



Reseña bibliográfica

NUEVOS PRODUCTOS NATURALES PARA LA AGRICULTURA: LAS OLIGOSACARINAS

Review

New natural products for agriculture: the oligosaccharins

**Alejandro B. Falcón Rodríguez[✉], Daimy Costales Menéndez,
Dianevys González-Peña Fundora y María C. Nápoles García**

ABSTRACT. Oligosaccharins are natural polysaccharides and oligosaccharides occurring as part of cell walls of plants and microorganisms such as fungi; however, main sources of raw materials for its large scale preparation are by products from agriculture and wasted crustacean exoskeletons from fishing industry. They have potential agricultural applications since they promote germination and plant growth, enhance crop yields and benefit symbiosis in leguminous. A great number of studies demonstrate crop protection by oligosaccharins against biotic and abiotic stress. Some oligosaccharins, such as chitosans, perform direct antimicrobial activity, this fact reinforce their application as protective agent of agricultural commodities quality. There are several international commercial products based on these macromolecules that bearing also, as an additional valor, the innocuous and biodegradable features of these compounds. The Group of Bioactive Products (GPB) from INCA has developed several oligosaccharins based products that constitute national alternatives to agro-products as plant growth regulators, enhancers of crop yields, plant protecting agents against biotic and abiotic stress and new type of biofertilizers for biological nitrogen fixation in leguminous.

RESUMEN. Las oligosacarinas son polisacáridos y oligosacáridos naturales que forman parte de las paredes celulares de las plantas y microorganismos como los hongos; sin embargo, las principales fuentes de materia prima para su preparación a gran escala lo constituyen subproductos agrícolas y el exoesqueleto de los crustáceos que se desechan de la industria pesquera. Poseen potenciales aplicaciones agrícolas, ya que promueven la germinación, el crecimiento de las plantas, el incremento de los rendimientos y el beneficio de la simbiosis de las leguminosas. Numerosos estudios demuestran la protección de los cultivos con oligosacarinas ante diferentes manifestaciones del estrés biótico y abiótico. Algunas como las quitosanas ejercen acción antimicrobiana directa, lo que eleva sus aplicaciones como agente protector de la calidad de las producciones agrícolas. Existen varios productos internacionales basados en estas macromoléculas que ostentan además, como valor agregado, la inocuidad y biodegradabilidad característica de estos compuestos. El Grupo de Productos Bioactivos (GPB) del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) ha desarrollado varios productos a base de oligosacarinas que constituyen alternativas nacionales a productos agrícolas, como reguladores del crecimiento y los rendimientos, protectores de los cultivos contra el estrés biótico y abiótico y biofertilizantes de nuevo tipo para la fijación biológica del nitrógeno en las leguminosas.

Key words: stress, fungus, microorganisms, oligogalacturonide, products, chitosan

Palabras clave: estrés, hongos, microorganismos, oligogalacturónido, productos, quitosano

INTRODUCCIÓN

En la actualidad existe una creciente necesidad mundial de producción de alimentos, debido

Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), gaveta postal 1, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba. CP 32 700.

[✉] alfalcon@inca.edu.cu

a su escasez en determinadas zonas geográficas y a los incrementos de los precios y costos de producción que resultan prohibitivos para muchos países del tercer mundo. Una gran parte de los agroquímicos que se utilizan actualmente tienen altos precios

en el mercado mundial, lo que contribuye a los altos costos de producción agrícola. En adición, todavía la mayor parte de los químicos que se utilizan para la protección de los cultivos contra sus enfermedades y algunos que incrementan la eficiencia

productiva, son considerados agentes contaminantes del suelo, de los propios cultivos, de la biodiversidad y causantes de enfermedades en animales y humanos.

La ciencia moderna en los últimos 20 años se ha proyectado a la búsqueda de soluciones y alternativas para dichos problemas que mantengan la eficiencia de la producción agrícola. Para esto, el desarrollo de las distintas ramas de la biología vegetal ha permitido profundizar en los mecanismos que las plantas tienen y desarrollan frente a los diferentes retos que la naturaleza y el hombre les impone, como son los diferentes estreses bióticos y abióticos a que están sometidos los cultivos en la actualidad. Los resultados de estas últimas dos décadas permiten vislumbrar el desarrollo de una nueva generación de compuestos inocuos o menos agresivos al ambiente y al hombre que basan su utilidad en la manipulación de las respuestas naturales de los vegetales, contra los diferentes estreses y en maximizar las potencialidades intrínsecas de los cultivos para elevar sus rendimientos.

La siguiente revisión versa sobre las características y potencialidades de un grupo de compuestos (las Oligosacarinas), inocuos y de origen natural, con grandes perspectivas en la agricultura orgánica y sostenible e incluso en la agricultura de gran escala o intensiva.

LAS OLIGOSACARINAS

Las oligosacarinas fueron descubiertas como resultado de los estudios realizados durante las décadas de los años 70 y los 80, vinculados a dos temas de gran importancia en biología vegetal. Por una parte, múltiples grupos del primer mundo estudiaban la interacción planta-microorganismos, especialmente las respuestas de la planta a

patógenos y predadores, así como las señales vinculadas con estas respuestas; y por otra parte, un número menor de investigadores liderados por el Dr. Peter Albersheim en Georgia, EUA, estudiaban la estructura y los componentes de la pared celular de las plantas, bajo la sospecha de que debido a la complejidad de la misma, era muy probable que sus funciones en la planta no solo fueran las de sostén, forma y protección del contenido celular.

Ambas líneas confluyeron en resultados de gran importancia que revolucionaron conceptos y puntos de vista en ambos temas. De esta forma se conoce hoy que la pared celular de las plantas es, además de reservorio o sostén celular, un depósito de hormonas que actúan en una variada gama de funciones en la planta, posiblemente mediante acción directa o indirecta sobre las llamadas hormonas tradicionales de la misma y, especialmente, en la activación de respuestas defensivas y de la resistencia de la planta contra patógenos y predadores.

CONCEPTOS: ELICITORES Y OLIGOSACARINAS

Las plantas tienen la capacidad de defenderse de la mayoría de los microorganismos, potencialmente patógenos, que habitan en su entorno. De forma general, los cultivos presentan barreras estructurales y compuestos químicos que impiden el avance de infecciones; además de estos mecanismos defensivos preestablecidos, las plantas pueden inducir la expresión de numerosos genes defensivos, tanto local como sistémicamente en todos los tejidos, cuya acción coordinada logra detener el establecimiento de una enfermedad (1, 2).

La respuesta defensiva en las plantas es el resultado del reconocimiento por parte de estas de diversos compuestos

liberados de los patógenos y de las propias plantas durante el proceso de patogénesis, cuando enzimas excretadas por ambos contendientes degradan las paredes celulares del otro organismo (3, 4, 5). Las estructuras liberadas y reconocidas por la planta se denominan elicitores.

Los elicitores son sustancias que pueden inducir respuestas defensivas cuando se adicionan en tejidos o en células de plantas. Son compuestos de diversa estructura y origen -oligosacáridos, glicoproteínas, péptidos, lípidos, entre otros-. Se ha demostrado que los elicitores de tipo oligosacárido tienen importantes funciones en las interacciones planta-patógeno (3).

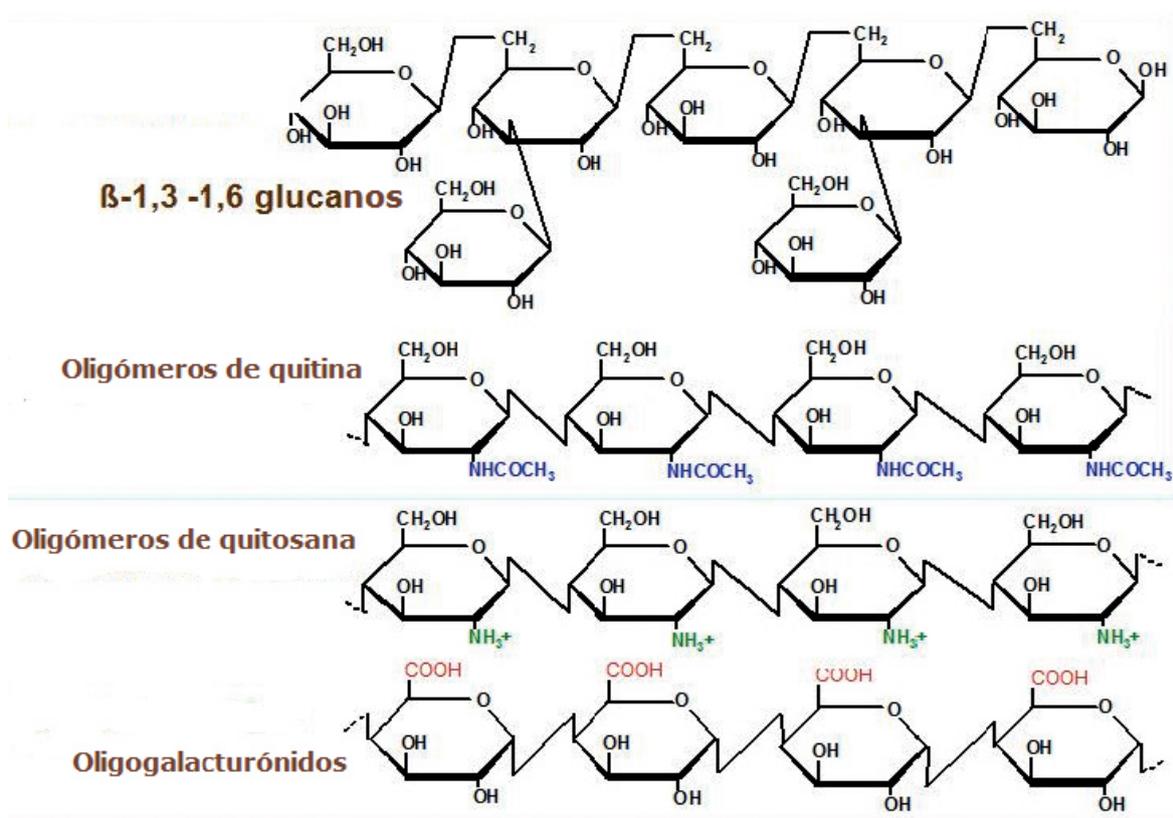
Los componentes polisacáridos y glicoprotéicos de las paredes celulares constituyen una fuente de oligosacáridos, que además de ser elicitores de respuestas defensivas en la planta, algunos ejercen efectos en el crecimiento y desarrollo de la misma a bajas concentraciones. El término Oligosacarinas se refiere, por tanto, a oligosacáridos de diferente origen con efectos biológicos en las plantas. Están constituidos por una cadena de residuos glicósidos, unidos por enlaces glicosídicos (6, 7).

TIPOS, CLASIFICACIÓN, LOCALIZACIÓN Y ESTRUCTURA

Las Oligosacarinas se denominan de tipo endógena o exógena, de acuerdo a si son obtenidas o liberadas de las paredes celulares de la planta o del patógeno, respectivamente. De acuerdo a su origen existen diferentes tipos (Figura).

OLIGOSACARINAS ENDÓGENAS

Entre las endógenas las más conocidas y estudiadas son los Oligogalacturónidos (Oligosacáridos pécticos) y los Xiloglucanos (Figura).



Estructura de las principales oligosacarinas liberadas en el proceso de patogénesis y relacionadas con la inducción de resistencia contra patógenos en plantas

Los Oligogalacturónidos consisten en una cadena lineal de moléculas de ácido galacturónico unida por enlaces α -1-4. El número de restos de D-galacturonatos que contiene el oligosacárido define su grado de polimerización (5). Se localizan en la porción péctica que constituye la pared celular de las plantas y en condiciones naturales se liberan de la pectina mediante hidrólisis enzimática por acción de la planta o como resultado del ataque de patógenos (4, 5).

Por su parte, los polímeros de Xiloglucanos son los principales polisacáridos hemicelulósicos que componen la estructura de la pared celular primaria de las plantas dicotiledóneas y monocotiledóneas no poáceas. También forman parte de los polisacáridos de reserva en semillas de dicotiledóneas. Consisten en un esqueleto de residuos de glucosa, unidos por enlaces β -1-4, algunos de estos residuos pueden estar sustituidos

por α -Xilosa, β -Galactosa y α -Fucosa (8). La fragmentación de estos polímeros por hidrólisis química o enzimática libera oligosacáridos de xyloglucanos con actividad biológica en plantas (9, 10). Específicamente, el fenómeno de crecimiento y extensión a nivel celular está estrechamente relacionado con el metabolismo de los polímeros de Xiloglucanos y su degradación enzimática, además de liberar los fragmentos mencionados, provoca el debilitamiento de la pared celular de la planta (11, 12).

OLIGOSACARINAS EXÓGENAS

Entre las exógenas se conocen los Oligoglucanos, Oligoquitinas, Poli y Oligoquitosanas y Lipo-quitin-oligosacáridos (Figura).

Entre las oligosacarinas de tipo exógeno, los derivados de quitina y los oligoglucanos son liberados de la pared celular de diversos patógenos que los contienen, mediante degradación

enzimática por enzimas glucanasas y quitinasas que se excretan por la planta como respuesta al ataque del patógeno en el proceso de patogénesis (4, 7). A su vez, los conocidos como factores Nod (Lipo-oligo-quitinas) son sintetizados de novo y excretados por bacterias de la familia Rizobiaceae, como respuesta a señales químicas liberadas por la planta y percibidas por el microorganismo (13).

OTRAS FUENTES DE OBTENCIÓN

No obstante, el origen mencionado, las oligosacarinas pueden ser extraídas de otras fuentes más ricas en los polisacáridos que las contienen; así la pectina cítrica comercial es la fuente principal para obtener oligogalacturónidos, mientras que las semillas de tamarindo son ricas en xiloglucanos. El exoesqueleto de los crustáceos es muy rico en quitina y la presencia permanente

de esta estructura química de manera natural en la biosfera es de 10 gigatoneladas (10^{13} kg) (14). Debido a la versatilidad de aplicaciones de sus derivados, principalmente la quitosana y la glucosamina, la quitina es producida a escala industrial, fundamentalmente, a partir de cangrejo, camarón, langosta y langostinos, en cantidades de alrededor de 10 000 toneladas anuales (14, 15).

Varios grupos de investigación y empresas agrícolas a escala mundial han comenzado a desarrollar agroquímicos alternativos a base de oligosacarinas, siendo la elección de la fuente apropiada de obtención de los polímeros y oligosacáridos uno de los factores fundamentales en la reducción de costos de obtención y de precios de venta para los distintos sistemas agrícolas. De esta forma, los productos a base de quitina y quitosana se obtienen en un 90 %, a partir del exoesqueleto de los crustáceos que se pescan por millones de toneladas a escala mundial y que constituyen desechos de esta industria (15).

Otro ejemplo es el de un producto de β -glucanos que se vende comercialmente. Una importante empresa francesa (GOEMAR) en colaboración con el Centro Nacional para las Investigaciones Científicas de Francia desarrollaron un producto a base de laminarina, el Iodus 40[®] (Vacciplant), extraído de algas marinas, que activa la protección intrínseca de la planta contra patógenos potenciales cuando se aplica preventivamente en diversos cultivos de importancia agrícola.

En Cuba, el Grupo de Productos Bioactivos (GPB) del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) desarrolló una metodología de obtención de una mezcla de oligogalacturónidos activos biológicamente en plantas, a partir de pectina cítrica comercial,

nombrado "Pectimorf" y se trabaja actualmente en el desarrollo de una metodología para la preparación de un producto a base de quitosana, derivado de la quitina de exoesqueleto de langosta cubana, a partir de desechos contaminantes de la industria pesquera. Ambos productos han demostrado diferentes efectos biológicos en cultivos de interés económico^A (16).

EFFECTOS BIOLÓGICOS DE LAS OLIGOSACARINAS

Las Oligosacarinas fueron primeramente reconocidas como polisacáridos y oligosacáridos que inducían respuestas defensivas y resistencia en plantas. Sin embargo, estudios posteriores desarrollados en la década de los 90 las implicaron, además, en varias respuestas relacionadas con el crecimiento y el desarrollo del vegetal (6, 17). El descubrimiento de la estructura del principal esqueleto carbonado de los factores de nodulación excretados por las bacterias de la familia Rizobiaceae y su efecto en la morfogénesis de las raíces de las leguminosas, contribuyó a establecer a las oligosacarinas como una nueva jerarquía de hormonas en las plantas, cuya acción precede la síntesis y acumulación de las conocidas hormonas tradicionales (6, 18, 19).

REGULACIÓN DEL CRECIMIENTO Y DESARROLLO EN LAS PLANTAS

La aplicación exógena de oligosacarinas influye en el crecimiento y desarrollo de los tejidos de las plantas, estas evidencias han sido fundamentalmente obtenidas con oligosacáridos derivados

de los polímeros de la pared celular de plantas y también con derivados de quitina y quitosana^A (20, 21). En la Tabla I se presentan algunos ejemplos de efectos de oligosacarinas endógenas y exógenas en cultivos de importancia comercial^B (22, 23, 24, 25, 26, 27).

Dentro de las oligosacarinas endógenas o derivadas de paredes celulares de plantas, los oligogalacturónidos u oligopectatos han sido los más ampliamente estudiados, en cuanto a su efecto en el crecimiento y el desarrollo vegetal. En muchos de los casos estudiados, el efecto provocado en la planta parece ser el contrario a la acción auxínica.

Se demostró el efecto negativo de los oligogalacturónidos de diferente grado de polimerización (GP) en el alargamiento de tallos del guisante inducido por ácido indol acético (AIA), la inhibición de la formación de raíces en capas celulares delgadas que crecían en medio de cultivo de enraizamiento, la reducción de la acumulación de una proteína en medio de cultivo que se induce con ciertos niveles de AIA en presencia de oligopectatos en el medio y la inhibición de la división celular, inducida por auxinas en las células parenquimatosas del floema (5, 28). Sin embargo, resultados posteriores obtenidos con una mezcla de oligopectatos, comercialmente conocida como Pectimorf (Pm), incluida en el medio de cultivo *in vitro* de diferentes especies, con determinado balance fitohormonal, indican un efecto auxínico basado en la estimulación del enraizamiento, el incremento de brotes y del crecimiento vegetativo (21, 22, 29).

^A Falcón, A. B.; Cabrera, J. C.; Reinaldo, I. M. y Nuñez, M. N. *Desarrollo de activadores de las plantas de amplio espectro de acción*. Informe Final del PNCT, no. 00100191, Inst. CITMA, Cuba, 2005.

^B Falcón, A. B. Evaluación de Oligosacarinas nacionales de quitosana en la estimulación del crecimiento, la nodulación y la protección de cultivos de interés económico. Informe Final del PNCT, no. 00300277, Inst. CITMA, 2009, p. 77.

Tabla I. Efecto de oligosacarinas sobre el crecimiento, el desarrollo, los rendimientos y la calidad poscosecha de diferentes cultivos

| Cultivo | Efecto observado en diferentes tipos de aplicaciones | Referencia |
|--|---|------------|
| α 1-4 Oligogalacturónidos (oligopectatos) | | |
| Caña, banano | La sustitución de hormonas por Pectimorf (Pm) en cultivo <i>in vitro</i> incrementa el número de brotes, el enraizamiento y beneficia el proceso de aclimatización posterior de las vitroplantas. | 22, 23, 24 |
| Uva de mesa | La aspersión foliar de una mezcla de oligogalacturónidos en racimos de uvas previo a la maduración causa el incremento de la coloración y del contenido de antocianinas en la fruta. | 25 |
| Palma Areca | La doble aspersión foliar de la mezcla Pm (2 mg L ⁻¹) aumenta el crecimiento y reduce el tiempo de aviveramiento de plantas de areca. | 26 |
| Lechuga y rábano | La aspersión foliar de la mezcla Pm aumenta la masa aérea en lechuga y la longitud radical y masa aérea y radical del rábano. | 27, 28 |
| Tomate | La imbibición de semillas con Pm y su combinación con micorrizas aumenta el enraizamiento de las plántulas. La aspersión foliar aumenta el crecimiento e incrementa los rendimientos del cultivo. | A, 28 |
| Oligosacáridos de Xiloglucanos | | |
| <i>Arabidopsis thaliana</i> | A 0,1 mg L ⁻¹ benefició la elongación primaria de la raíz unido a una desaceleración en la formación de raíces laterales. | 34, 35 |
| Tabaco (línea celular BY-2) | Acortamiento del ciclo celular a través de la reducción del paso G1 en la mitosis. | 35, 36 |
| <i>Arabidopsis thaliana</i> | Estimuló el crecimiento y revirtió los fenotipos celulares grandes y pequeños que normalmente exhiben los genotipos WEE1 ^{oe} y Spdc ²⁵ , respectivamente. | 35,36 |
| Quitosan. Aplicación por recubrimiento o imbibición de semillas | | |
| Girasol | Diferentes MM de quitosana. Semillas inmersas por 18 h en la menor MM (28 kDa) causó mayor masa total de brotes, mayor germinación y del nivel de isoflavonoides. | 42 |
| Pearl Millet | Incremento del crecimiento del Millo. | 43 |
| Maíz, Trigo | Incremento de la germinación, de la calidad y el vigor de las posturas. | 44, 45 |
| Maní | Aumento de germinación, actividad lipasa y los niveles de AG y AIA. | 46 |
| Arroz | Imbibición de semillas + aplicación al sustrato incrementó significativamente el rendimiento. | 47 |
| Algodón | Recubrimiento al 0,2 % por 30 minutos causó los mayores incrementos de altura de la planta y rendimiento en frutos. | 48 |
| Quitosan. Aplicación por aspersión foliar | | |
| Soya, Maíz | Aplicaciones del pentámero de quitina y quitosana causa variaciones en la fotosíntesis, la conductancia estomática, la transpiración y [CO ₂] intercelular. | 49 |
| Fresas | Cuatro aplicaciones foliares de quitosana causan incremento de la altura, número y peso fresco y seco de las hojas y el rendimiento (número y masa). | 50 |
| Tomate, Lechuga | Aplicación de quitosana 100 Kda 0,1 % incrementó crecimiento y rendimientos. 50 % de incremento en la superficie foliar de la lechuga. | 48 |
| Papa | Aspersión de quitosana aumenta el rendimiento y la calidad de mini tubérculos, así como el crecimiento y los rendimientos en experimentos de campo. | 52, C |
| Tabaco, Tomate | Aspersión de polímero de quitosana aumentó el crecimiento y los rendimientos en experimentos y extensiones a escala de producción. | B, C |

En adición, se han obtenido con la misma mezcla resultados *ex vitro* relacionados con la formación de raíces en niveles similares a las inducidas con AIA^A (30).

Una aplicación potencial de los oligopeptatos (y quizás de otras oligosacarinas) es la de provocar el incremento de color en algunos frutos. Recientemente, un grupo de investigación estudió la respuesta de color de la vid a la aplicación de una mezcla de oligogalacturónidos con grado de polimerización menor de 20, a escala productiva. Los resultados mostraron incrementos de color significativamente por encima del control y del producto comercial (Ethephon) que se utiliza para este propósito. El incremento estuvo directamente relacionado con aumentos del contenido de antocianinas (responsables del color en la vid) y además, con la expresión génica de la fenilalanina amonio liasa (PAL, en inglés) en los primeros días de la aplicación, enzima que abre varias rutas enzimáticas, algunas que conllevan a la formación de antocianinas (24). Esta correlación justifica la posibilidad de que otros inductores de PAL puedan causar incrementos de color en las uvas.

Fragmentos específicos de Xiloglucanos muestran actividad antiauxínica o auxínica, en dependencia del tipo de residuos de monosacáridos, unido a la cadena oligomérica de xiloglucano y de la concentración utilizada (31, 32). Sus efectos a concentraciones nanomolares los convierten en señales primarias a las hormonas que regulan.

Estudios más recientes realizados con xiloglucanos, obtenidos de semillas de tamarindo, mostraron efectos en la promoción del crecimiento primario de la raíz en interacción con la reducción de la formación de raíces laterales (33, 34), así como el acortamiento del ciclo celular, en particular en la fase G1 de la mitosis y la reversión de la ocurrencia de tamaños mayores o menores de

fenotipos celulares, obtenidos con genotipos particulares de *Arabidopsis thaliana* (34, 35).

Por su parte, tanto el polímero de quitosana como sus derivados de menor tamaño se consideran reguladores del crecimiento y del desarrollo de las plantas, al estimular el crecimiento radical y vegetativo de varias especies (20, 36), acortar el período de floración y mejorar la floración y fructificación (37, 38). Incluso se han demostrado incrementos de los rendimientos y en la calidad en varios cultivos con estos derivados, lo que ha permitido que sean patentados para estos fines (36, 39). En general, en dependencia del órgano de la planta que se trate, se han obtenido los resultados benéficos antes mencionados cuando se hacen tratamientos a las semillas, a las raíces de las plantas o por aspersión foliar en los momentos adecuados para cada cultivo^B (36, 39, 40).

A su vez, las aplicaciones exógenas en plantas, principalmente con oligogalacturónidos y quitosanas (Tabla I), a escala de casas de cultivo y de campo, han demostrado influencias de estas oligosacarinas que favorecen el crecimiento y los rendimientos de especies de importancia económica dentro de las familias Solanáceae, Cucurbitáceae, Poáceae y Fabáceae, entre otras^{A, B, C} (25, 26, 27, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50). Algunos autores plantean que la influencia positiva sobre el crecimiento está relacionada con un efecto antitranspirante en la planta, inducido por el cierre de los estomas (51, 52).

De acuerdo a un estudio realizado, la reducción del riego de plantas de pimiento aplicadas con quitosana permitió una mejor

^C Falcón, A. B. Compuestos de quitosana como activadores del metabolismo, el crecimiento y la resistencia contra el estrés biótico en cultivos de interés económico. Informe Final del PNCT, no. 00300330, Inst. CITMA, 2012, 70 p.

adaptación y consumo del agua por la planta, ya que la aplicación foliar del polímero redujo el uso del agua por las plantas entre un 26 y un 46 %, mientras que la producción de biomasa y el rendimiento se mantuvo similar al de las plantas controles no sometidas al déficit hídrico (53). Esto ocurrió por disminución de la pérdida de agua a través de los estomas, debido a un cierre estomático provocado por la quitosana. Este cierre estomático fue estudiado posteriormente, demostrándose un incremento del ácido abscísico en las células de las hojas aplicadas con quitosana, lo que provocó la reducción de la conductancia estomática (52). Lo anterior justifica el empleo de la quitosana como antitranspirante para conservar el uso del agua en la agricultura.

Adicionalmente, las oligosacarinas sintetizadas y excretadas por rizobacterias fijadoras de nitrógeno de la familia Rhizobiaceae, provocan la germinación de diversas semillas de plantas y están involucradas en los eventos primarios de las raíces, que conllevan al establecimiento de la simbiosis entre las leguminosas y las bacterias mencionadas (18, 54, 55). Las estructuras de estas oligosacarinas consisten en oligosacáridos de quitina de cuatro o cinco restos de N-acetyl glucosamina unidas a otros grupos complejos que varían con la especie de *Rhizobium*. Estas oligoquitinas son las responsables de inducir las divisiones en las células corticales de la raíz que inician y conllevan a la formación posterior del nódulo (56).

El GPB del INCA estudió la aplicación de quitosanas en experimentos *in vitro* de soya en combinación con el microsimbionte *Bradyrhizobium elkanii*. Se demostró que la inclusión de quitosanas de diferente masa molecular en el medio de crecimiento de la planta, causó el aumento del número y de la

masa seca de los nódulos que se forman en la raíz, en dependencia de las concentraciones utilizadas. También se observó un efecto dependiente de la concentración, en el crecimiento de las plántulas y en el volumen de las raíces producidas. Concentraciones por encima de 500 mg L⁻¹ no beneficiaron el crecimiento de las raíces y el sistema aéreo de las plantas^D (57, 58).

INDUCCIÓN DE RESISTENCIA EN PLANTAS CONTRA PATÓGENOS

OLIGOSACÁRIDOS DE B-GLUCANOS

Los oligosacáridos derivados de los polímeros de β -glucanos, que conforman la pared celular de patógenos del género *Phytophthora*, han sido bien documentados como inductores de respuestas defensivas en plantas. Así, un hepta- β -glucósido ramificado, obtenido del glucano de la pared de *Phytophthora sojae* por hidrólisis ácida, demostró ser un elicitador muy activo de la síntesis de la fitoalexina gliceolina en células cotiledonales de soya (59), demostrándose, además, que la hidrólisis parcial del glucano de *P. sojae* liberaba fragmentos con actividad elicitor en diferentes plantas de la familia Fabaceae (60), lo que indica un sistema similar de percepción en esta familia de plantas.

En células de tabaco, el hepta- β -glucósido no actuó como elicitador; sin embargo, una cadena lineal de β 1-3 glucano (laminarina), extraída del alga *Laminaria digitata* mostró ser un elicitador activo de respuestas defensivas (61) e incluso causó la reducción de la infección

fungosa en hojas de vid (62). A partir de resultados como los citados anteriormente (Tabla II), la empresa francesa GOEMAR en colaboración con el Centro Nacional para las Investigaciones Científicas, desarrollaron un producto a base de laminarina, el Iodus 40[®] (Vacciplant), extraído de algas marinas que activa la protección intrínseca de la planta contra patógenos potenciales cuando se aplica preventivamente.

OLIGOSACÁRIDOS PÉCTICOS U OLIGOGALACTURÓNIDOS

Los oligogalacturónidos derivados de los polisacáridos pécticos de las paredes celulares de las plantas han sido descritos como inductores de una gran variedad de respuestas defensivas en células, órganos y plantas completas de numerosas especies, entre las que se encuentran la inducción de fitoalexinas, inhibidores de proteinasas, proteínas PR y el proceso de lignificación (5, 7).

Los oligogalacturónidos se pueden generar de las sustancias pécticas de la pared celular primaria de la planta por hidrólisis ácida parcial o por acción de enzimas pectinasas o pectatoliasas de patógenos. Es conocido además que, sin importar el método de generación, son dependientes del grado de polimerización (GP) para la inducción de respuestas defensivas, siendo los GP entre 10 y 12 los más activos (5, 7).

En la última década se informó la protección de dos especies de importancia económica (Tabla II), contra sus principales patógenos, por inducción de resistencia con oligogalacturónidos^A (63). Es importante destacar que, a diferencia de las quitosanas, los oligogalacturónidos y los β -glucanos no tienen acción directa antimicrobiana sobre los microorganismos, por lo que la protección que puedan ejercer en los cultivos es debida a la

activación de resistencia inducida en las plantas.

POLÍMEROS Y OLIGOSACÁRIDOS DE QUITOSANA

La quitina, un polímero de N-acetil-glucosamina unido por enlaces β 1-4, es un componente común de las paredes celulares de varias familias de hongos (64). Sus fragmentos (N-acetil quito oligosacáridos) han estado implicados en la inducción de una gran variedad de respuestas vinculadas a la defensa de la planta, como son la inducción de fitoalexinas, lignificación, proteínas PR, la expresión de genes defensivos y otros; fundamentalmente, en especies del grupo de las monocotiledóneas y, especialmente, en suspensiones celulares de arroz (65).

También se ha estudiado la activación de respuestas secundarias vinculadas a la transducción de la señal defensiva por fragmentos de quitina, entre las que se destacan cambios en el flujo iónico y fosforilación de proteínas, despolarización de la membrana plasmática y eflujo de iones Cl⁻ y K⁺, acidificación citoplasmática, generación de especies reactivas de oxígeno y biosíntesis de ácido jasmónico (7, 65, 66).

La quitosana es un polímero de β 1-4 glucosamina, componente natural de las paredes celulares de los hongos Zygomycetos (64). Tanto el polímero como sus oligómeros son potentes inductores de respuestas defensivas y de resistencia en la planta contra patógenos. Sin embargo, las concentraciones requeridas para la activación de las respuestas defensivas son superiores a aquellas necesarias para inducir dichas actividades con los oligómeros de quitina (7, 65).

^D Costales, D. Quitosacáridos en la nodulación y el crecimiento de soya (*Glycine max* (L) Merrill) inoculada con *Bradyrhizobium elkanii*. Tesis de Maestría, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Mayabeque, Cuba, 2010, 56 p.

Tabla II. Resultados de protección de diferentes especies de plantas contra patógenos por oligosacarinas

| Cultivo | Efecto de protección observado | Referencia |
|--|---|------------|
| β 1-3 glucanos | | |
| Uva de mesa | Fragmento de laminarina (β 1-3 glucano) causa inducción de respuesta defensiva y resistencia contra <i>Botrytis cinerea</i> y <i>Plasmopara viticola</i> . | 63, 64 |
| α 1-4 Oligogalacturónidos | | |
| Uva de mesa | Inducción de señales y respuestas defensivas en Vid contra <i>Botrytis cinerea</i> . | 65 |
| Tabaco | Inducción de respuestas defensivas y resistencia contra <i>Phytophthora nicotianae</i> con Pm. | A |
| Quitosanas-Protección poscosecha-Frutales | | |
| Papaya, Mango | Protección de la fruta vs. la Antracnosis (<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>). | 87, 88 |
| Melocotones, Peras y Kiwi | Reducción de las pudriciones causadas por hongos en el almacenamiento de estas frutas cuando se cubren con quitosana. | 89 |
| Cítricos | Protección vs. <i>Penicillium</i> y <i>Botrytis</i> por recubrimiento de frutos con quitosana. | 90 |
| Fresa | Recubrimiento de la fruta con quitosana y su combinación con Ca^{2+} reduce la incidencia de hongos patógenos, reduce la pérdida de peso y aumenta la firmeza y la vida de anaquel. | 91 |
| Quitosana-Protección precosecha-Cultivos de interés alimenticio | | |
| Arroz | Protección vs. Tizón (<i>Pyricularia grisea</i>) por Poli y oligoquitosanas. | 92, 93 |
| Vid | Protección de hojas y frutas vs. Moho gris (<i>Botrytis cinerea</i>) por poli y oligoquitosanas. | 94, 95 |
| Pepino | Protección vs. el Moho gris (<i>Botrytis cinerea</i>) con polímero de quitosana. | 96 |
| Zanahoria | Protección de la raíz vs. <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> con quitosana hidrolizada. | 97 |
| Tomate | Protección de la planta vs. <i>Fusarium oxysporum</i> y de la fruta vs. la pudrición blanda causada por <i>Rhizopus</i> sp. | 98, 99 |
| Tomate | Protección de la planta contra la infección por <i>Xanthomona gardneri</i> . | 100 |
| Quitosana-Cultivos de interés económico | | |
| Tabaco | Protección vs. Pata prieta (<i>Phytophthora nicotianae</i>) por inducción de resistencia sistémica mediante aplicación de quitosanas de diferentes características. | 72, 75 |
| Tabaco | Protección vs. el virus del mosaico (TMV) y el virus de la necrosis (TNV) con oligoquitosanas y su relación con el ABA. | 101, 102 |

Como en el caso de los oligogalacturónidos, los fragmentos de quitina (y también los de quitosana) son dependientes del grado de polimerización (GP) de la molécula en la activación de las respuestas defensivas antes mencionadas, siendo los tamaños por encima de GP 4 y principalmente el heptámero y el octámero los que inducen las respuestas a las menores concentraciones (7, 66).

La quitosana es, entre las oligosacarinas, la más estudiada y de mayores aplicaciones en el campo de la agricultura de pre y pos-cosecha. Posee tres características esenciales en su actividad biológica que la

hacen deseable en este campo, benefician el aumento del crecimiento y los rendimientos de muchos cultivos probados; causan la inducción defensiva y de resistencia contra patógenos en plantas aplicadas y, a diferencia de las otras oligosacarinas estudiadas; provoca la inhibición del crecimiento y desarrollo de micro-organismos en general (16, 67, 68, 69, 70). Es reconocido que su actividad biológica está relacionada con las cargas positivas libres, presentes en el grupo amino en condiciones de acidez, que interactúan con cargas contrarias de componentes de la pared celular y las membranas de microorganismos y plantas.

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LAS QUITOSANAS

La actividad antimicrobiana de la quitosana ha sido documentada tanto en experimentos *in vitro* como *in situ* (14, 67). La literatura informa que la inhibición del desarrollo de muchos patógenos, que incluyen hongos, bacterias y oomycetes, está altamente correlacionada con el incremento de la concentración de quitosana en el medio de crecimiento, indicando que en la medida en que aumenta la concentración se incrementa la inhibición, existiendo diferencias entre acción fungistático y fungicida, de acuerdo a las concentraciones probadas (Tabla III).

Tabla III. Actividad antimicrobiana de quitosanas y oligoquitosanas en diferentes microorganismos

| Especie microbiana | Efecto antimicrobiano observado | Referencia |
|--|--|--------------------------|
| Bacterias | | |
| <i>Escherichia coli</i> | Reducción de la viabilidad celular. | 124 |
| <i>Bacillus subtilis</i> | Reducción de la viabilidad celular. | 124 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>S. simulans</i> | Causó afectación de la viabilidad celular y permeabilización y depolarización de la membrana celular. | 125 |
| <i>Bradyrhizobium elkanii</i> | Inhibición de la viabilidad celular a concentraciones por encima de 0,5 g L ⁻¹ . | D |
| Hongos | | |
| <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>F.solani</i> | Inhibición del crecimiento del micelio y de la germinación de esporas. | 77, 126 |
| <i>Botrytis cinerea</i> | Inhibición del crecimiento del micelio, la germinación de esporas, el alargamiento del tubo germinativo y causa daños a la membrana de las esporas. | 79 |
| <i>Alternaria alternata</i> , <i>solani</i> | Inhibición del crecimiento del micelio y de la formación de esporas. | 80 |
| <i>Aspergillus niger</i> | Inhibición del crecimiento del micelio y de la germinación de esporas. | 81 |
| <i>Rhizopus stolonifer</i> | Quitosanas de diferentes MM afectan el crecimiento vegetativo, la esporulación y la germinación de esporas | 88, 127 |
| <i>Penicillium digitatum</i> y <i>expansum</i> | Afectación del micelio, reducción de la viabilidad de las esporas y dañó las membranas celulares. | 69, 79 |
| <i>Pochonia chlamydosporia</i> (nematófago), <i>Beauveria bassiana</i> (entomopatógeno), <i>Trichoderma harzianum</i> (micoparásito) | Inhibición del crecimiento vegetativo y de la germinación de esporas con diferente grado de afectación para cada género. Sensibilidad vegetativa: Trichoderma>Fusarium>Pochonia>Beauveria Sensibilidad en germinación de esporas: Trichoderma= Fusarium>Pochonia>Beauveria | 77 |
| Oomycetes | | |
| <i>Phytophthora capsici</i> , <i>P. nicotianae</i> y <i>P. palmivora</i> | Inhibición del crecimiento vegetativo y de diferentes estadios del ciclo de vida como la reproducción sexual y asexual. | 17, 72, 73, 74, 75, E |
| <i>Pythium aphanidermatum</i> | Reducción del crecimiento vegetativo radial y de la infección en pepino. | 76, 83 |

Desde hace más de dos décadas se han evaluado estos compuestos sobre todos los estadios del ciclo de vida de los hongos, siendo las estructuras reproductivas las más afectadas (14, 67).

El estudio del efecto de la quitosana en el grupo de los oomycetes es más reciente. Algunos autores han demostrado que polímeros de quitosana afectan el desarrollo vegetativo de aislados del género *Phytophthora*. El aumento de la concentración en dependencia de la especie causa una disminución significativa del crecimiento de las colonias, lo cual se ha podido observar en especies como *P. nicotianae*, *P. capsici* y *P. palmivora*, todos

ellos patógenos importantes de numerosas especies de plantas^E (71, 72, 73, 74). Algunas de estas especies son más sensibles que otras, por ejemplo, *P. nicotianae* y *P. capsici* redujeron su crecimiento vegetativo más de un 50 % con alrededor de 0,5 g L⁻¹ (71, 73, 74), mientras que *P. palmivora* necesitó más de 2 g L^{-1E}. Entre oomycetes y hongos verdaderos, los resultados muestran, en general, una aparente mayor sensibilidad en los primeros, como se ha observado al comparar experimentos entre

Phytophthora y *Pythium* contra especies de diferentes grupos de hongos; siendo incluso, mucho menos sensibles algunos hongos nematófagos y entomopatógenos (71, 74, 75).

Otros estadios de los microorganismos, como son las estructuras reproductivas y de dispersión asexual, pueden ser más sensibles que las de crecimiento vegetativo. La inhibición de la germinación de esporas por quitosana se ha observado en numerosos hongos, tales como *Aspergillus niger*, *Alternaria alternata*, *Rhizopus stolonifer*, *Mucor* sp. y *Pochonia chlamydosporia* (74, 75, 76, 77, 78, 79, 80).

^E González, P. D. Efecto de un polímero de quitosana en el desarrollo de *Phytophthora nicotianae* y *Phytophthora palmivora*. Tesis de Maestría, Facultad de Biología, Universidad de la Habana, La Habana, Cuba, 2011, 50 p.

Dentro de los oomycetes, el género *Phytophthora* ha sido de los más estudiados. Polímeros y oligómeros de quitosana causan la inhibición de la formación y germinación de zoosporas y zoosporangios en *P. capsici*, *P. nicotianae* y *P. palmivora*^E (16, 71, 72, 73).

Las propiedades físico-químicas de estos compuestos también influyen en la inhibición del crecimiento de los microorganismos. Por ejemplo, la reducción de la masa molecular del polímero y del grado de acetilación aumenta la inhibición del crecimiento micelial y la germinación de esporas de *Phytophthora nicotianae* (16, 73). De manera similar, en *Rhizopus stolonifer*, variaciones desde 1,0 hasta 2,0 g L⁻¹ no alteraron la formación o germinación de esporas; sin embargo, se observó inhibición de estos procesos al emplear quitosanas de diferente masa molecular (76).

Se sugiere que la acción antimicrobiana de la quitosana se deba principalmente, al carácter policationico de la molécula cuando se encuentra en soluciones a pH por debajo de 6,0, ya que los grupos aminos, cargados positivamente, pueden interactuar con los fosfolípidos de las membranas celulares de los microorganismos y alterar su permeabilidad. Esto puede provocar desbalances osmóticos que conllevan a desorganizaciones estructurales y finalmente puede culminar con la lisis celular (67, 81). Para el caso de las oligoquitosanas se ha demostrado la internalización de estas moléculas en la célula microbiana y se especula su posible interacción con el ADN de la misma (72). La magnitud de las afectaciones encontradas puede variar, fundamentalmente, en dependencia de las propiedades físico-químicas del polímero y las concentraciones que se empleen (14, 67).

A pesar de las numerosas bondades de la quitosana demostradas en decenas de trabajos y del incremento en el número de patentes de aplicación en los últimos 15 años, puede considerarse este polímero todavía no muy explotado en el contexto agrícola mundial. De hecho, la mayoría de los productos agrícolas con base quitosana (Elexa®, Chitogel®, Aminogro®, Chito-Plant®, Chito-Care®, etc) comenzaron a aparecer aproximadamente hace una década y no tienen todavía una demanda o producción elevada (41, 82). Sin embargo, recientemente se ha notado un impulso de las evaluaciones de quitosana en condiciones controladas, no controladas y de invernadero^A (16, 41, 82, 83) e incluso su extensión y evaluación como resultado de decisiones gubernamentales. En la actualidad este polímero es reconocido dentro de los biopesticidas como un "derivado de crustáceos activador de la defensa de las plantas" (84).

PROTECCIÓN DE LAS PLANTAS POR QUITOSANAS ANTE EL ESTRÉS BIÓTICO

La protección de los cultivos contra sus principales enfermedades, mediante aplicaciones de quitosanas, se ha estudiado por más de 20 años en diferentes interacciones planta-patógeno por numerosos grupos de investigación a escala mundial. Varios ejemplos de protección informados en diferentes especies y distintos momentos del cultivo se referencian en la Tabla II (70, 73, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100). La protección encontrada contra el ataque de patógenos puede deberse a la actividad antimicrobiana que estos polímeros y oligómeros ejercen sobre los microorganismos o puede ser el resultado de la elevación de la resistencia basal de la planta,

causada por la activación de resistencia inducida que ejercen estos compuestos en el vegetal. En muchos casos pueden ocurrir simultáneamente ambos efectos (16, 67, 69, 70).

PROTECCIÓN DE LAS PLANTAS POR OLIGOSACARINAS ANTE EL ESTRÉS ABIÓTICO

Estudios más recientes han demostrado las potencialidades de las oligosacarinas en la protección de algunas especies contra diferentes manifestaciones del estrés abiótico. La mayoría de los estudios divulgados se refieren a evaluaciones y resultados de la última década con oligosacarinas exógenas; sin embargo, resultados con oligosacarinas endógenas han resultado incluso en la publicación de patentes.

En este sentido, fue patentado un proceso para la adaptación de plantas a diferentes estreses abióticos, que incluye la aspersión foliar de un derivado de xiloglucano en condiciones particulares de aplicación. De acuerdo a los autores, el proceso beneficia el crecimiento de las plantas, bajo diferentes tipos de estrés, que incluyen bajas temperaturas, sequía, humedad o salinidad, mediante la estimulación de enzimas y compuestos que reducen los niveles de las especies reactivas de oxígeno que se liberan durante el estrés y amplifican, además, algunas señales que conllevan a la formación y activación de las hormonas tradicionales que actúan en la célula vegetal (101).

Un creciente número de resultados de protección contra el estrés abiótico se han informado en plantas con diferentes tipos de tratamiento con quitosanas. Los estudios abarcan desde ensayos controlados hasta experimentos en mayor escala, así como en diferentes cultivos. Por su parte, las aplicaciones pueden ser por recubrimiento o imbibición de semillas, durante un corto tiempo

con altas concentraciones o lo inverso, concentraciones menores y mayores tiempos de contacto, en dependencia del tipo de semilla. También se han obtenido buenos resultados con tratamientos por aspersión foliar, aplicación al sustrato de crecimiento o por inclusión de estacas o raíces en soluciones de quitosana.

Las diferentes manifestaciones del estrés abiótico han sido ensayadas con mayor o menor éxito, en dependencia de las condiciones de experimentación. Algunos ejemplos de protección de especies contra diferentes manifestaciones del estrés abiótico se resumen en la Tabla IV (102, 103, 104, 105, 106).

BONDADES ECOLÓGICAS DE LAS OLIGOSACARINAS

El propio origen y estructura química oligosacárida de las oligosacarinas habla ya de sus posibles características no tóxicas. Los oligogalacturónidos que forman parte del Pectimorf se extraen mediante hidrólisis enzimática de pectina cítrica, materia prima utilizada ampliamente en la industria alimenticia y el producto final es biodegradable por microorganismos del suelo, una vez aplicado, no quedando trazas del producto en la planta o sustrato^F.

Algo similar sucede con los productos basados en quitina y quitosana ya que aunque esta puede ser tóxica para muchos fitopatógenos del suelo, resulta una fuente de carbono excelente para otros. Por otra parte, los productos de quitina y quitosana son ampliamente utilizados para la medicina humana y animal, la cosmética, así como en la industria, debido a su inocuidad para el hombre (15, 107).

^F Cabrera, J. C. Obtención y purificación de oligogalacturónidos bioactivos a partir de la pectina cítrica. Informe Final del PNCT, no. 002, Inst. CITMA, La Habana, Cuba, 2000, p. 150.

Otro aporte ecológico importante de ambos productos lo constituye el hecho de que las materias primas (pectina y quitina industrial) de donde se obtienen cada uno, constituyen el valor agregado que se obtiene de subproductos potencialmente contaminantes de las industrias alimentaria y pesquera respectivamente, ya que constituyen los desechos de la producción de jugos y del exoesqueleto de los crustáceos que se pescan para el consumo humano. Por tanto, la preparación de ambos productos ofrece una salida económica y ecológica a subproductos de ambas industrias.

RESULTADOS Y PERSPECTIVAS DE PRODUCTOS CUBANOS A BASE DE OLIGOSACARINAS

El GPB del INCA tiene una experiencia de 20 años en el estudio de las oligosacarinas, su preparación y efectos en plantas. El grupo desarrolla productos a base de oligogalacturónidos (Pectimorf®) y quitosanas -QuitoMax®, como principales agentes activos, a partir de metodologías propias. Ambos ejercen diferentes efectos biológicos en plantas y permiten diversas aplicaciones como productos alternativos para diferentes agroquímicos.

El Pectimorf (Pm) promueve el desarrollo de raíces en plantas a concentraciones entre 5 y 20 mg L⁻¹, lo que se ha demostrado en experimentos de tratamiento de semillas, esquejes y mediante aspersión foliar y en combinación de las formas de aplicación mencionadas en cultivos como hortalizas, frutales y plantas ornamentales (25, 26, 27). Este producto se introduce y extiende como enraizador en la agricultura cubana por todo el país y se están probando nuevas

presentaciones del producto para facilitar su utilización por los agricultores.

Los incrementos en el desarrollo foliar y del crecimiento de la planta, también han sido observados en solanáceas y leguminosas, así como de los rendimientos en soya y frijoles (26, 27, 108). Igualmente, se ha demostrado un efecto positivo en la activación del crecimiento en plantas ornamentales de crecimiento lento como la Areca, el Anturium y las orquídeas, mediante la aspersión foliar del Pm en diferentes concentraciones y momentos de aplicación (25, 109, 110).

En el cultivo *in vitro*, el Pectimorf ha sido ampliamente estudiado, demostrándose su capacidad como sustituto de hormonas tradicionales, auxinas y citoquininas, en diferentes estadios y en diversos cultivos como la caña de azúcar, el café, los cítricos, la papa, el tomate, el tabaco, el banano, el arroz, el ajo, entre otros^F (21, 22, 23, 29). En este caso también se han observado beneficios al cultivo como la promoción del enraizamiento, el incremento de brotes, así como resultados beneficiosos en el estadio de adaptación *ex vitro*. Otros resultados encontrados con el Pm son el retraso en la apertura de flores recién cortadas, específicamente en rosas y el incremento de brotes en violetas tratadas por aspersión del producto^F.

Con el Pectimorf también se han realizado estudios relacionados con la protección de las plantas contra diferentes tipos de estrés. Por ejemplo, se evaluó la inducción de respuestas defensivas y protección contra oomycetes (*Phytophthora*) en tomate y tabaco, mediante tratamiento de semillas y aspersión foliar^A.

Tabla IV. Resultados de protección contra el estrés abiótico inducido por quitosanas

| Cultivo | Efecto antiestrés observado en diferentes tipos de aplicaciones | Referencia |
|--------------------------|--|------------|
| Arroz | Solución de quitosana en hidropónico redujo la presencia de vanadio en brotes tallos y raíces permitiendo un enraizamiento y crecimiento en las plántulas tratadas por encima del control estresado. | 104 |
| Lechuga, Cebolla, Tomate | Tratamientos de semillas y la combinación con aspersión foliar de un complejo de quitosana induce tolerancia a la salinidad durante la germinación y el crecimiento | 105 |
| Arroz | La aspersión foliar de quitosana previo al estrés por sequía causó mayores rendimientos bajo dicho estrés y una buena recuperación de las plantas. | 106 |
| Uva (Vid) | La imbibición de las estacas en quitosana indujo tolerancia contra el estrés por sequía y bajas temperaturas expresado como mayor enraizamiento, formación de brotes y aumento de clorofila en las hojas formadas en las estructuras de multiplicación | 107 |
| Maíz | Tratamientos de semilla inducen tolerancia a la planta en crecimiento bajo estrés ácido | 108 |

En relación con el estrés abiótico, se ha evaluado el potencial de esta mezcla de oligogalacturonidos en la protección de plantas de tomate contra el estrés por metales pesados, encontrándose que la imbibición previa de semillas de tomate con Pm permitió reducir la afectación de las plántulas que crecían en un sustrato envenenado con cobre, obteniéndose valores en las variables de crecimiento semejantes al control cultivado en sustrato carente del metal (111).

El GPB ha desarrollado metodologías para la preparación de compuestos de quitosana con diferentes características químico-físicas. De esta forma se estudiaron las potencialidades biológicas de quitosana en polímero, parcialmente hidrolizada y de oligosacáridos de quitosana, encontrándose diferencias en su accionar biológico en dependencia de la masa molecular y el grado de acetilación en el grupo amino. Estos compuestos han sido investigados como inductores de resistencia contra patógenos en cultivos como tabaco, tomate, soya y arroz y, además, como inhibidores de los patógenos fundamentales de estos cultivos^{D, E} (16, 73, 74, 112, 113, 114). Igualmente fueron demostradas sus potencialidades para aumentar el crecimiento y los rendimientos en cultivos de

interés como tabaco, tomate, maíz y pepino^B (16, 115, 116).

A partir de los resultados en los cultivos mencionados, el GPB desarrolló un formulado de quitosana conocido como QuitoMax[®] que se encuentra en fase de registro como bioestimulante en presentación líquida y se continúan sus validaciones en campo mediante extensiones y campos controles en diferentes provincias de Cuba. En este sentido, durante tres campañas agrícolas (2012-2015) el QuitoMax[®] se ha extendido de cientos a miles de hectáreas en el país fundamentalmente en los cultivos de papa, frijol y maíz. En la campaña 2014-2015 se generalizó en las 1700 ha de papa plantadas en la provincia de Mayabeque y se extendió en cientos de hectáreas de Matanzas y Ciego de Ávila obteniéndose incrementos de más de tres toneladas por hectárea como promedio. En frijol se generalizó en más de 2000 ha en la misma provincia y en más de 1000 ha a nivel nacional en el cultivo del maíz. Adicionalmente, se ha extendido en decenas de hectáreas en el cultivo del tomate y el tabaco en la provincia de Granma.

Los estudios realizados en las pruebas de validación del QuitoMax[®] sustentan la preparación de polímeros de

quitina y quitosana a partir del exoesqueleto de la langosta cubana, que constituye actualmente un desecho contaminante de la industria pesquera, con el fin de ser aplicados en la agricultura a mayor escala. Entre las ventajas de su utilización para este fin se puede agregar que son compuestos no tóxicos y biodegradables una vez liberados al ambiente y se pueden obtener, a través de metodologías no contaminantes, de materias primas nacionales que constituyen desechos (16). A lo anterior debe añadirse su acción antimicrobiana contra patógenos y su compatibilidad, e incluso, acción sinérgica con varios controles biológicos; la activación de resistencia inducida contra posteriores ataques de patógenos, cuando se aplican previamente en los cultivos y el demostrado efecto de promover el crecimiento, desarrollo vegetativo y el rendimiento^B (16, 70, 73).

Los resultados del GPB demuestran el incremento del crecimiento y los rendimientos que van desde el 10 al 60 % por encima de los controles, en dependencia del producto evaluado (Pectimorf o QuitoMax[®]), las diferentes formas de aplicación experimentadas en el cultivo y la localidad de que se trate^{A, B, C}. Estos resultados promisorios, algunos en fase de extensión, se han demostrado

en cultivos como tabaco, tomate, papa, maíz, arroz, pepino, soya y frijol. En estos dos últimos se ha demostrado un efecto sinérgico de ambos productos por separado con los microorganismos fijadores biológicos de nitrógeno que se utilizan como biofertilizantes de dichos cultivos^c (108).

El grupo ha diseñado y desarrollado además, un nuevo concepto dentro de los biofertilizantes para la fijación biológica del nitrógeno, basado en la obtención de biopreparados a base de rizobios y enriquecidos en factores de nodulación, oligosacarinas sintetizadas y excretadas por estos microorganismos simbioses de las leguminosas (117, 118).

Al explotar una mayor presencia de estas macromoléculas en dichos biopreparados, se logra un valor agregado que va más allá del simple aumento de la biomasa bacteriana para proponer además, un mayor número de las estructuras que inducen los primeros eventos en la formación de los nódulos donde se fijará posteriormente el nitrógeno atmosférico.

La comparación de biofertilizantes tradicionales para soya con aquel enriquecido en factores de nodulación (conocido comercialmente como Azofert), demostró las ventajas del segundo en la formación de nódulos en las raíces y el aumento del crecimiento y los rendimientos del cultivo (119). Resultados adicionales demuestran que la presencia de estas oligosacarinas en los biopreparados provoca una mayor protección en cultivos de soya contra el estrés biótico y abiótico (120, 121).

Las más recientes investigaciones y validaciones del GPB que se ejecutan a escala de campo, vislumbran en promisorios resultados en los cultivos del frijol y la soya, un efecto sinérgico entre oligosacarinas exógenas y endógenas con inóculos microbianos, lo que permite

considerar la utilización de oligogalacturónidos y quitosanas para la potenciación sinérgica o aditiva del biofertilizante respectivo, en el proceso simbiótico y de crecimiento de las leguminosas.

CONCLUSIONES

- ♦ Las oligosacarinas constituyen compuestos naturales, no tóxicos y biodegradables, con diversos efectos biológicos en plantas y microorganismos que le confieren atractivos para su aplicación en la agricultura sostenible e intensiva, en la sustitución de agroquímicos para la protección de las plantas contra enfermedades y como sustitutos de reguladores del crecimiento.
- ♦ Aunque son estructuras que forman parte de las paredes celulares de plantas y microorganismos, existen otras fuentes, comerciales o de desechos industriales, que permiten abaratar su obtención, la cual, puede realizarse mediante métodos químicos, físicos y enzimáticos, que no resultan de alto costo.
- ♦ Resultados del GPB, tanto en el desarrollo de productos a base de oligosacarinas como en su aplicación y extensión a escala productiva, demuestran la potencial introducción de algunos de estos productos en el beneficio de la agricultura cubana e internacional, como sustitutos de hormonas en el cultivo *in vitro*, alternativas de protección contra el estrés y reguladores del crecimiento y los rendimientos de los cultivos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores quieren agradecer a la International Foundation for Science (IFS) y a la Organisation for the Prohibition of Chemical Weapons (OPCW) por su contribución a las investigaciones que conllevaron a los resultados

del Grupo de Productos Bioactivos del INCA que se recogen en esta revisión. El apoyo de esta organización se realizó a través de los proyectos F-4446-1 y F-4446-2F mediante financiamiento para equipamiento, reactivos, material informático e información científica.

BIBLIOGRAFÍA

1. Agrios, G. N. "How pathogens attack plants". En: *Plant Pathology*, edit. Academic Press, 25 de enero de 2005, pp. 37-82, ISBN 978-0-08-047378-9.
2. Agrios, G. N. "How plants defend themselves against pathogens". En: *Plant Pathology*, edit. Academic Press, 25 de enero de 2005, pp. 107-161, ISBN 978-0-08-047378-9.
3. Ebel, J. y Mithöfer, A. "Early events in the elicitation of plant defence". *Planta*, vol. 206, no. 3, agosto de 1998, pp. 335-348, ISSN 0032-0935, 1432-2048, DOI 10.1007/s004250050409.
4. Esquerré, T. M. T.; Boudart, G. y Dumas, B. "Cell wall degrading enzymes, inhibitory proteins, and oligosaccharides participate in the molecular dialogue between plants and pathogens". *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 38, no. 1-2, enero de 2000, pp. 157-163, ISSN 0981-9428, DOI 10.1016/S0981-9428(00)00161-3.
5. Ridley, B. L.; O'Neill, M. A. y Mohnen, D. "Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling". *Phytochemistry*, vol. 57, no. 6, julio de 2001, pp. 929-967, ISSN 0031-9422, DOI 10.1016/S0031-9422(01)00113-3.
6. Côté, F.; Ham, K. S.; Hahn, M. G. y Bergmann, C. W. "Oligosaccharide Elicitors in Host-Pathogen Interactions" [en línea]. En: *Plant-Microbe Interactions*, edit. Springer US, 1998, pp. 385-432, ISBN 978-1-4899-1709-6, [Consultado: 1 de diciembre de 2015], Disponible en: <http://link.springer.com/ptcr/10.1007/978-1-4899-1707-2_13>.

7. Shibuya, N. y Minami, E. "Oligosaccharide signalling for defence responses in plant". *Physiological and Molecular Plant Pathology*, vol. 59, no. 5, noviembre de 2001, pp. 223-233, ISSN 0885-5765, DOI 10.1006/pmpp.2001.0364.
8. Hayashi, T. "Xyloglucans in the Primary Cell Wall". *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, vol. 40, no. 1, 1989, pp. 139-168, ISSN 0066-4294, DOI 10.1146/annurev.pp.40.060189.001035.
9. Cutillas, I. A.; Fulton, D. C.; Fry, S. C. y Lorences, E. P. "Xyloglucan-derived oligosaccharides induce ethylene synthesis in persimmon (*Diospyros kaki* L.) fruit". *Journal of Experimental Botany*, vol. 49, no. 321, 4 de enero de 1998, pp. 701-706, ISSN 0022-0957, 1460-2431, DOI 10.1093/jxb/49.321.701.
10. Marry, M.; Cavalier, D. M.; Schnurr, J. K.; Netland, J.; Yang, Z.; Pezeshk, V.; York, W. S.; Pauly, M. y White, A. R. "Structural characterization of chemically and enzymatically derived standard oligosaccharides isolated from partially purified tamarind xyloglucan". *Carbohydrate Polymers*, vol. 51, no. 3, 15 de febrero de 2003, pp. 347-356, ISSN 0144-8617, DOI 10.1016/S0144-8617(02)00189-3.
11. Cutillas, I. A. y Lorences, E. P. "Effect of Xyloglucan Oligosaccharides on Growth, Viscoelastic Properties, and Long-Term Extension of Pea Shoots". *Plant Physiology*, vol. 113, no. 1, 1 de enero de 1997, pp. 103-109, ISSN 1532-2548, DOI 10.1104/pp.113.1.103.
12. Kaku, T.; Tabuchi, A.; Wakabayashi, K.; Kamisaka, S. y Hoson, T. "Action of Xyloglucan Hydrolase within the Native Cell Wall Architecture and Its Effect on Cell Wall Extensibility in Azuki Bean Epicotyls". *Plant and Cell Physiology*, vol. 43, no. 1, 15 de enero de 2002, pp. 21-26, ISSN 0032-0781, 1471-9053, DOI 10.1093/pcp/pcf004.
13. Spaik, H. P. "Root Nodulation and Infection Factors Produced by Rhizobial Bacteria". *Annual Review of Microbiology*, vol. 54, no. 1, 2000, pp. 257-288, ISSN 0066-4227, 1545-3251, DOI 10.1146/annurev.micro.54.1.257.
14. Badawy, M. E. I. y Rabea, E. I. "A Biopolymer Chitosan and Its Derivatives as Promising Antimicrobial Agents against Plant Pathogens and Their Applications in Crop Protection". *International Journal of Carbohydrate Chemistry*, vol. 2011, 19 de junio de 2011, p. 29, ISSN 1687-9341, DOI 10.1155/2011/460381.
15. Harish, P. K. V. y Tharanathan, R. N. "Chitin/chitosan: modifications and their unlimited application potential-an overview". *Trends in Food Science & Technology*, vol. 18, no. 3, marzo de 2007, pp. 117-131, ISSN 0924-2244, DOI 10.1016/j.tifs.2006.10.022.
16. Falcón, R. A.; Rodríguez, A. T.; Ramírez, M. A.; Rivero, D.; Martínez, B.; Cabrera, J. C.; Costales, D.; Cruz, A.; González, L. G.; Jiménez, M. C.; Jiménez, L.; Hernández, I.; Gonzáles, P. D. y Márquez, R. "Chitosans as bioactive macromolecules to protect economically relevant crops from their main pathogens". *Biotecnología Aplicada*, vol. 27, no. 4, diciembre de 2010, pp. 305-309, ISSN 1027-2852.
17. Marfà, V.; Gollin, D. J.; Eberhard, S.; Mohnen, D.; Albersheim, P. "Oligogalacturonides are able to induce flowers to form on tobacco explants". *The Plant Journal*, vol. 1, no. 2, 1991, pp. 217-225, ISSN 1365-313X, 0960-7412, DOI <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-313X.1991.00217.x>.
18. Prithiviraj, B.; Souleimanov, A.; Zhou, X. y Smith, D. L. "Differential response of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) genotypes to lipo-chito-oligosaccharide Nod Bj V (C(18:1) MeFuc)". *Journal of Experimental Botany*, vol. 51, no. 353, diciembre de 2000, pp. 2045-2051, ISSN 0022-0957, DOI <http://dx.doi.org/10.1093/jexbot/51.353.2045>.
19. Gage, D. J. "Infection and invasion of roots by symbiotic, nitrogen-fixing rhizobia during nodulation of temperate legumes". *Microbiology and molecular biology reviews: MMBR*, vol. 68, no. 2, junio de 2004, pp. 280-300, ISSN 1092-2172, DOI 10.1128/MMBR.68.2.280-300.2004.
20. Chibu, H.; Shibayama, H. y Arima, S. "Effects of Chitosan Application on the Shoot Growth of Rice and Soybean". *Japanese journal of crop science*, vol. 71, no. 2, 2002, pp. 206-211, ISSN 1349-0990, 0011-1848, DOI 10.1626/jcs.71.206.
21. Cid, M.; González, O. J. L.; Lezcano, Y. y Nieves, N. "Influencia del Pectimorf sobre la calidad de la semilla artificial de caña de azúcar (*Saccharum* spp)". *Cultivos Tropicales*, vol. 27, no. 1, 2006, pp. 31-34, ISSN 0258-5936.
22. Nieves, N. "Evaluación del Pectimorf como complemento del 2,4-D en el proceso de embriogénesis somática de caña de azúcar (*Saccharum* sp.)". *Cultivos Tropicales*, vol. 27, no. 1, 2013, pp. 25-30, ISSN 0258-5936.
23. Izquierdo, H.; Núñez, M.; González, M. C.; Proenza, R. y Cabrera, J. C. "Influencia de un oligogalacturónido en la aclimatización de vitropiantas de banano (*Musa* spp.) del clon FHIA-18 (AAAB)". *Cultivos Tropicales*, vol. 30, no. 1, marzo de 2009, pp. 00-00, ISSN 0258-5936.
24. Ochoa, V. M.; Vargas, A. I.; Islas, M. A.; González, A. G. y Martínez, T. M. Á. "Pectin-derived oligosaccharides increase color and anthocyanin content in Flame Seedless grapes". *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 91, no. 10, 15 de agosto de 2011, pp. 1928-1930, ISSN 1097-0010, DOI 10.1002/jsfa.4412.
25. Benítez, B.; Soto, F.; Yong, A. y Núñez, M. "Crecimiento de plantas de palma areca (*Dypsis lutescens*, H. Wendel) con aspersiones foliares de una mezcla de oligogalacturónidos". *Cultivos Tropicales*, vol. 29, no. 3, septiembre de 2008, pp. 81-85, ISSN 0258-5936.

26. Alvarez, B. I.; Reynaldo, E. I.; Cartaya, R. O. y Teheran, Z. "Efectos de una mezcla de oligogalacturónidos en la morfología de hortalizas de importancia económica". *Cultivos Tropicales*, vol. 32, no. 3, septiembre de 2011, pp. 52-57, ISSN 0258-5936.
27. Terry, A. E.; Ruiz, P. J.; Tejada, P. T.; Reynaldo, E. I. y Díaz, de A. M. M. "Respuesta del cultivo de la lechuga (*Lactuca sativa* L.) a la aplicación de diferentes productos bioactivos". *Cultivos Tropicales*, vol. 32, no. 1, 2011, pp. 28-37, ISSN 0258-5936.
28. Spiro, M. D.; Bowers, J. F. y Cosgrove, D. J. "A Comparison of Oligogalacturonide- and Auxin-Induced Extracellular Alkalinization and Growth Responses in Roots of Intact Cucumber Seedlings". *Plant Physiology*, vol. 130, no. 2, 10 de enero de 2002, pp. 895-903, ISSN 1532-2548, DOI 10.1104/pp.006064.
29. Plana, D. "Actividad biológica del Pectimorf en la morfogénesis *in vitro* del tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill) var. Amalia". *Cultivos Tropicales*, vol. 24, no. 1, 2003, pp. 29-33, ISSN 0258-5936.
30. Falcón, A. B. "Actividad enraizadora de una mezcla de oligogalacturónidos en pecíolos de violeta africana". *Cultivos Tropicales*, vol. 28, no. 2, 2012, pp. 87-90, ISSN 0258-5936.
31. McDougall, G. J. y Fry, S. C. "Xyloglucan Oligosaccharides Promote Growth and Activate Cellulase: Evidence for a Role of Cellulase in Cell Expansion". *Plant Physiology*, vol. 93, no. 3, 7 de enero de 1990, pp. 1042-1048, ISSN 1532-2548, DOI 10.1104/pp.93.3.1042.
32. Vargas, R. C.; Reicher, F.; Sierakowski, M. R.; Heyraud, A.; Driguez, H. y Liénart, Y. "Xyloglucan Octasaccharide XXLgol Derived from the Seeds of *Hymenaea courbaril* Acts as a Signaling Molecule". *Plant Physiology*, vol. 116, no. 3, 3 de enero de 1998, pp. 1013-1021, ISSN 1532-2548, DOI 10.1104/pp.116.3.1013.
33. Acosta, A.; Rocha, M. y González, P. L. "Molecular and morphological evidences of the effect of xyloglucans on stress-response in *Arabidopsis thaliana*". En: *Memorias del IV Simposio Internacional en Bioquímica y Biología Molecular*, edit. Centro internacional de conferencias de La Habana, La Habana, Cuba, 2009.
34. Cabrera, J. C.; Wégria, G.; Onderwater, R. C. A.; González, G.; Nápoles, M. C.; Falcón, R. A. B.; Costales, D.; Rogers, H. J.; Diosdado, E.; González, S.; Cabrera, G.; González, L. y Wattiez, R. "Practical use of oligosaccharins in agriculture". *Acta Horticulturae*, no. 1009, octubre de 2013, pp. 195-212, ISSN 0567-7572, 2406-6168, DOI 10.17660/ActaHortic.2013.1009.24.
35. González, P. L.; Vázquez, G. A.; Perrotta, L.; Acosta, A.; Scriven, S. A.; Herbert, R.; Cabrera, J. C.; Francis, D. y Rogers, H. J. "Oligosaccharins and Pectimorf® stimulate root elongation and shorten the cell cycle in higher plants". *Plant Growth Regulation*, vol. 68, no. 2, 3 de mayo de 2012, pp. 211-221, ISSN 0167-6903, 1573-5087, DOI 10.1007/s10725-012-9709-z.
36. Hadwiger, L. A. *Method for treating cereal crop seed with chitosan to enhance yield, root growth and stem strength* [en línea]. no. US 4886541 A, Inst. Washington State University Research Foundation, 12 de diciembre de 1989, [Consultado: 1 de diciembre de 2015], Disponible en: <<http://www.google.com/patents/US4886541>>.
37. Utsunomiya, N.; Kinai, H.; Matsui, Y. y Takebayashi, T. "The Effects of Chitosan Oligosaccharides Soil Conditioner and Nitrogen Fertilizer on the Flowering and Fruit Growth of Purple Passionfruit (*Passiflora edulis* Sims var. *edulis*)". *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, vol. 67, no. 4, 1998, pp. 567-571, ISSN 1882-336X, 1882-3351, DOI 10.2503/jjshs.67.567.
38. Ohta, K.; Morishita, S.; Suda, K.; Kobayashi, N. y Hosoki, T. "Effects of Chitosan Soil Mixture Treatment in the Seedling Stage on the Growth and Flowering of Several Ornamental Plants". *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, vol. 73, no. 1, 2004, pp. 66-68, ISSN 1882-336X, 1882-3351, DOI 10.2503/jjshs.73.66.
39. Freepons, D. E. *Plant growth regulators derived from chitin* [en línea]. no. US4964894 A, 23 de octubre de 1990, [Consultado: 1 de diciembre de 2015], Disponible en: <<http://www.google.com/cu/patents/US4964894>>.
40. Cho, M. H.; No, H. K. y Prinyawiwatukul, W. "Chitosan Treatments Affect Growth and Selected Quality of Sunflower Sprouts". *Journal of Food Science*, vol. 73, no. 1, 1 de enero de 2008, pp. S70-S77, ISSN 1750-3841, DOI 10.1111/j.1750-3841.2007.00607.x.
41. Sharathchandra, R. G.; Raj, S. N.; Shetty, N. P.; Amruthesh, K. N. y Shetty, H. S. "A Chitosan formulation Elexa™ induces downy mildew disease resistance and growth promotion in pearl millet". *Crop Protection*, vol. 23, no. 10, octubre de 2004, pp. 881-888, ISSN 0261-2194, DOI 10.1016/j.cropro.2003.12.008.
42. Bhaskara, R. M. V.; Arul, J.; Angers, P. y Couture, L. "Chitosan treatment of wheat seeds induces resistance to *Fusarium graminearum* and improves seed quality". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 47, no. 3, 1999, pp. 1208-1216, ISSN 0021-8561, DOI <http://dx.doi.org/10.1021/jf981225k>.
43. Shao, C. X.; Hu, J.; Song, W. J. y Hu, W. M. "Effects of seed priming with chitosan solutions of different acidity on seed germination and physiological characteristics of maize seedling". *Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Science)*, vol. 31, no. 6, 2005, pp. 705-708, ISSN 1008-9209.
44. Zhou, Y. G.; Yang, Y. D.; Qi, Y. G.; Zhang, Z. M.; Wang, X. J. y Hu, X. J. "Effects of chitosan on some physiological activity in germinating seed of peanut". *Journal of Peanut Science*, vol. 31, no. 1, 2002, pp. 22-25, ISSN 0095-3679.

45. Boonlertrirun, S.; Boonraung, C. y Suvanansara, R. "Application of chitosan in rice production". *Journal of Metals, Materials and Minerals*, vol. 18, no. 2, 2008, pp. 47-52, ISSN 0857-6149.
46. Dzung, N. "Enhancing Crop Production with Chitosan and Its Derivatives" [en línea]. En: *Chitin, Chitosan, Oligosaccharides and Their Derivatives*, edit. CRC Press, 14 de julio de 2010, pp. 619-631, ISBN 978-1-4398-1603-5, [Consultado: 1 de diciembre de 2015], Disponible en: <<http://www.crcnetbase.com/doi/abs/10.1201/EBK1439816035-c42>>.
47. Khan, W. M.; Prithiviraj, B. y Smith, D. L. "Effect of Foliar Application of Chitin and Chitosan Oligosaccharides on Photosynthesis of Maize and Soybean". *Photosynthetica*, vol. 40, no. 4, diciembre de 2002, pp. 621-624, ISSN 0300-3604, 1573-9058, DOI 10.1023/A:1024320606812.
48. Abdel, M. A. M. R.; Tantawy, A. S.; El-Nemr, M. A. y Sassine, Y. N. "Growth and yield responses of strawberry plants to chitosan application". *European Journal of Scientific Research*, vol. 39, no. 1, 2010, pp. 161-168, ISSN 1450-216X, 1450-202X.
49. Chibu, H. y Shibayama, H. "Effects of chitosan application on the growth of several crops". En: Uragami T., *Chitin and Chitosan in Life Science: Proceedings of the Eighth International Chitin and Chitosan Conference and Fourth Asia Pacific Chitin and Chitosan Symposium, Yamaguchi, Japan, September 21-23, 2000*, edit. Kodansha Scientific, 2001, pp. 235-239, ISBN 978-4-906464-13-5.
50. Kowalski, B.; Terry, F. J.; Herrera, L. y Peñalver, D. A. "Application of Soluble Chitosan *in vitro* and in the Greenhouse to Increase Yield and Seed Quality of Potato Minutubers". *Potato Research*, vol. 49, no. 3, 13 de febrero de 2007, pp. 167-176, ISSN 0014-3065, 1871-4528, DOI 10.1007/s11540-006-9015-0.
51. Lee, S.; Choi, H.; Suh, S.; Doo, I. S.; Oh, K. Y.; Choi, E. J.; Taylor, A. T. S.; Low, P. S. y Lee, Y. "Oligogalacturonic Acid and Chitosan Reduce Stomatal Aperture by Inducing the Evolution of Reactive Oxygen Species from Guard Cells of Tomato and *Commelina communis*". *Plant Physiology*, vol. 121, no. 1, 9 de enero de 1999, pp. 147-152, ISSN 1532-2548, DOI 10.1104/pp.121.1.147.
52. Iriti, M.; Picchi, V.; Rossoni, M.; Gomarasca, S.; Ludwig, N.; Gargano, M. y Faoro, F. "Chitosan antitranspirant activity is due to abscisic acid-dependent stomatal closure". *Environmental and Experimental Botany*, vol. 66, no. 3, septiembre de 2009, pp. 493-500, ISSN 0098-8472, DOI 10.1016/j.envexpbot.2009.01.004.
53. Bittelli, M.; Flury, M.; Campbell, G. S. y Nichols, E. J. "Reduction of transpiration through foliar application of chitosan". *Agricultural and Forest Meteorology*, vol. 107, no. 3, 2 de abril de 2001, pp. 167-175, ISSN 0168-1923, DOI 10.1016/S0168-1923(00)00242-2.
54. Lhuissier, F. G. P.; Ruijter, N. C. A. D.; Sieberer, B. J.; Esseling, J. J. y Emons, A. M. C. "Time Course of Cell Biological Events Evoked in Legume Root Hairs by Rhizobium Nod Factors: State of the Art". *Annals of Botany*, vol. 87, no. 3, 3 de enero de 2001, pp. 289-302, ISSN 0305-7364, 1095-8290, DOI 10.1006/anbo.2000.1333.
55. Prithiviraj, B.; Zhou, X.; Souleimanov, A.; Khan, W. M.; Smith, D. L. y Kahn, W. M. "A host-specific bacteria-to-plant signal molecule (Nod factor) enhances germination and early growth of diverse crop plants". *Planta*, vol. 216, no. 3, enero de 2003, pp. 437-445, ISSN 0032-0935, DOI 10.1007/s00425-002-0928-9.
56. D'Haese, W. y Holsters, M. "Nod factor structures, responses, and perception during initiation of nodule development". *Glycobiology*, vol. 12, no. 6, 6 de enero de 2002, p. 79R-105R, ISSN 0959-6658, 1460-2423, DOI 10.1093/glycob/12.6.79R.
57. Costales, D. "Efecto de derivados de quitosana en la simbiosis *Bradyrhizobium-soya*". *Cultivos Tropicales*, vol. 26, no. 1, 2013, pp. 83-87, ISSN 0258-5936.
58. Costales, D.; Nápoles, M. y Falcón, A. "Influencia de oligosacáridos de quitosana y pectina en la interacción simbiótica *Soya-Bradyrhizobium*". *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, vol. 41, no. 2, 2007, pp. 175-181, ISSN 0034-7485, 2079-3472.
59. Sharp, J. K.; McNeil, M. y Albersheim, P. "The primary structures of one elicitor-active and seven elicitor-inactive hexa(beta-D-glucopyranosyl)-D-glucitols isolated from the mycelial walls of *Phytophthora megasperma* f. sp. glycinea". *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 259, no. 18, 25 de septiembre de 1984, pp. 11321-11336, ISSN 0021-9258.
60. Cosio, E. G.; Feger, M.; Miller, C. J.; Antelo, L. y Ebel, J. "High-affinity binding of fungal β -glucan elicitors to cell membranes of species of the plant family Fabaceae". *Planta*, vol. 200, no. 1, septiembre de 1996, pp. 92-99, ISSN 0032-0935, 1432-2048, DOI 10.1007/BF00196654.
61. Klarzynski, O.; Plesse, B.; Joubert, J.-M.; Yvin, J.-C.; Kopp, M.; Kloareg, B. y Fritig, B. "Linear β -1,3 Glucans Are Elicitors of Defense Responses in Tobacco". *Plant Physiology*, vol. 124, no. 3, 11 de enero de 2000, pp. 1027-1038, ISSN 1532-2548, DOI 10.1104/pp.124.3.1027.
62. Aziz, A.; Poinssot, B.; Daire, X.; Adrian, M.; Bézier, A.; Lambert, B.; Joubert, J. M. y Pugin, A. "Laminarin elicits defense responses in grapevine and induces protection against *Botrytis cinerea* and *Plasmopara viticola*". *Molecular plant-microbe interactions: MPMI*, vol. 16, no. 12, diciembre de 2003, pp. 1118-1128, ISSN 0894-0282, DOI 10.1094/MPMI.2003.16.12.1118.
63. Aziz, A.; Heyraud, A. y Lambert, B. "Oligogalacturonide signal transduction, induction of defense-related responses and protection of grapevine against *Botrytis cinerea*". *Planta*, vol. 218, no. 5, 14 de noviembre de 2003, pp. 767-774, ISSN 0032-0935, 1432-2048, DOI 10.1007/s00425-003-1153-x.

64. Bartnicki, G. S. y Wang, M. C. "Biochemical aspects of morphogenesis in *Phytophthora*". En: Erwin D. C., Bartnicki G. S., Tsao P. H., y Society A. P., *Phytophthora: its biology, taxonomy, ecology, and pathology*, edit. American Phytopathological Society, 1983, pp. 121-138, ISBN 978-0-89054-050-3.
65. Nishizawa, Y.; Kawakami, A.; Hibi, T.; He, D. Y.; Shibuya, N. y Minami, E. "Regulation of the chitinase gene expression in suspension-cultured rice cells by N-acetylchitooligosaccharides: differences in the signal transduction pathways leading to the activation of elicitor-responsive genes". *Plant Molecular Biology*, vol. 39, no. 5, marzo de 1999, pp. 907-914, ISSN 0167-4412, 1573-5028, DOI 10.1023/A:1006161802334.
66. Zhao, J.; Davis, L. C. y Verpoorte, R. "Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites". *Biotechnology Advances*, vol. 23, no. 4, junio de 2005, pp. 283-333, ISSN 0734-9750, DOI 10.1016/j.biotechadv.2005.01.003.
67. Bautista, B. S.; Hernández, L. A. N.; Velázquez, del V. M. G.; Hernández, L. M.; Ait Barka, E.; Bosquez, M. E. y Wilson, C. L. "Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities". *Crop Protection*, vol. 25, no. 2, febrero de 2006, pp. 108-118, ISSN 0261-2194, DOI 10.1016/j.cropro.2005.03.010.
68. Khan, W.; Prithiviraj, B. y Smith, D. L. "Chitosan and chitin oligomers increase phenylalanine ammonia-lyase and tyrosine ammonia-lyase activities in soybean leaves". *Journal of Plant Physiology*, vol. 160, no. 8, 2003, pp. 859-863, ISSN 0176-1617, DOI 10.1078/0176-1617-00905.
69. El Hadrami, A.; Adam, L. R.; El Hadrami, I. y Daayf, F. "Chitosan in Plant Protection". *Marine Drugs*, vol. 8, no. 4, 30 de marzo de 2010, pp. 968-987, ISSN 1660-3397, DOI 10.3390/md8040968.
70. Falcón, R. A. B.; Costales, D.; Cabrera, J. C. y Martínez, T. M. Á. "Chitosan physico-chemical properties modulate defense responses and resistance in tobacco plants against the oomycete *Phytophthora nicotianae*". *Pesticide Biochemistry and Physiology*, vol. 100, no. 3, julio de 2011, pp. 221-228, ISSN 0048-3575, DOI 10.1016/j.pestbp.2011.04.005.
71. Xu, J.; Zhao, X.; Han, X. y Du, Y. "Antifungal activity of oligochitosan against *Phytophthora capsici* and other plant pathogenic fungi *in vitro*". *Pesticide Biochemistry and Physiology*, vol. 87, no. 3, marzo de 2007, pp. 220-228, ISSN 0048-3575, DOI 10.1016/j.pestbp.2006.07.013.
72. Xu, J.; Zhao, X.; Wang, X.; Zhao, Z. y Du, Y. "Oligochitosan inhibits *Phytophthora capsici* by penetrating the cell membrane and putative binding to intracellular targets". *Pesticide Biochemistry and Physiology*, vol. 88, no. 2, junio de 2007, pp. 167-175, ISSN 0048-3575, DOI 10.1016/j.pestbp.2006.10.010.
73. Falcón, A. B.; Cabrera, J. C.; Costales, D.; Ramírez, M. A.; Cabrera, G.; Toledo, V. y Martínez, T. M. A. "The effect of size and acetylation degree of chitosan derivatives on tobacco plant protection against *Phytophthora parasitica nicotianae*". *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, vol. 24, no. 1, 23 de junio de 2007, pp. 103-112, ISSN 0959-3993, 1573-0972, DOI 10.1007/s11274-007-9445-0.
74. Rodríguez, A. B. F.; Menéndez, D. C.; Delgado, E. O.; Díaz, O. L. y Pino, J. C. C. "Evaluation of chitosan as an inhibitor of soil-borne pathogens and as an elicitor of defence markers and resistance in tobacco plants". *Spanish Journal of Agricultural Research*, vol. 5, no. 4, 1 de diciembre de 2007, pp. 533-541, ISSN 2171-9292, DOI 10.5424/sjar/2007054-274.
75. Palma, G. J.; Jansson, H.-B.; Salinas, J. y Lopez, L. L. V. "Effect of chitosan on hyphal growth and spore germination of plant pathogenic and biocontrol fungi". *Journal of Applied Microbiology*, vol. 104, no. 2, febrero de 2008, pp. 541-553, ISSN 1365-2672, DOI 10.1111/j.1365-2672.2007.03567.x.
76. Hernández, L. A. N.; Hernández, M. M.; Velázquez, del V. M. G.; Guerra, S. M. G. y Melo, G. G. E. "Actividad antifúngica del quitosano en el control de *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.: Fr.) Vuill. y *Mucor* spp". *Revista Mexicana de Fitopatología*, vol. 25, no. 2, 2007, pp. 109-113, ISSN 0185-3309, 2007-8080.
77. Liu, J.; Tian, S.; Meng, X. y Xu, Y. "Effects of chitosan on control of postharvest diseases and physiological responses of tomato fruit". *Postharvest Biology and Technology*, vol. 44, no. 3, junio de 2007, pp. 300-306, ISSN 0925-5214, DOI 10.1016/j.postharvbio.2006.12.019.
78. Bhaskara, R. M.; Arul, J.; Ait-Barka, E.; Angers, P.; Richard, C. y Castaigne, F. "Effect of Chitosan on Growth and Toxin Production by *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici*". *Biocontrol Science and Technology*, vol. 8, no. 1, 1 de marzo de 1998, pp. 33-43, ISSN 0958-3157, DOI 10.1080/09583159830414.
79. Plascencia, J. M.; Viniegra, G.; Olayo, R.; Castillo, O. M. M. y Shirai, K. "Effect of Chitosan and Temperature on Spore Germination of *Aspergillus niger*". *Macromolecular Bioscience*, vol. 3, no. 10, 1 de octubre de 2003, pp. 582-586, ISSN 1616-5195, DOI 10.1002/mabi.200350024.
80. Sánchez, D. D.; Bautista, B. S. y Castillo, P. "Efecto del quitosano en el desarrollo y morfología de *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl". *Anales de Biología*, vol. 29, 2007, pp. 23-32, ISSN 1138-3399, 1989-2128.
81. Ghaouth, A. E. "Effect of Chitosan on Cucumber Plants: Suppression of *Pythium aphanidermatum* and Induction of Defense Reactions". *Phytopathology*, vol. 84, no. 3, 1994, p. 313, ISSN 0031949X, DOI 10.1094/Phyto-84-313.

82. Barka, E. A.; Eullaffroy, P.; Clément, C. y Vernet, G. "Chitosan improves development, and protects *Vitis vinifera* L. against *Botrytis cinerea*". *Plant Cell Reports*, vol. 22, no. 8, 1 de noviembre de 2003, pp. 608-614, ISSN 0721-7714, 1432-203X, DOI 10.1007/s00299-003-0733-3.
83. Agostini, J. P.; Bushong, P. M. y Timmer, L. W. "Greenhouse Evaluation of Products That Induce Host Resistance for Control of Scab, Melanose, and Alternaria Brown Spot of Citrus". *Plant Disease*, vol. 87, no. 1, 1 de enero de 2003, pp. 69-74, ISSN 0191-2917, DOI 10.1094/PDIS.2003.87.1.69.
84. Copping, L. G. *The biopesticide manual: world compendium*. edit. British crop protection council, 1998, 333 p., ISBN 1-901396-26-6, CABDirect2.
85. Bautista, B. S.; Hernández, L. M.; Bosquez, M. E. y Wilson, C. L. "Effects of chitosan and plant extracts on growth of *Colletotrichum gloeosporioides*, anthracnose levels and quality of papaya fruit". *Crop Protection*, vol. 22, no. 9, noviembre de 2003, pp. 1087-1092, ISSN 0261-2194, DOI 10.1016/S0261-2194(03)00117-0.
86. Jitareerat, P.; Paumchai, S.; Kanlayanarat, S. y Sangchote, S. "Effect of chitosan on ripening, enzymatic activity, and disease development in mango (*Mangifera indica*) fruit". *New Zealand journal of crop and horticultural science*, vol. 35, no. 2, 2007, pp. 211-218, ISSN 0114-0671, 1175-8783, DOI <http://dx.doi.org/10.1080/01140670709510187>.
87. Chien, P. J. y Chou, C. C. "Antifungal activity of chitosan and its application to control post-harvest quality and fungal rotting of Tankan citrus fruit (*Citrus tankan* Hayata)". *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 86, no. 12, 1 de septiembre de 2006, pp. 1964-1969, ISSN 1097-0010, DOI 10.1002/jsfa.2570.
88. Hernández, M. P.; Almenar, E.; Valle, V. D.; Velez, D. y Gavara, R. "Effect of chitosan coating combined with postharvest calcium treatment on strawberry (*Fragaria × ananassa*) quality during refrigerated storage". *Food Chemistry*, vol. 110, no. 2, 15 de septiembre de 2008, pp. 428-435, ISSN 0308-8146, DOI 10.1016/j.foodchem.2008.02.020.
89. Lin, W.; Hu, X.; Zhang, W.; John Rogers, W. y Cai, W. "Hydrogen peroxide mediates defence responses induced by chitosans of different molecular weights in rice". *Journal of Plant Physiology*, vol. 162, no. 8, 23 de agosto de 2005, pp. 937-944, ISSN 0176-1617, DOI 10.1016/j.jplph.2004.10.003.
90. Rodríguez, A. T.; Ramírez, M. A.; Cárdenas, R. M.; Hernández, A. N.; Velázquez, M. G. y Bautista, S. "Induction of defense response of *Oryza sativa* L. against *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc. by treating seeds with chitosan and hydrolyzed chitosan". *Pesticide Biochemistry and Physiology*, vol. 89, no. 3, noviembre de 2007, pp. 206-215, ISSN 0048-3575, DOI 10.1016/j.pestbp.2007.06.007.
91. Romanazzi, G.; Nigro, F.; Ippolito, A.; DiVenere, D. y Salerno, M. "Effects of Pre- and Postharvest Chitosan Treatments to Control Storage Grey Mold of Table Grapes". *Journal of Food Science*, vol. 67, no. 5, 1 de junio de 2002, pp. 1862-1867, ISSN 1750-3841, DOI 10.1111/j.1365-2621.2002.tb08737.x.
92. Trotel, A. P.; Couderchet, M.; Vernet, G. y Aziz, A. "Chitosan Stimulates Defense Reactions in Grapevine Leaves and Inhibits Development of *Botrytis Cinerea*". *European Journal of Plant Pathology*, vol. 114, no. 4, abril de 2006, pp. 405-413, ISSN 0929-1873, 1573-8469, DOI 10.1007/s10658-006-0005-5.
93. Ben, S. N.; Ardi, R.; Pinto, R.; Aki, C. y Fallik, E. "Controlling gray mould caused by *Botrytis cinerea* in cucumber plants by means of chitosan". *Crop Protection*, vol. 22, no. 2, marzo de 2003, pp. 285-290, ISSN 0261-2194, DOI 10.1016/S0261-2194(02)00149-7.
94. Molloy, C.; Cheah, L. H. y Koolaard, J. P. "Induced resistance against *Sclerotinia sclerotiorum* in carrots treated with enzymatically hydrolysed chitosan". *Postharvest Biology and Technology*, vol. 33, no. 1, julio de 2004, pp. 61-65, ISSN 0925-5214, DOI 10.1016/j.postharvbio.2004.01.009.
95. Benhamou, N. "Induction of Systemic Resistance to Fusarium Crown and Root Rot in Tomato Plants by Seed Treatment with Chitosan". *Phytopathology*, vol. 84, no. 12, 1994, p. 1432, ISSN 0031949X, DOI 10.1094/Phyto-84-1432.
96. Baños, S. B. y Luna, L. B. "Evaluación del quitosano en el desarrollo de la pudrición blanda del tomate durante el almacenamiento". *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, vol. 6, no. 1, 2004, pp. 63-67, ISSN 1665-0204.
97. Coqueiro, D. S. O.; Maraschin, M. y Piero, R. M. D. "Chitosan Reduces Bacterial Spot Severity and Acts in Phenylpropanoid Metabolism in Tomato Plants". *Journal of Phytopathology*, vol. 159, no. 7-8, 1 de agosto de 2011, pp. 488-494, ISSN 1439-0434, DOI 10.1111/j.1439-0434.2011.01791.x.
98. Du, J.; Gemma, H. y Iwahori, S. "Effects of Chitosan Coating on the Storage of Peach, Japanese Pear, and Kiwifruit". *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, vol. 66, no. 1, 1997, pp. 15-22, ISSN 1880-358X, DOI <http://dx.doi.org/10.2503/jjshs.66.15>.
99. Zhao, X.; She, X.; Du, Y. y Liang, X. "Induction of antiviral resistance and stimulatory effect by oligochitosan in tobacco". *Pesticide Biochemistry and Physiology*, vol. 87, no. 1, enero de 2007, pp. 78-84, ISSN 0048-3575, DOI 10.1016/j.pestbp.2006.06.006.
100. Iriti, M. y Faoro, F. "Abscisic acid is involved in chitosan-induced resistance to tobacco necrosis virus (TNV)". *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 46, no. 12, diciembre de 2008, pp. 1106-1111, ISSN 0981-9428, DOI 10.1016/j.plaphy.2008.08.002.
101. Salvador, P. y Lasserre, T. *Process for increasing plants resistance to an abiotic stress* [en línea]. no. US20100304975 A1, Inst. Elicityl, 2 de diciembre de 2010, [Consultado: 1 de diciembre de 2015], Disponible en: <<http://www.google.com/cu/patents/US20100304975>>.

102. Xuan, T. L.; Nagasawa, N.; Matsushashi, S.; Ishioka, N. S.; Ito, T. y Kume, T. "Effect of radiation-degraded chitosan on plants stressed with vanadium". *Radiation Physics and Chemistry*, vol. 61, no. 2, mayo de 2001, pp. 171-175, ISSN 0969-806X, DOI 10.1016/S0969-806X(00)00388-1.
103. Ortega, O.; Benavides, M. A.; Flores, O. A. y Ledezma, P. A. "Use of the Interpolyelectrolyte Complexes of Poly (acrylic acid)-Chitosan as Inductors of Tolerance Against Pathogenic Fungi in Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill. var. Floradade)". *Macromolecular Bioscience*, vol. 3, no. 10, 1 de octubre de 2003, pp. 566-570, ISSN 1616-5195, DOI 10.1002/mabi.200300021.
104. Boonlertnirun, S.; Sarobol, E. D.; Meechoui, S. y Sooksathan, I. "Drought recovery and grain yield potential of rice after chitosan application". *Kasetsart Journal: Natural Science*, vol. 41, 2007, pp. 1-6, ISSN 0075-5192.
105. Górník, K.; Grzesik, M. y Romanowska, D. B. "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*, vol. 16, 2008, pp. 333-343, ISSN 1231-0948.
106. Lizárraga, P. E. G.; Torres, P. I.; Moreno, M. E. y Miranda, C. S. P. "Chitosan application in maize (*Zea mays*) to counteract the effects of abiotic stress at seedling level". *African Journal of Biotechnology*, vol. 10, no. 34, 2013, pp. 6439-6446, ISSN 1684-5315, DOI 10.4314/ajb.v10i34.
107. Kim, S. K. *Chitin, Chitosan, Oligosaccharides and Their Derivatives: Biological Activities and Applications*. edit. CRC Press, 14 de julio de 2010, 668 p., ISBN 978-1-4398-1604-2.
108. Corbera, G. J. y Nápoles, M. C. "Efecto de la inoculación conjunta *Bradyrhizobium elkanii*-hongos MA y la aplicación de un bioestimulador del crecimiento vegetal en soya (*Glycine max* (L.) Merrill), cultivar INCASOY-27". *Cultivos Tropicales*, vol. 34, no. 2, junio de 2013, pp. 05-11, ISSN 0258-5936.
109. Hernández, L. "Efecto de una mezcla de oligogalacturónidos en el crecimiento y desarrollo del cultivo de *Anthurium andreaeanum*". *Cultivos tropicales*, vol. 28, no. 4, 2012, pp. 83-86, ISSN 0258-5936.
110. Suárez, L. "Efecto que ejercen las aspersiones foliares de una mezcla de oligogalacturónidos (Pectimorf) y la formulación a base de un análogo de brasinoesteroides (Biobras-16) en dos especies de orquídeas (*Cattleya leuddemanni* y *Guarianthe skinneri*)". *Cultivos Tropicales*, vol. 28, no. 4, 2007, pp. 87-91, ISSN 0258-5936.^o
111. Cartaya, O. E.; Reynaldo, I.; Peniche, C. y Garrido, M. L. "Empleo de polímeros naturales como alternativa para la remediación de suelos contaminados por metales pesados". *Revista internacional de contaminación ambiental*, vol. 27, no. 1, febrero de 2011, pp. 41-46, ISSN 0188-4999.
112. Rivero, D.; Cruz, A.; Martínez, B.; Rodríguez, A. T. y Ramírez, M. A. "Actividad antifúngica *in vitro* de dos quitosanas frente a *Fusarium subglutinans* (Wollenweber and Reinking), patógeno de arroz (*Oryza sativa* L.)". *Revista de Protección Vegetal*, vol. 21, no. 2, 2006, ISSN 1010-2752, 2224-4697, [Consultado: 1 de diciembre de 2015], Disponible en: <<http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=CU2009100417>>.
113. Deyanira, R.; Cruz, A.; Martínez, B.; Rodríguez, A. T. y Ramírez, M. A. "Actividad antifúngica *in vitro* de las quitosanas K1 y Sigma frente a *Bipolaris oryzae* (B. de Haan) Shoem". *Revista de Protección Vegetal*, vol. 23, no. 1, abril de 2008, pp. 43-47, ISSN 1010-2752.
114. Rodríguez, P. A. T.; Ramírez, A. M. Á.; Cárdenas, T. R. M.; Falcón, R. A. y Bautista, B. S. "Efecto de la Quitosana en la Inducción de la Actividad de Enzimas Relacionadas con la Defensa y Protección de Plántulas de Arroz (*Oryza sativa* L.) contra *Pyricularia grisea* Sacc". *Revista Mexicana de Fitopatología*, vol. 24, no. 1, 2006, pp. 1-7, ISSN 0185-3309, 2007-8080.
115. González, L.; Falcón, A.; Jiménez, M. C.; Jiménez, L.; Silvente, J. y Terrero, J. C. "Evaluación de tres dosis de quitosana en el cultivo de pepino en un periodo tardío". *Revista amazónica: Ciencia y tecnología*, vol. 1, no. 2, 2012, pp. 134-139, ISSN 1390-5600.
116. Arteaga, M. C. J.; Gómez, G. G.; Rodríguez, A. F. y Quintana, O. "Evaluación de tres bioestimulantes sobre la incidencia de plagas en el maíz (*Zea mays* L.) en la provincia de Santiago de Cuba". *Centro Agrícola*, vol. 37, no. 2, 2010, pp. 45-48, ISSN 2072-2001.
117. Nápoles, M. C. *Medio de cultivo para *Bradyrhizobium japonicum*. Biopreparado resultante*. no. 22 797, Inst. OCPI, Cuba, 2002.
118. Nápoles, M. C.; Luyten, E.; Dombrecht, B.; Laeremans, T.; Vanderleyden, J.; Costales, D.; Gutiérrez, A. y Corbera, G. "Growth media modulating the symbiotic efficiency of *Bradyrhizobium elkanii*". *Symbiosis*, vol. 38, no. 1, 2005, pp. 87-98, ISSN 0334-5114, 1878-7665.
119. Nápoles, M. C.; Cabrera, J. C.; Varela, M.; González, A. G.; Noguera, F.; Cricco, J.; Guevara, E. y Meira, S. "Influencia de inoculantes y factores edáficos en el rendimiento de la soya". *Cultivos Tropicales*, vol. 30, no. 3, septiembre de 2009, pp. 18-22, ISSN 0258-5936.
120. Nápoles, M. C.; Guevara, E.; Montero, F.; Rossi, A. y Ferreira, A. "Role of *Bradyrhizobium japonicum* induced by genistein on soybean stressed by water deficit". *Spanish Journal of Agricultural Research*, vol. 7, no. 3, 1 de septiembre de 2009, pp. 665-671, ISSN 2171-9292, DOI 10.5424/sjar/2009073-451.
121. Duzan, H. M.; Maboob, F.; Zhou, X.; Souleimanov, A. y Smith, D. L. "Nod factor induces soybean resistance to powdery mildew". *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 43, no. 10-11, octubre de 2005, pp. 1022-1030, ISSN 0981-9428, DOI 10.1016/j.plaphy.2005.08.004.

Recibido: 26 de diciembre de 2014

Aceptado: 20 de marzo de 2015