

Efecto de ácidos húmicos, micorrizas y quitosano en indicadores del crecimiento de dos cultivares de tomate (*Solanum lycopersicum* L.)

Effect of humic acids, mycorrhiza, and chitosan on growth indicators of two tomato cultivars (*Solanum lycopersicum* L.)

Juan José Reyes-Pérez^{1‡} , Emmanuel Alexander Enríquez-Acosta² ,
Miguel Ángel Ramírez-Arrebató³ , Aida Tania Rodríguez-Pedroso³  y
Alejandro Falcón-Rodríguez⁴

¹ Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Av. Quito. km 1.5 vía a Santo Domingo de los Tsáchilas. Quevedo, Los Ríos, Ecuador.

[‡] Autor para correspondencia / Corresponding author (jreyes@uteq.edu.ec)

² Universidad Técnica de Cotopaxi, Extensión La Maná. Av. Los Almendros y Pujilí, Edificio Universitario. La Maná, Ecuador.

³ UCTB Los Palacios, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. Carretera La Francia km 1 s/n. Los Palacios, Pinar del Río, Cuba.

⁴ Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. Carretera Tapaste km 3.5. San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

RESUMEN

Los bioestimulantes son una alternativa al uso de agroquímicos en la agricultura. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de ácidos húmicos (AH), hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y Quitosano (QS), sobre el crecimiento de dos cultivares de tomate (*Solanum lycopersicum* L.). Se estableció un experimento en condiciones semicontroladas con ocho tratamientos, resultantes de la combinación de AH, HMA y QS con los cultivares Floradade y Pomodoro y dos testigos tratados con agua. Se evaluaron los indicadores: longitud de la raíz y el tallo de las plantas, masa fresca y seca de tallos, hojas y raíces, la biomasa de las plantas y el contenido foliar de nitrógeno, fósforo, potasio calcio y magnesio. Los resultados mostraron para ambos cultivares que de los tres bioestimulantes utilizados, HMA logró con diferencias significativas, el mayor incremento en el diámetro y longitud del tallo, además en la longitud de la raíz, incluso siendo más de 50% superior al testigo en la acumulación de biomasa en la planta, tallos, hojas y raíces. El resto de los tratamientos también superaron al testigo. Adicionalmente se encontró un incremento del contenido de nutrientes foliares, con excepción del fósforo. La aplicación de los bioestimulantes mostró una relación lineal significativa fuerte y positiva en los indicadores de crecimiento evaluados, exceptuando

SUMMARY

Biostimulants are an alternative to the use of agrochemicals in agriculture. Thus the objective of this study was to evaluate the effect of humic acids (HA), arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and chitosan (QS), on growth of two tomato cultivars (*Solanum lycopersicum* L.). An experiment was established in semi-controlled conditions with eight treatments, resulting from the combination of HA, AMF and QS with the Floradade and Pomodoro cultivars and two water-treated controls. The assessed indicators were plant root and stem length, stem, leaf, and root fresh and dry biomass, plant biomass and leaf content of nitrogen, phosphorus, potassium calcium, and magnesium. The results of the three biostimulants used for both cultivars showed that AMF achieved the greatest increase in stem diameter and length, in addition to root length with significant differences, over 50% higher than the control groups in plant, stem, leaf, and root biomass accumulation. The rest of the treatments also surpassed the control groups. Additionally, an increase in leaf nutrient content was observed with the exception of phosphorus. The application of biostimulants showed a significantly strong and positive linear relationship in most of the indicators evaluated (root and stem length, stem diameter, fresh and dry root, stem, and leaf biomass, with the exception of phosphorus content).

Cita recomendada / Recommended citation:

Reyes-Pérez, J. J., E. A. Enríquez-Acosta, M. Á. Ramírez-Arrebató, A. T. Rodríguez-Pedroso y A. Falcón-Rodríguez. 2020. Efecto de ácidos húmicos, micorrizas y quitosano en indicadores del crecimiento de dos cultivares de tomate (*Solanum lycopersicum* L.). Terra Latinoamericana Número Especial 38-3: 653-666.

DOI: <https://doi.org/10.28940/terra.v38i3.671>

Recibido / Received: octubre / October 26, 2019.

Aceptado / Accepted: enero / January 12, 2020.

Publicado en / Published in Terra Latinoamericana 38: 653-666.

el contenido de fósforo. Los resultados demuestran que los bioestimulantes mejoran la toma de nutrientes por las plantas y el contenido foliar de fósforo no es un indicador adecuado para correlacionar el crecimiento vegetal.

Palabras clave: bioproducto, hortaliza, nutriente, *Solanum lycopersicum*.

INTRODUCCIÓN

La utilización de químicos en la agricultura ha provocado el desbalance de muchos agroecosistemas (Pretty, 2008; Raza *et al.*, 2019). Algunas de las consecuencias más notables la constituyen el incremento de áreas afectadas por exceso de sales, la contaminación de las aguas freáticas con iones tóxicos. Adicionalmente, la disminución o desaparición de la microflora residente en los suelos y el incremento de patógenos que afectan de manera drástica a los cultivos. Todo lo cual ha traído como consecuencia daños a la salud humana y animal (Emamverdian *et al.*, 2015; Plá y Cobos-Porras, 2015; Singh, 2015; Piculell *et al.*, 2018).

Por todo ello, la necesidad del aplicar productos compatibles con el medioambiente y que a su vez tengan una influencia positiva sobre el rendimiento de los cultivos emerge como una prioridad de urgente. En la actualidad constituye centro de atención de la comunidad científica internacional, el empleo de bioestimulante en la agricultura. Estos son sustancia de origen natural que actúan en relativas bajas dosis y aceleran el metabolismo vegetal (Duc *et al.*, 2018; Hastak *et al.*, 2018; Abd El-Aziz *et al.*, 2019).

Ecuador es uno de los países donde se desarrollan investigaciones relacionadas con esta temática sobre todo aplicada a cultivos hortícolas como el tomate (*Solanum lycopersicum* L.) (Reyes *et al.*, 2018). Este cultivo tiene una alta demanda no solo en la industria a donde se destinan los mayores volúmenes, sino también por su alto consumo en forma fresca, estimándose alrededor de 5 kg per cápita (FAO, 2018; SINAGAP, 2013).

Varios bioestimulantes han sido estudiados tales como bacterias fijadoras de nitrógeno, productos que mejoran la nutrición estimulan el crecimiento, desarrollo y rendimiento del cultivo (Agbodjato *et al.*, 2016; Capstaff y Miller, 2018; Wang *et al.*, 2018). Entre ellos destaca por su versatilidad para su aplicación en

The results showed that biostimulants improved nutrient intake by plants and leaf phosphorus content was not an adequate indicator to correlate plant growth.

Index words: bioproduct, vegetable, nutrient, *Solanum lycopersicum*.

INTRODUCTION

The use of chemicals in agriculture has caused an imbalance in many agroecosystems (Pretty, 2008; Raza *et al.*, 2019). Some of the most notable consequences are the increase of affected areas by salt excess and ground water contamination with toxic ions besides the decrease or disappearance of resident microflora in soils and the increase of pathogens that affect cultivations drastically. All these has brought as a consequence harmful effects on human and animal health (Emamverdian *et al.*, 2015; Plá and Cobos-Porras, 2015; Singh, 2015; Piculell *et al.*, 2018).

Thus, the need to apply compatible products with the environment, which at the same time have a positive influence on cultivation yield, emerges as an urgent priority. Currently, the use of biostimulants in agriculture constitutes the center of attention of the international scientific community, which are natural, act in relatively low doses, and accelerate plant metabolism. (Duc *et al.*, 2018; Hastak *et al.*, 2018; Abd El-Aziz *et al.*, 2019).

Ecuador is one of the countries where research is developed related to this topic, above all, applied to vegetable products as tomato (*Solanum lycopersicum* L.) (Reyes *et al.*, 2018). This cultivation has a high demand, not only in the industry where the greatest volumes are distributed but also for high fresh tomato consumption, estimated around 5 kg per capita (FAO, 2018; SINAGAP, 2013).

Several bioestimulants have been studied, such as nitrogen-fixing bacteria, products that improve nutrition stimulating growth, development and yield (Agbodjato *et al.*, 2016; Capstaff and Miller, 2018; Wang *et al.*, 2018). Among other biostimulants, chitosan, a biopolymer derived from chitin, stands out for its versatility in agriculture application stimulating plant growth (Barbosa *et al.*, 2017; Chun and Chandrasekaran, 2018; Divya *et al.*, 2018a). Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are also used in a wide array of cultivations for their capacity to establish symbiosis with plants, facilitating nutrient and water

la agricultura el Quitosano, un biopolímero derivado de quitina que estimula el crecimiento vegetal (Barbosa *et al.*, 2017; Chun y Chandrasekaran, 2018; Divya *et al.*, 2018a). También los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son utilizados en una alta gama de cultivos, por su capacidad para establecer simbiosis con las plantas, facilitando la absorción de nutrientes y agua (da Silva-Campos *et al.*, 2013; Ho-Plágaro *et al.*, 2019). Adicionalmente el uso de los ácidos húmicos se ha incrementado debido a que se ha demostrado que estimulan el desarrollo vegetal, intervienen en procesos regulatorios a nivel molecular que promueven la interface suelo-planta (Giachin *et al.*, 2017; Noroozisharaf y Kaviani, 2018; Shah *et al.*, 2018).

Sin embargo, muchas veces son aplicados de conjunto y no se conoce a profundidad el aporte de cada uno y si este aporte cambia con diferentes cultivares de una especie vegetal. Adicionalmente no existe mucha información sobre cómo afecta los contenidos de nutrientes en la planta y si estos pueden correlacionarse con los indicadores de crecimiento. Es por ello, que el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de los hongos, micorrízicos arbusculares, quitosano y ácido húmico, sobre indicadores de crecimiento en dos cultivares de tomate.

MATERIALES Y MÉTODOS

Condiciones Generales para el Desarrollo del Experimento

La presente investigación se realizó en un invernadero de la Facultad de Ciencias Pecuarias, de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, ubicado entre las coordenadas geográficas de 01° 06' S y 79° 29' O, a una altitud de 73 m.

El invernadero es de Tipología tropical A12 con 540 m² de largo. Dentro del invernadero se alcanzó temperaturas de hasta 50 °C y se mantuvo una alta humedad relativa mayor del 80% con precipitaciones de 1587.50 mm/año y una heliofanía de 994.40 horas/luz/año (INAMHI; Anuario meteorológico de la Estación Experimental Pichilingue, 2018).

Fueron utilizadas semillas certificadas de los cultivares de tomate Floradade y Pomodoro compradas en el mercado. Las plántulas para el trasplante, se obtuvieron de semillas sembradas en bandejas plásticas con 200 cavidades conteniendo el sustrato compuesto por suelo y sustrato comercial Sogemix MR (3:1).

absorption (da Silva-Campos *et al.*, 2013; Ho-Plágaro *et al.*, 2019). Additionally, the use of humic acids has increased because studies have demonstrated they stimulate plant growth, and intervene in regulatory processes at molecular level that promote plant-soil interface (Giachin *et al.*, 2017; Noroozisharaf and Kaviani, 2018; Shah *et al.*, 2018).

Nevertheless, many time biostimulants have been applied jointly, so the contribution of each one is not known in depth and if this contribution changes with different cultivars of one vegetable species. In addition, not much information has been available on how they affect plant nutrient content and if they can correlate with growth indicators. Therefore, the objective of this study was to assess the effect of arbuscular mycorrhizal fungi, chitosan, and humic acid on growth indicators in two tomato cultivars.

MATERIALS AND METHODS

General Conditions for Developing the Experiment

This research study was performed in a greenhouse of the Faculty of Livestock Sciences of the Universidad Técnica Estatal de Quevedo, located between 01° 06' S and 79° 29' W, at a height of 73 m.

The greenhouse is tropical typology A12, 540 m² long. Inside the greenhouse, temperature reached up to 50 °C and maintained a high relative humidity greater than 80%. The ecological zone where the experiment was established is classified as tropical humid forest with tropical humid climate, in which maximum temperature is 29.3 °C, relative humidity is 86%, with precipitation of 1587.50 mm/year and the heliophany (sunshine duration) of 994.40 h/light/year (INAMHI; Anuario Meteorológico de la Estación Experimental Pichilingue, 2018).

Certified seeds were used from the tomato Floradade and Pomodoro cultivars bought in the market. The seedlings for transplanting were obtained in 24-well plastic trays containing the substrate composed by soil and commercial Sogemix MR (3:1) (Premier Horticulture Ltd. Dorval Quebec CAN). Irrigation was applied once a day with the purpose of avoiding hydric deficit for seedling emergence.

At 21 days after emergence, seedlings were transplanted in 1-kg bags with a mixture of sterile sand and commercial Sogemix MR (Premier Horticulture Ltd. Dorval Quebec CAN) in a ratio of (1:1) when

El sustrato fue suministrado por Premier Horticulture Ltd., Dorval, Quebec, Canadá. El riego aplicado a las bandejas se realizó una vez al día, con el fin de que no existiera déficit hídrico para la emergencia de las plántulas.

Las plantas fueron trasplantadas a los 21 días después de la emergencia, en bolsas 1 kg con una mezcla de arena estéril y sustrato comercial Sogemix MR en una proporción (1:1), momento en que las plantas presentaron una altura promedio de entre 10 y 15 cm. Se colocaron dos plantas en cada bolsa para garantizar el éxito del proceso de trasplante y luego de establecidas, se dejó una de ellas. Después que las plantas fueron trasplantadas, el riego se aplicó una vez al día a razón de 150 mL de agua destilada estéril.

Tratamientos Utilizados y Diseño Experimental

Fueron utilizados 8 tratamientos que consistieron en un control con agua destilada estéril para cada cultivar. y la aplicación de ácido húmico (AH) a una concentración de 1/30 (vol/vol), Hongos micorrízicos arbusculares (HMA) cepa *Glomus mosseae* a razón de (2 mL por planta) con 20 esporas como promedio mL⁻¹ de (HMA) y quitosano (formulación compuesta por quitosano disuelto a 4 g L⁻¹, 0.5% de ácido acético y 0.07% de potasio) (Morales *et al.*, 2015) con concentración de 250 mg ha⁻¹ a los 10 días después del trasplante y luego a inicios de la floración (25 días después del trasplante). Todas las aplicaciones de los bioestimulantes se realizaron foliarmente con un asperjador, a las 8 de la mañana. Los tratamientos fueron distribuidos en un diseño experimental completamente al azar con 40 repeticiones, utilizando 40 macetas por tratamiento, y un total de 320 macetas en la investigación (Cuadro 1).

Variables Evaluadas

A los 45 días después del trasplante, se evaluaron variables como, longitud de raíz y tallo de las plantas en centímetros utilizando una cinta milimetrada. La masa fresca de tallos, hojas y raíces (g pl⁻¹), biomasa de las plantas (g pl⁻¹) se determinó por pesada en una balanza semianalítica Sartorius con un error de 0.01g y la masa seca se determinó luego de secar las muestras en una estufa Binder por 72 h a 65 °C y llevar a masa constante.

plants reached an average height from 10 to 15 cm. Two plants were placed in each bag to guarantee transplant success, and when they were established, only one of them was left. After transplant, irrigation was applied only once a day at a rate of 150 mL of sterile distilled water.

Treatments and Experimental Design

Eight treatments, including one control group with distilled and sterile water for each cultivar (Floradade and Pomodoro), were applied (HA, T1 and T5) of humic acid (at a concentration of 1/30 (vol/vol); (HMA, T2 and T6) of arbuscular mycorrhizal fungus (AMF) *Glomus mosseae* strain at a ratio of 2 mL per plant with 20 spores as average/mL⁻¹ of AMF; and (QS T3 and T7) of chitosan, formulation composed of dissolved chitosan at 4 g L⁻¹, 0.5% of acetic acid and 0.07% of potassium (Morales *et al.* 2015) with a concentration of 250 mg ha⁻¹ at 10 days after transplant and then at the start of flowering (25 days after transplant); (CG, T4 and T8, two water treated control groups). All applications of the biostimulants were performed by spraying leaves at 08:00 h. The treatments were distributed in a completely randomized design with 40 pots per treatment and a total of 320 pots in the research study (Table 1).

Variables Assessed

The variables plant root and stem length were assessed with a millimetric measuring tape at 45 days after transplant. The fresh plant stem, leaf, and root biomass (g pl⁻¹) was determined by weighing with a semi-analytical (Sartorius BL610, Germany) Sartorius balance with an error of 0.01 g, and dry biomass was determined after drying the samples in a Binder stove (Model ED 240, Germany) at 65 °C for 72 h at constant mass.

Nitrogen (N), phosphorus (P), potassium (K), calcium (Ca), and magnesium (Mg) contents were determined in leaf tissue by taking three plants at random from each treatment and following the methodology previously established by INIAP Soils, Plant Tissues and Water Laboratory in Ecuador (NTE, 2014).

Cuadro 1. Descripción de los tratamientos aplicados a plantas de tomate cv. Floradade y Pomodoro.
Table 1. Description of the treatments applied to tomato cv. Floradade and Pomodoro plants.

Cultivares / Cultivars	Tratamientos / Treatments
Floradade	1- Ácidos húmicos (AH) / Humic acid (HA)
	2- Hongos micorrízicos (HMA) / Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF)
	3- Quitosano (QS) / Chitosan (QS)
	4- Control / Control group
Pomodoro	5- Ácidos húmicos (AH) / Humic acid (HA)
	6- Hongos micorrízicos (HMA) / Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF)
	7- Quitosano (QS) / Chitosan (QS)
	8- Control / Control group

Los contenidos de nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca) y magnesio (Mg) Se determinaron en el tejido foliar mediante la toma de tres plantas al azar de cada tratamiento y el análisis en el Laboratorio de Suelos, Tejidos Vegetales y Agua del INIAP, Ecuador según la metodología previamente establecida (NTE, 2014).

Procesamiento Estadístico

Los datos fueron procesados con el paquete Statistica para Windows, versión 10 (StatSoft, 2011). Para determinar si los mismos cumplían con la homogeneidad de varianza, fue realizada la prueba de Cochran, Hartley-Bartlett y para comprobar si se distribuyeron de forma normal, se les realizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov.

Los datos obtenidos se procesaron mediante análisis de varianza de clasificación doble. Para la comparación múltiple de medias, fue usada la prueba de rangos múltiples de Tukey con un error del 5%.

El grado de relación entre las variables del crecimiento y el contenido de nutrientes foliares, se realizó a través de un análisis de correlación utilizando los coeficientes de correlación de Pearson (Conover, 2019).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados demuestran que no existieron respuestas diferentes entre las variedades, sí entre los tratamientos en variables como longitud del tallo y

Statistical Processing

The data were processed with the Statistica package for Windows version 10 (StatSoft, 2011). To determine if they complied with homogeneity of variance and to prove normal distribution, Cochran, Hartley-Bartlett and Kolmogorov-Smirnov tests were performed, respectively.

The data obtained were processed by two-way analysis of variance (ANOVA), and for multiple comparison of means, Tukey's range test was used with an error of 5%.

The relationship degree between growth and leaf nutrient content variables was analyzed by using Pearson's correlation coefficient (Conover, 2019).

RESULTS AND DISCUSSION

The results showed that no different responses existed among the variables but they did among treatments in variables, such as root and stem length and in stem diameter depending on the treatment used (Table 2).

The best response was made evident with the use of the arbuscular mycorrhizal fungus because both cultivars increased stem length and diameter values, as well as root length when compared with the rest of the treatments (Table 2).

The second best behavior was obtained by using humic acid and chitosan, which produced a similar effect in both cultivars used, except for the stem length variable in the Floradade cultivar where the most

raíces, así como diámetro del tallo, en dependencia del tratamiento utilizado (Cuadro 2).

La mejor respuesta fue evidenciada con la utilización de los hongos micorrízicos arbusculares, debido a que en ambos cultivares se incrementaron los valores de la longitud y diámetro del tallo, así como la longitud de las raíces, al ser comparados con el resto de los tratamientos (Cuadro 2).

El segundo mejor comportamiento se obtuvo con la utilización del ácido húmico y quitosano, los cuales produjeron un efecto similar en los dos cultivares utilizados, excepto para la variable longitud del tallo en el cultivar Floradade, donde se manifestó la respuesta más discreta al existir diferencias con respecto a hongos micorrízicos arbusculares y ácido húmico. No obstante, a las diferencias encontradas entre ellos, la aplicación de los bioproductos produjo una estimulación en estas variables que propicio el incremento notable de sus valores con respecto a los controles utilizados, donde se produjo un decrecimiento significativo (Cuadro 3).

Las variables relacionadas con el crecimiento de las plantas, manifestaron una respuesta similar al reaccionar de manera positiva ante los tres bioproductos utilizados, sin embargo, la respuesta al tratamiento difirió entre ellos (Cuadro 3). En este sentido, los mejores resultados se evidenciaron al aplicar HMA al cultivar Pomodoro, seguido la aplicación en el cultivar Floradade, debido a que este bioproducto logró

discrete response was expressed with respect to the differences found in those with arbuscular mycorrhizal fungi and humic acid. Despite the differences found among them, the application of the bioproducts produced a stimulation in these variables boosting a notable increase in their values with respect to the control groups where a significant decrease was observed (Table 3).

The variables related with plant growth showed a similar response when they reacted positively with the three bioproducts used, but the response to the treatment differed among them (Table 3). In this sense, the best results were made evident when HMA was applied to the Pomodoro cultivar, followed by the application in the Floradade cultivar because this bioproduct achieved improving the related variables with biomass accumulation in tomato seedling stem, leaves, and roots with significant differences with respect to the rest of the treatments (Table 3). The second best behavior was obtained when humic acid was applied in both cultivars. However, its results were statistically similar when chitosan was applied although this last one evidenced lower values in Floradade cultivar and in the fresh and dry leaf biomass and fresh root biomass (Table 3).

A similar effect was made evident in total biomass accumulation (Figure 1) where the application of mycorrhizal fungi caused the best effect on the

Cuadro 2. Efecto del quitosano sobre variables relacionadas con el crecimiento de plantas de tomate.

Table 2. Effect of chitosan on variables related with tomato plant growth.

Cultivares / Cultivars	Tratamientos / Treatments	LR	LT	DT
Floradade	AH / HA	8.63 b [†]	13.67 b	0.35 b
	HMA / AMF	12.00 a	15.67 a	0.50 a
	Quitosano / Chitosan	7.47 bc	11.83 c	0.30 b
	Control	5.93 cd	7.33 d	0.21 c
Pomodoro	AH / HA	8.53 b	13.50 bc	0.35 b
	HMA / AMF	12.17 a	16.17 a	0.50 a
	Quitosano / Chitosan	7.83 b	12.00 bc	0.29 b
	Control	5.47 d	7.33 d	0.21 c
Esx		0.49	0.66	0.02

[†] Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas, según la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). Esx = error estándar de la media; AH = ácido húmico, HMA = hongos micorrízicos arbusculares; LR = longitud de la raíz; LT = longitud del tallo; DT = diámetro del tallo.

[†] Different letters in the same column indicate significant differences according to Tukey's ($P \leq 0.05$) test. Esx = standard error of the mean; HA = humic acid; AMF = arbuscular mycorrhizal fungi; LR = root length; LT = stem length; DT = stem diameter.

Cuadro 3. Efecto de la aplicación de ácido húmico, hongos micorrízicos arbusculares y quitosano sobre la biomasa de tallos, hojas y raíces de plantas de tomate.**Table 3. Effect of humic acid, arbuscular mycorrhizal fungi, chitosan application on stem, leaf, and root biomass of tomato plants.**

Cultivares / Cultivars	Tratamientos / Treatments	MFT	MST	MFH	MSH	MFR	MSR
Floradade	AH / HA	2.28 b [†]	0.09 cd	2.32 bc	0.25 d	0.37 b	0.03 c
	HMA / AMF	2.52 a	0.13 ab	2.45 ab	0.32 b	0.49 a	0.06 ab
	Quitosano / Chitosan	1.57 c	0.10 bcd	2.23 c	0.24 de	0.29 bc	0.03 c
	Control	1.29 d	0.06 e	1.45 e	0.20 ef	0.23 c	0.03 c
Pomodoro	AH / HA	2.35 b	0.12 abc	2.39 b	0.31 bc	0.35 b	0.04 bc
	HMA / AMF	2.54 a	0.14 a	2.53 a	0.39 a	0.48 a	0.08 a
	Quitosano / Chitosan	1.58 c	0.08 d	2.25 c	0.27 cd	0.32 b	0.04 bc
	Control	1.20 d	0.04 e	1.60 d	0.16 f	0.23 c	0.03 c
Esx		0.11	0.01	0.08	0.01	0.02	0.001

[†] Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas, según la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). Esx = error estándar; AH = ácido húmico; HMA = hongos micorrízicos arbusculares; MFT = masa fresca del tallo; MST = masa seca del tallo; MFH = masa seca de hojas; MSH = masa seca de hojas; MFR = masa fresca de raíz; MSR = masa seca de raíz.

[†] Different letters in the same column indicate significant differences according to Tukey's ($P \leq 0.05$) test. Esx = standard error of the mean; HA = humic acid; AMF = arbuscular mycorrhizal fungi; MFT = fresh stem biomass; MST = dry stem biomass; MFH = fresh leaf biomass; MSH = dry leaf biomass; MFR = fresh root biomass; MSR = dry root biomass.

el mejoramiento de las variables relacionadas con la acumulación de biomasa en el tallo, hojas y raíces de las plántulas de tomate, con diferencias significativas con relación al resto de los tratamientos (Cuadro 3). El segundo mejor comportamiento se obtuvo al aplicar Ácido húmico en ambos cultivares, sin embargo, sus resultados fueron similares estadísticamente a cuando se aplicó quitosano, aunque en este último se evidenció una tendencia de menores valores en el cultivar Floradade y en las variables masa fresca y seca de las hojas y la masa fresca de las raíces (Cuadro 3).

Un efecto similar se evidenció en la acumulación de biomasa total (Figura 1a), donde la aplicación de hongos micorrízicos provocó el mejor efecto en el cultivar Pomodoro, seguido por Floradade, el que manifestó el segundo mejor comportamiento. Sin embargo, Pomodoro respondió de manera similar a Floradade, cuando se le aplicó ácido húmico (Figura 1b). El uso de Quitosano fue el que menor efecto positivo ejerció sobre la acumulación de biomasa en los dos cultivares utilizados, no existiendo diferencias significativas entre ellos. No obstante, los menores valores de la biomasa en las plantas se manifestaron en el control, donde no se aplicó ningún bioproducto (Figura 1b).

El contenido de nutrientes en la biomasa de las plantas mostró los mejores resultados con la aplicación

Pomodoro cultivar, seguido por Floradade que showed the second best behavior. Nonetheless, Pomodoro responded similarly as Floradade when humic acid was applied (Figure 1b). The use of chitosan was the one that exerted the least positive effect on biomass accumulation of both cultivars used with no significant differences between them. Surprisingly, the best plant biomass values were expressed in the control where no bioproduct was applied (Figure 1b).

Nutrient content in plant biomass showed the best results with AMF application (Table 4). In this manner, ions, such as N, K⁺, Ca²⁺, and Mg²⁺ increased significantly in both cultivars with the use of mycorrhizal fungi; however, their application had an opposite effect in the case of phosphorus concentration since a significant biomass decrease was observed. This result constituted a contradictory behavior because a notorious influence of arbuscular mycorrhizal fungi on plants is their role in solubilizing this element in soil, making it easier to be absorbed by the roots (Salvioli *et al.*, 2012; Johri *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2018). In this case, the treatment with the most influence was humic acid in both cultivars used, which showed the greatest values. However, no notable differences were observed with respect to chitosan application including the control group, which made evident that the bioproducts

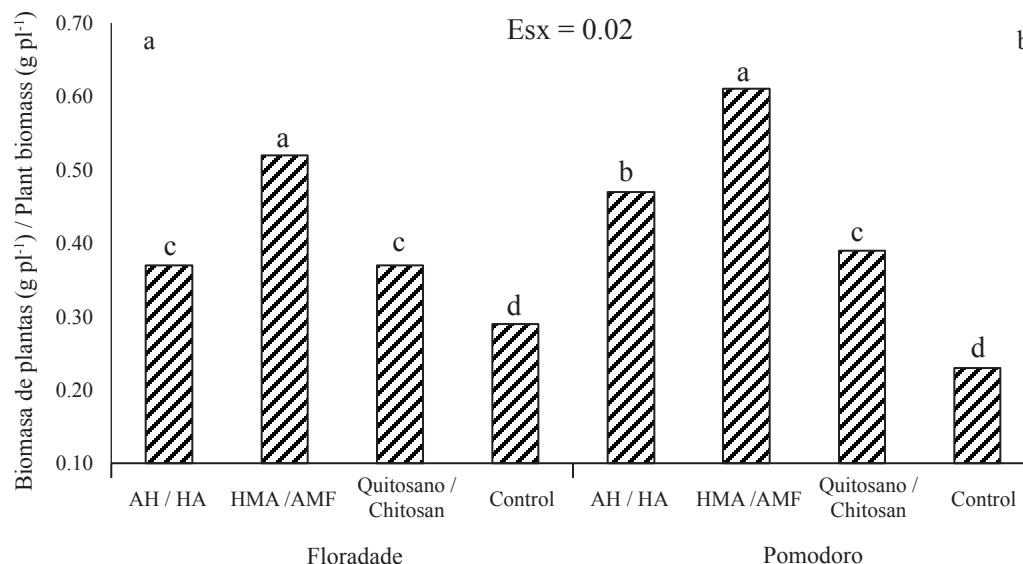


Figura 1. Efecto de la aplicación de ácido húmico, hongos micorrízicos arbusculares y quitosano sobre la biomasa de plantas de tomate. AH = ácido húmico; HMA = hongos micorrízicos arbusculares. Medias con letras distintas en las barras, indican diferencias significativas, según la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

Figure 1. Effect of humic acid, arbuscular mycorrhizal fungi, and chitosan application on tomato plant biomass. HA = humic acid; AMF = arbuscular mycorrhizal fungi; Quitosano = chitosan. Median with different letters on bars indicate significant differences according to Tukey's ($P \leq 0.05$) test.

de HMA (Cuadro 4). De esta forma, la concentración de iones como N, K^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+} en los dos cultivares se incrementó de manera significativa con el uso de los hongos micorrízicos, sin embargo, la aplicación de estos tuvo un efecto contrario en el caso de la concentración de fósforo, debido a que esta manifestó un decrecimiento significativo en la biomasa, lo cual constituye un comportamiento contradictorio, pues una de las influencias más notorias de los hongos micorrízicos arbusculares sobre las plantas es su papel en la solubilización de este elemento en el suelo, poniéndolo de una forma asimilable para la absorción por las raíces (Salvioli *et al.*, 2012; Johri *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2018). En este caso, el tratamiento de mayor influencia fue el ácido húmico en los dos cultivares usados, los cuales presentaron los mayores valores, sin embargo, no existieron diferencias notables con respecto a la aplicación de quitosano e incluso el control, lo cual evidencia que los bioproductos ejercieron muy poca influencia en la movilización de este elemento hacia la planta, debido a que las mismas en condiciones naturales fueron capaces de suplir sus necesidades en la nutrición fosfórica, probablemente por la alta disponibilidad de este elemento en el sustrato utilizado.

exerted very little influence in transporting this element toward the plant; because of their own natural conditions, they were capable of supplying their needs in phosphorus nutrition, probably because of the high availability of this element in the substrate used.

The correlation analysis performed (Table 5) showed a significantly strong and positive lineal relationship in the majority of the variables assessed with the exception of phosphorus content, which expressed the weakest and negative relationship with variables, such as root and stem length, stem diameter, fresh and dry root, stem and leaf biomass. Nonetheless, the rest of the elements, such as N, K^+ , Ca^{2+} , and Mg^{2+} had a strong influence on these variables. In the case of N, it had a very high influence on stem length (0.97***) and BMPL (0.94***), as well as in the case of K^+ on the variables DT (0.97***), MFR (0.97***), and LR (0.95***); in the case of Ca^{2+} , it was LT (0.95***), DT (0.92***), MFT (0.95***), MST (0.90***), MSH (0.92***), and BMPL (0.93***), and lastly Mg^{2+} showed a high relationship with LR (0.95***), LT (0.96***), DT (0.96***), MFR (0.93***), MSH (0.94***), and BMPL (0.94***).

In this manner, we could assert that in this research study, phosphorus concentration in tissues did not

Cuadro 4. Efecto de la aplicación de ácido húmico, hongos micorrízicos, y quitosano sobre el contenido de minerales en la biomasa de plantas de tomate.**Table 4. Effect of humic acid, arbuscular mycorrhizal fungi, and chitosan application on mineral content in tomato plant biomass.**

Cultivares / Cultivars	Tratamientos / Treatments	N	P	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺
		- - - - - mg pl ⁻¹ - - - - -			- - - - - % - - - - -	
Floradade	AH / HA	3.50 bc [†]	0.80 a	3.37 b	1.61 cd	0.83 c
	HMA / AMF	4.43 a	0.11 b	4.43 a	1.74 ab	1.10 a
	Quitosano / Chitosan	3.03 c	0.60 ab	2.57 cd	1.51 e	0.78 c
	Control	1.73 d	0.40 ab	1.93 e	1.38 f	0.54 d
Pomodoro	AH / HA	3.63 b	0.77 a	3.20 b	1.65 bc	0.91 b
	HMA / AMF	4.63 a	0.12 b	4.40 a	1.76 a	1.11 a
	Quitosano / Chitosan	3.23 bc	0.60 ab	3.07 bc	1.53 de	0.84 c
	Control	1.93 d	0.40 ab	2.10 de	1.38 f	0.53 e
Esx		0.21	0.06	0.19	0.03	0.04

[†] Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas, según la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). Esx = error estándar; AH = ácido húmico; HMA = hongos micorrízicos arbusculares; N = nitrógeno; P = fósforo; K⁺ = potasio; Ca²⁺ = calcio; Mg²⁺ = magnesio.

[†] Different letters in the same column indicate significant differences according to Tukey's ($P \leq 0.05$) test. Esx = standard error; HA = humic acid; AMF = arbuscular mycorrhizal fungi; N = nitrogen; P = phosphorus; K⁺ = potassium; Ca²⁺ = calcium; Mg²⁺ = magnesium.

El análisis de correlación realizado (Cuadro 5), demostró una relación lineal significativa fuerte y positiva en la mayoría de las variables evaluadas, exceptuando el contenido de fósforo, quien manifestó las relaciones más débiles y además negativas con variables como la longitud de la raíz y del tallo, diámetro del tallo, la masa fresca y seca de raíz, tallos y hojas. Sin embargo, el resto de los elementos como N, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, tuvieron una influencia marcada esas variables. En el caso del N tuvo una influencia muy alta sobre la longitud del tallo (0.97***), y la BMPL (0.94***), así como en el caso del K⁺ sobre variables como el DT (0.97***), la MFR (0.97***), y la LR (0.95***), mientras que en el caso del Ca²⁺, la LT (0.95***), DT (0.92***), MFT (0.95***), MST (0.90***), MSH (0.92***), y BMPL (0.93***), y por último el Mg²⁺, que presentó una alta relación con la LR (0.95***), LT (0.96***), DT (0.96***), MFR (0.93***), MSH (0.94***), BMPL (0.94***).

Siendo de esta forma, podría aseverarse que, en esta investigación, la concentración de fósforo en los tejidos, no guarda una relación estrecha con ninguna de las variables relacionadas con el crecimiento y acumulación de biomasa en las plantas y si de manera muy estrecha, el contenido de nitrógeno, potasio, calcio y magnesio.

keep a close relationship with any of the variables mentioned with respect to plant growth and biomass accumulation, contrasting with a very close one with nitrogen, potassium, and magnesium.

Studies have shown the importance of using bioactive products; for example, humic substances may affect plant metabolism directly, exerting an influence in ion transport, facilitating absorption, increasing respiration, speeding enzymatic reaction of Krebs cycle, which results in a greater metabolic energy in the form of adenosine triphosphate (ATP), favoring increase in chlorophyll content, nucleic acid synthesis, selective effect on protein synthesis and increasing or inhibiting different enzymes (Khaleda *et al.*, 2017; Noroozisharaf and Kaviani, 2018; Shah *et al.*, 2018; You *et al.*, 2018). In this manner, the beneficial effect of humic acids may be direct or indirect and related on the one hand, with facilitating nutrient absorption and on the other hand, producing physiological alteration that contributes to tomato plant growth. The experiment in this study showed that humic acids reached as tendency the second best result independently of the cultivar used as expressed in all the variables related with root and stem length, dry stem, leaf, and root biomass, and the increase in leaf concentration of elements, such as nitrogen, phosphorus, and potassium (Table 1, 2, and 3).

Cuadro 5. Coeficientes de correlación entre variables relacionadas con el crecimiento y el contenido de nutrientes foliares plantas de tomate, cultivares Floradade y Pomodoro.**Table 5. Coefficient of correlation among the variables related to plant growth and leaf nutrient content of tomato plant cultivars Floradade and Pomodoro.**

	N	P	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺
LR	0.94*** †	-0.41ns	0.95***	0.91***	0.95***
LT	0.97***	-0.18ns	0.92***	0.95***	0.96***
DT	0.94***	-0.40ns	0.97***	0.92***	0.96***
MFR	0.93***	-0.39ns	0.97***	0.91***	0.93***
MFT	0.92***	-0.14ns	0.91***	0.95***	0.90***
MFH	0.94***	0.01ns	0.85***	0.89***	0.92***
MSR	0.84***	-0.52ns	0.85***	0.79***	0.82***
MST	0.90***	-0.31ns	0.84***	0.90***	0.91***
MSH	0.93***	-0.32ns	0.88***	0.92***	0.94***
BMPL	0.94***	-0.35ns	0.89***	0.93***	0.94***

† *** $P \leq 0.0001$, según análisis de correlación de Pearson (Conover, 1999). Nivel de significación $P < 0.05$ N = 24. LR = longitud de la raíz; LT = longitud del tallo; DT = diámetro del tallo; MFR = masa fresca de la raíz; MFT = masa fresca del tallo; MFH = masa fresca de hojas; MSR = masa seca de la raíz; MST = masa seca del tallo; MSH = masa seca de hojas; N = nitrógeno; P = fósforo; K = potasio; Ca = calcio; Mg = magnesio.

† *** $P \leq 0.0001$, according to Pearson's correlation analysis (Conover, 1999). Level of significance $P < 0.05$ N = 24. LR = root length; LT = stem length; DT = stem diameter; MFR = fresh root biomass; MFT = fresh stem biomass; MFH = fresh leaf biomass; MSR = dry root biomass; MST = dry stem biomass; MSH = dry leaf biomass; N = nitrogen; P = phosphorus; K = potassium; Ca = calcium; Mg = magnesium.

Se ha demostrado por diversos investigadores la importancia del uso de los productos bioactivos, las sustancias húmicas por ejemplo pueden afectar directamente el metabolismo de las plantas al ejercer una influencia sobre el transporte de iones facilitando su absorción, incrementa la respiración, la velocidad de las reacciones enzimáticas del ciclo de Krebs, lo que resulta en una mayor producción de energía metabólica en forma de ATP, propicia el incremento del contenido la clorofila, el aumento de la síntesis de ácidos nucleicos, el efecto selectivo sobre la síntesis proteica y el incremento o inhibición de diversas enzimas (Khaleda *et al.*, 2017; Noroozisharaf y Kaviani, 2018; Shah *et al.*, 2018; You *et al.*, 2018). Siendo de esta forma, el efecto benéfico de los ácidos húmicos puede ser directo o indirecta y puede estar relacionado a que, por una parte, pueden facilitar la absorción de nutrientes y por otra, producen alteraciones fisiológicas que contribuyen el crecimiento de las plantas de tomate, como se manifestó sobre todo en variables relacionadas con la longitud de raíces y tallos, la masa seca de tallos, hojas y raíces y el incremento de la concentración foliar de elementos como el nitrógeno, fósforo y potasio de este

With respect to chitosan, it produced benefits on the variables related to growth and development of tomato cultivation, which at the same time kept a close relationship with improving the related variables with yield (Terry *et al.*, 2017; Chun and Chandrasekaran, 2018). Other authors (Paul *et al.*, 2018) have agreed that it stimulates several physiological processes in plants and has an influence on increasing cell size, maintaining a close relationship with plant nutrient content, which is reflected subsequently on improving the variables related to cultivation growth and yield.

Despite the results obtained in this experiment by chitosan in growth variables, such as stem and root length and plant biomass, as well as in leaf nutrient content, in general, they were surpassed by the use of humic acid and arbuscular mycorrhizal fungi, occasionally including similar to the control groups. This expression could be explained by the fact that in association to the stimulating effect, chitosan showed a stimulating (eliciting) activity of defense reactions that increased enzyme synthesis and defensive metabolites, which bring about an additional energy demand obtained precisely from the accumulated reserves

experimento, en el que los ácidos húmicos alcanzaron como tendencia el segundo mejor resultado con independencia del cultivar utilizado (Cuadros 1, 2 y 3).

El quitosano por su parte, produce beneficio sobre variables relacionadas con el crecimiento y desarrollo del cultivo del tomate, lo cual a su vez guarda una estrecha relación con el mejoramiento de variables relacionadas con el rendimiento (Terry *et al.*, 2017; Chun y Chandrasekaran, 2018). Otros autores como (Paul *et al.*, 2018), coinciden en que estimula diversos procesos fisiológicos en la planta y tiene una influencia en el incremento del tamaño de las células, lo que guarda una estrecha relación con el contenido de nutrientes por las plantas, que se refleja posteriormente en el mejoramiento de variables relacionadas con el crecimiento y rendimiento del cultivo.

Sin embargo, en este experimento los resultados obtenidos por el quitosano en las variables del crecimiento, como longitud y masa de tallos y raíces, biomasa de las plantas, así como en el contenido de nutrientes foliares, por lo general fueron superados por la utilización del ácido húmico y los hongos micorrizógenos, siendo incluso en ocasiones similares al control, manifestación que pudiera ser explicada por el hecho de que, asociado al efecto estimulante, también el quitosano presenta una actividad estimuladora de reacciones de defensa (elicitora) que aumenta la síntesis de enzimas y metabolitos defensivos, lo que trae consigo una demanda adicional de energía que se obtiene precisamente de las reservas acumuladas en la planta, siendo así, el efecto positivo para variables relacionadas con el crecimiento podría no manifestarse (Giner *et al.*, 2012; Chun y Chandrasekaran, 2018; Divya *et al.*, 2018b; Charitidis *et al.*, 2019).

No obstante, a estos resultados, las plantas de tomate tuvieron una mejor respuesta a la aplicación de hongos micorrízicos con relación al uso del quitosano y el ácido húmico con independencia del cultivar utilizado, efecto que pudiera estar relacionado a la versatilidad de estos microorganismos (Martanto *et al.*, 2018; Piculell *et al.*, 2018; Chialva *et al.*, 2019). Algunos de los efectos más notorios está relacionado con su influencia en la nutrición mineral sobre todo de P y N así como la absorción de agua por las raíces, su función protectora contra microorganismos patógenos, pero además confieren a las plantas tolerancia a diferentes

in the plant. Thus, the positive effect for the related variables to growth might not be expressed (Giner *et al.*, 2012; Chun and Chandrasekaran, 2018; Divya *et al.*, 2018b; Charitidis *et al.*, 2019).

Notwithstanding these results, the tomato plants had a better response to the application of arbuscular mycorrhizal fungi related to the use of chitosan and humic acid, independently of the cultivar used, which could have been related to the versatility of these microorganisms (Martanto *et al.*, 2018; Piculell *et al.*, 2018; Chialva *et al.*, 2019) which can be accompanied by changes in its structure, were already reported during plant interactions with other organisms, such as the mycorrhizal fungi. Arbuscular mycorrhizal (AM). Some of the most notorious effects were related to its influence in mineral nutrition, above all of P and N, as well as with root water absorption, its protective function against pathogenic microorganisms and conferring tolerance to plants to different types of biotic and abiotic stresses. All of these benefits were expressed subsequently with the increase of leaf and radicle biomass, leaf nutrient concentration, and cultivation yield (Liao *et al.*, 2018; Chialva *et al.*, 2019). The results obtained in this research study agree with those described previously, except for those related to phosphorus content in plant tissues, element that decreased its concentration when mycorrhizal fungi were used (Table 3); in addition, it showed a weak and negative relationship with the other variables assessed (Table 4), which does not agree with the results of the majority of research works related to the topic (Salvioli *et al.*, 2012; Duc *et al.*, 2018; Chialva *et al.*, 2019).

Nevertheless, the use of the three bioproducts exerted an important effect on the majority of the variables assessed, which favored their values to go beyond the control groups although better results were reached with the use of arbuscular mycorrhizal fungi.

CONCLUSIONS

The arbuscular mycorrhizal fungi exerted the greatest effect on plant growth indicators of the Floradade and Pomodoro cultivars among all the treatments. The leaf phosphorus content was not an adequate indicator to correlate plant growth because it did not keep a direct relationship with biomass accumulation.

tipos de estrés bióticos y abióticos, todo lo cual, se manifiesta posteriormente en el incremento de la masa foliar y radicular, el aumento de la concentración de nutrientes foliares y el rendimiento del cultivo (Liao *et al.*, 2018; Chialva *et al.*, 2019). Los resultados obtenidos en esta investigación, coinciden con los descritos anteriormente, excepto, con los relacionados al contenido de fósforo en los tejidos de las plantas, elemento que disminuyó su concentración cuando fueron utilizadas las micorrizas (Cuadro 3) y presentó además una relación débil y negativa con el resto de las variables evaluadas (Cuadro 4), lo cual no coincide con los resultados de la mayoría de las investigaciones relacionada con el tema (Salvioli *et al.*, 2012; Duc *et al.*, 2018; Chialva *et al.*, 2019).

No obstante, a lo anteriormente descrito, el uso de los tres bioproductos, ejerció un importante efecto sobre la mayoría de las variables evaluadas que propició que los valores de las mismas superaran al control, aunque los mejores resultados fueron alcanzados por el uso de los hongos micorrízicos arbusculares.

CONCLUSIONES

- Los hongos micorrízicos arbusculares ejercieron el mayor efecto sobre los indicadores del crecimiento de las plantas de los cultivares Floradade y Pomodoro entre todos los tratamientos.
- El contenido foliar de fósforo no es un indicador adecuado para correlacionar el crecimiento vegetal, pues no guarda relación directa con la acumulación de biomasa.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, por el apoyo otorgado a través del Fondo Competitivo de Investigación Científica y Tecnológica (FOCICYT) 6^{ta} Convocatoria, a través del proyecto “Evaluación de derivados de Quitosano en la producción sostenible de hortalizas en sistema de cultivo orgánico”.

-Fin de la versión en español-

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to the Universidad Técnica Estatal de Quevedo for the support granted through the Fondo Competitivo de Investigación Científica y Tecnológica (FOCICYT) 6^{ta} Convocatoria (6th Call), through the project “Evaluación de derivados de Quitosano en la producción sostenible de hortalizas en sistema de cultivo orgánico”; D. Fischer provided translation and editorial services.

-End of english version-

REFERENCIAS / REFERENCES

- Abd El-Aziz, M. E., S. M. M. Morsi, D. M. Salama, M. S. Abdel-Aziz, M. S. Abd Elwahed, E. A. Shaaban, and A. M. Youssef. 2019. Preparation and characterization of chitosan/polyacrylic acid/copper nanocomposites and their impact on onion production. *Int. J. Biol. Macromol.* 123: 856-865. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.155>.
- Agbodjato, N. A., P. A. Noumavo, A. Adjanohoun, L. Agbessi, and L. Baba-Moussa. 2016. Synergistic effects of plant growth promoting rhizobacteria and chitosan on in vitro seeds germination, greenhouse growth, and nutrient uptake of maize (*Zea mays* L.). *Biotechnol. Res. Int.* 2016: ID 7830182. doi: <https://doi.org/10.1155/2016/7830182>.
- Conover, W. J. 2019. *Practical Nonparametric Statistics* [online]. Wiley. ISBN: 978-0-471-16068-7. <https://www.wiley.com/en-us/+Nonparametric+Statistics%2C+3rd+Edition-p-9780471160687> (Consulta: junio 16, 2019).
- Barbosa, H. F. G., M. Attijoui, A. P. Garci-Ferreira, E. R. Dockal, N. E. El Gueddari, B. M. Moerschbacher, and E. T. Gomes-Cavaleiro. 2017. Synthesis, characterization and biological activities of biopolymeric schiff bases prepared with chitosan and salicylaldehydes and their Pd(II) and Pt(II) complexes. *Molecules* 22: 1-19. doi: <https://doi.org/10.3390/molecules22111987>.
- da Silva-Campos, M. A., F. S. Barbosa-da Silva, A. M. Yano-Melo, N. F. de Melo, E. M. Regis-Pedrosa, and L. Costa-Maia. 2013. Responses of Guava Plants to Inoculation with Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Soil Infested with *Meloidogyne enterolobii*. *Plant Pathol. J.* 29: 242-248. doi: <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.10.2012.0156>.
- Capstaff, N. M. and A. J. Miller. 2018. Improving the yield and nutritional quality of forage crops. *Front. Plant Sci.* 9: 1-18. doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00535>.

- Charitidis, C. A., D. A. Dragatogiannis, E. Milioni, M. Kaliva, M. Vamvakaki, and M. Chatzinikolaïdou. 2019. Synthesis, nanomechanical characterization and biocompatibility of a chitosan-graft-poly(ϵ -caprolactone) copolymer for soft tissue regeneration. *Materials* (Basel) 12: 1-21. doi: <https://doi.org/10.3390/ma12010150>.
- Chialva, M., J. U. Fangel, M. Novero, I. Zouari, A. Salvioli di Fossalunga, W. G. T. Willats, P. Bonfante, and R. Balestrini. 2019. Understanding changes in tomato cell walls in roots and fruits: The contribution of arbuscular mycorrhizal colonization. *Int. J. Mol. Sci.* 20: 415. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms20020415>.
- Chun, S.-C. and M. Chandrasekaran. 2018. Chitosan and chitosan nanoparticles induced expression of pathogenesis-related proteins enhances biotic stress tolerance in tomato. *Int. J. Biol. Macromol.* 125: 948-954. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.167>.
- Divya, K., V. Smitha, and M. S. Jisha. 2018a. Antifungal, antioxidant and cytotoxic activities of chitosan nanoparticles and its use as an edible coating on vegetables. *Int. J. Biol. Macromol.* 114: 572-577. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.03.130>.
- Divya, K., S. Vijayan, S. J. Nair, and M. S. Jisha. 2018b. Optimization of chitosan nanoparticle synthesis and its potential application as germination elicitor of *Oryza sativa* L. *Int. J. Biol. Macromol.* 124: 1053-1059. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.185>.
- Duc, N. H., Z. Csintalan, and K. Posta. 2018. Arbuscular mycorrhizal fungi mitigate negative effects of combined drought and heat stress on tomato plants. *Plant Physiol. Biochem.* 132: 297-307. doi: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.09.011>.
- Emamverdian, A., Y. Ding, F. Mokherdoran, and Y. Xie. 2015. Heavy metal stress and some mechanisms of plant defense response. *Sci. World J.* 2015: 1-18. ID 756120. doi: <https://doi.org/10.1155/2015/756120>.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2018. FAOStat. Obtenido de <http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/browse/Q/QC/S> (Consulta: agosto 20, 2018).
- Giachin, G., R. Nepravishta, W. Mandaliti, S. Melino, A. Margon, D. Scaini, P. Mazzei, A. Piccolo, G. Legname, M. Paci, and L. Leita. 2017. The mechanisms of humic substances self-assembly with biological molecules: The case study of the prion protein. *PLoS One* 12: e0188308. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188308>.
- Giner, M. J., S. Vegara, L. Funes, N. Martí, D. Saura, V. Micol, and M. Valero. 2012. Antimicrobial activity of food-compatible plant extracts and chitosan against naturally occurring microorganisms in tomato juice. *J. Sci. Food Agric.* 92: 1917-1923. doi: <https://doi.org/10.1002/jsfa.5561>.
- Hastak, V., S. Bandi, S. Kashyap, S. Singh, S. Luqman, M. Lodhe, D. R. Peshwe, and A. K. Srivastav. 2018. Antioxidant efficacy of chitosan/graphene functionalized superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 29: 154. doi: <https://doi.org/10.1007/s10856-018-6163-0>.
- Ho-Plágaro, T., N. Molinero-Rosales, D. Fariña Flores, M. Villena Díaz, and J. M. García-Garrido. 2019. Identification and expression analysis of GRAS transcription factor genes involved in the control of arbuscular mycorrhizal development in tomato. *Front. Plant Sci.* 10: 1-14. doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00268>.
- Johri, A. K., R. Oelmüller, M. Dua, V. Yadav, M. Kumar, N. Tuteja, A. Varma, P. Bonfante, B. L. Persson, R. M. Stroud. 2015. Fungal association and utilization of phosphate by plants: success, limitations, and future prospects. *Front. Microbiol.* 6: 984. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00984>.
- Khaleda, L., H. J. Park, D. J. Yun, J. R. Jeon, M. G. Kim, J. Y. Cha, and W. Y. Kim. 2017. Humic acid confers HIGH-AFFINITY K⁺ TRANSPORTER 1-mediated salinity stress tolerance in arabidopsis. *Mol. Cells* 40: 966-975. doi: <https://doi.org/10.14348/molcells.2017.0229>.
- Liao, D., X. Sun, N. Wang, F. Song, and Y. Liang. 2018. Tomato LysM receptor-like kinase SLYK12 is involved in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Front. Plant Sci.* 9: 1004. doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01004>.
- Martanto, E. A., C. A. Pentury, and A. Suparno. 2018. Response to growth and yield of tomatoes inoculated by FMA in Fusarium control (*Fusarium oxysporum* f.sp. lycopersici). *J. Progr. Pascasarjana* 1: 133-140.
- Morales-Guevara, D., L. T. Torres Hernández, E. Jerez Mompié, A. Falcón Rodríguez y J. Dell'Amico Rodríguez. 2015. Efecto del Quitomax en el crecimiento y rendimiento del cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.). *Cult. Trop.* 36: 133-143.
- NTE (Norma Técnica Ecuatoriana). 2014. INEN 1909, frutas frescas. Tomate de árbol. Requisitos código ICS:67.080. Disponible en: http://www.normalizacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2014/02nte_inen_1909_2r.pdf (Consulta: julio 28, 2019).
- Noroozisharaf, A. and M. Kaviani. 2018. Effect of soil application of humic acid on nutrients uptake, essential oil and chemical compositions of garden thyme (*Thymus vulgaris* L.) under greenhouse conditions. *Physiol. Mol. Biol. Plants* 24: 423-431. doi: <https://doi.org/10.1007/s12298-018-0510-y>.
- Paul, S. K., S. Sarkar, L. N. Sethi, and S. K. Ghosh. 2018. Development of chitosan based optimized edible coating for tomato (*Solanum lycopersicum*) and its characterization. *J. Food Sci. Technol.* 55: 2446-2456. doi: <https://doi.org/10.1007/S13197-018-3162-6>.
- Picullell, B. J., L. G. Eckhardt, and J. D. Hoeksema. 2018. Genetically determined fungal pathogen tolerance and soil variation influence ectomycorrhizal traits of loblolly pine. *Ecol. Evol.* 8: 9646-9656. doi: <https://doi.org/10.1002/ece3.4355>.
- Plá, C. L. and L. Cobos-Porras. 2015. Salinity: Physiological impacts on legume nitrogen fixation. pp. 35-65. In: S. Sulieman and L. S. Tran (eds.). *Legume nitrogen fixation in a changing environment*. Springer. Online ISBN: 978-3-319-06212-9.
- Pretty, J. 2008. Agricultural sustainability: Concepts, principles and evidence. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 363: 447-465. doi: <https://doi.org/10.1098/rstb.2007.2163>.
- Raza, A., A. Razzaq, S. S. Mehmood, X. Zou, X. Zhang, Y. Lv, and J. Xu. 2019. Impact of climate change on crops adaptation and strategies to tackle its outcome: A review. *Plants* 8: 34. doi: <https://doi.org/10.3390/plants8020034>.
- Reyes-Pérez, J. J., E. A. Enriquez-Acosta, B. Murillo-Amador, M. A. Ramírez-Arrebató, A. T. Rodríguez-Pedroso, L. Lara-Capistrán, and L. G. Hernández-Montiel. 2018. Physiological, phenological and productive responses of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants treated with Quitomax. *Cienc. Inv. Agr.* 45: 120-127. doi: <http://dx.doi.org/10.7764/rcia.v45i2.1943>.

- Salvioli, A., I. Zouari, M. Chalot, and P. Bonfante. 2012. The arbuscular mycorrhizal status has an impact on the transcriptome profile and amino acid composition of tomato fruit. *BMC Plant Biol.* 12: 44. doi: <https://doi.org/10.1186/1471-2229-12-44>.
- Shah, Z. H., H. M. Rehman, T. Akhtar, H. Alsamadany, B. T. Hamooh, T. Mujtaba, I. Daur, Y. Al Zahrani, H. A. S. Alzahrani, S. Ali, S. H. Yang, and G. Chung. 2018. Humic substances: Determining potential molecular regulatory processes in plants. *Front. Plant Sci.* 9: PMC5861677. doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00263>.
- SINAGAP (Sistema de Información Nacional de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca). 2013. Producción. Obtenido de uso del suelo: <http://sinagap.agricultura.gob.ec/reporte-por-provincias>. (Consulta: junio 16, 2019).
- Singh, A. 2015. Soil salinization and waterlogging: A threat to environment and agricultural sustainability. *Ecol. Indic.* 57: 128-130. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2015.04.027>.
- StatSoft, Inc. 2011. STATISTICA (data analysis software system), version 10. www.statsoft.com.
- Terry-Alfonso, E., A. Falcón-Rodríguez, J. Ruiz-Padrón, Y. Carrillo-Sosa y H. Morales-Morales. 2017. Respuesta agronómica del cultivo de tomate al bioproducto Quitosano®. *Cult. Trop.* 38: 147-154.
- Wang, C., J. B. Reid, and E. Foo. 2018. The art of self-control - autoregulation of plant-microbe symbioses. *Front. Plant Sci.* 9: 988. doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00988>.
- You, W., H.-C. Liu, J.-W. Cao, Y.-L. Shen, and W. Chen. 2018. [Removal of humic acid from water by magnetic chitosan-grafted polyacrylamide]. *Huan Jing Ke Xue* 39: 5532-5540. doi: <https://doi.org/10.13227/j.hjhx.201803074>.