

**Universidad Autónoma Agraria “Antonio
Narro”**

**División de Agronomía
Departamento de Horticultura**



Efecto de la Aplicación Foliar de **Quitosan y Acido Acético**
en la Biomasa de Plántulas de **Lechuga** (*Lactuca sativa* L.).

Por:

Juan Manuel Raygoza Castro

T e s i s

Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

Ingeniero Agrónomo
En la especialidad de Horticultura

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Mayo del 2001

Universidad Autónoma Agraria
"Antonio Narro"

División de Agronomía.

Efecto de la aplicación foliar de Quitosán y Ácido Acético en
la biomasa de plántulas de lechuga (*Lactuca sativa L.*)

TESIS PRESENTADA

POR

JUAN MANUEL RAYGOZA CASTRO.

Elaborada bajo la supervisión del Comité Particular de
Asesoría y aprobada como requisito parcial, para optar el
grado de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA.

Comité Particular.

Asesor principal: _____
Dr. Adalberto Benavides.

1er Sinodal: _____
M.C. Reynaldo Alonso Velasco.

2° Sinodal: _____
Dr. Valentín Robledo.

3er Sinodal: _____
M.C. Antonio Serguei Ledezma Pérez.

M.C. Reynaldo Alonso Velasco
Coordinador de la División de Agronomía.

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Mayo de 2001
AGRADECIMIENTOS

Agradezco primeramente a Dios por darme la oportunidad de vivir y concluir este trabajo final dentro de mi carrera.

A mis Padres por su incondicional y constante apoyo durante toda mi vida, y especialmente en este trabajo que me brindaron sus sugerencias y consejos para mejorarlo.

A la Narro, y sus maestros por compartirme sus conocimientos y experiencias desinteresadamente y por colaborar en lograr egresados bien preparados y con capacidad para mejorar la situación actual del campo.

A mi hermana por dedicar parte de su tiempo a ayudarme a cumplir con ciertos requisitos de este trabajo.

Al Dr. Adalberto Benavides, por permitirme trabajar en este proyecto de investigación, y por brindarme siempre de su tiempo y apoyo así como ayudarme a mi desarrollo profesional.

A mis compañeros que colaboraron en el inicio del proyecto: Mario Facio, Juan Fco. Martinez D., Efrain Bazaldua, Carlos Treviño.

Al Ing. Antonio Serguei Ledezma, por su tiempo y sus sugerencias para la mejora de esta investigación.

Al personal del CIQA que colaboró en la preparación de las soluciones aplicadas en este experimento.

Y a todas las personas que de alguna forma me ayudaron a que este trabajo fuera realizado.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo principalmente a **Dios** por darme la oportunidad de tener vida y salud para realizar este experimento, por darme los padres y hermana que tengo y por las bendiciones que he recibido durante mi vida.

También quiero dedicar este trabajo a mis **Padres** y a **hermana**, que siempre me apoyaron en todo momento que lo necesité y me motivaron a dar lo mejor de mi.

INDICE DE CONTENIDO

I. RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
II. INTRODUCCIÓN.....	4
OBJETIVOS.....	5
HIPÓTESIS.....	5
III. REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
LA QUITINA Y EL QUITOSÁN, DESCRIPCIÓN.....	7
EFECTO ANTIFÚNGICO DEL QUITOSÁN.....	10
EFECTOS BENÉFICOS DEL QUITOSÁN.....	11
IV. MATERIALES Y MÉTODOS.....	12
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	15
VI. CONCLUSIONES.....	22
VII. LITERATURA CITADA.....	23
 <u>INDICE DE FIGURAS.</u>	
ESTRUCTURA DE LA CELULOSA, QUITINA Y QUITOSAN...8	
 <u>INDICE DE GRÁFICAS.</u>	
PESO FRESCO DE LA RAÍZ.....	17
PESO FRESCO AÉREO.....	17
PESO SECO DE LA RAÍZ.....	18
PESO SECO AÉREO.....	18

INDICE DE CUADROS.

Cuadro 1.
VALORES PROMEDIO DE LAS VARIABLES DE BIOMASA FRESCA Y
SECA EN EL INVERNADERO..... 16

Cuadro 2.
VALORES PROMEDIO PARA EL COCIENTE DEL PESO DE LA RAÍZ
Y EL PESO AÉREO EN TÉRMINOS DE PESO FRESCO Y PESO
SECO..... 16

Cuadro 3.
PROMEDIO DEL PESO FRESCO AÉREO DE LAS PLANTAS EN
CAMPO ABIERTO 39 DÍAS DESPUÉS DEL TRANSPLANTE..20

I. RESUMEN

Con el objetivo de estudiar el efecto del quitosán sobre la lechuga (*Lactuca sativa* L.) se llevó a cabo la aplicación foliar de dicho compuesto en soluciones a una concentración de 0.1 y 0.25% peso/volumen en 1% de ácido acético. Se utilizaron dos tratamientos control, uno con ácido acético al 1% y otro con aplicación de agua. La aplicación de las diferentes soluciones fue llevada a cabo durante un periodo de 9 semanas. Se verificó el efecto sobre el crecimiento de las plántulas, midiendo la biomasa fresca y seca de las mismas.

Se encontró un aumento significativo en el peso fresco de las plantas tratadas con quitosán al 0.1% al compararse con el tratamiento control de aplicación de agua. No se encontraron diferencias para los tratamientos restantes.

Antes de transplantarse a campo abierto se suspendió la aplicación de las soluciones de quitosán. Una vez transplantadas se observaron diferencias en el crecimiento y adaptación de las plantas, determinándose

el menor crecimiento en las plantas testigo. No hubo diferencias significativas entre las plantas tratadas con quitosán y aquellas a las que se aplicó la solución de ácido acético al 1%, sin embargo, sí se observó un comportamiento diferente en las plantas tratadas con quitosán al 0.1% frente a las de quitosán al 0.25%.

Palabras clave: quitina, quitosán, biopolímeros, crecimiento y producción de plántulas, *Lactuca sativa*

ABSTRACT

With the objective of studying the effect of foliar applied chitosan on lettuce (*Lactuca sativa* L.) plants such compound was sprayed over seedling leaves at concentrations of 0.1 and 0.25% in 1% of acetic acid solution. There were two control treatments, acetic acid at 1% and water. Chitosan application was carried out weekly over 9 weeks in greenhouse. It was a significant increase in the fresh weight of seedlings with chitosan at 0.1% upon comparing with control treatment. The remaining treatments did not show differences with water application control treatment. 17 days before transplanting to open field the application of treatments was suspended. Once transplanted there were

differences in the growth and adaptation of the plants, determining the minor growth in plants of the water control treatment. There were not significant differences between the plants of chitosan treatments and those of acetic acid treatment in open field. However, there were differences between chitosan 0.1% and 0.25% concentrations, corresponding the best result to 0.25% concentration.

Key words: chitin, chitosan, biopolymers, seedling growth and production, *Lactuca sativa*

II. INTRODUCCIÓN

La obtención de plántulas de alta calidad en el invernadero asegura mayor adaptación y un crecimiento postrasplante más uniforme en el campo. Para lograr este objetivo se utilizan diferentes técnicas de manejo nutricional y ambiental que modifican los esquemas de crecimiento de las plantas.

El uso de biopolímeros derivados de la quitina (beta-(1,4)-2-acetamido-2-deoxi-D-glucosa), como el quitosán (poli-N-acetil-D-glucosamina) para aplicación foliar o en los sustratos parece ser una alternativa promisoría para modificar positivamente el crecimiento de las plantas (*Ohta et al.*, 1999).

El quitosán es un derivado de la quitina el cuál se obtiene generalmente de los caparazones de

crustáceos después de un tratamiento en solución básica y alta temperatura (No y Meyers, 1995). El quitosán es soluble en ácidos débiles y puede utilizarse como agente antifúngico en jugos no pasteurizados (Roller y Covill, 1999) así como en el manejo postcosecha de frutas (Salvador *et al.*, 1999).

Objetivos.

1. Estudiar los efectos de la aplicación foliar de quitosán en plántulas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) desarrolladas en invernadero.
2. Verificar las diferencias postrasplante entre las plantas provenientes de diferentes tratamientos.

Hipótesis.

1. Las aplicaciones de quitosan realizadas sobre las plántulas aumentarán la biomasa de estas con respecto al testigo.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

Importancia del Cultivo.

La lechuga es la planta más importante del grupo de las hortalizas de hoja. (Valadez,1991) Se consume en ensaladas, es ampliamente conocida y se cultiva en casi todos los países del mundo. En México, la lechuga es la base más popular de ensaladas y éstas a su vez son la mejor forma de ingerir vegetales crudos, indispensables en la aportación de vitaminas, minerales y fibras a la dieta diaria.

El contenido nutricional por cada 100 gramos de parte comestible (hojas) es de 1.3 gr. de proteína, 3.5 gr. de carbohidratos, 8.0 mg. de calcio, 25 mg. de fósforo, 1.4 mg. de fierro, 264 mg. de potasio, 18 mg. de ácido ascórbico y 190 U.I. de vitamina A. Además es rica en fibra y en agua (94%), lo cuál la hace succulenta y benéfica para la digestión.

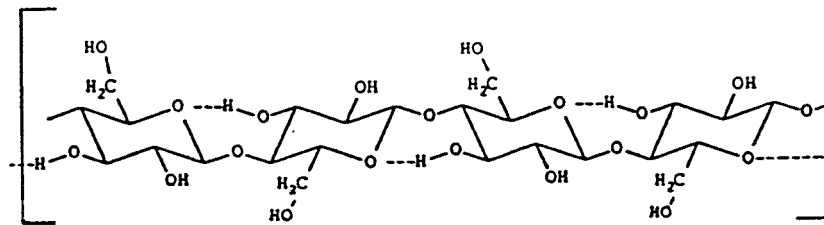
En México la lechuga se puede explotar durante todo el año y se reporta una superficie sembrada de 4000 hectáreas, siendo los principales estados productores Baja California Norte, Jalisco y San Luis Potosí. (Valadez,1990)

La Quitina y el Quitosán, descripción.

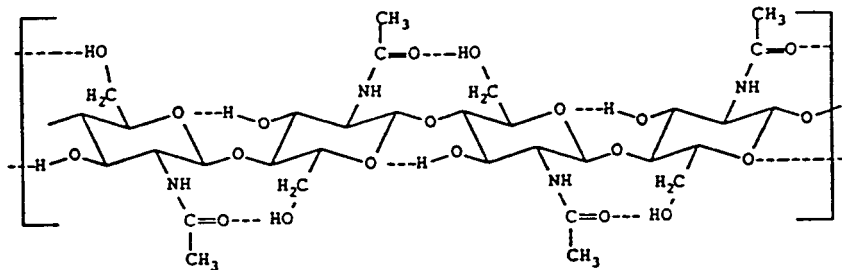
La quitina, poly- β -(1-4)-N-acetil-D-glucosamina, es uno de los polisacáridos mas abundantes en la naturaleza. A menudo se considera un derivado de la celulosa, aunque no se encuentra en organismos que producen celulosa. Podemos definirla como un biopolímero parecido a la celulosa, que se encuentra presente en forma natural, especialmente en invertebrados marinos, insectos, hongos y levaduras (Austin et al., 1981). Especialmente se encuentra en la concha de crustáceos como langosta, jaiba y camarón. La quitina obtenida de jaiba azul, roja y jaiba de piedra muestran variaciones en el peso molecular, lo cuál indica una estrecha relación con el método de descalcificación (Brian and Austin, 1981). También hay variabilidad en el peso molecular entre especies de los especímenes preparados para una descalcificación única. El peso molecular promedio reportado es de 0.4 a 1.96 X 10 a 2.5 X 10 daltones. (Rathke y Hudson,1993)

El quitosán es el derivado N-desacetilado de la quitina, aunque esta N-desacetilación casi nunca es completa. En la figura#1 se muestra la relación estructural de celulosa, quitina y quitosán.

Cellulose



Chitin



Chitosan

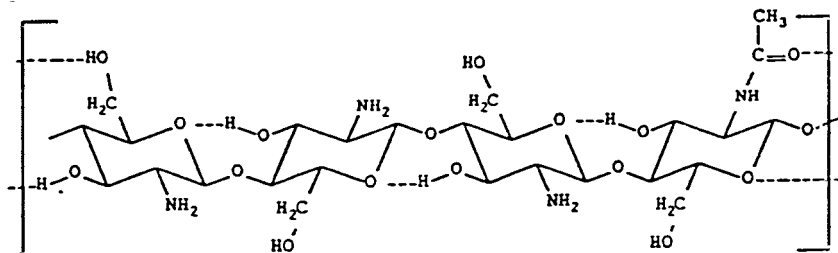


Figura 1.

Hoppe-Seyler obtuvo quitosán a partir de quitina en 1894, mezclando quitina con KOH a 180°C . Este quitosán se reporta soluble en una solución acuosa de ácido acético. Posteriormente, en 1926 Kunike reportó un método para obtener quitosán de la quitina, señalando también que el quitosán es fácilmente soluble en ácidos diluidos. Se conoce que el quitosán es soluble en ácidos fórmico, acético, cítrico al 10%, pirúvico y láctico (Muzzarelli, 1973).

La quitina y el quitosán han adquirido un gran interés comercial debido a su alto contenido de nitrógeno (6.89%), comparado al sustituto sintético de celulosa (1.25%). Esto convierte a la quitina en un útil agente quelatante (Rathke, 1994). Se han efectuado numerosas investigaciones

que comprueban la utilidad de la quitina y el quitosán en la industria farmacéutica, cementos, agentes quelatantes de metales pesados y solventes.

En la agricultura también existe un gran interés en estos productos, debido a los resultados obtenidos en diversos estudios que revelan resultados benéficos y un potencial prometedor en los efectos de la quitina y el quitosán sobre la biomasa de algunos cultivos, sus efectos antifúngicos y estimulantes para producción de membranas, fibras y películas. También se ha demostrado que algunas plantas como el frijol, cuando son sometidas a algún tipo de estrés reaccionan produciendo quitinasa como un medio de defensa natural de la planta (Gaynor,1985).

Efecto antifúngico del quitosan.

En un experimento realizado en aguacate *Persea americana* Mills c.v. Hass (Leticia Salvador y Susana P. Miranda,1999) que consistió en la preparación de películas conteniendo quitosán en diferentes concentraciones y aplicando posteriormente dichas películas sobre aguacates en estado de madurez: sazón y medio sazón que presentaban síntomas de enfermedades tales como antracnosis y pudrición del pedúnculo, se encontró que los aguacates que fueron cubiertos con la película de quitosán fueron menos afectados por los microorganismos que el testigo.

Las afecciones que se tuvieron fueron las siguientes: testigo 100%, quitosán al 0.25% con un 60% comparado con el 34% en quitosán al 0.5%. A su vez se valoró la actividad antifúngica in vitro del quitosán y los resultados mostraron inhibición de 100% para las cepas aisladas en concentraciones de 0.50 , 0.25 y 0.10% p/v, en agar papa dextrosa y mantenidas a 28° - 2°C. De acuerdo a lo anterior, el quitosán tiene un efecto antifúngico como fue también reportado por El Graouth (1992.)

+

Efectos benéficos del quitosán.

El quitosán, obtenido por la desacetilización de la quitina promueve el crecimiento de brotes y raíz en el rábano *Raphanus sativus* (Tsugita et al, 1993), acelera el tiempo de floración así como aumenta el número de flores en la pasiflora (*Pasiflora edulis* Sims) (Kinai,1994), El quitosán promueve el crecimiento *in vitro* de callos de repollo *Brassica oleracea* var. Capitata L. (Hirano 1988).

Investigación realizada en *Eustoma grandiflorum* demostró que el quitosán incorporado al sustrato utilizado en charolas para germinación aumentó la cantidad de hojas así como su tamaño, aceleró el tiempo de floración, mejoró la calidad de las flores de corte y las aumentó en número. A diferencia de las semillas que fueron sumergidas en solución de quitosán por una hora, pero fueron colocadas en un sustrato común y de las semillas que no recibieron ningún tratamiento.

IV. MATERIALES Y METODOS

Las soluciones para aplicación foliar de quitosán al 0.1% y 0.25% peso/volumen (p/v) fueron preparadas en el laboratorio de biopolímeros del CIQA solubilizando

quitosán grado reactivo (Sigma Chemical Co. St. Louis Mo. USA) en ácido acético al 1%.

Una prueba preliminar con ácido acético al 5% dio lugar a daño foliar en las hojas tratadas por lo cual se busco la menor concentración posible de ácido acético.

En el invernadero del Departamento de Horticultura de la UAAAN fueron sembradas las semillas de lechuga de la variedad Great Lakes 118 en charolas de poliestireno expandido de 200 cavidades.

Como sustrato se utilizó peat moss Sunshine 3 (Sun Gro Horticulture Inc., Bellevue, WA), no se aplicaron insecticidas ni fungicidas y las plantas fueron fertilizadas utilizando Foltron plus (Grupo Bioquímico Mexicano, S.A. de C.V.).

El diseño experimental utilizado fue completamente al azar con tres repeticiones. Cada tratamiento fue aplicado en una charola completa por lo cual se contó con tres charolas por tratamiento. La solución de quitosán se aplicó una vez cada semana utilizando atomizadores.

Los tratamientos testigo consistieron en la aplicación de una solución de 1% de ácido acético así como un tratamiento con aplicación de agua destilada. Las

diferentes soluciones fueron aplicadas una vez por semana desde el 9 de noviembre de 1999 hasta el 4 de enero del 2000.

Se realizaron dos muestreos en diciembre de 1999 y uno en enero del 2000 tomando al azar 6 plantas por charola para determinar la biomasa fresca y seca tanto de la raíz como de la parte aérea. Sobre los datos se realizaron análisis de varianza y pruebas de separación de medias utilizando la prueba de Duncan.

El 21 de enero del 2000 se tomaron 40 plantas al azar de cada charola, totalizando 120 plantas por tratamiento, las cuales se transplantaron a campo abierto bajo un diseño de bloques completos al azar con dos repeticiones. La distancia entre surcos fue de 0.8 m y entre plantas de 0.10 m. La fertilización aplicada fue 30 kg/ha de nitrato de potasio y 30 kg/ha de nitrato de amonio más una solución de 10 g de ácido húmico por litro de agua que fue aplicada directamente en el suelo previamente al transplante. El riego fue aplicado de acuerdo a las necesidades utilizando cintilla de calibre 6/1000. No se aplicó quitosán a las plantas en el campo.

El 1 de marzo del 2000 se llevó a cabo un muestreo en el campo, seleccionando al azar 20 plantas de cada repetición para determinar la biomasa aérea promedio.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de las pruebas de análisis de varianza y separación de medias mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos en el invernadero. Los promedios para las variables de biomasa de la plántula se muestran en el Cuadro 1. En el Cuadro 2 por otra parte se presentan los datos del cociente del peso de la raíz y el peso aéreo (PR/PA), el cual es un indicador del reparto selectivo de biomasa en la planta.

Los estudios de Ohta *et al.* (1999) y Salvador *et al.* (1999) indicaron efectos positivos del quitosán en concentración de 0.25 a 1% p/v. En el presente estudio la concentración de 0.1% dio lugar a un incremento significativo en la biomasa fresca de la planta. No se reveló sin embargo efecto sobre la biomasa seca.

Cuadro 1. Valores promedio de las variables de biomasa fresca y seca en el invernadero.

Tratamiento	Peso fresco		Peso seco
	Aéreo	Raíz	Aéreo
Raíz			
Testigo [†]	0.8703 ^a	0.5493 ^a	0.1919 ^a
0.0748 ^a			
Acético 1%	0.9392 ^{ab}	0.6220 ^{ab}	0.1941 ^a
0.0814 ^a			
Quitosan 0.1%	1.1360 ^b	0.6505 ^b	0.1975 ^a
0.0859 ^a			
Quitosan 0.25%	0.9683 ^{ab}	0.6300 ^{ab}	0.2271 ^a
0.0846 ^a			

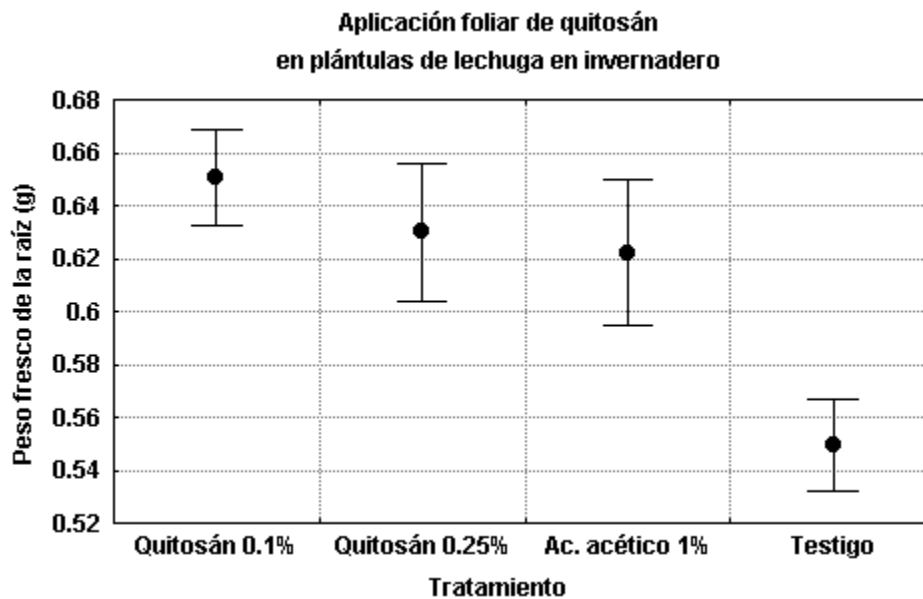
[†]Los promedios seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes según Duncan ($p \leq 0.05$).

Cuadro 2. Valores promedio para el cociente del peso de la raíz y el peso aéreo en términos de peso fresco (PFR/PFA) y peso seco (PSR/PSA).

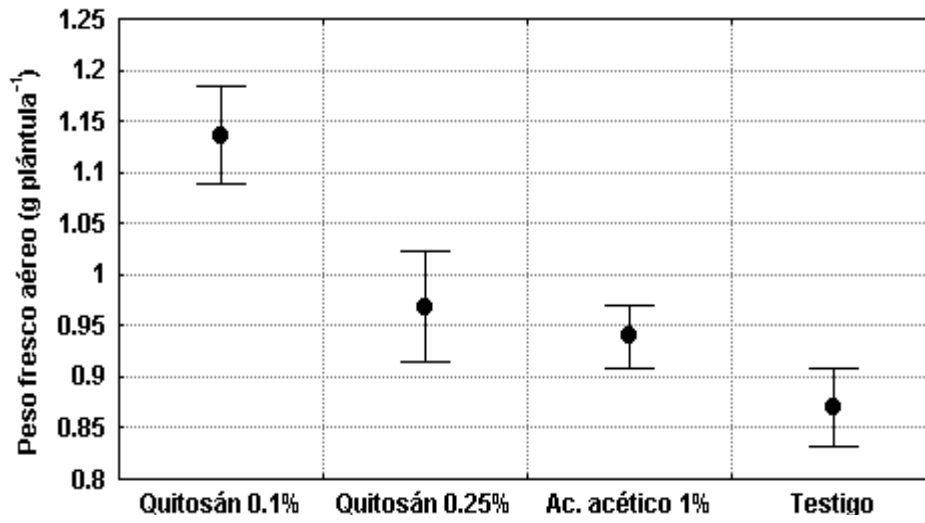
Tratamiento	PFR/PFA	PSR/PSA
Testigo [†]	0.6649 ^b	0.4159 ^{ab}
Acético 1%	0.6745 ^b	0.4524 ^b
Quitosán 0.1%	0.5950 ^a	0.3884 ^a
Quitosán 0.25%	0.6947 ^b	0.4558 ^b

[†]Los promedios seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes según Duncan ($p \leq 0.05$).

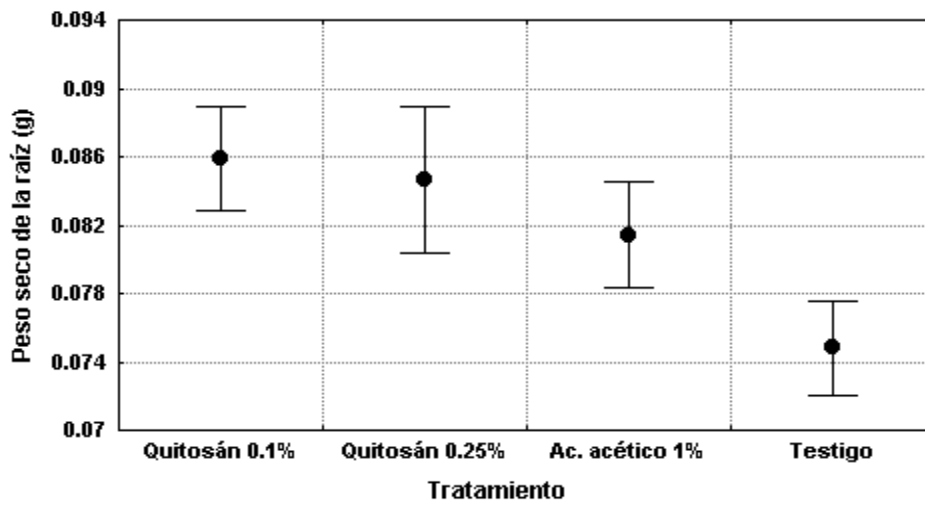
Gráficas de los pesos fresco y seco obtenidos de la raíz y de la parte aérea de la plántula.



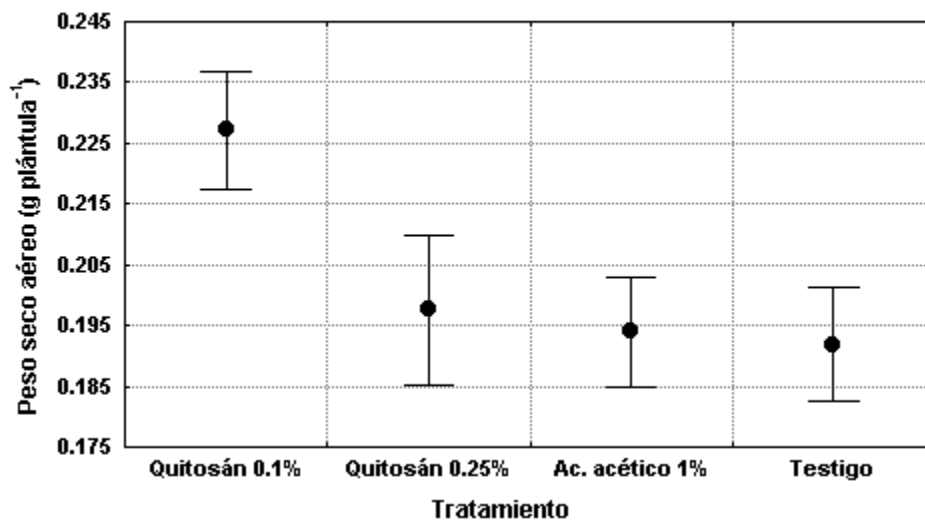
**Aplicación foliar de quitosán
en plántulas de lechuga en invernadero**



**Aplicación foliar de quitosán
en plántulas de lechuga en invernadero**



**Aplicación foliar de quitosán
en plántulas de lechuga en invernadero**



Según los resultados de Lee *et al.* (1999) la aplicación foliar de quitosán reduce la apertura de los poros estomáticos induciendo estrés oxidativo en las células guarda. Estos autores intentan explicar con ese efecto la mayor resistencia de las plantas a las infecciones foliares fúngicas. Aunque en el presente estudio no se verificó el comportamiento estomático, es probable que los resultados reflejen en parte un efecto de este tipo. Se requiere realizar mayor cantidad de estudios fisiológicos y bioquímicos que apoyen en la comprensión de estas respuestas.

En cuanto al reparto selectivo de biomasa entre la raíz y la parte aérea, el tratamiento con quitosán al 0.1% presentó valores significativamente más bajos que el resto de los tratamientos. Los valores menores del cociente PFR/PFA o PSR/PSA indican canalización selectiva de biomasa hacia la parte aérea. En la

literatura consultada no se encontraron antecedentes de la relación entre el quitosán y esta respuesta.

Posteriormente a su transplante en campo abierto, fue notable una adaptación y crecimiento más rápido en aquellas plantas provenientes del tratamiento con ácido acético al 1% y quitosán al 0.1% y 0.25%, las plantas provenientes del tratamiento control con aplicación de agua mostraron un crecimiento más lento (Cuadro 3). Este hecho es interesante considerando que las aplicaciones foliares de las distintas soluciones dejaron de realizarse a partir del 4 de enero del 2000 mientras que el transplante se llevó a cabo hasta el 21 de enero, continuándose el crecimiento de la planta hasta el 1 de marzo.

Es conocido el hecho de que las diferencias en las condiciones de crecimiento de las plántulas, así como la propia biomasa y morfología de la plántula en el invernadero, dan lugar a diferencias en el comportamiento productivo de las plantas en el campo (Leskovar *et al.*, 1994). En el presente estudio las plántulas testigo de menor biomasa mostraron también la menor biomasa en campo abierto. Para los restantes tratamientos no se encontró correspondencia entre la

biomasa de las plántulas y las de las plantas en el campo abierto.

Cuadro 3. Promedio del peso fresco aéreo (corona + hojas) de las plantas en campo abierto 39 días después del transplante.

Acido	Quitosán		Quitosán
	Testigo	acético 1%	0.1%
0.25%			
Promedio [†]	22.667 ^a	43.791 ^{bc}	36.089 ^b
51.821 ^c			
E.E.	3.609	3.730	2.787

4.651

[†] Los promedios seguidos de la misma letra no son diferentes entre si de acuerdo con una prueba de t ($p \leq 0.05$).

Por otro lado, es interesante que se presentaran diferencias significativas entre los promedios de las dos soluciones de quitosán, mientras que ninguna de ellas fue diferente al promedio mostrado por las plantas en que se aplicó solamente el ácido acético al 1%. De acuerdo a los reportes encontrados en la literatura el ácido acético puede ejercer un efecto desinfectante al aplicarse en superficies (Delaquis et al., 1999) o bien,

en cloroplastos o leucoplastos aislados puede modificar el metabolismo celular al funcionar como substrato, preferido sobre la glucosa, para la síntesis de ácidos grasos (Roughan et al., 1979; Gupta y Singh, 1996) permitiendo probablemente una mayor utilización de la glucosa en la respiración.

Dado que el quitosán puede disolverse en diferentes ácidos débiles (como el cítrico, láctico, etc.) parece necesario, al continuar con los estudios sobre la aplicación foliar de quitosán, considerar el efecto específico de cada compuesto acidulante sobre el crecimiento de las plantas.

CONCLUSIONES

En las plántulas desarrolladas en el invernadero el mejor tratamiento fue el de quitosán al 0.1% el cual fue significativamente distinto al testigo con aplicación de agua. Sin embargo no se encontró diferencia significativa entre este tratamiento y el testigo con aplicación de ácido acético al 1%. Las diferencias mencionadas se manifestaron para el peso fresco, no así para el peso seco de las plantas.

En cuanto al reparto selectivo de biomasa se observó que el tratamiento de quitosán al 0.1% indujo acumulación selectiva de biomasa en la parte aérea. Los restantes tratamientos presentaron valores más altos del cociente peso de la raíz/peso aéreo. Estos resultados nos dicen, que aplicaciones de quitosán al 0.1% sobre plántulas de lechuga en este caso, puede ser una forma de lograr plántulas de mayor calidad, mas resistencia a la maniobrabilidad y con una cantidad de reserva mayor para soportar algún tipo de estrés postrasplante.

En el campo abierto las diferencias observadas contra el testigo pueden adjudicarse al ácido acético de las soluciones. Sin embargo las diferentes concentraciones de quitosán mostraron diferencia entre ellas, siendo el mejor tratamiento el quitosán al 0.25%.

LITERATURA CITADA

Delaquis, P.J., P.L. Sholberg, and K. Stanich. 1999. Disinfection of mung bean seed with gaseous acetic acid. *J. Food Prot.* 62:953-957.

Gupta, R., and R. Singh. 1996. Fatty acid synthesis by isolated leucoplasts from developing Brassica seeds: role of glycolytic intermediates as the source of carbon and energy. *Indian J. Biochem. Biophys.* 33:478-483.

Lee, S., H. Choi, S. Suh, I.S. Doo, K.Y. Oh, A.T. Shroeder Taylor, P.S. Low, and Y. Lee. 1999. Oligogalacturonic acid and chitosan reduce stomatal aperture by inducing the evolution of reactive oxygen species from guard cells of tomato and *Commelina communis*. *Plant Physiol.* 121:147-152.

Leskovar, D.I., D.J. Cantliffe, and P.J. Stofella. 1994. Transplant production systems influence growth and yield of fresh market tomatoes. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 119:662-668.

No, H.K, and S.P. Meyers. 1995. Preparation and characterization of chitin and chitosan - A review. *J. Aquatic Food Tech.* 4:27-52.

- Ohta, K., A. Taniguchi, N. Konishi, and T. Hosoki. 1999. Chitosan treatment affects plant growth and flower quality in *Eustoma grandiflorum*. HortScience 34:233-234.
- Roller, S., and N. Covill. 1999. The antifungal properties of chitosan in laboratory media and apple juice. Int. J. Food Microbiol. 47:67-77.
- Roughan, P.G., R. Holland, and C.R. Slack. 1979. Acetate is the preferred substrate for long-chain fatty acid synthesis in isolated spinach chloroplasts. Biochem. J. 184:565-569.
- Salvador, L., S.P. Miranda, N. Aragón y V. Lara. 1999. Recubrimiento de quitosán en aguacate. Rev. Soc. Quím. Méx. 43:18-23.