

Obtención de hidrogeles de quitosano con estabilidad mecánica para su aplicación en suelos de cultivo y como sustrato en la germinación de semillas

Obtaining Chitosan Hydrogels with Mechanical Stability for Application in Cultivation Soils and as a Substrate in Seed Germination

  Adrián Chávez-Huerta¹;  Sabrina Acevedo¹;  Enmanuel Luzardo¹;  Ingrid Antúñez¹;
 Gabriel Galbán¹;  María Muñoz¹

¹Fundación Instituto Zuliano de Investigaciones Tecnológicas, Zulia - Venezuela

Correspondencia: ajchavez3000@gmail.com

Recibido: 04 Septiembre 2025

Aceptado: 23 Julio 2026

Disponible: 30 Julio 2026

Cómo citar / How to cite

A. Chávez-Huerta, S. Acevedo, E. Luzardo, I. Antúñez, G. Galbán, and M. Muñoz, "Obtención de hidrogeles de quitosano con estabilidad mecánica para su aplicación en suelos de cultivo y como sustrato en la germinación de semillas" *Tecnológicas*, vol. 29, no. 66, e3638, 2026. <https://doi.org/10.22430/22565337.3638>



Resumen

Los hidrogeles basados en biopolímeros representan una alternativa sustentable para mitigar el impacto del estrés hídrico en la agricultura contemporánea. Con el objetivo de evaluar su potencial, esta investigación abordó la síntesis, caracterización estructural y desempeño agronómico de hidrogeles de quitosano entrecruzados con glutaraldehído (1 %, 2,5 % y 5 % v/v) como enmienda edáfica y sustrato de germinación. Metodológicamente, mediante espectroscopía de infrarrojos (FTIR, por sus siglas en inglés) se confirmó la formación de enlaces tipo imina ($1637,88\text{ cm}^{-1}$), implementando una técnica de fragmentación y sellado químico por inmersión secundaria para optimizar la estabilidad mecánica del hidrogel, y cuyos efectos se validaron estadísticamente mediante un ANOVA de dos vías. Los resultados demostraron una interacción significativa entre la densidad de la red tridimensional y la difusión de agua. La formulación al 1 % v/v maximizó el hinchamiento hídrico (838 %), mientras que la de 5 % v/v lo restringió (305 %). Agronómicamente, la incorporación del hidrogel en suelos xerófilos para el cultivo de *Carica papaya* incrementó la retención de humedad en un 82 % y elevó la capacidad de intercambio catiónico a $2,18\text{ meq}/100\text{ g}$ a los 60 días. Asimismo, funcionó como soporte hidropónico autónomo para *Phaseolus vulgaris*, *Lens culinaris*, *Solanum tuberosum* y *Allium sativum*. Finalmente, se determinó que, bajo condiciones de estrés hídrico extremo, el hidrogel actúa como un amortiguador hídrico y nutricional eficiente que prolonga los ciclos vitales de las plántulas entre 28 y 77 días antes de manifestar clorosis foliar, consolidándose como una enmienda viable para optimizar la productividad y fertilidad edáfica en regiones áridas.

Palabras clave

Estabilidad mecánica, germinación de semillas, hidrogeles de quitosano, quitosano entrecruzado, sustrato.

Abstract

Biopolymer-based hydrogels represent a sustainable alternative to mitigate the impact of water stress in contemporary agriculture. To evaluate their potential, this research addressed the synthesis, structural characterization, and agronomic performance of chitosan hydrogels cross-linked with glutaraldehyde (1%, 2.5%, and 5% v/v) as a soil amendment and germination substrate. Methodologically, the formation of imine-type bonds (1637.88 cm^{-1}) was confirmed via Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR spectroscopy), implementing a fragmentation and chemical sealing technique by secondary immersion to optimize the mechanical stability of the hydrogel, and the effects of which were statistically validated using a two-way ANOVA. The results demonstrated a significant interaction between the three-dimensional network density and water diffusion. The 1% v/v formulation maximized water swelling (838%), whereas the 5% v/v formulation restricted it (305%). Agronomically, the incorporation of hydrogel into xerophilous soils for *Carica papaya* cultivation increased moisture retention by 82% and raised the cation exchange capacity to 2.18 meq/100 g at 60 days. Furthermore, it functioned as an autonomous hydroponic support for *Phaseolus vulgaris*, *Lens culinaris*, *Solanum tuberosum*, and *Allium sativum*. Finally, it was determined that, under extreme water stress conditions, the hydrogel acts as an efficient water and nutritional buffer that prolongs the life cycles of seedlings between 28 and 77 days before manifesting foliar chlorosis, consolidating itself as a viable amendment to optimize soil productivity and fertility in arid regions.

Keywords

Mechanical stability, seed germination, chitosan hydrogels, cross-linked chitosan, substrate.

1. INTRODUCCIÓN

La quitina representa uno de los recursos biológicos menos utilizados del planeta, a pesar de ser el segundo polímero natural con mayor presencia, superado únicamente por la celulosa. Con una capacidad de regeneración anual estimada en 100 millones de toneladas, su potencial como biomasa disponible es inmenso, pero es descartado como un desecho. Aunque este polisacárido es fundamental en diversos organismos como hongos, protozoos y moluscos, su obtención industrial encuentra en él un material estratégico aprovechándose de los exoesqueletos de crustáceos (cangrejos y camarones). Estos subproductos, derivados de la industria pesquera, transforman lo que usualmente se considera un desecho ambiental en una fuente primaria de materia prima de bajo costo. De este modo, la valoración de la quitina no solo ofrece una alternativa sostenible para la síntesis de nuevos materiales, sino que también responde a la necesidad de implementar procesos de economía circular en la gestión de residuos marinos [[2]. En general, la quitina puede aprovecharse para la obtención del biopolímero especializado de alto valor agregado y derivado funcional, el quitosano [[2]. El quitosano es un polisacárido conformado por unidades de 2-amino-2-desoxi α -D-glucopiranosas y 2-acetamida-2-desoxi- α -D-glucopiranosas [[3].

Las tecnologías de cultivo sin suelo como un sustrato de quitosano representan un avance con respecto a los primeros sistemas hidropónicos, como los encontrados en las antiguas civilizaciones a lo largo del Nilo y en los históricos jardines flotantes de China. Estos precursores han dado forma a la práctica moderna de la agricultura vertical, que utiliza sistemas de cultivo escalonados en entornos ambientales controlados. La agricultura vertical permite la producción de cultivos en diversos ecosistemas, incluyendo regiones áridas, entornos urbanos y, potencialmente, hábitats extraterrestres, lo que indica una transición hacia una mayor flexibilidad en la ubicación de las iniciativas agrícolas [[4]. La agricultura vertical se distingue por su uso eficiente de recursos esenciales como el espacio, el agua y los nutrientes, lo que reduce la dependencia de pesticidas y fertilizantes en comparación con los métodos agrícolas convencionales. Su eficiencia en el uso de los recursos se complementa, además, con su resiliencia ante adversidades, como los fenómenos climáticos extremos, la degradación del suelo, la expansión urbana, las crisis sanitarias, los conflictos y los desafíos en la cadena de suministro, lo que mejora la seguridad alimentaria [[5].

Gracias a su funcionalidad, el quitosano destaca en la biomedicina (regeneración de tejidos), la industria alimentaria (empaques y conservantes) y la agroindustria (tratamiento de aguas y semillas). Sin embargo, su mayor potencial actual como agroquímico reside en el

desarrollo de hidrogeles, los cuales ofrecen una solución avanzada para la agricultura en climas extremos al optimizar la retención de agua y nutrientes en el suelo, superando la eficacia de los sustratos tradicionales [[6]. Cabe destacar que el uso de agroquímicos de origen natural como el quitosano, es una alternativa eco-amigable que no ocasiona daños a la salud del ser humano. El quitosano se caracteriza por presentar biocompatibilidad, biodegradabilidad y buena actividad antifúngica y antimicrobiana; por lo tanto, es favorable su uso como agroquímico [[7]. También se ha empleado como fertilizante foliar en cultivos [[8].

Los hidrogeles se definen como materiales compuestos de polímeros absorbentes que contienen más de un 50 % de agua. Destacan por su variedad estructural, permitiendo la creación de microambientes óptimos para la estabilidad de macromoléculas y el transporte eficiente de nutrientes hacia el medio ambiente. En particular, cuando provienen del quitosano ofrecen beneficios adicionales como una excelente respuesta biológica y una degradación lenta, sumado a una metodología de obtención técnicamente sencilla. Es importante destacar que el comportamiento higroscópico de estas matrices (su capacidad de absorción y liberación de agua) está condicionado estrictamente por su formulación química y las variables del entorno de síntesis. Esta flexibilidad permite que el hidrogel se adapte a requerimientos específicos, funcionando no solo como soporte físico, sino como un sistema de regulación hídrica [[7]. Un hidrogel de quitosano entrecruzado químicamente está compuesto por una red conectada por enlaces covalentes, con múltiples grupos funcionales amino e hidroxilo en la cadena polimérica, que reaccionan con el agente entrecruzante para formar una estructura tridimensional estable [[9]. La formación de enlaces covalentes resulta en una estructura de hidrogel con mayor rigidez y estabilidad que con un entrecruzamiento iónico [[9]. Los hidrogeles entrecruzados químicamente (también conocidos como hidrogeles verdaderos) se sintetizan uniendo dos moléculas del polímero mediante enlaces covalentes formados con un compuesto entrecruzante bifuncional. Lo que resulta en un hidrogel que a menudo es permanente, irreversible y estable. El quitosano se entrecruza fácilmente debido a los grupos hidroxilo y amino extremadamente reactivos en la cadena polimérica, lo que le confiere mejores capacidades mecánicas, estabilidad estructural, propiedades bacteriostáticas y biocompatibilidad [0].

Los hidrogeles de quitosano al formar estructuras tridimensionales tienden a hincharse en presencia de agua o fluidos biológicos. La capacidad de un hidrogel para captar humedad en entornos controlados está intrínsecamente ligada a su arquitectura tridimensional y a la rigidez de su red polimérica [11]. El índice de hinchamiento es el parámetro crítico en este proceso, el cual cuantifica el volumen de fluido que el hidrogel puede retener. Esta propiedad es altamente variable: un incremento en los segmentos hidrófilos dentro de la estructura potencia la absorción de agua, a través de interacciones moleculares específicas; por el contrario, la incorporación de monómeros hidrófobos o un aumento en la densidad de entrecruzamiento restringen la expansión de las cadenas y disminuyen la absorción de agua. Bajo esta lógica, el control de la estequiometría durante la síntesis permite “diseñar” hidrogeles según el requerimiento [[13]. Por lo anteriormente expuesto, los hidrogeles de quitosano, al ser biodegradables, biocompatibles y no tóxicos, pueden emplearse en aplicaciones agrícolas como material de mantenimiento hídrico, en zonas donde la materia orgánica es muy baja y existe escasez de agua, aportando al suelo una gran cantidad de nutrientes, que son adsorbidos y liberados por la estructura del hidrogel, además de una gran cantidad de agua durante un largo periodo de tiempo, dependiendo del hidrogel obtenido [[13].

Esta investigación tuvo como objetivo el entrecruzamiento de quitosano con glutaraldehído para la formación del hidrogel empleado en suelos y como sustrato para la germinación de semillas.

2. METODOLOGÍA

2.1 Muestras y reactivos

El quitosano se obtuvo a partir de exoesqueletos de crustáceos recolectados en el Lago de Maracaibo (Venezuela), los cuales fueron suministrados por la empresa Clifford de Venezuela C.A. Se utilizaron los siguientes reactivos: agua desionizada (99,97 %), ácido clorhídrico (HCl) (Riedel de Häen) para la desmineralización, ácido acético (CH₃COOH) (Merck) para disolver el quitosano, hidróxido de sodio (NaOH) (Merck) para la desproteínización y desacetilación. Glutaraldehído (Riedel de Häen). Se utilizó agar dextrosa de patata (PDA) (HIMEDIA) y sulfato de estreptomicina como agente antimicrobiano en el medio de cultivo.

2.2 Obtención de quitosano

El procesamiento inicial de los exoesqueletos de cangrejo consistió en su limpieza y secado térmico (100 °C por 1 h), seguidos de una trituración hasta alcanzar partículas de aproximadamente 4 mm. La obtención de quitina se llevó a cabo mediante una desproteínización en NaOH al 10 % m/V y una posterior desmineralización con HCl 6 M a temperatura ambiente durante una hora. Para la conversión a quitosano, la quitina se sometió a dos ciclos de desacetilación térmica (100-110 °C) empleando NaOH al 30 % m/V por 4 h. Finalmente, el producto se purificó mediante lavado con agua desionizada, filtración y secado ambiental, utilizando reactivos de grado analítico [8].

2.3 Preparación de hidrogeles

Se preparó el hidrogel entrecruzado a partir de 2 L de una solución de quitosano al 2 % m/V, diluida en ácido acético al 1 % v/v; se adicionaron volúmenes de 20 mL, 50 mL y 100 mL de glutaraldehído (25 % v/v), manteniendo la agitación constante durante 1 hora para obtener las muestras 1, 2 y 3 respectivamente. Posteriormente el hidrogel se sometió a un proceso de sellado químico; esto se logró fragmentando el hidrogel en pequeños trozos de 1-2 cm de diámetro e introduciéndolos en 1 L de glutaraldehído al 1 % v/v, durante 1 hora. Luego se lavó el hidrogel con abundante agua destilada ajustando el pH a un rango de 6.0-7.0 con KOH para su posterior aplicación en los suelos y sustratos. Se realizaron pruebas de gelificación de hidrogeles a temperatura ambiente y a 50 °C. Finalmente, el contenido de red insoluble (fracción de gel) se determinó, según (1) [14], mediante la diferencia de masa, tras introducir la muestra de hidrogel en ácido acético concentrado durante 24 horas.

$$\text{Contenido de red insoluble} = \left(\frac{W_1}{W_0} \right) * 100 \% \quad (1)$$

Donde W_1 es el peso de la muestra después de la inmersión y W_0 el peso de la muestra antes de la inmersión.

2.4 Aplicación de hidrogeles en los suelos y como sustrato

La aplicación del hidrogel de quitosano se llevó a cabo en una granja experimental, ubicada en una zona xerófila del municipio La Cañada de Urdaneta del Estado Zulia (Venezuela). El ensayo consistió en un grupo experimental de 50 ejemplares de lechosa (*Carica papaya*) tratados con hidrogel y un grupo control de 50 plantas. Se introdujeron 20 g del hidrogel hidratado a 30 cm del lado derecho (con respecto a los surcos) de la base de cada planta. Posteriormente se registró el crecimiento en altura de las plantas (cm) cada 15 días. Para los ensayos de germinación, se colocaron 20 g de los sustratos hidratados en cada una de las

secciones de la cámara de germinación ($n=15$) a temperatura ambiente (25°C) y se agregaron semillas certificadas de frijol negro, lentejas, ajo y papa. El porcentaje de germinación se calculó según (2) [[15], donde Sg es el número de semillas germinadas y St el número total de semillas.

$$\% \text{ Germinación} = \left(\frac{Sg}{St} \right) * 100 \% \quad (2)$$

2.5 Diseño experimental y análisis estadístico

Para garantizar la validez de los resultados experimentales, la metodología se estructuró bajo un diseño riguroso y se aplicó un ANOVA de dos vías para analizar estadísticamente la información. Este modelo estadístico factorial permitió evaluar correctamente la interacción directa entre los distintos factores, tales como la concentración del agente entrecruzante (1 %, 2,5 % y 5 % v/v) y el grado de hinchamiento o el tiempo de desarrollo. Asimismo, el ensayo en campo con ejemplares de *Carica papaya* ($n=50$ por grupo) se respaldó estadísticamente para confirmar la significancia en el aumento de retención de la humedad y la capacidad de intercambio catiónico frente a los controles.

2.6 Caracterización de los hidrogeles

Se realizó la caracterización de los hidrogeles mediante la espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR), la cual constituye una herramienta analítica esencial para evaluar la modificación estructural de la red polimérica; esta técnica permite identificar el acoplamiento del agente entrecruzante (o el monómero correspondiente) mediante el monitoreo y variación de las bandas de absorción vibracionales correspondientes a sus grupos funcionales distintivos. [[13]. Mediante esta técnica, se compararon los espectros del quitosano, del glutaraldehído y el hidrogel de quitosano entrecruzado, para confirmar el cambio de grupos funcionales. Para determinar el grado de desacetilación se utilizó el método de Brugnerotto [[16], según (3), donde A es el área de la banda, y DA es el grado de acetilación.

$$\frac{A_{1320}}{A_{1420}} = 0,3822 + 0,03133DA \quad (3)$$

La capacidad de absorción de agua (hinchamiento) de los hidrogeles se realizó mediante gravimetría. Inicialmente las muestras se secaron en vacío a 37°C durante 20 horas para obtener la masa del hidrogel seco (Mgs). Posteriormente, el hidrogel se introdujo en agua destilada durante 24 horas para alcanzar el equilibrio de hinchamiento, luego las muestras se extrajeron de la solución y se secaron rápidamente con papel de filtro y se pesaron para determinar la masa del hidrogel hinchado (Mgh). El porcentaje de hinchamiento (Hn) se determinó utilizando (4) [[9]:

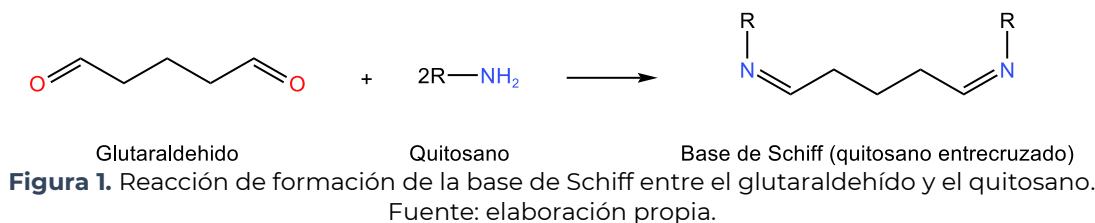
$$Hn = \left(\frac{Mgh - Mgs}{Mgs} \right) * 100 \quad (4)$$

La morfología de los hidrogeles de quitosano se analizó mediante microscopía electrónica de barrido (SEM). Para ello, se utilizó un microscopio dotado con un cañón de electrones por emisión de campo, que alcanza hasta 30 kV. Se empleó un accesorio porta muestras de aluminio, una cinta de grafito conductora y pinzas de acero. El análisis se llevó a cabo dentro de la cámara de especímenes en el modo ambiental (ESEM), bajo condiciones controladas de presión [[9].

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Hidrogeles de quitosano

En esta investigación se utilizó un quitosano con un grado de desacetilación de 92 %, obtenido en el laboratorio según el método de [8], como precursor en la reacción con glutaraldehído y formación del hidrogel. La red entrecruzada se produce por medio de la reacción entre el glutaraldehído y el quitosano mediante una adición nucleofílica seguida de eliminación (deshidratación), cuando reaccionan los grupos amino del quitosano y los grupos aldehído del glutaraldehído. Este proceso da como resultado la formación de las bases de Schiff (grupos imina); cuando la reacción se produce de forma bifuncional en ambos extremos de la molécula del glutaraldehído, se puede decir que ocurrió el entrecruzamiento entre las cadenas poliméricas [16]. En la Figura 1 se observa una representación esquemática de tal reacción.



En la Figura 2 se presenta el hidrogel entrecruzado de quitano obtenido con la metodología descrita. Al someterlo a inmersión en agua desionizada durante 24 horas, el material mostró una estabilidad en su peso del 98 %. Se observó que los hidrogeles sintetizados con baja concentración de glutaraldehído presentaban inestabilidad en las primeras 24 horas, mostrando una separación de la fase gelatinosa y la fase acuosa; esto sugiere una reacción incompleta que requiere más concentración de agente entrecruzante. Por tal motivo, se implementó un sellado químico de la capa externa con una segunda adición de glutaraldehído [17]. Este procedimiento consistió en la fragmentación del hidrogel en secciones menores y su posterior inmersión en una solución del agente entrecruzante, logrando una estabilidad superior a un mes y, en muestras con alta concentración, superior a un año. Todos los hidrogeles estables se formaron a temperatura ambiente (25 °C), en concordancia a lo reportado en la literatura [18]. Por el contrario, a 50 °C se observó la degradación y posible oxidación térmica del quitano. El contenido de red insoluble (fracción de gel) fue de 67 %, valor suficiente para garantizar la estabilidad del hidrogel.



Figura 2. Hidrogel de quitano entrecruzado con glutaraldehído al 1 % v/v. Fuente: elaboración propia.

3.2 Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR)

En esta investigación se determinó el grado de desacetilación (GDD), el cual define la proporción relativa de grupos amino libres distribuidos a lo largo de la cadena polimérica. Se obtuvo un quitosano con un grado de desacetilación del 90,7 %. Dicho parámetro se evaluó mediante la metodología propuesta por [16], la cual cuantifica inicialmente el porcentaje de acetilación (DA) a partir de la relación de absorbancias de las bandas a 1320 cm^{-1} (asociada a la vibración de la amida III) y 1420 cm^{-1} (A_{1320}/A_{1420}), sirviendo de base para el cálculo final del GDD. También se obtuvieron los espectros FTIR de las muestras de hidrogel de quitosano entrecruzado. En la Figura 3, se presenta la comparación entre los espectros de quitosano, el glutaraldehído y el hidrogel resultante, en ella se evidencia una disminución significativa de la banda amina primaria del quitosano a 1593 cm^{-1} , y de la banda del grupo carbonilo del glutaraldehído a 1713 cm^{-1} . Simultáneamente, en el espectro del hidrogel aparece la banda característica del enlace imina en $1637,88\text{ cm}^{-1}$. Al igual que lo reportado por [19], se constata que el grupo funcional imina se genera producto del entrecruzamiento, donde la banda de absorción a 1638 cm^{-1} corresponde a la vibración de estiramiento del enlace imina ($\text{C}=\text{N}$). Estos resultados concuerdan con estudios previos que emplearon la misma ruta sintética, asignando la señal de la imina a 1568 cm^{-1} y la vibración de estiramiento superpuesta de los grupos $-\text{NH}$ y $-\text{OH}$ a 3326 cm^{-1} . Se observó que la intensidad de ambas señales aumentó proporcionalmente con el contenido de red insoluble en los hidrogeles [19].

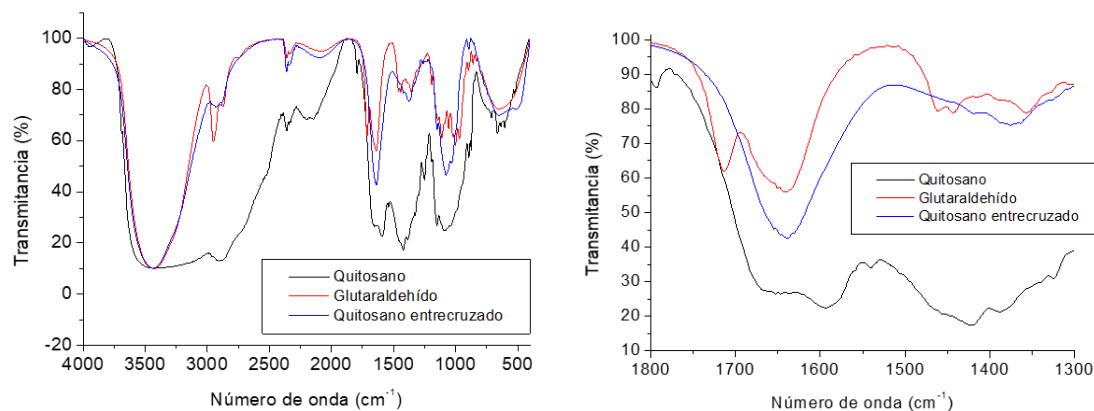


Figura 3. FTIR de quitosano (negro), glutaraldehído (rojo) y quitosano entrecruzado (azul).
Fuente: elaboración propia.

3.3 Prueba de absorción de agua

La síntesis de los hidrogeles de quitosano involucra la formación de una red tridimensional interconectada, la cual se logra mediante el empleo de agentes entrecruzantes bifuncionales (con dos grupos funcionales) que enlazan químicamente las cadenas del polímero, los cuales establecen enlaces químicos entre las cadenas del polímero. Esta disposición estructural confiere a los hidrogeles su capacidad característica de hinchamiento al interactuar con medios acuosos o soluciones biológicas. En consecuencia, la respuesta del hidrogel en entornos de humedad controlada no es aleatoria, sino que está directamente ligada a la densidad de entrecruzamiento y al arreglo interno de la red, factores que determinan el volumen final de absorción. En general, el hinchamiento a partir del estado seco confirma la formación efectiva del entrecruzamiento [15]. De este modo, la propiedad más relevante de los hidrogeles es el índice de hinchamiento, el cual mide la cantidad de fluido capaz de ser retenido en su interior; diversos estudios han demostrado que variando la composición inicial y la densidad de enlaces del hidrogel se modula directamente dicho índice [18]. Los resultados

experimentales, detallados en la Tabla 1, revelan una correlación inversa entre el grado de hinchamiento y la concentración del agente entrecruzante (glutaraldehído). Este fenómeno se atribuye a que un incremento en la densidad de entrecruzamiento reduce el volumen libre intersticial y restringe la movilidad de las cadenas de quitosano, lo que limita físicamente la difusión y el alojamiento de las moléculas de agua dentro de la red. En consecuencia, a mayor contenido de glutaraldehído, el hidrogel se vuelve más rígido y compacto, disminuyendo su capacidad de expansión. Esta respuesta estructural es consistente con la Figura 4, donde se observa que las muestras con mayor grado de entrecruzamiento (muestras 2 y 3) presentan una fragmentación más marcada en comparación con la muestra 1 tras la hidratación, evidenciando una mayor fragilidad mecánica debido a la rigidez de la red.

Tabla 1. Resultados de la prueba de hinchamiento (n=5). Fuente: elaboración propia.

Quitosano (% m/v)	Glutaraldehído (% v/v)	Hidrogel		Hinchamiento (% Hn)
		Mgs (g)	Mgh (g)	
2	1	1,040 ± 0,03	9,863 ± 0,26	838 ± 73 ^a
2	2,5	1,046 ± 0,05	5,590 ± 0,32	418 ± 50 ^b
2	5	1,035 ± 0,07	4,366 ± 0,16	305 ± 79 ^c

ANOVA unifactorial: $F_{(2,12)}=78,37$; $p<0,0001$. Tukey HSD: 1 % vs 2,5 % $p < 0,001$; 1 % vs 5 % $p < 0,001$; 2,5 % vs 5 % $p = 0,043$.

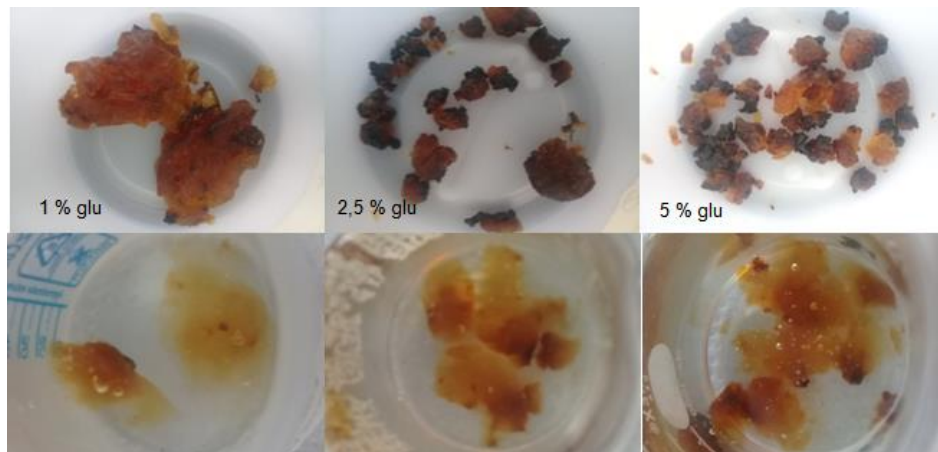


Figura 4. Hidrogeles de quitosano entrecruzado con glutaraldehído al 1 %, 2,5 % y 5 %, antes y después del hinchamiento). Fuente: elaboración propia.

La Figura 4 muestra el grado de hinchamiento de los hidrogeles de quitosano entrecruzados con glutaraldehído al 1 %, 2,5 % y 5 % (v/v), tras un período de inmersión de 24 horas en agua a temperatura ambiente (25 °C). Se aprecia una variación en la intensidad del color de las muestras; específicamente, la muestra 1 presenta una coloración más clara en comparación con las muestras 2 y 3. Este incremento en la tonalidad oscura está directamente relacionado con una mayor densidad de entrecruzamiento y la formación de un mayor número de bases de Schiff en la red polimérica [18].

Un aspecto metodológico que distingue y aporta novedad a esta investigación frente a la literatura convencional es la implementación del "sellado químico" del hidrogel. Típicamente, los hidrogeles de quitosano sintetizados con bajas concentraciones de agente entrecruzante presentan inestabilidad estructural y una rápida separación de la fase gelatinosa y la fase acuosa en las primeras 24 horas, como consecuencia de reacciones cinéticamente incompletas. Para superar esta limitación, el procedimiento de fragmentación seguido de una inmersión secundaria en glutaraldehído al 1 % v/v permitió consolidar una reticulación tridimensional robusta en la superficie exterior del material sin comprometer la hidrofiliidad de su núcleo. Este enfoque resuelve la clásica disyuntiva técnica en el diseño de hidrogeles: logra mantener la extraordinaria capacidad de absorción hídrica propia de una red laxa (con

un hinchamiento del 838 %), al mismo tiempo que le confiere una estabilidad mecánica prolongada, superior a un mes, resultando en un sustrato operativamente viable y resiliente para su aplicación a largo plazo en condiciones edáficas reales.

3.4 Microscopia electrónica de barrido (SEM)

La Figura 5 presenta la micrografía obtenida mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) del hidrogel de quitosano entrecruzado con glutaraldehído. En la imagen se aprecia una morfología fibrosa resultante del proceso de entrecruzamiento, así como una superficie irregular con una porosidad incipiente organizada en patrones de cuadrículas. Estas características concuerdan con lo reportado por [20], quienes describen una topografía rugosa y la formación de una red de poros definida, elementos fundamentales para facilitar la difusión de agua y el alojamiento de solutos dentro del hidrogel.

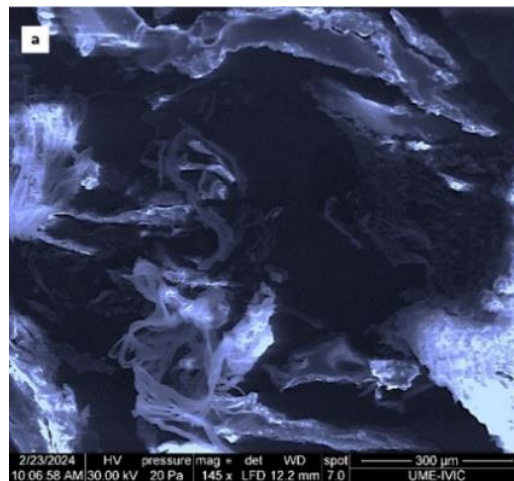


Figura 5. Micrografía SEM de a) hidrogel entrecruzado de quitosano con glutaraldehído al 1 % v/v a 300 µm. Fuente: elaboración propia.

3.5 Germinación de semillas en el sustrato

Los resultados del experimento con el sustrato de quitosano entrecruzado se muestran en la Tabla 2, donde se observa un alto porcentaje de germinación de semillas (en la mayoría de los casos) y, al contrario, no hubo germinación en el sustrato de agar en las condiciones empleadas, en papel húmedo si hubo germinación. Todos los sustratos mantuvieron su estabilidad por más de 30 días. En la literatura se ha reportado que se han utilizado mezclas de quitosano con otros compuestos, en los que se obtuvieron mejores resultados con la adición de los polisacáridos de sábila y de alginato, mostrando una mayor capacidad para retener agua, siendo el polisacárido de sábila el principal polímero retenedor de agua [[21].

Tabla 2. Porcentaje de germinación de semillas en el hidrogel. (ANOVA de dos vías, seguido de Tukey HSD, $p < 0,05$). Fuente: elaboración propia.

Sustrato (n=5)	Germinación (%)				pH
	Lentejas	Frijol negro	Ajo	Papas	
Hidrogel 1 %	80,0 ± 7,4 ^a ^a	66,0 ± 4,6 ^a ^a	74,8 ± 3,8 ^a ^a	65,0 ± 3,1 ^a ^a	7
Hidrogel 2.5 %	49,6 ± 1,1 ^b ^a	52,2 ± 0,8 ^b ^a	57,4 ± 1,1 ^b ^a	32,0 ± 1,6 ^b ^a	7
Hidrogel 5 %	43,6 ± 3,8 ^c ^a	47,4 ± 1,1 ^c ^a	55,8 ± 3,0 ^b ^a	20,8 ± 1,3 ^c ^a	7
Papel húmedo	45,2 ± 2,2 ^b ^c ^a	47,2 ± 3,3 ^c ^a	54,8 ± 1,9 ^b ^a	0 ^d ^a	7
PDA	0 ^d ^a	0 ^d ^a	0 ^c ^a	0 ^d ^a	6-7

Los porcentajes de germinación se analizaron mediante un ANOVA de dos vías (sustrato $\times$ especie) seguido de la prueba post-hoc de Tukey ($\alpha = 0,05$). Se encontraron efectos significativos del sustrato ($F(4,80) = 602,4$; $p < 0,0001$), de la especie ($F(3,80) = 370,2$; $p < 0,0001$) y de la interacción entre ambos factores ($F(12,80) = 58,7$; $p < 0,0001$). En general, el hidrogel al 1 % produjo la germinación más alta en todas las especies (80,0 % en lentejas, 66,0 % en frijol negro, 74,8 % en ajo y 65,0 % en papa), superando significativamente a las demás formulaciones ($p < 0,001$). Los sustratos con hidrogel al 2,5 % y 5 %, así como el papel húmedo, presentaron un comportamiento similar para lentejas, ajo y frijol negro, pero en papa el hidrogel al 5 % fue superior al papel húmedo (20,8 % vs. 0 %; $p < 0,001$). No se observó germinación en el medio PDA para ninguna especie.

La Figura 6 ilustra la evaluación del hidrogel de quitosano entrecruzado como sustrato de crecimiento para diversas especies vegetales: frijol negro (*Phaseolus vulgaris*), lentejas (*Lens culinaris*), papa (*Solanum tuberosum*) y ajo (*Allium sativum*). En todos los casos se registró una germinación exitosa y una fase de desarrollo estable durante los primeros 30 días, período en el cual el sustrato mantuvo su integridad estructural. Las plántulas permanecieron viables sin la adición de nutrientes externos hasta el agotamiento del soporte polimérico.

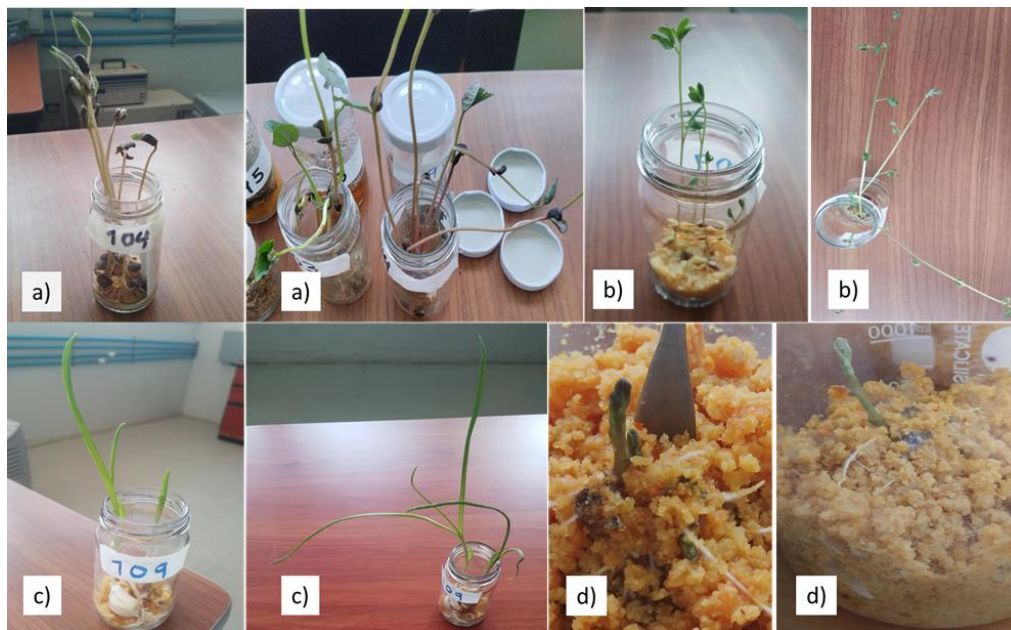


Figura 6. Crecimiento de plántulas a los 7 días y a los 30 días de a) frijol negro, b) lentejas, c) ajo, d) papas, en el sustrato. Fuente: elaboración propia.

Se observaron variaciones en la longevidad según la especie: las plántulas de papa mostraron una viabilidad de 28 días, mientras que las de frijol negro perduraron durante 36 días antes de perecer por déficit hídrico y falta de sustrato. En el caso del ajo, el ciclo se extendió hasta los 42 días, momento en el que se evidenció clorosis (coloración amarillenta) por carencia nutricional. Notablemente, las plántulas de lentejas exhibieron la mayor resistencia, permaneciendo estables durante 77 días hasta el consumo total del sustrato. Estos resultados sugieren que el hidrogel actúa no solo como retenedor de humedad, sino como un soporte físico biocompatible capaz de sustentar el crecimiento vegetal inicial. Como grupo control, se realizaron ensayos de germinación utilizando papel de filtro como sustrato convencional. En este caso, la viabilidad de las plántulas fue drásticamente inferior, no superando los 15 días de vida. Este resultado resalta la superioridad del hidrogel de quitosano entrecruzado, el cual, gracias a su capacidad de retención hídrica y estabilidad estructural, permitió incrementar en un factor de tres a cinco el tiempo de supervivencia de las especies evaluadas frente al método tradicional.

3.6 Aplicación en suelos

Se llevó a cabo un muestreo inicial del suelo previo a la incorporación del hidrogel para establecer una línea base de sus propiedades fisicoquímicas, incluyendo humedad (H), contenido de materia orgánica (MO) y capacidad de intercambio catiónico (CIC). Como se detalla en la Tabla 3, se registró un incremento significativo en todos los parámetros evaluados tras la aplicación del hidrogel en comparación con el grupo control (sin hidrogel). En total, se sintetizaron 2 kg de hidrogel de quitosano, los cuales fueron aplicados directamente en la zona radicular de plantas de lechosa (*Carica papaya*). La Figura 7 documenta el proceso de aplicación en campo, evidenciando el potencial de este biopolímero no solo como retenedor hídrico, sino como una enmienda capaz de mejorar la fertilidad edáfica en zonas xerófilas.

Tabla 3. Altura promedio de plantas de lechosa. Fuente: elaboración propia.

Tiempo (días)	Altura de plantas (n=50)		Diferencia (%)	p-valor (t)	H (%)	MO (%)	CIC (meq/100 g)
	Control (cm)	Hidrogel (cm)					
Inicial	12,40 ± 0,65	13,05 ± 0,15	5,21	0,097	4,05±0,05	0,32±0,02	1,40±0,05
15	34,39 ± 0,50	35,32 ± 0,27	2,70	0,011	-	-	-
30	36,46 ± 0,05	39,44 ± 0,05	8,18	< 0,0001	-	-	-
45	38,06 ± 0,04	42,53 ± 0,05	11,75	< 0,0001	-	-	-
60	43,64 ± 0,02	46,56 ± 0,04	6,70	< 0,0001	7,38±0,30	0,39±0,02	2,18±0,06

Humedad (H), Materia orgánica (MO) y capacidad de intercambio catiónico (CIC).



Figura 7. Aplicación del hidrogel a la siembra de lechosa en una granja de clima xerófilo. Fuente: elaboración propia.

Los resultados de crecimiento en altura para el cultivo de lechosa (*Carica papaya*) se presentan en la Tabla 3. Se observa que las plantas tratadas con 20 g de hidrogel bajo la superficie mostraron, en promedio, una altura superior en comparación con el grupo control (n=50). Este efecto se atribuye a que el quitosano actúa como un bioestimulante que promueve el desarrollo vegetativo, aumenta el rendimiento de los cultivos y reduce la incidencia de hongos fitopatógenos [22]-[24]. Además, el hidrogel modifica las interacciones planta-microbiota e induce la acumulación de metabolitos secundarios vinculados a los mecanismos de defensa vegetal. Un aspecto crítico es la capacidad del quitosano para mitigar la eutrofización causada por el lixiviado de nutrientes (nitrógeno y fósforo) hacia los cuerpos de agua. Debido a la naturaleza catiónica del quitosano en medios ligeramente ácidos, la superficie del hidrogel desarrolla una carga positiva que facilita la adsorción de iones con carga negativa como PO_4^{3-} , NO_2^- y NO_3^- . Esta interacción, mediada por fuerzas de Van der Waals y afinidad electrostática, mejora la eficacia de sorción de nutrientes y, consecuentemente, incrementa la capacidad de intercambio catiónico (CIC) y el contenido de materia orgánica del suelo [23].

Para determinar de manera integral las ventajas agronómicas del hidrogel de quitosano, la evaluación del desempeño no se limitó al monitoreo del crecimiento longitudinal (altura) de las plantas. Se analizaron variables fisicoquímicas críticas de la rizosfera antes y después de la aplicación del biopolímero, registrándose incrementos sustanciales en el porcentaje de humedad edáfica, la acumulación de materia orgánica y un aumento en la capacidad de intercambio catiónico (CIC) hasta 2,18 meq/100 g a los 60 días. Adicionalmente, durante los ensayos de germinación *in vitro*, se cuantificó la resistencia temporal al estrés hídrico y nutricional, evaluando la viabilidad y longevidad de las plántulas sin el aporte de fertilizantes exógenos. El monitoreo de estas variables demostró que el hidrogel actúa como un amortiguador integral, soportando ciclos vitales extendidos de entre 28 y 77 días previos a la aparición de déficit sistémico o clorosis foliar, lo que evidencia un desempeño multifactorial superior frente a los sustratos de control.

El análisis estadístico mediante prueba *t* de Student para muestras independientes reveló que, a partir de los 15 días, las plantas tratadas con hidrogel presentaron una altura significativamente mayor que las del grupo control ($p = 0,011$ a los 15 días; $p < 0,0001$ a los 30, 45 y 60 días). A los 60 días, el suelo tratado con hidrogel mostró un incremento muy significativo en la humedad ($7,38 \pm 0,30$ % frente a $4,05 \pm 0,05$ % inicial; $t = 24,3$; $p < 0,0001$), en la materia orgánica ($0,39 \pm 0,02$ % vs. $0,32 \pm 0,02$ %; $t = 5,37$; $p = 0,001$) y en la capacidad de intercambio catiónico ($2,18 \pm 0,06$ vs. $1,40 \pm 0,05$ meq/100 g; $t = 23,9$; $p < 0,0001$). Estos resultados confirman que la incorporación del hidrogel de quitosano mejora sustancialmente la fertilidad y la retención hídrica del suelo en condiciones xerófilas.

Para delimitar claramente las ventajas y desventajas de los métodos propuestos, la principal ventaja de la síntesis radica en la formación de enlaces covalentes tipo imina (comprobados por la banda FTIR a $1637,88 \text{ cm}^{-1}$), lo que confiere al hidrogel una estabilidad estructural sobresaliente y un hinchamiento de hasta 838 % que mejora sustancialmente las propiedades edáficas de zonas áridas. Por el contrario, como desventaja técnica se observó que las proporciones elevadas de glutaraldehído (5 % v/v) incrementan excesivamente la densidad de la red tridimensional, reduciendo de manera drástica el volumen libre para la difusión de agua (disminución del hinchamiento al 321 %) y limitando su eficiencia agronómica frente a formulaciones más diluidas.

4. CONCLUSIONES

Se logró la obtención y caracterización estructural de hidrogeles a partir de quitosano entrecruzado con glutaraldehído en proporciones de 1 %, 2,5 % y 5 % v/v, confirmando mediante espectroscopía de infrarrojo (FTIR) la formación de enlaces covalentes tipo imina a través de la banda a $1637,88 \text{ cm}^{-1}$. La optimización de la síntesis mediante la técnica de fragmentación y posterior inmersión secundaria (sellado químico) demostró ser una alternativa innovadora y eficaz frente a los métodos convencionales de la literatura, proporcionando una estabilidad mecánica prolongada en condiciones edáficas reales sin comprometer la capacidad de absorción del núcleo polimérico. El análisis estadístico mediante un modelo de ANOVA de dos vías confirmó con alta significancia la interacción directa entre la densidad de entrecruzamiento y las propiedades físicas del material, determinando que el hidrogel obtenido al 1 % v/v maximiza el índice de hinchamiento hídrico hasta un 838 %, mientras que la concentración al 5 % v/v restringe el volumen libre intersticial, disminuyendo la difusión del agua a un 305 %.

Desde la perspectiva agronómica, la incorporación del hidrogel en suelos xerófilos demostró un desempeño multifactorial superior que trasciende la simple evaluación del crecimiento longitudinal de las plantas. El análisis de la rizosfera evidenció mejoras críticas en las propiedades fisicoquímicas del sustrato, reflejadas en un incremento del 82 % en la retención de humedad, una mayor acumulación de materia orgánica y una elevación de la capacidad de intercambio catiónico (CIC) hasta alcanzar valores de 2,18 meq/100 g a los 60 días.

de evaluación en cultivos de Carica papaya. Asimismo, los ensayos de germinación y desarrollo inicial confirmaron la viabilidad de este hidrogel como un medio de soporte hidropónico autónomo y eficiente para las especies *Phaseolus vulgaris*, *Lens culinaris*, *Solanum tuberosum* y *Allium sativum*. El monitoreo temporal bajo condiciones de estrés hídrico extremo demostró que el hidrogel actúa como un amortiguador hídrico y nutricional que prolonga los ciclos vitales de las plántulas entre 28 y 77 días antes de la aparición de clorosis foliar o déficit sistémico, consolidándose como una enmienda edáfica con alto potencial para la sostenibilidad agrícola en regiones áridas.

5. AGRADECIMIENTO Y FINANCIACIÓN

Los autores agradecen al Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (FONACIT), por el financiamiento de esta investigación. Y al UME-IVIC por realizar las micrografías SEM.

6. REFERENCIAS

- [1] M. Maddaloni, I. Vassalini, and I. Alessandri, "Green Routes for the Development of Chitin/Chitosan Sustainable Hydrogels," *Sustain. Chem.*, vol. 1, no. 3, pp. 325-344, Dec. 2020. <https://doi.org/10.3390/suschem1030022>
- [2] J. C. López-Velázquez et al., "Gelatin–chitosan–PVA hydrogels and their application in agriculture," *J. Chem. Technol. Biotech.*, vol. 94, no. 11, pp. 3495-3504, Nov. 2019. <https://doi.org/10.1002/jctb.5961>
- [3] B. Padilla Quintero et al., "Preparación y caracterización de geles conductores a base de quitosano para posibles aplicaciones biomédicas," *Rev. Ciencias*, vol. 21, no. 1, p. 91, Jan. 2018. <https://doi.org/10.25100/rc.v21i1.6349>
- [4] R. Michalik, and I. Wandzik, "A Mini-Review on Chitosan-Based Hydrogels with Potential for Sustainable Agricultural Applications," *Polymers*, vol. 12, no. 10, p. 2425, Oct. 2020. <https://doi.org/10.3390/polym12102425>
- [5] X. Jia, P. Ma, C.-I. Wei, and Q. Wang, "Chitin and chitosan: Pioneering sustainable substrates for next-generation soilless vertical farming," *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 150, p. 104599, Aug. 2024. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2024.104599>
- [6] L. Huang et al., "Rapidly *in situ* forming an injectable Chitosan/PEG hydrogel for intervertebral disc repair," *Mater. Today Bio*, vol. 22, p. 100752, Oct. 2023. <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2023.100752>
- [7] B. Kaczmarek-Szczepańska, O. Mazur, M. Michalska-Sionkowska, K. Łukowicz, and A. M. Osyczka, "The Preparation and Characterization of Chitosan-Based Hydrogels Cross-Linked by Glyoxal," *Materials*, vol. 14, no. 9, p. 2449, May. 2021. <https://doi.org/10.3390/ma14092449>
- [8] A. Chávez, S. Acevedo, and E. Luzardo, "Evaluación en campo de la efectividad del quitosano como fertilizante foliar en cultivos de una zona xerófila," *Revista Iberoamericana de Polímeros*, vol. 25, no. 1, pp. 15-26, Jan. 2024. <https://reviberpol.org/wp-content/uploads/2024/06/2024-25-1-15-26.pdf>
- [9] A. Ou, and I. Bo, "Chitosan Hydrogels and their Glutaraldehyde-Crosslinked Counterparts as Potential Drug Release and Tissue Engineering Systems - Synthesis, Characterization, Swelling Kinetics and Mechanism," *J. Phys. Chem. Biophys.*, vol. 7, no. 3, p. 256, 2017. <https://doi.org/10.4172/2161-0398.1000256>
- [10] FEI Company, *Standard Operating Procedure of Environmental SEM Part I: FEI Quanta 200-HiVac Mode*, University of Nebraska, FEI Company, Licon, Hillsboro, USA, 2007. <https://nercf.unl.edu/sites/unl.edu/engineering.nercf/files/media/file/SOP-Quanta200SEM.pdf>
- [11] F. Hong et al., "Chitosan-based hydrogels: From preparation to applications, a review," *Food Chem.: X*, vol. 21, p. 101095, Mar. 2024. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.101095>
- [12] R. G. Sánchez-Duarte et al., "Síntesis de hidrogeles de quitosano a partir de cáscara de camarón para ensayos de adsorción de cobre," *Rev. Int. Contam. Ambie.*, vol. 33, p. esp02, pp. 93-98, Jun. 2017. <https://doi.org/10.20937/RICA.2017.33.esp02.09>
- [13] A. Ramírez, J. L. Benítez, L. Rojas de Astudillo, and B. Rojas de Gáscue, "Materiales polímeros de tipo hidrogeles: revisión sobre su caracterización mediante FTIR, DSC, MEB y MET," *Rev. LatinAm. Metal. Mat.*, vol. 36, no. 2, pp. 108-130, Mar. 2016. <https://doi.org/10.5281/zenodo.10031412>

- [14] A. B. Falcón-Rodríguez, "Chitosans of different molecular weight enhance potato (*Solanum tuberosum* L.) yield in a field trial," *Span. J. Agric. Res.*, vol. 15, no. 1, p. e0902, Apr. 2017. <https://doi.org/10.5424/sjar/2017151-9288>
- [15] E. Budianto, and A. Amalia, "Swelling behavior and mechanical properties of Chitosan-Poly(N-vinylpyrrolidone) hydrogels," *J. Polym. Eng.*, vol. 40, no. 7, pp. 551-560, Jul. 2020. <https://doi.org/10.1515/polyeng-2019-0169>
- [16] J. Brugnerotto, J. Lizardi, F. M. Goycoolea, W. Argüelles-Monal, J. Desbrières, and M. Rinaudo, "An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization," *Polymer*, vol. 42, no. 8, pp. 3569-3580, Apr. 2001. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(00\)00713-8](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(00)00713-8)
- [17] M. Klein, and E. Poverenov, "Natural biopolymer-based hydrogels for use in food and agriculture," *J. Sci. Food Agric.*, vol. 100, no. 6, pp. 2337-2347, Apr. 2020. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10274>
- [18] E. Budianto, S. Prilia Muthoharoh, and N. Mardhatillah Nizardo, "Effect of Crosslinking Agents, pH and Temperature on Swelling Behavior of Cross-Linked Chitosan Hydrogel," *AJAS*, vol. 3, no. 5, Oct. 2015. <https://www.ajouronline.com/index.php/AJAS/article/view/3099>
- [19] G. Martínez-Mejía, N. A. Vázquez-Torres, A. Castell-Rodríguez, J. M. del Río, M. Corea, and R. Jiménez-Juárez, "Synthesis of new chitosan-glutaraldehyde scaffolds for tissue engineering using Schiff reactions," *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 579, p. 123658, Oct. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2019.123658>
- [20] E. Mirzaei B., A. Ramazani S. A., M. Shafiee, and M. Danaei, "Studies on Glutaraldehyde Crosslinked Chitosan Hydrogel Properties for Drug Delivery Systems," *Int. J. Mater. Polym. Biomater.*, vol. 62, no. 11, pp. 605-611, Apr. 2013. <https://doi.org/10.1080/00914037.2013.769165>
- [21] E. I. Laredo-Alcalá et al., "Efecto de hidrogeles biodegradables sobre la retención de humedad y la germinación de alfalfa," *Ecosist. Recur. Agropec.*, vol. 10, no. 2, Jun. 2023. <https://doi.org/10.19136/era.a10n2.3133>
- [22] N. Morin-Crini, E. Lichtfouse, G. Torri, and G. Crini, "Applications of chitosan in food, pharmaceuticals, medicine, cosmetics, agriculture, textiles, pulp and paper, biotechnology, and environmental chemistry," *Environ. Chem. Lett.*, vol. 17, no. 4, pp. 1667-1692, Jul. 2019. <https://doi.org/10.1007/s10311-019-00904-x>
- [23] S. Nangia, S. Warkar, and D. Katyal, "A review on environmental applications of chitosan biopolymeric hydrogel based composites," *J. Macromol. Sci. Part A Pure Appl. Chem.*, vol. 55, no. 11-12, pp. 747-763, Dec. 2018. <https://doi.org/10.1080/10601325.2018.1526041>
- [24] G. Sosa Pérez, D. E. Hermosillo Rojas, P. Jurado Guerra, M. P. Alarcón Bustamante, and J. L. García Pérez, "Efectividad de un polímero retenedor de humedad para elevar la supervivencia en plantaciones de mezquite (*Prosopis glandulosa* torr.) en zonas áridas," *Eur. Sci. J.*, vol. 17, no. 7, p. 55, Feb. 2021. https://www.researchgate.net/publication/349871490_Efectividad_De_Un_Polimero_Retenedor_De_Humedad_Para_Elevar_La_Supervivencia_En_Plantaciones_De_Mezquite_Prosopis_Glandulosa_Torr_En_Zonas_Aridas

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran que no existe ningún conflicto de intereses que haya podido influir en la realización de este estudio o en la presentación de sus resultados.

CONTRIBUCIÓN DE AUTORÍA

Adrián Chávez Huerta: Diseño y la ejecución del entrecruzamiento del quitosano.

Enmanuel Luzardo: Preparación y obtención del quitosano base.

María Muñoz: Caracterización físico-química del mismo.

Ingrid Antúnez: Fundamentación biológica, gestionando la introducción del hidrogel y la experimentación con las plantas.

Sabrina Acevedo: Caracterización técnica del hidrogel resultante.

Todos los autores participaron en la redacción, revisión y aprobación del manuscrito final.