intervalos de confianza de los datos morfométricos y de productividad. Se empleó un nivel de confianza del 90% utilizando el software estadístico Statgraphics Centurion XVI®.

VII. RESULTADOS

1. GERMINACIÓN

Germinación en hortalizas

Tabla 2. Porcentaje de germinación en hortalizas con la adición de diferentes concentraciones de microalga.

Hortaliza	Control	Tratamientos (%)	
		0.1	0.5
Rábano	38.5	58.7	44.2
Jitomate	42.3	45.2	33.7
Espinaca	29.8	45.2	43.3
Acelga	21.2	42.3	11.5
Betabel	24.0	5.8	6.7

La **Tabla 2** muestra los porcentajes de germinación de las diferentes hortalizas consideradas bajo la aplicación del control con agua y dos concentraciones de microalga (*D. salina*). Se denota que la germinación presenta un patrón de incremento cuando se les aplica el tratamiento al 0.1% en contraste con el tratamiento al 0.5% y control. En el caso del betabel, se observan resultados contrarios donde existe una disminución en el porcentaje de germinación al aplicar la microalga.

Respecto a las dosis de microalga aplicada, se observó mayor porcentaje de germinación con la aplicación de microalga al 0.1%, siendo rábano el que presentó valores más altos (58.7%) seguido de jitomate (45.2%), espinaca (45.2%) y acelga (42.3%).

Germinación en maíz

Dado que en las hortalizas se obtuvo mayor germinación a mayor concentración de microalga aplicada; se decidió emplear una concentración más alta para el experimento de semillas de maíz; de manera que los tratamientos usados fueron 0.5%, 1% y 1.5% más el control con solo agua.

A pesar de que no se presentaron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos se observó un aumento en el porcentaje de germinación al aplicar la microalga al 1% en comparación con el control, así como una tendencia a disminuir al aplicar la concentración mayor (1.5%) como lo demuestra la **Figura 11**.

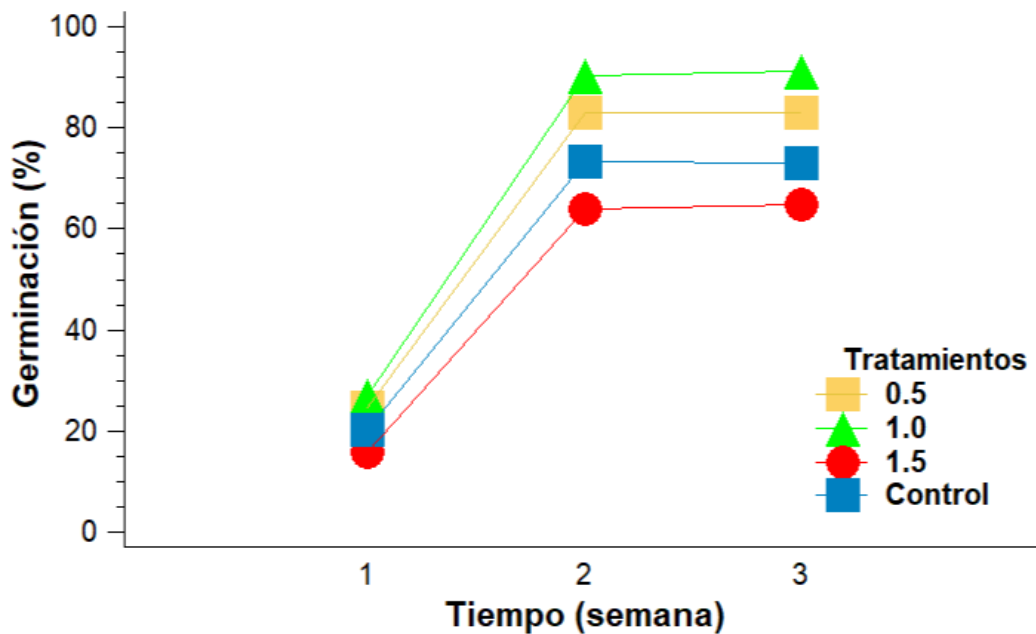


Figura 11. Porcentaje de germinación de semillas de maíz con la adición de diferentes concentraciones de microalga.

2. FISIOLÓGÍA

Cuantificación de clorofila

Una técnica eficiente para evaluar el contenido de clorofila en campo consiste en utilizar el medidor SPAD-502, equipo que cuantifica el índice de verdor, el cual presenta una correlación de la obtención de nitrógeno con los niveles de clorofila existentes en las hojas. En la **Figura 12** se muestra el promedio obtenido en la cuantificación del índice SPAD en las hojas basales a través del tiempo de desarrollo de la planta de maíz sometidas al tratamiento con *D. salina* y el control con agua, reflejando que no existen diferencias significativas respecto al tiempo de aplicación ni al tratamiento aplicado ($p>0.10$).

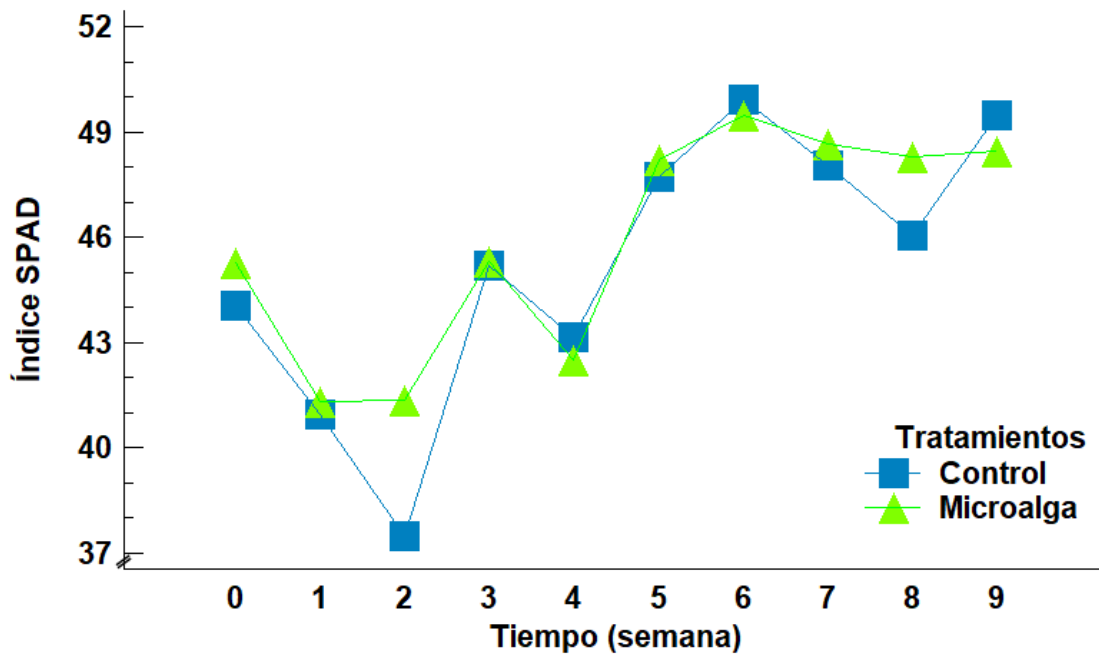


Figura 12. Concentración de clorofila (índice SPAD) en hojas basales a través del tiempo sin o con la aplicación de microalga.

No obstante, al realizar un análisis estadístico t-student sobre los datos del tiempo 2 (fase temprana de desarrollo del maíz), donde se observa una aparente diferencia del índice SPAD, se obtuvo un incremento significativo en la concentración de clorofila (índice SPAD) en el tratamiento con microalga respecto al grupo control ($p<0.10$).

Con la que respecta a las hojas punta (**Figura 13**) se observó una disminución significativa en el índice SPAD de las plantas de maíz sometidas al tratamiento respecto a las del control ($p < 0.10$). Esto puede representar la existencia de un posible efecto inhibitorio de la actividad clorofílica de las hojas apicales mayormente expuestas a la radiación lumínica cuando se les aplica el tratamiento con microalga.

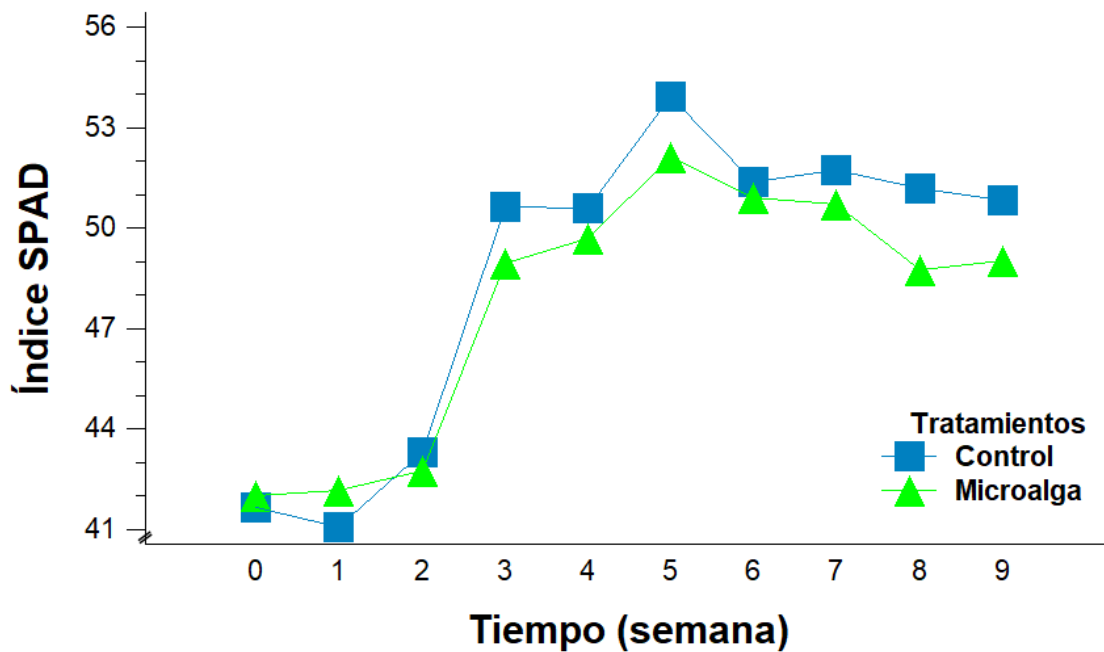


Figura 13. Concentración de clorofila (índice SPAD) en hojas punta a través del tiempo en plantas de maíz sin o con la adición de microalga.

Etapas reproductivas

Espigación (VT-R1)

En el maíz, la espigación (o emergencia de la inflorescencia masculina), corresponde a la etapa de transición entre VT y R1 en la escala de desarrollo reproductivo estándar. A pesar de que las plantas regadas con microalga presentaron un porcentaje de espigación menor respecto a las plantas del grupo control (**Figura 14**), estadísticamente esto no fue significativo ($p > 0.10$).

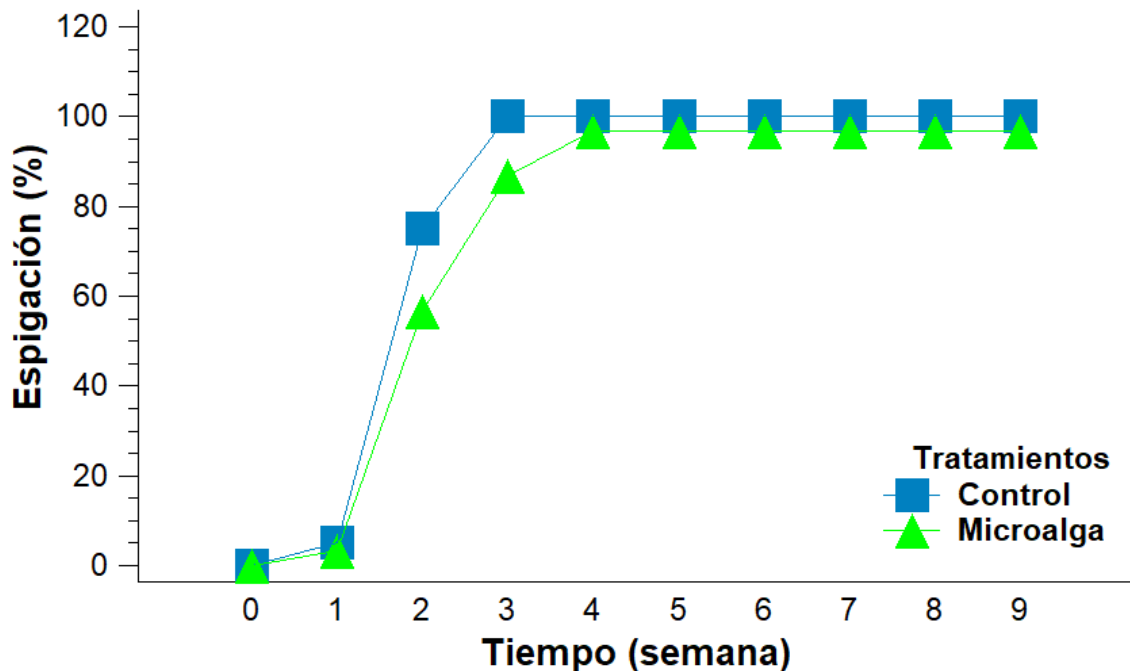


Figura 14. Porcentaje de plantas de maíz que presentaron espigación (VT-R1) sin o con aplicación de microalga.

Jiloteo (R2)

El jiloteo (o aparición de los estigmas receptivos) corresponde a la etapa R2 de la escala estándar reproductiva del maíz. En la **Figura 15**, se observó un patrón de aumento en el porcentaje de plantas con presencia de estigmas bajo el tratamiento con microalga a partir del tiempo 5 (~85% en este tiempo y ~15% en tiempos avanzados del cultivo) en contraste con el porcentaje del grupo control (80%, y 10%, respectivamente). No obstante, estas diferencias no fueron significativas ($p > 0.10$).

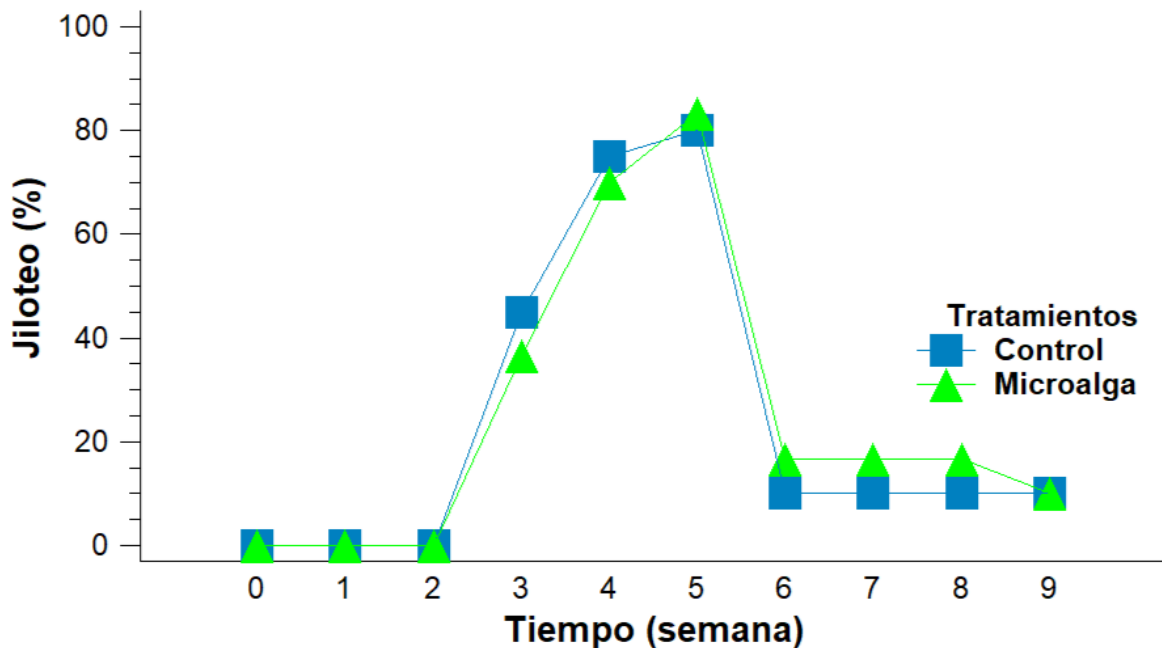


Figura 15. Porcentaje de plantas de maíz que presentaron jiloteo (R2) sin o con la aplicación de microalga.

Maduración de mazorca (R6)

Las etapas fenológicas del maíz se ven finalizadas al término de la maduración de la mazorca (R6) donde culmina el llenado del grano y se da paso a la cosecha. Pese a la inexistencia de diferencias significativas entre los porcentajes de maduración de estos grupos ($p>0.10$), se observó que a partir de la semana 6 que inició el registro de la maduración y hasta la semana 8, los valores porcentuales fueron iguales con un 70% de plantas con mazorcas maduras en ambos tratamientos, bifurcándose en la última semana con un porcentaje de maduración en el grupo con microalga superior (76.7%) al presentado por el control (70%) sugiriendo un efecto de incremento (**Figura 16**).

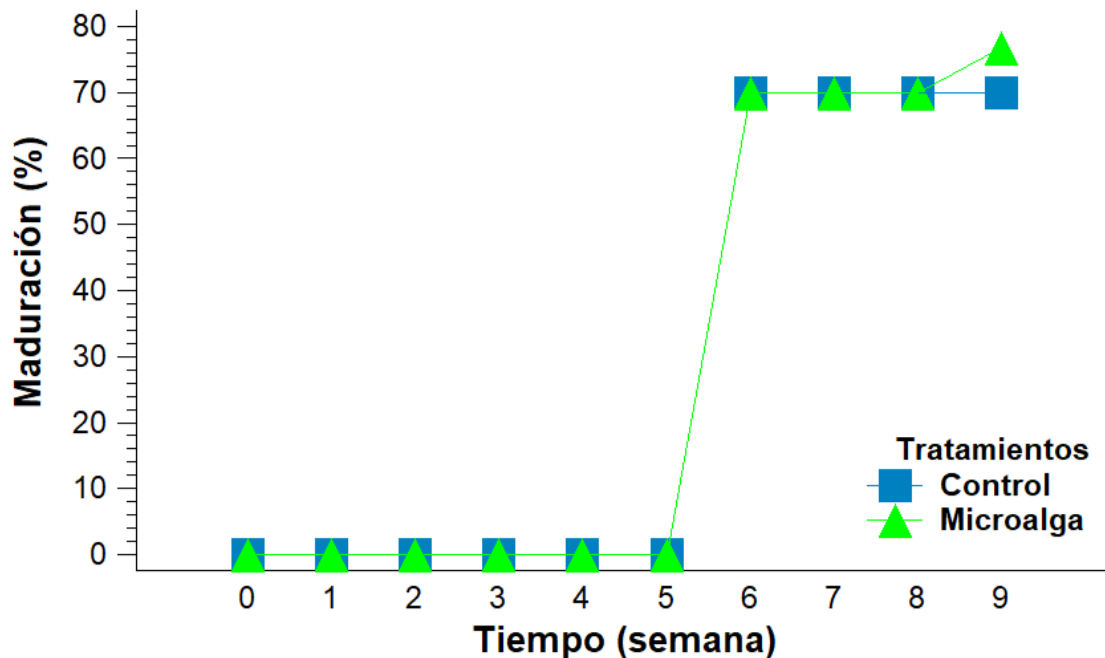


Figura 16. Porcentaje de maduración de mazorcas (R6) sin o con la aplicación de microalga.

3. MORFOMETRÍA

Altura de planta

La **Figura 17** muestra la distribución comparada de los datos registrados de altura de planta (m) de acuerdo con el tratamiento con microalga y control. Aunque los datos obtenidos no permitieron establecer relaciones estadísticas significativas, de manera descriptiva el tratamiento con microalga presentó una mediana (2.59 m) similar con la del grupo control (2.57 m); sin embargo, también se logró visualizar un patrón de distribución que tiende a mayor altura en las plantas tratadas con microalga en comparación con el control, tomando en cuenta el 50% central de la altura de las plantas, al aplicar la microalga se tienen valores entre 2.5 - 2.9 m, frente a los 2.4-2.7 m del control, con alturas máximas de 3.2 m y 3.1 respectivamente.

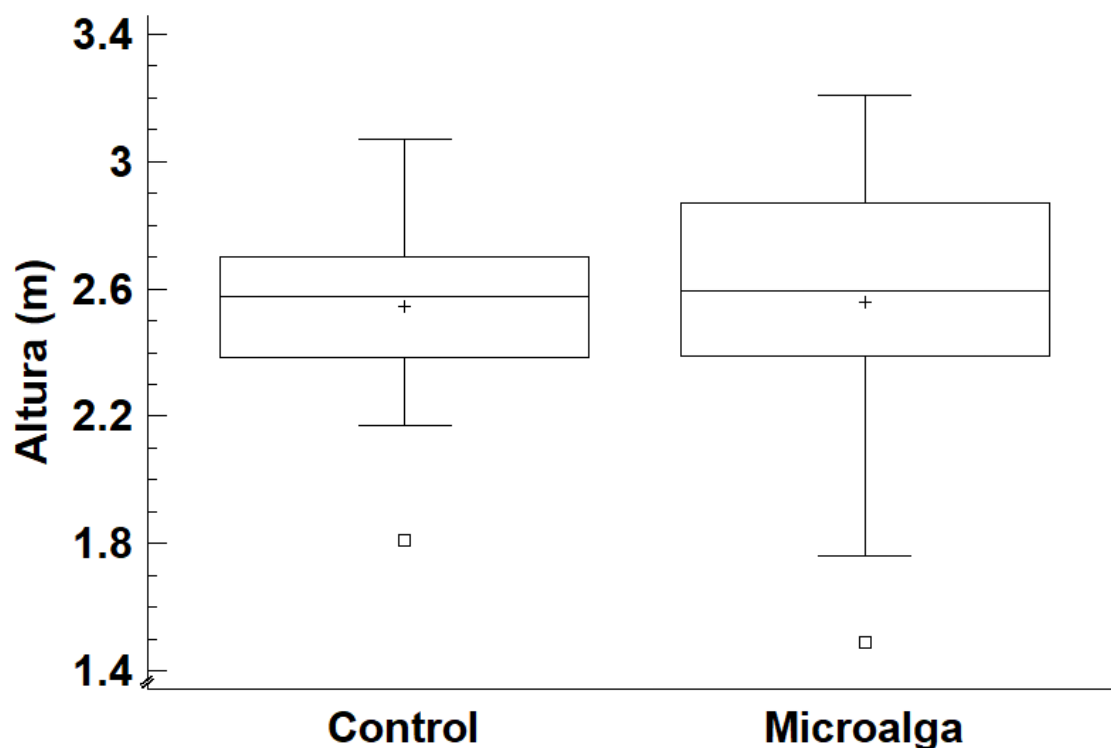


Figura 17. Altura de planta de maíz sin o con la adición de microalga.

Área foliar

En relación con la comparación del área foliar (**Figura 18**), se observó una tendencia de incremento en los valores de área en cm^2 en las plantas tratadas con microalga respecto al grupo control; de manera que el grupo con microalga presentó una media de 443.73 cm^2 en contraste con la media de 407.56 cm^2 del control. Asimismo, los valores mínimos fueron para el grupo control de 237.9 cm^2 y microalga de 288 cm^2 y máximos de 607.5 cm^2 y 793.5 cm^2 , respectivamente.

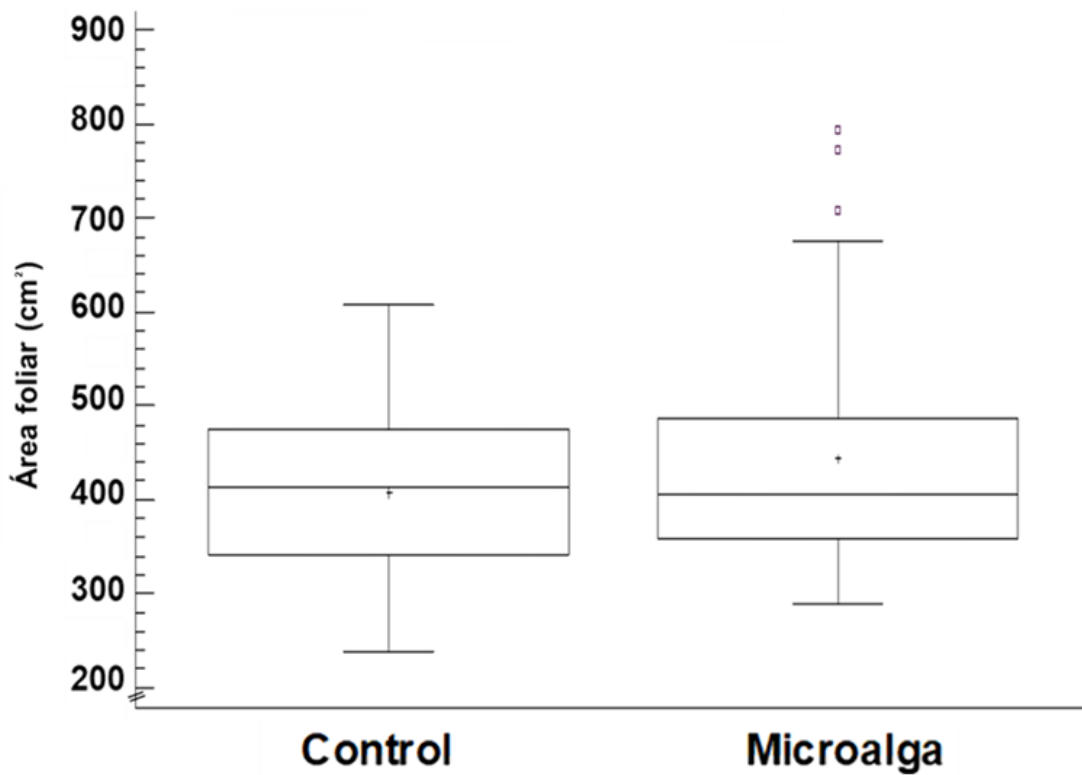


Figura 18. Área foliar de plantas de maíz sin o con la adición de microalga.

4. PRODUCTIVIDAD

Peso húmedo de planta

En la **Figura 19** se presenta el peso húmedo de planta y se observó que el grupo con microalga tiene valores más altos en comparación con el grupo control; de manera que, la media del grupo con microalga (15.44 t/ha) fue significativamente superior a la del grupo control (11.65 t/ha; $p < 0.10$). Esto también se observa al contrastar los valores mínimos de peso obtenidos en el grupo control (9.05 t/ha) con el grupo con microalga (11.8 t/ha), y los máximos de 14.1 t/ha y 18.75 t/ha, respectivamente.

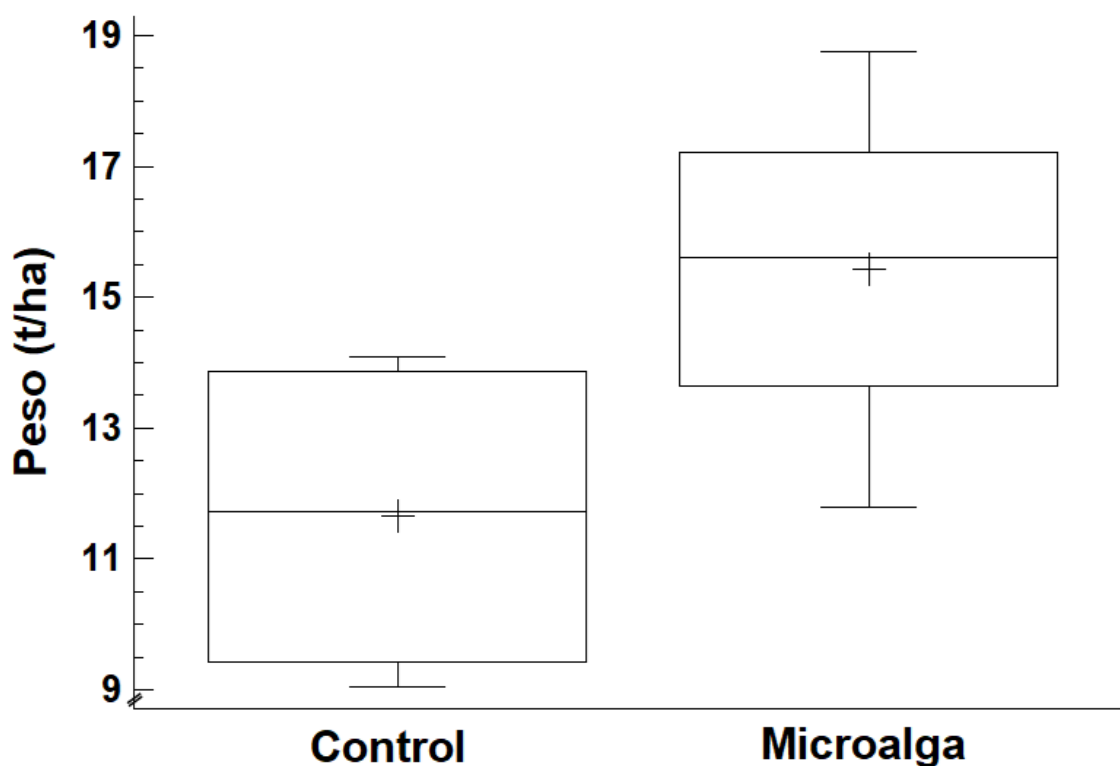


Figura 19. Peso húmedo de planta sin o con la adición de microalga.

Peso húmedo de mazorca

Por su parte, el peso húmedo de mazorca (**Figura 20**) indicó un rango de dispersión mayor en los datos del grupo microalga (IQR = 1.6 t/ha), así como un mayor promedio (6.87 t/ha) y mediana (15.6 t/ha) respecto al grupo control (promedio = 6.32 t/ha, mediana = 11.72 t/ha) sin diferencia significativa entre ellos ($p > 0.10$). Aunado a valores máximos mayores en el tratamiento con microalga (8.58 t/ha) en comparación con los obtenidos en el grupo control (8.14 t/ha).

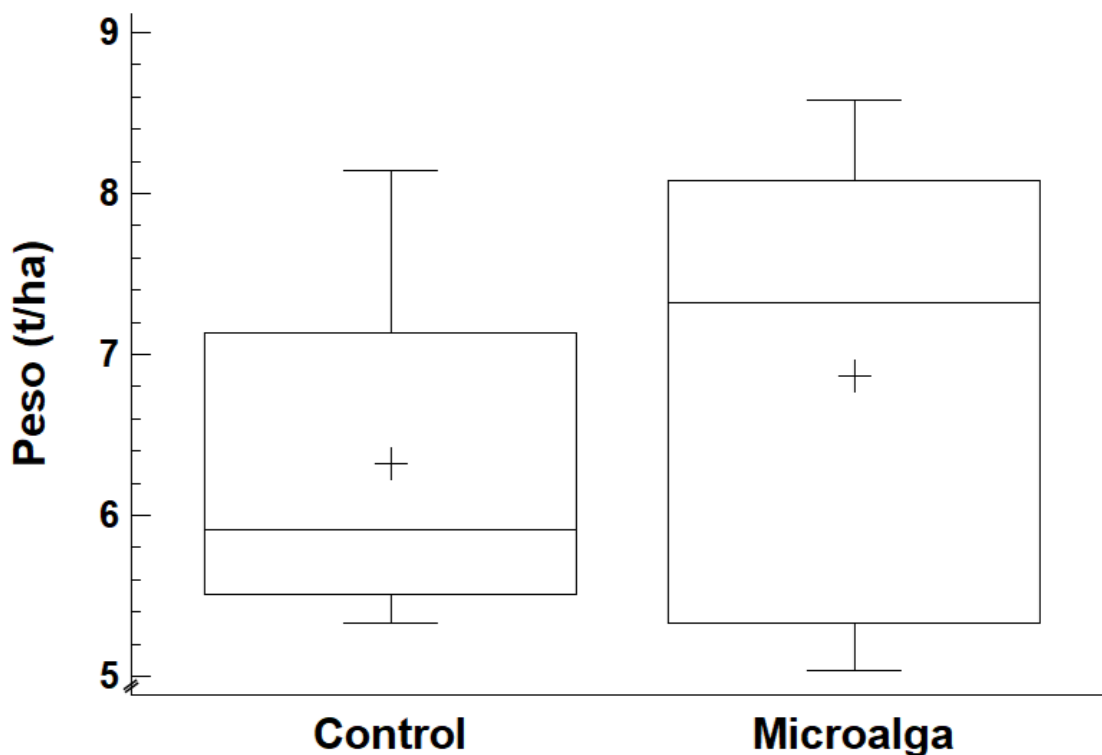


Figura 20. Peso húmedo de mazorca sin o con la adición de microalga.

Peso seco de mazorca

El patrón de aumento de peso de mazorca bajo aplicación de microalga también se observó en peso seco de mazorca (**Figura 21**), de manera que el grupo con microalga presentó una mediana de 2.37 t/ha y una media de 2.69 t/ha; mientras que, en el grupo control fue de 1.82 t/ha y 2.11 t/ha respectivamente. Pese a que estas diferencias no fueron significativas ($p>0.10$), también se visualizó una distribución que tiende a mayor peso seco de mazorca en las plantas tratadas con microalga en comparación con el control al considerar el rango de los datos de peso, ya que en el grupo con microalga se tienen pesos máximos de 3.52 t/ha y mínimos de 2.09 t/ha, frente a las 3.2 t/ha máximas y 1.59 t/ha mínimas del control.

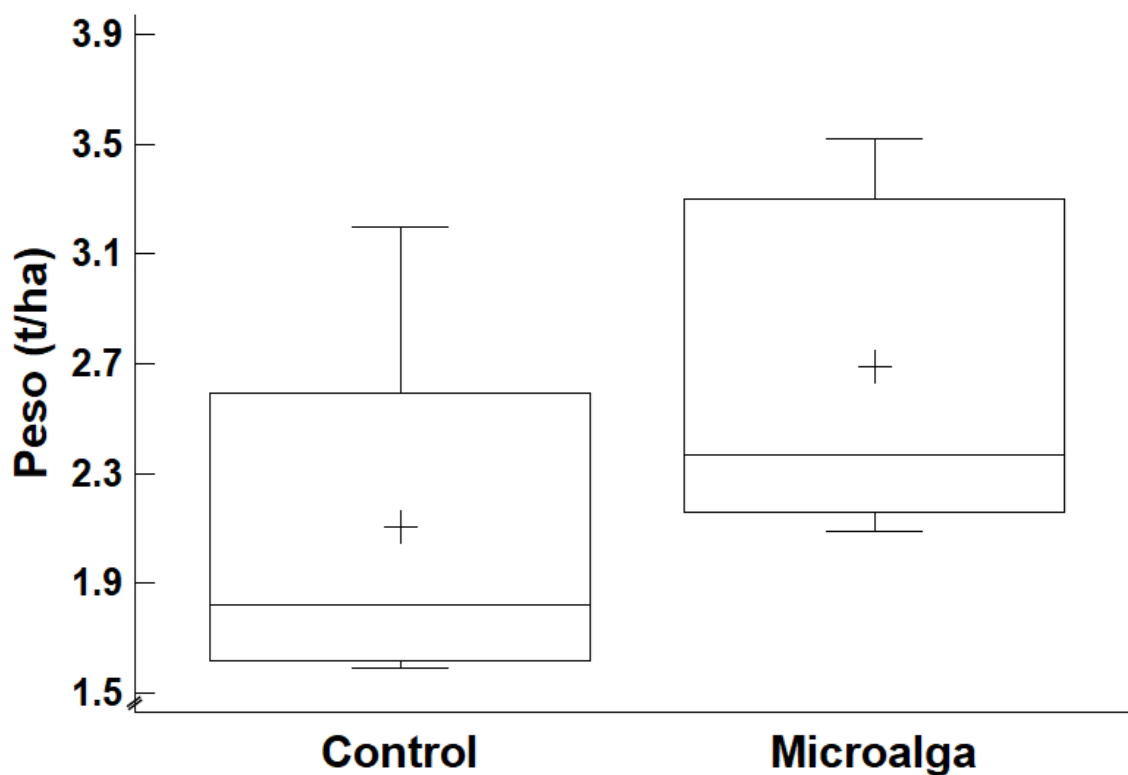


Figura 21. Peso seco de mazorca sin o con la adición de microalga.

Peso de 100 granos

En lo que concierne al peso de 100 granos (**Figura 22**), se observó un mayor promedio (20.21 g) y mediana (20.01 g) en el grupo con microalga comparado con el grupo control (promedio = 19.27 g, mediana = 18.54 g), así como una visible comparativa en los valores mínimos de peso de 100 granos de las plantas tratadas con microalga (17.104 g) respecto a las regadas con control (16.577 g) aunque esta no sea significativa ($p > 0.10$).

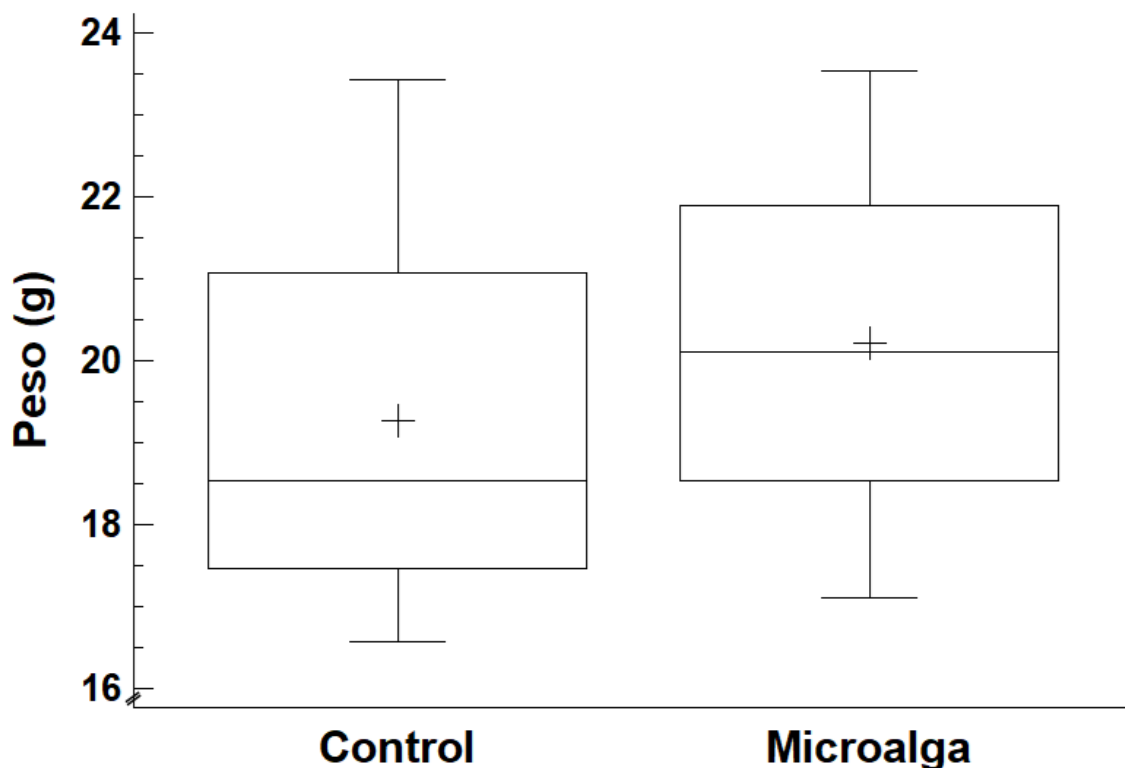


Figura 22. Peso de 100 granos sin o con la adición de microalga.

5. INTERVALOS DE CONFIANZA OBTENIDOS POR VARIABLE

Con base a los resultados obtenidos, se calcularon los intervalos de confianza de las variables morfométricas y de productividad (**Tabla 3**), para conocer los valores reales si se sigue aplicando la microalga bajo las condiciones experimentales del presente trabajo, estos intervalos se calcularon con un nivel de confianza de 90%.

Tabla 3. Intervalos de confianza* obtenidos para cada variable.

Parámetro	Control	Microalga
Área foliar (cm ²)	380.5 - 434.7	413.7 - 473.8
Peso planta (t/ha)	8.6 - 14.7	12.1 - 18.8
Peso húmedo mazorca (t/ha)	4.8 - 7.8	5.3 – 8.4
Peso seco mazorca (t/ha)	1.2 – 3.0	2.0 – 3.3
Peso de 100 granos (g)	15.8 – 22.7	17.1 – 23.3
Altura (m)	2.43 - 2.66	2.44 - 2.68

De forma general, se observa que la aplicación de la microalga al cultivo de maíz incrementa el área foliar, peso de la planta, peso húmedo y seco de la mazorca, así como el peso del grano; es de hacer notar que los valores mínimos de los intervalos son más altos cuando se les aplica el tratamiento con microalga frente a los valores inferiores del control con riego de agua.

Considerando los valores máximos en los intervalos, se puede observar que el riego con microalga puede aumentar 9.0 % el área foliar, 27.9% el peso de la planta, 7.7% el peso húmedo de la mazorca, 10.0% el peso seco de la mazorca, 2.6% el peso de los granos y 0.80% la altura de la planta.

VIII. DISCUSIÓN

GERMINACIÓN

Germinación en hortalizas: estudio exploratorio

De acuerdo con los resultados de germinación de diferentes hortalizas reflejados en la **Tabla 2**, se observó un patrón general de incremento en los porcentajes de germinación de casi todas las hortalizas -a excepción del betabel- bajo la aplicación de microalga, esto concuerda con el efecto bioestimulante posiblemente ligado a la actividad de metabolitos secundarios como exopolisacáridos fabricados por este microorganismo para mitigar estrés salino, reducir la producción de radicales superóxidos y disminuir la peroxidación lipídica, dichos efectos han sido reportados en la aplicación de extractos de *Dunaliella* spp. en revisiones como las realizadas por Gupta y Van Staden (2021), así como el estudio hecho por El Arrousi y colaboradores (2018), con ello se puede plantear que la capacidad de *D. salina* como bioestimulante no solo se limita en condiciones de estrés, sino que se expande a ser eficaz en la promoción de la germinación en condiciones ideales. Aunado a ello, también se pueden adjudicar estas mejoras gracias a su capacidad para acrecentar la disponibilidad de nutrientes en el sustrato, así como la retención de agua, aumentando el contenido de antioxidantes y mejorar el metabolismo celular de los germinados por sus cantidades importantes de giberelinas y brasinoesteroides (Ronga *et al.*, 2019).

En este sentido, al considerar particularmente los resultados en rábano y jitomate obtenidos bajo la aplicación de microalga, se denotó una congruencia con lo reportado dentro de la revisión de Parmar y colaboradores (2023), quienes retomando estudios realizados en estas especies tratadas con extractos de *D. salina* con métodos experimentales similares encontraron un efecto benéfico en la germinación y crecimiento vegetal que puede basarse en la mejora de la actividad enzimática de defensa como LOX, PAL y ROS que eliminan enzimas antioxidantes como CAT, POD y ascorbato peroxidasa (APX), así como una producción incrementada de ácidos grasos de cadena larga en las hojas emergentes,

impactando positivamente en la composición de la cera cuticular que engloba la activación de mecanismos de defensa ante posibles estímulos estresantes externos.

Este fenómeno bioestimulante podría añadir a *D. salina* a la lista de especies de uso agrícola para producción de hortalizas, especialmente en sistemas de cultivo que se encuentren en condiciones de estrés hídrico o salino, gracias a los procesos celulares que mejoran, así como por su liberación de compuestos señalizadores como poliaminas, putrescinas y espermidinas, y hormonas como citoquininas y auxinas al sustrato de cultivo, como ya ha sido evidenciado en la aplicación de formulaciones a base de microalgas pertenecientes a la misma familia en la producción de tomate y rábano en condiciones de estrés (Oancea *et al.*, 2013; Hajnal-Jafari *et al.*, 2020; Mutale-Joan *et al.*, 2021).

Por su parte, el visible efecto inhibitorio que reflejó la baja germinación de betabel puede deberse a que *Dunaliella salina* se cultiva en condiciones hipersalinas y su extracto podría haber aportado una alta concentración de sales incrementando la salinidad del sustrato, aunado a la alta sensibilidad salina de las semillas de betabel en esta fase, este efecto de toxicidad iónica pudo verse intensificado; también se puede deber a que esta microalga acumula cantidades importantes de glicerol como osmoprotector, por lo que las concentraciones aplicadas pudieron haber cambiado el potencial osmótico del sustrato o alterar la disponibilidad hídrica para la semilla, puesto que estos efectos negativos divergen de los hallazgos de Puglisi *et al.* (2020), quienes al someter semillas de betabel a la aplicación de extractos de microalgas como *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus quadricauda* en concentraciones mucho menores (1 mg/L y 2mg/L) obtuvieron resultados que mostraron un incremento en la eficiencia y regularidad del índice de germinación, por lo que se sugiere que el efecto inhibitorio está directamente relacionado con la especie *D. salina* o con la concentración empleada.

Germinación en maíz

En relación con la germinación de semilla de maíz (**Figura 11**), el tratamiento con microalga al 1% mostró los porcentajes más altos de germinación respecto al control y a las otras concentraciones aplicadas, reflejado en una media del 69.54% de germinación que puede relacionarse con la actividad de fitohormonas proveídas por la microalga en la aplicación al sustrato, coincidiendo con los efectos que otras especies de microalgas como *Spirulina platensis* y *Chlorella vulgaris* demuestran bajo tratamientos similares en semillas de maíz, arroz y trigo (Uysal *et al.*, 2015; Dineshkumar *et al.*, 2018; Dineshkumar *et al.*, 2019).

Asimismo, estos resultados se podrían explicar de acuerdo con lo reportado por El Arroussi y colaboradores (2015), quienes evidenciaron que los exopolisacáridos producidos y brindados del extracto de las microalgas en concentraciones similares tuvieron el mayor efecto estimulante sobre la germinación y el crecimiento de las plántulas de otra gramínea de importancia agrícola como lo es el trigo, pudiendo ser estos mismos compuestos los que promueven la emergencia de las plántulas del maíz cuando se somete a su riego en etapas germinativas donde la semilla presenta el mayor nivel de requerimiento nutricional y energético antes del desarrollo de láminas foliares. Sin embargo, también se asemeja a la tendencia de mejorar la germinación sin que esta sea estadísticamente significativa cuando se aplica la microalga *Chlorella sorokiniana* al 5% con técnicas distintas, pero en la misma especie de maíz.

Por otra parte, se apreció una disminución en el porcentaje de germinación del maíz cuando la concentración del tratamiento con microalga se aumentó a 1.5%, lo cual no es congruente con lo reportado por otros autores en revisiones como la realizada por Dineshkumar *et al.* (2019) bajo la aplicación de otras especies de microalgas pertenecientes al mismo grupo taxonómico que mejoran la germinación con concentraciones que superan el 1%, por lo que esto podría indicar una diferencia en los mecanismos de acción bioquímica que lleva a cabo *Dunaliella salina* en la germinación de la semilla del maíz.

FISIOLOGÍA

Cuantificación de clorofila

Al tener en cuenta que existe una fuerte correlación entre el contenido total de nitrógeno y clorofila de las hojas, la cual afecta directa e indirectamente la fotosíntesis y como resultado el rendimiento fisiológico de la planta, se puede resaltar que el contenido de clorofila de las hojas ante la aplicación de microalga contra el control con agua presentó una diferencia directa entre los valores SPAD reflejados a través del tiempo en las hojas basales ubicadas en la porción inferior del tallo y en mayor medida en las hojas punta en el ápice de la planta, pudiendo significar una obstaculización para aprovechar este nutriente de manera eficiente, debido a que parece existir un efecto contraproducente en el índice SPAD en las hojas punta donde los índices de verdor fueron significativamente menores (**Figuras 12 y 13**), posiblemente gracias a un efecto de lavado del tratamiento por las constantes lluvias y el nivel alto de precipitación experimentado durante la ejecución de la etapa de cultivo contemplada en este trabajo que provocó un estancamiento del tratamiento en el sustrato y baja viabilidad de absorción por las hojas apicales.

Por otra parte, en las hojas basales el efecto de la aplicación de microalga para promover la concentración de clorofila denota fluctuaciones a lo largo del tiempo, siendo mayormente efectiva en las primeras etapas del desarrollo vegetativo-foliar (V3-V4), que es particularmente cuando la planta presenta los mayores requerimientos nutrimentales de nitrógeno (García, 2005); por lo que, se puede inferir que el efecto bioestimulante de *Dunaliella salina* actúa principalmente en etapas jóvenes de la planta para garantizar la movilización del nitrógeno a las hojas para su participación en la síntesis de clorofila, en una forma parecida al mecanismo descrito por Yussef *et al.* (2022), en plantas de chíca bajo tratamientos con extractos lipídicos de microalgas incrementando su eficiencia bioquímica, o lo reportado por Ördög *et al.* (2021), para otros microorganismos como la cianobacteria *Nostoc piscinale* aplicada a cultivos de maíz en campo, pudiendo existir una interacción positiva ante la adición de la microalga y la microbiota edáfica del sustrato enriquecido del cultivo en sistema de milpa.

De acuerdo con lo enmarcado por Borowitzka (1990), *D. salina* posee un cloroplasto que acumula grandes cantidades de carotenos, en una mezcla de los isómeros cis y trans de β -caroteno. En esta alga, se ha observado que esta molécula funge como fotoprotector de la acción de la clorofila y el ADN celular en condiciones de estrés ambiental (salinidad, principalmente), también actúa como retenedor para almacenar el exceso de carbono producido durante la fotosíntesis en condiciones en las que el crecimiento es limitado, pero la fijación fotosintética del carbono debe continuar. De esta manera se puede explicar la relación del tratamiento aplicado con el aumento de la acción fotosintética de la clorofila cuantificada por hoja basal en las primeras etapas de crecimiento foliar. Esto puede apuntar a que *D. salina* evita la pérdida de clorofila por oxidación lumínica al tiempo en que al ser aplicada en una planta con metabolismo fotosintético tipo C4, caracterizado por la eficiencia a base de la restricción de la fotorrespiración, ambas características inherentes a estos organismos compaginan de una manera aprovechable; Es así que el maíz, captura y fija el carbono en forma de CO₂ por medio de células mesofílicas a la par en que se da el almacenamiento de carbono por parte de los β -carotenos de *D. salina* cuando esta es aplicada de manera foliar.

Es así como se plantea que la aplicación de extractos de microalgas como *Dunaliella salina*, puede proporcionar protección contra el estrés abiótico en las plantas, como lo es el estrés oxidativo que caracteriza la pérdida de clorofila. Hashem *et al.* (2019), enmarca que además el uso de estos organismos con fines agrícolas permite el aumento de los pigmentos fotosintéticos como la clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila *a+b* y carotenoides, tal es el caso de lo que se plantea con *D. salina*, tanto en condiciones normales como en condiciones de estrés.

En adición, el método de siembra en milpa puede complementarse y amplificarse con la bioestimulación dada por el tratamiento con microalga desde la capacidad fisiológica hasta el impacto en el sustrato de cultivo, debido a que las especies involucradas: frijol, calabaza y maíz, interactúan sinérgicamente modificando el microclima, reteniendo la humedad relativa en el suelo, estabilizando la temperatura del suelo y mejorando la disponibilidad de los nutrientes, principalmente el nitrógeno,

fundamental para la síntesis y concentración foliar de clorofila (Mares-Guerrero *et al.*, 2024).

Etapa reproductivas

Respecto a las etapas reproductivas y el efecto de la microalga en la progresión de estas, pocos son los estudios que se han centrado en el análisis del efecto bioestimulante que microorganismos como *D. salina* pueden tener al funcionar como aceleradores o mejoradores de la progresión de etapas reproductivas.

A este respecto, pese a que la proporción de plantas que mostraron emergencia de las inflorescencias masculinas (espigación) no se vio afectada por la aplicación de la microalga (**Figura 14**), se logró apreciar un aumento en la proporción de plantas que completan el desarrollo de estigmas receptivos y posteriormente el llenado de granos de la mazorcas para concluir la maduración del cultivo cuando la planta es sometida al tratamiento con microalga (**Figura 15 y 16**), lo que podría estar relacionado con la acción de hormonas vegetales como auxinas, citoquininas y giberelinas brindadas por la microalga que ayudan a estimular el crecimiento, la floración y el desarrollo reproductivo (Miranda *et al.*, 2024), a la par con la acumulación de nutrientes importantes como P, K y N en los tejidos vegetales, ya sea por el aporte directo o la mejora en la disponibilidad de nutrientes. Lo anterior se ha evidenciado por El Arrousi *et al.* (2018), que describe a esta microalga con contenidos ricos en estos nutrientes, así como β -carotenos y antioxidantes que pueden ser absorbidos por las raíces o foliarmente, protegiendo a la planta del estrés oxidativo.

Aunado a lo anterior, en la etapa R1 la planta de maíz es más sensible a condiciones de estrés, afectando directamente en el llenado y el número de granos por mazorca que presentan al finalizar la madurez (Parera, 2017), siendo esta vulnerabilidad posiblemente subsanada por acción de las capacidades protectoras de la microalga ya descritas, así como el mecanismo de modificación del microclima e incremento de disponibilidad de nutrientes que reconfigura un cultivo en sistema de milpa.

MORFOMETRÍA

En lo que respecta a las características morfométricas como altura de la planta y área foliar se establece una relación similar a la dada en la cuantificación de clorofila, gracias a los posibles efectos bioestimulantes por aportación y disponibilidad de nutrientes necesarios (P, K y N) aunado a la actividad de exopolisacáridos sintetizados por parte del tratamiento foliar de *D. salina* para el crecimiento de la planta en valores superiores a las medias presentadas por el control (Elarroussi *et al.*, 2016), denotando que, a pesar de no poder concretar inferencias estadísticas significativas, se refleja un patrón de aumento en estas variables al aplicar la microalga en una concentración al 1% (**Figura 17 y 18**), siendo estos resultados comparables a los obtenidos por Garcia-Gonzalez y colaboradores (2016) al aplicar otra especie de microalga en la planta de tomate, concordando con la premisa de que la aplicación foliar facilita el ingreso y utilización de nutrientes de manera más rápida y permiten una neutralización de las deficiencias de nutrientes bajo estrés o en condiciones ideales de crecimiento.

En términos generales al uso de *D. salina* en la bioestimulación del crecimiento morfológico de la planta del maíz, los resultados descritos apuntan a un mayor crecimiento del tallo y un aumento en el área foliar, siendo esto aprovechable para la producción de follaje con propósitos de forrajeo para alimento de ganado. Sin embargo, para que su implementación agrícola obtenga una mayor aceptación en la producción de cultivos, se deben realizar más estudios ya que hay una gran cantidad de factores bioquímicos y moleculares determinados por la temperatura, humedad, intensidad de la luz, concentración de nutrientes, interacción con la microbiota edáfica, entre otros que pueden desempeñar un papel en su eficiencia a largo plazo como alternativa a los agroquímicos.

PRODUCTIVIDAD

El incremento en el peso húmedo de las plantas y mazorcas de maíz tratadas con *D. salina* (**Figura 19 y 20**) podría atribuirse a un efecto sinérgico de sus compuestos bioactivos sobre los procesos fisiológicos y bioquímicos de la planta en desarrollo a la par con el efecto brindado por la coexistencia con frijol y calabaza bajo su cultivo en sistema de milpa.

En primer lugar, la presencia de fitohormonas se relacionaría a la estimulación del crecimiento vegetativo, evidenciado en la mayor elongación de tallos y expansión foliar observada en el grupo bajo tratamiento; así como en la acumulación de nutrientes para el llenado de los granos en las etapas fenológicas correspondientes. Estos resultados son comparables con los reportados en plantas de tomate por Garcia-Gonzales *et al.* (2016), donde extractos de microalgas aumentaron la biomasa fresca de los tallos y el fruto cosechado, mediante la activación de divisiones celulares en los meristemas de la planta, pudiendo ser un fenómeno similar el promovido por *D. salina*. Adicionalmente, la alta concentración de β -carotenos y osmolitos como glicerol en *D. salina* (Borowitzka, 1990), podría haber mejorado la eficiencia fotoquímica del PSII (como también sugirieron los datos de índice de verdor en hojas basales) reduciendo el estrés oxidativo y prolongando la actividad fotosintética, favoreciendo la acumulación de carbohidratos solubles y agua en tejidos vegetales y reproductivos como la mazorca, reflejándose en el mayor peso fresco registrado para la planta y la mazorca. Un mecanismo similar fue documentado por Ronga *et al.* (2019), en trigo bajo estrés hídrico.

Por otro lado, la interacción entre los exopolisacáridos de *Dunaliella* y la microbiota rizosférica enriquecida por el sistema de cultivo en milpa utilizado en este trabajo pudo optimizar la absorción de N y P (Ebel *et al.*, 2017). Esta mejora nutricional es consistente con trabajos previos en arroz (El-Katony *et al.*, 2021) donde extractos algales incrementaron la actividad de la enzima sacarosa sintasa, clave en el aumento de la masa radicular, el tamaño y peso de los granos, asociado a un mejor

rendimiento de grano y contenidos de proteína, azúcares solubles y almidón por acumulación.

Este efecto de acumulación de peso se mantiene aun después del secado de la mazorca, ya que al contrastar los resultados del peso seco de mazorca y de 100 granos (**Figura 21 y 22**), independientemente del tamaño o cantidad de mazorcas que presenten las plantas, se refleja un aumento de peso cuando se aplica el tratamiento con microalga al 1%, por lo que se puede considerar que el mecanismo de absorción, acumulación y capacidad intrínseca del maíz para redistribuir estos

nutrientes asimilados es estimulada por la aplicación foliar de *D. salina* aun ante la pérdida de agua.

Respecto al rendimiento total del cultivo, el trabajo en milpa se realizó en un área y tiempos de cultivo a la par con sistemas de monocultivo de maíz, y se observó una diferencia estadísticamente significativa en el rendimiento de la milpa sometida al tratamiento con microalga (2.69 t/ha) frente a la productividad de maíz en sistema de monocultivo (1.73 t/ha) ($p < 0.10$).

INTERVALOS DE CONFIANZA OBTENIDOS POR VARIABLE

En un panorama general del análisis de todas las variables consideradas en este trabajo, se obtuvieron intervalos de confianza que respaldan el comportamiento bioestimulante de la aplicación de *D. salina* en maíz bajo sistema de milpa (**Tabla 3**), destacando la promoción de la división celular y mayor eficiencia fotosintética auspiciada por fitohormonas, carotenoides, exopolisacáridos y osmolitos, demostrado en el intervalo superior del área foliar bajo tratamiento con microalga (473.8 cm²) frente al control (434.7 cm²), así como en el peso de la planta donde el grupo con microalga proyecta rendimientos de hasta 18.8 t/ha que superan al control, el cual puede llegar hasta las 14.7 t/ha, confirmando un incremento en la biomasa total que puede ser fuertemente aprovechable en la producción de alimento para ganado.

En el caso del peso húmedo de la mazorca, a pesar de que los intervalos se solapan, en el límite inferior del tratamiento con microalga este es más alto, indicando una posible mejora en condiciones limitantes como deficiencia nutrimental o estrés hídrico. En correspondencia, el intervalo del peso seco de la mazorca con microalga mostró un mínimo más alto que el control, sugiriendo una mayor acumulación de materia seca que podría deberse a una mayor traslocación de fotoasimilados hacia los granos y optimización de nutrientes (P y K, principalmente), incluso manteniéndose este fenómeno en el peso de 100 granos que presentó un rango más estrecho y elevado, reforzando su papel en el llenado uniforme de los granos de maíz hacia su madurez (R6).

Finalmente, en la altura de la planta este efecto no es claro ya que los intervalos de confianza son similares, indicando que *D. salina* no afecta significativamente este parámetro, por lo que esto plantearía que su acción se centra en procesos metabólicos más que en procesos morfológicos.

IX. CONCLUSIONES

Esta tesis logró evaluar el efecto de la adición foliar de *Dunaliella salina* a un cultivo de maíz en sistema de milpa a partir de parámetros de germinación (porcentaje de germinación), morfométricos (altura de la planta y área foliar), fisiológicos (índice de verdor y progreso en etapas reproductivas) y de productividad agrícola (peso húmedo de planta, peso húmedo y seco de mazorca, y peso de 100 granos) para identificar y definir su alcance como bioestimulante y alternativa ambientalmente ecológica en la producción de granos de importancia económica.

La aplicación al 0.1% de *D. salina* incremento el porcentaje de germinación de diversas hortalizas de interés agrícola (rábano, jitomate, espinaca y acelga) en condiciones de laboratorio; sin embargo, en especies como el betabel que presentan una alta sensibilidad a cambios en la salinidad del sustrato en las primeras etapas de emergencia radicular, se ve disminuido notoriamente el porcentaje de germinación al aplicar la microalga.

La aplicación de 1% de *D. salina* aumentó el porcentaje de germinación de semillas de maíz en condiciones de laboratorio; mientras que, su aplicación en el sistema de milpa mejoró la actividad fisiológica y reproductiva al incrementar el índice SPAD de las hojas basales en las etapas tempranas del desarrollo de la planta y la aparición de estructuras reproductivas masculinas, así como la maduración de la mazorca. Con lo que respecta a las características morfométricas se observó un aumento en el área foliar no evidenciándose este comportamiento en la altura de la planta.

En relación con los parámetros agrícolas de rendimiento y productividad, la aplicación de la microalga aumentó el peso húmedo y seco de la planta, así como peso de la mazorca y los granos que la componen.

En síntesis, este estudio demuestra que *Dunaliella salina* actúa como un bioestimulante multifuncional a partir de la mejora del rendimiento del maíz criollo cuando se cultiva en sistema tradicional de milpa, mediante mecanismos compaginados que incluyen la optimización fotosintética, acumulación de materia seca, protección ante factores estresantes y eficiencia nutricional. Si bien su impacto

varía según parámetros agrícolas, su potencial como alternativa al uso de fertilizantes químicos queda respaldado.

Se sugiere realizar investigaciones bromatológicas y genéticas a los granos bajo este mismo tratamiento para evaluar los porcentajes específicos de cada nutriente que determina su calidad proximal, así como la identificación en la expresión de genes puntuales relacionados con el transporte de sacarosa y la actividad de enzimas para confirmar este mecanismo de forma puntual.

Futuras investigaciones deberán profundizar en su interacción con microbiomas del suelo, complementación con otras especies de microalga, analizar perfiles moleculares en la expresión de genes y actividad enzimática, establecer formulaciones estandarizadas para su uso comercial, validar estos resultados en condiciones de estrés abiótico y evaluar la rentabilidad económica a escala en campo contra la aplicación de fertilizantes químicos o bajo otros sistemas de producción de granos.

X. REFERENCIAS

- Alam, A., Xu, J.-L., & Wang, Z. (2020). *Microalgae Biotechnology for Food, Health and High Value Products*. Singapore: Springer Singapore. doi:<https://doi.org/10.1007/978-981-15-0169-2>
- Alexandratos, N., & Bruinsma, J. (2012). *World agriculture towards 2030/2050: the 2012 revision*. Rome: FAO.
- Alvarez, A., Weyers, S., Goemann, H., Peyton, B., & Robert, G. (2021). Microalgae, soil and plants: A critical review of microalgae as renewable resources for agriculture. *Algal Research*, 102200. doi:10.1016/j.algal.2021.102200
- Anastacio-Angel, G., González-Fuentes, J. A., Zermeño-González, A., Robledo-Olivo, A., Lara-Reimers, E. A., & Peña-Ramos, F. M. (2024). Efecto de Bioestimulantes en Crecimiento, Fisiología y Calidad Bioquímica de Frambuesa (*Rubus idaeus* L.) Sometida a Estrés Hídrico. *Terra Latinoamericana*, 42, e1772. doi:10.28940/terra.v42i0.1772
- Ávila, J. A., Ávila, J. M., Martínez, D., & Rivas, F. J. (2014). *El cultivo de maíz: Generalidades y sistemas de producción en el noroeste*. Sonora: Departamento de Agricultura y Ganadería.
- Barbosa, M., Garcia Inácio, L., Afonso, C., & Maranhão, P. (2023). The microalga *Dunaliella* and its applications: a review. *Applied Phycology*, 1, 99-120. doi:10.1080/26388081.2023.2222318
- Baweja, P., Kumar, S., & Kumar, G. (2019). Organic Fertilizer from Algae: A Novel Approach Towards Sustainable Agriculture. En B. Giri, R. W. Prasad, & A. Varma, *Biofertilizers for Sustainable Agriculture and Environment* (Vol. 55, págs. 353-370). Cham: Springer. doi:10.1007/978-3-030-18933-4_16
- Borowitzka, M. A. (1990). The mass culture of *Dunaliella Salina*. En M. University, *TECHNICAL RESOURCE PAPERS REGIONAL WORKSHOP ON THE CULTURE AND UTILIZATION OF SEAWEEDES* (Vol. 2). Australia: School of Biological and Environmental Sciences.

- Buenrostro, M. (2009). Las bondades de la milpa. *Ciencias*, 92(092), 30-32.
Obtenido de <https://www.revistas.unam.mx/index.php/cns/article/view/14826>
- Castillo, Á. R., & Ligarreto, G. A. (2010). Relación entre nitrógeno foliar y el contenido de clorofila, en maíz asociado con pastos en el Piedemonte Llanero colombiano. *Ciencia Y Tecnología Agropecuaria*, 11(2), 122-128. doi:10.21930/rcta.vol11_num2_art:202
- Çelebi, H., Tolga, B., İsmail, Ş., & Şevket, T. (2021). Use of Dunaliella salina in Environmental Applications. *Proceedings*, 68, 15-31. doi:10.3390/BDEE2021-09411
- Colla, G., & Rouphael, Y. (2020). Microalgae: New Source of Plant Biostimulants. *Agronomy*, 10(9), 1240. doi:10.3390/agronomy10091240
- Daniel, A. I., Fadaka, A. O., Gokul, A., Bakare, O. O., Aina, O., Fisher, S., . . . Mavumengwana, V. (2022). Biofertilizer: The Future of Food Security and Food Safety. *Microorganisms*, 10(6), 1220. doi:10.3390/microorganisms10061220
- Días-López, E., Morales-Rosales, E. J., Franco-Mora, O., & Domínguez-López, A. (2011). Atenuación de luz, radiación interceptada y rendimiento de maíz en función del fósforo. *Terra Latinoamericana*, 29(1), 65-72.
- Dineshkumar, R., Kumaravel, R., Gopalsamy, J., Azim Sikder, N. A., & Sampathkumar, P. (2018). Microalgae as Bio-fertilizers for Rice Growth and Seed Yield Productivity. *Waste and Biomass Valorization*, 9, 793-800. doi:10.1007/s12649-017-9873-5
- Dineshkumar, R., Subramanian, J., Gopalsamy, J., Jayasingam, P., Arumugam, A., Kannadasan, S., & Sampathkumar, P. (2019). The Impact of Using Microalgae as Biofertilizer in Maize (*Zea mays* L.). *Waste and Biomass Valorization*, 10, 1101-1110. doi:10.1007/s12649-017-0123-7

- Du Jardin, P. (2015). Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae*, 196, 3-14. doi:10.1016/j.scienta.2015.09.021
- Ebel, R., Pozas Cárdenas, J. G., Soria Miranda, F., & Cruz González, J. (2017). Manejo orgánico de la milpa: rendimiento de maíz, frijol y calabaza en monocultivo y policultivo. *Terra Latinoamericana*, 35(2), 149-160.
- El Arroussi, H., Benhima, R., Elbaouchi, A., Sijilmassi, N., El Mernissi, A., Aafsar, A., . . . Smouni, A. (2018). Dunaliella salina exopolysaccharides: a promising biostimulant for salt stress tolerance in tomato (*Solanum lycopersicum*). *Journal of Applied Phycology*, 30, 2929-2941. doi:10.1007/s10811-017-1382-1
- El Arroussi, H., Elbaouchi, A., Benhima, R., Bendaou, N., Smouni, A., & Wahby, I. (2015). Halophilic microalgae *Dunaliella salina* extracts improve seed germination and seedling growth of *Triticum aestivum* L. under salt stress. *Acta Horticulturae*, 1148, 13-26. doi:10.17660/ActaHortic.2016.1148.2
- El-Adl, M. F., Deyab, M. A., Ghazal, M. A., & Elsadany, A. Y. (2022). Impact of the microalga *Dunaliella salina* (Dunal) Teodoresco culture and its β -carotene extract on the development of salt-stressed squash (*Cucurbita pepo* L. cv. Mabrouka). *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 28, 749-762. doi:10.1007/s12298-022-01176-6
- Elarraoussi, H., Elmernissi, N., Benhima, R., El Kadmiri, I. M., Bendaou, N., Smouni, A., & Wahby, I. (2016). Microalgae polysaccharides a promising plant growth biostimulant. *Journey of Algal Biomass Utilization*, 7(4), 55-63.
- El-Katony, T. M., Ward, F. M., Deyab, M. A., & El-Adl, M. F. (2021). Algal amendment improved yield and grain quality of rice with alleviation of the impacts of salt stress and water stress. *Heliyon*, 7(9). doi:10.1016/j.heliyon.2021.e07911
- El-Moursy, R. S., Abido, W. A., & Bawadi, M. A. (2019). Response of maize productivity to nitrogen fertilizer and spraying with blue green algae extract. *International Journal of Agronomy and Agricultural Research*, 14(2), 10-20.

- Endicott, S., Brueland, B., Keith, R., Schon, R., Bremer, C., Farnham, D., . . . Carter, P. (2020). *Maíz Crecimiento y desarrollo*. (Pioneer, Ed.) USA: Corteva Agriscience.
- FAO. (1993). *El maíz en la nutrición humana* (Vol. 25). Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.
- FAO. (2001). *EL MAÍZ EN LOS TRÓPICOS: Mejoramiento y producción*. Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.
- García, F. O. (2005). Criterios para el manejo de la fertilización del cultivo de maíz. *Jornada "Maíz 2005"* (págs. 1-19). Córdoba: Capacitación Agropecuaria.
- Garcia-Gonzalez, J., & Sommerfeld, M. (2016). Biofertilizer and biostimulant properties of the microalga *Acutodesmus dimorphus*. *Journal of Applied Phycology*, 28, 1051-1061. doi:10.1007/s10811-015-0625-2
- Gobierno de México. (23 de octubre de 2019). *Productos artesanales de maíz*. Obtenido de Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural: <https://www.gob.mx/agricultura/cdmx/articulos/productos-artesanales-de-maiz?idiom=es>
- Gobierno de México. (10 de marzo de 2023). *Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural*. Obtenido de Maíz, cultivo de México: <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/maiz-cultivo-de-mexico>
- Golik, S., Schierenbeck, M., Dietz, J. I., & Fleitas, M. C. (2018). Maíz: Crecimiento y desarrollo del cultivo de maíz. En M. R. Simón, & S. I. Golik, *Cereales de verano* (págs. 26-40). Buenos Aires: Universidad Nacional de La Plata.
- Guacho, A., & Edison, F. (2014). *Caracterización agro-morfológica del maíz (Zea mays L.) de la localidad San José de Chazo (Tesis)*. Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Guo, S., Wang, P., Wang, X., Zou, M., Chunxue, L., J., & Hao, J. (2020). Microalgae as Biofertilizer in Modern Agriculture. En M. Alam, J. Xu, & Z. Wang,

- Microalgae Biotechnology for Food, Health and High Value Products* (págs. 397-411). Singapore: Springer. doi:10.1007/978-981-15-0169-2_12
- Gupta, S., & Van Staden, J. (2021). *Biostimulants for Crops from Seed Germination to Plant Development: A Practical Approach*. United Kingdom: Academic Press.
- Hajnal-Jafari, T., Seman, V., Stamenov, D., & Đurić, S. (2020). Effect of *Chlorella vulgaris* on Growth and Photosynthetic Pigment Content. *Polish Journal of Microbiology*, 69(2), 235-238. doi:10.33073/pjm-2020-023
- Halpern, M., Bar-Tal, A., Ofek, M., Minz, D., Muller, T., & Yermiyahu, U. (2015). Chapter Two - The Use of Biostimulants for Enhancing Nutrient Uptake. *Advances in Agronomy*, 130, 141-174. doi:10.1016/bs.agron.2014.10.001
- Hashem, H. A., Mansour, H. A., El-Khawas, S. A., & A, H. R. (2019). The Potentiality of Marine Macro-Algae as Bio-Fertilizers to Improve the Productivity and Salt Stress Tolerance of Canola (*Brassica napus* L.) Plants. *Agronomy*, 9(3), 146. doi:10.3390/agronomy9030146
- Heakal, F. E.-T., Hefny, M. M., & El-Tawab, A. M. (2010). Electrochemical behavior of 304L stainless steel in high saline and sulphate solutions containing alga *Dunaliella Salina* and β -carotene. *Journal of Alloys and Compounds*, 491(1-2), 636-642. doi:10.1016/j.jallcom.2009.11.028
- Hernández, & Serratos, J. A. (2009). *El origen y la diversidad del maíz en el continente americano*. (U. A. México, Ed.) Ciudad de México: Greenpeace México.
- Hosseini Tafreshi, A., & Shariati, M. (2009). *Dunaliella* biotechnology: methods and applications. *Journal of Applied Microbiology*, 107(1), 14-35. doi:10.1111/j.1365-2672.2009.04153.x
- INEGI. (2010). *Compendio de información geográfica municipal Toluca, México*. Toluca: Instituto Nacional de Estadística y Geografía.

- INEGI. (31 de mayo de 2023). *Comunicado de prensa Núm. 312/23*. Obtenido de Resultados oportunidades del Censo Agropecuario 2022: https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2023/CA_ResOpt/CA_ResOpt2022.pdf
- INEGI. (7 de enero de 2025). *Dirección General de Geografía y Medio Ambiente*. Obtenido de Catálogo Único de Claves de Áreas Geoestadísticas Estatales, Municipales y Localidades: <https://www.inegi.org.mx/app/ageem/>
- Jácome, A., & Montes, L. (2014). El conocimiento agrícola tradicional, la milpa y la alimentación: el caso del Valle de. *Revista de Geografía Agrícola*(52-53), 21-42.
- Kapoores, 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. doi:10.1016/j.biotechadv.2021.107754
- Leyva-Trinidad, D. A., Pérez-Vázquez, A., Bezerra da Costa, I., & Formighieri Giordani, R. C. (2020). El papel de la milpa en la seguridad alimentaria y nutricional en hogares de Ocotlán Texizapan, Veracruz, México. *Polibotánica*(50), 279-299.
- Mares-Guerrero, A. A., Cach-Pérez, M. J., Reyes-García, C., & Wal, H. v. (2024). Respuesta fisiológica del maíz en monocultivo y milpa en suelos superficiales y profundos de Yucatán, México. *Botanical Sciences*, 102(1), 144-161. doi:10.17129/botsci.3365
- Martínez-Reyes, L., Aguilar Jiménez, C. E., Carcaño Montiel, M. G., Galdámez Galdámez, J., Gutiérrez Martínez, A., Morales Cabrera, J. A., . . . Gómez Padilla, E. (2018). Biofertilización y fertilización química en maíz (*Zea mays* L.) en Villaflores, Chiapas, México. *Siembra*, 5(1), 26-37. doi:10.29166/siembra.v5i1.1425
- Martínez-Tapia, D. (2024). *Componentes de rendimiento en híbridos de maíz (Zea mays L.) recomendados para el estado de Morelos sometidos a alta densidad*

poblacional. Tesis, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Morelos. Obtenido de <http://riaa.uaem.mx/handle/20.500.12055/4765>

Mendoza-Pérez, C., Ramírez-Ayala, C., Ojeda-Bustamante, W., Flores-Velásquez, J., Flores-Magdaleno, H., & Sifuentes-Ibarra, E. (2015). Índice de área foliar de cultivo de Chile Poblano mediante dos métodos en. En E. Figueroa, L. Godínez, & F. Pérez,) *Ciencias de la Biología y Agronomía* (págs. 33-43). Texcoco de Mora: ECORFAN.

Miranda, A. M., Hernandez-Tenorio, F., Villalta, F., Vargas, G. J., & Sáez, A. A. (2024). Advances in the Development of Biofertilizers and Biostimulants from Microalgae. *Biology*, *13*(3), 199. doi:10.3390/biology13030199

Mutale-Joan, C., Rachidi, F., Mohamed, H. A., El Mernissi, N., Aasfar, A., Barakate, M., . . . El Arroussi, H. (2021). Microalgae-cyanobacteria-based biostimulant effect on salinity tolerance mechanisms, nutrient uptake, and tomato plant growth under salt stress. *Journal of Applied Phycology*, *33*, 3779-3795. doi:10.1007/s10811-021-02559-0

Oancea, F., Velea, S., Fătu, V., Minced, C., & Ilie, L. (2013). Micro-algae based plant biostimulant and its effect on water stressed tomato plants. *Romanian Journal of Plant Protection*, *6*, 104-117.

OGRT (Office of Gene Technology Regulator). (1 de septiembre de 2008). *The biology of Zea may L. ssp mays (Maize or Corn)*. (O. o. Regulator, Editor) Obtenido de Australian government, department of health and ageing: https://www.ogtr.gov.au/sites/default/files/files/2021-07/the_biology_of_zea_mays_l._ssp_mays_maize_or_corn.pdf

Ördög, V., Stirk, W. A., Takács, G., Pöthe, P., Illés, Á., Bojtor, C., . . . Nagy, J. (2021). Plant biostimulating effects of the cyanobacterium *Nostoc piscinale* on maize (*Zea mays* L.) in field experiments. *South African Journal of Botany*, *140*, 153-160. doi:10.1016/j.sajb.2021.03.026

Parera, C. A. (2017). *Producción de maíz dulce* (1 ed.). Buenos Aires: Ediciones INTA.

- Parmar, P., Kumar, R., Neha, Y., & Srivatsan, V. (2023). Microalgae as next generation plant growth additives: Functions, applications, challenges and circular bioeconomy based solutions. *Frontiers in Plant Science*, 1073546. doi:10.3389/fpls.2023.1073546
- Pomeranz, Y. (1987). *Modern cereal science and technology*. Nueva York, USA: VCH Publishers, Inc.
- Puglisi, I., Barone, V., Fragalà, F., Stevanato, P., Baglieri, A., & Vitale, A. (2020). Effect of Microalgal Extracts from *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus quadricauda* on Germination of *Beta vulgaris* Seeds. *Plants*, 9(6), 675. doi:10.3390/plants9060675
- Reol, E. M. (2003). Los pigmentos fotosintéticos, algo más que la captación de luz para la fotosíntesis. *Ecosistemas*, 12(1), 1-11.
- Ronga, D., Biazzi, E., Parati, K., Carminati, D., Carminati, E., & Tava, A. (2019). Microalgal Biostimulants and Biofertilisers in Crop Productions. *Agronomy*, 9(4), 192. doi:10.3390/agronomy9040192
- Rouphael, Y., & Colla, G. (2020). Biostimulants in Agriculture. *Frontiers in plant science*, 11, 40. doi:10.3389/fpls.2020.00040
- Sánchez Ortega, I., & Pérez-Urrutia, E. (2014). Maíz I (*Zea mays*). *Reduca (Biología). Serie Botánica*, 7(2), 151-171.
- 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. doi:10.1080/00380768.2013.782253
- Supraja, K. V., Behera, B., & Balasubramanian, P. (2020). Efficacy of microalgal extracts as biostimulants through seed treatment and foliar spray for tomato cultivation. *Industrial Crops and Products*, 151(1), 112453. doi:10.1016/j.indcrop.2020.112453

- Thoré, E. S., Muylaert, K., Bertram, M. G., & Brodin, T. (2023). Microalgae. *Current Biology*, 33(3), 91-95. doi:10.1016/j.cub.2022.12.032
- Uysal, O., Uysal, O. F., & Ekinci, K. (2015). Evaluation of Microalgae as Microbial Fertilizer. *European Journal of Sustainable Development*, 4(2), 77. doi:10.14207/ejsd.2015.v4n2p77
- Wilhelm, W. W., Ruwe, K., & Schlemmer, M. R. (2000). Comparison of three leaf area index meters in a corn canopy. *Crop Science*, 40(4), 1179-1183. doi:10.2135/cropsci2000.4041179x
- Youssef, S. M., El-Serafy, R. S., Ghanem, K. Z., Elhakem, A., & Abdel Aal, A. A. (2022). Foliar Spray or Soil Drench: Microalgae Application Impacts on Soil Microbiology, Morpho-Physiological and Biochemical Responses, Oil and Fatty Acid Profiles of Chia Plants under Alkaline Stress. *Biology*, 11(12), 1844. doi:10.3390/biology11121844