

LA QUITOSANA UN PRODUCTO BIOACTIVO DE DIVERSAS APLICACIONES.

MSc . Lliddrey Torres Hernández

Universidad de Matanzas “Camilo Cienfuegos”, Vía Blanca Km.3, Matanzas,
Cuba.

Resumen

En este trabajo se describen las potencialidades de un producto bioactivo no tóxico, biodegradable y de producción nacional de amplio espectro de acción en la agricultura. Se profundiza en las formas de obtención y caracterización de las quitosanas, así como la actividad microbiana y el papel que juega en la protección de las plantas y elevación de los rendimientos de los cultivos de interés agrícola.

Palabras claves: quitosana, producto bioactivo, rendimientos.

Introducción

En la actualidad existe una creciente necesidad mundial de producción de alimentos debido a su escasez en determinadas zonas geográficas y a los incrementos de los precios y costos de producción que resultan prohibitivos para muchos países del tercer mundo. Muchos de los agroquímicos que se utilizan actualmente tienen altos precios en el mercado mundial, lo que contribuye a los altos costos de producción agrícola. En adición, todavía la mayor parte de los químicos que se utilizan para la protección de los cultivos contra sus enfermedades y algunos que incrementan la eficiencia productiva son considerados agentes contaminantes del suelo, de los propios cultivos, de la biodiversidad y causantes de enfermedades en animales y humanos.

La ciencia moderna en los últimos 20 años se ha lanzado a la búsqueda de soluciones y alternativas para dichos problemas que mantengan la eficiencia de la producción agrícola.

Para esto el desarrollo de las distintas ramas de la biología vegetal ha permitido profundizar en los mecanismos que las plantas tienen y desarrollan frente a los diferentes retos que la naturaleza y el hombre les impone, como son los diferentes estreses bióticos y abióticos a que están sometidos los cultivos en la actualidad. Los resultados de estas últimas dos décadas permiten vislumbrar el desarrollo de una nueva generación de compuestos inocuos o menos agresivos al ambiente que basan su utilidad en la manipulación de las respuestas naturales de los vegetales contra los diferentes estreses y en maximizar las potencialidades intrínsecas de los cultivos para elevar sus rendimientos.

El siguiente escrito versa sobre las potencialidades de un producto bioactivo (quitosana) compuesto derivado por desacetilación de la quitina procedente del exoesqueleto de los crustáceos cuyas propiedades garantizan una efectividad económica y práctica superior a otros agentes tradicionales, ya que no produce contaminantes, es biocompatible con tejidos de plantas y animales y antimicrobiano. Su aplicación potencial en la agricultura, es muy importante ya que permite una gran estimulación, germinación, crecimiento y desarrollo de algunas plantas, a la vez que activa los mecanismos de defensa en las mismas, los cuales están estrechamente relacionados con la inducción de resistencia sistemática al ataque de microorganismos. (Cabrera, 1999).

Desarrollo

La quitosana un polímero de la quitina.

La quitina es un polisacárido lineal compuesto de residuos de 2-acetamida-2-deoxy-D-glucopiranosido unidos por enlaces β -(1 \rightarrow 4). Es el segundo polisacárido más común en la naturaleza después de la celulosa y difiere de ésta por el contenido de nitrógeno presente en cada residuo de glucosa en el caso de la molécula de quitina. Este polímero está presente de manera natural en las paredes celulares de varios grupos de hongos, así como en el exoesqueleto de insectos y artrópodos. La producción de quitina a partir del exoesqueleto de los crustáceos, su principal fuente mundial, se incrementó substancialmente en los últimos 20 años como resultado de la versatilidad y las múltiples aplicaciones de este polímero y sus derivados en los campos de la medicina, la nutrición, la industria, la cosmética, el cuidado del medio ambiente y la agricultura (Majeti y Kumar, 2000; Hague *et al.*, 2005; Bautista-Baños *et al.*, 2006).

El polímero de forma comercial se obtiene en diferentes países a partir de los residuos de crustáceos de la industria pesquera y de la industria alimentaria a través del proceso de elaboración de alimentos, entre las principales fuentes de obtención destacan camarón, cangrejo y langosta (Du *et al.*, 2009; Al Sagheer *et al.*, 2009; Falcón *et al.*, 2008).

La quitosana y sus características químicas.

La Quitosana es el principal derivado de la quitina y se obtiene por desacetilación parcial o total de esta última, por lo que está fundamentalmente compuesta por residuos de glucosamina, 2-amino-2-deoxi- α -D-glucosa (Figura 1).

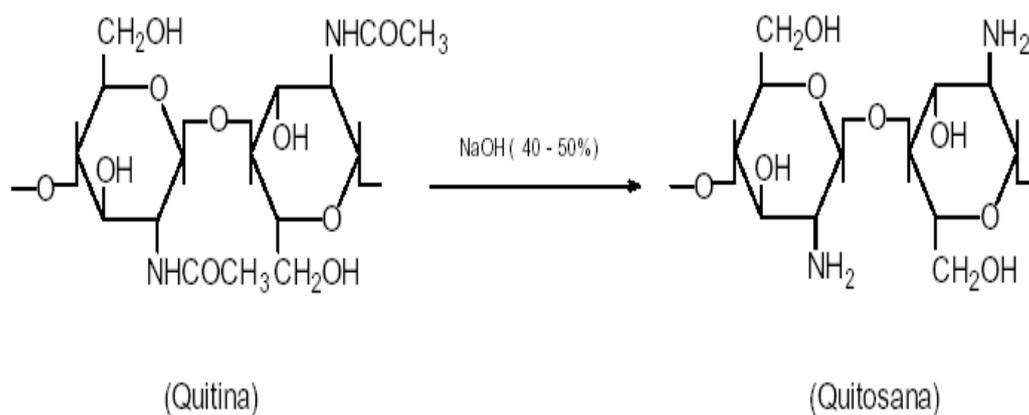


Figura 1. Estructura monomérica y enlaces que conforman los polímeros de quitina y quitosana. Formación de quitosana mediante desacetilación básica del grupo amida de la quitina.

Teóricamente, la quitosana se refiere al polímero de quitina carente de grupos Nacetilos. Sin embargo, usualmente los polímeros de quitosana que se obtienen y se aplican con distintos fines, poseen una acetilación parcial de los grupos aminos dependiente del método y las condiciones en que se obtuvieron a partir de la quitina. Debido a la reactividad biológica de las cargas positivas del grupo amino, los polímeros de

quitosana tendrán más o menos actividad biológica, en dependencia del número y distribución de cargas positivas en la molécula.

Por su carácter policationico es de gran importancia y se utiliza en la industria, en la cosmetología (aditivos del pelo, cremas faciales y para el cuerpo), la nutrición (preservantes, antioxidantes y antimicrobianos), la biotecnología (quelador, emulsificador, floculante), farmacología y medicina (fibras, drogas, membranas, órganos artificiales) y en la agricultura (modificadores de suelo, películas, fungicidas y elicitores), entre otras aplicaciones (Majeti y Kumar, 2000; Hague *et al.*, 2005; Bautista-Baños *et al.*, 2006).

Métodos de obtención de las quitosanas.

La masa molecular del polímero también juega un papel importante en sus efectos biológicos. Aunque varias metodologías pueden aplicarse para determinar la masa molecular de la quitosana, la viscosimetría es un método rápido y simple para la determinación de este parámetro. La conversión de quitina en quitosana reduce la masa molar promedio del polímero de $1-2,5 \times 10^6$ a $1-5 \times 10^5$ (Majeti y Kumar, 2000). La producción mundial de quitosana a partir de quitina de crustáceos sobrepasa los 1000 millones de toneladas, siendo Japón, EUA y la India los mayores productores, aunque también Noruega, Polonia, China y Australia tienen producciones elevadas (Tsigos *et al.*, 2000; Majeti y Kumar, 2000).

Los métodos de obtención de quitosana son fundamentalmente químicos y consisten en desacetilaciones básicas (NaOH) del grupo N-acetilo de la quitina que puede ejecutarse en condiciones de alta temperatura y concentración de NaOH (Método heterogéneo) o en condiciones más suaves de ambas variables (Método homogéneo). La diferencia de métodos redundan en las características de la quitosana obtenida que resulta mucho más desacetilada en condiciones heterogéneas, donde también el polímero estará más degradado (Tsigos *et al.*, 2000).

Sin embargo, la desacetilación básica, que es hasta el momento la forma de preparación más sencilla y utilizada, puede tener desventajas en las características del producto obtenido, como pueden ser la dispersión de masas moleculares y la distribución de la desacetilación del grupo amino en la molécula resultante, en relación con algunas de las aplicaciones farmacéuticas e industriales de la quitosana (Tsigos *et al.*, 2000).

Una alternativa para las desventajas de la forma química de obtención puede ser la desacetilación enzimática a través de quitina desacetilasas. Este tema ha sido de gran interés en los últimos 10 años y se han estudiado un grupo de enzimas de microorganismos con diferentes tipos de quitina (Tsigos *et al.*, 2000).

Los resultados demuestran que las enzimas desacetilan con una velocidad adecuada solo un 10% de la molécula de quitina, debido a impedimentos estéricos relacionados con la conformación del polímero. Resulta necesario aplicar métodos alternativos que causan cambios en las propiedades físicas del polímero previo a la aplicación de las desacetilasas para lograr porcentajes mayores de desacetilación (Tsigos *et al.*, 2000). Por lo anterior, no se ha informado aún de la preparación comercial de quitosana por vía enzimática.

Actividad antimicrobiana de las quitosanas

La actividad antimicrobiana de la quitosana ha sido documentada tanto en experimentos *in vitro* como *in situ* (Bautista-Baños *et al.*, 2006; Badawy y Rabea, 2011). La literatura informa que la inhibición del desarrollo de muchos patógenos, que incluyen hongos,

bacterias y oomycetes, está altamente correlacionada con el incremento de la concentración de quitosana en el medio de crecimiento, indicando que en la medida en que aumenta la concentración se incrementa la inhibición, existiendo diferencias entre acción fungistático y fungicida de acuerdo a las concentraciones que se aplican.

Desde hace más de dos décadas se han evaluado estos compuestos sobre todos los estadios del ciclo de vida de los hongos, siendo las estructuras reproductivas las más afectadas (Bautista-Baños et al., 2006; Badawy y Rabea, 2011).

El estudio del efecto de la quitosana en el grupo de los oomycetes es más reciente. Algunos autores han demostrado que polímeros de quitosana afectan el desarrollo vegetativo de aislados del género *Phytophthora*. El aumento de la concentración en dependencia de la especie causa una disminución significativa del crecimiento de las colonias, lo cual se ha podido observar en especies como *P. nicotianae*, *P. capsici* y *P. palmivora*, todos ellos patógenos importantes de numerosas especies de plantas (Xu et al., 2007; Falcón et al., 2008; González-Peña, 2011).

Algunas de estas especies son más sensibles que otras, porejemplo, *P. nicotianae* y *P. capsici* redujeron su crecimiento vegetativo más de un 50% con alrededor de 0,5 g/L (Xu et al., 2007a; Falcón et al., 2007, 2008), mientras que *P. palmivora* necesitó más de 2 g/L (González-Peña, 2011). Entre oomycetes y hongos verdaderos, los resultados muestran, en general, una aparente mayor sensibilidad en los primeros, cómo se ha observado al comparar experimentos entre *Phytophthora* y *Phytium* contra especies de diferentes grupos de hongos; siendo, incluso, mucho menos sensibles algunos hongos nematófagos y entomopatógenos (Falcón et al., 2007; Xu et al., 2007a; Palma-Guerrero et al., 2008).

Otros estadios de los microorganismos como son las estructuras reproductivas y de dispersión asexual pueden ser más sensibles que las de crecimiento vegetativo. La inhibición de la germinación de esporas por quitosana se ha observado en numerosos hongos, tales como *Aspergillus niger*, *Alternaria alternata*, *Rhizopus stolonifer* y *Mucor spp.*, *Pochonia chlamydosporia* (Hernández-Lauzardo et al., 2007; Liu et al., 2007; Palma-Guerrero et al., 2008). Dentro de los oomycetes, el género *Phytophthora* ha sido de los más estudiados. Polímeros y oligómeros de quitosana causan la inhibición de la formación y germinación de zoosporas y zoosporangios en *P. capsici*, *P. nicotianae* y *P. palmivora* (Xu et al., 2007; Falcón et al., 2010; González-Peña, 2011).

Las propiedades físico-químicas de estos compuestos también influyen en la inhibición del crecimiento de los microorganismos. Por ejemplo, la reducción de la masa molar del polímero y del grado de acetilación del nitrógeno aumenta la inhibición del crecimiento micelial y la germinación de esporas de *Phytophthora nicotianae* (Falcón et al., 2008, 2010).

De manera similar, en *Rhizopus stolonifer*, variaciones desde 1.0 hasta 2.0 g.L⁻¹ no alteraron la formación o germinación de esporas, sin embargo, se observó inhibición de estos procesos al emplear quitosanas de diferente masa molar (Hernández-Lauzardo et al., 2007).

Se sugiere que la acción antimicrobiana de la quitosana se deba, principalmente, al carácter policatiónico de la molécula cuando se encuentra en soluciones a pH por debajo de 6.0, ya que los grupos aminos, cargados positivamente, pueden interactuar con los fosfolípidos de las membranas celulares de los microorganismos y alterar su permeabilidad. Esto puede provocar desbalances osmóticos que conllevan a desorganizaciones estructurales y finalmente puede culminar con la lisis celular (El Gaouth et al., 1992; Bautista Baños et al., 2006). Para el caso de las oligoquitosanas se ha demostrado la internalización de estas moléculas en la célula microbiana y se

especula su posible interacción con el DNA de la misma (Xu et al., 2007). La magnitud de las afectaciones encontradas puede variar, fundamentalmente, en dependencia de las propiedades físico-químicas del polímero y las concentraciones que se empleen (Bautista Baños et al., 2006; Badawy y Rabea, 2001).

A pesar de las numerosas bondades de la quitosana demostradas en decenas de trabajos y del incremento en el número de patentes de aplicación en los últimos 15 años, puede considerarse este polímero todavía no muy explotado en el contexto agrícola mundial. De hecho, la mayoría de los productos agrícolas con base quitosana (Elexa®, Chitogel®, Aminogro®, Chito-Plant®, Chito-Care®, etc) comenzaron a aparecer aproximadamente hace una década y no tienen todavía una demanda o producción elevada (Ait Barka et al., 2004; Sharathchandra et al., 2004; Walker et al., 2004). Sin embargo, recientemente se ha notado un impulso de las evaluaciones de quitosana en condiciones controladas, no controladas y de invernadero (Agostini et al., 2003; Ait Barka et al., 2004; Walker et al., 2004, Falcón et al., 2005; 2010) e incluso su extensión y evaluación como resultado de decisiones gubernamentales (Walker et al., 2004). En la actualidad este polímero es reconocido dentro de los biopesticidas como un "activador de la defensa de las plantas derivado de crustáceos" (The Biopesticide Manual, 2001).

Mecanismos de acción de las quitosanas.

Este polímero se comporta como un polielectrolito lineal a pH ácido, posee una alta densidad de cargas, tiene la capacidad de quelar iones metálicos (Fe, metales pesados, etc) y de adherirse fácilmente a superficies cargadas negativamente.

La quitosana y sus derivados activan mecanismos de defensa al producir fitoalexinas, antibióticos producidos por las plantas para destruir o inhibir el crecimiento de patógenos provocando cambios fisiológicos y bioquímicos en las mismas.

Su actividad antimicrobiana ha sido documentada tanto en experimentos *in vitro* como *in situ* (Rabea et al., 2003 y Bautista-Baños et al., 2006). Aprovechando sus características antimicrobianas y antioxidantes se ha empleado para preservar productos alimenticios (Chien et al., 2006 y en la preservación de la calidad de frutos cortados (González-Aguilar et al., 2009).

La literatura informa que la inhibición del desarrollo de muchos patógenos está altamente correlacionada con el incremento de la concentración de quitosana en el medio de crecimiento, indicando que en la medida en que aumenta la concentración se incrementa la inhibición, existiendo diferencias entre acción fungistática y fungicida de acuerdo a las concentraciones probadas (Bautista-Baños et al., 2006).

Es aceptado entre los investigadores del tema que el carácter policatiónico de la quitosana es la clave de sus propiedades antimicrobianas. Allan y Hadwiger (1979) informaron que los grupos aminos cargados positivamente inhibían el crecimiento de hongos y bacterias, a través de la formación de complejos polielectrolitos con los grupos carboxilos cargados negativamente presentes en las paredes celulares de los microorganismos probados (Rabea et al., 2003; Raafat et al., 2008).

Estudios más recientes demuestran que la quitosana no solo es efectiva en inhibir el crecimiento del patógeno, sino que también provoca importantes cambios morfológicos, alteraciones estructurales y desorganizaciones moleculares dentro de la propia célula del patógeno (Bautista-Baños et al., 2006).

Varios autores han informado también la reducción de la esporulación y la inducción con quitosana de afectaciones morfológicas (área, longitud y forma), en esporas y

conidios de varios patógenos como son *Colletotrichum gloeosporioides*, *Rhizopus stolonifer*, *Penicillium digitatum*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus Níger* entre otros (Eweis *et al.*, 2005; Pacheco *et al.*, 2008; Hernández-Lauzardo *et al.*, 2008; Palma-Guerrero *et al.*, 2008).

Numerosos estudios han demostrado que la quitosana y sus fragmentos constituyen elicitores exógenos de respuestas defensivas en varias plantas, principalmente dicotiledóneas (Bautista-Baños *et al.*, 2006). Entre las respuestas se incluyen enzimas defensivas o involucradas en rutas metabólicas que conllevan a la producción de compuestos tóxicos al patógeno o al reforzamiento de las paredes y cubiertas de la planta para evitar la entrada de estos.

Los efectos antifúngicos del quitosano sobre diferentes fitopatógenos se han relacionado con el nivel de desacetilación de la molécula, la concentración aplicada y la masa molecular del compuesto, entre otros factores (Falcón *et al.*, 2008; Bautista-Baños *et al.*, 2006; Hernández-Lauzardo *et al.*, 2008). Por otra parte, se conoce que las características del polímero pueden influir en las propiedades funcionales de los sistemas donde se adicione, interviniendo de manera significativa en el efecto fisiológico de los microorganismos (Rabea *et al.*, 2003). La inducción de protección parcial o total de la planta por quitosana o sus oligómeros en diversos sistemas planta-patógeno ha sido ampliamente documentada en la última década (Ben-Shalom *et al.*, 2003; Molloy *et al.*, 2004), constituyendo en la actualidad estas oligosacarinas principios activos en varios agroquímicos de nuevo tipo destinados a la protección de los cultivos (Ait Barka *et al.*, 2004; Sharathchandra *et al.*, 2004).

Yu *et al.* (2002); señalan que la chitosana es un elicitador, que aplicado en los medios de cultivo para la micropropagación puede incrementar el crecimiento, el vigor y la materia seca de las plantas *in vitro* y como consecuencia facilitar la aclimatización necesaria en condiciones *ex vitro*.

Efecto del polímero de quitosana en la estimulación del crecimiento y desarrollo de plantas.

Desde finales de los años 80 se considera que las quitosanas pueden ejercer un efecto estimulador sobre el crecimiento de las plantas, de hecho, de esas fechas datan las primeras patentes aparecidas relacionadas con la estimulación del crecimiento y los rendimientos de cereales previamente tratados con quitosana (Hadwiger, 1989).

La literatura científica plantea que la quitosana es capaz de aumentar el peso seco de las hojas de plantas de soya y que el crecimiento total se mejora si se aplica 3 mg/ml del producto a cada planta (Prapagdee *et al.*, 2006). El uso de la quitosana acuosa también reporta beneficios a los parámetros de crecimiento. Semillas de trigo fueron embebidas en Elexa (formula acuosa de quitosana) para determinar su impacto sobre la germinación y vigor de la semilla. Se probó que una concentración de 1:19 produjo germinación máxima con un tiempo de imbibición de 6 horas. La germinación de las semillas tratadas fue de 91% con respecto al control que registró 83%, mientras el vigor incrementó en un índice de 353. El producto causó incrementos en los parámetros de crecimiento tales como altura de la planta; número, longitud y anchura de las vainas por planta y un aumento de 19% en el peso de las semillas. (Sharathchandra *et al.*, 2004)

Semillas de *Solanum lycopersicom*. L (tomate) una vez tratadas con diferentes concentraciones de quitosana (0,1, 100, 1000, 2000 mg.l⁻¹) durante 4 y 8 horas mostraron que la mejor respuesta, de manera general, se obtuvo cuando las semillas

fueron tratadas con 1mg/L de quitosana por cuatro (4) horas, ya que esta concentración estimuló de forma significativa la masa seca de las plantas. (No *et al.*, 2007)

Lay Nge *et al.*, (2006) informan que al utilizar varias preparaciones de quitosana para analizar su efecto sobre el cultivo *in vitro* del meristemo y la propagación del protocormo de la orquídea en medio líquido y sólido, se estimuló la inducción de la diferenciación del tejido de la orquídea.

Diversos son los usos dados a la quitosana en la agricultura, así se plantea por Devlieghere, *et al.*, (2004), su utilización tanto en semillas, como en hojas, frutos, el recubrimiento de vegetales como fertilizante y en la liberación controlada de los agroquímicos.

Por otra parte Sukwattanasinitt, *et al.*, (2001), informaron acerca de su empleo para aumentar la producción de las plantas y también Wanichpongpan, K. Suriyachan, S. Chandkrachang, *et al.*, (2001) y Nwe, *et al.*, (2004), plantearon su utilidad como agente estimulador de inmunidad en las plantas.

Otros autores como Hadwiger, *et al.*, (2002) señalaron su capacidad para protegerlas contra los microorganismos que les afectan, al igual que Pospieszny, *et al.*, (1991) y Bautista-Baños, *et al.*, (2003) señalaron su potencialidad como estimulador del crecimiento.

Efectos favorables en el crecimiento expresado mediante la longitud de los tallos y raíces, sus masas frescas y secas, la superficie foliar y los contenidos de clorofila en el cultivo del frijol (*Phaseolus vulgaris* super stryke) fueron informados por Sheikh (2011), destacándose en sus resultados que las mejores respuestas fueron encontradas con las menores dosis utilizadas.

Otras evidencias de los efectos positivos de las aplicaciones de quitosana en el crecimiento de las plantas han sido señaladas entre otros, por Hirano (1992) en *col*; por Lee *et al.* (2005) en soya y por Kim, *et al.*; (2005) en albahaca.

Todo lo mencionado anteriormente apoya la idea de considerar las quitosanas como reguladores del crecimiento y desarrollo en varias especies, ya que se ha demostrado una influencia probada en el crecimiento vegetativo y radical de las plantas (Hadwiger, 1989; Chibu *et al.*, 2002), el acortamiento y mejora del período de floración y fructificación (Utsunomiya *et al.*, 1998; Ohta *et al.*, 2004) en algunas especies y el incrementan de los rendimientos en otras, fundamentalmente, mediante tratamiento previo de las semillas Hadwiger, (1989),

Conclusiones

La quitosana constituye un compuesto natural, no tóxico y biodegradable con diversos efectos biológicos en plantas y microorganismos que le confieren atractivos para su aplicación en la agricultura sostenible (e intensiva) en la sustitución de agroquímicos para la protección de las plantas contra enfermedades y como sustitutos de reguladores del crecimiento de los rendimientos.

Referencias bibliográficas

- Ait Barka, E., Eullaffroy, P., Clément, C., Vernet, G. (2004) Chitosan improves development, and protects *Vitis vinifera* L. against *Botrytis cinerea*. *Plant Cell Rep.* 22: 608–614.
- Agostini, J.P., Bushong, P.M., Timmer, L.W. (2003) Greenhouse evaluation of products that induce host resistance for control of Scab, Melanose and *Alternaria* brown spot of citrus. *Plant Disease*, 87: 69-74.
- Agrios, G.N. (2005 a) How pathogens attack plants (Chapter five). En: *Plant Pathology*. 5th ed. Academic Press, New York, USA, page 177.
- Aziz, A., Heyraud, A., Lambert, B. (2004) Oligogalacturonide signal transduction, induction of defense-related responses and protection of grapevine against *Botrytis cinerea*. *Planta*, 218: 767–774.
- Badawy, M.E.I, Rabea, E.I. (2011) A Biopolymer Chitosan and Its Derivatives as Promising Antimicrobial Agents against Plant Pathogens and Their Applications in Crop Protection. *International J. of Carboh. Chemistry*, Vol 2011, Article ID 460381, 29 pages
- Bartnicki-García, S., Wang, M.C. (1983) Biochemical aspects of morphogenesis in *Phytophthora*. En: *Phytophthora: Its Biology, Taxonomy, Ecology and Pathology* (Edited by Erwin, D.C., Bartnicki- García, S. and Tsao, P.H.) pp. 121-138. The American Pathological Society, U.S.A.
- Bhaskara Reddy, M.V., Arul, J., Ait-Barka E., Angers, P., Richard, C., Castaigne, F. (1998) Effect of chitosan on growth and toxin production by *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici*, *Biocontrol Scie. Technology*, 8: 33–43.
- Bautista-Baños, S., Bravo-Luna, L. (2004) Evaluación del quitosano en el desarrollo de la pudrición blanda del tomate durante el almacenamiento. *Rev. Iberoam. Tecnol. Postcos.*, 1: 63–67.
- Bautista-Baños, S., Hernández-Lauzardo, A.N., Velázquez-del Valle, M.G., Hernández-López, M., Ait Barka, E., Bosquez-Molina, E., Wilson, C.L. (2006) Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. *Crop Prot.*, 25: 108-118.
- Benhamou, N.; Lafontaine, P.J.; Nicole, M. (1994) Induction of systemic resistance to *Fusarium* crown and root rot in tomato plants by seed treatment with chitosan. *Phytopathology*, 84, 1432–1444.
- Boonlertnirun, S.; Boonraung, C., Suvanasa, R. (2008) Application of Chitosan in Rice Production. *J. Metals Mat. Min.*, 18, 47-52.
- Costales, D., Nápoles, M.C., Falcón, A.B. (2007) Influencia de oligosacáridos de quitosana y pectina en la interacción simbiótica Soya-*Bradyrhizobium*. *Cuban J. Agric. Science*, 41 (2-3)
- Costales, D. Quitosacáridos en la nodulación y el crecimiento de soya (*Glycine max* (L) Merrill) inoculada con *Bradyrhizobium elkanii*. Tesis en opción al grado de Master en Biofertilización Nutrición de las plantas. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Septiembre 2010.

- Chibu, H., Shibayama, H., Arima, S. (2002) Effects of chitosan application on the shoot growth of rice and soybean. *Japanese J. of Crop Sci.*, 71: 206-211.
- Cid, M., González-Olmedo, J.L., Lezcano, Y., Nieves, N. (2006) Influencia del Pectimorf sobre la calidad de la semilla artificial de caña de azúcar (*Saccharum spp.*). *Cultivos Trop.*, 27: 31
- Cho, M.H., No, H.K., Prinyawiwatkul, W. (2008) Chitosan Treatments Affect Growth and Selected Quality of Sunflower Sprouts. *J. Food Sci.*, 73: 70-77
- El Ghaouth, A.; Arul, J.; Benhamou, N.; Asselin, A., Bélanger, R.R. (1994) Effect of chitosan on cucumber plants: suppression of *Pythium aphanidermatum* and induction of defence reactions. *Phytopathology*, 84, 313–320.
- El Hadrami, A., Adam, L.R., El Hadrami, I., Daayf, F. (2010). Chitosan in Plant Protection. *Marine Drugs*, 8: 968-987.
- Falcón, A.B., Cabrera, J.C. (2007) Actividad enraizadora de una mezcla de oligogalacturónidos en pecíolos de violeta africana. *Cultivos Trop.*, 28: 87-90.
- Falcón-Rodríguez, AB., Costales-Menéndez, D., Ortega-Delgado, E., León-Díaz, O., Cabrera-Pino, J.C., Martínez-Téllez, M.A. (2007) Evaluation of chitosan as inhibitor of soilborne pathogens and elicitor of defence markers and resistance in tobacco plants. *Spanish J. Agric. Research*, 5: 533-541.
- Falcón, AB, Cabrera, JC, Costales, D, Ramírez, MA, Cabrera, G, Toledo, V, Martínez-Téllez, MA.
- (2008) The effect of size and acetylation degree of chitosan derivatives on tobacco plant protection against *Phytophthora parasitica nicotianae*. *World J. Microbiol Biotech*, 24 (1): 103-112.
- Falcón, A.B. (2009) Evaluación de Oligosacarinas nacionales de quitosana en la estimulación del crecimiento, la nodulación y la protección de cultivos de interés económico. Informe Final del PNCT 00300277, CITMA.
- Falcón-Rodríguez, A.B., Rodríguez, A.T., Ramírez, M.A., Rivero, D., Martínez, B., Cabrera, J.C., Costales, D., Cruz, A., González, L.G., Jiménez, M.C., Jiménez, L., Hernández, I., González-Peña, D., Márquez, R. (2010) Chitosan as bioactive macromolecules to protect economically relevant crops from their main pathogens. *Biotechnología Aplicada*, 27 (4): 305-309.
- Falcón-Rodríguez, A.B., Costales, D., Cabrera, J.C., Martínez-Téllez, M.A. (2011) Chitosan physico– chemical properties modulate defense responses and resistance in tobacco plants against the oomycete *Phytophthora nicotianae*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 100 (3): 221-228.
- Falcón, A.B. (2012) Compuestos de quitosana como activadores del metabolismo, el crecimiento y la resistencia contra el estrés biótico en cultivos de interés económico. Informe Final del PNCT 00300330, CITMA.
- Freepons, D. Plant growth regulators derived from chitin. United States Patent 4964894, 1990.
- González, L.G., Falcón, A.B., Jiménez, M.C., Jiménez, L., Tenrero, J.C. (2010) Evaluación de tres dosis de quitosana en el cultivo del pepino en un período tardío. *Revista Amazónica*, 1: 39-42.
- González-Peña, D. Efecto de un polímero de quitosana en el desarrollo de *Phytophthora nicotianae* y *Phytophthora palmivora*. Tesis en opción al grado de Master en Ecología Microbiana. Facultad de Biología, Universidad de la Habana, Abril, 2011.

- Hadwiger, L.A. Method for treating cereal crop seed with chitosan to enhance yield, root growth and stem strength. Canadian Patent, 1989.
- Hayashi, T. (1989) Xyloglucans in the primary cell wall. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*40: 139-168.
- Hernández-Lauzardo, A.N., Hernández-Martínez, M., Velázquez del Valle, M.G., Guerra-Sánchez, M.G., Melo-Giorgana, G.E. (2007) Actividad antifúngica del quitosano en el control de *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.: Fr.) Vuill. y *Mucor* spp. *Rev. Mexicana de Fitopatología*, 25: 109-113
- Hernández-Lauzardo, A.N.; Bautista-Baños, S.; Velásquez-del Valle, M.G.; Méndez-Montevalvo, M.G.; Sánchez-Rivera, M.M.; Bello-Pérez, L.A. (2008). Antifungal effects of chitosan with different molecular weights on in vitro development of *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.:Fr.) Vuill. *Carbohydrate Polymers*, 73: 541–547.
- Iriti, M., Picchi, V., Rossoni, M., Gomarasca, S., Ludwing, N., Garganoand, M., Faoro, F. (2009). Chitosan antitranspirat activity is due to abscisic acid-dependent stomatal closure. *Env. Exp. Bot.*, 66:493-500.
- Kim, S-K. Chitin, chitosan, oligosaccharides and their derivatives. Biological activities and applications. CRC Press, Taylor and Francis group, 2011, ISBN 978-1-4398-1603-5.
- Klarzynski, O., Plesse, B., Joubert, J.M., Yvin, J.C., Kopp, M., Kloareg, B., Fritig, B. (2000) Linear β -1,3 glucans are elicitors of defense responses in tobacco. *Plant Physiol.*, 124: 1027-1037.
- Kowalski, B.; Jimenez Terry, F.; Herrera, L.; Agramonte-Peñalver, D. (2006) Application of soluble chitosan in vitro and in the greenhouse to increase yield and seed quality of potato minitubers. *Potato Res.*, 49: 167–176.
- Lee, S., Choi, H., Suh, S.J., Doo, I.S., Oh, K.Y., Jeong, E., Schroe, A.T., Low, S., Lee, Y. (1999) Oligogalacturonic acid and chitosan reduce stomatal aperture by inducing of reactive oxygen species from guard cells of tomato and *Commelina com.* *Plant Physiology*, 121: 147-152.
- Lin, W.; Hu, X.; Zhang, W., Rogers, W.J., Cai, W. (2005) Hydrogen peroxide mediates defence responses induced by chitosans of different molecular weights in rice. *J Plant Physiol.*, 162: 937-944.
- Liu, J., Tian, S., Meng, X., Xu, Y. (2007) Effects of chitosan on control of postharvest diseases and physiological responses of tomato fruit. *Posth. Biology and Techn.*, 44: 300-306
- Marfà, V., Gollin, D., Eberhard, S., Mohnen, D., Albersheim, P., Darvill, A. (1991) Oligogalacturonides are able to induce flowers to form on tobacco explants. *Plant J.*, 1: 217–225.
- Ochoa-Villarreal, M., Vargas-Arispuro, I., Islas-Osuna, M.A., Gonzalez-Aguilar, G., Martínez- Téllez, M.A. (2011) Pectin-derived oligosaccharides increase color and anthocyanin content in Flame Seedless grapes. *J. Sci. Food Agric.*, 91: 1928–1930
- Ohta, K., Morishita, S., Suda, K., Kobayashi, N. and Hosoki, T. (2004) Effects of chitosan soil mixture treatment in the seedling stage on the growth and flowering of several ornamental plants. *J.Japan. Soc. Hort. Sci.*, 73: 66-68.

- Palma-Guerrero, J.; Jansson, H-B.; Salinas, J.; López-Llorca, L.V. (2008) Effect of chitosan on hyphal growth and spore germination of plant pathogenic and biocontrol fungi. *Journal of Applied Microbiology*, 104: 541- 553.
- Plascencia-Jatomea, M., Viniestra, G., Olayo, R., Castillo-Ortega, M.M., Shirai, K. (2003) Effect of chitosan and temperature on spore germination of *Aspergillus niger*. *Macrom. Bioscience*, 3: 582- 586.
- Prapagdee, B.; Kotchadat, K.; Kumsopa, A.; Visarathanont, N. (2007). The role of chitosan in protection of soybean from sudden death syndrome caused by *Fusarium solani* f. sp. *Glycines*. *Bioresource Technology*, 98 (7): 1353-1358.
- Prashanth, KVH., Tharanathan, RN. Chitin/chitosan: modifications and their unlimited application potential-an overview. *Trends in Food Science & Tech.*, 18: 117-131, 2007
- Prithiviraj, B., Solumenoev, A., Zhou, X., Smith, D.L. (2000) Differential response of soybean (*Glycine Max* (L.) Merr.) to lipochitooligosaccharide Nod BJ V(C18:1 Me Fuc) *J. Exp. Bot.*, 51: 2045-2051.
- Raafat, D., von Bargaen, K., Haas, A., Sahl, H-G. (2008) Insights into the Mode of Action of Chitosan as an Antibacterial Compound. *Appl. Env. Microbiol.*, 74: 3764–3773
- Reddy, M.V., Arul, J., Angers, P., Couture, L. (1999) Chitosan treatment of wheat seeds induces resistance to *Fusarium graminearum* and improves seed quality. *J. Agric. Food Chem.*, 47: 1208–1216.
- Rivero, D., Cruz, A., Martínez, B., Ramírez, M.A., Rodríguez, A.T. (2006) Actividad antifúngica in vitro de dos quitosanas frente a *Fusarium subglutinans* (Wollenweber & Reinking), patógeno de arroz (*Oryza sativa* L.) *Protección Vegetal*, 21 (2): 90-94.
- Rivero, D., Cruz A., Martínez, B., Ramírez, M.A., Rodríguez, A.T. (2008) Actividad antifúngica in vitro de las quitosanas K1 y Sigma frente a *Bipolaris oryzae* (B. de Haan) Shoem. *Protección Vegetal*, 23 (1): 43-47.
- Rodríguez, AT., Ramírez, MA., Cárdenas, RM., Falcón, AB., Bautista, S. Efecto de la quitosana en la inducción de la actividad de enzimas relacionadas con la defensa y protección de plántulas de arroz (*Oryza sativa* L.) contra *Pyricularia grisea* Sacc. *Revista Mex. Fitopatología*, 24 (1): 1-7, 2006
- Rodríguez, A.T., Ramírez, M.A., Cárdenas, R.M., Hernández, A.N., Velázquez, M.G., Bautista, S. (2007) Induction of defense response of *Oryza sativa* L. against *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc. By treating seeds with chitosan and hydrolyzed chitosan. *Pesticide Bioch. Physiol.*, 89: 206–21.
- Romanazzi, G.; Nigro, F.; Hipólito, A.; Di Venere, D.; Salerno, M. (2002) Effect of pre and postharvest chitosan treatments to control storage grey mold of table grapes. *J. Food Sci.*, 67, 1862-1865.
- Sánchez-Domínguez, D.; Bautista-Baños, S.B., Castillo, P. (2007) Efecto del quitosano en el desarrollo y morfología de *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. *Anales de Biología*, 29: 23-32
- Shao, C.X.; Hu, J.; Song, W.J.; Hu, W.M. (2005) Effects of seed priming with chitosan solutions of different acidity on seed germination and physiological characteristics of maize seedling. *J. Zhejiang Univ. Agric. Life Sci.*, 1: 705–708.
- Sharp, J.K., McNeil, M., Albersheim, P. (1984) The primary structures of one elicitor active and seven elicitor inactive hexa- α -glucopyranosyl-D-glucitol

- isolated from the mycelial cell walls of *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea*. *J. of Biological Chem.*, 259: 11321-11336.
- Sharathchandra, R.G., Niranjan Raj, S., Shetty, N.P., Amruthesh, K.N., Shetty, H.S. (2004) A Chitosan formulation Elexa™ induces downy mildew disease resistance and growth promotion in pearl millet. *Crop Protection*, 23: 881–888
 - Shibuya, N., Minami, E. (2001) Oligosaccharide signalling for defenses responses in plant. *Physiol. and Mol. Plant Pathol.*, 59: 223-233.
 - Spaink, H.P. (2000) Root nodulation and infection factors produced by rhizobial bacteria. *Ann. Rev. Microbiol.*, 54: 257-288.
 - The BioPesticide Manual. Second edition. Copping L.G. (ed.) (2001) British crop protection council. Surrey, United Kingdom.
 - Utsunomiya, N., Kinai, H., Matsui, Y., Takebayashi, T. (1998) The effects of chitosan oligosaccharides soil conditioner and nitrogen fertilizer on the flowering and fruit growth of purple passion fruit (*Pasiflora edulis* Sims var. *edulis*). *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, 67: 567-571.
 - Vargas-Rechia, C., Reicher, F., Sierakowski, M.R., Heyraud, A., Driguez, H., Liénart, Y. (1998) Xyloglucan octasaccharide XXLGol derived from the seeds of *Hymenaea courbaril* acts as a signaling molecule. *Plant Physiol.*, 116: 1013-1021.
 - Walker, R., Morris, S., Brown, P., Gracie, A. (2004) Evaluation of potencial for chitosan to enhance plant defence. En: Report of Rural Industries Research and Development Corporation, Publication 1 4/Project 1 RS, 49 págs.
 - Xu, J., Zhao, X., Han, X., Du, Y. (2007) Antifungal activity of oligochitosan against *Phytophthora capsici* and other plant pathogenic fungi in vitro. *Pest. Biochem. Physiol.*, 87: 220-228
 - Zhou, Y.G.; Yang, Y.D.; Qi, Y.G.; Zhang, Z.M.; Wang, X.J.; Hu, X.J. (2002) Effects of chitosan on some physiological activity in germinating seed of peanut. *J. Peanut Sci.*, 31: 22–25.