

# Efecto del quitosano en la propagación vegetativa de cacao (*Theobroma cacao* L.) por esquejes

## Effect of chitosan on the vegetative propagation of cacao (*Theobroma cacao* L.) by stem cuttings

Juan José Reyes-Pérez<sup>1</sup> , Luis Tarquino Llerena-Ramos<sup>1</sup> , Rommel Arturo Ramos-Remache<sup>1</sup> , Miguel Ángel Ramírez-Arrebato<sup>2</sup> , Alejandro Bernardo Falcón-Rodríguez<sup>3</sup> , Roger Alexander Pincay-Ganchozo<sup>4</sup>  y Tomás Rivas-García<sup>5\*</sup> 

<sup>1</sup> Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Av. Quito. km 1.5 Vía a Santo Domingo. Quevedo, Los Ríos, Ecuador.

<sup>2</sup> UCTB Los Palacios, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. Carretera La Francia km 1 s/n. 22900 Los Palacios, Pinar del Río, Cuba.

<sup>3</sup> Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. Carretera Tapaste-Jamaica km 3.5. 32700 San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

<sup>4</sup> Consultor Independiente. Buena Fe, Los Ríos, Ecuador.

<sup>5</sup> Universidad Autónoma Chapingo. Carretera Federal México-Texcoco km 38.5, Chapingo. 56230 Texcoco, Estado de México, México.

\* Autor para correspondencia (eltom\_r@hotmail.com)

### RESUMEN

Se estima que en el futuro la producción mundial de cacao (*Theobroma cacao* L.) será insuficiente para su demanda, debido a factores como: pérdida por plagas y enfermedades, árboles envejecidos, rendimientos limitados y efectos del cambio climático. El bioestimulante Quitomax<sup>®</sup>, cuyo ingrediente bioactivo principal es el quitosano, es un inductor de crecimiento y resistencia, y un antimicrobiano con resultados promisorios en cultivos agrícolas. Sin embargo, debido a que no se ha investigado su efecto sobre el enraizamiento, establecimiento y crecimiento de cacao, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del Quitomax<sup>®</sup> sobre dos variedades comerciales de cacao, en comparación con el producto comercial Raizyner GNS. El diseño experimental fue un arreglo factorial con los dos clones de cacao (A) y tres concentraciones de quitosano (100, 500 y 1000 mg L<sup>-1</sup>) (B) con tres repeticiones por tratamiento. Como controles se utilizaron plantas no tratadas y plantas tratadas con Raizyner GNS (5000 mg L<sup>-1</sup>). El bioestimulante Quitomax<sup>®</sup> promovió un aumento significativo de las variables de crecimiento vegetativo evaluadas de los clones de cacao en comparación con los controles. En relación con la regeneración de

las plantas, Quitomax<sup>®</sup> disminuyó entre un 18% y un 50% los niveles de los esquejes no enraizados. Además, el Quitomax<sup>®</sup>, favoreció la promoción de crecimiento y bioestimulación de plantas de cacao durante la reproducción clonal por esquejes con resultados incluso mejores que los de algunos otros productos comerciales como Raizyner GNS.

**Palabras clave:** antimicrobianos, bioestimulante, crecimiento vegetal, oligosacáridos.

### SUMMARY

It is estimated that the world production of cacao (*Theobroma cacao* L.) in the future will not meet its demand due to factors such as losses derived from pests and diseases, aging trees, limited yields, and effects of climate change. The biostimulant Quitomax<sup>®</sup>, whose main bioactive ingredient is chitosan, is a growth and resistance inducer, and an antimicrobial agent with promising results in agricultural crops. However, since its effect on the rooting, establishment and growth of cacao has not been investigated, the objective of this work was to evaluate the effect of Quitomax<sup>®</sup> on two commercial varieties of cacao, and compare it with Raizyner GNS commercial product. The experimental

#### Cita recomendada:

Reyes-Pérez, J. J., Llerena-Ramos, L. T., Ramos-Remache, R. A., Ramírez-Arrebato, M. Á., Falcón-Rodríguez, A. B., Pincay-Ganchozo, R. A. y Rivas-García, T. (2021). Efecto del quitosano en la propagación vegetativa de cacao (*Theobroma cacao* L.) por esquejes. *Terra Latinoamericana*, 39, 1-9. e1008. <https://doi.org/10.28940/terra.v39i0.1008>

Recibido: 27 de junio de 2001. Aceptado: 31 de agosto de 2021.  
Artículo. Volumen 39, septiembre de 2021.

design was a factorial arrangement with the two cacao clones (A) and three chitosan concentrations (100, 500 and 1000 mg L<sup>-1</sup>) (B), with three replicates per treatment. Untreated plants and plants treated with Raizyner GNS (5000 mg L<sup>-1</sup>) were used as controls. The biostimulant Quitomax<sup>®</sup> promoted a significant increase in the vegetative growth variables evaluated in the cacao clones compared with the controls. In regards to plant regeneration, Quitomax<sup>®</sup> decreased the levels of the unrooted stem cuttings by 18% to 50%. In addition, Quitomax<sup>®</sup> favored the growth promotion and biostimulation of cacao plants during clonal reproduction by cuttings with better results than those obtained with other commercial products such as Raizyner GNS.

**Index words:** antimicrobial, biostimulant, plant growth, oligosaccharides.

## INTRODUCCIÓN

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es nativo de las regiones tropicales húmedas de América del Sur (López-Medina y Gil-Rivero, 2017). Su producción mundial en el periodo 2017/2018 fue de 4.638 millones de toneladas (Nieto-Figueroa, Mendoza y Campos, 2020). Países como Costa de Marfil, Ghana, Indonesia, Nigeria y Camerún son los principales productores a nivel mundial, con un total del 73% de la producción global de granos de cacao, seguidos por Brasil, Ecuador, República Dominicana, Perú y México, quienes contribuyen con el 17% de la producción mundial, mientras que el 10% les corresponde a países de Asia y Oceanía (Gayi y Tsowou, 2017; Purcell, 2018).

El valor en el mercado de dicha producción fue de \$98.3 mil millones de dólares (Marketsandmarkets, 2017). La cual se concentra en 5.5 millones de pequeños productores (0.2 a 0.5 hectáreas), no es tecnificada y se utilizan pocos insumos (Schneidewind *et al.*, 2019). Se estima que en el futuro la producción mundial será insuficiente para su demanda, debido a factores como: pérdida significativa por plagas y enfermedades, árboles envejecidos, rendimientos limitados, y efectos del cambio climático (Nieto-Figueroa *et al.*, 2020).

En África occidental, los árboles de cacao se derivan de semillas, mientras que en América del Sur y en el sudeste de Asia, se cultiva cacao mediante semillas y propagación vegetativa (injerto clonal) (Lahive, Hadley

y Daymond, 2019). Además, la propagación vegetativa se usa para obtener copias exactas del genoma de la planta origen (Stuepp, Wendling, Xavier y Zuffellato, 2018). Esta propagación se hace por medio de tejido meristemático que contiene células indiferenciadas que pueden dar origen a los órganos requeridos para formar una nueva planta (Gárate-Navarro, Arévalo, do Bomfim y da Costa, 2017). Las investigaciones para mejorar la eficiencia de esta técnica de reproducción se han basado principalmente en analizar el origen de los esquejes, el efecto de la luz, la temperatura y la humedad, los mecanismos de enraizamiento y recientemente la aplicación de bioestimulantes (Essola, Gusua, Tchabda y Andre, 2017; Trofimuk, Kirillov y Egorov, 2020).

Los bioestimulantes son una alternativa viable para prevenir el estrés en las plantas y promover la producción agrícola (Du Jardin, 2015; Chakraborty *et al.*, 2020). El quitosano es considerado un bioestimulante agrícola que es biocompatible, biodegradable e inocuo (Morin-Crini, Lichtfouse, Torri y Crini, 2019). Este compuesto se obtiene a partir de la quitina, la cual se extrae del exoesqueleto de crustáceos y de la pared celular de hongos verdaderos (Chakraborty *et al.*, 2020). En su estructura química tiene monosacáridos de D-glucosamina y N-acetil glucosamina unidos por enlaces glucosídicos  $\beta$  1-4 (Xing, Zhu, Peng y Qin, 2015). A este biopolímero se le atribuyen diferentes actividades bioactivas tales como: actividad antimicrobiana e inducción de respuesta inmune, de crecimiento y de desarrollo en las plantas (Bakshi, Selvakumar, Kadirvelu y Kumar, 2020). Sin embargo, el grado de acetilación, el tamaño del polímero y su viscosidad condicionan dichas actividades biológicas (Hidangmayum, Dwivedi, Katiyar y Hemantaranjan, 2019; Mukhtar-Ahmed, Khan, Siddiqui y Jahan, 2020; Chakraborty *et al.*, 2020). Por ejemplo, Basa *et al.* (2020) concluyeron que el grado de polimerización y acetilación están estadísticamente relacionados con el grado de efectividad.

Se ha evaluado previamente el efecto del compuesto bioactivo quitosano como inductor de crecimiento y resistencia (Tayo, Ewane, Effa y Boudjeko, 2017), y su acción antimicrobiana contra patógenos del cacao (González-Peña, Gómez, Fernández, Vaillant y Falcón, 2016). Además, otros estudios también reportan los efectos antes mencionados en el bioestimulante

Quitomax<sup>®</sup> cuyo ingrediente bioactivo es el quitosano (Jerez-Mompie, Morales, Dell'Amico y Falcón, 2018; Reyes-Pérez *et al.*, 2019; Henríquez-Díaz *et al.*, 2020; Gustavo-González *et al.*, 2021). Sin embargo, hasta el momento no se han publicado artículos científicos que investiguen el efecto bioactivo del quitosano sobre el enraizamiento, establecimiento y crecimiento de esquejes de tallo en variedades de cacao. Por ello, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de Quitomax<sup>®</sup>, un bioestimulante a base de biopolímeros de quitosano, en dos variedades comerciales de cacao, en comparación con el producto comercial Raizyner GNS ya utilizado en la multiplicación de esquejes de este cultivo en Ecuador.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Condiciones Generales para el Desarrollo del Experimento

Esta investigación se estableció en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, ubicada entre las coordenadas geográficas de 01° 06' S y 79° 29' O, a una altitud de 73 metros. La zona ecológica donde se estableció el experimento se clasifica como bosque húmedo tropical. La temperatura promedio durante el lapso del experimento fue de 25.3 °C; humedad relativa promedio del 86%, precipitación total de 1587.5 mm/año y una heliofanía total de 994.4 horas/luz/año (INAMHI, 2021).

### Material Vegetal

Se utilizaron esquejes de cacao con 35 días de edad, a partir de los clones CCN-51 y Nacional provenientes del banco de germoplasmas del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP). Previo a la recolección de esquejes, se desinfectaron las manos y las herramientas (tijeras de podar y navaja) con una solución acuosa de hipoclorito de sodio al 1%. Los esquejes fueron obtenidos a partir de brotes originados en el 4° o 5° tallo lateral, cortando 15±2 cm del mismo. Para su obtención se realizó un corte en el tallo justo por debajo de cada nudo, además de realizar un corte en forma de cruz en la base de cada esqueje y proceder a sumergir la parte basal del corte en las soluciones correspondientes a cada tratamiento.

### Quitosano

Como fuente de quitosano se utilizó el bioestimulante Quitomax<sup>®</sup> (RFC 010/17, registro central de fertilizantes de Cuba), el cual es una mezcla de biopolímeros de quitosano y sales químicas de amplio espectro de aplicación en cultivos, obtenido por el grupo de productos bioactivos del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas de Cuba (INCA) en el 2017. El quitosano de este producto tiene una masa molar de 100 kDa y un grado de acetilación del 13.7% (Falcón-Rodríguez, Costales, González y Nápoles, 2015).

### Diseño Experimental

El diseño experimental fue completamente al azar con un arreglo factorial (A × B), donde A representó los dos clones y B a las tres concentraciones de Quitomax<sup>®</sup> utilizadas (0, 100, 500 y 1000 mg L<sup>-1</sup>), con tres repeticiones por tratamiento. Se aplicó el producto comercial Raizyner GNS (5000 mg L<sup>-1</sup>) como tratamiento control. Se utilizaron 10 estacas por repetición para un total de 240 esquejes en el experimento. Las plantas fueron tratadas por inmersión de la base de los esquejes por 30 minutos en las concentraciones de Quitomax<sup>®</sup>, y posteriormente transferidas a bolsas de polietileno de 1 kg con 25% arena estéril y 75% sustrato comercial Sogemix (75% Turba de *Sphagnum* spp., 25% vermiculita y caliza). Las plantas se almacenaron en una casa de cultivo y cubiertas con plástico al 90% de humedad relativa. El riego fue aplicado semanalmente con un nebulizador, mojando el sustrato en su totalidad (150 mL de agua destilada estéril).

### Variables Evaluadas

A los 60 días *post* plantación de los esquejes, se evaluó el número de hojas y el índice de plantas regeneradas (IPR) (Zaidi *et al.*, 2006) mediante la Ecuación 1:

$$IPR = \frac{PEB}{PI} \times 100 \quad (1)$$

dónde: PEB es el número de plantas enraizadas con brotes y PI es el número total de plantas injertadas.

A los 90 días posteriores, se evaluaron la biomasa seca de la raíz, hojas y tallo, el número de raíces y la fracción radical (FR) (Ramos-Hernández *et al.*, 2013) mediante la Ecuación 2:

$$FR = \frac{BRS}{BST} \times 100 \quad (2)$$

dónde: BRS es la biomasa radical seca y BST es la biomasa seca total.

Para obtener biomasa seca (g), se pesó el material vegetal y se secó a 80 °C durante 72 h en una estufa (Shel Lab, modelo 1380 FM, E.U.A). Finalmente se volvió a pesar en balanza analítica.

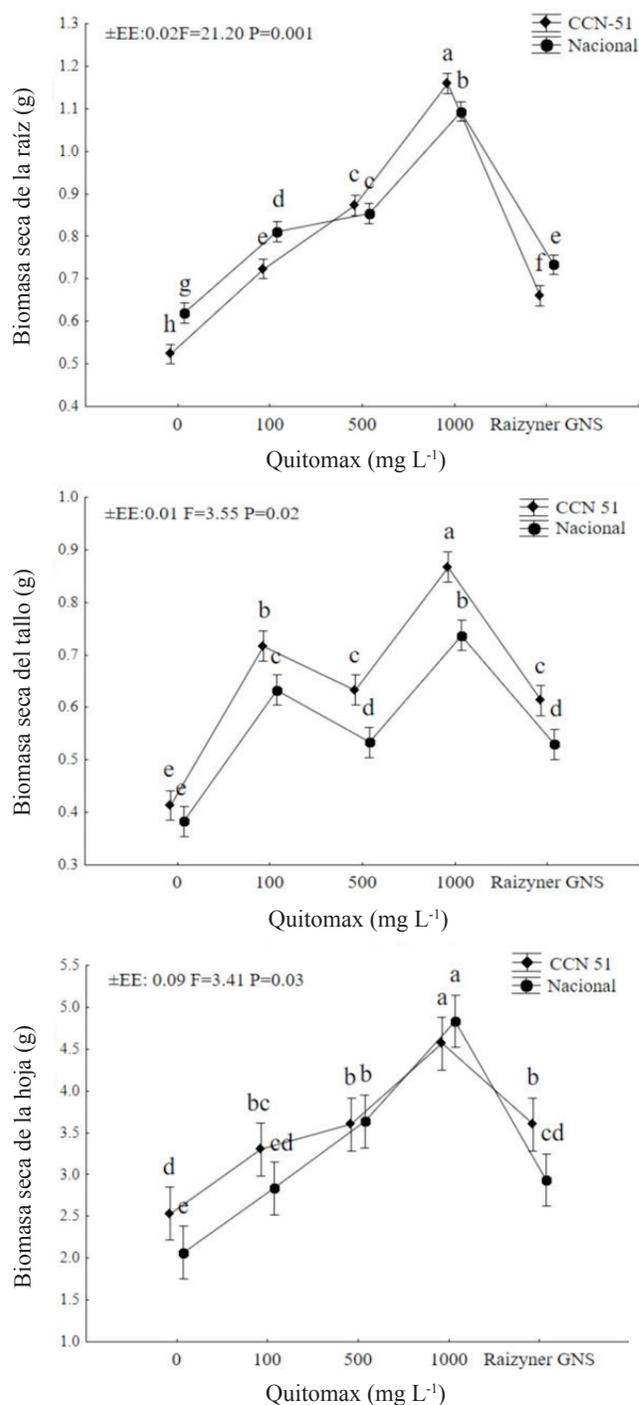
### Análisis Estadístico

Los datos fueron sometidos a la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov (Massey, 1951) y la homogeneidad de varianzas según el criterio de Bartlett (Bartlett, 1937). Se realizó un análisis de varianza de una sola vía y la comparación múltiple de medias utilizando la prueba de Tukey con un nivel de significancia del 5% ( $\alpha = 0.05$ ). Los datos estadísticos fueron procesados empleando el programa estadístico Statistica v.12.0 (Statsoft).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El bioestimulante Quitomax® promovió un aumento significativo de las variables de crecimiento vegetativo evaluadas de los clones de cacao CCN-51 y Nacional (Figura 1), con las diferentes concentraciones aplicadas en comparación con el tratamiento control. El efecto bioestimulante fue mayor con el aumento de la concentración de Quitomax®, siendo el tratamiento con 1000 mg L<sup>-1</sup> el que causó los mayores incrementos de biomasa seca de la raíz, el tallo y foliar, obteniéndose valores de entre 25 y 125% por encima del tratamiento control y en dependencia de la variable analizada.

Los beneficios que el quitosano causa en el desarrollo de los cultivos responden a la activación y mejora de diferentes procesos fisiológicos en la planta como son el aumento del enraizamiento, de la nodulación en especies simbióticas, de la absorción de nutrientes esenciales para mejorar actividades metabólicas relacionadas con el crecimiento y con el incremento de la eficiencia y la tasa fotosintética, así como un mejor aprovechamiento del agua por la planta como resultado de una posible acción antitranspirante



**Figura 1. Efecto del Quitomax® en variables del crecimiento (biomasa seca por órganos) de plantas de clones de cacao (CCN 51 y Nacional) en comparación con el enraizador Raizyner GNS. Medias con letras iguales no difieren significativamente para el análisis de varianza ( $P < 0.05$ ).**

**Figure 1. Effect of Quitomax® on growth variables (dry biomass per organs) of cacao clone plants (CCN 51 and Nacional) compared with the Raizyner GNS rooting agent. Means with the same letters do not differ significantly for the analysis of variance ( $P < 0.05$ ).**

(Iriti *et al.*, 2009; Costales-Menéndez *et al.*, 2016; Costales-Menéndez, Falcón, García y Capdevila, 2020; Chakraborty *et al.*, 2020).

El quitosano es un promotor del crecimiento vegetal no tóxico y biodegradable (Salachna y Zawadzińska, 2014). Respecto a las variables de crecimiento vegetativo evaluadas, se sabe que la aplicación foliar de quitosano sirve para varios propósitos, por ejemplo, aumenta la altura de la planta, el número de hojas, el peso del fruto y número de frutos, y el rendimiento (Islam *et al.*, 2018). La acumulación de biomasa está determinada por uno de los factores importantes, entre ellos el área foliar (Mukhtar-Ahmed *et al.*, 2020). El incremento de la biomasa en los tratamientos con el bioestimulante Quitomax® podría estar ligado al incremento de hojas (área foliar). Se reportó un incremento en el área foliar en plantas de frijol, calabaza y naranja al aplicar quitosano, lo que proporcionó una mayor oportunidad para la absorción de luz por las moléculas de clorofila que conducen a una mayor acumulación de materia seca (Mondal, Malek, Puteh y Ismail, 2013; Ibraheim y Mohsen, 2015; Mohamed, 2018). También se sugiere que el quitosano puede inducir una señal para la síntesis de fitohormonas como las giberelinas y las auxinas para mejorar el crecimiento y desarrollo (Mukhtar-Ahmed *et al.*, 2020).

Los resultados de la comparación del efecto bioestimulante del Quitomax® y el producto comercial Raizyner GNS, mostraron que estadísticamente tienen un efecto similar sobre las variables de crecimiento vegetativo evaluadas a las concentraciones de 100 y 500 mg L<sup>-1</sup> (Cuadro 1).

Respecto a la concentración de 1000 mg L<sup>-1</sup>, Quitomax® fue estadísticamente mejor que el producto comercial Raizyner GNS y el tratamiento control con un 20 y 50% de diferencia respectivamente. Ya se ha establecido que el suministro exógeno de quitosano podría estar involucrado en el mantenimiento del estado nutricional a través de la estabilización de la membrana mediante un mayor nivel de antioxidantes, protegiendo así las membranas plasmáticas de los daños oxidativos y mejorando la permeabilidad de las células vegetales que eventualmente estimulan la absorción de nutrientes (Meshram, Deotale, Chute, Jadhav y Padghan, 2018).

En relación a la regeneración de las plantas, Quitomax® disminuyó entre un 18 y un 50% los niveles de esquejes no enraizados (Figura 2). El máximo de supervivencia de las plantas (44 y 50% en dependencia del clon) se alcanzó con la concentración más alta (1000 mg L<sup>-1</sup>) evaluada de Quitomax®, resultado muy por encima del producto comercial Raizyner GNS, que redujo el nivel de esquejes no enraizados de entre 15 y 18% en ambas variedades estudiadas.

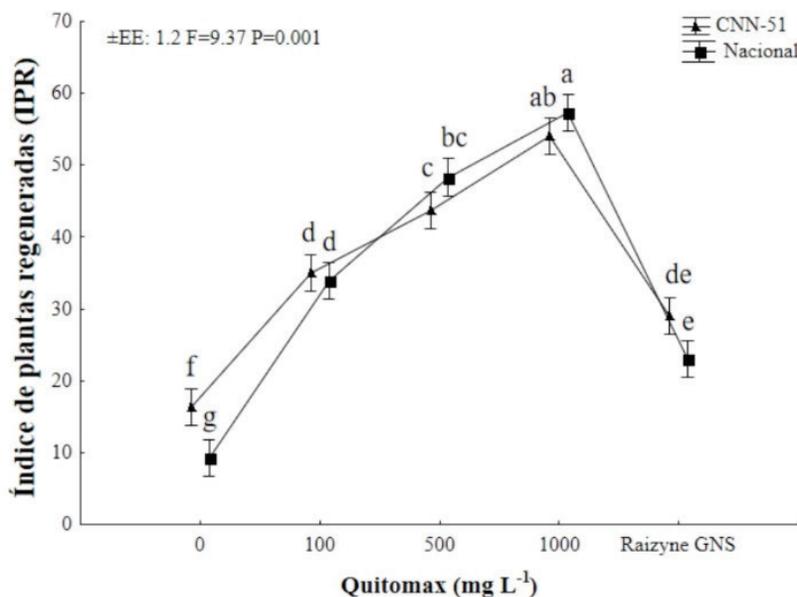
El aumento de la supervivencia de los esquejes provocado por el quitosano puede ser el resultado del efecto benéfico en la activación y mejora de variables fisiológicas que con llevan al fortalecimiento de la planta contra diferentes tipos de estrés biótico y abiótico, o también mediante activación directa de la resistencia basal de la planta como ha sido informado por autores previos (Falcón-Rodríguez, Costales, Cabrera y Martínez, 2011; Xing *et al.*, 2015; Mukhtar-Ahmed *et al.*, 2020).

**Cuadro 1. Efecto del Quitomax® en el número de raíces y hojas de plantas de clones de cacao (CCN 51 y Nacional) en comparación con el producto comercial Raizyner GNS.**

**Table 1. Effect of Quitomax® on the number of roots and leaves of cacao clone plants (CCN 51 and Nacional) compared with Raizyner GNS commercial product.**

Variables	Quitomax				Raizyner GNS	F	P	EE
	0	100	500	1000				
	----- mg L <sup>-1</sup> -----							
Hojas	9.3±3d	12.8±3c	16.7±3b	19±3a	14.2±3c	85.5		1.6
Raíces	4.7±2d	7.2±2c	8.8±2b	11±2a	7±2c	60.2	0.005	10.5
FR	3.7±2d	7.8±2c	9.2±2b	10.5±2a	7.2±2c	100.5		1.2

Medias con letras iguales en la misma columna no difieren significativamente para el análisis de varianza ( $P < 0.05$ ). FR = fracción radicular.  
Means with the same letters in the same column do not differ significantly for the analysis of variance ( $P < 0.05$ ). FR = root fraction.



**Figura 2. Efecto del Quitomax® en el índice de plantas regeneradas de plantas de clones de cacao (CCN 51 y Nacional).** Medias con letras iguales no difieren significativamente para el análisis de varianza ( $P < 0.05$ ).

**Figure 2. Effect of Quitomax® on the regenerated plant index of cacao clone plants (CCN 51 and Nacional).** Means with the same letters do not differ significantly for the analysis of variance ( $P < 0.05$ ).

La activación de la resistencia basal en la planta está ligada a aquella inmunidad que es inducida por un efector (IDE), como las moléculas de quitosano, con lo cual la planta inicia el aumento de genes relacionados a la defensa que generan un fortalecimiento físico de las paredes celulares (p. ej., producción de lignina y callosa), disparando la producción de fitoalexinas e induciendo la producción de proteínas con acción antimicrobiana (Burbano-Figueroa, 2020).

La protección contra el estrés biótico y abiótico que favoreció la regeneración de las plantas tratadas con el bioestimulante Quitomax® podría estar ligada a la producción de metabolitos secundarios como terpenos (aceites esenciales y sus constituyentes) y los fenoles (Mukhtar-Ahmed *et al.*, 2020). Los terpenoides de bajo peso molecular, como el isopreno, mono-, sesqui- y di terpenoide, confieren tolerancia frente al estrés biótico y abiótico (Mewalal *et al.*, 2017). Los fenoles representan el grupo más importante de entre los metabolitos secundarios en las plantas (Marchiosi *et al.*, 2020). De las numerosas funciones con las que contribuyen los fenoles para mantener la sanidad de las plantas destacan la protección contra patógenos

por la formación de barreras mecánicas (lignina y suberina) y la prevención del estrés oxidativo (Rhodes y Wooltorton, 2019).

## CONCLUSIÓN

La aplicación del bioestimulante Quitomax® cuyo ingrediente bioactivo es el quitosano, es un promotor de crecimiento que mejora la biomasa de raíz, hoja y tallo de plantas de cacao propagadas clonalmente por esquejes. Además, el tratamiento con quitosano incrementó el porcentaje de regeneración de las plantas de cacao al preservar a los esquejes de probable estrés biótico y abiótico. El Quitomax®, producto a base de quitosano, es un tratamiento viable para la promoción de crecimiento y bioestimulación de plantas de cacao durante la reproducción clonal por esquejes con resultados incluso mejores que los de algunos productos comerciales tales como Raizyne GNS.

## DECLARACIÓN DE ÉTICA

No aplicable.

## CONSENTIMIENTO PARA PUBLICACIÓN

No aplicable.

## DISPONIBILIDAD DE DATOS

No aplicable.

## CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no tienen intereses en competencia.

## FONDOS

Fondo Competitivo de Investigación Científica y Tecnológica (FOCICYT) 7<sup>ma</sup> Convocatoria, a través del proyecto PFOC7-15-2020 “Metodología para la propagación de esquejes de cacao mediante el uso de bioestimulantes de amplio espectro de acción”.

## CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

Investigación, conceptualización, validación, administración del proyecto, adquisición de fondo: J.J.R.P. Escritura: revisión y edición: R.A.R.R. Investigación, metodología: L.T.L.I.R. Escritura: revisión y edición: M.Á.R.A. Escritura: preparación del borrador original, escritura: revisión y edición: A.B.F.R. Curación de datos, análisis de datos: R.A.P.G. Escritura, revisión, análisis formal: T.R.G.

## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, por el apoyo otorgado a través del Fondo Competitivo de Investigación Científica y Tecnológica (FOCICYT) 7.<sup>a</sup> Convocatoria, a través del proyecto PFOC7-15-2020 “Metodología para la propagación de esquejes de cacao mediante el uso de bioestimulantes de amplio espectro de acción”.

## LITERATURA CITADA

Bakshi, P. S., Selvakumar, D., Kadirvelu, K., & Kumar, N. S. (2020). Chitosan as an environment friendly biomaterial—a review on recent modifications and applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 150, 1072-1083. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.113>

- Bartlett, M. S. (1937). Properties of sufficiency and statistical test. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A, Mathematical and Physical Sciences*, 160(901), 268-282. <https://doi.org/10.1098/rspa.1937.0109>
- Basa, S., Nampally, M., Honorato, T., Das, S. N., Podile, A. R., El Gueddari, N. E., & Moerschbacher, B. M. (2020). The pattern of acetylation defines the priming activity of chitosan tetramers. *Journal of the American Chemical Society*, 142(4), 1975-1986. <https://doi.org/10.1021/jacs.9b11466>
- Burbano-Figueroa, Ó. (2020). Resistencia de plantas a patógenos: Una revisión sobre los conceptos de resistencia vertical y horizontal. *Revista Argentina de Microbiología*, 52(3), 245-255. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2020.04.006>
- Costales-Menéndez, D., Falcón-Rodríguez, A. B., García-Domínguez, R., & Capdevila-Valera, J. Z. (2020). Efecto de la aspersión foliar de quitosano en el desarrollo vegetativo de soya inoculada. *Cultivos Tropicales*, 41(4), 1-18.
- Costales, D., Falcón, A. B., Nápoles, M. C., de Winter, J., Gerbaux, P., Onderwater, R. C. A., ... Cabrera, J. C. (2016). Effect of chitosaccharides in nodulation and growth *in vitro* of inoculated soybean. *American Journal of Plant Sciences*, 7(9), 1380-1391. <https://doi.org/10.4236/ajps.2016.79131>
- Chakraborty, M., Hasanuzzaman, M., Rahman, M., Rahman-Khan, A., Bhowmik, P., Mahmud, N.U., ... Islam, T. (2020). Mechanism of plant growth promotion and disease suppression by chitosan biopolymer. *Agriculture*, 10(12), 624. <https://doi.org/10.3390/agriculture10120624>
- Du Jardin, P. (2015). Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae*, 196, 3-14. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021>
- Essola E., E. J., Gusua, C. R., Tchaptada, T. D., & Andre, O. N. P. (2017). Vegetative propagation of selected clones of cocoa (*Theobroma cacao* L.) by stem cuttings. *Journal of Horticulture and Forestry*, 9(9), 80-90. <https://doi.org/10.5897/jhf2017.0502>
- Falcón-Rodríguez, A. B., Costales, D., Cabrera, J. C., & Martínez-Téllez, M. Á. (2011). Chitosan physico-chemical properties modulate defense responses and resistance in tobacco plants against the oomycete *Phytophthora nicotianae*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 100(3), 221-228. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2011.04.005>
- Falcón-Rodríguez, A. B., Costales-Menéndez, D., González-Peña Fundora, D., & Nápoles-García, M. C. (2015). Nuevos productos naturales para la agricultura: las oligosacarinas. *Cultivos Tropicales*, 36, 111-129.
- Gárate-Navarro, M. A., Arévalo-Gardini, E., do Bomfim-Costa, L. C., & da Costa-Silva, D. (2017). Pro-embryonic somatic structure of three cacao genotypes (*Theobroma cacao* L.) using staminodes. *International Annals of Science*, 2(1), 28-32. <https://doi.org/10.21467/ias.2.1.28-32>
- Gayi, S. K., & Tsowou, K. (2017). *Cocoa industry: Integrating small farmers into the global value chain*. New York, NY: UNCTAD. <https://doi.org/10.18356/cfb75b0e-en>
- González-Peña Fundora, D., Gómez-Izaguirre, G., Fernández-Morales, A., Vaillant-Flores, D., & Falcón-Rodríguez, A. B. (2016). Actividad inhibitoria de un polímero de quitosana en el crecimiento vegetativo y la reproducción asexual de un aislado de *Phytophthora palmivora* Butler. *Revista de Protección Vegetal*, 31(2), 99-106.

- Gustavo-González, L., Paz-Martínez, I., Boicet-Fabré, T., Jiménez-Arteaga, M. C., Falcón-Rodríguez, A., & Rivas-García, T. (2021). Efecto del tratamiento de semillas con QuitoMax® en el rendimiento y calidad de plántulas de tomate variedades ESEN y L-43. *Terra Latinoamericana*, 39, 1-6. <https://doi.org/10.28940/terra.v39i0.803>
- Henríquez-Díaz, F. M., Salgado-Valle, Y., Ramírez-Arrebato, M. A., Reyes-Pérez, J. J., Rodríguez-Pedroso, A. T., Ruiz-Sánchez, M., & Hernández-Montiel, L. G. (2020). Efecto de Quitomax en el control del mildiú veloso en pepino (*Cucumis sativus* L.). *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 7(2), 1-7. <https://doi.org/10.19136/era.a7n2.2479>
- Hidangmayum, A., Dwivedi, P., Katiyar, D., & Hemantaranjan, A. (2019). Application of chitosan on plant responses with special reference to abiotic stress. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 25, 313-326. <https://doi.org/10.1007/s12298-018-0633-1>
- Ibraheim, S. K. A., & Mohsen, A. A. M. (2015). Effect of chitosan and nitrogen rates on growth and productivity of summer squash plants. *Middle East Journal of Agriculture Research*, 4(4), 673-681.
- INAMHI (Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología). (2021). *Anuario meteorológico del Cantón Mocache: Estación Experimental Tropical Pichilingue* (12 pp.). Mocache, Los Ríos Ecuador: INAMHI.
- Iriti, M., Picchi, V., Rossoni, M., Gomasasca, S., Ludwig, N., Gargano, M., & Faoro, F. (2009). Chitosan antitranspirant activity is due to abscisic acid-dependent stomatal closure. *Environmental and Experimental Botany*, 66(3), 493-500. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.01.004>
- Islam, M. M., Kabir, M. H., Mamun, A. N. K., Islam, M., Islam, M. M., & Das, P. (2018). Studies on yield and yield attributes in tomato and chilli using foliar application of oligo-chitosan. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 3(3), 20-28. <https://doi.org/10.30574/gscbps.2018.3.3.0038>
- Jerez-Mompie, E., Morales-Guevara, D., Dell'Amico-Rodríguez, J., & Falcón-Rodríguez, A. (2018). El Quitomax® influye en la producción de tubérculos semilla de papa (*Solanum tuberosum* L.) variedad Romano. *Cultivos Tropicales*, 39(3), 80-86.
- Lahive, F., Hadley, P., & Daymond, A. J. (2019). The physiological responses of cacao to the environment and the implications for climate change resilience. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 39, 5, 1-22. <https://doi.org/10.1007/s13593-018-0552-0>
- López-Medina, S. E., & Gil-Rivero, A. E. (2017). Características germinativas de semillas de *Theobroma cacao* L. (*Malvaceae*) "cacao". *Arnaldoa*, 24(2), 609-618. <http://dx.doi.org/10.22497/arnaldoa.242.24212>
- Marchiosi, R., dos Santos, W. D., Constantin, R. P., de Lima, R. B., Soares, A. R., Finger-Teixeira, A., ... Ferrarese-Filho, O. (2020). Biosynthesis and metabolic actions of simple phenolic acids in plants. *Phytochemistry Reviews*, 19, 865-906. <https://doi.org/10.1007/s11101-020-09689-2>
- Marketsandmarkets. (2017). Global chocolate, cocoa beans, lecithin, sugar and vanilla market by market share, trade, prices, geography trend and forecast (2011–2016). Consultado el 26 de agosto, 2021, desde <https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/global-chocolate-market-164.html>
- Massey, F. J. (1951). The Kolmogorov-Smirnov test for goodness of fit. *Journal of the American Statistical Association*, 46(253), 68-78. <https://doi.org/10.1080/01621459.1951.10500769>
- Meshram, S. D., Deotale, R. D., Chute, K. H., Jadhav, G. N., & Padghan, G. A. (2018). Morpho-physiological and yield responses of soybean to foliar sprays of chitosan and IBA. *Journal of Soils and Crops*, 28(1), 121-127.
- Mewalal, R., Rai, D. K., Kainer, D., Chen, F., Külheim, C., Peter, G. F., & Tuskan, G. A. (2017). Plant-derived terpenes: A feedstock for specialty biofuels. *Trends in Biotechnology*, 35, 227-240. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2016.08.003>
- Mohamed, S. (2018). Effect of chitosan, putrescine and irrigation levels on the drought tolerance of sour orange seedlings. *Egyptian Journal of Horticulture*, 45(2), 257-273. <https://doi.org/10.21608/ejoh.2018.3063.1050>
- Mondal, M. M. A., Malek, M. A., Puteh, A. B., & Ismail, M. R. (2013). Foliar application of chitosan on growth and yield attributes of mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). *Bangladesh Journal of Botany*, 42(1), 179-183. <https://doi.org/10.3329/bjb.v42i1.15910>
- Morin-Crini, N., Lichtfouse, E., Torri, G., & Crini, G. (2019). Applications of chitosan in food, pharmaceuticals, medicine, cosmetics, agriculture, textiles, pulp and paper, biotechnology, and environmental chemistry. *Environmental Chemistry Letters*, 17, 1667-1692. <https://doi.org/10.1007/s10311-019-00904-x>
- Mukhtar-Ahmed, K. B., Khan, M. M. A., Siddiqui, H., & Jahan, A. (2020). Chitosan and its oligosaccharides, a promising option for sustainable crop production—a review. *Carbohydrate Polymers*, 227, 115331. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115331>
- Nieto-Figueroa, K. H., Mendoza-García, N. V., & Campos-Vega, R. (2020). Cocoa by products. In R. Campos V., B. Dave O., H. A. Vergara C. (Eds.). *Food wastes and by products: Nutraceutical and health potential* (pp. 373-411). Hoboken, NJ: Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119534167.ch13>
- Purcell, T. F. (2018). 'Hot chocolate': financialized global value chains and cocoa production in Ecuador. *The journal of peasant studies*, 45(5-6), 904-926. <https://doi.org/10.1080/03066150.2018.1446000>
- Ramos-Hernández, L., Arozarena-Daza, N. J., Lescaille-Acosta, J., García-Cisneros, F., Tamayo-Aguilar, Y., Castañeda-Hidalgo, E., ... Rodríguez-Ortiz, G. (2013). Dosis de pectimorf® para enraizamiento de esquejes de guayaba var. Enana Roja Cubana. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 4(6), 1093-1105.
- Reyes-Pérez, J. J., Enríquez-Acosta, E. A., Ramírez-Arrebato, M. Á., Rodríguez-Pedroso, A. T., Lara-Capistrán, L., & Hernández-Montiel, L. G. (2019). Evaluación del crecimiento, rendimiento y calidad nutricional de pimiento con aplicación de Quitomax®. *Ciencia e Investigación Agraria*, 46(1), 23-29. <http://dx.doi.org/10.7764/rcia.v46i1.2002>
- Rhodes, J. M., & Woollorton, L. S. C. (2019). The biosynthesis of phenolic compounds in wounded plant storage tissues. In G. Kahl (Ed.). *Biochemistry of wounded plant tissues* (pp. 243-286). Berlin, Boston: De Gruyter. <https://doi.org/10.1515/9783111671062-010>
- Salachna, P., & Zawadzka, A. (2014). Effect of chitosan on plant growth, flowering and corms yield of potted freesia. *Journal of Ecological Engineering*, 15(3), 97-102. <https://doi.org/10.12911/22998993.1110223>

- Schneidewind, U., Niether, W., Armengot, L., Schneider, M., Sauer, D., Heitkamp, F., & Gerold, G. (2019). Carbon stocks, litterfall and pruning residues in monoculture and agroforestry cacao production systems. *Experimental Agriculture*, 55(3), 452-470. <https://doi.org/10.1017/S001447971800011X>
- Stuepp, C. A., Wendling, I., Xavier, A., & Zuffellato-Ribas, K. C. (2018). Vegetative propagation and application of clonal forestry in Brazilian native tree species. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 53(9), 985-1002. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2018000900002>
- Tayo, P. M. T., Ewane, C. A., Effa, P. O., & Boudjeko, T. (2017). Effects of chitosan and snail shell powder on cocoa (*Theobroma cacao* L.) growth and resistance against black pod disease caused by *Phytophthora megakarya*. *African Journal of Plant Science*, 11(8), 331-340. <https://doi.org/10.5897/AJPS2016.1487>
- Trofimuk, L. P., Kirillov, P. S., & Egorov, A. A. (2020). Application of biostimulants for vegetative propagation of endangered *Abies gracilis*. *Journal of Forestry Research*, 31(4), 1195-1199. <https://doi.org/10.1007/s11676-019-00903-2>
- Xing, K., Zhu, X., Peng, X., & Qin, S. (2015). Chitosan antimicrobial and eliciting properties for pest control in agriculture: a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 35, 569-588. <https://doi.org/10.1007/s13593-014-0252-3>
- Zaidi, M. A., Narayanan, M., Sardana, R., Taga, I., Postel, S., Johns, R., ... Altosaar, I. (2006). Optimizing tissue culture media for efficient transformation of different indica rice genotypes. *Agronomy Research*, 4(2), 563-575.