



CIENCIAS AGRARIAS Y DE LA PESCA

Artículo original de investigación

Avances en el conocimiento de las potencialidades del quitosano en el desarrollo de soya inoculada con *Bradyrhizobium* sp.

Daimy Costales Menéndez ^{1*} <https://orcid.org/0000-0003-0121-6287>
Alejandro Bernardo Falcón Rodríguez ¹ <https://orcid.org/0000-0002-6499-1902>
María Caridad Nápoles García ¹ <https://orcid.org/0000-0003-1413-1717>
Lisbel Travieso Hernández ¹ <https://orcid.org/0000-0002-0312-6915>
Idania Scull Rodríguez ² <https://orcid.org/0000-0002-9516-7182>
José Zenón Capdevila Valera ³ <https://orcid.org/0000-0002-0623-2107>

¹ Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. Mayabeque, Cuba

² Instituto de Ciencia Animal. Mayabeque, Cuba

³ Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria. Mayabeque, Cuba

*Autor para la correspondencia: daimy@inca.edu.cu

RESUMEN

Introducción: Investigaciones previas en los cultivares de soya Don Mario e INCASOY-27 demostraron una mejora en la nodulación y el crecimiento de las plantas con la adición de compuestos de quitosano. Pero no se conoce la concentración y forma de aplicación del quitosano que mejor beneficia el desarrollo de estos cultivares en condiciones de inoculación de *Bradyrhizobium* sp. **Objetivo:** Determinar la influencia de diferentes formas de aplicación y concentraciones de quitosacáridos en la germinación, la nodulación, la nutrición, la bioquímica, el crecimiento y el rendimiento de plantas inoculadas con Signum® o Azofert®-S. **Métodos:** Se estudió la adición del quitosano con el inoculante bacteriano a la semilla previo a la siembra y su aspersión foliar en concentraciones dentro del rango desde 1 hasta 2000 mg L⁻¹ en la fisio-bioquímica, el crecimiento y el rendimiento de plantas de soya en distintas condiciones experimentales. **Resultados:** Se demostró que las concentraciones de los quitosacáridos estudiadas son compatibles con los inoculantes en la supervivencia bacteriana, la germinación y calidad de las semillas postratadas con los bioestimulantes en condiciones in vitro. La aspersión foliar del quitosano estimuló la mayoría de los indicadores fisiológicos en ambos cultivares en la etapa V4 en condiciones controladas y el crecimiento del cv INCASOY-27 en invernadero y campo, desde 100 mg L⁻¹ a 1000 mg L⁻¹, en comparación con la no estimulación del crecimiento en tratamiento a la semilla. Ambas formas de aplicación del quitosano beneficiaron el rendimiento de granos en el cultivo, fundamentalmente, 100 mg L⁻¹ y 500 mg L⁻¹ a la semilla y 500 mg L⁻¹ y 1000 mg L⁻¹ con la aspersión foliar. **Conclusiones:** Los mayores incrementos (60 %) de rendimiento se obtuvieron con 100 mg L⁻¹ (dosis de 0,1 g ha⁻¹) del polímero adicionado en combinación con el inoculante a las semillas, por lo que es el tratamiento más eficaz y factible.

Palabras clave: bioestimulantes; crecimiento; fisiología vegetal; Glycine max; nutrientes

Editor

Lisset González Navarro
Academia de Ciencias de Cuba.
La Habana, Cuba

Traductor

Darwin A. Arduengo García
Academia de Ciencias de Cuba.
La Habana, Cuba

Advances in the knowledge of the potential of chitosan in the development of soybean inoculated with *Bradyrhizobium* sp.

ABSTRACT

Introduction: Previous research on the Don Mario and INCASOY-27 cultivars demonstrated an improvement in the nodulation and growth of soybean plants with the addition of chitosan compounds. However, it is not known, the best chitosan concentration and application form that enhance the development of these *Bradyrhizobium* sp. inoculated cultivars. **Objective:** To determine the influence of different chitosaccharides application forms and concentrations on germination, nodulation, nutrition, biochemistry, growth and yields of Signum® or Azofert®-S inoculated plants. **Methods:** They were studied the addition of chitosan with the bacterial inoculant to the seed prior to sowing and the foliar spray of inoculated plants in crop physio-biochemistry, growth and yield under different experimental conditions. **Results:** Chitosaccharide concentrations studied were compatible with inoculants in bacteria surviving, germination and quality of biostimulant posttreated seeds on *in vitro* conditions. Chitosan foliar spray stimulates most of physiological markers in both cultivars at V4 stage, under controlled conditions and the cv INCASOY-27 growth in greenhouse and field, from 100 to 1000 mg L⁻¹, compared to no growth stimulation with seed treatment. In turn, both chitosan application forms benefitted crop grain yield, mainly, with 100 and 500 mg L⁻¹ to the seed and 500 and 1000 mg L⁻¹ by foliar spray. **Conclusions:** They were obtained the biggest yield increments (60 %) with 100 mg L⁻¹ (dose of 0,1 g ha⁻¹) of the polymer combined with the inoculant to the seeds, consequently, being the most effective and feasible treatment.

Keywords: biostimulants; growth; *Glycine max*; vegetal physiology; nutrients

INTRODUCCIÓN

La soya en Cuba se cultiva de forma convencional, en áreas productivas poco extendidas y constituye uno de los cultivos priorizados en la política nacional actual de extensión agraria, innovación local y gestión del conocimiento, para aumentar su presencia y productividad. El uso de bioestimulantes agrícolas constituye una alternativa promisoría para mejorar la absorción y el uso eficiente de los nutrientes, aumentar el rendimiento y la protección de los cultivos. ⁽¹⁾ La inoculación de semillas de soya con inoculantes comerciales a base de rizobios ofrece ventajas en la nodulación, la fijación biológica del nitrógeno, el crecimiento y el rendimiento de la oleaginosa. ⁽²⁾

El quitosano es un biopolímero lineal formado por monómeros de glucosamina y una menor cantidad de monómeros de N-acetil-glucosamina, unidos por enlaces β 1-4 y se obtiene por desacetilación parcial de la quitina presente en la pared celular de hongos, algas verdes, cutícula de los insectos y exoesqueleto de los crustáceos. ⁽³⁾ En la actualidad los quitosacáridos (polímeros y oligosacáridos de quitosano) son considerados bioestimulantes agrícolas por poseer propiedades biológicas atractivas para la agricultura como la mejora del crecimiento y los rendimientos de los cultivos tanto en condiciones normales como en estrés. ⁽³⁾ Además exhiben ac-

tividad antimicrobiana contra hongos, bacterias y oomycetes y estimulan una gran variedad de respuestas defensivas que conllevan al aumento de la resistencia basal en la planta, ⁽⁴⁻⁶⁾ por lo que es conveniente conocer el posible efecto inhibitorio de estos compuestos sobre los rizobios, para elegir concentraciones de quitosacáridos que sean compatibles con el género *Bradyrhizobium* y que permitan su sobrevivencia y la funcionalidad de su simbiosis con soya.

La mayor parte de la información que aparece en la literatura refiere un amplio rango de concentraciones del quitosano con efecto estimulante en las plantas, que varía desde concentraciones muy bajas (0,001 g L⁻¹) a muy altas (50 g L⁻¹) en dependencia del cultivo, las características físico-químicas del quitosacárido, la forma de aplicación y la acción biológica que cause. ⁽⁷⁾ Sin embargo, no existen investigaciones que definan la concentración y forma de aplicación del quitosano que mejor beneficia la fisiología y productividad de soya inoculada con *Bradyrhizobium* sp., ni tampoco la compatibilidad del polímero con rizobios, cuando se aplican de conjunto a la semilla en el momento de la siembra. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de diferentes concentraciones y formas de aplicación de compuestos de quitosano en el desarrollo de cultivares (cv) de soya en dife-

rentes condiciones experimentales y determinar la compatibilidad del quitosano con inoculantes a base de bradyrhizobios cuando se aplican de conjunto a la semilla.

MÉTODOS

Inoculantes

Los inoculantes Signum® (Rizobacter S.A.) y Azofert®-S (No. RCF 005/13; INCA), a base de las cepas *Bradyrhizobium japonicum* E109 y *Bradyrhizobium elkanii* ICA 8001, respectivamente, se aplicaron en dosis de 200 mL por cada 50 kg de semilla de soya. Ambas cepas se cultivaron en medio líquido manitol-extracto de levadura (YEM, por sus siglas en inglés) (Vincent, 1970) para la multiplicación celular y en el mismo medio agarizado (YMA) para la determinación del número de unidades formadoras de colonias (UFC mL⁻¹).

Preparación de los quitosacáridos

Las características distintivas de los quitosacáridos evaluados en esta investigación como la masa molecular (kDa) y el grado de acetilación (%) se realizaron por el grupo de Productos Bioactivos del INCA, mediante viscosimetría y potenciometría (tabla 1). Los polímeros se prepararon a partir de una solución madre (1 %) que fue disuelta en ácido acético (1 %) y agua, ajustada a pH = 5,6 con hidróxido de potasio (KOH, 2N) y la hidrólisis enzimática del polímero P1 con la enzima comercial papaína (Applichem), durante 20 h a 345 g y temperatura entre 46 °C y 50 °C que se detuvo. La hidrólisis se detuvo 15 min a 121 °C por autoclave, se obtuvo el quitosano parcialmente hidrolizado (QH).⁽⁸⁾

Material vegetal

Se emplearon semillas certificadas de los cv de soya Don Mario (DM 3810) de Rizobacter, S.A. Argentina e INCA-SOY-27 del INCA.⁽⁹⁾

Determinación de la compatibilidad de compuestos de quitosano con *Bradyrhizobium sp.* en el desarrollo de la bacteria

A semillas del cv DM 3810 contenidas en bolsas de polietileno (100 g semillas bolsa⁻¹) se les aplicó 2 sucesiones

indistintas de Signum® (300 µL) y concentraciones desde 10 mg L⁻¹ hasta 1000 mg L⁻¹ (300 µL) de quitosano comercial (P1), que se compararon con un control absoluto (CA) y otro inoculado (CI), en la viabilidad de *B. japonicum*.⁽¹⁰⁾ Las bolsas se almacenaron en condiciones de 12 h luz/oscuridad (26/22) °C de temperatura y entre (50-70) % de humedad relativa, durante (5, 30 y 60) días y en cada tiempo se determinó el número de viables (UFC mL⁻¹) en placas Petri, conteniendo medio YMA, a partir de diluciones decimales seriadas (1/10) v/v en tubos de ensayo con agua destilada estéril. Las placas fueron incubadas en estufa a 29,5 °C y entre los (6 y 10) días se realizó el conteo de colonias.⁽¹⁰⁾

En un segundo ensayo se evaluó la supervivencia de *B. elkanii* en semillas de soya cv INCASOY-27 contenidas en vasos de precipitado e inoculadas con una mezcla de Azofert®-S y quitosano comercial (P2), en el mismo rango de concentraciones que el ensayo anterior y transcurrida 1 h, los vasos se taparon con papel de aluminio y se almacenaron en condiciones de oscuridad a temperatura ambiente (25 ± 2) °C durante 10 d. A los (0, 3 y 10) días de almacenadas las semillas se les determinó la viabilidad bacteriana, a partir de diluciones decimales seriadas (1/10) v/v en tubos de ensayo con agua destilada estéril.⁽¹¹⁾

En ambos experimentos se realizó un diseño completamente aleatorizado y se determinó el logaritmo común (Log) a los valores exponenciales del número de viables antes de realizar el ANOVA simple. Las medias con diferencias significativas se compararon a través de la Prueba de mínima diferencia significativa (LSD) para p ≤ 0,05.

Efecto de quitosanos en la germinación de soya inoculada con *Bradyrhizobium sp.*

Las semillas tratadas con las sucesiones Signum®-quitosano (P1) referidas en el experimento anterior, se colocaron en bandejas conteniendo arena húmeda y estas, se incubaron en una cámara de crecimiento (16 h luz/8 h oscuridad y 25 °C de temperatura) hasta evaluarles la germinación (4 d) y supervivencia (8 d) de las semillas.⁽¹⁰⁾ En un ensayo in vitro se evaluó el efecto de la masa molecular de un quitosano de mediana masa molecular (Q1, P2) y otro quitosano de baja masa molecular (Q2, P3) en la germinación, mediante imbibición de

Tabla 1. Características distintivas de los quitosacáridos

Quitosano	Masa molecular (kDa)	Grado de acetilación (%)
P1-Polímero (SIGMA-Aldrich)	32	entre 15-25
P2-Polímero (PANVO Chemicals)	100	13,7
P3-Polímero	25,3	15
QH	-	10

semillas de soya del cv INCASOY-27. ⁽¹²⁾ Las semillas fueron desinfectadas y embebidas durante 1 h en agua (tratamiento control) y soluciones de quitosano a (10, 100 y 500) mg L⁻¹ y luego fueron colocadas en recipientes plásticos con solución nutritiva Hougland estéril y se cultivaron en cuarto de luces durante 10 d (fase R1). ⁽¹²⁾ Ambos experimentos se ejecutaron mediante un diseño completamente aleatorizado, los datos resultantes se analizaron con un ANOVA simple y las medias se compararon con la Prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

Efecto de la forma de aplicación y concentración de quitosano en la fisiología asociada al crecimiento de soya en condiciones controladas

Se realizó un experimento de soya cv Don Mario en un cuarto de luces para evaluar 3 metodologías de aplicación del polímero (P1) y su derivado parcialmente hidrolizado (QH), a las semillas conjuntamente con el inóculo de Signum® en el momento de la siembra (variante A), mediante aspersión foliar (1 mL planta⁻¹, 15 d posteriores a la siembra, variante B) y la combinación de ambas formas de aplicación (variante C). ⁽¹³⁾ Para ello, 100 g de semillas fueron tratadas con el inóculo bacteriano y las soluciones de quitosanos [0, 10, 100 y 500 (mg L⁻¹)], que se sembraron en macetas. Se emplearon 10 plantas de 35 d de tratadas por tratamiento (etapa V4-V5), para la evaluación de los indicadores de la nodulación del crecimiento [longitud del tallo y radical (cm), masa seca aérea y de raíces (g) por planta], además del contenido total de N (método de Kjeldah, %) y el porcentaje de proteínas totales (%) de la parte aérea seca. ⁽¹³⁾

En condiciones controladas se realizaron 2 experimentos en el cv INCASOY-27 inoculado con Azofert®-S, con el objetivo de seleccionar las mejores concentraciones de quitosano (P2) aplicadas en semillas conjuntamente con el Azofert®-S previo a la siembra y por aspersión foliar (1 mL planta⁻¹) en las etapas V2 (15-17) días y V3 (20-22) días, en concentraciones desde 1 mg L⁻¹ hasta 2000 mg L⁻¹ del polímero. Se utilizaron 2 tratamientos controles (CA y CI). ^(11,14) En ambos experimentos se emplearon 16 macetas por tratamiento (2 plantas maceta⁻¹) y las plantas se dejaron crecer hasta la etapa V4 (27 a 30) días de crecimiento vegetativo, que se realizaron los mismos indicadores de nodulación y crecimiento mencionados con anterioridad, así como la concentración de macronutrientes (g kg⁻¹) y micronutrientes (mg kg⁻¹) en nódulos y hojas, a partir de 3 grupos de plantas por tratamiento (10 plantas por grupo). ^(11,14)

En los experimentos se utilizó un diseño completamente aleatorizado, con análisis ANOVA factorial de forma de aplicación y concentración de quitosano (3 x 3 + control) en el primer experimento y ANOVA simple en los restantes. Las medias se compararon con la Prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

Efecto del quitosano en el comportamiento fisiobioquímico asociado al crecimiento de soya cv INCASOY-27 en condiciones de invernadero

El estudio se realizó en condiciones de invernadero para evaluar la interacción de los factores de quitosano (P2), formas de aplicación (F1- a las semillas y F2- aspersión foliar) y las concentraciones del polímero (C1- 10 mg L⁻¹, C2- 100 mg L⁻¹, C3- 500 mg L⁻¹ y C4-1000 mg L⁻¹), que se compararon con el control inoculado. ⁽¹⁵⁾ Las plantas fueron cultivadas en igual número (de plantas y macetas) que en los experimentos realizados en condiciones controladas (ver epígrafe anterior). En la etapa V4 a 20 plantas por tratamiento (30 d), se les evaluó los mismos indicadores fisiológicos de los experimentos anteriores además del contenido total de N, P y K por planta (mg planta⁻¹) y los indicadores bioquímicos en diferentes órganos vegetales: actividad enzimática nitrato reductasa (NR, $\mu\text{mol NO}_2\text{-g}^{-1}\text{h}^{-1}$), concentración de ureidos totales ($\mu\text{mol g}^{-1}$ masa seca), proteínas solubles totales (mg g⁻¹), flavonoides (mg quercetina g⁻¹ masa seca) y fenoles totales (mg ácido gálico g⁻¹ masa seca) a las 12 plantas restantes. En el experimento se utilizó un diseño completamente aleatorizado, con análisis ANOVA factorial (2 x 4= 8 tratamientos + 1 CI). ⁽¹⁵⁾

Efecto de la forma de aplicación y concentración de quitosano en el crecimiento y rendimiento de soya cv INCASOY-27 en condiciones de campo

En campo se ejecutaron 2 experimentos en época lluviosa (mayo-agosto) correspondientes a los años 2015 (15/abril-25/agosto) y 2016 (3/abril-25/agosto) mediante un diseño de Bloques al Azar con 3 réplicas, en los cuales se evaluaron los mismos tratamientos de quitosano (P2-2 formas x 4 concentraciones +CI) del experimento en invernadero (epígrafe anterior). ⁽¹⁵⁾ Los promedios diarios mensuales de temperatura y humedad relativa del aire y precipitaciones totales fueron muy favorables para todo el ciclo de desarrollo de la soya en los 2 períodos. El quitosano se aplicó a las semillas conjuntamente con el inóculo de Azofert®-S previo a la siembra (F1), mientras que las aspersiones foliares (F2) se realizaron en la etapa V2 de crecimiento (20 d postsiembra) y la segunda se realizó a inicios de la floración [etapa R1, (37-40) días postsiembra].

Un primer muestreo se realizó a los 35 d postsiembra antes de ejecutarse la segunda aspersión foliar del quitosano, para la evaluación de los indicadores fisiológicos asociados al crecimiento descritos en los experimentos anteriores. El muestreo de cosecha se realizó en la etapa R8: 2015 (102 d postsiembra) y 2016 (114 d postsiembra) para determinar los componentes del rendimiento: número de legumbres planta⁻¹, número de granos legumbre⁻¹ y la masa de los 100 granos (g). El rendimiento del grano se estimó para 1 m² en cada parcela

por tratamiento según la expresión: $[\text{No. legumbres m}^{-2} * \text{No. granos legumbre}^{-1} * \text{masa grano (g)}]$ y a partir del muestreo de cosecha realizado a 13 % de humedad de los granos. Se realizó un análisis de varianza factorial para conocer la interacción entre los factores de quitosano (F x C), en cada indicador evaluado y la Prueba de Duncan ($p \leq 0,05$).⁽¹⁵⁾

A partir de los rendimientos promedios de la soya obtenidos en los 2 años en campo se realizó una valoración económica con los mejores tratamientos de quitosano aplicados a la semilla (100 mg L^{-1}) y por aspersión foliar (500 mg L^{-1}), en comparación con el Azofert®-S. Para ello, se tuvieron en cuenta, los gastos de aplicación del inoculante y de un formulado a base de polímeros de quitosano (Quitomax®, No. RFC No. 010/17), que comercializa el INCA), en cuanto a mano de obra, combustible consumido para el laboreo del suelo y gasto de agua de riego, precios de venta de semillas y de ambos bioestimulantes en el mercado nacional (VP) en una hectárea del cultivo (tabla 2). Con los costos de producción se calcularon las ganancias totales (GT), la ganancia neta (GN) y la relación beneficio-costado (B:C), mediante las fórmulas siguientes:

Ganancia total (GT): rendimiento x VP (CUP ha^{-1})

Ganancia neta (GN): GT-CP (CUP ha^{-1})

Beneficio/costado (B/C): $(\text{GN/CP}) \times 100 \%$

Análisis estadísticos

En el programa STATGRAPHICS *Plus* (versión 5, 2011) se verificaron las premisas del ANOVA antes de realizar los distintos análisis de varianza que se especifican en cada experimento; así como la prueba de comparación de medias ($p \leq 0,05$).

RESULTADOS

Determinación de la compatibilidad de compuestos de quitosano con *Bradyrhizobium sp.* en el desarrollo de la bacteria

La viabilidad de *Bradyrhizobium sp.* en semillas almacenadas de soya cv Don Mario y cv INCASOY-27 no se afectó con la aplicación combinada de los inoculantes y el rango de concentraciones de los quitosanos, en todo el período evaluado, respecto al control solamente inoculado porque no ejercieron efecto antibacteriano.^(10,11) El número de viables de *B. japonicum* en placas Petri se favoreció con las concentraciones por encima de 100 mg L^{-1} de P1⁽¹⁰⁾ y de *B. elkanii* con la concentración de 500 mg L^{-1} de P2.⁽¹¹⁾ Este efecto positivo con las concentraciones más altas de los quitosacáridos en la supervivencia de *Bradyrhizobium sp.*, puede deberse a sus propiedades de mejor viscosidad y densidad de carga protónica en condiciones ácidas que permiten formar una película sobre la cubierta seminal y facilitar entonces, la adherencia de la bacteria a las

semillas. En ambos casos, el período que transcurre desde el momento en que se inoculan las semillas con los inoculantes y su combinación con los quitosanos hasta el momento en que se efectúa la siembra de la soya, debe ser menor de 3 d para el inoculante Azofert®-S y 30 d con Signum®. Así se evitaría la disminución de la concentración de los rizobios sobre las semillas, lo cual es indispensable para asegurar una abundante nodulación y posterior fijación del N₂. Los resultados de estos ensayos informan, por primera vez, la compatibilidad de inoculantes a base de bradyrizobios y polímeros de quitosano en la supervivencia bacteriana en semillas de soya.

Efecto de quitosanos en la germinación de soya inoculada con *Bradyrhizobium sp.*

La sucesión de quitosano en concentraciones entre 250 mg L^{-1} y 1000 mg L^{-1} antes del inoculante Signum® en semillas del cv Don Mario resultó más efectiva en el proceso germinativo de las semillas, así como la nodulación y calidad de las plántulas crecidas a partir de semillas de hasta 30 d de almacenadas.⁽¹⁰⁾ Los quitosanos de diferentes masas moleculares, favorecieron la germinación y el crecimiento *in vitro*, en dependencia de la concentración de los quitosacáridos, cuando se embebieron las semillas del cv INCASOY-27 previo a la siembra.⁽¹²⁾ Ambos experimentos demuestran que los distintos tratamientos a las semillas con los diferentes quitosanos, favorecen la germinación, la supervivencia bacteriana y el crecimiento inicial de las plántulas en comparación con la sola inoculación, en dependencia de la concentración del quitosano.

Efecto de la forma de aplicación y concentración de quitosano en la fisiología asociada al crecimiento de soya en condiciones controladas

La diferencia de las masas moleculares de los quitosanos no influyó en el crecimiento del cv Don Mario, pero sí influyó la concentración y forma de aplicación de los quitosacáridos cuando se combinaron con el inoculante Signum®. La aspersión foliar fue la forma de aplicación que más se destacó en los indicadores morfoagronómicos, seguido del tratamiento a las semillas y, por último, la combinación de ambas formas de aplicación de los quitosanos.⁽¹³⁾ En el cv INCASOY-27 el rango de concentraciones de quitosano aplicado tanto a las semillas como por aspersión foliar no modificó la respuesta de nodulación estimulada con la sola inoculación con Azofert®-S, la cual aumentó el número y la masa seca de los nódulos en las raíces de las plantas en comparación con las plantas no inoculadas, en la etapa V4 de crecimiento.^(11,14) Ambas formas de aplicación del quitosano estimularon el contenido de los macronutrientes (N, P, K, Ca y Mg), en dependencia

Tabla 2. Gastos de aplicación del Quitomax® con precio nacional, aplicado a semillas y por aspersión foliar en una hectárea de soya

Quitomax® (4 g L ⁻¹)	Semillas (0,1 g ha ⁻¹)	Aspersión foliar (200 g ha ⁻¹)
	-----	0,5 g L ⁻¹ * 200 L * 2 veces
Volumen de aplicación	0,025 L	50 L
Precio 1000 CUP L ⁻¹	40 CUP	50000 CUP

de la concentración empleada del polímero y del órgano de la planta. ^(11,14) En ambos experimentos las concentraciones más efectivas en estimular el crecimiento de las plantas fueron las $\geq 100 \text{ mg L}^{-1}$. Igualmente, los aumentos del contenido de Ca y las reducciones de Mg en nódulos y hojas de las plantas ocurrieron en correspondencia con el aumento de la concentración de quitosano. Estos resultados permitieron seleccionar del rango de concentraciones del polímero estudiadas por cada forma de aplicación y determinar su efecto en el comportamiento de indicadores fisio-bioquímicos asociados al crecimiento de las plantas en condiciones de invernadero y el rendimiento en condiciones de campo.

Efecto del quitosano en el comportamiento fisiológico-bioquímico asociado al crecimiento de soya cv INCASOY-27 en condiciones de invernadero

Las concentraciones seleccionadas (10, 100, 500 y 1000) mg L⁻¹ de quitosano (P2), en ambas formas de aplicación, coincidieron en acumular los mayores contenidos totales de cada macronutriente (N, P y K) en la etapa V4 de las plantas. Se corroboró el efecto bioestimulador de la aspersión foliar de 100 mg L⁻¹ a 1000 mg L⁻¹ del polímero en los indicadores del crecimiento: longitud del tallo, biomasa seca y área foliar (tabla 3). ⁽¹⁵⁾

La aspersión foliar de quitosano estimuló el contenido relativo de clorofilas totales de las plantas además de aumentar la actividad enzimática nitrato reductasa (NR) y el contenido de ureidos en nódulos y hojas con 500 mg L⁻¹ y 1000 mg L⁻¹ del quitosano. ⁽¹⁵⁾ Estos resultados indican que existen efectos diferenciados en la estimulación biológica entre ambas formas de aplicación del quitosano. La estimulación del crecimiento de las plantas se debe mayormente a la aspersión foliar y menos al tratamiento de semillas. Es probable que esta última forma de aplicación del quitosano favorezca otros mecanismos y procesos fisiológicos del desarrollo del cultivo, en los que se debe profundizar en investigaciones futuras.

La aspersión foliar del polímero aumenta la absorción de macronutrientes desde el suelo en beneficio de varios procesos metabólicos y la reducción de NO₃⁻ por la vía NR, lo que pudo contribuir al mayor contenido de N encontrado y a la

mayor síntesis de clorofilas en la planta y por ende, favorecer la actividad fotosintética. También la aplicación de quitosano a las semillas (desde 100 mg L⁻¹ hasta 1000 mg L⁻¹) aumentó el contenido de ureidos en raíces y de proteínas en hojas, lo que pudo estar relacionado con la mayor nodulación encontrada con esta forma. A su vez, también aumentó la actividad NR, pero en menor cuantía en comparación con la aspersión foliar. ⁽¹⁵⁾ Este resultado confirma lo obtenido previamente en condiciones *in vitro* en este cultivar inoculado con *B. elkanii*, donde se demostró aumentos de la concentración de proteínas en raíces y hojas, pero con la adición de quitosacáridos en el medio de cultivo vegetal. ⁽¹⁶⁾

Las plantas inoculadas con *B. elkanii* superaron a las plantas no inoculadas en el contenido total de proteínas en raíces y de carbohidratos y flavonoides en ambos órganos, en dependencia de la etapa evaluada. Con la aplicación de quitosano a las semillas se obtuvieron los mayores contenidos de proteínas y flavonoides en hojas y de carbohidratos y fenoles en raíces, mientras que la aspersión foliar estimuló el contenido de flavonoides en raíces y de carbohidratos y fenoles en hojas. Estos indicadores bioquímicos aumentaron con la ontogenia de la soya y variaron con la concentración y la forma de aplicación del quitosano además del órgano y de la etapa fenológica de las plantas.

Efecto del quitosano en el rendimiento de soya cv INCASOY-27 en condiciones de campo

En los experimentos realizados en los 2 años (2015 y 2016) hubo una estimulación de los indicadores de la nodulación en etapa de prefloración (R1) con el quitosano, aplicado tanto a las semillas como por aspersión foliar, que dependió de la concentración del polímero (P2), comparado a la sola inoculación con Azofert®-S. ⁽¹⁵⁾ Ambas formas de aplicación favorecieron el crecimiento, en dependencia de la concentración: 500 mg L⁻¹ a las semillas y desde 100 mg L⁻¹ a 1000 mg L⁻¹ por aspersión foliar, lo que demostró que una sola aplicación foliar del polímero en etapa V2 es suficiente y efectiva para aumentar el crecimiento, respecto a la sola inoculación.

La estimulación de estos indicadores puede deberse a los altos contenidos de macronutrientes, fundamentalmente del N

Tabla 3. Efecto de las concentraciones (C1-10 mg L⁻¹, C2-100 mg L⁻¹, C3-500 mg L⁻¹ y C4-1000 mg L⁻¹) de quitosano aplicadas a las semillas (F1) y por aspersión foliar (F2) en diferentes indicadores del crecimiento de soya cv INCASOY-27 inoculado con Azofert®-S, en la etapa de crecimiento V4 y en condiciones de invernadero

Tratamientos	No. hojas	D. tallo (mm)	Long. tallo (cm)	Long. radical (cm)	Masa seca aérea (g)	Masa seca radical (g)	Área foliar (cm ²)
CI	4,0	2,56	37,60 b	37,62 b	0,84 d	0,244 b	616,25 c
F1C1	4,0	2,78	42,42 b	38,47 ab	0,98 c	0,247 ab	625,25 c
F1C2	4,1	2,90	41,88 b	39,47 ab	1,00 c	0,263 ab	618,25 c
F1C3	4,0	2,81	41,18 b	41,49 ab	1,00 c	0,292 ab	627,00 bc
F1C4	4,2	2,92	38,77 b	40,62 ab	1,01 c	0,290 ab	659,75 bc
F2C1	4,1	2,87	38,88 b	41,02 ab	1,03 bc	0,304 ab	685,50 bc
F2C2	4,1	2,80	41,72 b	39,12 ab	1,11 abc	0,260 ab	679,25 bc
F2C3	4,2	2,90	52,03 a	44,27 a	1,25 a	0,342 a	815,00 a
F2C4	4,2	2,91	53,18 a	43,33 a	1,18 ab	0,343 a	706,00 b
ES x	0,10 (ns)	0,04 (ns)	1,23	1,43	0,03	0,022	17,0

Medias con letras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente, según la prueba de rangos múltiples de Tukey ($p \leq 0,05$). Es x: error estándar de la media del experimento (n = 2)

absorbido desde el suelo y del contenido de clorofilas totales, en beneficio de varios procesos metabólicos y a la reducción de NO₃⁻ por aumento de la actividad NR causada por la aspersión foliar. A su vez, esta estimulación del crecimiento puede ser resultado de una mayor actividad fotosintética, como ha sido demostrada previamente en este cultivo. ⁽¹⁷⁾ Recientemente se ha informado, además, que la aplicación foliar de quitosano aumenta el contenido de óxido nítrico, que también favorece el cierre parcial de los estomas. ⁽¹⁸⁾ La producción de esta señal, esencial en la regulación del metabolismo del carbono y nitrógeno, ocurre por acción de la enzima NO₂⁻ reductasa y es regulada por la actividad NR, ⁽¹⁹⁾ por lo que la estimulación de esta última por quitosano indica el aumento de este gas y de su acción benéfica en el crecimiento de la planta. ^(20,21)

El rendimiento de la soya se estimuló con ambas formas de aplicación del quitosano respecto al control inoculado, en dependencia de la concentración y del año (tabla 4). La estimulación se debió a que el polímero benefició el número de legumbres y la masa de los granos por planta, lo que coincide con trabajos previos que informan aumentos del rendimiento en soya, pero con la aspersión foliar de 1000 mg L⁻¹ de quitosano. ^(22,23)

La inoculación de las semillas con Azofert®-S causó rendimientos estimados del grano de 3,83 t ha⁻¹ y 4,43 t ha⁻¹, mientras que los mayores incrementos desde 31 % hasta 60 %, se lograron con la aplicación a semillas de F1C1, F1C2 y F1C3, en las 2 repeticiones y con la aspersión foliar de F2C3 y F2C4 con

aumentos de 45 % a 57 % en el 2015 y de 32 % a 45 % en el 2016. Como aspecto interesante a destacar es que el tratamiento F1C2 alcanzó los mayores incrementos de productividad del grano, en relación a las plantas controles en ambos años. ⁽¹⁵⁾

La aplicación de 100 mg L⁻¹ (dosis de 0,1 g ha⁻¹) del polímero a las semillas resultó el tratamiento más eficaz y factible en ambos años, con aumentos de hasta 60 % del rendimiento estimado del cultivo. Este resultado fue reproducible en ambos años, aunque los máximos del rendimiento estimados fueron diferentes, lo que podría deberse a la influencia de las variables meteorológicas promedio en cada año, ya que ambas repeticiones se ejecutaron en los mismos meses del período lluvioso y con la misma densidad de siembra de las plantas. ⁽¹⁵⁾ Sin embargo, la combinación de ambas formas de aplicación; así como la segunda aspersión foliar del polímero realizada en la etapa R2, no mejoraron el rendimiento del cultivo ejecutado en época no lluviosa, respecto a las plantas controles. ⁽²⁴⁾

Estos resultados ya aplicados a escala productiva en el INCA y productores regionales demostraron como la fecha de siembra, las condiciones edafoclimáticas, además de la dosis, el órgano de la planta que percibe al quitosano y el momento fenológico en que se realiza la segunda aspersión foliar del polímero, influyen en el desarrollo y la productividad del cultivar.

El análisis económico mostró que ambas formas de aplicación de Quitomax® en el cultivo aumenta los costos de producción (CP), con respecto a la sola inoculación con Azofer-

Tabla 4. Efecto de diferentes concentraciones (C1-10 mg L⁻¹, C2-100 mg L⁻¹, C3- 500 mg L⁻¹ y C4-1000 mg L⁻¹) de quitosano aplicadas a las semillas (F1) y por aspersión foliar (F2) en los componentes del rendimiento de soja cv INCASOY-27 inoculado con Azofert®-S, en la etapa de reproductiva R1 y en condiciones de campo durante el 2015 y 2016

Tratamientos	2015			2016		
	No. leg. planta ⁻¹	No. granos leg. ⁻¹	Masa 100 granos (g)	No. leg. planta ⁻¹	No. granos leg. ⁻¹	Masa 100 granos (g)
CI	82,63 b	2,44 c	14,00 c	84,54 d	2,45 b	15,78 b
F1C1	99,16 a	2,47 bc	15,09 b	105,89 bc	2,57 a	15,97 ab
F1C2	109,32 a	2,55 abc	16,24 a	128,83 a	2,52 ab	16,15 ab
F1C3	101,48 a	2,62 a	16,17 a	116,50 ab	2,55 ab	16,04 ab
F1C4	80,87 b	2,60 ab	16,04 ab	100,83 c	2,55 ab	16,01 ab
F2C1	78,95 b	2,51 abc	16,04 ab	98,84 c	2,50 ab	16,02 ab
F2C2	87,96 b	2,51 abc	15,35 ab	95,19 cd	2,54 ab	16,54 a
F2C3	105,67 a	2,58 ab	16,26 a	108,29 bc	2,52 ab	15,82 b
F2C4	99,76 a	2,57 ab	16,03 ab	117,80 ab	2,51 ab	16,06 ab
Es _x	2,31	0,03	0,26	4,16	0,03	0,17

Las medias con letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre los tratamientos para $p \leq 0,05$, según la prueba de Duncan. Es_x: Error estándar de la media del experimento ($n = 3$).

t®-S. La aspersión foliar genera un mayor gasto del producto (6 veces) porque se aplica en 2 momentos fenológicos de la soja y en mayores volúmenes que el tratamiento a las semillas previo a la siembra (tabla 5).

A pesar de los mayores gastos con las aplicaciones de quitosano el aumento de los rendimientos con ambas formas de aplicación permitió obtener ganancias totales (GT), pero con un mayor beneficio económico con el tratamiento a la semilla que con la aspersión foliar, respecto al Azofert®-S solo, con incrementos del 60 %. Con respecto al tratamiento control, la aplicación conjunta de Azofert®-S y quitosano sobre semillas previo a la siembra causó incrementos por ventas de 150 000 CUP ha⁻¹, lo cual reporta una considerable ganancia para los productores, con una relación de beneficio/costo de 47,02 para rendimientos de 6,55 t ha⁻¹ asociado al paquete tecnológico del cultivo. A pesar de que con la aspersión foliar el beneficio/costo es menor que la sola inoculación de las semillas controles, se obtienen ganancias de 35 237 CUP ha⁻¹ (tabla 5). Por tanto, esta metodología de aplicación del Quito-max® es también factible si se quiere lograr altos rendimientos, pero sería conveniente estudiar dosis menores, el momento fenológico del cultivo para su aplicación y las características edafoclimáticas de las distintas regiones del país.

DISCUSIÓN

El quitosano estimuló los indicadores de la nodulación respecto a la sola inoculación con Azofert®-S, en dependencia de la forma de aplicación y la concentración del polímero, de las características de los sustratos empleados y de la etapa de crecimiento de la soja en las diferentes condiciones experimentales. La aplicación combinada de los inoculantes a base de rizobios y las concentraciones ensayadas del quitosano en semillas en el momento de la siembra no afectó la supervivencia bacteriana. Esto demuestra que ambos bioestimulantes son compatibles y que, respecto a la sola inoculación, estos favorecen el crecimiento y rendimiento del cultivo, lo cual resulta una investigación de relevancia práctica y económica.

En este trabajo también se demostró el efecto bioestimulante de la aspersión foliar del quitosano con 2 aplicaciones foliares, en las etapas vegetativas (V2 y V3) y V2 y R1 (prefloración), en el crecimiento y el rendimiento del cultivo, en condiciones controladas y de campo (2 repeticiones de años consecutivos), respectivamente. La mayor estimulación del crecimiento ocurrió con la aspersión foliar de 500 mg L⁻¹ y 1000 mg L⁻¹ de quitosano además de la aplicación a semillas de 100 mg L⁻¹ del polímero en condiciones edafoclimáticas de campo.

Aunque el tratamiento de semillas estimuló en menor medida el crecimiento de la soja, en comparación con la as-

Tabla 5. Análisis de costo-beneficio del Quitomax® aplicado a las semillas y por aspersión foliar en una hectárea de soya

Tratamientos	Rend. promedio (kg ha-1)	VP (CUP kg-1)	CP CUP ha-1	GT	GN	B:C
Azofert®-S	4130,00	62,00	8412,625	256060	247648	29,44
Quitomax® en semillas 0,1 g ha-1	6550,00	62,00	8457,000	406100	397643	47,02
Quitomax® por aspersión foliar 200 g ha-1	5505,00	62,00	58425,675	341310	282884	4,842

Leyenda: valor de la producción (VP), costo de la producción (CP), ganancia total (GT), ganancia neta (GN) y relación beneficio costo (B:C).

perisón foliar de quitosano, aumentó en mayor medida el rendimiento del cultivo respecto a la inoculación, con todas las concentraciones evaluadas. Este comportamiento demuestra diferencias en el modo de acción del quitosano en las plantas entre ambas formas de aplicación que podría estar relacionado con el órgano vegetal y el momento fenológico de la planta y la disponibilidad de recursos energéticos al momento de aplicarse el quitosano. En este sentido, es posible que el tratamiento a la semilla, tomando en cuenta una percepción del bioproducto cuando aún la planta no tiene desarrollo vegetativo, active una cascada de señales fisiológicas que, al tener un mayor tiempo de acción biológica que la aspersión foliar, cause un mayor número, diversidad y duración de respuestas fisiológicas dirigidas a la estimulación del rendimiento más que al crecimiento de la planta.

A su vez, la percepción del producto por aspersión foliar en la fase vegetativa V2 y percibida por el área foliar de la planta, pudo tener mayor acción directa en la fotosíntesis (apoyado por el mayor contenido de clorofilas) y un mayor gasto energético y de recursos hacia el crecimiento vegetativo en comparación con la aplicación a las semillas. Investigaciones previas han informado de diferentes comportamientos en el desarrollo de la soya para alcanzar un balance energético entre nodulación, crecimiento y reproducción, los 3 procesos de mayor demanda energética en el cultivo. (25) Es posible que la aplicación de quitosano en los experimentos de campo de este estudio ejemplifiquen comportamientos en función de este balance de energía y de distribución de recursos, en dependencia del órgano y momento aplicado con quitosano, que conlleven a una activación de los procesos fisiológicos mencionados, ya que se ha informado que los quitosacáridos estimulan varias vías de transducción de señales y una alta expresión de genes relacionados con diferentes vías metabólicas como la fotosíntesis y el metabolismo del carbono

y nitrógeno. (7) Para corroborar esta hipótesis, se deberá profundizar en el futuro en la activación por quitosano de indicadores esenciales de respuestas fisiológicas y moleculares en las principales rutas metabólicas de soya inoculada con *bradyrizobios*, ya que no se han esclarecido los mecanismos para cada forma de aplicación por la literatura internacional.

También la dosis de quitosano empleada en cada forma de aplicación pudo causar diferencias en su acción biológica, ya que la dosificación a la semilla es mucho menor que la que se requiere por aspersión foliar para alcanzar similares niveles de rendimiento. La combinación de todos los factores explicados debe ser la causa de las diferencias obtenidas en el crecimiento y rendimiento de las plantas con ambas formas de aplicación.

En una valoración económica preliminar de las formas de aplicación del quitosano en el cv INCASOY-27 debe tomarse en cuenta la dosis del polímero por hectárea del cultivo. La aplicación combinada de Azofert®-S y quitosano a las semillas resulta la metodología más factible porque se aplicarían ambos bioestimulantes previo a la siembra y las dosis de quitosano serían mucho menores (entre 10 y 1000 mg ha⁻¹), a razón de un litro de solución de ambos bioestimulantes para tratar las semillas de una hectárea del cultivo. Por consiguiente, la dosis más eficaz a la semilla (100 mg L⁻¹) en ambos años necesita de 0,1 g ha⁻¹ de quitosano.

Sin embargo, con la aplicación foliar es necesario hacer 2 aspersiones (V2 y R1) del cultivar previamente inoculado, lo cual es más costoso que una aplicación conjunta a la semilla. Las 2 aspersiones foliares del cultivo de 200 L ha⁻¹ equivalentes a dosis entre 2 g ha⁻¹ y 200 g ha⁻¹ por cada aplicación, resulta una metodología mucho más costosa porque se necesitarían 100 g ha⁻¹ de quitosano en cada aplicación, con la concentración más eficaz (500 mg L⁻¹) en ambos años en el desarrollo del cultivo además del mayor costo que impli-

ca ambas aplicaciones foliares respecto al tratamiento a las semillas antes de la siembra que se haría de conjunto con el inoculante microbiano.

Un análisis de los resultados de esta investigación indica la importancia de aplicar ambos bioproductos combinados en semillas en el momento de la siembra, por su capacidad de estimular el desarrollo y el rendimiento de la soya. Por otra parte, se recomienda validar esta metodología a escala productiva y en otras condiciones de producción del cultivar con la finalidad de impactar de forma positiva en la productividad nacional del cultivo.

Conclusiones

La inoculación con Azofert®-S en soya cv INCASOY-27 con Azofert®-S favoreció la nodulación, la acumulación de nutrientes esenciales (N, Ca y Mg), de proteínas en raíces, carbohidratos y flavonoides en ambos órganos, en dependencia de la etapa evaluada, pero no aumentó los contenidos de fenoles en ninguna de las etapas de crecimiento estudiadas. Estos indicadores contribuyeron a la estimulación del crecimiento (número de hojas, longitud del tallo y radical, masa seca aérea y área foliar) de las plantas en la etapa vegetativa V4, en comparación con las plantas no inoculadas. La investigación demostró la compatibilidad del quitosano con el inóculo de *Bradyrhizobium* sp. La aplicación de diferentes concentraciones de quitosano, permitió seleccionar las concentraciones (10, 100, 500 y 1000) mg L⁻¹ cuando se aplican a las semillas de forma conjunta con el Azofert®-S y por aspersión foliar, por su efecto en la nodulación, la nutrición y el crecimiento de las plantas en la etapa vegetativa V4, en comparación con las plantas inoculadas.

Ambas formas de aplicación del quitosano afectan indicadores bioquímicos del metabolismo primario y secundario en las etapas vegetativas V2, V3 y V4 y estimulan el rendimiento de la soya inoculada con Azofert®-S, en dependencia de la concentración empleada mediante la estimulación de los 3 componentes del rendimiento, principalmente el número de legumbres por planta. El mejor comportamiento bioquímico en los diferentes órganos de las plantas y el mayor incremento del rendimiento del cultivo, con más del 60 % en los 2 años experimentales, se obtuvo con la aplicación combinada de ambos bioestimulantes en semillas, fundamentalmente a la concentración de 1000 mg L⁻¹ y 100 mg L⁻¹ del polímero, respectivamente, en la etapa V4.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Roupheal Y, Colla G. Biostimulants in Agriculture. *Frontiers Plant Sciences*. [internet] 2020 [citado en 23 jul 2022];11(40):1-7. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00040>
2. Backer R, Rokem JS, Ilangumaran G, Lamont J, Praslickova D, Ricci E, Subramanian S, Smith DL. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Context, Mechanisms of Action, and Roadmap to Commercialization of Biostimulants for Sustainable Agriculture. *Frontiers Plant Sciences*. 2018;9:1473. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01473>
3. Shahrajabian MH, Chaski C, Polyzos N, Tzortzakis N, Petropoulos SA. Sustainable Agriculture Systems in Vegetable Production Using Chitin and Chitosan as Plant Biostimulants. *Biomolecules*. 2021;11:819. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/biom11060819>
4. Ke CL, Deng FS, Chuang CY, Lin CH. Antimicrobial actions and applications of chitosan. *Polymers*. 2021;13(904):1-21. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/polym13060904>
5. Xing K, Zhu X, Peng X, Qin S. Chitosan antimicrobial and eliciting properties for pest control in agriculture: a review. *Agronomy for Sustainable Development*. 2015;35(2):569-88. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s13593-014-0252-3>
6. Stasin'ska-Jakubas M, Hawrylak-Nowak B. Protective, bioestimulating, and eliciting effects of chitosan and its derivatives on crop plants. *Molecules*. 2022;27(9):2801. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/molecules27092801>
7. Mukhtar Ahmed KB, Khan MMA, Siddiqui H, Jahan A. Chitosan and its oligosaccharides, a promising option for sustainable crop production- a review. *Carbohydrate Polymers*. 2020;227:1-17. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115331>
8. Cabrera JC, Messiaen J, Cambier P, Van Cutsem P. Size, acetylation and concentration of chitoooligosaccharide elicitors determine the switch from defence involving PAL activation to cell death and water peroxide production in Arabidopsis cell suspensions. *Physiologia Plantarum*. 2006;127:44-56 Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2006.00677.x>
9. Ponce M, de la Fé C, Ortiz R, Moya C. INCASOY-24 e 'INCASOY-27': Nuevas variedades de soya para las condiciones climáticas de Cuba. *Cultivos Tropicales*. 2003;24(3):49.
10. Costales D, Nápoles MC, Falcón-Rodríguez A, González-Anta G, Petit C, Solá S, Perrig D. Effect of chitosan polymer and inoculated with *B. japonicum* on soybean germination survival of seedling, nodulation on and bacteria viability on seeds. *Legume Research*. 2019;42(2):265-9. Online ISSN: 0976-0571. Disponible en: <https://doi.org/10.18805/LR-410>
11. Costales D, Nápoles MC, Travieso L, Cartaya O, Falcón-Rodríguez AB. Efecto del quitosano aplicado a semillas en la compatibilidad con *Bradyrhizobium* y en el desarrollo vegetativo de soya (*Glycine max* (L.) Merrill). *Agronomía Mesoamericana*. 2021;3(2):869-87. Disponible en: <https://doi.org/10.15517/am.v32i3.44020>
12. Costales D, Falcón-Rodríguez A. Efecto de la masa molecular de quitosanos en el crecimiento in vitro de soya. *Cultivos Tropicales*. 2020;41(1):e05. ISSN digital:1819-4087.
13. Costales D, Nápoles MC, Falcón A, González-Anta G, Ferreira A, Rossi A. Influencia de quitosanas en la nodulación y el crecimiento vegetativo de soya [*Glycine max* (L.) Merrill]. *Cultivos Tropicales*. 2017;38(1):138-46. Disponible en: <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.16534.75843>
14. Costales D, Falcón AB, García R, Capdevila JZ. Efecto de la aspersión foliar de quitosano en el desarrollo vegetativo de soya inoculada. *Cultivos Tropicales*. 2020;41(4):e07. ISSN: 1819-4087.
15. Costales D, Falcón-Rodríguez AB. El quitosano estimula el desarrollo de la soya inoculada con rizobios. *Editorial Académica Española* (12-07-2022). 2022:144 p. ISBN-13: 978-3-659-65660-6. Disponible en: <https://www.eae-publishing.com/>

16. Costales D, Falcón-Rodríguez AB, Nápoles MC, Cabrera JC, Travieso L, Varela M. Quitosano induce respuestas defensivas en plantas de soya inoculada con *Bradyrhizobium elkanii*. *Cultivos Tropicales*, 2021b, 42(2), e07. ISSN: 1819-4087.
17. Khan WM, Prithiviraj B, Smith DL. Effect of foliar application of chitin and chitosan oligosaccharides on photosynthesis of maize and soybean. *Photosynthetica*. 2002;40(4):621-4. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/226958031>
18. Czékus Z, Poór P, Tari I, Ördög A. Effects of light and daytime on the regulation of chitosan-induced stomatal responses and defence in tomato plants. *Plants*. 2020;9(59):1-21. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/plants9010059>
19. Berger A, Boscari A, Horta-Araujo N, Maucourt M, Hanchi M, Bernillon S, Rolin D, Puppo A, Brouquisse R. Plant nitrate reductases regulate nitric oxide production and nitrogen-fixing metabolism during the *Medicago truncatula*–*Sinorhizobium meliloti* Symbiosis. *Frontiers Plant Sciences*, 2020;11:1313. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01313>
20. Hidangmayum A, Dwivedi P, Katiyar D, Hemantaranjan A. Application of chitosan on plant responses with special reference to abiotic stress. *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 2019;25(2):313-26. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s12298-018-0633-1>
21. Alejandro S, Höller S, Meier B, Peiter E. Manganese in Plants: From Acquisition to Subcellular Allocation. *Frontiers Plant Sciences*. 2020;11:300. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00300>
22. Al-Tawaha ARM, Seguin P, Smith DL, Beaulieu C. Biotic elicitors as a means of increasing isoflavone concentration of soybean seeds. *Annals of Applied Biology*. 2006;146:303-10. Disponible en: <https://10.1117/J.1744-7348.2005.040106>
23. Hasanah Y, Siregar LAM, Mawarni L. Seed Characteristics of Soybean Cultivars As Affected by Foliar Application of Elicitors. *The UGM Annual Scientific Conference Life Sciences*. 2019:333-41. Disponible en: <https://doi.org/10.18502/kls.v4i11.3879>
24. Costales D, Falcón AB. Combinación de formas de aplicación de quitosano en el desarrollo de soya biofertilizada. *Cultivos Tropicales*. 2018;3(39):73-81.

Recibido: 16/02/2024

Aprobado: 18/03/2024

Agradecimientos

Los autores del trabajo agradecen la contribución y asistencia técnica de los especialistas Elisa Teresita Ravelo, Mislaidys Castillo Mora, Yenisel de la Rosa O'Farrill y Odalys Núñez Peñalver, para lograr los resultados alcanzados en las investigaciones.

Conflictos de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses en relación con la investigación presentada.

Contribuciones de los autores

Conceptualización: Daimy Costales Menéndez; Alejandro Bernardo Falcón Rodríguez

Investigación: Daimy Costales Menéndez; Alejandro Bernardo Falcón Rodríguez; María Caridad Nápoles García; Idania Scull Rodríguez; Lisbel Travieso Hernández; José Zenón Capdevila Valera

Metodología: Daimy Costales Menéndez; Lisbel Travieso Hernández

Software: Daimy Costales Menéndez; Lisbel Travieso Hernández

Curación de datos: Daimy Costales Menéndez

Administración del proyecto: Alejandro Bernardo Falcón Rodríguez.

Adquisición de fondos y recursos: Alejandro Bernardo Falcón Rodríguez; María Caridad Nápoles García

Validación: Daimy Costales Menéndez; Alejandro Bernardo Falcón Rodríguez

Visualización: Daimy Costales Menéndez; Alejandro Bernardo Falcón Rodríguez; María Caridad Nápoles García

Supervisión: Alejandro Bernardo Falcón Rodríguez

Redacción-borrador original, revisión y edición: Daimy Costales Menéndez; Alejandro Bernardo Falcón Rodríguez

Financiamientos

Proyecto Nacional del CITMA (2010-2012). Compuestos de quitosano como activadores del metabolismo, el crecimiento y la resistencia contra el estrés biótico en cultivos de interés económico. International Foundation for Science (IFS- F/4446-2F) (2011-2013). Preparation and research of chitosans of different molecular weight in a reactor system. Their biological properties to maximize crops efficiency. Proyecto Integral de Investigación y Desarrollo (INCA, Cuba- Empresa Rizobacter Argentina, S.A., 2011-2013). Compuestos de quitosano como activadores de la nodulación, el crecimiento y la resistencia contra el estrés biótico en el cultivo de la soja. Megaproyecto en Programa de Alimento humano (2014-2018). Desarrollo de bioestimuladores nacionales para la protección y el beneficio de cultivos de interés económico. Proyecto Sectorial del Programa Desarrollo y Uso Sostenible de Bioinsumos Agropecuarios y Medicamentos Veterinarios de Labiofam (2021-2024). Nuevos Bioestimulantes a base de Rizobios y Oligosacarinas para Frijol y Soya.

Cómo citar este artículo

Costales Menéndez D, Falcón Rodríguez AB, Nápoles García MC, Travieso Hernández L, Scull Rodríguez I, Capdevila Valera JZ. Avances en el conocimiento de las potencialidades del quitosano en el desarrollo de soya inoculada con *Bradyrhizobium* sp. *An Acad Cienc Cuba* [internet] 2024 [citado en día, mes y año];14(1):e1538. Disponible en: <http://www.revistaccuba.cu/index.php/revacc/article/view/1538>

El artículo se difunde en acceso abierto según los términos de una licencia Creative Commons de Atribución/Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional (CC BY-NC-SA 4.0), que le atribuye la libertad de copiar, compartir, distribuir, exhibir o implementar sin permiso, salvo con las siguientes condiciones: reconocer a sus autores (atribución), indicar los cambios que haya realizado y no usar el material con fines comerciales (no comercial).

© Los autores, 2024.

