



Caracterización química y evaluación de la actividad biológica de extractos de Spirulina

Chemical characterization and evaluation of the biological activity of Spirulina extracts

 Anaysa Gutierrez Almeida*,  Miriam de la C. Núñez Vázquez,  Yanelis Reyes Guerrero,  Geydi Pérez Domínguez,  Lisbel Martínez González

Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), carretera San José-Tapaste, km 3½, Gaveta Postal 1, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba. CP 32 700

RESUMEN : El incremento en el rendimiento y la productividad de los cultivos, sin afectar el medio ambiente, es uno de los desafíos que experimentan los agricultores en la época actual. El empleo de extractos de Spirulina (*Arthrospira platensis*) como bioestimulante vegetal, es una de las opciones más viables a utilizar con estos fines. El objetivo del presente trabajo fue la obtención, caracterización y evaluación de la actividad biológica de algunos extractos alcohólicos de Spirulina. Para ello, se prepararon los extractos a partir de Spirulina en polvo utilizando etanol como solvente en dos concentraciones (70 y 90 %), dos relaciones masa-solvente (1:20 y 1:10) y dos tiempos de maceración (10 y 21 días) y se determinó el contenido de proteínas, fenoles y flavonoides de cada uno mediante determinaciones espectrofotométricas. La actividad biológica fue evaluada utilizando un ensayo de germinación de semillas de arroz a partir de la imbibición de semillas durante 24 h y el proceso de germinación se llevó a cabo en placas Petri con agua destilada durante siete días. Los resultados obtenidos de la caracterización química permitirán adecuar los parámetros de extracción en función de los componentes que se quieran favorecer y el efecto fisiológico que se quiera lograr, puesto que, la concentración de proteínas, fenoles y flavonoides en los extractos influyó significativamente en el porcentaje final de germinación de las semillas de arroz.

Palabras clave: *Arthrospira platensis*, composición, germinación, arroz.

ABSTRACT: The increase in the yield and productivity of crops, without affecting the environment, is one of the challenges that farmers experience today. The use of Spirulina (*Arthrospira platensis*) extracts as a plant biostimulant is one of the most viable options to use for these purposes. The objective of this work was to obtain, characterize and evaluate the biological activity of some alcoholic extracts of Spirulina. For this, extracts were prepared from Spirulina powder using ethanol as solvent in two concentrations (70 and 90 %), two mass:solvent ratios (1:20 and 1:10) and two maceration times (10 and 21 days) and the content of proteins, phenols and flavonoids of each was determined by spectrophotometric determinations. Biological activity was evaluated using a rice seed germination assay from seed imbibition for 24 h and the germination process was carried out in Petri dishes with distilled water for seven days. The results obtained from the chemical characterization will allow to adapt the extraction parameters depending on the components that are to be favored and the physiological effect that is to be achieved, since the concentration of proteins, phenols and flavonoids in the extracts significantly influenced the percentage end of germination of rice seeds.

Key words: *Arthrospira platensis*, composition, germination, rice.

*Autor para correspondencia: anaysa@inca.edu.cu

Recibido: 08/07/2023

Aceptado: 12/05/2024

Conflicto de intereses: Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Contribución de los autores: **Conceptualización-** Miriam de la C. Núñez Vázquez, Yanelis Reyes Guerrero, Anaysa Gutierrez Almeida.

Investigación- Anaysa Gutierrez Almeida, Miriam de la C. Núñez Vázquez, Yanelis Reyes Guerrero, Geydi Pérez Domínguez, Lisbel Martínez González. **Supervisión-** Miriam de la C. Núñez Vázquez, Yanelis Reyes Guerrero. **Metodología** - Anaysa Gutierrez Almeida, Miriam de la C. Núñez Vázquez, Yanelis Reyes Guerrero, Geydi Pérez Domínguez, Lisbel Martínez González. **Escritura del borrador inicial** - Anaysa Gutierrez Almeida. **Revisión y arreglo del borrador inicial**- Yanelis Reyes Guerrero, Miriam de la C. Núñez Vázquez, Anaysa Gutierrez Almeida. **Escritura y edición final**- Miriam de la C. Núñez Vázquez, Yanelis Reyes Guerrero, Anaysa Gutierrez Almeida. **Revisión y aprobación del último borrador y curación de datos**- Miriam de la C. Núñez Vázquez, Yanelis Reyes Guerrero, Anaysa Gutierrez Almeida.

Este artículo se encuentra bajo los términos de la licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial (CC BY-NC 4.0). <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



INTRODUCCIÓN

En años recientes, los productos naturales a base de algas y cianobacterias se están utilizando como sustitutos agroquímicos y han adquirido gran importancia por los beneficios que estos tienen en los cultivos y por el reducido impacto que causan al medio ambiente. Se ha comprobado que su aplicación aumenta determinadas expresiones metabólicas y fisiológicas en las plantas. Dichos productos, como son los extractos de algas y cianobacterias, generalmente, se obtienen por el uso de un solvente y un proceso de extracción adecuado, se encuentran principalmente comercializados como biofertilizantes por su alto contenido de macro y micronutrientes o como bioestimulantes por contener, entre otros compuestos, hormonas promotoras del crecimiento vegetal (1-4).

La *Spirulina* (*Arthrospira platensis*), una de las más ampliamente utilizadas para estos fines, es una cianobacteria microscópica azul-verdosa, donde el color azul procede de la ficocianina presente y el verde de la clorofila y estuvo considerada hasta hace muy poco tiempo como una microalga. Deriva su nombre de la naturaleza espiral de sus filamentos y se ha convertido en objeto de estudio científico debido a su biodisponibilidad de nutrientes, ya que entre el 85-95 % son asimilables (5).

Posee, aproximadamente, del 60-70 % de su masa seca en proteínas con alta biodisponibilidad, también contiene clorofilas, así como compuestos fenólicos y flavonoides que pueden actuar como antioxidantes naturales (6-8). Es el organismo terrestre y acuático de mayor contenido proteico y mejor aminograma y digestibilidad (7); por lo que es muy utilizada como fuente de aminoácidos para el hombre, los animales y para las plantas. Además, contiene ácidos grasos poliinsaturados esenciales y vitaminas, así como xantinas, ficobiliproteínas (9,10), carbohidratos, nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, hierro, manganeso, zinc (10). Presenta, también, un alto contenido en vitaminas B₁₂, B₁, B₂, B₆ y E, biotina, ácido pantoténico, ácido fólico, inositol y niacina (10), compuestos halogenados, policétidos, agar agar, ácido alginico y carragenina (11), gran riqueza en α - y β carotenos (7,12), ficocianina, considerables cantidades de ácido α -linolénico (ácido graso poliinsaturado con diferentes efectos beneficiosos) (13), una alta concentración de fitohormonas, oligoelementos, antioxidantes y polisacáridos, por lo tanto, es un complemento biológico excelente (14).

Los efectos que la aplicación de *Spirulina* ha provocado en diferentes especies vegetales, han sido informados por diversos autores. Así, en *Amaranthus gangeticus*, se ha encontrado que la imbibición de las semillas y la aplicación foliar de extractos de *Spirulina* incrementaron los niveles de proteínas (14) y de hierro en las plantas (15). De igual forma, se informó que la imbibición de semillas de *Phaseolus aureus* y *Solanum lycopersicum* L., en extractos de esta cianobacteria, aumentó los niveles de Zn en las plantas (16). En la especie *Solanum melongena* L., la aplicación de un fertilizante comercial a base de *Spirulina* incrementó el rendimiento de las plantas sin afectar los niveles foliares de N, P, K y Na ni los indicadores de calidad del mismo (17).

Además, se comprobó que el extracto de *Spirulina platensis* tiene efectos positivos en la germinación de semillas de trigo y cebada, así como en las longitudes de raíces y tallos (18).

En Cuba, se cultiva la *Spirulina* desde hace más de tres décadas; sin embargo, su uso con fines agrícolas ha sido muy limitado y no se dispone de información acerca de la utilización de extractos con estos fines. Por esta razón, el objetivo del presente trabajo fue la obtención, caracterización y evaluación de la actividad biológica de algunos extractos alcohólicos de *Spirulina*.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se desarrolló en el Departamento de Fisiología y Bioquímica Vegetal del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA). Los extractos se prepararon a partir de *Spirulina* en polvo proveniente de la Empresa Génix de LABIOFAM S.A., usando Etanol (Etanol absoluto M=46,07) como solvente.

Para la elaboración de los extractos fueron estudiadas dos concentraciones de etanol (70 y 90 %), dos relaciones masa-solvente (1:20 y 1:10) y dos tiempos de maceración (10 y 21 días). Los extractos obtenidos fueron los siguientes:

1. Relación masa-solvente 1:20 utilizando EtOH 90 % durante 21 días
2. Relación masa-solvente 1:20 utilizando EtOH 90 % durante 10 días
3. Relación masa-solvente 1:20 utilizando EtOH 70 % durante 21 días
4. Relación masa-solvente 1:20 utilizando EtOH 70 % durante 10 días
5. Relación masa-solvente 1:10 utilizando EtOH 90 % durante 21 días
6. Relación masa-solvente 1:10 utilizando EtOH 90 % durante 10 días
7. Relación masa-solvente 1:10 utilizando EtOH 70 % durante 21 días
8. Relación masa-solvente 1:10 utilizando EtOH 70 % durante 10 días

Caracterización química de los extractos

La caracterización química de los extractos se realizó mediante métodos de análisis bioquímicos con determinaciones espectrofotométricas de proteínas, flavonoides y fenoles a partir de la representación de la curva patrón correspondiente a cada técnica con la medición de cuatro repeticiones de absorbancias de cada patrón. Fueron obtenidas tres curvas de calibración, donde se graficaron valores de absorbancia de cada patrón en función de la concentración (19).

La cuantificación de proteínas de cada extracto se realizó mediante el método de Micro-Lowry (20), el contenido de fenoles según el método de Folin-Ciocalteu (21) y los flavonoides se determinaron utilizando un método espectrofotométrico (22).

Evaluación de la actividad biológica de los extractos

Para determinar si la composición de proteínas, fenoles y flavonoides influían en la actividad biológica de los extractos, se les realizó la evaluación biológica a los extractos de menor (A) y mayor (B) contenido de dichos compuestos. Para esto, se realizó un experimento en el que se embebieron semillas de arroz cv. INCA LP-7, durante 24 h, con diferentes concentraciones (5; 1; 0,5; 0,05; 0,005 mg L⁻¹) de los extractos A y B.

Para la germinación, las semillas se colocaron en placas Petri (20 semillas por placa y cuatro placas por tratamiento) que contenían agua destilada. Los tratamientos conformados fueron los siguientes:

1. Imbibición con agua destilada (Control)
2. Imbibición con 5 mg L⁻¹ del extracto A
3. Imbibición con 1 mg L⁻¹ del extracto A
4. Imbibición con 0,5 mg L⁻¹ del extracto A
5. Imbibición con 0,05 mg L⁻¹ del extracto A
6. Imbibición con 0,005 mg L⁻¹ del extracto A
7. Imbibición con 5 mg L⁻¹ del extracto B
8. Imbibición con 1 mg L⁻¹ del extracto B
9. Imbibición con 0,5 mg L⁻¹ del extracto B
10. Imbibición con 0,05 mg L⁻¹ del extracto B
11. Imbibición con 0,005 mg L⁻¹ del extracto B

Las placas se colocaron en la cámara de germinación a 28 °C por siete días, evaluándose el número de semillas germinadas por placa a las 24, 48, 72 y 144 horas, con lo que se determinó el porcentaje final de germinación y la velocidad de germinación, y a los diez días, la masa seca de las radículas (25 radículas por tratamiento, cinco muestras de cinco radículas cada una).

Para el procesamiento de los datos, se calcularon las medias, las desviaciones estándar y los intervalos de confianza a $\alpha=0,05$, mediante el programa Excel.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización química de los extractos

En la [Tabla 1](#) se muestra el contenido de proteínas, fenoles y flavonoides presentes en los extractos analizados.

Como se muestra en la [Tabla 1](#), las mayores concentraciones de proteínas se obtuvieron cuando se empleó EtOH al 70 % (extractos 3, 4, 7, 8), independientemente de la relación masa-solvente utilizada, por lo que una menor concentración de etanol favorece la presencia de proteínas en los extractos. Nótese que con la relación masa-solvente 1:20 y una maceración de 10 días (extracto 4), que constituye el extracto más económico, se obtuvo un buen contenido de proteínas; lo que sugiere que este extracto pudiera ser utilizado para la biofortificación de los cultivos.

Con el contenido de fenoles, ocurrió algo similar, mientras que las mayores concentraciones de flavonoides se obtuvieron en los extractos obtenidos con EtOH al 90 % (extractos 1, 2, 5, 6), independientemente, de la relación masa-solvente y el tiempo de maceración.

De esto se desprende, que la extracción con EtOH 70 % favoreció el contenido de proteínas solubles y de fenoles totales de los extractos, lo cual es lógico ya que al tener una cantidad de agua mayor se favorece la polaridad. Según Cepoi y cols (2009) (23), la extracción de compuestos antioxidantes de biomasa de Spirulina fue más efectiva con una solución de etanol al 70 %. Igualmente, la actividad antioxidante se vio favorecida en extractos de Spirulina obtenidos con el etanol como solvente, por encima de otros solventes como H₂O, metanol y éter de petróleo (24). Por otra parte, la extracción de compuestos fenólicos totales se vio favorecida en extractos preparados con 50 % de etanol sobre los que se prepararon con 50 % de dimetil sulfoxido (25).

La maceración con la solución de EtOH 90 % incrementó el contenido de flavonoides totales, lo cual pudiera ser útil para favorecer cultivos sometidos a estrés ambiental, ya que se conoce el papel de estos compuestos en incrementar la actividad antioxidante (26). Otros autores han obtenido altas concentraciones de flavonoides, alcaloides y saponinas

Tabla 1. Concentración de proteínas solubles totales, fenoles y flavonoides de los diferentes extractos alcohólicos de Spirulina

Extractos ^o	Proteínas (µg µL ⁻¹)	Fenoles (µg µL ⁻¹)	Flavonoides (µg µL ⁻¹)
1	5,5663 ± 1,1764	0,6513 ± 0,0420	3,1232 ± 0,1822*
2	6,7619 ± 0,8062	0,6255 ± 0,0339	2,9988 ± 0,1405*
3	26,4102 ± 1,7561*	1,3309 ± 0,0184*	1,8640 ± 0,1030
4	13,0988 ± 2,2376*	0,7109 ± 0,0181	0,6049 ± 0,0849
5	10,2957 ± 1,9360	0,8627 ± 0,0389	4,4198 ± 0,1523*
6	7,7716 ± 0,5229	0,7421 ± 0,0426	3,3150 ± 0,0842*
7	17,8415 ± 0,3408*	1,1201 ± 0,0181*	1,8506 ± 0,0719
8	21,0298 ± 2,4684*	1,0707 ± 0,0244*	1,4563 ± 0,0473

1. Relación masa-solvente 1:20 utilizando EtOH 90% durante 21 días. 2. Relación masa-solvente 1:20 utilizando EtOH 90 % durante 10 días. 3. Relación masa-solvente 1:20 utilizando EtOH 70 % durante 21 días. 4. Relación masa-solvente 1:20 utilizando EtOH 70 % durante 10 días. 5. Relación masa-solvente 1:10 utilizando EtOH 90% durante 21 días. 6. Relación masa-solvente 1:10 utilizando EtOH 90 % durante 10 días. 7. Relación masa-solvente 1:10 utilizando EtOH 70 % durante 21 días. 8. Relación masa-solvente 1:10 utilizando EtOH 70 % durante 10 días. *Medias que difieren significativamente del tratamiento control según intervalo de confianza a $\alpha=0,05$

de biomasa de Spirulina con la extracción con etanol absoluto (27).

Es interesante destacar que las concentraciones de los compuestos evaluados no tuvieron diferencias significativas cuando se comparan los dos tiempos de maceración empleados. El factor tiempo se hace más significativo cuando se utilizan métodos como la ultrasonificación o la extracción asistida por microondas, no tanto la maceración (28).

La presencia de proteínas, fenoles, flavonoides, etc. en los extractos de Spirulina, favorece la germinación de semillas, la formación de plantas sanas y equilibradas, logran un mayor rendimiento del cultivo, mayor vida poscosecha, mayor vigor de hoja, menos incidencia de enfermedades y mayor resistencia frente a estrés por factores climáticos o sequías (29-31). Se debe tener en cuenta, que en los extractos, como se mencionó anteriormente, hay otros muchos compuestos que no se determinaron en este trabajo y que pueden influir en la actividad biológica de los mismos.

No obstante, con esta caracterización química limitada, se decidió seleccionar los extractos 1 y 3 como los extractos de menor y mayor contenido de proteínas y fenoles respectivamente, para evaluar su actividad biológica como estimulador de la germinación de semillas de arroz.

Actividad biológica de los extractos

La velocidad y el porcentaje final de germinación de las semillas de cada uno de los tratamientos se muestran en la **Tabla 2**. Como se puede apreciar, hubo influencia en el porcentaje final de germinación con dos concentraciones (5 y 0,5 mg L⁻¹) del extracto 3 aunque no hubo diferencias significativas en la velocidad de germinación, por lo que la mayor concentración de proteínas solubles y fenoles totales que presentó dicho extracto incrementó significativamente el porcentaje final de germinación de las semillas de arroz cv. INCA LP-7.

Los resultados de la masa seca de radículas mostraron que no hubo diferencias significativas entre tratamientos; sin embargo, la inmersión de las semillas en 5 mg L⁻¹ y 0,05 mg L⁻¹ del extracto 3, incrementaron en 8,2 y 10,3 % la masa seca de las radículas, respectivamente. Nótese que el tratamiento con 5 mg L⁻¹ de este extracto fue uno de los que incrementó significativamente el porcentaje final de germinación; confirmando la influencia que una mayor concentración de proteínas solubles y fenoles totales ejerció en la germinación y crecimiento inicial de las plántulas de arroz.

Tabla 2. Efecto de diferentes concentraciones de dos extractos alcohólicos de Spirulina en la germinación de semillas de arroz cv. INCA LP-7 (Medias $\pm$ intervalos de confianza)

Concentraciones mg L ⁻¹	Extractos alcohólicos de Spirulina	Porcentaje final de germinación	Velocidad de germinación (semillas germinadas día ⁻¹)
0	-	72,50 $\pm$ 2,83	11,95 $\pm$ 0,39
5	Extracto 1	72,50 $\pm$ 6,33	10,95 $\pm$ 1,59
1		75,00 $\pm$ 8,95	10,62 $\pm$ 0,92
0,5		82,50 $\pm$ 10,20	12,91 $\pm$ 1,29
0,05		78,33 $\pm$ 5,66	12,05 $\pm$ 0,83
0,005		75,00 $\pm$ 4,00	11,08 $\pm$ 0,78
5	Extracto 3	82,50 $\pm$ 6,33*	12,40 $\pm$ 1,42
1		71,25 $\pm$ 4,69	9,29 $\pm$ 0,80
0,5		83,33 $\pm$ 71,48*	11,44 $\pm$ 0,92
0,05		68,75 $\pm$ 14,07	10,04 $\pm$ 2,52
0,005		67,50 $\pm$ 8,49	9,54 $\pm$ 0,82

Medias que difieren significativamente del tratamiento control según intervalo de confianza a $\alpha=0,05$. Extracto 1: Relación masa-solvente 1:20 utilizando EtOH 90% durante 21 días. Extracto 3: Relación masa-solvente 1:20 utilizando EtOH 70 % durante 21 días.

Tabla 3. Efecto de diferentes concentraciones de dos extractos alcohólicos de Spirulina en la masa seca de radículas de plántulas de arroz cv. INCA LP-7 (Medias $\pm$ intervalos de confianza)

Concentraciones mg L ⁻¹	Extractos alcohólicos de Spirulina	Masa seca de radículas (mg planta ⁻¹)
0	-	4,37 $\pm$ 0,54
5	Extracto 1	4,00 $\pm$ 0,23
1		4,50 $\pm$ 0,69
0,5		4,02 $\pm$ 0,57
0,05		4,15 $\pm$ 0,34
0,005		4,44 $\pm$ 0,69
5	Extracto 3	4,73 $\pm$ 0,35
1		3,92 $\pm$ 0,60
0,5		3,81 $\pm$ 0,30
0,05		4,82 $\pm$ 0,49
0,005		4,04 $\pm$ 0,27

Extracto 1: Relación masa-solvente 1:20 utilizando EtOH 90 % durante 21 días. Extracto 3: Relación masa-solvente 1:20 utilizando EtOH 70 % durante 21 días

Las microalgas y sus extractos son estimulantes naturales que aceleran la germinación de las semillas y aumentan el vigor de las plántulas cuando se emplean en dosis relativamente bajas (32). Varios estudios describen sus efectos beneficiosos en el porcentaje, índice y tiempo medio de germinación, así como en la longitud de la plúmula y de la radícula. Estos resultados se atribuyen a la activación de rutas enzimáticas claves para la fisiología de la germinación. Por ejemplo, la α -amilasa es una enzima sintetizada en la capa de aleurona y su expresión génica está regulada por las giberelinas. Esta enzima es responsable de la movilización de sustancias de reserva, como el almidón, desde el endospermo para apoyar el crecimiento y diferenciación del embrión (33). Para demostrar esta hipótesis, recientemente, se informaron los efectos significativos que un extracto de *Spirulina platensis* ejercieron en el cultivo del maní (*Arachis hypogaea* L.), en indicadores tales como porcentaje de germinación de las semillas, longitud de la radícula y contenidos de proteínas y carbohidratos (32). En otro estudio, se informó sobre la mejora del vigor, la calidad y la germinación de semillas de frijol negro (*Vigna mungo* L.), correlacionado con el incremento del ácido giberélico y la actividad de la enzima α -amilasa, al ser embebidas en un extracto de *Spirulina platensis* al 1,5 % durante 3 horas (34). Por otra parte, se encontró que la utilización de un extracto metanólico (0,25 %) favoreció casi todos los indicadores de crecimiento, el contenido de nutrientes, los componentes de rendimiento y el nivel de fitohormonas de *Lupinus luteus* (35). En otra investigación realizada se encontró que al tratar semillas de tomate con 0,2 g/100 mL de un extracto de Spirulina, se obtuvo una tasa de germinación de 86,7 % (36), además concentraciones de 25 y 50 % de dicho extracto tuvieron un efecto positivo en la germinación de semillas y el desarrollo de plántulas de lechuga (37).

Los resultados obtenidos en esta investigación, aunque son preliminares aún, mostraron la importancia que tiene la concentración de etanol y el tiempo de maceración en la composición y actividad como bioestimulante agrícola de los extractos de Spirulina; por lo que es necesario continuar profundizando en este sentido, con vistas a la obtención de extractos activos biológicamente que puedan ser utilizados satisfactoriamente en la agricultura.

CONCLUSIONES

- La caracterización química de los extractos alcohólicos de Spirulina permitió seleccionar dos extractos para la evaluación de su actividad biológica.
- Una mayor concentración de proteínas solubles y fenoles de los extractos favorece la germinación y la masa seca de las radículas de plántulas de arroz.

RECOMENDACIONES

- Continuar caracterizando los extractos y evaluar la actividad biológica de los mismos en otros cultivos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Dmytryk A, Samoraj M, Moustakas K, Witek-Krowiak A, Chojnacka K. Bioactive fatty acids and compounds from *Spirulina (Arthrospira) platensis*: Potential as biostimulants for plant growth. *Sustain Chem Pharm* [Internet]. 2022 Dec 1 [cited 2024 Nov 25];30:100899. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352554122003035>
2. Kumar A, Ramamoorthy D, Verma DK, Kumar A, Kumar N, Kanak KR, et al. Antioxidant and phytonutrient activities of *Spirulina platensis*. *Energy Nexus* [Internet]. 2022 Jun 16 [cited 2024 Nov 25];6:100070. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S277242712200033X>
3. Das P, Khan S, Chaudhary AK, AbdulQuadir M, Taher MI, Al-Jabri H. Potential Applications of Algae-Based Biofertilizer. In: *Biofertilizers for Sustainable Agriculture and Environment*. Springer; 2019. p. 41-65.
4. Plaza BM, Gómez Serrano C, Acien Fernández FG, Jiménez Becker S. Effect of microalgae hydrolysate foliar application (*Arthrospira platensis* and *Scenedesmus* sp.) on *Petunia x hybrida* growth. *Journal of Applied Phycology*. 2018 Feb 19 [cited 2024 Nov 25]; Available from: <https://repositorio.ual.es/handle/10835/8381>
5. Belaustegui I. Espirulina: propiedades y beneficios - Jesús Sierra [Internet]. 2023 [cited 2024 Nov 25]. Available from: <https://jesussierra.com/espirulina/>
6. Kaur M, Bhatia S, Bayram I, Decker EA, Phutela UG. Oxidative stability of emulsions made with self-extracted oil from euryhaline microalgae *Spirulina* and *Scenedesmus*. *Algal Res* [Internet]. 2023 Sep 1 [cited 2024 Nov 25];75:103280. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211926423003132>
7. Manrich A, de Oliveira JE, Martins MA, Capparelli ML. Physicochemical and Thermal Characterization of the *Spirulina platensis*. *Journal of Agricultural Science and Technology* [Internet]. 2020;298-307. Available from: <http://www.davidpublisher.com/Public/uploads/Contribute/601b72a5d8536.pdf>
8. Munawaroh H, Fathur R, Gumilar G, Aisyah S, Yuliani G, Mudzakir A, et al. Characterization and physicochemical properties of chlorophyll extract from *Spirulina* sp. *J Phys Conf Ser* [Internet]. 2019 Nov 1;1280:022013. Available from: https://www.researchgate.net/publication/337443355_Characterization_and_physicochemical_properties_of_chlorophyll_extract_from_Spirulina_sp
9. Papadaki S, Kyriakopoulou K, Tzovenis I, Krokida M. Environmental impact of phycocyanin recovery from *Spirulina platensis* cyanobacterium. *Innov Food Sci Emerg Technol* [Internet]. 2017 Dec 1 [cited 2024 Nov 25];44:217-23. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1466856416305264>
10. Campanella L, Crescentini G, Avino P. Chemical composition and nutritional evaluation of some natural and commercial food products based on *Spirulina*. *Analisis*

- [Internet]. 1999 Jul 1;27:533-40. Available from: https://www.researchgate.net/publication/245275925_Chemical_composition_and_nutritional_evaluation_of_some_natural_and_commercial_food_productsbased_on_Spirulina
11. Ronga D, Biazzi E, Parati K, Carminati D, Carminati E, Tava A. Microalgal Biostimulants and Biofertilisers in Crop Productions. Agronomy [Internet]. 2019 Apr [cited 2024 May 14];9(4):192. Available from: <https://www.mdpi.com/2073-4395/9/4/192>
12. Wuang SC, Khin MC, Chua PQD, Luo YD. Use of *Spirulina* biomass produced from treatment of aquaculture wastewater as agricultural fertilizers. Algal Res [Internet]. 2016 Apr 1 [cited 2024 Nov 25];15:59-64. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211926416300480>
13. Sathasivam R, Radhakrishnan R, Hashem A, Abd_Allah EF. Microalgae metabolites: A rich source for food and medicine. Saudi J Biol Sci [Internet]. 2019 May 1 [cited 2024 Nov 25];26(4):709-22. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319562X17302784>
14. L A, P K, G SB. Evaluation of *Spirulina platensis* as microbial inoculants to enhanced protein levels in *Amaranthus gangeticus*. Afr J Agric Res [Internet]. 2016 Apr 14 [cited 2024 Nov 25];11(15):1353-60. Available from: <http://academicjournals.org/journal/AJAR/article-abstract/1221D1E58055>
15. Anitha L, Kalpana P, Bramari SG. BIOFORTIFICATION OF AMARANTHUS GANGETICUS USING SPIRULINA PLATENSIS AS MICROBIAL INOCULANT TO ENHANCE IRON LEVELS. Int J Res Appl Nat Soc Sci [Internet]. 2014 [cited 2024 Nov 25];2:103-10. Available from: https://www.academia.edu/7025447/BIOFORTIFICATION_OF_A_MARANTHUS_GANGETICUS_USING_SPIRULINA_PLATENSIS_AS_MICROBIAL_INOCULANT_TO_ENHANCE_IRON_LEVELS
16. Anitha L, Bramari GS, Kalpana P. Effect of supplementation of *Spirulina platensis* to enhance the zinc status in plants of *Amaranthus gangeticus*, *Phaseolus aureus* and tomato. Advances in Bioscience and Biotechnology. 2016;7(6):289-99. Available from: https://www.researchgate.net/publication/304608048_Effect_of_Supplementation_of_Spirulina_platensis_to_Enhance_the_Zinc_Status_in_Plants_of_Amaranthus_gangeticus_Phaseolus_aureus_and_Tomato
17. Dias G, Rocha R, Araújo J, Lima J, Guedes W. Growth, yield, and postharvest quality in eggplant produced under different foliar fertilizer (*Spirulina platensis*) treatments. Semina Ciênc Agrár [Internet]. 2016 Dec 14;37(6):3893. Available from: https://www.researchgate.net/publication/311851452_Growth_yield_and_postharvest_quality_in_eggplant_produced_under_different_foliar_fertilizer_Spirulina_platensis_treatments
18. Akgül F. Effect of *Spirulina platensis* (Gomont) Geitler Extract on Seed Germination of Wheat and Barley. Alinteri J Agric Sci [Internet]. 2019 Dec 31 [cited 2024 Nov 26];34(2):148-53. Available from: <https://dergipark.org.tr/en/pub/alinterizbd/issue/51098/639000>
19. Silva A de S e, de Magalhães WT, Moreira LM, Rocha MVP, Bastos AKP. Microwave-assisted extraction of polysaccharides from *Arthrospira (Spirulina) platensis* using the concept of green chemistry. Algal Res [Internet]. 2018 Nov 1 [cited 2024 Nov 26];35:178-84. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211926418301668>
20. Waterborg JH. The Lowry Method for Protein Quantitation. In: Walker JM, editor. The Protein Protocols Handbook [Internet]. Totowa, NJ: Humana Press; 2009 [cited 2024 Nov 26]. p. 7-10. Available from: https://doi.org/10.1007/978-1-59745-198-7_2
21. Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. Am J Enol Vitic [Internet]. 1965 Jan 1 [cited 2024 Nov 26];16(3):144-58. Available from: <https://www.ajevonline.org/content/16/3/144>
22. Quettier-Deleu C, Gressier B, Vasseur J, Dine T, Brunet C, Luyckx M, et al. Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. J Ethnopharmacol. 2000 Sep;72(1-2):35-42.
23. Cepoi L, Ludmila R, Vera M, Angela C, Chiriac T, Sadovnic D. Antioxidative activity of ethanol extracts from *Spirulina platensis* and *Nostoc linckia* measured by various methods. Analele Univ Din Oradea Fasc Biol [Internet]. 2009 Nov 1;TOM XVI. Available from: https://www.researchgate.net/publication/40422973_Antioxidative_activity_of_ethanol extracts_from_Spirulina_platensis_and_Nostoc_linckia_measured_by_various_methods
24. Varsale A, Singh V, Mali S, Parihar P, Mane R. Phytochemical analysis, antioxidant and antifungal activity of different solvent extracts of *Spirulina platensis* collected from Rankala Lake, Kolhapur, Maharashtra. Phytochem Anal [Internet]. 2019;10(1):36-42. Available from: <https://storage.unitedwebnetwork.com/files/521/ba6ab112b0e28c164f459c61b622daf1.pdf>
25. Martí-Quijal FJ, Ramon-Mascarell F, Pallarés N, Ferrer E, Berrada H, Phimolsiripol Y, et al. Extraction of Antioxidant Compounds and Pigments from *Spirulina (Arthrospira platensis)* Assisted by Pulsed Electric Fields and the Binary Mixture of Organic Solvents and Water. Appl Sci [Internet]. 2021 Jan [cited 2024 Nov 26];11(16):7629. Available from: <https://www.mdpi.com/2076-3417/11/16/7629>
26. Agustina S, Aidha NN, Oktarina E, Kurniati NF. Evaluation of Antioxidant and Wound Healing Activities of *Spirulina* sp. Extract. Egypt J Chem [Internet]. 2021 Aug 1 [cited 2024 Nov 26];64(8):4601-10. Available from: https://ejchem.journals.ekb.eg/article_162338.html
27. Yuniati R, Zainuri M, Kusumaningrum H. Qualitative Tests of Secondary Metabolite Compounds in Ethanol Extract of *Spirulina platensis* from Karimun Jawa Sea, Indonesia. Biosaintifika J Biol Biol Educ [Internet]. 2020 Dec 25 [cited 2024 Nov 26];12(3):343-9. Available from: <https://journal.unnes.ac.id/nju/biosaintifika/article/view/23153>
28. Kong S, Wiratni W, Budiman A. Protein Extraction from *Spirulina platensis* by Using Ultrasound Assisted Extraction: Effect of Solvent Types and Extraction Time. Key Eng Mater [Internet]. 2021 Jan 11;872:33-7. Available from: https://www.researchgate.net/publication/348402116_Protein_Ex

- traction_from_Spirulina_platensis_by_Using_Ultrasound_Assisted_Extraction_Effect_of_Solvent_Types_and_Extra
ction_Time
29. Rahim A, Çakir C, Ozturk M, Şahin B, Soulaïmani A, Sibaoeïh M, et al. Chemical characterization and nutritional value of *Spirulina platensis* cultivated in natural conditions of Chichaoua region (Morocco). *South Afr J Bot* [Internet]. 2021 Sep 1 [cited 2024 Sep 23];141:235-42. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629921001770>
30. Silva SC, Almeida T, Colucci G, Santamaria-Echart A, Manrique YA, Dias MM, et al. Spirulina (*Arthrospira platensis*) protein-rich extract as a natural emulsifier for oil-in-water emulsions: Optimization through a sequential experimental design strategy. *Colloids Surf Physicochem Eng Asp* [Internet]. 2022 Sep 5 [cited 2024 Nov 26];648:129264. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927775722010196>
31. López-Padrón I, Martínez-González L, Pérez-Domínguez G, Reyes-Guerrero Y, Núñez-Vázquez M, Cabrera-Rodríguez JA. Las algas y sus usos en la agricultura. Una visión actualizada. *Cultiv Trop* [Internet]. 2020 Aug 5 [cited 2024 May 14];41(2):e10-e10. Available from: <https://ediciones.inca.edu.cu/index.php/ediciones/article/view/1554>
32. Sivalingam KM. Isolation, identification and evaluation of *Spirulina platensis* for its effect on seed germination of groundnut (*Arachis hypogaea* L.), Wolaita Sodo, Southern Ethiopia. *J. Algal Biomass Utln*. 2020;11(2):34-42. Available from: <https://storage.unitedwebnetwork.com/files/521/4ca5cd59fe556a59877dcb110401ee19.pdf>
33. Oliveira GE, Pinho RGV, Andrade T de, Pinho ÉV de RV, Santos CD dos, Veiga AD. Physiological quality and amylase enzyme expression in maize seeds. *Ciênc E Agrotecnologia* [Internet]. 2013 Feb [cited 2024 Sep 23];37:40-8. Available from: <https://www.scielo.br/j/cagro/a/JJpGvzwnJkQ9Zx5JLQRN9xR/?lang=en>
34. Field Crop Research Institute, VAAS, Vietnam, Thinh NQ. Influences of seed priming with *Spirulina platensis* extract on seed quality properties in black gram (*Vigna mungo* L.). *Vietnam J Sci Technol Eng* [Internet]. 2021 Mar 31 [cited 2024 Nov 26];63(1):36-41. Available from: <https://vietnamscience.vjst.vn/index.php/VJSTE/article/view/388/268>
35. Shedeed ZA, Gheda S, Elsanadily S, Alharbi K, Osman MEH. *Spirulina platensis* Biofertilization for Enhancing Growth, Photosynthetic Capacity and Yield of *Lupinus luteus*. *Agriculture* [Internet]. 2022 Jun [cited 2024 Nov 26];12(6):781. Available from: <https://www.mdpi.com/2077-0472/12/6/781>
36. Iuliana Neag E, Stupar Z, Roman C. EFFECT OF SPIRULINA SPP. EXTRACTS ON TOMATO AND ONION SEED GERMINATION |. *AGRICULTURA* [Internet]. 2022 [cited 2024 Nov 26];124(3-4). Available from: <https://journals.usamvcluj.ro/index.php/agricultura/article/view/14437>
37. Akgül F, Akgül R. The effect of *Spirulina platensis* (Gomont) Geitler extracts on seed germination of *Lactuca*. *Alinteri Zirai Bilim Derg* [Internet]. 2019 Dec 31 [cited 2024 Nov 26];34(2):148-53. Available from: <https://ageconsearch.umn.edu/record/296790?v=pdf>