

## Extracto de alga marina y su relación con fotosíntesis y rendimiento de una plantación de vid\*

### Seaweed extract and its relation to photosynthesis and yield of a grapevine plantation

Alejandro Zermeño Gonzalez<sup>1§</sup>, Blanca R. López Rodríguez<sup>1</sup>, Aarón I. Melendres Alvarez<sup>1</sup>, Homero Ramírez Rodríguez<sup>2</sup>, José Omar Cárdenas Palomo<sup>3</sup> y Juan P. Munguía López<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Riego y Drenaje. <sup>2</sup>Departamento de Horticultura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. C. P. 25315. Tel: 844 411 0353. <sup>3</sup>Palau Bioquím S.A. de C.V. República Oriente, Saltillo, Coahuila, México. C. P. 25280. Tel: 844 412 8082. <sup>4</sup>Departamento de Agroplásticos, CIQA, San José de los Cerritos, Saltillo, Coahuila, México. C. P. 25294. Tel: 844 438 9830. <sup>§</sup>Autor para correspondencia: azermenog@hotmail.com.

#### Resumen

Los extractos de algas marinas como biofertilizantes son materiales naturales que incrementan el crecimiento, rendimiento y mejora la calidad de los cultivos. Por lo que el objetivo del estudio fue evaluar el efecto de la aplicación del extracto del alga marina *Sargassum* spp. a una plantación de vid (cv Shiraz), en el contenido de clorofila, intercambio neto de CO<sub>2</sub>, rendimiento y calidad de frutos. La investigación se realizó en la Vinícola San Lorenzo, Parras, Coahuila, en 2014. El estudio se estableció en dos secciones de 5.2 ha dentro de la plantación, a una de ellas se le aplicó el extracto al suelo y vía foliar. Para la evaluación del contenido de clorofila en las hojas, rendimiento y calidad del fruto se establecieron tres tratamientos: control (sin aplicación del extracto), con aplicación solo al suelo y aplicación al suelo y foliar. El intercambio neto de CO<sub>2</sub> (a nivel dosel) se midió con el método de la covarianza Eddy, utilizando un anemómetro sónico tridimensional y un analizador infrarrojo de bióxido de carbono y vapor de agua. Los resultados del estudio mostraron que la aplicación del extracto de la alga marina al suelo y foliar aumentó el contenido de clorofila de las hojas (Tukey,  $\alpha \leq 0.05$ ); sin embargo, esto no se reflejó en incremento del rendimiento ni los grados Brix de los frutos. La aplicación del extracto solo al suelo aumentó la acidez, mientras que la aplicación al suelo y vía foliar disminuyó el pH.

#### Abstract

The seaweed extracts as biofertilizers are natural sources that increase the growth and yield of crops and improve the harvest quality. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effect of the application of the seaweed *Sargassum* spp., to a grapevine plantation (cv Shiraz), in the leaves chlorophyll content, net CO<sub>2</sub> ecosystem exchange, yield and fruit quality. The study was established in the San Lorenzo wine company, Parras, Coahuila, during the 2014. The study was conducted in two sections of the grapevine plantation of 5.2 ha. On one of these sections, the seaweed extract was applied to the soil and foliage. To evaluate the leaves chlorophyll content and the yield and fruit quality, three treatments were established: control (with no application of the seaweed extract), with application only to the soil and with application to the soil and leaves. The CO<sub>2</sub> ecosystem exchange (canopy level) was obtained applying the eddy covariance method, using one three dimensional sonic anemometer and one open path CO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O analyzer. The results of the study showed that the application of the seaweed extract to the soil and leaves increased the leaf chlorophyll content (Tukey,  $\alpha \leq 0.05$ ), however, this was not reflected in a yield increase neither the fruit Brix degrees. The application of the extract only to the soil increased the juice acidity, while the application to the soil and plant leaves decreased the pH.

\* Recibido: agosto de 2015  
Aceptado: noviembre de 2015

**Palabras clave:** contenido de clorofila, covarianza eddy, intercambio neto de CO<sub>2</sub>, *Sargassum* spp.

**Keyword:** eddy covariance, leaves chlorophyll content, net CO<sub>2</sub> ecosystem exchange, *Sargassum* spp.

## Introducción

Los biofertilizantes a base de extractos de algas marinas, son materiales bioactivos naturales solubles en agua, son fertilizantes orgánicos naturales que promueve la germinación de semillas, incrementan el desarrollo y rendimiento de cultivos (Norrie y Keathley, 2005). Los extractos de algas marinas pueden ser utilizados como suplementos nutricionales, bioestimulantes o fertilizantes en la agricultura y horticultura, como biofertilizantes se pueden utilizar en extracto líquido o granular (polvo), el cual se puede aplicar vía foliar o al suelo (Hernández *et al.*, 2014). El uso de algas marinas como biofertilizantes en la agricultura ha aumentado en los últimos años (Dhargalkar y Pereira 2005). Las algas marinas contienen una amplia gama de sustancias bioactivas tales como vitaminas, minerales, reguladores del crecimiento, compuestos orgánicos, y agentes humectantes, coloides mucilaginosas (agar, ácido alginico, y manitol) que ayudan en la retención de la humedad y los nutrientes en las capas superiores del suelo (Subba *et al.*, 2007).

Estudios previos muestran que la aplicación de extractos de algas marinas estimulan la actividad de los microorganismos del suelo, que induce una mayor disponibilidad de nutrientes para la planta facilitando su absorción, reducen la compactación, aumentan la aireación y capacidad de retención de agua del suelo (Selvaraj *et al.*, 2004; Khan *et al.*, 2009). Las algas marinas también tienen un efecto positivo sobre la actividad biológica (respiración y movilización del nitrógeno) del suelo ya que promueve la diversidad microbiana, creando así un medio ambiente adecuado para el crecimiento de la raíz (Sarwar *et al.*, 2008). Al incinerar las algas marinas, dejan un residuo de cenizas cinco o seis veces mayor que el que dejan las plantas; consecuentemente, tienen más metabolitos y, por lo tanto, más enzimas, por lo que al usar algas marinas y/o sus derivados en la agricultura, se aporta un complejo enzimático extra al suelo y a la planta (Gopinath *et al.*, 2008).

Estudios también han mostrado que el contenido de clorofila y la capacidad fotosintética son más altos en plantas tratadas con extracto de algas marinas con aplicaciones foliares y al suelo (Spinelli *et al.*, 2009; Thirumaran *et al.*, 2009; Sunarpi *et al.*, 2010; Bai *et al.*, 2011; Kumari *et al.*, 2011; Hernández *et al.*, 2014). Sivasankari *et al.* (2006) reportaron

## Introduction

The biofertilizers from seaweed extracts are natural bioactive materials that are soluble in water, are natural organic fertilizers that promote seeds germination and increase the crops growth and yield (Norrie y Keathley, 2005). The seaweed extracts can be used as nutritional supplements, bio stimulants or fertilizers in agriculture and horticulture. As biofertilizers, the application can be in liquid extract or granular (dust) to the soil or the foliage (Hernández *et al.*, 2014). The use of seaweed extracts as biofertilizers in agriculture has increased in the last years. (Dhargalkar y Pereira 2005). Seaweed extracts contain a large amount of bioactive substances such as: vitamins, minerals, growth regulators, organic compounds, humectant agents and collide mucilaginous (agar, allogenetic acid and mannitol) that help to retain humidity and nutrients in the soil upper layers (Subba *et al.*, 2007).

Previous studies have shown that application of seaweed extracts stimulate the soil microorganisms activity, that induce a greater availability of nutrients for the plant, facilitating absorption, reduce soil compaction, aeration and soil holding capacity (Selvaraj *et al.*, 2004; Khan *et al.*, 2009). Seaweeds also have a positive effect on the soil biological activity (respiration and nitrogen movement) because promote microbial diversity, creating an adequate environment for the root growth (Sarwar *et al.*, 2008). When incinerated, the seaweeds leave behind an ashes residual that is five to six times greater than the residual of plants, consequently, have more metabolites and enzymes therefore, when seaweed or its extracts are used in agriculture, a more complex enzymatic extract is delivered to the soil and plant (Gopinath *et al.*, 2008).

Previous studies have also shown that the chlorophyll content and photosynthetic capacity are bigger in plants treated with applications of seaweed extracts to the soil and foliage (Spinelli *et al.*, 2009; Thirumaran *et al.*, 2009; Sunarpi *et al.*, 2010; Bai *et al.*, 2011; Kumari *et al.*, 2011; Hernández *et al.*, 2014). Sivasankari *et al.* (2006) reported that the chlorophyll content and the carbon dioxide assimilation of a wild pea crop (*Vigna sinensis*) increased with the application of the seaweed extracts *Sargassum wightii* y *Caulerpa chemnitzia*. Sabir *et al.* (2014) observed an increase on yield and fruit quality of a grapevine crop due to the application of the seaweed extract *Ascophyllum nodosum*.

que el contenido de clorofila y la asimilación de bióxido de carbono del cultivo de chicharo silvestre (*Vigna sinensis*) aumentó con la aplicación de extractos de las algas marinas *Sargassum wightii* y *Caulerpa chemnitzia*. Sabir *et al.* (2014) observaron incrementos en rendimiento y calidad de frutos de un cultivo de vid por aplicación de extracto de la alga marina *Ascophyllum nodosum*.

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la aplicación del biofertilizante Algaenzims® a base de extracto de la alga marina *Sargassum* spp. en el contenido de clorofila, intercambio neto de bióxido de carbono y su relación con el rendimiento y calidad del fruto de una plantación de vid cv. Shiraz.

## Materiales y métodos

### Ubicación del sitio de estudio

El estudio se realizó en la Vinícola San Lorenzo ubicado en Parras de la Fuente, Coahuila, México. El trabajo se estableció en dos secciones de un viñedo cv Shiraz de aproximadamente 5.2 ha cada una, (204 m en la dirección E-O, por 256 m dirección N-S). El viñedo es de ocho años de edad y las plantas tienen una altura de aproximadamente 2 m en su máximo desarrollo foliar. El viñedo está en un marco de plantación de 1.5 m entre plantas y 2.5 m entre hileras, con una densidad de 2 620 plantas ha<sup>-1</sup>.

### Manejo agronómico de la plantación

La plantación se riega con un sistema de riego por goteo (0.75 m entre emisores), aplicando un gasto de 2.1 LPH. El tiempo de riego a través del ciclo del cultivo es de 2 h diarias. Cada superficie recibió el mismo manejo del cultivo (poda, riego, fertilización y control fitosanitario) de acuerdo con las normas establecidas por la Vinícola San Lorenzo.

### Tratamientos aplicados

El 14 de marzo de 2014, a una de las plantaciones se le aplicó al suelo 1 L ha<sup>-1</sup> del extracto de la alga marina, *Sargassum* spp. (con base al biofertilizante Algaenzims®). Posteriormente a la misma sección, el 29 de abril del mismo año se aplicó vía foliar la misma dosis del producto mencionado.

The objective of the study was to evaluate the effect of the application of the biofertilizer “Algaenzims®” made from extract of the seaweed *Sargassum* spp. in the chlorophyll content, net carbon dioxide exchange and its relation to growth and fruit yield of a grapevine plantation cv Shiraz.

## Materials and methods

The study was done in the San Lorenzo wine company, located in Parras, Coahuila, Mexico. The work was conducted in two sections of a grapevine plantation cv Shiraz of 5.2 ha each one (204 m in the E-W direction by 256 m in the N-S direction). The vineyard is eight years old with plants of 2 m at the highest foliage growth. The plants are in a planting framework of 1.5 m between plants and 2.5 m between rows, with 2 620 plants ha<sup>-1</sup>.

### Agronomic management of the vineyard

The plants are drip irrigated (0.75 m between emitters) applying a flow of 2.1 LPH. The plants are watered 2 h daily during the crop growth production cycle. Each section received the same crop management (pruning, irrigation, fertilization and plant health control) following the norms established by the San Lorenzo wine company.

### Treatments applied

On March 14 2014 to one of the sections of the vineyard, 1 L ha<sup>-1</sup> of extract of the seaweed *Sargassum* spp. (Algaenzims®) was applied to the soil. Later, on April 29 the same dose of the extract was applied to the plant leaves.

### Chlorophyll content

The difference in leaf chlorophyll content between the plants with and without the application of seaweed extract were evaluated with a completely randomized statistical design with three treatments: without the biofertilizer, with application only to the soil and with application to soil and plant leaves and 10 replications, where the experimental unit was the average value of six readings of chlorophyll per leaf of 10 leaves per plant of a group of three plants, so that each replica corresponded to the mean of 180 readings. The leaves chlorophyll content was obtained with a portable gauge (SPAD 502 Plus, Spectrum, Technologies, Inc.). The

## Contenido de clorofila

Las diferencias en contenido de clorofila entre las plantas con y sin aplicación del extracto de alga marina se evaluaron con un diseño completamente al azar con tres tratamientos: sin aplicación del biofertilizante, con aplicación solo al suelo y con aplicación al suelo y foliar y 10 repeticiones, siendo la unidad experimental el promedio de seis lecturas de clorofila por hoja de 10 hojas por planta de un grupo de tres plantas, de tal forma que cada repetición correspondió a la media de 180 lecturas. El contenido de clorofila de las hojas se obtuvo con un medidor portátil (SPAD 502 Plus, Spectrum, Technologies, Inc.). Las hojas muestreadas fueron de la parte media de cada brote en condiciones de sombra evitando la exposición del SPAD a la radiación solar directa. La comparación de medias se realizó con la prueba de Tukey ( $\alpha \leq 0.05$ ).

## Intercambio neto de bióxido de carbono

El intercambio neto de bióxido de carbono (NEE) entre el dosel de la plantación de vid y la atmósfera se obtuvo con la siguiente relación (Marterns *et al.*, 2004):

$$NEE = FCO_2 + \frac{\Delta\rho CO_2}{\Delta t} * Z \quad 1)$$

Donde:  $FCO_2$  es el flujo de bióxido de carbono entre el dosel de la plantación y la atmósfera (medido con el método de la covarianza eddy),  $\Delta\rho CO_2$  es el cambio en la densidad de  $CO_2$  medido a la altura  $\Delta z$ ,  $\Delta t$  es el intervalo de tiempo (30 min),  $\Delta z$  es la altura sobre la superficie del suelo a la que se realizan las mediciones de flujo (3 m). El  $FCO_2$  se obtuvo con mediciones de covarianza de remolinos (Ham y Heilman, 2003), con la relación:

$$FCO_2 = \overline{w' \rho CO_2'} \quad 2)$$

Donde:  $w$  es la velocidad vertical del viento,  $\rho CO_2$  es la densidad de bióxido de carbono. Las variables con símbolo de prima significan desviaciones respecto a la media y la barra horizontal sobre dos variables denota la covarianza entre las variables para un determinado segmento de tiempo (30 min). Para esto se instaló en cada sección del viñedo un sistema eddy con los sensores correspondientes (Figura 1). La velocidad vertical del viento se midió con un anemómetro sónico tridimensional (CSI-CSAT3, Campbell, Scientific, Inc., Logan, Utah, EE.UU.); para obtener  $\rho CO_2$  se usó un analizador infrarrojo de bióxido de carbono y vapor de agua de sendero abierto (Open Path  $CO_2/H_2O$  analyzer, LI-7500. LI-COR, Lincon, Nebraska, EE.UU).

sampled leaves where from the middle of each shoot under shade conditions avoiding the exposition of the SPAD to direct solar radiation. Treatment means were compared with the Tukey test ( $\alpha \leq 0.05$ ).

## Net ecosystem exchange of carbon dioxide

The net ecosystem exchange of carbon dioxide (NEE) between the vineyard canopy and the atmosphere was obtained with the next relation (Marterns *et al.*, 2004):

$$NEE = FCO_2 + \frac{\Delta\rho CO_2}{\Delta t} * Z \quad 1)$$

Where:  $FCO_2$  is the carbon dioxide flux between the vineyard canopy and the atmosphere (measured with the eddy covariance method),  $\Delta\rho CO_2$  is the change in the  $CO_2$  density measured to the height  $\Delta z$ ,  $\Delta t$  is the time interval (30 min),  $\Delta z$  is the height above the soil surface where the flux measurements are made (3 m), the  $FCO_2$  was obtained with eddy covariance measurements (Ham y Heilman, 2003). With the relation:

$$FCO_2 = \overline{w' \rho CO_2'} \quad 2)$$

Where  $w$  is the vertical wind speed,  $\rho CO_2$  is the carbon dioxide density. The variables with the prime symbol are deviations from the mean and the horizontal line above two variables denotes the covariance between the variables for a given time segment (30 min). For that, an eddy system with the corresponding sensors was installed (Figure 1). The vertical wind speed was measure with a three dimensional sonic anemometer (CSI-CSAT3, Campbell, Scientific, Inc., Logan, Utah, USA); to obtain  $\rho CO_2$  an open path  $CO_2/H_2O$  infrared gas analyzer was used (Open Path  $CO_2/H_2O$  analyzer, LI-7500. LI-COR, Lincon, Nebraska USA).

The sensors were mounted on a pole 3 m above the soil surface (1.2 m above the vineyard canopy), that was placed at the center of the west edge of each vineyard section. The 3-D sonic anemometer was oriented to the east for the wind to have at least 200 m of contact with the vegetated surface in the east-west direction and 125 m in the north-south direction, before contact with the sensors. Winds from the west that impacted in the back of the 3-D sonic anemometer were not considered for the flux determinations. The vertical wind speed and the  $CO_2$  density were measured at a frequency of 10 Hz with a datalogger CR1000 (Campbell, Scientific, Inc., Logan, Utah, USA). The corresponding covariance were calculated every 30 min. The statistical differences in the

Los sensores se montaron en un poste a 3 m de altura (1.2 m sobre el dosel del viñedo), que se colocó en la parte media del extremo Oeste de cada sección del viñedo. El anemómetro sónico tridimensional se orientó hacia el Este, para lograr que el viento tuviera por lo menos 200 m de contacto con la superficie vegetal en la dirección Este-Oeste y 125 m en la dirección norte-sur, antes del contacto con los sensores. Los vientos provenientes del Oeste que impactaban en la parte posterior del anemómetro sónico tridimensional no se consideraron en las determinaciones de los flujos. La velocidad vertical del viento y la densidad del CO<sub>2</sub> se midieron a una frecuencia de 10 Hz con un datalogger CR1000 (Campbell, Scientific, Inc., Logan, Utah, EE.UU). Las covarianzas correspondientes se calcularon cada 30 min. Las diferencias estadísticas en el intercambio neto de CO<sub>2</sub> en las dos secciones (con y sin la aplicación del extracto de la alga mariana) se evaluaron con la prueba no paramétrica de Wilcoxon para poblaciones pareadas ( $\alpha < 0.05$ ).

### Rendimiento y calidad de frutos

El efecto de la aplicación del extracto de la alga marina en el rendimiento de fruto se evaluó con un diseño estadístico completamente al azar con tres tratamientos (sin aplicación del extracto, con aplicación solo al suelo y con aplicación al suelo y foliar) y cinco repeticiones siendo la unidad experimental el promedio de veinte plantas.

La calidad de frutos se determinó midiendo los grados Brix (con un refractómetro), pH (con un potenciómetro) y la acidez (método volumétrico). Para estos parámetros también se usó un diseño estadístico completamente al azar con los tres tratamientos mencionados y cinco repeticiones, la unidad experimental correspondió al jugo de 40 frutos obtenido de las plantas de cada tratamiento. La comparación de medias se realizó con la prueba de Tukey ( $\alpha \leq 0.05$ ).

## Resultados y discusión

### Contenido de clorofila en las hojas

En todas las fechas de muestreo la aplicación del extracto de la alga marina al suelo y vía foliar resultó en un contenido de clorofila igual o mayor al de la aplicación solo al suelo y sin aplicación (Tukey,  $\alpha \leq 0.05$ ) (Cuadro 1). Este efecto probablemente se debió a que el extracto de alga marina contiene sustancias como betainas y micro elementos como

NEE in the two sections (with and without the application of the seaweed extract) were evaluated with the non-parametric Wilcoxon test for paired populations ( $\alpha < 0.05$ ).



**Figura 1. Sensores de un sistema Eddy sobre una plantación de vid (cv. Shiraz) para medir el intercambio neto de bióxido de carbono (NEE) entre el dosel del viñedo y la atmosfera.**

**Figure 1. Sensors of an eddy system above a grapevine plantation (cv Shiraz) to measure the net ecosystem exchange of CO<sub>2</sub> (NEE) between the vineyard canopy and the atmosphere.**

### Fruit yield and quality

The effect of the seaweed application in the fruit yield was evaluated using a completely randomized statistical design with three treatments (with no application of the seaweed extract, with application only to the soil and with application to the soil and foliage) and five replications where the experimental unit was de average of the yield of 20 plants.

The fruits quality was determined measuring the Brix grades (using a reflectometer), pH (with a potentiometer) and the juice acidity (by the volumetric method). For these parameters, a completely randomized statistical design was also applied with the same treatments and five replications, the experimental unit corresponded to the juice of 40 fruits gathered from the plants of each treatment. Treatment means were compared using the Tukey test ( $\alpha \leq 0.05$ ).

el hierro, que se requieren en la síntesis de clorofila en las hojas. Nótese que el contenido de clorofila de las hojas de los tres tratamientos se incrementó de la fecha de muestreo 15 de mayo a la del 11 de julio, esto se debió al incremento de los pigmentos de clorofila de las hojas por la maduración de las mismas. De esta fecha al 25 de julio, se tuvo poca variación del contenido de clorofila y del 15 de agosto al 3 de octubre el contenido de clorofila tuvo una tendencia decreciente, debido a la pérdida de pigmentos por la progresión de la senescencia de las hojas (Ahmed y Shalaby, 2012; Nagy y Pintér, 2015).

**Cuadro 1. Contenido de clorofila en una plantación de vid (cv. Shiraz), con y sin aplicación del extracto de alga marina *Sargassum* spp. Vinícola San Lorenzo, Parras, Coahuila. 2014.**

**Table 1. Leaves chlorophyll content in a grapevine plantation (cv Shiraz) with and without application of the seaweed extract *Sargassum* spp. San Lorenzo wine company, Parras, Coahuila.**

Tratamientos	15 May.	30 May.	12 Jun.	27 Jun.	11 Jul.	25 Jul.	15 Ago.	29 Ago.	18 Sep.	03 Oct.
Sin aplicación de biofertilizante	36.4 <sup>a</sup>	39.07 <sup>a</sup>	38.94 <sup>b</sup>	40.9 <sup>b</sup>	43.07 <sup>b</sup>	43.45 <sup>a</sup>	41.64 <sup>a</sup>	39.8 <sup>a</sup>	40.09 <sup>b</sup>	35.09 <sup>a</sup>
Aplicación del biofertilizante al suelo	35.91 <sup>a</sup>	39.34 <sup>a</sup>	41.87 <sup>a</sup>	42.11 <sup>ab</sup>	44.05 <sup>a</sup>	43.74 <sup>a</sup>	41.82 <sup>a</sup>	40.61 <sup>a</sup>	40.17 <sup>b</sup>	35.53 <sup>a</sup>
Aplicación del biofertilizante suelo-foliar	35.14 <sup>a</sup>	39.74 <sup>a</sup>	42.01 <sup>a</sup>	42.96 <sup>a</sup>	44.02 <sup>ab</sup>	44.02 <sup>a</sup>	42.11 <sup>a</sup>	41.11 <sup>a</sup>	41.66 <sup>a</sup>	36.43 <sup>a</sup>

Medias con letra diferente dentro de la misma columna son estadísticamente diferentes (Tukey.  $\alpha \leq 0.05$ ).

El promedio del contenido de clorofila del periodo evaluado (mayo-octubre) en la sección con aplicación del biofertilizante al suelo y foliar fue de 40.92 mientras que en la sección sin aplicación fue 39.85. Esto correspondió a un incremento de 2.68%. Estudios previos han reportado incrementos del contenido de clorofila por efecto de la aplicación de extractos de algas marinas. Por ejemplo, Spinelli *et al.* (2010) mostraron que la aplicación del extracto de la alga marina *Ascophyllum nodosum* a una concentración del 2% a un cultivo de fresa (*Fragaria moschata*) incremento 11% el contenido de clorofila en las hojas, y 27% la tasa de fotosíntesis. Otros estudio han reportan que con la aplicación foliar de extractos de las algas marinas *Ascophyllum nodosum*, *Laminaria* spp. y *Sargassum* spp. a una dosis de 1 y 2% respectivamente, incrementó el contenido de clorofila en las hojas de un cultivo de ajo (*Allium sativum* L.) lo que pudo deberse a la presencia de betaínas sustancia presente en el fertilizante líquido de algas marinas la cual aumenta el contenido de clorofila en las hojas (Shehata *et al.*, 2011). Similarmente, Spinelli *et al.* (2009) observaron un incremento de 12% en el contenido de clorofila en hojas de manzano (*Malus Domestica*) con la aplicación de un biofertilizante derivado del extracto de la alga marina

## Results and discussion

### Leaves chlorophyll content

For all sampled dates, the application of the seaweed extract to the soil and foliage, resulted in a leaf chlorophyll content equal or higher than the application only to the soil and with no extract application (Tukey,  $\alpha \leq 0.05$ ) (Table 1). This result was probably due because the seaweed extract contain substances as betains, micro elements as

iron that are required in the synthesis of chlorophyll of the leaves. It was observed that the leaves chlorophyll content of the three treatments increased from the sample date of May 15, to the one of June 11, this was due to the increase of the leaves chlorophyll pigments because of the leaves maturation. From this date to July 25, a small variation in the chlorophyll content was noted and from August 15 to October 3 a decreasing tendency was observed, due to the loss of pigments because of the progression of the leaves senescence (Ahmed y Shalaby, 2012; Nagy y Pintér, 2015).

The average chlorophyll content of the time evaluated (May to October) in the vineyard section with seaweed application to the soil and foliage was 40.92, while in the section with no application was 39.85. This corresponded to an increase of 2.68%. Previous studies have reported increments of the leaves chlorophyll content. For example, Spinelli *et al.* (2010) observed that the application of the seaweed extract *Ascophyllum nodosum* in a concentration of 2% to a strawberry crop (*Fragaria moschata*) increased 11% the leaves chlorophyll content and 27% the photosynthesis rate. Other studies have reported that foliage application of seaweed extract of *Ascophyllum nodosum*, *Laminaria*

*Ascophillum nodosum* a una concentración de 3%, el hierro es un elemento esencial para la biosíntesis de la clorofila que estuvo presente en el extracto aplicado.

### Intercambio neto de bióxido de carbono

La aplicación del extracto de alga marina no tuvo efecto en la tasa de intercambio neto de CO<sub>2</sub> (NEE) entre el dosel del viñedo y la atmósfera (Cuadro 2) (Wilcoxon,  $\alpha \leq 0.05$ ). La tasa promedio diaria mensual de intercambio neto de CO<sub>2</sub> de abril a septiembre fue mayor en la sección del viñedo sin la aplicación del extracto del alga marina. El promedio diario mensual de los meses mencionados fue 274.57 y 205.09 mmol m<sup>-2</sup> en la sección sin y con aplicación del extracto, que representó una diferencia de 38.87%. Esto pudo deberse a la diferencia del tipo de suelo en las secciones del viñedo, ya que la plantación sin aplicación se ubica en un suelo con mayor capacidad de retención de agua, por lo que las plantas tuvieron una mayor disponibilidad de agua, esto tuvo un mayor impacto en la tasa de fotosíntesis que el efecto de la aplicación del extracto del alga marina.

Estudios previos han mostrado la fuerte relación entre la disponibilidad de agua en el suelo y la tasa de fotosíntesis. Al respecto, Castañeda *et al.* (2006) observaron una reducción de hasta 72% de la tasa de fotosíntesis de un cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris*) debido al estrés prolongado del déficit hídrico. Otro estudio reportó que la tasa de fotosíntesis de un cultivo de maíz (*Zea mays*) decreció de 35 hasta 5.5  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  debido a la suspensión del riego (Zarco *et al.*, 2005). De igual forma, Hayat *et al.* (2008) observaron una reducción de 75% de la tasa de fotosíntesis en un cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum*) expuesto a estrés hídrico.

Nótese que la tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> promedio diaria mensual aumentó de abril a mayo (debido al desarrollo vegetativo de las plantas) en junio y julio se tuvo un decremento de asimilación que se debió a la poda de ramas (realizada la primera semana de junio); la tasa de asimilación decreció en agosto y septiembre por la senescencia de las plantas (Cuadro 2). La máxima tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> fue 417.41 mmol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> observada en la sección del viñedo sin aplicación del extracto de alga marina en el mes de mayo (Cuadro 2). Debido a que en las plantaciones de vid, las hileras de plantas cubren solo una pequeña parte de la superficie total, la asimilación de CO<sub>2</sub> por la vegetación (mmol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>) es menor que la que se observa en cultivos de cobertura total. Por ejemplo, Vote *et al.* (2015) reportaron una tasa de asimilación de 1 775 en un cultivo de maíz (*Zea mays*) y 725 en arroz (*Oryza sativa*).

spp. and *Sargassum* spp. at a dose of 1 and 2 % respectively increased the leaf chlorophyll content of a garlic crop (*Allium sativum* L.) that may be related to the betains, a substance present in the liquid fertilizers made of seaweed extracts which increases the leaves chlorophyll content (Shehata *et al.*, 2011). Similarly, Spinelli *et al.* (2009) observed an increment of 12% of the leaves chlorophyll content of the apple-tree (*Malus Domestica*) with the application of a biofertilizer derived from the seaweed extract *Ascophillum nodosum* at a concentration of 3%, iron is an essential element for the biosynthesis of chlorophyll that was present in applied extract.

### Net ecosystem exchange of carbon dioxide

The application of the seaweed extract had no effect in the net ecosystem exchange of carbon dioxide (NEE) between the vineyard canopy and the atmosphere (Table 2) (Wilcoxon,  $\alpha \leq 0.05$ ). The average daily rate of each month (April to September) of NEE was higher in the vineyard section with no application of the seaweed extract. The daily average of the six months was 274.57 and 205.09 mmol m<sup>-2</sup> in the section without and with the extract application respectively; this represented a difference of 38.87% that was probably due to the difference on the soil type of soil of the vineyard sections because the vineyard section with no seaweed extract application has a soil of higher soil water holding capacity, and the plants had a bigger soil water availability, this had a bigger impact in the photosynthesis rate than the effect of the seaweed extract application.

Previous studies have shown a strong relation between the soil water availability and the photosynthesis rate. On this regard, Castañeda *et al.* (2006) observed a reduction of up to 72% of the photosynthesis rate of a bean crop (*Phaseolus vulgaris*) due to a long lasting stress of water deficit. Other study reported the photosynthesis rate of a corn crop (*Zea mays*) decreased from 35 to 5.5  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  due to interruption of irrigation (Zarco *et al.*, 2005). In a similar way, Hayat *et al.* (2008) observed a reduction of 75% of the photosynthesis rate of a tomato crop (*Lycopersicon esculentum*) under water stress.

It was also observed that the CO<sub>2</sub> assimilation rate increased from April to May (due to the vegetative development of the plants) during June and July the assimilation decreased due to the pruning of branches (that was performed the first week of June); the assimilation rate decreased in August and September due to the senescence of the plants (Table 2)

Para caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) la tasa de asimilación a mediados del otoño fue 571.08 (Zermeño-González *et al.*, 2012).

The highest CO<sub>2</sub> assimilation rate was 417.41 mmol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> observed in the vineyard section with no application of the seaweed extract in the May month (Table 2). Because

**Cuadro 2. Promedios diarios (de cada mes) de intercambio neto de CO<sub>2</sub> (mmol m<sup>-2</sup>) de una plantación de vid (cv. Shiraz), 2014, sin y con aplicación del extracto de la alga marina *Sargassum* spp. Vinícola San Lorenzo, Parras, Coahuila.**  
**Table 2. Daily average (of each month) of net CO<sub>2</sub> exchange (mmol m<sup>-2</sup>) of a grapevine plantation (cv Shiraz), 2014, without and with the application of the seaweed extract *Sargassum* spp. San Lorenzo wine company, Parras, Coahuila.**

Tratamientos	Abr.	May.	Jun.	Jul.	Ago.	Sep.
Sin aplicación del biofertilizante	211.98 <sup>a</sup>	417.41 <sup>a</sup>	382.14 <sup>a</sup>	366.44 <sup>a</sup>	187.64 <sup>a</sup>	81.83 <sup>a</sup>
Con aplicación del biofertilizante	123.6 <sup>b</sup>	298.1 <sup>b</sup>	245.48 <sup>b</sup>	284.5 <sup>b</sup>	209.02 <sup>b</sup>	69.84 <sup>b</sup>

Medias con letra diferente dentro de la misma columna son estadísticamente diferentes (Tukey.  $\alpha \leq 0.05$ ).

### Rendimiento y calidad del fruto

La aplicación del extracto de alga marina no tuvo efecto en el rendimiento de frutos (Tukey,  $\alpha \leq 0.05$ ) (Cuadro 3), ya que en la sección del viñedo sin el extracto se tuvo el mayor rendimiento. Los valores de rendimiento promedio por planta en las secciones con y sin aplicación del extracto fueron 9.09 kg y 10.32 kg respectivamente, lo que resultó en una diferencia de 13.5 %. Esto se debió a que como se mencionó anteriormente, el impacto de una mayor retención de agua del suelo en la plantación sin la aplicación del extracto tuvo un mayor efecto en el contenido de clorofila de las hojas y por consiguiente en el rendimiento de frutos. Sin embargo, para condiciones de humedad homogénea del suelo, estudios previos han reportado incremento en rendimiento por la aplicación de extractos de algas marinas en diferentes cultivos (Fornes *et al.*, 2005; Zodape *et al.*, 2011; Pramanick *et al.*, 2014). Con relación a la calidad del fruto, la aplicación del extracto no afectó los grados °Brix del jugo de los frutos; sin embargo, el mayor grado de acidez se obtuvo con la aplicación del extracto solo al suelo y el menor pH con la aplicación al suelo y vía foliar (Tukey,  $\alpha \leq 0.05$ ) (Cuadro 3).

in the grapevine plantations, the area covered by the rows of plants is a small part of the total surface, the CO<sub>2</sub> assimilation rate by the vegetation (mmol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>) is smaller than the observed in crops of full coverage. For example, Vote *et al.* (2015) observed an assimilation rate of 1 775 in a corn crop (*Zea mays*) and 725 in a crop rice (*Oryza sativa*). For sugar cane (*Saccharum officinarum* L.) the assimilation rate during fall time was 571.08 (Zermeño-González *et al.*, 2012).

### Yield and fruit quality

The application of the seaweed extract had no effect in the fruits yield (Tukey,  $\alpha \leq 0.05$ ) (Table 3), since the highest yield was observed in the vineyard section without the extract. The average plant yield of the sections with and without the extract application were 9.09 kg and 10.32 kg respectively, that corresponded to a difference of 13.5 % this was due to as it was mentioned before, the impact of a bigger soil water holding retention, had a greater effect in the leaves chlorophyll content and consequently in the fruits yield. However, for homogeneous soil humidity conditions,

**Cuadro 3. Rendimiento y calidad de frutos de una plantación de vid (cv. Shiraz), sin y con aplicación del extracto de la alga marina *Sargassum* spp. Vinícola San Lorenzo, Parras, Coahuila.**

**Table 3. Yield and fruit quality of a grapevine plantation (cv. Shiraz) without and with the application of the seaweed extract *Sargassum* spp. San Lorenzo wine company, Parras, Coahuila.**

Tratamiento	Rendimiento (kg planta <sup>-1</sup> )	grados (°Brix)	acidez	pH
Sin aplicación del extracto	10.32 <sup>a</sup>	27.1 <sup>a</sup>	4.44 <sup>b</sup>	3.84 <sup>a</sup>
Aplicación de extracto solo al suelo	9.77 <sup>b</sup>	27.64 <sup>a</sup>	5.04 <sup>a</sup>	3.76 <sup>ab</sup>
Aplicación del extracto al suelo y foliar	9.09 <sup>c</sup>	27.36 <sup>a</sup>	4.89 <sup>ab</sup>	3.7 <sup>b</sup>

Medias con letra diferente dentro de cada columna son estadísticamente diferentes (Tukey.  $\alpha \leq 0.05$ ).



Los valores recomendados para la elaboración de vino tinto con el cv. Cabernet Sauvignon son un pH de 3.28 y una acidez total de 4.92, mientras que para el cv. Chardonnay se recomienda un pH de 3.31 y una acidez de 4.04 (Ortega *et al.*, 2002). Para el cv. Shiraz se recomienda un pH de 3.78 y una acidez de 5.5 (Gil *et al.*, 2013). Los valores de acidez de pH que se observaron en este estudio están dentro del rango recomendado, mientras que los valores de acidez son ligeramente menores.

## Conclusiones

La aplicación del extracto de alga marina *Sargassum* spp., al suelo y vía foliar a una plantación de vid cv. Shiraz incrementó el contenido de clorofila de las hojas de las plantas. El mayor contenido de clorofila, no afectó el intercambio neto de bióxido de carbono entre el dosel del viñedo y la atmósfera, ni el rendimiento de frutos. La aplicación del extracto solo al suelo aumento la acidez, mientras que la aplicación al suelo y vía foliar disminuyo el pH. Ninguna de las aplicaciones afectó los grados Brix del jugo de los frutos.

## Literatura citada

- Ahmed, Y. M. and Shalaby, E. A. 2012. Effect of different seaweed extracts and compost on vegetative growth, yield and fruit quality of cucumber. *J. Hortic. Sci. Orna. Plants*. 4(3):235-240.
- Bai, N. R., Christi, R. M. and Kala, T. C. 2011. Seaweed liquid fertilizer as an alternate source of chemical fertilizer in improving the yield of *Vigna radiata* L. *Plant Archives*. 11(2): 895-898.
- Castañeda, S. M. C., Córdova, T. L.; González, H. V. A.; Alvarado, A. D. y Santacruz, V. A. y de los Santos, G. G. 2006. Respuestas fisiológicas, rendimiento y calidad de semilla en frijol sometido a estrés hídrico. *Interciencia: Revista de ciencia y tecnología de América*. 31(6):461-466.
- Dhargalkar, V. K. and Pereira, N. 2005. Seaweed: promising plant of the millennium. *Science Cult*. 71:60-66.
- Fornes, F.; Sánchez, P. M. and Guardiola, J. L. 2005. Effect of a seaweed extract on the productivity of Clementine mandarin and Navelina orange. *Botanica Marina*. 45(5):486-489.
- Gil, M.; Esteruelas, M.; González, E.; Kontoudakis, N.; Jiménez, J.; Fort, F. and Zamora, F. 2013. Effect of two different treatments for reducing grape yield in *Vitis vinifera* cv Syrah on wine composition and quality: berry thinning versus cluster thinning. *J. Agric. Food Chem*. 61(20):4968-4978.
- Gopinath, K. A.; Saha, S.; Mina, B. L.; Pande, H.; Kundu, S. and Gupta, H. S. 2008. Influence of organic amendments on growth, yield and quality of wheat and on soil properties during transition to organic production. *Nutr. Cycl. Agroecosys*. 82:51-60.
- previous studies have reported an increase in the yield for the application seaweed extracts in different crops ((Fornes *et al.*, 2005; Zodape *et al.*, 2011; Pramanick *et al.*, 2014). Regarding fruit quality, the application of the seaweed extract had no effect in the Brix grades of the fruit juice; however, the higher grade of acidity was obtained with the application of the seaweed extract only to the soil and the lower pH with application to the soil and foliage (Tukey,  $\alpha \leq 0.05$ ) (Table 3).
- The recommended values for the red wine elaboration from the cv. Cabernet Sauvignon are a pH of 3.28 and a total acidity of 4.92, while for the cv. Chardonnay it is recommended a pH of 3.31 and acidity of 4.04 (Ortega *et al.*, 2002). For the cv. Shiraz the values are a pH of 3.78 and the acidity of 5.5 (Gil *et al.*, 2013). The pH and acidity observed in this study are in the recommended range, while the acidity values are slightly smaller.

## Conclusions

The application of the seaweed extract *Sargassum* spp to the soil and foliage to a grapevine plantation cv. Shiraz increased the leaves chlorophyll content of the plants. The higher chlorophyll content had no effect on the net carbon dioxide exchange between the vineyard canopy and the atmosphere, neither the fruits yield. The application of the extract only to the soil increased acidity, while the application to the soil and foliage decreased pH. None of the applications had effect on the Brix grades.

*End of the English version*



- Ham, J. M. and Heilman, J. L. 2003. Experimental test of density and energy-balance corrections on carbon dioxide flux as measured using open-path eddy covariance. *Agron. J*. 95(6):1393-1403.
- Hayat, S.; Hasan, S. A.; Fariduddin, Q. and Ahmad, A. 2008. Growth of tomato (*Lycopersicon esculentum*) in response to salicylic acid under water stress. *J. Plant Interac*. 3(4):297-304.
- Hebba, S. A. A.; Abou, A. Y. and Gizawy, A. M. 2011. Effect of foliar spraying with amino acids and seaweed extract on growth chemical constitutes yield and its quality of celeriac Plant. *J. Sci. Res*. 58(2):257-265
- Hernández, H. R. M.; Santacruz, R. F.; Ruiz, L. M. A.; Norrie, J. and Hernández, C. G. 2014. Effect of liquid seaweed extracts on growth of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum* L.). *J. Appl. Phycol*. 26(1):619-628.

- Khan, W.; Rayirath, U. P.; Subramanian, S.; Jithesh, M. N.; Rayorath, P.; Hodges, D. M.; Critchley, A. T.; Craigie, J. S.; Norrie, J. and Prithiviraj, B. 2009. Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *J. Plant Growth Reg.* 28(4):386-399.
- Kumari, R.; Kaur, I. and Bhatnagar, A. K. 2011. Effect of aqueous extract of *Sargassum johnstonii* Setchell & Gardner on growth, yield and quality of *Lycopersicon esculentum* Mill. *J. Appl. Phycol.* 23(3):623-633.
- Martens, C. S.; Shay, T. J.; Mendlovitz, H. P.; Matross, D. M.; Saleska, S. R.; Wofsy, S. R.; Woodward, W. S.; Menton, M. C.; Moura, J. M. S.; Crill, P. M.; Moraes, O. L. L. and Lima, R. L. 2004. Radon fluxes in tropical forest ecosystems of Brazilian Amazonia: night-time CO<sub>2</sub> net ecosystem exchange derived from radon and eddy covariance methods. *Global Change Biol.* 10(5):618-629.
- Nagy, P. T. and Pintér, T. 2015. Effects of foliar biofertilizer sprays on nutrient uptake, yield, and quality parameters of Blaufrankish (*Vitis vinifera* L.) Grapes. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.* 46(1):219-227.
- Norrie, J. and Keathley, J. P. 2005. Benefits of *Ascophyllum nodosum* marine-plant extract applications to 'Thompson seedless' grape production. (Proceedings of the *In: X<sup>th</sup> International Symposium on Plant Bioregulators in Fruit Production*). *Acta Hort.* 727(1):243-248.
- Ortega, F. S. O. "Lozano, P. Moreno, Y. y León, L. 2002. Desarrollo de modelos predictivos de fenología y evolución de madurez en vid para vino cv. cabernet sauvignon y chardonnay. *Agric. Téc.* 62(1):27-37.
- Pramanick, B.; Brahmachari, K.; Ghosh, A. and Zodape, S. T. 2014. Effect of seaweed saps on growth and yield improvement of transplanted rice in old alluvial soil of West Bengal. *Bangladesh J. Bot.* 43(1):53-58.
- Sabir, A.; Yazar, K. F.; Sabir, F.; Kara, Z.; Yazici, A. M. and Goksu, N. 2014. Vine growth, yield, berry quality attributes and leaf nutrient content of grapevines as influenced by seaweed extract (*Ascophyllum nodosum*) and nanosize fertilizer pulverizations. *Scientia Hort.* 175:1-8.
- Sarwar, G., Schmeisky, H., Hussian, S. Muhammad, M. I. and Safdar, E. 2008. Improvement of soil physical and chemical properties with compost application in rice-wheat cropping system. *Journal Bot.* 40: 275-282.
- Selvaraj, R.; Selvi, M. and Shakila, P. 2004. Effect of seaweed liquid fertilizer on *Abelmoschus esculentus* (L). Moench and *Lycopersicon lycopersicum* Mill. *Seaweed Res Utilin.* 26:121-123.
- Shehata, S. M.; Heba, S. A. A.; Abou, A. Y. and Gizawy, A. M. 2011. Effect of foliar spraying with amino acids and seaweed extract on growth chemical constituents yield and its quality of celeriac. *Plant. J. Sci. Res.* 58(2):257-265.
- Sivasankari, S.; Venkatesalu, V.; Anantharaj, M. and Chandrasekaran, M. 2006. Effect of seaweed extracts on the growth and biochemical constituents of *Vigna sinensis*. *Bio. Technol.* 14(97):1745-1751.
- Spinelli, F. G.; Fiori, M.; Noferini, M.; Sprocatti, and Costa, G. 2009. Perspectives on the use of a seaweed extract to moderate the negative effects of alternate bearing in apple trees. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 84(1):131-137.
- Spinelli, F.; Giovanni, F.; Massimo, N.; Mattia, S. and Guglielmo, C. 2010. A novel type of seaweed extract as a natural alternative to the use of iron chelates in strawberry production. *Scientia Horticulturae.* 125(3):263-269.
- Subba, R. P. V.; Mantri, V. A. and Ganesan, K. 2007. Mineral composition of edible seaweed *Porphyra vietnamensis*. *Food Chem.* 102:215-218.
- Sunarpi, A.; Jupri, R.; Kurnianingsih, N. I. and Nikmatullah, A. 2010. Effect of seaweed extracts on growth and yield of rice plants. *Bioscience.* 2(2):73-77.
- Tanaka, M.; Yap, D. C. H. and Hew C. S. 2005. The physiology of Cymbidium plantlets cultured in vitro under conditions of high carbon dioxide and low photosynthetic photon flux density. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 74:632-638.
- Thirumarar, G.; Arumugam, M.; Arumugam, R. and Anantharaman, P. 2009. Effect of seaweed liquid fertilizer on growth and pigment concentration of *Abelmoschus esculentus* (L) Medikus. *American-Eurasian J. Agron.* 2(2):57-66.
- Vote, C.; Hall, A. and Charlton, P. 2015. Carbon dioxide, water and energy fluxes of irrigated broad-acre crops in an Australian semi-arid climate zone. *Environ. Earth Sci.* 73:449-465.
- Zarco, P. E.; López, P. M. C.; Salinas, M. Y. y González, H. V. A. 2005. Marcadores fisiológicos de la tolerancia a sequía en maíz. *Agrociencia.* 39(5):517-528.
- Zermeño-González, A.; Villatoro-Moreno, J. J.; Cortés-Bracho, M.; Cadena-Zapata, E. A.; Catalán-Valencia, M. A.; García-Delgado, y Munguía-López, J. P. 2012. Estimación del intercambio neto de CO<sub>2</sub> en un cultivo de caña de azúcar durante el ciclo de plantilla. *Agrociencia* 46(6):579-591.
- Zodape, S. T.; Gupta, A.; Bhandari, S. C.; Rawat, U. S.; Chaudhary, D. R. and Eswaran, K. 2011. Foliar application of seaweed sap as biostimulant for enhancement of yield and quality of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *J. Sci. Ind. Res.* 70(3):215-219.