

---

## LA CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y GENÉTICA DEL CACAO (*THEOBROMA CACAO* L.) Y SU APLICACIÓN EN EL MEJORAMIENTO.

### CACAO (*THEOBROMA CACAO* L.), MORPHOLOGICAL AND GENETIC CHARACTERIZATION FOR GENETIC IMPROVEMENT.

Igor Bidot Martínez<sup>1</sup>, Marlyn Valdez de La Cruz<sup>2</sup>, Manuel Conrado Riera Nelson<sup>3</sup>, Pierre Bertin<sup>4</sup>

---

<sup>(1)</sup>Centro de Estudios de Tecnologías Agropecuarias y Forestales, Facultad Agroforestal, Universidad de Guantánamo, Cuba. 0000-0002-1262-7674. e-mail [ibidot@cug.co.cu](mailto:ibidot@cug.co.cu)

<sup>(2)</sup>Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Cuba. 0000-0001-8153-348X e-mail [marlyn@fbio.uh.cu](mailto:marlyn@fbio.uh.cu)

<sup>(3)</sup>Centro de Estudios de Tecnologías Agropecuarias y Forestales, Facultad Agroforestal, Universidad de Guantánamo, Cuba. 0000-0001-6417-3646. e-mail [riera@cug.co.cu](mailto:riera@cug.co.cu)

<sup>(4)</sup>Instituto de la Tierra y de la Vida – Agronomía, Universidad Católica de Lovaina, Lovaina La Nueva, Bélgica. 0000-0001-6452-088X. e-mail [pierre.bertin@uclouvain.be](mailto:pierre.bertin@uclouvain.be)

**Recibido:** 22 de febrero de 2022

**Aceptado:** 16 de marzo de 2022

## RESUMEN

El cacao es una planta de importancia económica para los países tropicales, entre ellos Cuba. Su principal producto, el chocolate, tiene alta demanda internacional que requiere el desarrollo de investigaciones científicas de la planta y su cultivo. Conocer su evolución en estrecha relación con el hombre, características generales y clasificación permite tener un conocimiento más amplio de la especie. Además, en los tiempos actuales, con una revolución en la genética donde cada vez es más común la secuenciación de genomas y la aplicación práctica de esta información en los cultivos, es determinante expandir los estudios tradicionales del cacao basados en las características morfológicas de la planta con la aplicación de los conocimientos más recientes de los marcadores moleculares. Recientes investigaciones permitieron una clasificación mucho más cercana a las características genéticas del cacao, más abarcadora y precisa que la tradicionalmente utilizada. Esta nueva clasificación y la integración de estudios morfológicos y moleculares permitirán la utilización de la selección asistida por marcadores que contribuirán a disminuir

el tiempo y los altos costos que implica el mejoramiento genético y hacer un uso más eficiente de los recursos fitogenéticos de esta planta.

Palabras claves: clasificación, recursos fitogenéticos, selección asistida por marcadores

## **ABSTRACT**

Cocoa is a plant of economic importance for tropical countries, including Cuba. Its main product, chocolate, has high international demand, which requires the development of scientific research on the plant and its cultivation. Knowing its evolution in close relationship with man, general characteristics and classification allows to have a broader knowledge of the species. Furthermore, in current times, with a revolution in genetics where genome sequencing and the practical application of this information in crops are increasingly common, it is crucial to expand traditional cocoa studies based on the morphological characteristics of the plant with the application of the most recent knowledge of molecular markers. Recent research allowed a classification much closer to the genetic characteristics of cocoa, more comprehensive and precise than that traditionally used. This new classification and the integration of morphological and molecular studies will allow the use of marker-assisted selection that will help reduce the time and high costs involved in genetic improvement and make a more efficient use of the plant genetic resources of this plant.

Key words: classification, marker assisted selection, phytogetic resources

## **INTRODUCCIÓN**

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es una planta de importancia económica por ser la base para la producción de chocolate y otros productos intermedios: torta, manteca, cacao en polvo y licor. Se expandió, mediada por el hombre, desde América del Sur a toda la zona tropical. A pesar de su larga historia de cultivo, los genotipos cultivados de cacao tienen una estrecha base genética, a partir de unas 14 expediciones que buscaban plantas con características morfológicas como la resistencia a enfermedades (Cilas y Bastide, 2020).

Para aprovechar las potencialidades del cacao se requiere ampliar el conocimiento sobre la variabilidad morfológica, genética, la estructura poblacional y la clasificación de los cultivares existentes. Además, es necesario desarrollar expediciones que permitan localizar y recolectar muestras de cultivares tradicionales de cacao, poco representados en los bancos de germoplasma (Aikpokpodion, 2012).

Para desarrollar una caracterización más completa de los cultivares conocidos y otras plantas seleccionadas se utilizan descriptores morfológicos de hojas, flores, frutos, semillas,

agronómicos y de calidad, la base de la clasificación tradicional en Criollo, Forastero y Trinitario (Bartley, 2005). Estos son complementados con los marcadores moleculares, como los microsatélites o secuencias simples repetidas (SSR, del inglés *Simple Sequences Repeats*), la base para la clasificación genética en 10 grupos (Motamayor *et al.*, 2008). Todas estas herramientas de caracterización, utilizadas de manera integral, contribuyen a la conservación de los recursos fitogenéticos del cacao y su utilización en el mejoramiento genético.

### **Origen y distribución del cultivo del cacao en el mundo**

El cacao (*Theobroma cacao* L.) se originó en la región alto amazónica, cerca de Iquitos, Perú. La especie se desarrolla en los estratos bajos de los bosques tropicales húmedos, en claros y bancos de los ríos, con alta temperatura y humedad (Monteiro *et al.*, 2009).

El hombre fue un factor determinante en su traslado desde su lugar de origen hacia América Central. La planta se domesticó y cultivó desde México hasta Costa Rica, el Caribe, la parte norte y central de Suramérica desde el año 2000 antes de Cristo (a. C.) (Bhattacharjee y Kumar, 2007). Posteriormente, los españoles, franceses, alemanes y portugueses expandieron el cacao en varios países de la zona intertropical (Cilas y Bastide, 2020).

### **Clasificación taxonómica, cultivo y producción**

El cacao (*Theobroma cacao* L.) pertenece a la familia Malvaceae (APG IV 2016). La planta es diploide, con 20 cromosomas y un genoma entre 326,9 Mpb y 445 Mpb (Motamayor *et al.*, 2013). Se cultiva entre los 20° N y 20° S (Lins, 2008; Martínez, 2007) y requiere temperaturas entre 25 °C y 28 °C, precipitaciones anuales entre 1500 mm y 2500 mm, suelos ricos en materia orgánica, profundos con pH entre 5,0 y 7,5 (Dostert *et al.* 2012). Se propaga mediante estacas, injertos y semillas, pero se estudia la multiplicación mediante embriogénesis somática (Garcia *et al.*, 2018).

La producción mundial de cacao en el año 2020 fue de 5 596 397 t, con 12 234 31 ha cultivadas. África produjo 3 752 740 t en 8 616 815 ha, con Côte d'Ivoire (2 180 000 t; 4 776 874 ha) y Ghana (811 700 t; 1 478 462 ha) como los mayores productores del mundo. América produjo 971 994 t en 1 744 124 ha, con Ecuador (283 680 t; 525 435 ha) y Brasil (259 425 t; 581 884 ha) como los principales países. Asia produjo 819 270 t en 1 743 830 ha, concentrada en Indonesia (783 978 t; 1 600 648 ha) (FAO, 2021).

Otros países, como Cuba, tienen pequeñas producciones de cacao fino o de aroma, reconocido por su sabor y color únicos. Este cacao fino o de aroma representa alrededor

del 5 % de la producción mundial, pero se considera el futuro de la industria del chocolate (Laliberté, 2012).

### **El cultivo del cacao en Cuba**

La fecha de la primera introducción de cacao en Cuba no se conoce con exactitud. Según la hipótesis más difundida fueron los españoles en 1540, desde México, en la finca “Mi Cuba”, localizada en Cabaiguán, Sancti Spíritus. El cultivo se trasladó a las fincas Cacahual de Iznaga y Cacahual de Avispa, en Sancti Spíritus. El cultivo se expandió por la zona central de Cuba hasta el siglo XVIII, cuando Remedios alcanzó el 90 % de la producción en Cuba (Núñez González, 2010).

Entre 1791 y 1803, los franceses emigrantes de la Revolución haitiana realizaron otra introducción del cultivo por Ti Arriba, Santiago de Cuba, favoreciendo su expansión por la región oriental (Núñez González, 2010). Estudios recientes aportan evidencias que corroboran estas hipótesis (Bidot Martínez *et al.*, 2015).

En el año 2018, el cultivo se concentraba en las provincias de Guantánamo, Santiago de Cuba, Granma y Holguín. El área total era de 4400 ha, de ellas 3230 en producción, con una producción de 1297,6 toneladas y un rendimiento promedio de 0,40 t·ha<sup>-1</sup>. En Baracoa se obtiene más del 70 % de la producción nacional (ONEI, 2020).

### **Descriptor morfológicos y marcadores moleculares en el estudio de la variabilidad genética del cacao**

Los descriptor morfológicos se utilizan en las plantas para la descripción, identificación, caracterización y evaluación de las especies, las familias y los géneros (Santos *et al.*, 2012). En el cacao se establecen descriptor de hojas, flores, frutos, semillas, evaluaciones agronómicas, adaptabilidad medioambiental, calidad, resistencia a plagas y enfermedades (Bekele y Butler, 2000).

Sin embargo, los descriptor morfológicos presentan insuficiente variación, su análisis es subjetivo, son influenciados por el ambiente, su número y distribución son limitados, algunos solo se expresan en determinadas etapas del desarrollo o en órganos específicos y requieren un conocimiento práctico de la especie (Weising *et al.*, 2005).

Los marcadores moleculares son *locus* en el genoma de un organismo en el cual la secuencia de bases varía entre diferentes individuos de una población. Estos marcadores generalmente no tienen efecto aparente en el fenotipo del individuo, no son influenciados

por el ambiente y se utilizan en estudios de variabilidad genética. Son candidatos ideales para la evaluación y selección eficiente de plantas (Oxford, 2010).

En el cacao se utilizan varios marcadores bioquímicos o moleculares: isoenzimas (Sounigo *et al.*, 2005), polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP, del inglés *Restriction Fragment Length Polymorphism*) (Motamayor *et al.*, 2002), polimorfismo de la longitud de los fragmentos amplificados (AFLP, del inglés *Amplified Fragments Length Polymorphism*) (Saunders *et al.*, 2002), polimorfismo del ADN amplificado al azar (RAPD, del inglés *Random Amplified Polymorphism DNA*) (Syahri *et al.*, 2019), polimorfismo de nucleótido simple (SNP, del inglés *Single Nucleotide Polymorphism*) (Mahabir *et al.* 2019), secuencias marcadas y expresadas (ESTs, del inglés *Expressed Sequence Tags*) (Ferreira *et al.* 2013) y microsatélites o secuencias simples repetidas (SSR, del inglés *Simple Sequences Repeats*) (Saunders *et al.* 2004).

Los estudios moleculares en cacao abarcan hasta la secuenciación del genoma de dos cultivares: el Forastero Matina 1-6 (Motamayor *et al.*, 2013) y el Criollo B97-61/B2 (Argout *et al.*, 2017).

## **Sistemas de clasificación del cacao**

### Clasificación tradicional o morfogeográfica

Tradicionalmente el cacao se clasifica en los grupos morfogeográficos Forastero, Criollo y Trinitario (Bartley, 2005).

Los forasteros se originaron en la región del Alto Amazonas, la de mayor altitud de la cuenca del río (Martínez, 2007). Se clasifican en Forastero Alto Amazónico y Bajo Amazónico. Los Forasteros Alto Amazónicos son cacaos silvestres autoincompatibles y con alta heterocigosidad de Perú, Ecuador y Colombia. Los Forasteros Bajo Amazónicos o Amelonados son cacaos cultivados autocompatibles de menor diversidad genética de la región de menor altitud de la cuenca, en Brasil, Guyana, Venezuela y Guyana Francesa (Thomas *et al.*, 2012). Constituyen el 80 % de la producción mundial (Lim, 2012).

Los forasteros son árboles vigorosos, resistentes a varias enfermedades, tolerantes a la sequía, con altos rendimientos. Las hojas son grandes y de color verde intenso. Las flores tienen estaminoides y líneas de guía de color violeta. Los frutos pueden ser amelonados, calabacillo, cundeamor y angoleta, con 10 surcos superficiales, epicarpio liso y forma apical redonda u obtusa. El color inmaduro más frecuente es verde y amarillo-anaranjado al madurar. Presentan más de 30 semillas por fruto, generalmente de color violeta intenso que

fermentadas durante cinco a seis días producen un chocolate ordinario de sabor fuerte, color violeta intenso, amargo y de menor calidad (González *et al.*, 2012).

Los criollos se originaron a partir de la selección artificial de plantas con semillas blancas y su diversidad genética es baja. Las civilizaciones mesoamericanas los transportaron desde América del Sur hacia América Central (Thomas *et al.*, 2012), donde los domesticaron y cultivaron (Bartley, 2005; Lins, 2008). Se subdividen en dos grupos geográficos: criollos de América Central y criollos de Suramérica (norte de Colombia y Venezuela). Por sus características genéticas y origen se subdividen en Criollo Antiguo, con alta homocigosis (Motamayor *et al.*, 2002), y Criollo Moderno, un híbrido entre Criollo Antiguo y Forastero Bajo Amazónico (Pugh *et al.*, 2004). Representan alrededor del 10 % de la producción mundial (Lim, 2012).

Los criollos son árboles bajos, poco vigorosos y de bajos rendimientos. Son susceptibles a las enfermedades (Cerdea y Orozco, 2009) y sus hojas son pequeñas, ovaladas, gruesas y de color verde claro. Las flores son grandes, de pedúnculos cortos, pétalos con filamento largo, estaminoides y líneas de guía de color violeta claro. Los frutos son generalmente rugosos y de forma pentagonal, aunque pueden ser angoleta, cundeamor o amelonado, con 10 surcos profundos y forma apical puntiaguda. Su color inmaduro más frecuente es rojo y al madurar anaranjado o rojo (Cerdea y Orozco, 2009). Tienen entre 20 y 30 semillas de sección transversal redonda, grandes, de color blanco o violeta pálido y con alto contenido de grasas. Al fermentar durante dos a tres días producen un chocolate fino de color canela claro y excelente calidad, con leve amargura y astringencia, sabor suave a nueces, aroma fino y atractivo (González *et al.*, 2012).

Los trinitarios se originaron en la isla de Trinidad como híbridos naturales del cruce entre criollos sobrevivientes del *blast* de 1727 (un fenómeno de causa desconocida, probablemente un ciclón o una epidemia) y Forastero Bajo Amazónico o Alto Amazónico introducido de Sudamérica (Motamayor *et al.* 2003). Representan entre el 10 y el 15 % de la producción mundial (Yang *et al.*, 2013).

Los trinitarios tienen una amplia variabilidad morfológica, con características intermedias entre los forasteros y los criollos. Son árboles vigorosos, precoces y con altos rendimientos, más resistentes y productivos que los criollos, pero de menor calidad, consecuencias del vigor híbrido (Yang *et al.*, 2013). Sus flores tienen estaminoides de color violeta intenso (Cerdea y Orozco, 2009). El fruto más frecuente tiene la superficie rugosa con epicarpio grueso y duro y las semillas son de color violeta claro o intenso. La fermentación durante

cuatro a cinco días permite obtener un chocolate fino, de buen aroma, sabor a frutas o flores y calidad intermedia (González *et al.*, 2012).

Además de los tres grupos morfogeográficos mencionados, se conoce el cacao Nacional, que se originó en el Amazonas Ecuatoriano, cerca de los ríos Nangaritza y Yacuambi, y se cultiva solo en la costa pacífica ecuatoriana (Estivarez Copa, 2020). Los frutos inmaduros son de color verde, amarillo al madurar, de superficie rugosa, surcos profundos, constricción basal intermedia y forma apical puntiaguda, con semillas de color violeta claro (Bhattacharjee y Kumar, 2007). Tiene altos niveles de catequinas, epicatequinas y taninos, es muy aromático y con un fuerte aroma floral conocido como sabor “arriba” (González *et al.*, 2012).

### Clasificación genética

La clasificación tradicional del cacao es imprecisa y no se basa en los datos genéticos de la especie. El grupo tradicional Forastero presenta una gran diversidad morfológica y genética (Bekele *et al.*, 2006) por lo que se divide en Forastero Alto y Bajo Amazónico. Además, el cacao Nacional presenta características intermedias entre Criollo y Forastero que dificultan su clasificación tradicional (Quevedo Guerrero *et al.*, 2020).

Debido a esta situación, se desarrolló un estudio con 106 marcadores moleculares microsatélites para analizar 1241 plantas de una extensa área geográfica de Centro y Suramérica. Basado en análisis bayesianos se propuso clasificar el cacao en 10 grupos genéticos: Criollo (el mismo grupo de la clasificación tradicional), Amelonado (Forastero Bajo Amazónico), Contamana, Curaray, Guiana, Iquitos, Marañón, Nanay, Purús y Nacional (mencionado en la clasificación tradicional). Los últimos nueve grupos genéticos son subdivisiones del grupo tradicional Forastero (Motamayor *et al.*, 2008).

Comparada con la clasificación tradicional, la clasificación genética refleja de manera más precisa la diversidad genética de la especie. En la actualidad se utiliza en colecciones como la base de datos internacional de germoplasma de cacao (ICGD, del inglés *International Cacao Germplasm Database*) de la Universidad de Reading, Reino Unido (ICGD, 2013) y estudios de resistencia a plagas, poblacionales y de variabilidad genética del cacao (Boza *et al.*, 2013).

### Mejoramiento genético y selección asistida por marcadores en el cacao

El mejoramiento asistido por marcadores moleculares, de conjunto con los descriptores morfológicos, puede incrementar la eficiencia y la efectividad en tiempo y recursos del

mejoramiento genético y contribuir a la selección de nuevos cultivares (García, 2012). Esto es especialmente útil en características morfológicas que se expresan tarde en el organismo (calidad del fruto) y caracteres cuantitativos que son afectados por el ambiente (resistencia a factores bióticos o abióticos). Permite identificar las plantas con mayor probabilidad de expresar los fenotipos de interés y eliminar las plantas indeseables en la fase de vivero (García, 2012).

La selección asistida por marcadores moleculares o por descriptores morfológicos es una selección indirecta, que se realiza en un marcador para obtener una respuesta en el descriptor morfológico de interés. Es importante conocer las asociaciones entre marcadores moleculares y descriptores morfológicos (Monteiro *et al.*, 2009).

En el cacao, con el empleo de AFLP, SSR, ESTs y secuenciación, se identificaron varios *loci* que codifican diversas características como el diámetro del tallo, la altura de la horqueta (Schnell *et al.* 2007), el número de semillas (Crouzillat *et al.*, 2000), la masa del fruto y su color (Motamayor *et al.*, 2013) y la resistencia a la pudrición negra (Lanaud *et al.*, 2009).

### **Recursos fitogenéticos del cacao**

Los recursos fitogenéticos comprenden la variación genética presente y potencialmente útil para el futuro de la humanidad. Incluyen las razas locales, los cultivares tradicionales y comerciales, los híbridos y los parientes silvestres de las especies cultivadas. Este material genético debe ser conservado como fuente de variación potencialmente útil en la agricultura o el beneficio del ambiente (de Vicente y Fulton, 2003).

La diversidad genética de las especies cultivadas y sus parientes silvestres está amenazada por la especialización de la producción en pocos cultivares, cambios en el uso de la tierra y la pérdida de hábitats. El reconocimiento del valor de la diversidad genética y sus amenazas contribuye a su conservación, compleja en el cacao, porque sus semillas pierden viabilidad cuando se conservan desecadas o en frío en los bancos de semillas convencionales. Debido a esta característica, el cacao se conserva *in situ* en las fincas o *ex situ* en los bancos de germoplasma y los jardines botánicos. Además, se investiga la conservación *in vitro* mediante crecimiento mínimo o crioconservación (Normah *et al.*, 2013).

Existen más de 40 bancos de germoplasma de cacao que conservan alrededor de 24 370 accesiones (Laliberté, 2012). De ellas, dos son colecciones globales de dominio público con más de 3 500 accesiones: el banco de germoplasma internacional de cacao, Trinidad (ICG,

T, del inglés *International Cocoa Genebank, Trinidad*) en la Unidad de investigaciones de cacao (CRU, del inglés *Cocoa Research Unit*) de la Universidad de las indias occidentales y la colección internacional del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) en Costa Rica (Turnbull *et al.*, 2004). En Cuba existe desde 1982 el banco de germoplasma del Instituto de Investigaciones Agroforestales UCTB Baracoa (IIAB), con alrededor de 250 accesiones (Laliberté, 2012).

Los datos de pasaporte (origen, pedigrí, lugar y fecha de recolecta) y las características morfológicas y genéticas de las accesiones de varias colecciones *ex situ* están disponibles en internet en bases de datos internacional *CacaoGenDB* del Centro de cooperación internacional en investigaciones agronómicas para el desarrollo (CIRAD, del francés *Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement*) (Turnbull *et al.*, 2004).

La diversidad genética del cacao es un elemento esencial en el desarrollo de nuevos cultivares, una producción más sustentable y una relación costo-beneficio favorable para las economías de los países productores. Una parte considerable de esta diversidad genética no se utiliza en el mejoramiento y se encuentra *in situ* en las fincas de los campesinos, como cultivares tradicionales (Bekele *et al.*, 2006). En Cuba el cacao tradicional cubano se encuentra en poblaciones aisladas y se distribuye por varias provincias, en especial Guantánamo, Santiago de Cuba y Granma. Este cacao tradicional cubano tiene potencialidades en la producción de chocolate de alta calidad, debido a que se identificaron varias plantas con semillas de color blanco (Bidot *et al.*, 2017).

Estos cultivares tradicionales, basados en su cultivo durante varias generaciones, el ambiente local, su manejo y los factores genéticos, permiten obtener un producto autóctono con calidad diferenciada y sabor único. Este producto es demandado por los mercados *gourmet* especializados y se puede proteger con la denominación de origen. Los árboles de cacao con características de Criollo ofrecen oportunidades para esta calidad diferenciada (González *et al.*, 2012). Sin embargo, son pocos los cultivares seleccionados por sus características sensoriales (Laliberté, 2012). Un ejemplo son los cultivares de cacao Nacional de alto rendimiento obtenidos en Ecuador, que muestran lo que se puede lograr con este material genético tradicional (Ji *et al.*, 2013).

Este interés en los recursos fitogenéticos locales impulsa el estudio del origen y la variabilidad del cacao de varias regiones del mundo. Se investigó el origen del cacao Trinitario (Motamayor *et al.*, 2003), Nacional del Ecuador (Loor *et al.*, 2012), Amazonas

brasileño (Silva *et al.*, 2011) Honduras y Nicaragua (Ji *et al.*, 2013), República Dominicana (Boza *et al.*, 2013), Criollo de México (Vázquez-Ovando *et al.*, 2014) y el cacao tradicional cubano (Bidot *et al.*, 2015).

## CONCLUSIONES

La historia del cacao está estrechamente relacionada con las civilizaciones originarias de América y los procesos de conquista desarrollados por Europa. Su cultivo se extendió progresivamente a todas las regiones tropicales y en la actualidad constituye un cultivo importante en esa región. De manera similar ocurre en Cuba, aunque no tiene una producción de cacao elevada en comparación con otros países de la región y el mundo. El mantenimiento y elevación de los niveles productivos y de calidad del cultivo requieren cada vez más un profundo conocimiento de la especie, sus cultivares y potencialidades. Alcanzar estos objetivos requiere del estudio combinado de sus características morfológicas y los marcadores moleculares.

Las perspectivas futuras se orientan a un empleo cada vez más amplio de la secuenciación con la cual se generan grandes volúmenes de datos. Estos resultados, algunos de los cuales ya se han obtenido, facilitarán la selección asistida por marcadores moleculares con lo cual se podrá acelerar y hacer más dirigido el mejoramiento genético del cultivo.

## BIBLIOGRAFÍA

- 1 AIKPOKPODION, P. O. Defining genetic diversity in the chocolate tree, *Theobroma cacao* L. grown in West and Central Africa. En M. CALISKAN ed. *Genetic diversity in plants*. Croatia: InTech, 2012, p. 185-212.
- 2 APG IV An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 2016, 181, 1-20.
- 3 ARGOUT, X., G. MARTIN, G. DROC, O. FOUET, K. LABADIE, E. RIVALS, J. M. AURY AND C. LANAUD The cacao Criollo genome v2.0: an improved version of the genome for genetic and functional genomic studies. *BMC Genomics*, Sep 15 2017, 18(1), 730.
- 4 BARTLEY, B. G. D. *The genetic diversity of cacao and its utilization*. Edición ed. Wallingford: CABI Publishing, 2005. 341 p.
- 5 BEKELE, F. AND D. R. BUTLER 2000. Proposed short list of cocoa descriptors for characterisation. En *Proceedings of the Proceedings of the CFC/ICCO/IPGRI Project*

- Workshop*, Montpellier, France, February 1-6, 2000, A.B. ESKEs, J.M.M. ENGELS AND R.A. LASS eds. IPGRI, 41-48.
- 6 BEKELE, F. L., I. BEKELE, D. R. BUTLER AND G. G. BIDAISEE Patterns of morphological variation in a sample of cacao (*Theobroma cacao* L.) germplasm from the International Cocoa Genebank, Trinidad. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2006, 53, 933-948.
- 7 BHATTACHARJEE, R. AND P. L. KUMAR. Cacao. En C. KOLE ed. *Genome mapping and molecular breeding in plants*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2007, vol. 6, p. 127-142.
- 8 BIDOT MARTÍNEZ, I., M. RIERA NELSON, M.-C. FLAMAND AND P. BERTIN Genetic diversity and population structure of anciently introduced Cuban cacao *Theobroma cacao* plants. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2015, 62(1), 67-84.
- 9 BIDOT MARTÍNEZ, I., M. VALDÉS DE LA CRUZ, M. RIERA NELSON AND P. BERTIN Morphological characterization of traditional cacao (*Theobroma cacao* L.) plants in Cuba. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2017, 64(1), 73-99.
- 10 BOZA, E. J., B. M. IRISH, A. W. MEEROW, C. L. TONDO, O. A. RODRÍGUEZ, M. VENTURA-LÓPEZ, J. A. GÓMEZ, J. M. MOORE, D. ZHANG, J. C. MOTAMAYOR AND R. J. SCHNELL Genetic diversity, conservation, and utilization of *Theobroma cacao* L.: genetic resources in the Dominican Republic. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2013, 60, 605-619.
- 11 CERDA, R. AND S. OROZCO. Memorias del evento. En *Foro genética del cacao en panamá. ¿Qué estamos haciendo y hacia dónde vamos?* Universidad Tecnológica, Changuinola, Panamá, 2009, p. 50.
- 12 CILAS, C. AND P. BASTIDE Challenges to cocoa production in the face of climate change and the spread of pests and diseases. *Agronomy*, 2020, 10, 1232.
- 13 CROUZILLAT, D., B. MÉNARD, A. MORA, W. PHILLIPS AND V. PÉTIARD Quantitative trait analysis in *Theobroma cacao* using molecular markers. Yield QTL detection and stability over 15 years. *Euphytica*, 2000, 114, 13-23.
- 14 DE VICENTE, M. C. AND T. FULTON. Tecnologías de marcadores moleculares para estudios de diversidad genética de plantas: Módulo de aprendizaje. En. Roma, Italia: Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), 2003, p. 364.

- 15 DOSTERT, N., J. ROQUE, A. CANO, M. I. LA TORRE AND M. WEIGEND *Hoja botánica: Cacao Theobroma cacao L.* Lima, Perú: Giacomotti Comunicación Gráfica S.A.C., 2012. 19 p.
- 16 ESTIVAREZ COPA, M. E. Criterios de selección para plantas élites de Cacao Nacional Boliviano (*Theobroma cacao L.*), en la Estación Experimental de Sapecho, Alto Beni, Bolivia. Universidad Mayor de San Andrés, 2020.
- 17 FAO. FAOSTAT. <http://faostat3.fao.org/> Visitada el 8/3/2021.
- 18 FERREIRA, R. M., D. CLEMENT, L. S. LIMA, T. LEGRVRE, C. LANAUD, R. J. SCHNELL, J. L. PIRES, U. VANDERLEI, F. MICHELI AND K. PERES GRAMACHO Identification, characterization and mapping of EST-derived SSRs from the cacao–*Ceratocystis cacaofunesta* interaction. *Tree Genetics & Genomes*, 2013, 9, 117-127.
- 19 GARCIA, C., J. P. MARELLI, J. C. MOTAMAYOR AND C. VILLELA Somatic embryogenesis in *Theobroma cacao L.* *Methods Mol Biol*, 2018, 1815, 227-245.
- 20 GARCÍA, F. A. Identificación y caracterización de marcadores moleculares de introgresión provenientes de *Coffea canephora* Pierre ex Froehner. en líneas F5 de *Coffea arabica L.* Tesis de Maestría Universidad Nacional de Colombia, 2012.
- 21 GONZÁLEZ, Y., E. PÉREZ AND C. PALOMINO Factores que inciden en la calidad sensorial del chocolate. *Actualización en nutrición*, Diciembre 2012 2012, 13(4), 314-331.
- 22 ICGD. International Cocoa Germplasm Database. En., 2013, vol. 2013.
- 23 JI, K., D. ZHANG, L. A. MOTILAL, M. BOCCARA, P. LACHENAUD AND L. W. MEINHARDT Genetic diversity and parentage in farmer varieties of cacao (*Theobroma cacao L.*) from Honduras and Nicaragua as revealed by single nucleotide polymorphism (SNP) markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2013, 60, 441-453.
- 24 LALIBERTÉ, B. *A global strategy for the conservation and use of cacao genetic resources, as the foundation for a sustainable cocoa economy*. Edición ed. Montpellier, France: Bioversity International, 2012. 175 p. ISBN 978-92-9043-920-2.
- 25 LANAUD, C., O. FOUET, D. CLÉMENT, M. BOCCARA, A. M. RISTERUCCI, S. SURUJDEO-MAHARAJ, T. LEGAVRE AND X. ARGOUT A meta-QTL analysis of disease resistance traits of *Theobroma cacao L.* *Molecular Breeding*, 2009, 24, 361-374.
- 26 LIM, T. K. Edible medicinal and non medicinal plants: Volume 3, Fruits. En., 2012, p. 208-251.

- 27 LINS, A. B. Distâncias genéticas estimadas com marcadores moleculares e associações com performance de híbridos de *Theobroma cacao* L. Tesis de Maestría. Universidad Estadual de Santa Cruz, 2008.
- 28 LOOR, R. G., O. FOUET, A. LEMAINQUE, S. PAVEK, M. BOCCARA, X. ARGOUT, F. AMORES, B. COURTOIS, A. M. RISTERUCCI AND C. LANAUD Insight into the wild origin, migration and domestication history of the fine flavour Nacional *Theobroma cacao* L. variety from Ecuador. PLoS ONE, 2012, 7(11), e48438.
- 29 MAHABIR, A., L. A. MOTILAL, D. GOPAULCHAN, S. RAMKISSOON, A. SANKAR AND P. UMAHARAN Development of a core SNP panel for cacao (*Theobroma cacao* L.) identity analysis. Genome Biol Evol, 2019.
- 30 MARTÍNEZ, W. J. Caracterización morfológica y molecular del Cacao Nacional Boliviano y de selecciones élites del Alto Beni, Bolivia. Tesis de Maestría Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, 2007.
- 31 MONTEIRO, W. R., U. V. LOPES AND D. CLEMENT. Genetic improvement in cocoa. En S.M. JAIN AND P.M. PRIYADARSHAN eds. *Breeding plantation tree crops: Tropical species.*: Springer Science+Business Media, 2009, p. 589-626.
- 32 MOTAMAYOR, J. C., P. LACHENAUD, J. W. DA SILVA, R. LOOR, D. N. KUHN, J. S. BROWN AND R. J. SCHNELL Geographic and genetic population differentiation of the amazonian chocolate tree (*Theobroma cacao* L). PLoS ONE, 2008, 3(10), e3311.
- 33 MOTAMAYOR, J. C., K. MOCKAITIS, J. SCHMUTZ, N. HAIMINEN, D. LIVINGSTONE , III, O. CORNEJO, S. D. FINDLEY, P. ZHENG, F. UTRO, S. ROYAERT, C. SASKI, J. JENKINS, R. PODICHETI, M. ZHAO, B. E. SCHEFFLER, J. C. STACK, F. A. FELTUS, G. M. MUSTIGA, F. AMORES, W. PHILLIPS, J. P. MARELLI, G. D. MAY, H. SHAPIRO, J. MA, C. D. BUSTAMANTE, R. J. SCHNELL, D. MAIN, D. GILBERT, L. PARIDA AND D. N. KUHN The genome sequence of the most widely cultivated cacao type and its use to identify candidate genes regulating pod color. Genome Biology, 2013, 14, r53.
- 34 MOTAMAYOR, J. C., A. M. RISTERUCCI, M. HEATH AND C. LANAUD Cacao domestication II: progenitor germplasm of the Trinitario cacao cultivar. Heredity, 2003, 91, 322-330.
- 35 MOTAMAYOR, J. C., A. M. RISTERUCCI, P. A. LOPEZ, C. F. ORTIZ, A. MORENO AND C. LANAUD Cacao domestication I: the origin of the cacao cultivated by the Mayas. Heredity, 2002, 89, 380-386.

- 36 NORMAH, M. N., S. K. MALIK, R. CHAUDHURY, I. SALMA AND M. A. MAKEEN. Conservation of tropical fruit genetic resources. En M.N. NORMAH ed. *Conservation of tropical plant species*. New York: Springer Science+Business Media, 2013, p. 137-170.
- 37 NÚÑEZ GONZÁLEZ, N. *El cacao y el chocolate en Cuba*. Edición ed. La Habana: Fundación Fernando Ortiz, 2010. 336 p. ISBN 978-959-7091-71-4.
- 38 ONEI. Agricultura, ganadería, silvicultura y pesca. En *Anuario Estadístico de Cuba 2019*. 2020, p. 37.
- 39 OXFORD *A dictionary of science*. Edición ed.: Oxford University Press, 2010. 900 p. ISBN 978-0-19-956146-9.
- 40 PUGH, T., O. FOUET, A. M. RISTERUCCI, P. BROTTIER, M. ABOULADZE, C. DELETREZ, B. COURTOIS, D. CLEMENT, P. LARMANDE, J. A. K. N'GORAN AND C. LANAUD A new cacao linkage map based on codominant markers: development and integration of 201 new microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 2004, 108, 1151-1161.
- 41 QUEVEDO GUERRERO, J. N., J. E. JÁCOME VÁSQUEZ, I. G. TUZ GUNCAY, R. M. GARCÍA BATISTA AND Á. E. LUNA ROMERO Análisis de diversidad fenotípica de 37 accesiones de Cacao Nacional (*Theobroma cacao* L.) en la zona sur del Ecuador. *Universidad y Sociedad*, 2020, 12(3), 102-108.
- 42 SANTOS, R. C., J. L. PIRES AND R. X. CORREA Morphological characterization of leaf, flower, fruit and seed traits among Brazilian *Theobroma* L. species. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2012, 59, 327-345.
- 43 SAUNDERS, J. A., S. MISCHKE AND A. A. HEMEIDA Identification of *Theobroma cacao* germplasm by AFLP-generated molecular markers. *InCEQuence*, 2002, 2(1), 5-8.
- 44 SAUNDERS, J. A., S. MISCHKE, E. A. LEAMY AND A. A. HEMEIDA Selection of international molecular standards for DNA fingerprinting of *Theobroma cacao*. *Theoretical and Applied Genetics*, 2004, 110, 41-47.
- 45 SCHNELL, R. J., D. N. KUHN, J. S. BROWN, C. T. OLANO, W. PHILLIPS-MORA, F. M. AMORES AND J. C. MOTAMAYOR Development of a marker assisted selection program for cacao. *Phytopathology*, 2007, 97(12), 1664-1669.
- 46 SILVA, C. R. S., P. S. B. ALBUQUERQUE, F. R. ERVEDOSA, J. W. S. MOTA, A. FIGUEIRA AND A. M. SEBBENN Understanding the genetic diversity, spatial genetic structure and mating system at the hierarchical levels of fruits and individuals of a

- continuous *Theobroma cacao* population from the Brazilian Amazon. *Heredity*, 2011, 106, 973-985.
- 47 SOUNIGO, O., R. UMAHARAN, Y. CHRISTOPHER, A. SANKAR AND S. RAMDAHIN Assessing the genetic diversity in the International Cocoa Genebank, Trinidad (ICG,T) using isozyme electrophoresis and RAPD. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2005, 52, 1111-1120.
- 48 SYAHRI, Y. F., M. RAUF, S. A. PAEMBONAN, S. H. LAREKENG AND Y. F. CAHYANINGSIH 2019. RAPD amplification on cocoa (*Theobroma cacao* L.) From East Kolaka, Southeast Sulawesi Province. En *Proceedings of the IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 2019.
- 49 THOMAS, E., M. VAN ZONNEVELD, J. LOO, T. HODGKIN, G. GALLUZZI AND J. VAN ETTEN Present spatial diversity patterns of *Theobroma cacao* L. in the neotropics reflect genetic differentiation in pleistocene refugia followed by human-influenced dispersal. *PLoS ONE*, 2012, 7(10), e47676.
- 50 TURNBULL, C. J., D. R. BUTLER, N. C. CRYER, D. ZHANG, C. LANAUD, A. J. DAYMOND, C. S. FORD, M. J. WILKINSON AND P. HADLEY Trackling mislabelling in cocoa germplasm collections. *Ingenic Newsletter*, 2004, 9, 8-11.
- 51 VÁZQUEZ-OVANDO, J. A., F. MOLINA-FREANER, J. NUÑEZ-FARFÁN, I. OVANDO-MEDINA AND M. SALVADOR-FIGUEROA Genetic identification of *Theobroma cacao* L. trees with high Criollo ancestry in Soconusco, Chiapas, Mexico. *Genetics and Molecular Research*, 2014, 13(4), 10404-10414.
- 52 WEISING, K., H. NYBOM, K. WOLFF AND G. KAHL *DNA fingerprints in plants: principles and applications*. Edición ed. Boca Ratón, Florida: CRC Press, 2005. 444 p.
- 53 YANG, J. Y., M. SCASCITELLI, L. A. MOTILAL, S. SVEINSSON, J. M. M. ENGELS, N. C. KANE, H. DEMPEWOLF, D. ZHANG, K. MAHARAJ AND Q. C. B. CRONK Complex origin of Trinitario-type *Theobroma cacao* (Malvaceae) from Trinidad and Tobago revealed using plastid genomics. *Tree Genetics & Genomes*, 2013, 9(3), 829-840.