

Comunicación corta

INFLUENCIA DEL TRATAMIENTO A SEMILLAS CON QUITOSANA EN EL CRECIMIENTO DE PLANTAS DE TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.)

Lisbel Martínez[✉], I. Castro, Luisa Díaz y Miriam Núñez

ABSTRACT. The present work was performed at the National Institute of Agricultural Sciences (INCA), with the aim of studying the effect caused by seed treatment with chitosan on the Amalia tomato plant growth. Chitosan was obtained at the Laboratory of Oligosaccharines from INCA; it has a deacetylation degree of 88 ± 2.4 % and a molecular weight of 1.35×10^5 . After seeds were treated with different chitosan concentrations (0, 1, 10, 100, 1000, 2000 mg.L⁻¹) during two times (four and eight hours), they were placed in Petri dishes and five days later, they were put in polyeturance trays. After 22 days, 22 plants were selected to evaluate plant height, stem diameter, root length and dry weight of each organ. Results showed, in general, that the best response was obtained when seeds were treated with 1 mg.L⁻¹ chitosan during four hours, as this concentration stimulated significantly plant dry weight, although the other indicators were not modified.

Key words: seed treatment, chitosan, tomato, growth

RESUMEN. El presente trabajo se realizó en el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), con el objetivo de estudiar el efecto que provocó el tratamiento de semillas con quitosana sobre el crecimiento de plantas de tomate variedad Amalia. La quitosana utilizada posee un grado de desacetilación de 88 ± 2.4 % y una masa molecular de 1.35×10^5 , y fue obtenida en el Laboratorio de Oligosacarinas del INCA. Las semillas una vez tratadas con diferentes concentraciones de quitosana (0, 1, 10, 100, 1000, 2000 mg.L⁻¹) durante dos tiempos (cuatro y ocho horas), se germinaron en placas Petri y cinco días después, se colocaron en bandejas de polieturano. A los 22 días de la transferencia, se seleccionaron 22 plantas para evaluar la altura, el diámetro del tallo, la longitud de raíces y la masa seca de cada órgano. Los resultados mostraron que la mejor respuesta, de manera general, se obtuvo cuando las semillas fueron tratadas con 1 mg.L⁻¹ de quitosana durante cuatro horas, ya que esta concentración estimuló de forma significativa la masa seca de las plantas aunque no modificó el resto de los indicadores estudiados.

Palabras clave: tratamiento de semillas, quitosana, tomate, crecimiento

INTRODUCCIÓN

El tomate es un cultivo que puede establecerse de forma directa o mediante trasplante, siendo esta última la más conveniente, ya que garantiza más de un 95 % de establecimiento de la población (1). La producción de posturas sanas, vigorosas y de buena calidad es un aspecto esencial para el logro de buenos rendimientos agrícolas. En los últimos años, se ha intensificado el uso de cepellones para este fin, ya que el desarrollo del cultivo en condiciones controladas en las primeras etapas, disminuye los riesgos de daños por plagas y enfermedades, además que permite una mayor sobrevivencia de las plántulas posterior al trasplante y una rápida recuperación de estas (2).

Uno de los métodos usados para incrementar la producción de muchos cultivos es la aplicación de sustancias naturales biodegradables, que sean capaces de estimular el crecimiento y rendimiento de las plantas. Dentro de estos compuestos se encuentra la quitosana, polímero natural biodegradable, derivado de la quitina, componente estructural del exoesqueleto de los crustáceos (3). Además, junto con otros polisacáridos y proteínas, se encuentra también en las paredes celulares de varios hongos (4).

Numerosas investigaciones han demostrado los efectos de la quitosana en el campo de las ciencias agrícolas, entre los que se encuentran la estimulación del crecimiento de las plantas (5, 6), el adelanto en la floración y la estimulación en el rendimiento y peso de los frutos (7), la regulación del uso del agua por las plantas reduciendo la transpiración (4), el alargamiento de la vida poscosecha de frutos y vegetales (8, 9, 10, 11), así como su actividad en la protección de plantas frente a patógenos de origen fúngico y bacteriano (12, 13, 14, 15, 16, 17) y su actividad elicitora de los mecanismos de defensa de las plantas ante condiciones de estrés (18).

Lisbel Martínez, Especialista y Dra.C. Miriam Núñez, Investigadora Titular del Departamento de Fisiología y Bioquímica Vegetal, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Gaveta Postal 1, San José de las Lajas, La Habana, Cuba, CP 32 700; Ms.C. I. Castro, Profesor Instructor y Dra.C. Luisa Díaz, Profesora Asistente del Departamento de Producción Agrícola, Universidad Agraria de La Habana, Cuba.

✉ lisbel@inca.edu.cu

En el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas se viene trabajando en la obtención de quitosanas, a partir de la desacetilación de la quitina procedente del exoesqueleto de la langosta (19) y estos polímeros han demostrado su efecto fungicida y fungistático en condiciones *in vitro* ante algunos patógenos como *Pyricularia grisea* (20), así como su actividad elicitora a través de la estimulación de algunas enzimas relacionadas con la defensa de plantas de arroz (21). Se ha estudiado también el efecto de la quitosana sobre la germinación de los conidios y el crecimiento micelial de *Sarocladium oryzae*, agente causal de la pudrición de la vaina de arroz, así como la protección de semillas de arroz inoculadas con el patógeno (22).

No obstante los resultados anteriores, no existe apenas información acerca de los efectos de estas quitosanas, obtenidas en Cuba, sobre el crecimiento de las plantas. Por tal motivo, se decidió acometer el presente estudio, cuyo objetivo central fue evaluar el efecto que el tratamiento a las semillas con diferentes concentraciones de quitosana ejercía en el crecimiento de plantas de tomate.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se ejecutó en áreas del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) en condiciones semicontroladas. Para ello, se utilizaron semillas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) var. Amalia. La quitosana utilizada fue obtenida a partir de exoesqueleto de langosta y posee un grado de desacetilación de 88 ± 2.4 % y una masa molecular de 1.35×10^5 (23).

Las semillas se trataron, durante cuatro y ocho horas, con diferentes concentraciones de quitosana (0, 1, 10, 100, 1000 y 2000 mg.L⁻¹). Posteriormente, las semillas se pre-germinaron en placas Petri con agua destilada y a los cinco días, las plántulas fueron transferidas (44/tratamiento) a bandejas de polietileno de 264 alvéolos que contenían como sustrato una mezcla de suelo Ferralítico Rojo lixiviado típico éutrico con cachaza (1:1, v/v).

Las evaluaciones se realizaron al final del experimento (27 días después de iniciado, o sea, 22 días después de la transferencia a los cepellones) a 22 plantas por tratamiento y los indicadores fueron: la altura, la longitud de las raíces y las masas secas de hojas, raíces y tallos.

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado y todos los datos fueron analizados estadísticamente mediante el cálculo de las medias y los intervalos de confianza ($p \leq 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla I se pueden apreciar los resultados de las evaluaciones de la altura, el diámetro del tallo y la longitud de las raíces de las plantas provenientes de semillas tratadas por cuatro y ocho horas con diferentes concentraciones de quitosana a los 27 días después de

la siembra. Se debe notar que la altura de las plantas no se modificó por el tratamiento con quitosana en ninguno de los tiempos evaluados. En cuanto al diámetro del tallo, solamente los tratamientos con 2 000 y 1 000 mg.L⁻¹ de quitosana por cuatro horas modificaron significativamente este indicador, obteniéndose el mayor diámetro con la concentración más elevada de quitosana empleada. La longitud de las raíces de las plantas fue estimulada significativamente cuando las semillas se trataron durante ocho horas con 1 y 2 000 mg.L⁻¹ de quitosana.

Tabla I. Influencia del tratamiento a las semillas (cuatro y ocho horas) con diferentes concentraciones de quitosana sobre algunos indicadores del crecimiento de plantas de tomate var. Amalia, 27 días después de la siembra (medias±intervalos de confianza, $p \leq 0.05$)

Tratamientos	Altura (cm)	Diámetro (cm)	Longitud de raíces (cm)
Tratamiento cuatro horas			
Agua (control)	15.0±0.8	0.17±0.01	9.9±1.7
1 mg.L ⁻¹ quitosana	15.0±0.8	0.18±0.02	11.2±1.8
10 mg.L ⁻¹ quitosana	14.7±0.8	0.15±0.02	10.6±1.0
100 mg.L ⁻¹ quitosana	14.1±0.6	0.18±0.01	10.6±1.2
1000 mg.L ⁻¹ quitosana	14.0±0.6	0.13±0.02*	10.4±1.0
2000 mg.L ⁻¹ quitosana	14.6±0.5	0.20±0.00*	11.1±0.9
Tratamiento ocho horas			
Agua (control)	13.0±1.3	0.20±0.00	8.9±0.73
1 mg.L ⁻¹ quitosana	14.1±1.0	0.21±0.01	10.6±0.62*
10 mg.L ⁻¹ quitosana	14.6±0.8	0.21±0.01	10.2±0.97
100 mg.L ⁻¹ quitosana	14.4±0.7	0.18±0.01	10.3±1.53
1000 mg.L ⁻¹ quitosana	14.0±0.5	0.19±0.01	10.7±1.50
2000 mg.L ⁻¹ quitosana	13.3±0.5	0.19±0.02	12.8±2.13*

Estos resultados demuestran que la respuesta de estos indicadores de crecimiento de las plantas de tomate al tratamiento con quitosana dependió no solo del tiempo de tratamiento sino también de la concentración del producto utilizada, respondiendo el grosor del tallo al menor tiempo de tratamiento y a las concentraciones más elevadas; mientras que la longitud de las raíces respondió al mayor tiempo de tratamiento y a las concentraciones extremas (1 y 2 000 mg.L⁻¹).

El comportamiento de la masa seca por órganos se presenta en la Figura 1. Como se puede apreciar la masa seca de la parte aérea (hojas y tallos) incrementó significativamente con el tratamiento de 1, 100 y 2 000 mg.L⁻¹ de quitosana durante cuatro horas; mientras que la masa seca de las raíces se estimuló significativamente con las concentraciones más bajas estudiadas (1 y 10 mg.L⁻¹). Por otra parte, con el tratamiento de ocho horas, solamente la concentración de 2 000 mg.L⁻¹ fue capaz de estimular la masa seca de tallos, hojas y raíces, por lo que se infiere que el tratamiento por cuatro horas fue más efectivo, ya que la menor concentración de quitosana (1 mg.L⁻¹) favoreció la acumulación de masa seca de las plantas.

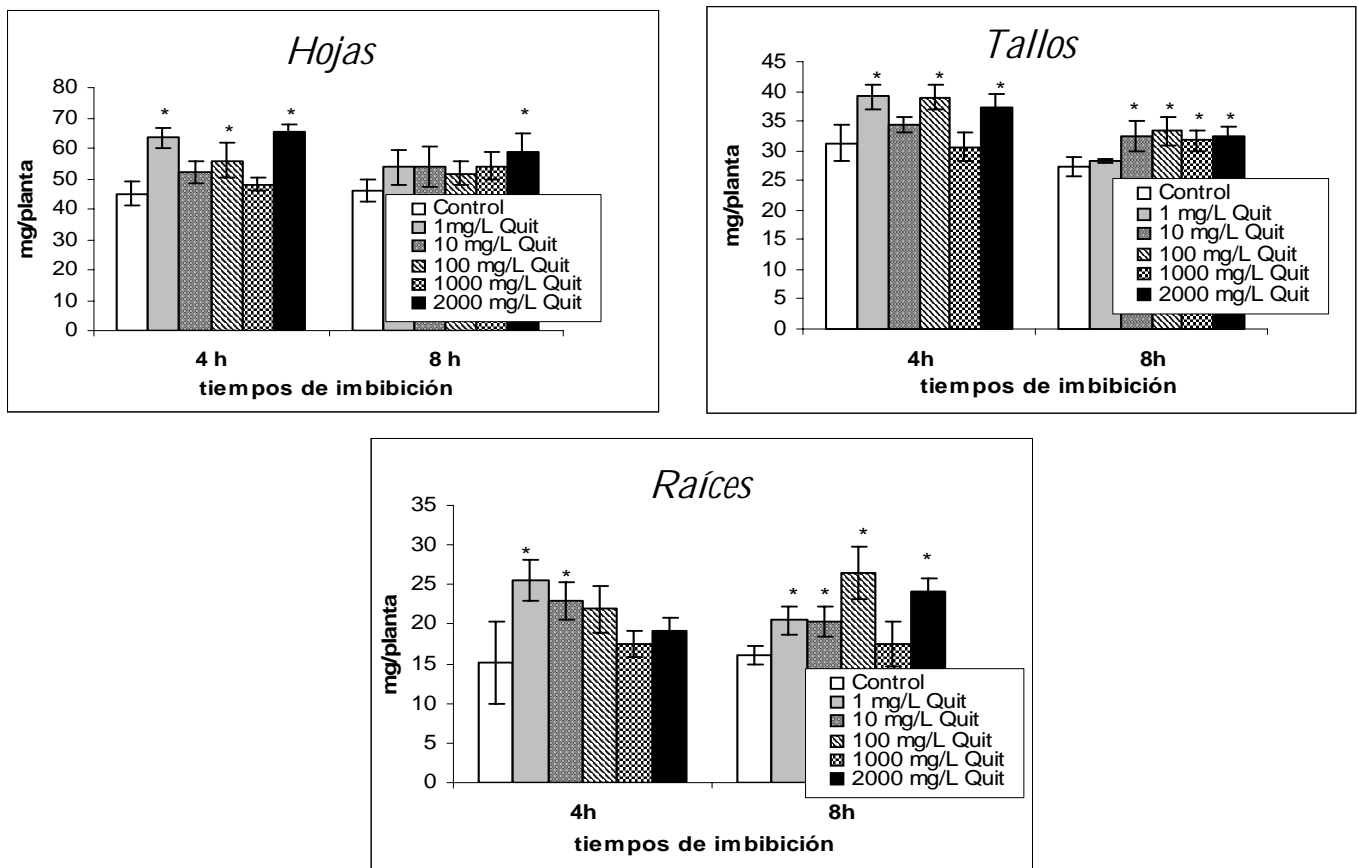


Figura 1. Influencia del tratamiento de las semillas durante cuatro y ocho horas con diferentes concentraciones de quitosana en la masa seca por órganos de plantas de tomate evaluadas 27 días después de la siembra. Las barras representan los intervalos de confianza ($p \leq 0.05$) y los asteriscos, las medias que difieren significativamente del tratamiento control tratado con agua

A partir de estos resultados, se pudiera plantear que, de forma general, el tratamiento de cuatro horas con 1 mg.L^{-1} de quitosana, aun cuando no estimuló de forma significativa la altura, el diámetro del tallo y la longitud de las raíces, sí estimuló la actividad fotosintética de las plantas y además activó el crecimiento de las raíces, ya que provocó una mayor acumulación de masa seca en todos los órganos de la planta.

Este resultado es de gran interés y debe ser confirmado posteriormente, ya que generalmente las concentraciones de quitosana que se utilizan en la literatura son más elevadas, tanto para estimular el crecimiento y el rendimiento como para proteger a las plantas del ataque de algunos patógenos. Un ejemplo de esto son las investigaciones realizadas (6) utilizando una formulación denominada comercialmente como Elexa (4 % de quitosana), que evaluaron diferentes concentraciones y tiempos de tratamiento a las semillas de mijo, para estimular la germinación y el vigor de las posturas, y encontraron los mejores resultados con seis horas de tratamiento y la dilución de 1:19 del producto, lo cual equivale a una concentración de 2100 mg.L^{-1} . Se debe tener en cuenta que en este trabajo no se especifican las características de la quitosana que contiene la formulación, aspecto que

está muy relacionado con la actividad biológica de estos compuestos.

En condiciones *in vitro*, se ha informado que la presencia de 1.75 % de Quitogel (formulación a base de quitosana) en el medio de cultivo fue la concentración óptima para estimular el crecimiento de plántulas de vid (24), ya que incrementó la biomasa de las raíces y de la parte aérea. Otro estudio reciente en orquídeas demostró que la inclusión de 15 mg.L^{-1} de quitosana de 1 kDa de masa molecular en el medio de cultivo, resultó el tratamiento más efectivo para estimular el crecimiento de explantes de meristemos (25). Además, se demostró que la efectividad de la quitosana disminuía a medida que la masa molar aumentaba de 1 kDa a 100 kDa.

La quitosana mezclada con suelo al 1 % también ha sido utilizada exitosamente, para promover el crecimiento de posturas de varias plantas ornamentales (5).

En cuanto a las quitosanas obtenidas en el INCA, se puede decir que la que tiene un grado de desacetilación de 63.5 % y una masa molecular de 1.4×10^5 ha sido utilizada satisfactoriamente, para estimular la actividad de algunas enzimas relacionadas con la defensa de plantas de arroz (21) y para la protección contra *Pyricularia grisea* (20) y *S. oryzae* Sawada (22); sin embargo, no hay antecedentes acerca del efecto de esta quitosana en el creci-

miento de las plantas. En cuanto a la quitosana utilizada en este trabajo, la cual posee similar masa molecular pero un grado de desacetilación de un 88 %, se debe señalar que, hasta la fecha, solamente existe un informe donde se realizó el tratamiento con quitosana, durante 24 horas, a semillas de arroz var. J-104 y se encontró que las concentraciones de 10 y 100 mg.L⁻¹ fueron las más efectivas en la estimulación de la emergencia y el crecimiento de las plantas (26).

Los anteriores resultados, conjuntamente con los expuestos en este trabajo, revelan las potencialidades de este polímero de quitosana como estimulador del crecimiento de las plantas; no obstante, se hace necesario continuar profundizando en estos estudios, para lograr la concentración y la forma de aplicación más efectiva.

REFERENCIAS

- Moya, C.; Alvarez, M. y Caballero, A. Evaluación de nuevas líneas de tomate (*Lycopersicon esculentum* M) considerando los criterios de productores en la metodología utilizada. *Cultivos Tropicales*, 2000, vol. 21, no. 3, p. 75-79.
- Acosta, G.F. Tomate. INIFAP. [consultado sep/07]. Disponible en: <<http://sites.securemgr.com/folder11341/index.cfm?id451267&fuseaction=browse&pageid=72>>.
- Muzarelli, R. A. A. Oxford: Chitin. Pergamon Press, 1977.
- Bittelli, M.; Flury, M.; Campbell, G. S. y Nichols, E. J. Reduction of transpiration through foliar application of chitosan. *Agricultural and Forest Meteorology*, 2001, vol. 107, p. 167-175.
- 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. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, 2004, vol. 73, no. 1, p. 66-68.
- Sharathchandra, R. G.; Raj, N.; Shetty, N. P.; Amruthesh, K. N. y Shekar Shetty, H. A chitosan formulation Elexa induces downy mildew disease resistance and growth promotion in pearl millet. *Crop Protection*, 2004, vol. 23, p. 881-888.
- Utsunomiya, N.; Kinai, H.; Matusui, Y. y Takebayashi, T. The effects of chitosan oligosaccharide soil conditioner and nitrogen fertilizer on the flowering and fruit growth of purple passion fruit (*Passiflora edulis* Sims var. *edulis*). *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, 1998, vol. 67, p. 567-571.
- Dong, H. Effects of chitosan coating on quality and shelf life of peeled litchi fruit. *Journal of Food Engineering*, 2004, vol. 64, p. 355-358.
- Tripathi, P. y Dubey, N. K. Exploitation of natural products as an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 2004, vol. 32, p. 235-245.
- Hana, C.; Zhao, Y.; Leonard, S. W. y Traber, M. G. Edible coatings to improve storability and enhance nutritional value of fresh and frozen strawberries (*Fragaria x ananassa*) and raspberries (*Rubus ideaus*). *Postharvest Biology and Technology*, 2004, vol. 33, p. 67-78.
- Devlieghere, F.; Vermeulen, A. y Debevere, J. Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. *Food Microbiology*, 2004, vol. 21, p. 703-714.
- Ben-Shalon, 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*, 2003, vol. 22, p. 285-290.
- El-Mougy, N. S.; El-Gamal, N. G.; Fotouh, Y. O. y Abd-El-Kareem, F. Evaluation of different application methods of chitin and chitosan for controlling tomato root rot disease under greenhouse and field conditions. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 2006, vol. 2, no. 5, p. 190-195.
- Zheng, L. Y. y Zhu, J. F. Study on antimicrobial activity of chitosan with different molecular weights. *Carbohydrate Polymers*, 2003, vol. 54, p. 527-530.
- Prapagdee, B.; Kotchada, K.; Kumsopa, A. y Visarathanonth, N. The role of chitosan in protection of soybean from sudden death syndrome caused by *Fusarium solani* f. sp. *glycines*. *Bioresource Technology*, 2007, vol. 98, no. 7, p. 1353-1358.
- Liu, H.; Du, Y.; Wang, X. y Sun, L. Chitosan kills bacteria through cell membrane damage. *International Journal of Food Microbiology*, 2004, vol. 95, p. 147-155.
- Gerasimenko, D. V.; Avdienko, I. D.; Bannikova, G. E.; Zueva, O. Y. y Varlamov, V. P. Antibacterial effects of water-soluble low-molecular-weight chitosans on different microorganisms. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2004, vol. 40, no. 3, p. 253-257.
- Agrawal, G. K.; Rakwal, R.; Tamogami, S.; Yonekura, M.; Kubo, A. y Saji, H. Chitosan activates defense/stress response(s) in the leaves of *Oryza sativa* seedlings. *Plant Physiol. Biochem.*, 2002, vol. 40, p. 1061-1069.
- Ramírez, M. A.; Cabrera, G.; Gutiérrez, A. y Rodríguez, T. Metodología para la obtención de quitosana a partir de quitina de langosta. *Cultivos Tropicales*, 2000, vol. 21, no. 1, p. 81-84.
- Rodríguez, A. T.; Ramírez, M. A.; Nápoles, M. C.; Márquez, R. y Cárdenas, R. M. Antifungal activity of chitosan and one of its hidrolisates on *Pyricularia grisea*, Sacc fungus. *Cultivos Tropicales*, 2003, vol. 24, no. 2, p. 85-88.
- Rodríguez, A. T.; Ramírez, M. A.; Falcón, A.; Guridi, F. y Cristo, E. Estimulación de algunas enzimas relacionadas con la defensa en plantas de arroz *Oryza sativa*, L. obtenidas de semillas tratadas con quitosana. *Cultivos Tropicales*, 2004, vol. 25, no. 3, p. 111-115.
- Cruz, A.; Rivero, D.; Martínez, B.; Ramírez, M. A. y Maqueira, L. Efecto de la quitosana sobre el crecimiento y desarrollo *in vitro* del hongo *S. oryzae* Sawada y la protección de semillas de arroz (*Oryza sativa* Lin). *Cultivos Tropicales*, 2005, vol. 26, no. 3, p. 83-86.
- Falcón, A. B.; Nuñez, M.; Reinaldo, I. M. y Cabrera, J. C. Desarrollo de activadores de las plantas de amplio espectro. [Informe final de investigación]; INCA, 2005.
- Ait Barka, E.; Eullaffroy, P.; Clément, C. y Vernet, G. Chitosan improves development and protects *Vitis vinifera* L. against *Botrytis cinerea*. *Plant Cell Rep.*, 2004, vol. 22, p. 608-614.
- Nge, K. L.; New, N.; Chandkrachang, S. y Stevens, W. F. Chitosan as a growth stimulator in orchid tissue culture. *Plant Science*, 2006, vol. 170, p. 1185-1190.
- Martínez, L.; Núñez, M. y Dell'Amico, J. Efecto de la quitosana en la emergencia y el crecimiento de plántulas de arroz. En: Memorias del Congreso Científico del INCA, (14:2004 nov. 9-12:La Habana), 2004.

Recibido: 4 de octubre de 2007

Aceptado: 24 de octubre de 2007