

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE INGENIERÍA
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DEL SUELO



Efecto en la concentración de iones en la disolución del suelo y desarrolló del cultivo de col (*Brassica oleracea*) con la aplicación de quitosán como bioestimulante.

Por

IRAM LIZBETH JARILLO HERNÁNDEZ

TESIS

Presentado como requisito parcial para obtener el Título de:

INGENIERO AGRÍCOLA Y AMBIENTAL

(Ciencias del Suelo y Medio Ambiente)

Buenvista Saltillo, Coahuila México.

Octubre 2020

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE INGENIERÍA
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DEL SUELO

Efecto en la concentración de iones en la disolución del suelo y desarrollo del cultivo de col (*Brassica oleracea*) con la aplicación de quitosán como bioestimulante.

Por

IRAM LIZBETH JARILLO HERNÁNDEZ

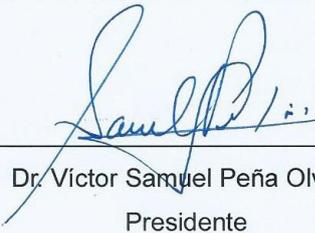
TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÍCOLA Y AMBIENTAL

Aprobada por el Comité de Asesoría

En el presente trabajo de investigación el Dr. Víctor Samuel Peña Olvera Presidente de jurado, reconoce al M.C. Jorge Enrique Canales Almedares como Director de la tesis y como Coasesores al M.C. Juan Manuel Cepeda Dovala y al Dr. Adalberto Benavides Mendoza de la alumna Iram Lizbeth Jarillo Hernández.



Dr. Víctor Samuel Peña Olvera
Presidente

Saltillo Coahuila, México

Octubre 2020

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE INGENIERÍA

Efecto en la concentración de iones en la disolución del suelo y desarrolló del cultivo de col (*Brassica oleracea*) con la aplicación de quitosán como bioestimulante.

POR:

IRAM LIZBETH JARILLO HERNÁNDEZ

TESIS

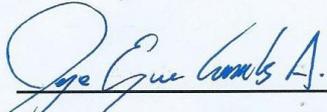
Que somete a la consideración del H. Jurado Examinador como
Requisito para Obtener el Título de:

INGENIERO AGRÍCOLA Y AMBIENTAL

Aprobada por:



Dr. Víctor Samuel Peña Olvera
Presidente



M.C. Jorge Enrique Canales Almedares
Coasesor



M.C. Juan Manuel Cepeda Dovala
Coasesor



Dr. Adalberto Benavides Mendoza
Suplente



M.C. Sergio Sánchez Martínez
Coordinador de la División de Ingeniería
UAAAN



Buenavista Saltillo, Coahuila México. Octubre 2020

Agradecimientos.

A Dios

Por cada detalle y momento durante la realización de este proyecto, por guiarme y bendecirme en todo tiempo y por permitirme concluir con esta etapa tan importante de mi vida.

A mi Alma Terra Mater

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por acogerme durante estos cinco años y darme las herramientas para forjarme profesional y personalmente.

A mis Asesores

M.C Jorge Enrique Canales Almendares. Por la confianza puesta en mí y por su dedicación, conocimiento, su paciencia y motivaciones; han sido fundamentales para mi formación académica y personal.

Dr. Víctor Samuel Peña Olvera. Por sus consejos y sus enseñanzas y por permitirme trabajar con usted.

M.C. Juan Manuel Cepeda Dovala. Por su confianza brindada por sus enseñanzas y por siempre tener una mano amiga.

Ulises Magdaleno Magniales

Por su apoyo en todo momento, por sus consejos, su confianza, por brindarme su amistad sincera y por todo el tiempo compartido durante estos cinco años, por eso y más.

A mí querido cuarto 8.

Paty, Vela, Denis, Bianey, Brenda y Monse por todos los buenos momentos

A mis compañeros, maestros y amigos.

Por sus enseñanzas, consejos y buenos momentos compartidos durante esta etapa.

Dedicatorias.

A mis padres

Sr. Gabriel Jarillo Padilla.

Sra. María Félix Hernández Oliver.

Este trabajo se lo dedico a ustedes que me han impulsado y apoyado en cada una de las etapas de la vida. GRACIAS por su amor, sus sabios consejos y sus palabras de aliento que me impulsaron a cumplir con esta meta. Espero darles siempre la honra que merecen, es un privilegio ser su hija, los Amo.

A mi Hermano

William Jarillo Hernández

Pro que siempre has estado para mí en todo momento apoyándome, aconsejándome e impulsándome. Gracias por cuidarme y hacer de mi vida muy feliz, agradezco a Dios la dicha de ser tu hermana y tía de tu hermosa hija Michelle Jasibe.

Te Amo.

ÍNDICE DE CONTENIDO.

ÍNDICE DE CONTENIDO.....	VII
ÍNDICE DE CUADROS	IX
ÍNDICE DE FIGURAS	X
RESUMEN	1
I.INTRODUCCIÓN	2
II.OBJETIVO GENERAL	4
III.HIPÓTESIS	4
IV.REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
4.1. Bioestimulantes.....	5
4.2. Uso en la agricultura.....	7
4.3. Influencia de los bioestimulantes sobre los cultivos.	8
4.4. Quitina.....	10
4.5. Quitosán.	11
4.5.1. Aplicaciones del quitosán.	13
4.5.2. El quitosán en la Agricultura.	14
4.5.3. Influencia del quitosán en la absorción de nutrientes.	15
4.6. EL CULTIVO DE LA COL	17
4.6.1. Características generales del cultivo.....	17
4.6.2. Origen.....	17
4.6.3. Importancia.....	18
4.6.4. Distribución.....	18
4.6.4.1. Mundial.	18
4.6.4.2. Nacional.....	19
4.6.5. Clasificación Taxonómica.	20
4.6.6. Características morfológicas.	22
a) Raíz.	22
b) Tallo.	22
c) Hojas.....	22
4.6.7. Botánica.	22
4.6.8. Requerimientos generales.....	23
4.6.8.1. Clima.....	23
4.6.8.2. Humedad.	23

4.6.8.3. Suelo.....	23
V.MATERIALES Y MÉTODOS	24
5.1. Sitio experimental	24
5.2. Establecimiento.	24
5.5. Tratamientos.....	25
5.6. Muestreos.....	26
5.7. Solución del suelo.	27
5.8. Clorofilas.....	28
5.9. Contenido mineral.	28
5.10. Análisis Estadístico.	29
VI.RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
6.1. Contenido de minerales en la disolución del suelo	29
6.2. Rendimiento del cultivo.....	32
6.3. Clorofilas A, B y Totales.	36
6.4. Concentración de minerales en el tejido de col.	37
VII. CONCLUSIONES	38
VIII. BIBLIOGRAFÍA.....	39

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Estudios reportados sobre los efectos del quitosán en los rasgos agronómicos de los cultivos hortícolas.....	16
Cuadro 2. Principales países productores de col.	19
Cuadro 3. Estados productores con mayor superficie sembrada de col.	20
Cuadro 4. Contenido nutricional por cada 100 g de peso fresco col comestible. ..	21
Cuadro 5. Propiedades fisicoquímicas del suelo.....	24
Cuadro 6. Análisis químico del agua de Riego.	25
Cuadro 7. Tratamientos.....	26
Cuadro 8. Fechas de muestreo vegetal.	26
Cuadro 9. Concentración mineral ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ de peso seco) en el tejido de la col (Brassica oleracea var L.) con dos concentraciones de bioestimulantes.	37

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura de la celulosa, quitina y quitosán.	11
Figura 2. Concentración media y error estándar de los elementos en la disolución del suelo con dos dosis de quitosán en el cultivo de col.	30
Figura 3. Valores medios de rendimiento cuantificados en el cultivo de la col (Brassica oleracea var I.) con dos dosis de quitosán. Significancia de $\alpha \leq 0.05$ LSD.	31
Figura 4. Valores medios de clorofila A (mg 100 gr ⁻¹ de peso seco) cuantificados en el tejido de la col (Brassica oleracea var L.) con dos dosis de quitosán. Significancia de $\alpha \leq 0.05$ LSD	33
Figura 5. Valores medios de clorofila B (mg 100 gr ⁻¹ de peso seco) cuantificados en el tejido de la col (Brassica oleracea var L.) con dos dosis de quitosán. Significancia de $\alpha \leq 0.05$ LSD	34
Figura 6. Valores medios de clorofila total (mg 100 gr ⁻¹ de peso seco) cuantificados en el tejido de la col (Brassica oleracea var L.) con dos dosis de quitosán. Significancia de $\alpha \leq 0.05$ LSD.....	35

RESUMEN

El quitosán es un compuesto de origen natural con propiedades promotoras de la nutrición, el crecimiento y rendimiento de los cultivos, por lo que se ha considerado como un bioestimulante. Sus particulares mecanismos de acción le permiten actuar como regulador del crecimiento para las plantas y la tolerancia al estrés abiótico, para inducir resistencia a patógenos entre otras propiedades agronómicas. Por tal motivo el objetivo de este trabajo fue estudiar la biodisponibilidad de los iones en la disolución del suelo debido a la aplicación de quitosán al suelo sobre el cultivo de col (*Brassica oleracea*). La hipótesis fue que el quitosán (Cs) modifica la concentración de los iones en la disolución del suelo y por lo tanto la concentración en el tejido y el rendimiento del cultivo. El diseño experimental fue completamente al azar con tres tratamientos Cs 50; Cs 150; Testigo a razón de 43 repeticiones por tratamiento, a los datos obtenidos se les realizó un análisis de varianza de prueba de comparación de medias (LSD) al 0.05. Se realizaron tres aplicaciones de quitosán durante todo el ciclo del cultivo, un día antes del trasplante, durante el desarrollo y en la etapa de formación de cabeza. Se realizaron tres muestreos vegetales destructivos a los 35 días después del trasplante, luego a los 78 y 132 días después del trasplante (ddt) tomándose 3 plantas por tratamiento para el análisis de variables como, contenido mineral, clorofilas a, b y totales y rendimiento. Para la disolución del suelo se tomaron 6 muestreos tomando tres repeticiones por tratamiento, uno antes y después de cada muestreo vegetal para realizar el análisis mineral, se utilizaron sondas de succión o chupatubos. Los resultados mostraron que la dosis Cs 50 demostró ser más efectivo que la dosis Cs150 y el testigo (T) en cuanto al rendimiento, ya que representó una diferencia estadística significativa lo que nos lleva a la conclusión de que el quitosán tiene la capacidad de estimular el crecimiento vegetal a bajas concentraciones. Además, se observó en las plantas de col un mejor desarrollo, estos resultados se deben a la capacidad estimulante del quitosán, ya que actúa mejorando el rendimiento, el contenido mineral de la hoja lo que aumenta los niveles de clorofila.

Palabras clave: Quelación, fertilidad, biopolímero, biodisponibilidad

I.INTRODUCCIÓN

El quitosán es un polímero natural derivado de la desacetilación de la quitina, llamado 2-Amino-2-deoxybeta-D-glucosamine (Peniston y & Johnson 1980). La quitina se puede extraer a partir de los exoesqueletos de los crustáceos tales como los cangrejos y camarones.

Los grupos funcionales de quitosán (grupos hidroxilo y amino) han permitido la formación de complejos con iones de cobre, zinc, hierro entre otros, esto hace al quitosán una alternativa sostenible a los agentes quelantes sintéticos. La propiedad catiónica del quitosán también lo convierte en un medio adecuado para suministrar nutrientes adicionales (Hadwiger *et al.* 2006; Sharp 2013).

Generalmente en agricultura, el quitosán se ha utilizado como bioestimulante por tener una amplia aplicación agrícola a partir de las potencialidades biológicas que se le han demostrado, como la promoción del crecimiento y desarrollo vegetal de varios cultivos de importancia económica (Pichyangkura y Chadchawan 2015; Rodríguez *et al.* 2015). Se ha utilizado en el recubrimiento de semillas, hojas, frutas y vegetales (Devlieghere; *et al.* 2004). como fertilizante y en liberación controlada de agroquímicos (Sukwattanasinitt *et al.* 2001), para aumentar el producto vegetal (Chandrkrachang 2002a; Wanichpongpan *et al.* 2001), para estimular la inmunidad de las plantas (Hadwiger *et al.* 2002), para proteger las plantas contra microorganismos (Bautista-Baños; *et al.* 2003; Pospieszny *et al.* 1991), para aumentar el tamaño de los frutos y aumentar los rendimientos de los cultivos (Molina 2015; Zerpa *et al.* 2017).

En los estudios realizados en los últimos años, se observó un efecto positivo del quitosán sobre el crecimiento de raíces, brotes, hojas y frutos de varios cultivos tales como el café (Van et al. 2013), rábano (Tsugita et al. 1993), arroz (Nitar et al. 2004), tomate (Agbodjato A et al. 2016), albaca dulce (Kim et al. 2005) entre otros cultivos. Como se mencionó anteriormente, existen grandes variaciones entre diferentes cultivos en sus respuestas a la aplicación de quitosán.

La col (*Brassica oleracea* L. var. *Capitata*) es una de las hortalizas más importantes cultivadas a nivel mundial. Pertenece a la familia Cruciferae, que incluye coles de Bruselas, brócoli, coliflor y kale. (Singh et al. 2006). La producción de col está concentrada en los estados especializados en la producción de hortalizas; aunque la producción de col se realiza en 24 entidades de la república se posiciona en primer lugar el estado de Puebla ya que representa el 7% del total de la superficie sembrada del país, así como el 42% de la producción total de la producción en esta entidad. Esta variedad es la de mayor consumo tanto en el ámbito nacional como internacional. En el caso nacional, durante gran parte de la década de los noventa el promedio de consumo de la col fue de 2.07kg/habitante (ASERCA 2001)..

II.OBJETIVO GENERAL

Estudiar la biodisponibilidad de los iones en la disolución del suelo debido el efecto de la aplicación del quitosán, y su asociación con la composición mineral de la materia seca de plantas de col.

2.1. Objetivos específicos

- a) Analizar la dinámica de la concentración de iones en la disolución del suelo bajo la influencia del quitosán.
- b) Determinar el impacto de la concentración y dinámica de los iones en solución del suelo sobre la composición mineral en el tejido y rendimiento del cultivo.

III.HIPÓTESIS

El quitosán modifica la concentración de los iones de la disolución del suelo y por lo tanto la concentración en el tejido y el rendimiento.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. Bioestimulantes.

Los bioestimulantes, a menudo utilizado en forma plural, es un término amplio que literalmente significa un grupo de ingredientes que estimulan la vida. Esto también podría interpretarse como un grupo de compuestos que promueve respuestas favorables de la planta. Los bioestimulantes también se han descrito como productos no nutricionales (Hamza *et al.* 1999).

Russo *et al.* (1990) define los bioestimulantes como productos que, cuando se aplican a las plantas, reducen la necesidad de fertilizantes y aumentan su productividad y resistencia al agua y al estrés climático. Zhang *et al.* (1999) afirman que estas sustancias son eficientes cuando se aplican en pequeñas concentraciones, favorecen el buen desempeño de los procesos vitales de la planta y permiten, por lo tanto, obtener mayores cosechas y productos de mejor calidad.

Los bioestimulantes son sustancias biológicas que actúan potenciando determinadas rutas metabólicas y/o fisiológicas de las plantas. No son nutrientes ni pesticidas pero tienen un impacto positivo sobre la salud vegetal. Influyen sobre diversos procesos metabólicos tales como la respiración, la fotosíntesis, la síntesis de ácidos nucleicos y la absorción de iones, mejoran la expresión del potencial de crecimiento, la precocidad de la floración además de ser reactivadores enzimáticos. No son sustancias destinadas a corregir una deficiencia nutricional, sino que son formulaciones que contienen distintas hormonas en pequeñas cantidades junto con otros compuestos químicos como aminoácidos, vitaminas, enzimas, azúcares y elementos minerales.

Otros autores definen a los bioestimulantes como fertilizantes líquidos que ejercen funciones fisiológicas al aplicarlos a los cultivos, son moléculas biológicas que actúan potenciando determinadas expresiones metabólicas y/o fisiológicas de las plantas (Gallardo R 1998). Los bioestimulantes se emplean para incrementar la calidad de los vegetales activando el desarrollo de diferentes órganos (raíces, frutos, hojas, entre otros) y reducir los daños causados por el estrés (fitosanitarios, enfermedades, frío, calor, entre otros) (Lima 2000); Esta definición resulta poco específica y ello ha conducido a que en el mercado el término bioestimulante se utilice para describir una amplia gama de productos, que van desde extractos de plantas hasta extractos animales, además combinaciones de estos con productos de reconocida función, tales como nutrimentos, vitaminas o reguladores de crecimiento (Saborio 2002).

Los bioestimulantes se han considerado como un subgrupo de reguladores del crecimiento (Herve 1994; Yakhin *et al.* 2017), como reguladores del crecimiento de las plantas (Huang 2007), y como un subgrupo de biorreguladores (Basak 2008). Desde un punto de vista legal, los bioestimulantes pueden contener trazas de hormonas vegetales naturales, pero su acción biológica no debería atribuirse a ellos, de lo contrario deberían registrarse como reguladores del crecimiento de las plantas (Bulgari *et al.* 2015). Los bioestimulantes operan a través de mecanismos diferentes que los fertilizantes, independientemente de la presencia de nutrientes en los productos. La definición y el concepto de bioestimulantes de plantas todavía están evolucionando, lo que es en parte un reflejo de la diversidad de insumos que pueden considerarse bioestimulantes (Calvo *et al.* 2014).

4.2. Uso en la agricultura.

En la agricultura, los bioestimulantes se definen como aquellos productos que son capaces de incrementar el desarrollo, producción y/o crecimiento de los vegetales (Gallardo, 1998).

Autores definen los bioestimulantes como sustancias naturales o sintéticas, derivadas de la mezcla de dos o más biorreguladores de plantas o estas con otras sustancias (aminoácidos, nutrientes y vitaminas), que se pueden aplicar directamente a las plantas o en el tratamiento de semillas (Klahold *et al.* 2006), por lo tanto, busca obtener mayores rendimientos y mejoras en la calidad de la semilla. Estos biorreguladores favorecen la expresión del potencial genético de las plantas a través de cambios en los procesos vitales y estructurales, promueven el equilibrio hormonal y estimulan el desarrollo del sistema radicular (Silva *et al.* 2008; Vieira *et al.* 2001).

Los bioestimulantes pueden aumentar el crecimiento y el desarrollo de las plantas, estimulando la división celular y la diferenciación y elongación celular. Estos efectos dependen de la concentración, la naturaleza y la proporción de las sustancias presentes en los productos. Los bioestimulantes también pueden aumentar la absorción y el uso de agua y nutrientes por las plantas (Rezende *et al.* 2017; Vieira *et al.* 2005).

Los bioestimulantes son componentes que producen respuestas en el crecimiento de las plantas al mejorar la tolerancia al estrés abiótico. Muchos de los efectos de estos productos se basan en su capacidad de influir en la actividad hormonal de las plantas. Las fitohormonas son mensajeros químicos que regulan el desarrollo normal de las plantas al cultivar raíces y brotes, además de regular las respuestas al entorno donde se encuentran (Long 2004).

Los componentes de los bioestimulantes pueden alterar el estado hormonal de la planta y tener una gran influencia en su crecimiento y salud. Las algas, los ácidos húmicos y las vitaminas son comúnmente bioestimulantes y son importantes para mejorar el desarrollo de las plantas y la actividad hormonal (Karnok *et al.* 2000; Malan 1990). Además, estos productos aumentan la actividad antioxidante en las plantas, especialmente cuando están bajo estrés hídrico, temperaturas severas y acción de herbicidas, entre otros (Zhang *et al.* 2000).

4.3. Influencia de los bioestimulantes sobre los cultivos.

La investigación sobre bioestimulantes y sus usos en el manejo del césped no está totalmente de acuerdo con las afirmaciones a menudo hechas por los fabricantes de bioestimulantes, especialmente con respecto a la reducción de los usos de fertilizantes y pesticidas. Sin embargo, hay informes positivos de que los bioestimulantes muestran usos potenciales en el césped bajo condiciones de estrés y promueven una movilización favorable de nutrientes, aunque las respuestas a los bioestimulantes pueden variar dependiendo de la formulación y/o composición del bioestimulante y entre las especies.

Algunos estudios con bioestimulantes no siempre han mostrado efectos positivos en el desarrollo de las plantas. En un experimento realizado por Csizinszky (1990) con dos cultivares de pimiento y seis bioestimulantes, el autor demostró que los bioestimulantes no tenían influencia en la productividad o el contenido de nutrientes de las plantas. Los bioestimulantes se aplicaron de acuerdo con las recomendaciones de los fabricantes y se observó que, en uno de los cultivares, el desarrollo de las plantas fue similar al del control y más bajo en otro. Tweddell *et al.* (2000) aplicaron un bioestimulante a las plantas de maíz sometidas a diferentes niveles de fertilización nitrogenada y no encontraron diferencias significativas en la producción de granos, biomasa seca y concentración de nutrientes en el tejido de la hoja.

Rocha y Col. (2001) encontraron que la pulverización de bioestimulantes en el cultivo de maracuyá amarillo (*Passiflora edulis f. Flavicarpa Deg.*) Promovió un aumento significativo en la productividad y en otras características de las frutas, tales como: diámetro de la fruta, peso y volumen de la cáscara, parámetros que permiten una mejor caracterización en poscosecha. Además los bioestimulantes aumentaron la durabilidad de las frutas para su comercialización. (Percival. *et al.* 2012) estudiaron el efecto de cuatro bioestimulantes en diferentes especies de árboles roble (*Quercus rubra*), abedul (*Betula pendula*) y hayedos (*Fagus sylvatica*), aplicados a través del suelo y las hojas, y observaron que estos productos mejoraron el desarrollo de las raíces y el vigor de las plantas. Sin embargo, los autores observaron que la elección de un bioestimulante apropiado debe hacerse de acuerdo con la especie adoptada, ya que la respuesta de la planta al bioestimulante varía ampliamente según las características de los cultivos. Richardson *et al.* (2004) realizaron un experimento en un invernadero para estudiar cómo un bioestimulante comercial mejoraría la salud y la resistencia al estrés hídrico de los árboles de abedul blanco (*Betula papyrifera*) de tres años, y observó que las plantas tratadas con bioestimulantes mostraron concentraciones más altas de nitrógeno en hojas y menos daño causado por el estrés hídrico. Janegitz *et al.* (2008) analizaron los efectos de cuatro bioestimulantes (Bioamino Extra®, Aminolom®, Pt4®, Radix®) en la emergencia de plantas de maíz y sorgo y observaron valores más altos para el maíz que para el sorgo, pero las diferencias no fueron significativas entre los tratamientos. Belanson (2008) probó el efecto de diferentes bioestimulantes basados en hormonas, micronutrientes, aminoácidos y vitaminas en el trigo y confirmó su capacidad para promover el enraizamiento. Sin embargo, el autor no observó un aumento en el tamaño de la planta, el peso promedio de grano por espiga o el rendimiento de grano.

4.4. Quitina.

La quitina, poli (β - (1-4)-N-acetil-D-glucosamina), es un polisacárido natural de gran importancia; este biopolímero es sintetizado por un gran número de organismos vivos, principalmente crustáceos e insectos. Es considerada como el polímero más abundante después de la celulosa.

Hasta ahora la principal fuente comercial de la quitina son crustáceos como cangrejos y las cáscaras de camarón, el procedimiento para obtener la quitina es por tratamiento ácido para disolver el carbonato de calcio seguido de la extracción alcalina para insolubilizar las proteínas. La quitina es un material altamente insoluble y de baja reactividad química parecido a la celulosa con el grupo hidroxilo en la posición C-2 reemplazado por un grupo acetamido. Además, la quitina es un polisacárido nitrogenado blanco, duro e inelástico, y la principal fuente de contaminación de superficie en las zonas costeras. La quitina y el quitosán son polisacáridos, químicamente similares a la celulosa, que difieren solo por la presencia o ausencia de nitrógeno (Freepons 1991).

El quitosán es un derivado de la quitina que se obtiene por desacetilación parcial en condiciones alcalinas, cuya desacetilación nunca es completa y que en términos de aplicaciones es el más importante de las derivaciones de la quitina (Muzzarelli 1988). Cuando el grado de desacetilación de la quitina alcanza aproximadamente el 50% dependiendo del origen del polímero este se vuelve soluble en un medio ácido acuoso y es denominado como quitosán.

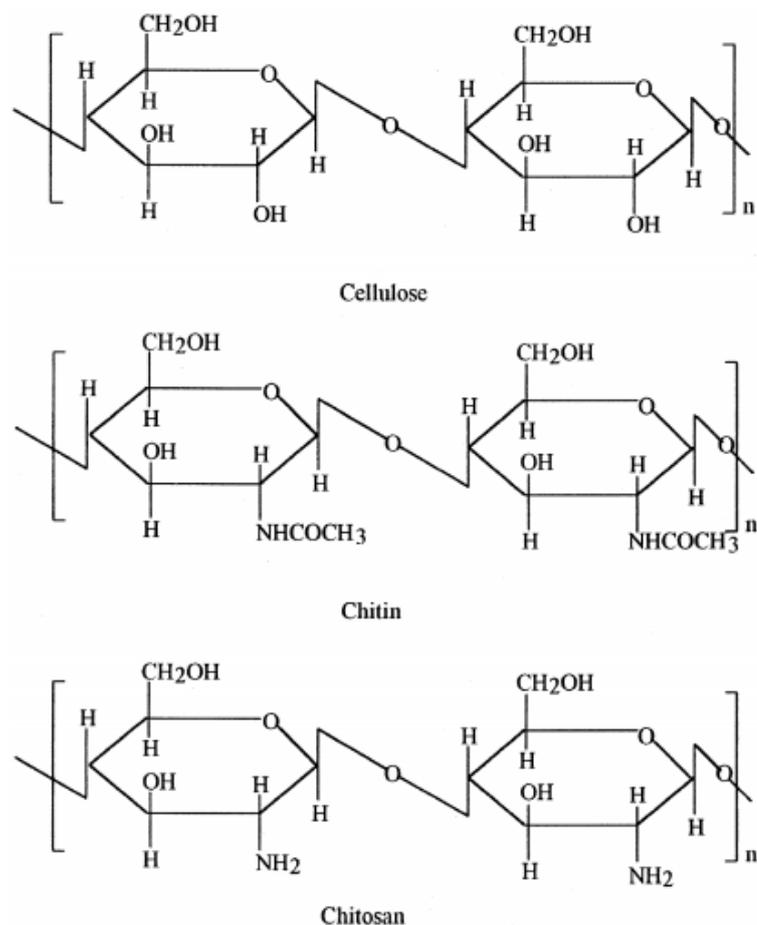


Figura 1. Estructura de la celulosa, quitina y quitosán.

4.5. Quitosán.

El quitosán, poli- β (1-4) -2-amino-2-desoxi-D-glucosa, se deriva de la desacetilación de la quitina aislada de los exoesqueletos de los crustáceos. Entre los polímeros naturales, el quitosán ocupa una posición especial debido a su abundancia, versatilidad, modificación fácil y propiedades únicas que incluyen biodegradabilidad (Dong, *et al.*, 2001), biocompatibilidad (Shigemasa y Minami, 1995; Borchard y Junginger, 2001), no toxicidad (Karlsen y Skaugrud, 1991) y antibacteriana (Payne *et al.*, 1992), así como, hidrofiliicidad (Niekraszewicz *et al.*, 1997). Esto ha hecho que el quitosán sea un compuesto muy útil en una amplia gama de aplicaciones en los campos médico, farmacéutico, químico, agrícola y ambiental.

El quitosán consiste en grupos amino e hidroxilo que pueden actuar como sitios de unión para la complejación de iones metálicos. Es un potente agente quelante y posee una gran capacidad de adsorción para una variedad de metales pesados, incluidos Zn, Cu y Hg (Chu, 2002; Dhakal *et al.*, 2005). El quitosán ha recibido considerable interés por su potencial para eliminar los iones metálicos de las aguas residuales. Dado que el quitosán contiene casi un 6,9% de nitrógeno y, por lo tanto, los grupos amino e hidroxilo en sus estructuras químicas actúan como sitios de quelación de los iones metálicos. Puede adsorber metales pesados debido a su excelente capacidad de unión de metales y es más rentable que el carbón activado (Babel y Kurniawan, 2003).

Una combinación optimizada de fertilizantes de liberación lenta y polímeros superabsorbentes puede no solo mejorar significativamente la nutrición y los rendimientos de la planta, sino que podría ser un método para mitigar el impacto ambiental, reducir las pérdidas de agua por evaporación y reducir la frecuencia de riego (D. Davidson y F.X. Gu, 2012). Con estos principios en mente, Wu *et al.* (2008) desarrolló un fertilizante compuesto NPK recubierto de quitosán con capacidades de liberación controlada y retención de agua, mediante el uso de un recubrimiento interno de quitosán, y un recubrimiento externo fue poli (ácido acrílico-co acrilamida) [P (AA-co-AM)], que es un polímero superabsorbente. Se observó que el producto mostraba una liberación controlada lenta de los nutrientes. Los nutrientes liberados no superaron el 75% en el día 30. Además, el quitosán es un material fácilmente biodegradable, mientras que el P (AA-co-AM) también puede degradarse en el suelo, por lo que ni los polímeros de la matriz ni sus productos degradados son perjudiciales para el suelo.

El quitosán es principal derivado de la quitina producido por desacetilación termoquímica en un medio alcalino es un amino-polisacárido compuesto principalmente de 2-amino-2-desoxi- β -D-Glucopiranosas. Una característica distintiva de la estructura química del quitosán es la presencia predominante de unidades con grupos amino que pueden ionizarse. Estos grupos se vuelven catiónicos en medios ácidos que promueven la disolución de quitosán y el comportamiento de los polielectrolitos en solución (Bautista-Baños *et al.* 2016).

Esté polímero es biológicamente renovable, biocompatible, no tóxico y biofuncional (Malafaya *et al.* 2007). Se disuelve fácilmente a pH bajo mientras que es insoluble a rangos de pH más altos ya que posee una polibase débil debido a las grandes cantidades de grupos amino en su cadena (Malafaya *et al.* 2007).

Las propiedades catiónicas del oligosacárido de quitosán le confieren propiedades únicas que pueden ser explotadas por los biotecnólogos; incluyendo aplicaciones en los campos de la medicina, ciencia de materiales y ciencia de cultivos. El quitosán se usan como inductor para inducir la acumulación de fitoalexina en el cultivo de tejidos vegetales, y pueden usarse como herramienta para mejorar los rendimientos de metabolitos secundarios como cumarinas, furanocumarinas, acridona, alcaloides de quinolona y flavonoides (Orlita *et al.* 2008).

4.5.1. Aplicaciones del quitosán.

La mayoría de los polisacáridos presentes en la naturaleza, por ejemplo, celulosa, dextrano, pectina, ácido alginico, agar, agarosa y carragenanos son de naturaleza neutra o ácida, mientras que la quitina y el quitosán son polisacáridos altamente básicos. Sus propiedades únicas incluyen la formación de polioxisilato, la capacidad de formar películas, quelatos de iones metálicos y características estructurales.

El quitosán, es soluble en ácidos diluidos como el ácido acético, el ácido fórmico, etc. Recientemente, se ha informado sobre la capacidad de formación de gel del quitosán en el óxido de N-metilmorfolina y su aplicación en formulaciones de liberación controlada de fármacos. La hidrólisis de quitina con ácidos concentrados en condiciones drásticas produce D-glucosamina relativamente pura. El contenido de nitrógeno de la quitina varía de 5 a 8% dependiendo del grado de desacetilación, mientras que el nitrógeno en el quitosán se encuentra principalmente en forma de grupos amino alifáticos primarios. Son los derivados de quitosán más importantes que se obtienen fácilmente en condiciones leves y pueden considerarse glucanos sustituidos. (Hench 1998).

4.5.2. El quitosán en la Agricultura.

El quitosán tienen un gran potencial para la aplicación agrícola y mejoran la producción de cultivos debido a sus bioactividades para plantar, tales como: estimular el crecimiento de la germinación de plantas y semillas (Lay *et al.* 2006; Li *et al.* 1998; Luan *et al.* 2005; Reddy *et al.* 1999; Sharathchandra *et al.* 2004). El quitosán y todos sus derivados tienen un alto contenido de nitrógeno con estabilidad térmica y química, también introduce actividades antibacterianas y antifúngicas y se usa como biofungicida para las plantas (Darvill *et al.* 1992; Dzung *et al.* 2006; Guo *et al.* 2008; Yin *et al.* 2010). mejorar la calidad de los productos agrícolas (Li *et al.* 2009; Ortega-centeno *et al.* 2009; Wongroung *et al.* 2002).

El quitosán y los quitooligosacáridos provocan señales moleculares para inducir y regular los procesos de simbióticos, desarrollo y defensivo de la planta, desarrollando un sistema de resistencia a las enfermedades en las plantas (Bueter *et al.* 2013). Los quitooligosacáridos pueden activar más de 20 genes relacionados con la patogénesis como defensinas, ARnasa, quitinasas, β -glucanasa, fitoalexinas, lignina y algunos metabolismos de plantas (Hadwiger *et al.* 2002).

El quitosán aumenta la capacidad de intercambio aniónico del suelo (CAE) y, por lo tanto, reduce la lixiviación de fertilizantes aniónicos como los nitratos y fosfatos de los suelos. Además de la liberación controlada de nutrientes, los polímeros de quitosán también se han utilizado con éxito para mejorar la entrega de ciertos pesticidas a los cultivos para mejorar su eficacia y reducir el impacto ambiental (Hadwiger *et al.* 2006; Sharp 2013). En pocos trabajos se han aplicado nanopartículas de quitosán en el campo agrícola, como la incorporación de fertilizantes NPK en las nanopartículas para ahorrar el consumo de fertilizantes (Corradini *et al.* 2010). Las nanopartículas de quitosán tienen un tamaño nanométrico y pueden entrar fácilmente en las células de las plantas y mejorar sus bioactividades más altas (Van *et al.* 2013).

4.5.3. Influencia del quitosán en la absorción de nutrientes.

La aplicación de quitosán aumenta la absorción de nutrientes y estimula el crecimiento de las plántulas. La absorción de nutrientes minerales como nitrógeno, potasio, fósforo, calcio y magnesio aumenta significativamente en las plantas tratadas con quitosán. Las propiedades catiónicas del quitosán también lo hacen adecuado como medio para suministrar nutrientes esenciales adicionales. Particularmente, el contenido de magnesio y nitrógeno total contribuye a un mayor contenido de clorofila (Van *et al.* 2013).

La aplicación de nanopartículas de quitosán a través del aumento de la presión osmótica de las células estomáticas ha inducido una gran apertura y una alta conductancia de las estomas. El quitosán aumentó notablemente los niveles de absorción de nutrientes, pigmentos fotosintéticos y crecimiento en plántulas de café (Van *et al.* 2013).

Tsugita *et al.* (1993) sugirió que la aplicación de quitosán en el rábano daikon desencadenó el crecimiento de raíces y brotes. Nitar *et al.* (2004) informaron que la aplicación de oligómeros de quitosán para el arroz ayudó a que las hojas de arroz fueran más verdes. Las plantas de tomate fueron sometidas a tratamiento con quitosán, lo que resultó en un alto compuesto fenólico, producción de fitoalexinas y mejora en el peso de la fruta y el rendimiento general (Agbodjato A *et al.* 2016; Reddy *et al.* 2000).

En la aplicación de quitosán para determinar la producción floral en *Dendrobium "Eiskul"* se informó que hubo mejores resultados en tamaño de cloroplastos y efecto en el metabolismo del sílice ya que aumentó significativamente el número de haces vasculares (Limpanavech *et al.* 2008). En tres estudios con orquídeas se descubrió que el quitosán era efectivo a una concentración muy baja de 10 mg L⁻¹, (Chandrkrachang 2002b). Esto indica que el quitosán estaba actuando debido a mecanismos distintos a simplemente mejorar la nutrición con nitrógeno o como fuente de energía de carbohidratos. Para otras plantas cultivadas, el recubrimiento de semillas de quitosán promovió

la aparición y aumentó el vigor del trigo (*Triticum aestivum*) (Reddy et al. 1999), y el crecimiento vegetativo en el mijo perla (*Pennisetum glaucum*) (Sharathchandra et al. 2004). Se ha informado que el quitosán tiene un efecto positivo sobre el crecimiento de rizobacterias, donde el quitosán posee una relación simbiótica con las rizobacterias que promueven el crecimiento, lo que desencadenó la tasa de germinación y mejoró la absorción de nutrientes de las plantas (Agbodjato A et al. 2016). En el (Cuadro 1) se enlistan algunos cultivos en los que el impacto del quitosán fue altamente efectivo en términos de mejorar los rasgos agronómicos.

Cuadro 1. Estudios reportados sobre los efectos del quitosán en los rasgos agronómicos de los cultivos hortícolas.

Cultivo	Función
Alcachofa	Mejora de la germinación de semillas y el crecimiento de las plantas.
Café	Altura de la planta y área de la hoja.
Col china	Germinación uniforme de semillas y crecimiento mejorado de plántulas.
Orquídea	Germinación de semilla mejorada.
Berenjena	Actividad antioxidante mejorada y contenido fenólico total.
Uva	Mayor número de entrenudos y enraizamiento mejorado.
Okra	Altura de la planta, número de hojas y rendimiento de frutos.
Papa	Aumentó el peso fresco del tubérculo y el rendimiento general.
Melocotón	Actividad antioxidante inducida y enzimas relacionadas con la defensa.
Rábano	Mejora la eficiencia de absorción de nutrientes e imita el estrés del cadmio.

Fuente. (Sharif et al. 2018).

De acuerdo con anterior, se recomienda el uso de quitosán para mejorar la actividad fotosintética, el crecimiento vegetativo, las actividades antioxidantes, los atributos de calidad y el crecimiento y rendimiento general del cultivo.

4.6. EI CULTIVO DE LA COL

4.6.1. Características generales del cultivo.

La col (Brassica oleracea) perteneciente a la familia Cruciferae, familia que incluye hortalizas como coliflor, brócoli, rábano y mostaza. Esta es una de las hortalizas de mayor importancia económica y de consumo, ocupa el primer lugar dentro de los vegetales de hoja, tallo, brotes y flores (Sarita 1993).

Se encuentra entre las hortalizas más cultivadas, en forma de numerosas variedades y tipos que se distinguen por su aspecto, sabor y utilización. La col es la variedad con mayor consumo tanto en el ámbito nacional como internacional. En el ámbito nacional, durante gran parte de la década de los noventa el promedio de consumo de la col fue de 2.07kg habitante⁻¹, lo que significó 400% más que lo que se consumió de coliflor y un 34% más de lo que se consumió de brócoli. (ASERCA 2001)

4.6.2. Origen.

La col se origina en las regiones mediterráneas y litorales de Europa Occidental, a partir de una planta silvestre denominada (*brassica oleracea var sylvestris*). Se ha determinado que el origen de la col silvestre fue en el este de Inglaterra, a lo largo de la costa de Dinamarca y el noreste de Francia (Armstrong 1992).

Gordon et al. (1992) sostienen que las primeras formas de col se originaron aparentemente en Europa y parte de Asia, siendo usada como comestible desde las épocas prehistóricas.

4.6.3. Importancia.

Esta hortaliza ha alcanzado gran importancia debido a la gran diversidad de climas y la adaptabilidad que presenta, ya que según datos de la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SAGARPA) esta hortaliza se cultiva en casi todo el territorio nacional siendo 25 Estados donde se produce.

La col es una hortaliza que se consume en estado fresco o industrializado, ya que la mayoría de los cultivos hortícolas son ricos en vitaminas y de fácil digestión, en su mayoría son cultivos anuales y en algunos casos especialmente de temporada. Por ello se ha buscado adoptar otro sistema de producción, diferente a los sistemas tradicionales, mediante el cual permite al consumidor adquirir dichas hortalizas en cualquier época del año (Araiza, 1990). La col (*Brassica oleracea*) es utilizada principalmente para consumo en fresco, respecto al valor nutritivo. Es posible el abastecimiento del mercado nacional en cualquier época del año gracias a su distribución geográfica y la adopción de nuevas tecnologías de producción (ASERCA 2001)

4.6.4. Distribución.

4.6.4.1. Mundial.

De acuerdo con la base de datos de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), la superficie mundial destinada al cultivo de coles ha registrado un constante crecimiento en los últimos cinco años. Los reportes de la FAO establecen que la superficie mundial cultivada se ubicó, en promedio anual, en 2.34 millones de hectáreas entre 1995 y 2000, con una tasa de crecimiento de 68.37% entre un año y otro. los principales países productores de coles son, por orden de importancia: China, India, Rusia, República de Corea y Japón, los cuales en conjunto producen alrededor del 63% de la producción mundial (FAO 2000).

Cuadro 2. Principales países productores de col.

País	Miles de Toneladas
China	19.953
Federación de Rusia	4.500
India	4.200
Corea	2.755
Japón	2.550
Estados Unidos	2.084
Polonia	1.778
Indonesia	1.401
Ucrania	1.070
Rumania	1.000

Fuente. (FAO 2000)

4.6.4.2. Nacional.

En 2019, de acuerdo con el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, (SIAP), la superficie sembrada de col en México fue de 6136.95 Ha, logrando realizar la cosecha en una superficie de solo 6,114.95 ha de las cuales se obtuvo una producción de 203,986.21 toneladas con un rendimiento promedio de 33.36 ton ha⁻¹. distribuyéndose en 25 estados de la República Mexicana en los que destacan Puebla, Chiapas, Baja California, y Zacatecas, Generando una derrama económica de 599,022.74 millones de pesos (SIAP/SAGARPA 2019).

Cuadro 3. Estados productores con mayor superficie sembrada de col.

Estado	Superficie sembrada en Ha.
Puebla	1,762.00
Michoacán	770.5
Chiapas	740
Guanajuato	371
Jalisco	291.5
Sonora	246
Nuevo León	245
Estado de México	177
Baja California	172
Zacatecas	152

Fuente.(SIAP/ SAGARPA 2009)

4.6.5. Clasificación Taxonómica.

Valdez (1992) indica la taxonomía de la col repollo (*Brassica oleracea*) como la siguiente.

Reino: *plantae*

Subreino: *Embryobionta*

División: *Magnolophyta*

Orden: *Violiflorae*

Clase: *Dicotiledónea*

Subclase: *Dillenidae*

Familia: *Brassicaceae* (Antiguamente crucifera)

Género: *Brassica*

Especie: *Brassica Oleracea*

Variedad: *Brassica Oleracea Var Capitata*

Nombre común: *col (Repollo)*.

Cuadro 4. Contenido nutricional por cada 100 g de peso fresco col comestible.

Nutriente	Cantidad
Energía (Kcal)	36
Proteínas (g)	3,3
Lípidos totales (g)	0,3
AG poliinsaturados	0,1
Colesterol (mg/1000 kcal)	0
Hidratos de carbono (g)	3,4
Fibra (g)	3,3
Agua (g)	89,7
Calcio (mg)	40
Hierro (mg)	0,8
Yodo (μm)	-
Magnecio (mg)	13
Zinc (mg)	0,3
Sodio (mg)	12
Potasio (mg)	310
Fosforo (mg)	53
Selenio (μg)	2
Tiamina (mg)	0,04
Riboflavina (mg)	0,08
Equivalentes niacina (mg)	1,1
Vitamina B ₆ (mg)	0,16
Folatos (μg)	79
Vitamina B ₁₂ (μg)	0
Vitamina C (mg)	65
Vitamina A: Eq. Retinol (μg)	4
Vitamina D (μg)	0
Vitamina E (mg41)	0,2

Fuente: Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación MAPA. Citado por:(Moreiras y col 2013)

4.6.6. Características morfológicas.

a) Raíz. Presenta un sistema radicular abundante ramificado y superficial. Las raíces pueden penetrar hasta 45 y 60 cm (Maroto Borrego 1995). El sistema de raíces de la col es muy fibroso y abundante, reportando que llegan a profundidades de 1,5 m y 1,05 m de crecimiento lateral y que la mayor cantidad de raíces se encuentran a 45 cm de profundidad del suelo (Valdez 1992).

b) Tallo. Durante el primer ciclo vegetativo la planta forma un tallo herbáceo, relativamente grueso, corto, jugoso, erecto, y sin ramificación: con la parte exterior leñosa y entrenudos cortos, no presenta ramificaciones y no alcanza más de 30 cm de altura, debido a que el crecimiento en longitud se detiene en estados iniciales del desarrollo. La cabeza del col corresponde a un tallo que sostiene gran número de hojas no desplegadas, descansando una sobre otra y que forman un conjunto más o menos apretado, que encierra la yema terminal y las hojas más jóvenes (Maroto Borrego 1995).

c) Hojas. La cabeza de la col está constituida por hojas modificadas y parten del tallo, con un ángulo que es diferente según la variedad y que va a definir su compactación (Maroto Borrego 1995).

4.6.7. Botánica.

Hortaliza perteneciente a la familia de las Crucíferas, de raíz gruesa, carnosa, con un tallo corto sin ramificaciones, formando una masa terminal de hojas imbricadas, las cuales constituyen el fruto. Florece solo después de un largo periodo de clima frío. Se reproduce por semillas. Su cosecha comienza entre 85 y 105 días después de la siembra. Su densidad promedio es de 30000 a 35000 plantas por hectárea. Crece mejor en climas fríos y frescos, se cultiva satisfactoriamente a partir de los 500 msnm en suelos limo arenosos, bien drenados y con buen contenido de materia orgánica. Existe gran cantidad de variedades, agrupadas por su variedad botánica, forma, precocidad y uso (FAO 2010).

4.6.8. Requerimientos generales.

4.6.8.1. Clima.

La col requiere de climas templado con temperaturas de 15 a 18 °C con una temperatura máxima de 23 grados y mínima de 4 °C, óptima de suelo para germinación es de 26 a 30 °C (Caseres 1981). El principal factor climático es la temperatura. La col es básicamente una planta de temperatura fría. En general, la planta prospera mejor y produce las mejores cabezas a temperaturas entre 10 y 21°C. Así pues, se obtienen buenas cosechas en el sureste y suroeste durante el invierno y principio de primavera, y en el noreste y en el Medio Oeste durante el verano. Los climas que reciben la influencia de grandes masas de agua son particularmente favorables para el cultivo de repollo (Edmon 1979).

4.6.8.2. Humedad.

Aun que el sistema radicular es ramificado esta planta es muy exigente a la humedad debido al gran número de hojas que son de gran desarrollo y evaporan grandes cantidades de agua, hasta 500 mm³, es decir hasta 125 veces más cantidades de agua que la presente en la producción, durante el crecimiento, en general deben mantener una humedad de suelo entre 80 y 90 % de la capacidad del suelo (Bravo *et al.* 2004).

4.6.8.3. Suelo.

Se adapta a una amplia variedad de suelos, sin embargo, se obtiene buen desarrollo en los suelos de textura franca, ricos en materia orgánica; en suelos pesados (arcillosos), es necesario hacer un buen drenaje para evitar el encharcamiento. La reacción óptima (pH) del suelo para el cultivo de col debe mantenerse entre 5.5 y 6.8, para que no ocurran deficiencias nutricionales y no se facilite la proliferación de enfermedades (Fredy E. *et al.* 2003).

V.MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Sitio experimental

La parte experimental del presente trabajo se realizó en las instalaciones de la Universidad autónoma Agraria “Antonio Narro”, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, en un invernadero de mediana tecnología que pertenece al Departamento de fitomejoramiento, localizado en las coordenadas geográficas de 25° 21' 19" latitud N, y 101° 01' 49" longitud W a una altitud de 1,777 metros sobre el nivel del mar (msnm).

5.2. Establecimiento.

La semilla se sembró en charolas de polietileno de 200 cavidades el 20 de noviembre del 2018, el trasplante se realizó el 20 enero del 2019 y se cosecho el primero de junio, el cultivo cumplió un ciclo de 131 días en bolsas de polietileno de 4 litros con un tipo de suelo calcáreo no agrícola ubicado en un área con reforestación de 20 años con *Pinus halepensis*. El suelo fue recolectado de los terrenos pertenecientes a la universidad, situados en las coordenadas 25°21'14.87"N y 101° 2'23.25"O; posterior a su muestreo el suelo fue caracterizado desde el punto de vista fisicoquímico de acuerdo a la NOM-021-RECNAT-2000 (SEMARNAT, 2002).

Cuadro 5. Propiedades fisicoquímicas del suelo.

Suelo	pH ^a	CE	Densidad aparente	Carbonatos Totales	N-NO ₃ ⁻	P-Olsen
	H ₂ O	(dS m ⁻¹)	g/cm ³	%	mg L ⁻¹	mg L ⁻¹
	7.59	0.58	0.95	29.7	2.72	15
Cationes	Intercambiables	(mg L ⁻¹)		Textura	M.O	
Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na ⁺	K ⁺	Clase	%	
6364	341	101	599	Franco	4.90	

5.3. Riego

Para satisfacer la demanda hídrica del cultivo, se utilizó la programación del Timer GE Mod. 15089. Aplicando al cultivo cuatro riegos al día, 300 ml en cada ocasión, a intervalos de 4 horas con una duración del riego de 3 minutos utilizando sistema de riego por goteo. Se analizó el agua de riego con el fin de tomar en cuenta los valores para el cálculo de los fertilizantes (cuadro 6).

Cuadro 6. Análisis químico del agua de Riego.

Variable	Valor	Variable	Valor
pH	8.06	Mg ²⁺	24.1 mg L ⁻¹
CE	770 (μS cm ⁻¹)	Na ⁺	20.5 mg L ⁻¹
N-NO ₃ ⁻	4.96 mg L ⁻¹	SO ₄ ²⁻	81.7 mg L ⁻¹
K ⁺	6.24 mg L ⁻¹	HCO ₃ ⁻	256 mg L ⁻¹
Ca ²⁺	95.8 mg L ⁻¹	CO ₃ ²⁻	34.2 mg L ⁻¹

5.4. Fertilización.

Se llevó a cabo a través del sistema de riego, dirigida al suelo. Como fertilización se aplicó la solución nutritiva (Hoagland y Aron, 1950)

5.5. Tratamientos.

Los tratamientos consistieron en la aplicación de quitosán (Cs) de origen comercial. Las cantidades se establecieron de acuerdo a las indicaciones comerciales para agricultura (0, 50, 150 Kg ha⁻¹). En este experimento las aplicaciones de quitosán se llevaron a cabo de forma dirigida, es decir las dosis establecidas (en Kg ha⁻¹) se aplicaron a la zona donde crece la plántula usando un sistema (pipeta, probeta etc.) distinto al sistema de riego presurizado. El quitosán fue aplicado dividido en tres partes: una antes del trasplante (1 día antes) la segunda en desarrollo y la tercera en la formación de la cabeza.

El testigo fue solución de Hoagland y Arnon al 25% hasta la etapa de formación y 50% posteriormente. De trabajos previos sabemos que la solución nutritiva del suelo tiene niveles no detectables de Fe, B, Cu, Mn, y Ni así como niveles muy bajos de Zn por lo que se utilizó una solución nutritiva completa.

Para el cálculo las cantidades de quitosán se tomó en cuenta la densidad aparente del suelo la cual es 0.94 g/cm³.

$$\frac{0.94g}{ml} * \frac{1000ml}{1L} * \frac{1 Kg}{1000 g} * \frac{1000 L}{1 m^3} * (100 m * 100m * 0.2m) = 1,880 \frac{Ton}{Ha}$$

Cuadro 7. Tratamientos.

Tratamientos	Cs Kg ha ⁻¹	Cs gr Kg ⁻¹ de suelo
T1	50	0.027
T2	150	0.080
Testigo	(solución Hoagland y Arnon)	0

5.6. Muestreos.

Se establecieron 129 plantas, 43 por tratamiento, Se realizaron 3 muestreos destructivos durante todo el ciclo del cultivo:

Cuadro 8. Fechas de muestreo vegetal.

N. de muestreo	Fecha
1.	24 de febrero de 2019
2.	8 de abril del 2019
3.	1 de junio del 2019

5.7. Solución del suelo.

Para determinar los cambios temporales en la composición de la solución del suelo (SS) se llevaron a cabo 6 muestreos, una semana antes del muestreo destructivo y otro después de este, usando tres repeticiones para cada tratamiento. Para la muestrear la solución del suelo *in situ* se ubicaron tres sondas de succión en cada tratamiento, se eligieron tres plantas al azar para colocar las sondas en el interior de la maceta a 15 cm de profundidad y 10 cm de la planta. Para tomar la muestra de SS se siguió el siguiente procedimiento: transcurrida 1 hora después del riego se aplicó una presión de succión de 75 centibares a las sondas de succión con una jeringa. Al día siguiente se extrajo la muestra de SS de la sonda. El volumen de la muestra obtenida osciló entre 20 y 30 ml. Las muestras obtenidas fueron sometidas primeramente a un análisis *in situ* para determinar: pH con un potenciómetro de la marca HANNA modelo HI 98130; la conductividad eléctrica (C.E) con un equipo de la marca HANNA modelo HI 98130. El fósforo (P) por espectrofotometría visible (AOAC 1980), y la concentración de potasio (K⁺), calcio (Ca²⁺), magnesio (Mg²⁺), sodio (Na⁺), hierro (Fe) zinc (Zn) molibdeno (Mo) y cobre (Cu) utilizando la técnica de digestión por vía ácida y la lectura se realizó en un espectrofotómetro de adsorción atómica (Varian AA-1275 series).

La determinación del nitrógeno total (N) y carbono (C) en el tejido de la col se realizó mediante un analizador elemental (EQUIPO CHN 628).

Las plantas utilizadas en el experimento fueron colocadas en densidad de 2 plantas por m², fueron mantenidas en el invernadero durante 18 semanas después de su trasplante y recibieron los cuidados estándar como, monitoreo y control de plagas y enfermedades. En las plantas se llevaron a cabo tres muestreos colectando tres plantas elegidas al azar en cada tratamiento a las 6, 12 y 18 semanas después del trasplante (ddt).

5.8. Clorofilas.

Se determinaron de acuerdo a la metodología de (Nagata y Yamashita 1992). 50 mg de tejido liofilizado se mezclaron con 2 ml de solución de acetona al 100%, se centrifugo la 5000 rpm durante 5 min. Se tomó una alícuota de 2 ml de sobrenadante y se tomó lectura en espectrofotómetro (Thermo Scientific, modelo G10S UV-Vis) con celdillas de cuarzo a absorbancias de 663 y 646 nm para determinar clorofila a, b y clorofilas totales (Ec. 1, 2 y 3 respectivamente) y se utilizaron las ecuaciones de (Porra 2002) los resultados se expresaron en miligramos por 100 g de peso seco (mg 100g⁻¹ PS).

$$[\text{Chl a (mg/ml)}] = 12.25 \cdot E_{663} - 2.55 \cdot E_{646} \quad (1)$$

$$[\text{Chl b (mg/ml)}] = 20.31 \cdot E_{646} - 4.91 \cdot E_{663} \quad (2)$$

$$[\text{Chl a+ b (mg/ml)}] = 17.7646 \cdot E_{646} + 7.34 \cdot E_{663} \quad (3)$$

5.9. Contenido mineral.

Después del muestreo se separó raíz, hoja y cabeza, se lavó la raíz y se determinó el peso fresco de todos los órganos luego se seleccionó una cantidad conocida de tejido y se deshidrataron en un horno de secado a temperatura constante de 80° C durante 3 días en bolsas de papel.

La digestión de la muestra se realizó de acuerdo a la metodología de (Hernandez- Hernández *et, al.*, 2018) con algunas modificaciones. A 30 ml de ácido nítrico HNO₃ concentrado se le agrego 0.5 g de muestra seca a punto de ebullición durante 3 horas manteniendo el volumen inicial. Se filtró con papel filtro Whatmman No. 42, y se aforo a 100 ml con agua desionizada. El contenido de minerales se determinó en espectrofotómetro de absorción atómica de emisión de flama (Varian AA - 1275). Los resultados se expresaron en miligramos por 100 g de peso seco (mg 100 g⁻¹ PS) para macro y micro elementos respectivamente.

5.10. Análisis Estadístico.

El experimento fue establecido en un diseño en bloques completamente al azar, con 3 tratamientos y 43 plantas por repetición. Se realizó un análisis de varianza de prueba de comparación de medias según LSD Fisher ($p \leq 0.05$) utilizando el programa estadístico R versión 3.6

VI.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Contenido de minerales en la disolución del suelo

Se sabe que el quitosán tiene una buena capacidad de complejación a través de interacciones específicas de los grupos $-NH_2$ con metales pesados (Muzzarelli. 1973). El examen del mecanismo de formación de complejos con cobre en solución diluida propuso dos complejos diferentes según el pH y el contenido de cobre (Rhazi *et al.* 2002). La quelación depende del estado físico del quitosán (polvo, gel, fibra, película) y se obtiene una mejor quelación para mayores grados de desacetilación de la quitina. Por tanto, la quelación está relacionada con el contenido y la distribución de los grupos $-NH_2$ (Kurita *et al.*, 1979). La principal reacción que se realiza fácilmente y que involucra la posición C-2 en el quitosán es la cuaternización del grupo amino o una reacción en la que una función aldehídica reacciona con $-NH_2$ por aminación reductora (Sashiwa *et al.* 2003).

De hecho, los átomos de nitrógeno contienen dobletes de electrones libres que pueden reaccionar con cationes metálicos. Por tanto, los grupos amino son responsables de la captación de cationes metálicos mediante un mecanismo de quelación. Sin embargo, los grupos amino se protonan fácilmente en soluciones ácidas. Por lo tanto, la protonación de estos grupos amino puede causar atracción electrostática de compuestos aniónicos, incluidos los aniones metálicos (cloruros y sulfatos). (Gibbs *et al.* 2003)

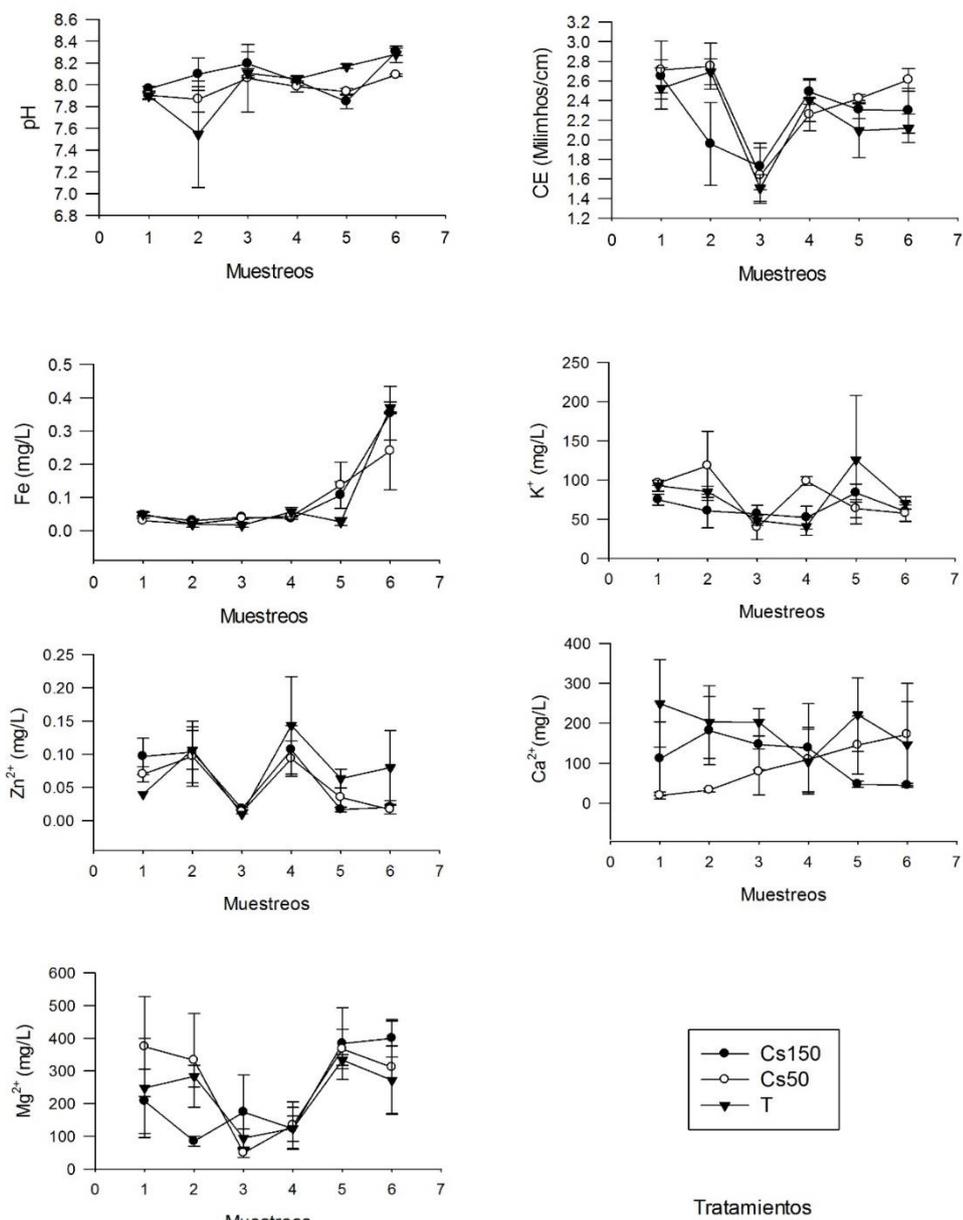


Figura 2. Concentración media y error estándar de los elementos en la disolución del suelo con dos dosis de quitosán en el cultivo de col.

En el análisis estadístico de los minerales en la disolución del suelo (figura 2) no presentó diferencia estadística para ninguno de ellos, sin embargo es importante mencionar que en el tratamiento Cs 150 los minerales de Mg^{2+} y Fe representaron el valor medio más alto con valores de 288.6 y 0.127 mg l⁻¹ con respecto al testigo.

Rendimiento en el cultivo de col

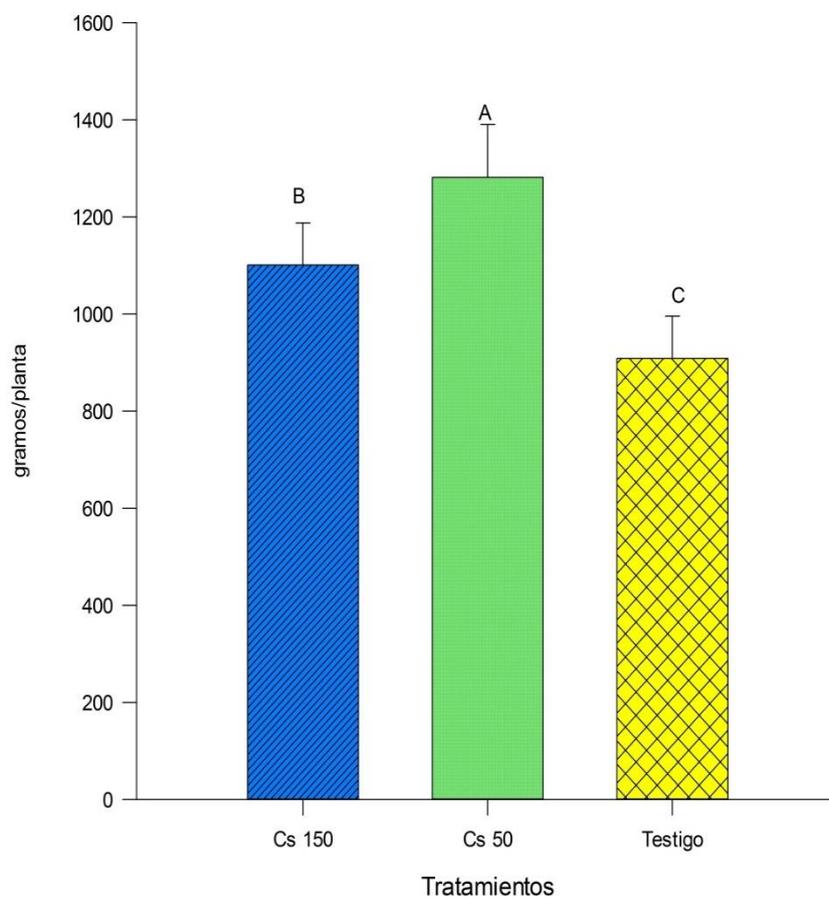


Figura 3. Valores medios de rendimiento cuantificados en el cultivo de la col (*Brassica oleracea*.) con dos dosis de quitosán. Significancia de $\alpha \leq 0.05$ LSD.

6.2. Rendimiento del cultivo

Los tratamientos con quitosán presentan diferencia estadística significativa en el rendimiento de col. (figura 3). El tratamiento Cs 50 presento el mayor rendimiento medio con 1281 g planta⁻¹ mientras que en los tratamientos Cs 150 y el testigo (T), se obtuvo un rendimiento medio de 1101 y 908 g planta⁻¹ respectivamente, representando un 25% en el aumento del rendimiento medio del tratamiento Cs 50 en cuanto al tratamiento Cs 150 y un 30% en cuanto al testigo (T). Seo *et al.* (2000) reporto que aumentó la longitud de las hojas de col, longitud periférica y peso promedio en comparación con las de los grupos de control, además de los niveles de ácido y-aminobutírico (GABA) mediante tratamientos de quitosán al suelo. Ohta *et al.* (2001) Menciona que los efectos de los tratamientos con quitosán aplicado al suelo en lisianthus (*Eustoma grandifolium*) mejoro el crecimiento de plántulas y de brotes, diámetro del tallo, peso y número de flores. Kim *et al.* (2005) menciona que después de aplicar los tratamientos con quitosán al suelo, aumento significativamente el rendimiento de la albahaca dulce. (*Ocimum basilicum L.*).

Reyes-Pérez *et al.* (2020) demuestran que un bioproducto de quitosán ejerce un efecto estimulante sobre las variables: altura de la planta, racimos con frutos, frutos por planta, diámetro ecuatorial y polar , diámetro del pericarpio y biomasa en cultivo de tomate. De acuerdo con Zerpa *et al.* (2017) en su estudio realizado en cultivo de arroz (*Oryza sativa L.* variedad sd20a) el quitosán aumentó significativamente el rendimiento de varíales como la altura, elongación de la raíz, contenido de clorofila y cosecha. Resultados parecidos fueron encontrados en cultivo de trigo tratados con nano quitosán-NPK en un suelo arenoso donde se demostró que en quitosán-N indujo aumentos significativos en el índice de cosecha, índice de cultivo e índice de movilización de las variables de rendimiento de trigo a diferencia de las plantas control (Abdel-Aziz *et al.* 2016)

Clorofila A

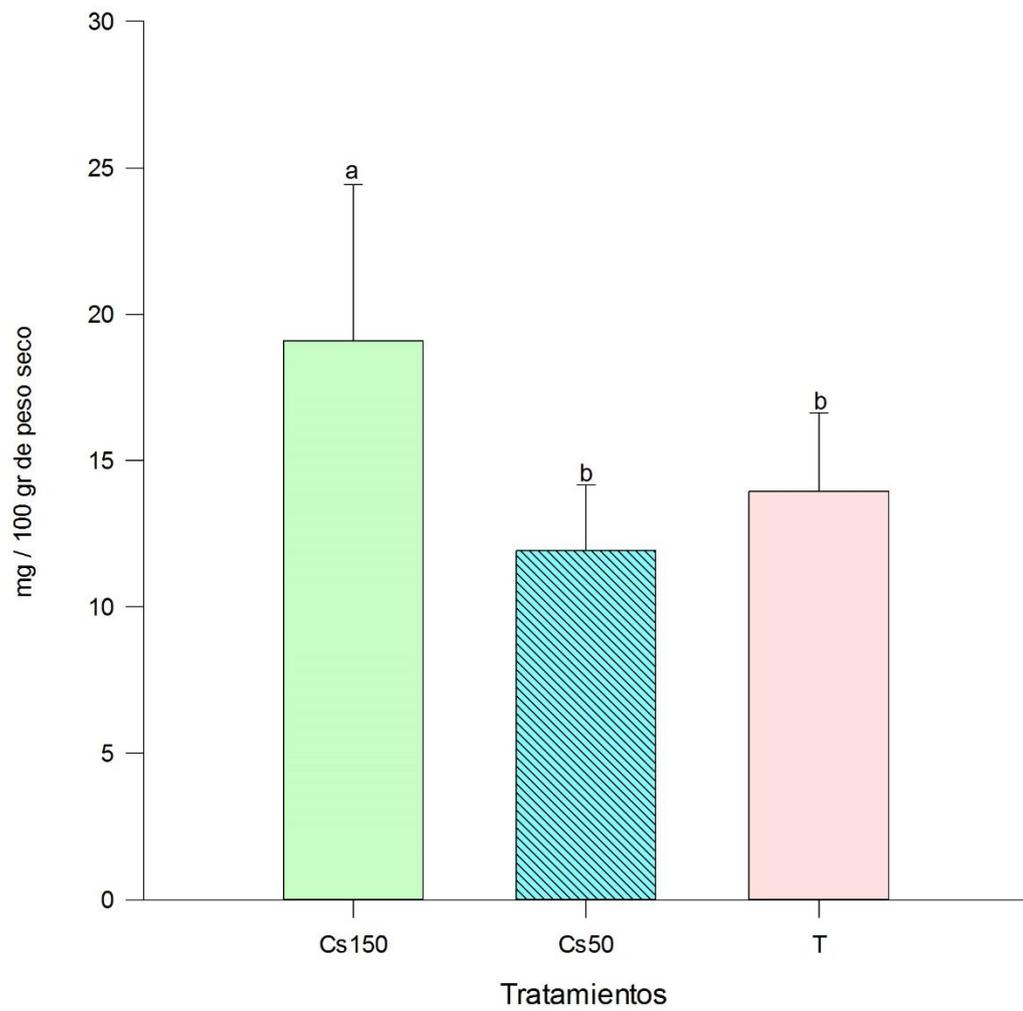


Figura 4. Valores medios de clorofila A (mg 100 gr⁻¹ de peso seco) cuantificados en el tejido de la col (*Brassica oleracea var L.*) con dos dosis de quitosán. Significancia de $\alpha \leq 0.05$ LSD

Clorofila B

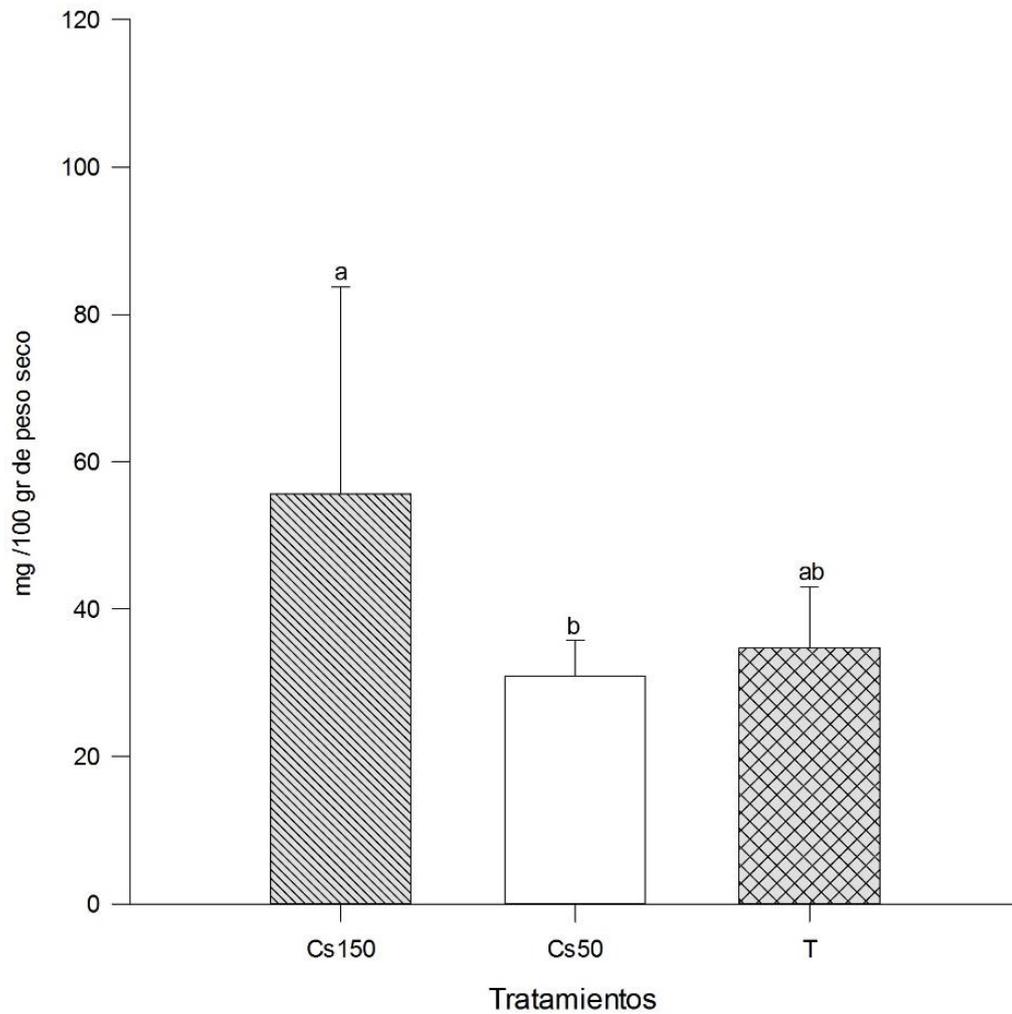


Figura 5. Valores medios de clorofila B ($\text{mg } 100 \text{ gr}^{-1}$ de peso seco) cuantificados en el tejido de la col (*Brassica oleracea var L.*) con dos dosis de quitosán. Significancia de $\alpha \leq 0.05$ LSD

Clorofilas totales

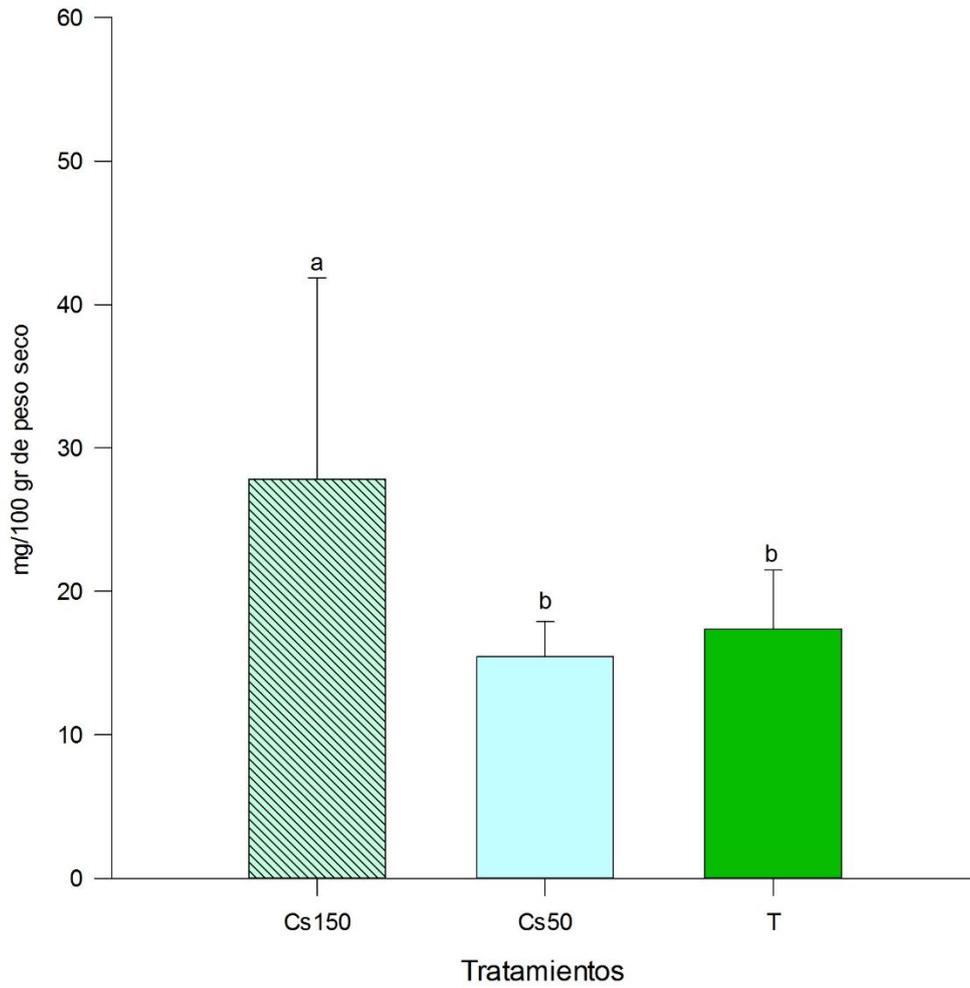


Figura 6. Valores medios de clorofila total (mg 100 gr⁻¹ de peso seco) cuantificados en el tejido de la col (*Brassica oleracea var L.*) con dos dosis de quitosán. Significancia de $\alpha \leq 0.05$ LSD.

6.3. Clorofilas A, B y Totales.

Hubo un efecto significativo en el contenido de clorofila A en el tejido de la col para tratamiento de Cs 150 mientras que en los tratamientos Cs 50 y Testigo no hubo diferencia significativa (figura 4). Los mismos resultados se presentaron para las clorofilas totales (figura 6). En cuanto a la clorofila B no se presentaron diferencias significativas (figura 5).

Los mismos resultados los obtuvo Dzung *et al.* (2011), En el cultivo de café bajo invernadero y a cielo abierto aplicando oligómeros de quitosán al suelo sustentando que el aumento del contenido de clorofila llevo a la promoción de la fotosíntesis y la absorción de nutrientes minerales. Los resultados mostraron que el oligómero de quitosán aumento la acumulación de nutrientes minerales en la hoja de café. De igual manera se demostró que, el quitosán aplicado al suelo aumento el crecimiento de plántulas, número de hojas, área, peso fresco y peso seco así como el índice de clorofila en plantas de lechuga (Xu *et al.* 2018). Desde la posición de Boonlertnirun *et al.* (2008) argumenta que al remojar las semillas de arroz y aplicando al suelo una solución de quitosán tiende a mostrar el valor máximo en la producción de clorofila sobre otros tratamientos. Krzysztof *et al.* (2008) menciona que aplicando un producto a base de quitosán aumenta significativamente el contenido de clorofila en hojas desarrolladas de plantas de uva mantenidas en condiciones óptimas o en condiciones de estrés por sequía.

Cuadro 9. Concentración mineral (mg 100 g⁻¹ de peso seco) en el tejido de la col (*Brassica oleracea var L.*) con dos concentraciones de bioestimulantes.

Mineral (mg g ⁻¹)	Cs150	Cs50	Testigo
Na ⁺	1.59 ^a	1.59 ^a	1.58 ^a
K ⁺	3.15 ^a	3.44 ^a	3.62 ^a
Cu	0.00825 ^b	0.00865 ^b	0.00107 ^a
Mn	0.0205 ^b	0.02465 ^a	0.022 ^b
Zn	0.0465 ^b	0.06433 ^a	0.067 ^a
Fe	0.05375 ^a	0.06333 ^a	0.05575 ^a
Mg ²⁺	2.6 ^b	3.5 ^a	2.4 ^b
Ca ²⁺	2.08 ^{ab}	2.14 ^{ab}	1.76 ^b
N %	2.71 ^c	3.17 ^a	2.89 ^b
C %	36.95 ^a	34.44 ^b	35.16 ^{ab}

Significancia de $\alpha \leq 0.05$. LSD

6.4. Concentración de minerales en el tejido de col.

La aplicación de quitosán aumento la absorción de minerales en el tejido de la col tales como Cu, Mn, Zn, Fe, Mg²⁺, Ca²⁺, N%, C% (cuadro 9). La composición de la disolución del suelo se vio afectada por el crecimiento de la planta es decir la composición de los aniones y cationes así como sus concentraciones mostraron cambios dinámicos dependientes del crecimiento de la planta. Este mismo fenómeno fue reportado por Yanai *et al.* (1995) en un cultivo de maíz. Con un suministro adecuado de nutrientes, los cultivos de crecimiento rápido tienen mayor tasa de captación de nutrientes por unidad de peso de raíz, lo que origina diferencias en la absorción e intercambio de iones, modificando a su vez la composición de la disolución del suelo de una manera diferenciada, dependiendo de la biomasa radical y de la actividad metabólica de la misma.

Es difícil distinguir si en los cultivos de rápido crecimiento ocurre mayor absorción por unidad de biomasa radical (tal vez por mayor densidad de canales

por unidad de superficie radical) o bien si esta respuesta depende de una mayor biomasa radical por planta (Clarkson 1985; Colmer y Bloom 1998).

La mayor efectividad del quitoán para inducir más acumulación de biomasa en las plantas posiblemente fue dependiente de la inmediata disponibilidad de los nutrientes al ser aplicados al suelo, lo cual permitió acoplar de mejor forma la absorción de iones con la demanda del cultivo (Rodgers y Barneix 1988).

VII. CONCLUSIONES

Desacuerdo con los resultados obtenidos se concluye que la dosis del bioestimulante quitosán Cs 50 aplicado al suelo, estimula las variables de crecimiento, desarrollo y rendimiento. Diferenciándose en un aumento de rendimiento del 25 y 30 % en comparación con la dosis Cs 150 y el Testigo respectivamente. El rendimiento de cosecha encontrado tuvo una relación directa con el comportamiento del cultivo en todas sus fases vegetativas, marcando diferencias significativas en las características de las plantas estudiadas, incrementando la absorción de nutrientes en el tejido y la concentración de clorofilas, con esto se demuestra que el quitosán tiene la capacidad de quelar iones en la disolución del suelo lo cual incrementa la biodisponibilidad de los iones en la disolución del suelo y potencializa la absorción de estos por las raíces del cultivo.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Abdel-Aziz**, M.M., Heba Hasaneen, N.A., Mohammed, Omer, & M., A. (2016). Nano chitosan-NPK fertilizer enhances the growth and productivity of wheat plants grown in sandy soil. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 14(1),
- Agbodjato**, N. A., Noumavo, P. A., Adjanohoun, A., Agbessi, L., & Baba-Moussa, L. (2016). Synergistic effects of plant growth promoting rhizobacteria and chitosan on in vitro seeds germination, greenhouse growth, and nutrient uptake of maize (*Zea mays* L.). *Biotechnology research international*, 2016.
- Armstrong**, A. M. (1992). Insectos y métodos de control en repollo. *Memorias Foro Técnico: Cultivo y Producción de Repollo. Estación Experimental Agrícola, Universidad de Puerto Rico, Río Piedras, PR*, 21-24.
- ASERCA**. (2001). *¿MÁS VALE MALO POR CONOCIDO...?*
- Basak**, A. (2008). "Biostimulators—definitions, classification and legislation". *Biostimulators in modern agriculture. General aspects*.
- Bautista-Baños**, S, Hernández-López, M., Bosquez-Molina, E., & Wilson, C. L. (2003). Effects of chitosan and plant extracts on growth of *Colletotrichum gloeosporioides*, anthracnose levels and quality of papaya fruit. *Crop Protection*, 22(9), 1087–1092
- Bautista-Baños**, S., Romanazzi, G., & Jiménez-Aparicio, A. (2016). Chitosan in the Preservation of Agricultural Commodities. In *Chitosan in the Preservation of Agricultural Commodities*.
- Belanson**, E. (2008). *Avaliação de diferentes produtos enraizadores no rendimento de grão do trigo*.
- Boonlertnirun**, Suchada, Boonraung, Chaweewan, Suvanasara, & Raweewon. (2008). Application of Chitosan in Rice Production. *Journal of Metals, Materials and Minerals*, 18(2), 47–52.
- Bravo**, C.A.; P., V.F.; Gonzales, P.J.C.; Guijosa, Guillen, G.M.A.; V.C.; Huitzacua, Murillo, O.H.; Ramirez, & V.A. (2004). Prueba de cuatro dosis de

- fertilizantes ABCD, tres densidades de siembra XYZ en repollo Brassica Oleracea var.B Capitata var. C. Izalco. Parcelas divididas, bloques las azar cuatro repeticiones. *Memorias de Investigación Agrícola 2003- 2004, Ziracuaretiro, Mich., México. Editorial U.M.S.N.H.*
- Bueter**, L., C., A., S., Charles, Levitz, & M., S. (2013). Innate Sensing of Chitin and Chitosan. *PLoS Pathogens*, 9(1), 1–3.
- Bulgari**, R., Cocetta, G., Trivellini, A., Vernieri, P., & Ferrante, A. (2015). *Biological Agriculture & Horticulture : An International Journal for Biostimulants and crop responses : a review. October*, 37–41.
- Calvo**, P., Nelson, L., & Kloepper, J. W. (2014). *Agricultural uses of plant*
- Caseres**, E. (1981). *Producción de Hortalizas*. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura.
- Chandrkrachang**, S. (2002a). The application of chitin and chitosan in agriculture in Thailand. *Advances in Chitin Science.*, 5 (1), 458–462.
- Chandrkrachang**, S. (2002b). The application of chitin and chitosan in agriculture in Thailand. *Advances in Chitin Science*, 5 (1), 458–462.
- Christie**, E. K., & Moorby, J. (1975). Physiological responses of semiarid grasses. I. The influence of phosphorus supply on growth and phosphorus absorption. *Australian Journal of Agricultural Research*, 26(3), 423–436.
- Clarkson**, D. T. (1985). Factors Affecting Mineral Nutrient Acquisition by Plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 36(1), 77–115.
- Colmer**, T. D., & Bloom, A. J. (1998). A comparison of NH₄⁺ and NO₃⁻ net fluxes along roots of rice and maize. *Plant, Cell and Environment*, 21(2), 240–246.
- Corradini**, E., de Moura, M. R., & Mattoso, L. H. C. (2010). A preliminary study of the incorporation of NPK fertilizer into chitosan nanoparticles. *Express Polymer Letters*, 4(8), 509–515.
- Csizinszky**, A. A. (1990). Response of two bell pepper (*Capsicum annuum* L.) cultivars to foliar and soil-applied biostimulants. *Proceedings - Soil and Crop Science Society of Florida*, 49, 199–203.
- Darvill**, Alan, Augur, Christopher, Bergmann, Carl, Carlson, Russell, W, Cheong, Jong-joo, Eberhard, Stefan, Hahn, G, Michael, Veng-meng, L, Marfa, ... S. (1992). *Oligosaccharins — oligosaccharides that regulate growth* ,

- development and defence responses in plants*. 2(3), 181–198.
- Devlieghere**, F., Vermeulen, A., Debevere, J., & J. (2004). Chitosan: Antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. *Food Microbiology*, 21(6), 703–714.
- Dzung**, N. A., Khanh, V. T. P., & Dzung, T. T. (2011). Research on impact of chitosan oligomers on biophysical characteristics, growth, development and drought resistance of coffee. *Carbohydrate Polymers*, 84(2), 751–755.
- Dzung**, N.A., Khanh, V.T.P., Ngoc, & N.T.B., et al. (2006). Study on effects of chitosan, chitooligosaccharides and their derivatives on the growth inhibition of pathogenic fungi *Phytophthora capsici* and application for biocontrol black pepper. *Advances in Chitin Science and Technology*, 505–507.
- EDMON**, J. B. (1979). Principios de Horticultura. Tercera Edición. *Edit. Continental S.A. México*, 150.
- FAO**. (2000). *Anuario Estadístico de la FAO 2000*.
- FAO**. (2010). Fichas Técnicas: productos frescos de verduras. *Fao, Prodar, lica*, 80.
- Fredy E.**, Fuentes, Pérez, & Juana. (2003). *Cultivo de repollo. Guía técnica N°16* (p. 36).
- Freepons**, D. (1991). "Chitosan, does it have a place in agriculture?". 11–19.
- Gallardo R**, N. G. (1998). Efecto de la aplicación de bioestimulantes en floración de palto (*Persea americana*) Mill. cv. Hass sobre la cuaja y retención de frutos. *Universidad Católica de Valparaíso Chile*.
- Gibbs**, G., Tobin, J. M., & Guibal, E. (2003). Sorption of Acid Green 25 on Chitosan: Influence of Experimental Parameters on Uptake Kinetics and Sorption Isotherms. *Journal of Applied Polymer Science*, 90(4), 1073–1080.
- Gordon**, R., Halfacer, Barden, A, & John. (1992). Horticultura. 1ª. Reimpresión. Traducción: Flor A. Bellomo López. Ed. AGT México.
- Guo**, Z., Xing, R., Liu, S., & Zhong, Z. (2008). The influence of molecular weight of quaternized chitosan on antifungal activity. 71, 694–697.
- Hadwiger**, A., L., Klosterman, J., S., Choi, & J., J. (2002). The mode of action of chitosan and its oligomers in inducing plant promoters and developing disease resistance in plants. *Advances in Chitin Science*, 5, 452–457.

- Hadwiger, A., L., McBride, & O., P.** (2006). Low-Level Copper Plus Chitosan Applications Provide Protection Against Late Blight of Potato. *Plant Health Progress*, 7(1), 22.
- Hamza, Ben, By, Suggars, & Amy.** (1999). *Biostimulants : Myths and Realities*.
- Hench, L. L.** (1998). Biomaterials: A forecast for the future. *Biomaterials*, 19(16), 1419–1423.
- Herve, J. J.** (1994). Biostimulant, a new concept for the future and prospects offered by chemical synthesis and biotechnologies. *Comptes Rendus de l'Academie d'Agriculture de France (France)*, 80(2).
- Huang, B.** (2007). *Plant growth regulators : What and why*. January, 157–160.
- Janegitz, M. C., Serrano, F. B., Oliveira, P. M. ., Paula, J. C. ., & Hermann, E. R.** (2008). *Efeito de bioestimulantes via semente no desenvolvimento inicial das raízes de milho e sorgo*.
- Karnok, J, Keith, Ph, & D.** (2000). *Promises , promises: Can biostimulants deliver ? August*, 67–71.
- Kelting, P, Matthew, Harris, R, James, Appleton, Bonnie, L, & Niemiera, A. X.** (1997). *Effects of Soil Amendments and Biostimulants on the Post-transplant Growth of Landscape Trees*.
- Kim, Jin, Hyun, Chen, Feng, Wang, C., X., Rajapakse, & Nihal.** (2005). Effect of chitosan on the biological properties of sweet basil (*ocimum basilicum L.*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(9), 3696–3701.
- Klahold, C. A., Guimarães, V. F., Echer, M. D. M., Klahold, A., Luis, R., & Becker, A.** (2006). *Resposta da soja (Glycine max (L.) Merrill) à ação de bioestimulante*. 1972, 179–185.
- Krzysztof, Górnik, Mieczysław, Grzesik, Romanowska-Duda, & Beata.** (2008). the Effect of Chitosan on Rooting of Grapevine Cuttings and on Subsequent Plant Growth Under Drought and Temperature Stress. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 16, 333–343.
- Lay, K., Nwe, N., Chandkrachang, Suwalee, Stevens, & F, W.** (2006). *Chitosan as a growth stimulator in orchid tissue culture*. 170, 1185–1190.
- Li, F., C., Wu, &, & C., J.** (1998). Application Session/Chitosan benefits cultivation of vegetables. *한국키티킨토산학회지*, 3 (4), 435–435.

- Li, Yong-cheng, Tao, & Wen-yi.** (2009). *Scientia Horticulturae Paclitaxel-producing fungal endophyte stimulates the accumulation of taxoids in suspension cultures of Taxus cuspidate.* 121, 97–102.
- Lima, C.** (2000). Conjunto tecnológico para la producción de berenjena. *FUTURECO*, 122.
- Limpanavech, Patchra, Chaiyasuta, Subhalai, Vongprommek, & Ranitha.** (2008). *Chitosan effects on floral production , gene expression , and anatomical changes in the Dendrobium orchid.* 116, 65–72.
- Long, E.** (2004). *The importance of biostimulants in turfgrass management.*
- Luan, Q, L., Ha, T, V. T., Nagasawa, Naotsugu, Kume, Tamikazu, Yoshii, Fumio, & Nakanishi, T. M.** (2005). *Biological effect of irradiated chitosan on plants in vitro.* 57, 49–57.
- Malafaya, B., P., Silva, A., G., Reis, & L., R.** (2007). Natural-origin polymers as carriers and scaffolds for biomolecules and cell delivery in tissue engineering applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59(4–5), 207–233.
- Malan, C.** (1990). correlation between cuzn superoxi dedismutase and glutathione potassium efflux each solution was spiked to a final concen-. 69, 157–166.
- Maroto Borrego, J. V.** (1995). *Horticultura herbácea especial.* (Ediciones).
- Molina, J.** (2015). *Desmineralización de la quitina utilizando acido fosforico para la obtención de quitosano y su aplicación en el cultivo de arroz. Univercidad de Zulia Venezuela.*
- Moreiras y col.** (2013). Repollo. *Ministro de Agricultura, Pesca y Alimentacion (MAPA). España.*
- Muzzarelli., & R, A & RAA, M.** (1973). Natural Chelating Polymers: AlginicAcid, Chitin and Chitosan. *Pergamon Press, New York.*
- Muzzarelli, R. A. A.** (1988). Carboxymethylated chitins and chitosans. *Carbohydrate Polymers*, 8(1), 1–21.
- Nagata, M., & Yamashita, I.** (1992). Simple Method for Simultaneous Determination of Chlorophyll and Carotenoids in Tomanto Fruit. *Forestry*, 39, 1–4.
- Nitar, N., Chandkrachang, S., Stevens, & F., & W.** (2004). Application of chitosan in Myanmar's agricultural sector. *In Proceedings of Sixth Asia-Pacific Chitin and Chitosan Symposium.(Eds.) E. Khor, D. Hutmacher and LL*

Yong.Singapore, Isbn, (pp. 981-05).

- Ohta**, K., Asao, T., Hosokl, A., & T. (2001). Effect of chitosan treatments on seedling growth, chitinase activity flower quality in *Eustoma grandiflorum* (Raf) Shinn. *Kairyō Wakamurasaki. J. Horticultural Sci. Biotechnol.*, 76(5), 612-614.
- Orlita**, A., Sidwa-gorycka, M., Paszkiewicz, M., Malinski, E., Kumirska, J., Siedlecka, E. M., Łojkowska, E., & Stepnowski, P. (2008). *Application of chitin and chitosan as elicitors of coumarins and furoquinolone alkaloids in *Ruta graveolens* L. (common rue)*. 96, 91–96.
- Ortega-centeno**, S., Herna, A. N., Ramos-garci, M., Bosquez-molina, E., & Bautista-ban, S. (2009). *Scientia Horticulturae Response of gladiolus (*Gladiolus spp*) plants after exposure corms to chitosan and hot water treatments*. 121, 480–484.
- Peniston**, Q. P., & Johnson, E. L. (1980). Process for the Manufacture of Chitosan. *US Patent 4, 195175. Roberts GAF*, 54-83.
- Percival.**, A., C., G., Fraser, & Glynn, A. (2012). *Arboricultural Journal: The International Journal of Urban Forestry the influence of biostimulants on growth and vitality of three urban tree species following transplanting. February 2015*, 37–41.
- Pichyangkura**, R., & Chadchawan, S. (2015). Biostimulant activity of chitosan in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196, 49–65.
- Porra**, R. J. (2002). The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. *Photosynthesis Research*, 73, 149–156.
- Pospieszny**, Henryk, Chirkov, Sergei, Atabekov, & Joseph. (1991). Induction of antiviral resistance in plants by chitosan. *Plant Science*, 79(1), 63–68.
- Reddy**, Bhaskara, V., M., Angers, P., Castaigne, F., Arul, & Joseph. (2000). Chitosan effects on blackmold rot and pathogenic factors produced by *Alternaria alternata* in postharvest tomatoes. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 125(6), 742–747.
- Reddy**, Bhaskara, V, M., Arul, Joseph, Angers, Paul, Couture, & Luc. (1999). *Chitosan Treatment of Wheat Seeds Induces Resistance to Fusarium*

graminearum and Improves Seed Quality. 1208–1216.

- Reyes-Pérez**, J., Enríquez-Acosta, Alexander, Emmanuel, Ramírez-Arrebató, Ángel, M., Valenzuela, Z., Elizabeth, Lara-Capistrán, L., & Hernández-Montiel, L. G. (2020). Efecto del quitosano sobre variables del crecimiento, rendimiento y contenido nutricional del tomate. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 11(3), 457–465.
- Rezende**, Fernandes, G., Quiroz, Beliza, Machado, Vieira, Junior, Sá, De, Adílio, Sousa, De, Barbosa, Larissa, Maria, & Regina. (2017). *Efeitos da aplicação de bioestimulantes em sementes de algodão Effects of biostimulants application in cotton seeds*. 177–181.
- Rhazi**, M., Desbrières, J., Tolaimate, A., Rinaudo, M., Vottero, P., Alagui, A., & El Meray, M. (2002). Influence of the nature of the metal ions on the complexation with chitosan. Application to the treatment of liquid waste. *European Polymer Journal*, 38(8), 1523–1530.
- Richardson** D., Andrew, Aikens, Melissa, P., B., Graeme, Marshall, & Philip. (2004). *Drought stress and paper birch (betula papyrifera) seedlings: effects of an organic biostimulant on plant health and stress tolerance, and detection of stress effects with instrument-based, noninvasive methods*. (pp. 52–60).
- Rodgers**, C. O., & Barneix, A. J. (1988). Cultivar differences in the rate of nitrate uptake by intact wheat plants as related to growth rate. *Physiologia Plantarum*, 72(1), 121–126.
- Rodríguez**, A. B. F., Menéndez, D. C., Fundora, D. G., & García, C. N. (2015). *Reseña bibliográfica nuevos productos naturales para la agricultura: las oligosacarinas*. 36, 111–129.
- Russo**, Ricardo, Berlyn, P., & Graeme. (1990). *The Use of Organic Biostimulants to Help Low Input Sustainable Agriculture*. January.
- Saborio**, F. (2002). Fertilización Foliar: Principios y aplicaciones. Bioestimulantes en la fertilización foliar. *Universidad de Costarrica, Centro de Investigaciones Agronómicas.*, 145.
- Sarita**, V. V. (1993). Cultivo de Repollo. Fundación de Desarrollo Agropecuario, Inc. *Santo Domingo, Republica Dominicana*, 18.
- Sashiwa**, H., Yamamori, N., Ichinose, Y., Sunamoto, J., & Aiba, S. I. (2003).

- Michael reaction of chitosan with various acryl reagents in water. *Biomacromolecules*, 4(5), 1250–1254.
- Seo**, K.-W., Choi, D.-S., Han, K.-S., Choi, W.-G., & Oh, S.-H. (2000). Application Effects of Chitosan Fertilizer on the Growth of Cabbage and GABA Contents in the Cabbage. In *Applied Biological Chemistry* (Vol. 43, Issue 1, pp. 34–38).
- Sharathchandra**, G, R., Raj, Niranjana, Shetty, S, P, N., Amruthesh, N, K., & Shetty, H. S. (2004). A Chitosan formulation Elexa t induces downy mildew disease resistance and growth promotion in pearl millet. 23, 881–888.
- Sharif**, Rahat, Id, Mujtaba, Muhammad, Rahman, Ur, Mati, Shalmani, & Abdullah. (2018). *The Multifunctional Role of Chitosan in Horticultural*. 1–20. <https://doi.org/10.3390/molecules23040872>
- Sharp**, R. G. (2013). *A Review of the Applications of Chitin and Its Derivatives in Agriculture to Modify Plant-Microbial Interactions and Improve Crop Yields*. 757–793. <https://doi.org/10.3390/agronomy3040757>
- SIAP/ SAGARPA**. (2009). Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. *Servicio de Información Agroalimentaria y Pesca. Secretaría de Agricultura, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación*.
- Silva**, Almeida, De, Tanismare, Tatiana, Pinho, Von, Rezende, De, Édila, Vilela, Cardoso, Lúcia, Deisy, Ferreira, Clarissa, Alves, Alvim, Patrícia, ... Da. (2008). Qualidade fisiológica de sementes de milho na presença de bioestimulantes. *Ciência e Agrotecnologia*, 32(3), 840–844.
- Singh**, J., Upadhyay, A. K., Bahadur, A., Singh, B., Singh, K. P., & Rai, M. (2006). Antioxidant phytochemicals in cabbage (*Brassica oleracea* L. var. capitata). *Scientia Horticulturae*, 108(3), 233–237.
- Sukwattanasinitt**, M., A., Klaikherd, K., Skulnee, & S. Aiba. (2001). *Chitosan as a releasing device for 2,4-D herbicide*, In: T. Uragami, K. Kurita, T. Fukamizo (Eds.) (pp. 142–143).
- Tsugita**, T. ., Takahashi, K. ., Muraoka, T. ., & Fukui, H. (1993). The application of chitin/chitosan for agriculture. In Proc. of the Special Sess. 7th Symposium on Chitin and Chitosan. *Jap. Soc. for Chitin and Chitosan.*, (pp. 21-22).
- Tweddell**, J, R., Pelerin, S, Chabot, & R. (2000). *short communication a two-year field study of a commercial biostimulant applied on maize as seed coating*.

- Valdez, L. A.** (1992). Producción de hortalizas , editorial limusa s .a de cv segunda reimpresión. *México, D.F.* 298 PP.
- Van, S. N., Dinh, H., & Nguyen, D.** (2013). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology Study on Chitosan Nanoparticles on Biophysical Characteristics and Growth of Robusta Coffee in Green House. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 1–6.*
- Vieira, E., L., Santos, & G., C., & M.** (2005). Efeito de bioestimulante no crescimento e desenvolvimento inicial de plantas de algodoeiro. *Magistra, Cruz Das Almas, 17 (1), 1–8.*
- Vieira, L., E., Castro, & R., & P.** (2001). *Aplicações de reguladores vegetais na agricultura tropical. No. 631.8.*
- Wanichpongpan, P., Suriyachan, K., & Chandrkrachang, & S.** (2001). Effect of chitosan on the growth of Gerbera flower plant (Gerbera jamesonii). *Chitin and Chitosan: Chitin and Chitosan in Life Science, Yamaguchi, Japan, 198–201.*
- Wongroung, S., Seesuriyachun, P., & Ruangpradith, P.** (2002). Effect of chitosan sprays as a crop protection on Pe-tsai (Brassica campestris spp. pekinesis). *Advances in Chitin Science, 479, 481.*
- Wu, Lan, Liu, & Mingzhu.** (2008). Preparation and properties of chitosan-coated NPK compound fertilizer with controlled-release and water-retention. *Carbohydrate Polymers, 72(2), 240–247.*
- Xu, Chenping, Mou, & Beiquan.** (2018). Chitosan as soil amendment affects lettuce growth, photochemical efficiency, and gas exchange. *HortTechnology, 28(4), 476–480.*
- Yakhin, I., O., Lubyaynov, A., Aleksandr, Yakhin, A., Ildus, & Brown, P. H.** (2017). Biostimulants in plant science: A global perspective. *Frontiers in Plant Science, 7(January).*
- Yanai, Junta, Araki, Shigeru, Kyuma, Kazutake, Araki, & Shigeru.** (1995). Effects of plant growth on the dynamics of the soil solution composition in the root zone of maize in four Japanese soils. *Soil Science and Plant Nutrition, 41(2), 195–206.*

- Yin, H., & Du, & Y.** (2010). Mechanism and application of chitin/chitosan and their derivatives in plant protection. *Chitin, Chitosan, Oligosaccharides and Their Derivatives: Biological Activity and Application.*, 604–617.
- Zerpa, Molina, Alejandro, José, Rincón, Colina, Marinela, Rincón, Dianela, Colina, Vargas, Alejandro, & José.** (2017). Efecto del uso de quitosano en el mejoramiento del cultivo del arroz (*Oryza sativa* L. variedad sd20a). *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 8(2), 151–165.
- Zhang, X., H., Schmidt, & R.** (1999). Biostimulating turfgrasses. *Article*, 3.4(9), 14.
- Zhang, Xunzhong, R., E., & Schmidt.** (2000). *Hormone-Containing Products ' Impact on Antioxidant Status of Tall Fescue and Creeping Bentgrass Subjected to Drought.* 1349, 1344–1349.