AVANCES EN LAS INVESTIGACIONES CONDUCENTES A LA IMPLEMENTACIÓN DEL QUITOMAX EN EL CULTIVO DEL TOMATE.

A.B. Falcón-Rodríguez¹, D. González-Peña¹, D. Costales¹, D. Morales¹, L. Travieso¹, E. Terry¹, J. Ruiz¹, L.G. González², M.C. Jiménez², M.A. Martínez-Téllez³.

RESUMEN

Los quitosanos poseen potencialidades importantes para su empleo como compuestos bioactivos de productos para la agricultura. Entre sus principales efectos está tener actividad antimicrobiana comprobada en hongos, bacterias y oomycetes, activar la inducción de resistencia en plantas contra sus patógenos, incluyendo la actividad antiviral, promover el crecimiento vegetal y elevar los rendimientos en varios cultivos y protegerlos contra varios estreses de tipo abióticos. El QuitoMax es un bioestimulante desarrollado por el Grupo de Productos Bioactivos del INCA, cuyo principal componente activo son polímeros de quitosano. El producto ha sido estudiado en experimentos básicos y aplicados y en la actualidad está siendo validado y extendido con éxito a escala de campo en diversos cultivos hortícolas y de granos como son: tabaco, tomate, papa, pimiento, arroz, maíz, frijoles, soya, entre otros, con el objetivo de proteger los cultivos contra patógenos durante su crecimiento y elevar los rendimientos de los mismos. Dependiendo de la especie y condiciones del cultivo se han obtenido aumentos de rendimiento entre 5 y 50% por encima del control. Este trabajo presenta las principales investigaciones del grupo relacionados con la protección del tomate a escala de semillero, tomando como modelo la interacción con el patógeno Phytophthora nicotianae y en la promoción del crecimiento y los rendimientos, en ensayos de laboratorio y de campo. Los

¹Grupo de Productos Bioactivos, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA). Carretera a Tapaste, Km 3½, San José de las Lajas, Mayabeque 32700, Cuba. Email: alfalcon@inca.edu.cu
² Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de Grapma, Carretera Bayamo a Manzanillo Km

² Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de Granma. Carretera Bayamo a Manzanillo Km 17, Bayamo, Granma. CP 85100. Cuba.

³ Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, AC (CIAD), Coordinación de Tecnología de los Alimentos de Origen Vegetal (CTAOV), Carretera a La Victoria Km 0.6, AP 1735, Hermosillo 83000, Sonora, México.

principales resultados demuestran la activación de resistencia inducida contra patógenos, en dependencia de la dosis utilizada y forma de aplicación, así como el aumento del crecimiento en las posturas y el incremento de rendimientos en la plantación de hasta un 40%. Los resultados mencionados permiten proponer una tecnología de aplicación del QuitoMax en este cultivo.

Palabras clave: quitosano, tomate, resistencia inducida, Phytophthora, rendimiento.

Advances in the researches leading to the implementation of QuitoMax on tomato crop.

ABSTRACT

Chitosans have significant potential for use as bioactive compounds of products for agriculture. Among its main effects is to have antimicrobial activity demonstrated against fungi, bacteria, oomycetes, to activate the induction of resistance in plants against their pathogens, including antiviral activity, to promote plant growth and increase yields in several crops and to protect against various abiotic stresses. QuitoMax is a bioestimulant developed by the Group of Bioactive products from INCA, whose main active component are chitosan polymers. The product has been studied in basic and applied experiments and currently it is being validated and successfully extended at field scale in various horticultural crops and grains such as: tobacco, tomato, potato, pepper, rice, corn, beans, soybean, among others, in order to protect crops against pathogens during their growth and enhance their yield. Depending on the species and cultivation conditions it have been obtained yield increments between 5 and 50% above control. This work presents the main group researches related to the protection of tomato at seedlings period, by modeling the interaction with the pathogen Phytophthora nicotianae and promoting growth and yields at laboratory and field conditions. The main results showed activation of induced resistance against pathogens, depending on the dose and mode of application, as well as increments of growth and yields up to 40% on plantation. The above results allow proposing a QuitoMax application technology in this crop.

Keywords: Chitosan, tomato, induced resistance, Phytophthora, yield.

INTRODUCCIÓN

El tomate (*Solanum lycopersicum*, L.), es la hortaliza más extendida en todo el mundo y la de mayor valor económico, representa uno de los componentes más frecuentes de la dieta y su uso está generalizado en el arte culinario por su color, aroma y sabor. En Cuba en los últimos años las áreas sembradas sobrepasan las 54 mil hectáreas con una producción de 802 600 toneladas a nivel nacional y un rendimiento de 12.73 t.ha-1 (ONE, 2011).

La producción cubana de tomate no ocupa grandes aplicaciones de fertilizantes y pesticidas sino que se emplea la aplicación de bioestimulantes debido a que las condiciones económicas del país permiten la importación de agroquímicos para este cultivo y se utiliza la aplicación de controles biológicos para reducir incidencia de enfermedades. En este sentido, en las últimas dos décadas se han desarrollado obtenido diferentes productos biológicos y de origen natural la protección y regulación del crecimiento de este cultivo (Hernández y Chailloux, 2004, MINAGRI, 2012), sin embargo, las áreas de siembra del cultivo aumentan por año y la presencia de estos bioproductos no cubre aún las necesidades del cultivo.

La quitosana y sus derivados de menor masa molar, pueden tener una amplia aplicación en la agricultura a partir de las potencialidades biológicas que se le han demostrado a estos compuestos, como son, una importante actividad antimicrobiana sobre el crecimiento y desarrollo de hongos, bacterias y oomycetes (Falcón et al., 2010, Badawy y Rabea, 2011), la inducción de resistencia en plantas contra patógenos potenciales y la promoción del crecimiento y desarrollo de varios cultivos (El Haldrami et al., 2010; Falcón et al., 2011, Cabrera et al., 2013).

El grupo de Productos Bioactivos (GPB) del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), en colaboración con grupos de investigación de otras instituciones del país, desarrolla diferentes productos para la agricultura como biofertilizantes, enraizadores y activadores del crecimiento y la protección de las plantas. En la última década el grupo ha trabajado en el desarrollo de un activador de las plantas (QuitoMax) a base de polímeros de quitosana. Este producto ha sido validado activador del crecimiento, como rendimientos y la protección de cultivos de interés agrícola con resultados promisorios, en particular, en frijol, maíz, papa, tabaco y tomate.

En este trabajo se resumen los principales resultados que conllevan a la implementación del QuitoMax en los diferentes estadios del cultivo del tomate como estimulador del crecimiento y los rendimientos de este cultivo y como activador de la resistencia inducida contra patógenos.

MATERIALES Y MÉTODOS

QuitoMax. Bioproducto líquido conformado por una mezcla de polímeros de quitosana y sales químicas.

Descripción de los experimentos Estudio de la acción protectora del QuitoMax (QMx) en plántulas de tomate

(variedad Amalia) contra *Phytophthora* nicotianae.

Plántulas de Tomate var. Amalia de 21 dds fueron asperjadas (o aplicadas vía raíz) con las siguientes concentraciones de QMx: 0.1, 1, 2.5 g/L a razón aproximada de 1 mL por planta (dosis de 0.1, 1 y 2.5 mg/ planta). Se colocaron en el patógeno a las 72 horas siguiendo una metodología ya descrita (Falcón-Rodríguez et al., 2011) y se determinó infección a las 96 horas de colocadas las plantas en el patógeno de acuerdo a la siguiente escala:

Tabla 1: Escala de infección en las plántulas de tomate por *P. nicotianae*.

Grado	Descripción
0	Planta sana
1	Raíces y base del tallo afectadas
2	Tallo y hojas cotiledonales afectadas
3	1ro y/o 2do par de hojas afectados
4	Planta muerta

Los datos determinados se procesaron con el test no paramétrico de Kruskal-Wallis y la prueba de Mann-Whitney con corrección de Bonferroni, p< 0,05, Achuo *et al.*, 2004. Se calculó el índice de infección en las plantas como sigue:

I.I. = $[\sum (G \times F)/N \times 5] \times 100$, Romanazzi et al., 2002.

En el experimento se determinaron, además, los indicadores defensivos contenido de fenoles y flavonoides en las

hojas de las plántulas a los 0, 3 y 7 días después de la aspersión foliar y coincidiendo con el momento previo a colocar las plántulas con el patógeno y a las 96 horas posterior a ser colocadas en el patógeno (Singleton y Rossi, 1965).

Evaluación del QuitoMax en el crecimiento de plántulas de tomate (Híbrido Hazare 30-19) en la etapa de semillero.

Las semillas fueron embebidas por dos horas, 75 semillas de tomate (H 3019), en soluciones de QuitoMax a concentraciones de 0, 0.1, 0.5 y 1 g.L-1 y pregerminadas en placas Petri, con papel de filtro húmedo en la oscuridad, durante 72 horas. Transcurrido este tiempo, las semillas fueron colocadas en vasos con sustrato de humus de lombriz (2 semillas por vaso). Las semillas del tratamiento control fueron embebidas en agua. Las plantas fueron cultivadas en crecimiento (25°C cámara de de temperatura, 50% de humedad y 16/8 horas de luz/oscuridad) durante 30 días. A los 15 días de sembradas las semillas se realizó la aspersión foliar correspondiente a las concentraciones antes mencionadas, a plantas de 13 vasos por tratamiento (10 mL asperjados por tto). A los 15 y 30 días de efectuarse la siembra, se evaluaron indicadores del crecimiento y la fisiología del cultivo.

- ➤ Indicadores de crecimiento: número de hojas, altura (cm), diámetro del tallo (cm), longitud radical (cm), masa seca de la parte aérea y radical (g) por planta.
- Indicadores fisiológicos: contenido de clorofilas totales (spad, colorímetro Konica Minolta SPAD-502 Plus, Japón) y área foliar (cm2, medidor portátil AM 300, UK) por planta.

Análisis estadístico.

Los datos obtenidos fueron sometidos después de la verificación de las premisas del ANOVA, a un análisis de varianza de ANOVA Simple. Las medias resultantes se compararon con la Prueba de Rangos Múltiples de Tukey HSD para p□0.05, empleando el paquete estadístico Statgraphics Plus, versión 5 (Statistical Graphics Corporation, 2001). Los gráficos se realizaron en Sigmaplot.

Estudio de dosis, formas y momentos de aplicación del QMx en la variedad de tomate Mara a escala de semillero y de campo.

Las semillas se embebieron durante 30 minutos en las concentraciones de QMx correspondientes y se sembraron en semillero tradicional a cielo abierto sobre canteros, los cuales estaban constituidos por un sustrato compuesto por abono orgánico (estiércol vacuno) y suelo (1:1 v/v), donde cada tratamiento ocupó un área experimental de 1,0 m², bajo un diseño completamente aleatorizado.

Las plántulas con 30 días de edad en el semillero, se utilizaron para el trasplante, estableciéndolas en parcelas de 35 m², a un marco de plantación de 1,40 x 0,30 m distribuidas bajo un diseño de bloques al azar con cuatro réplicas y diez tratamientos. La aplicación foliar del producto se realizó a los siete días después del trasplante (inicio de los primordios florales) en horas tempranas de la mañana (8:00-9:00 am) aprovechando la apertura estomática de las hojas, utilizando una asperjadora manual de 16 L, la cual se calibró antes de ser usada. Las atenciones culturales se realizaron según lo recomendado en el Instructivo técnico del cultivo del Tomate.

A los 10, 15 y 25 días después de la germinación (DDG) en condiciones de semillero, se seleccionaron 15 plántulas por cada tratamiento al azar, a las que se le realizaron las siguientes evaluaciones:

Altura (cm): se midió con regla graduada, desde el cuello de la raíz hasta la axila de la hoja más joven.

Diámetro del tallo (cm): se determinó con un pie de rey, a partir de dos centímetros por encima del cuello de la raíz.

Número de hojas por planta: conteo visual de las mismas.

Longitud radical (cm): se midió la raíz principal del cultivo con una regla graduada. Masa fresca de las plantas (g): pesaje en balanza analítica.

Masa seca de las plantas (g): secado en estufa a 70°C hasta masa constante y pesaje en balanza analítica.

En la etapa de floración – fructificación en condiciones de campo, Se seleccionaron 15 plantas por cada tratamiento al azar, a las que se le realizaron las siguientes evaluaciones:

Número de racimos, flores y frutos: Conteo visual.

Masa promedio de los frutos (g): resultado de dividir el peso total de los frutos entre la cantidad de frutos de la parcela.

Rendimiento agrícola (t.ha-1): por pesada de la producción total del área de cálculo, extrapolada a una hectárea.

Los datos obtenidos, se analizaron mediante un ANOVA de Clasificación Simple para ambos estudios (semillero y campo), los valores promedios se compararon con la Prueba de Rangos Múltiples de Duncan cuando existieron diferencias significativas entre los tratamientos, procesado con el programa Statgraphics Centurion, 2013 bajo el sistema de explotación Windows 7.

Evaluación de diferentes dosis y momentos de aspersión foliar del QuitoMax en plantas de tomate, variedad Amalia, en condiciones de plantación en el crecimiento y los rendimientos del cultivo.

En el experimento se estudio la aplicación foliar de diferentes dosis (200 a 600 mg/ha) de QMx con diferentes momentos de aplicación (8-10 días después del trasplante e inicio de floración) en plantas (0.25 x 1.40 m) en estado de plantación. Se realizaron determinaciones de crecimiento (longitud y diámetro de tallos, número de hojas por planta) y de rendimiento (frutos por planta, masa fresca del fruto y rendimiento estimado).

Los datos se procesaron, a partir de un diseño de bloques al azar experimental, a través de un análisis de varianza y las medias se compararon por la prueba de Duncan para p□ 0.05.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estudio de la acción protectora del QuitoMax (QMx) en plántulas de tomate (variedad Amalia) contra *Phytophthora nicotianae*.

De acuerdo a los resultados de la experimentación, la aplicación de QMx vía raíz o por aspersión foliar en plántulas de tomate en etapa de semillero provoca la reducción de la infección causada por Phytophthora nicotianae, un patógeno importante en diferentes etapas del cultivo. Los resultados que se presentan en la figura 1 muestran una reducción de la infección en las plántulas en dependencia de la dosis aplicada. La protección obtenida está entre el 25 y el 50% de la reducción de infección, lo que demuestra un importante efecto del producto, tomando en cuenta el ensayo de infección que se realiza el cual favorece en gran medida la acción infectiva (Falcón-Rodríguez et. al., 2011). Cabe señalar que la protección observada es el resultado de la activación de la resistencia basal de forma sistémica en la planta, si se toma en cuenta que se realizó una aspersión foliar y se inocula el patógeno vía raíz a los 3 días de la aplicación. Resultados similares de protección se han obtenido cuando la planta se trató previamente vía raíz (datos no mostrados).

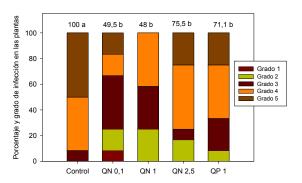


Figura 1: Porcentaje y grados de infección en plántulas de tomate, variedad Amalia, inoculadas con P. nicotianae y previamente asperjadas con polímeros de quitosana (QMx).

La aplicación foliar de QMx causó también la activación, por encima del control, de indicadores defensivos como son enzimas hidrolíticas (glucanasas quitinasas), antioxidantes (catalasas y peroxidasas) no mostrados) y compuestos defensivos sintetizados en la vía de los fenilpropanoides (Figura 2). Tanto las enzimas como los compuestos químicos (flavonoides, fenoles, cumarinas y ligninas) constituyen defensas del tomate contra diferentes patógenos, por lo que, su incremento por encima del control como resultado de tratamientos con quitosana prepara a la planta contra el ataque de patógenos.

Como se observa en ambos casos la aplicación del bioproducto induce los

contenidos de ambos compuestos encima del control con las concentraciones de 0.1 y 1 g/L. Estas defensas son especialmente importantes contra patógenos fungosos. Los resultados además muestran que 4 días después que las plantas son inoculadas con el micelio de P. nicotianae, hay un incremento adicional más allá de los niveles alcanzados previamente con las aplicaciones quitosana, esto denota un reconocimiento del patógeno por la planta y una respuesta de activación defensiva al ataque del mismo.

En ambos casos los niveles de respuesta con el control inoculado igualan los niveles de los tratamientos aplicados con quitosana, excepto para 0.1 g/L en flavonoides, lo que contribuye a la idea planteada de que las plantas en presencia de sus patógenos elevan la resistencia basal a niveles por encima de las condiciones de no infección, sin embargo, esto puede no ser suficiente para rechazar el ataque debido a que este incremento ocurre cuando el patógeno ya está instalándose en la planta. Por lo anterior, la preparación previa de la planta con la aplicación de activadores defensivos para una pronta respuesta previo

reconocimiento del patógeno es una forma de reducir la incidencia enfermedades en los cultivos (Walters, 2011, Falcón-Rodríguez et al., 2012). En este caso, basados en la respuesta de resistencia observada ٧ la inducción defensiva previa y posterior a la inoculación del patógeno, se puede concluir que el QMx elevó la resistencia basal de las plántulas de tomate contra posteriores ataques de patógenos.

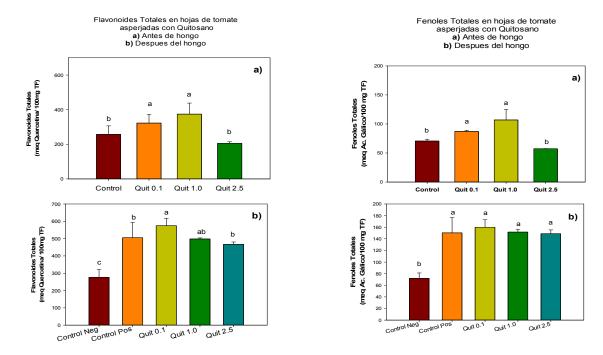


Figura 2: Variaciones del contenido de Flavonoides y Fenoles en hojas de plántulas de tomate tratadas 72 horas antes (a) de la inoculación con *P. nicotianae*, con diferentes dosis de QMx y 96 horas después de la inoculación (b) (7 días después de la aplicación con QMx). Se utilizó en el (b) controles inoculados (positivos) y no inoculados (negativos).

Evaluación del QuitoMax en el crecimiento de plántulas de tomate (Híbrido Hazare 30-19) en la etapa de semillero.

Al estudiar en el híbrido Hazare 30-19 la respuesta morfo-agronómica en etapa de semillero, se encontró que el tratamiento de inmersión de semillas entre 1 y 2 horas con concentraciones entre 0.1 y 1 g/L mostró resultados de aumento de la altura de la planta por encima del control y de los otros tratamientos de QMx en un 50%, a la concentración más alta. Resultados similares para esta concentración se han obtenido con la variedad Amalia. Sin embargo, la masa seca de la parte aérea fue superior a la del control con las tres concentraciones de QMx utilizadas con incremento de más de un 30%. No fueron afectadas otras variables como número de hojas, longitud de la raíz y diámetro del tallo (datos no mostrados) con los tratamientos de QMx.

Al analizar otras variables como el área foliar y el contenido de clorofilas (Figura 3) en las hojas fue posible obtener que a los 15 días de sembradas las plántulas nuevamente la concentración más alta causó diferencias con los tratamientos (excepto 0.1 g/L) y el control con incremento de superficie de más del 20%. A su vez, el

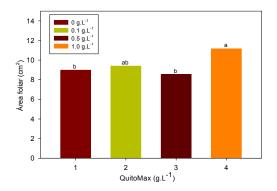
contenido de clorofilas fue mayor significativamente respecto al control con las concentraciones 0.5 y 1 g/L de QMx con un incremento entre 13 y 15%. Este incremento del contenido de clorofilas podría justificar aumento de un fotosíntesis y que esto repercutiera en el aumento de biomasa que se observa en las plántulas con los tratamientos de guitosana. Otros autores han informado de incremento de pigmentos fotosintéticos, así como de nutrientes en plantas como resultado de aplicaciones con quitosanas (Kim, 2011). En esta experiencia los resultados que se

En esta experiencia los resultados que se describen se mantuvieron o incrementaron con los tratamientos cuando se hicieron las evaluaciones a los 30 días de sembradas las plantas, lo que justifica los tratamientos de semillas previo a la siembra en una metodología de aplicación del producto. Estudio de dosis, formas y momentos de aplicación del QMx en la variedad de tomate Mara a escala de semillero y de campo.

En este experimento se evaluó el bioproducto desde el semillero hasta la plantación en diferentes concentraciones (0.1-1.0 g/L) y formas de aplicación y sus combinaciones (imbibición de semilla y aspersión foliar). Tanto en el crecimiento en semillero como a escala de plantación como

en las variables de rendimiento la concentración de 1 g/L obtuvo los mejores resultados (datos no mostrados). Esto se pudo observar también en los resultados globales de rendimiento donde los mejores

tratamientos causaron aumentos del 50% respecto al control (Figura 4):



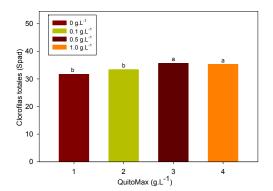


Figura 3: Variaciones en el área foliar y el contenido de clorofilas totales en plántulas de tomate de 15 dds previamente tratadas en la semilla antes de la siembra. Letras diferentes muestran diferencias significativas entre los tratamientos para p□ 0.05 en la prueba de Tukey HSD.

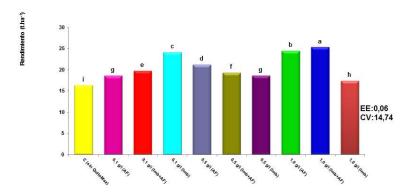


Figura 4: Efecto de los tratamientos sobre el rendimiento del tomate variedad Mara cuando los tratamientos fueron imbibición de las semillas, aspersión foliar y sus combinaciones. Letras distintas significan diferencias significativas entre los tratamientos para p□ 0,05, según la Prueba de Duncan.

El resultado anterior corrobora a escala de producción los resultados anteriores ejecutados a escala de semillero en condiciones semicontroladas y confirma que las mismas dosis pueden aplicarse a escala de campo con bueno resultados de rendimiento. Estas dosis son consideradas medianas respecto a lo informado por la literatura y empresas que comercializan productos de quitosana (Kim, 2011).

Evaluación de diferentes dosis y momentos de aspersión foliar del QuitoMax en plantas de tomate, variedad Amalia, en condiciones de plantación en el crecimiento y los rendimientos del cultivo.

La aplicación foliar de dosis bajas durante la plantación causó incrementos con algunos tratamientos de QMx respecto al control en todas las variables analizadas y dependió de la dosis aplicada y la forma de aplicación. Se debe señalar que cuando se hicieron las 2 aplicaciones del producto la dosis se partió en una mitad para cada aplicación. En las variables de rendimiento se destacaron la aplicación única previo a la floración y la aplicación combinada, esto benefició entre 10 y 20% el número de frutos y el rendimiento estimado. Lo anterior justifica la aplicación de bajas dosis de QMx en le etapa de

plantación para aumentar rendimientos (datos no mostrados).

CONCLUSIONES

Del estudio anterior es posible proponer la siguiente metodología de aplicación del QuitoMax en tomate:

1º Realizar la inmersión de semillas de tomate por 1-2 horas en QMx (1 g/L) para beneficiar crecimiento y protección de las posturas en la etapa de semillero.

2º Embeber las plántulas vía raíz en el trasplante por media hora (1 g/L) y en caso de siembras en alveolos que deben conservar el sustrato sustituirla por una aplicación foliar de igual concentración para favorecer protección por trasplante.

3º Realizar una Aspersión prefloración de 300 mg/ha para accionar en los rendimientos del cultivo o hacer 2 aplicaciones, una 10-12 días postrasplante y otra prefloración. Esto debe elevar los rendimientos entre un 10 y 20%.

Las aplicaciones de concentraciones medianas (0.1-1 g/L) pueden aumentar aún más los porcentajes de rendimiento dependiendo de variedades y condiciones de cultivo.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Cabrera J.C., Nápoles, M.C., Falcón,
 A.B. Costales, D., Diosdado E.,
 González S., González L., González
 G., Rogers H.J., Cabrera G., Wégria
 G., Onderwater R., Wattiez, R. (2013)
 PRACTICAL USE OF
 OLIGOSACCHARINS IN
 AGRICULTURE. Acta Horticulturae,
 1009: 195-212.
- El Hadrami, A., Adam, L.R., El Hadrami, I. y Daayf, F. (2010) Chitosan in Plant Protection. Mar. Drugs,, Vol. 8, 968-987
- Falcón-Rodríguez, A.B., Costales, D.,
 Cabrera, J.C., Martínez-Téllez, M.A.
 (2011) Chitosan physico—chemical
 properties modulate defense
 responses and resistance in tobacco
 plants against the oomycete
 Phytophthora nicotianae, Pestic.
 Biochem. Physiol., 100, 221-228.
- Falcón-Rodríguez, A.B., Guillaume, W.,
 Cabrera, J.C., (2012) Capítulo 7:
 Exploiting plant innate immunity to
 protect crops against biotic stress:
 Chitosaccharides as natural and
 suitable candidates for this purposes.
 En: New perspectives in plant
 protection. Editor: Ali R. Bandani,
 InTech, pág 139.
- Hernández, M.I. y Chailloux, M. (2004) Las micorrizas arbusculares y las

- bacterias rizoféricas como alternativa a la nutrición mineral del tomate. Cultivos Tropicales, 25 (2): 12-17.
- Kim, S-K. Chitin, chitosan, oligosaccharides and their derivatives. Biological activities and applications. CRC Press, Taylor and Francis group, 2011, 643 págs, ISBN 978-1-4398-1603-5.
- ONE (2011) Oficina Nacional de Estadística de la República de Cuba Agricultura en Cifras. Edición mayo del 2011 Consultado el 10 de febrero del 2012 de http:
 - //www.one.cu/.aec2011/anuario.pdf.
- MINAGRI (2012) Manual de organopónico y huertos intensivos.

 Ministerio de la agricultura. ACTAF.

 Habana.
- ROMANAZZI G., NIGRO F., HIPÓLITO
 A., DI VENERE, D., SALERNO M.,
 2002. Effect of pre- and post-harvest
 chitosan treatments to control storage
 grey mold of table grapes. J Food Sci
 67, 1862-1865.
- Walter, D. 2011. Capítulo 6: exploiting plant defense. En: Plant defense: warding off attack by pathogens, herbivores, and parasitic plants. Editor: Walter, D., Wiley-Blackwell, pág 201.