

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades



Caracterización Botánica y Molecular de los Árboles Élite de
Cacao (*Theobroma cacao* L. – Malvaceae) de la Región de Costa
Sur, Guatemala

Trabajo de graduación presentado por
Diegopablo Pineda Schwarz
para optar a grado académico de Licenciado en Biología

Guatemala,

2020

Caracterización Botánica y Molecular de los Árboles Élite
de Cacao (*Theobroma cacao* L. – Malvaceae) de la Región
de Costa Sur, Guatemala

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades



Caracterización Botánica y Molecular de los Árboles Élite de
Cacao (*Theobroma cacao* L. – Malvaceae) de la Región de Costa
Sur, Guatemala

Trabajo de graduación presentado por
Diegopablo Pineda Schwarz
para optar a grado académico de Licenciado en Biología

Guatemala,

2020

Vo. Bo:

(f)



Msc. Ana Lucía Dubón Morales

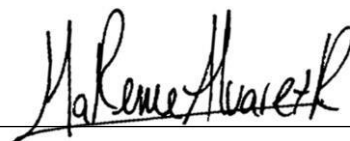
Tribunal
Examinador:

(f)



Msc. Ana Lucía Dubón Morales

(f)



Licda. Maria Reneé Álvarez

(f)



Lic. Alejandro Vásquez Contreras

Fecha de aprobación: Guatemala, 29 de septiembre 2020

PREFACIO

Agradezco a mi familia, por siempre acompañarme y ser mi refugio durante estos cinco años de esfuerzos y sacrificios.

A mi mamá, por siempre estar al pendiente de mí, por darme apoyo, motivación y paz desde que era pequeño.

A mi papá, por siempre darme el apoyo y libertad necesaria para poder cumplir mis metas y estar cada vez más cerca de mis sueños.

A mis amigos universitarios, porque con ellos pasé aventuras increíbles todos estos años de estudio, y sin su apoyo y trabajo en equipo, nunca hubiera alcanzado a lograr todo lo que logré estos años. Especialmente a Maria José Lazo, Juan Pablo Rustrián, Maria Paula Muñoz, Rafael Grajeda y Andrés Villalobos, quienes me apoyaron durante la elaboración de este proyecto.

A todos mis catedráticos, porque todos y cada uno me enseñaron algo valioso no solamente para mi carrera, sino también para la vida.

Especialmente, a mis asesoras Ana Lucía Dubón y Maria Reneé Alvarez, porque siempre confiaron en mí y me brindaron apoyo desde el inicio hasta el final de mi trabajo de graduación. Sin importar los numerosos contratiempos y obstáculos que fueron surgiendo en el camino, ellas se aseguraron de que no perdiera la esperanza ni la motivación para seguir adelante.

A Alejandro Vásquez, quien fue un gran apoyo para el proyecto, brindándome su tiempo para el análisis estadístico y ayudándome a comprender y ordenar los resultados.

A Gabriela Alfaro, por su ayuda de parte del Departamento de Biología durante todo el proceso.

Al equipo del laboratorio de protección vegetal del CEAA y del herbario UVAL de la UVG, quienes me brindaron los materiales y el tiempo para facilitar el trabajo de laboratorio, especialmente a Nina Figueroa quien me brindó apoyo durante todo el proceso.

Al grupo de agricultores de cacao de la costa sur, por su inmenso apoyo en la elaboración de este trabajo, facilitando el trabajo en campo y brindando de su tiempo. Especialmente, Maria Fernanda Rivera y Juan Pablo Monroy, quienes siempre estuvieron presentes y fueron nuestros guías durante los viajes de colecta.

A todos los integrantes del proyecto cacao, ya que permitieron que fuera posible la elaboración de este trabajo, brindando los recursos y el conocimiento para que pudiera llevarse a cabo sin problemas.

Finalmente, a la Universidad del Valle de Guatemala, la casa de estudios que me formó y preparó durante todos estos años.

CONTENIDO

PREFACIO	i
LISTA DE CUADROS	v
LISTA DE FIGURAS	vi
RESUMEN	vii
ABSTRACT.....	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES.....	3
A. <i>Theobroma cacao</i> L.	3
B. Cultivo del cacao.....	10
C. Caracterización de las variedades de cacao	15
D. Estudios previos	17
III. JUSTIFICACIÓN	21
IV. OBJETIVOS	25
V. HIPÓTESIS.....	27
VI. METODOLOGÍA	29
A. Área de estudio.....	29
B. Colecta de muestras.....	32
C. Caracterización botánica	32
D. Caracterización molecular.....	35
E. Análisis de datos	37
VII. RESULTADOS.....	39
A. Caracterización botánica	39
B. Caracterización molecular.....	54
VIII. DISCUSIÓN	61
A. Colecta de muestras.....	61
B. Caracterización botánica	62
C. Caracterización molecular.....	65
D. Integración de las características botánicas y moleculares	68

IX. CONCLUSIONES	71
X. RECOMENDACIONES	73
XI. BIBLIOGRAFÍA	75
XII. ANEXOS	80

LISTA DE CUADROS

Cuadro		Página
1.	Producción del cacao a nivel mundial para el 2002	11
2.	Producción del cacao en Guatemala para el período 2007-2014	13
3.	Nombres de las plantaciones de cacao utilizadas en el estudio	31
4.	Caracteres cuantitativos y cualitativos para la caracterización botánica de las variedades de cacao	33
5.	Marcadores microsátélites utilizados para la caracterización molecular	36
6.	Resumen de datos sobre muestras y fincas colectadas	40
7.	Resumen de las mediciones de los árboles de cacao del estudio	45
8.	Promedio de las mediciones de las flores de cacao del estudio (Primer cuadro)	47
9.	Promedio de las mediciones de las flores de cacao del estudio (Segundo cuadro)	49
10.	Promedio de las mediciones de las hojas de cacao del estudio	51
11.	Factor de inflación de la varianza evaluado para las variables cuantitativas	53
12.	Factor de inflación de la varianza evaluado para las variables cualitativas	53
13.	Número de alelos encontrados para cada muestra evaluada según el marcador utilizado	54

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1.	Consumo promedio anual en kg/cápita para países seleccionados en los años 2000 y 2010.....	12
2.	Mapa de la ubicación de las 10 fincas del estudio en Suchitepéquez y Escuintla, Guatemala	30
3.	Fotografías en campo de las flores de las muestras de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) 1 al 17.....	42
4.	Fotografías en campo de las flores de las muestras de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) 18 al 34	43
5.	Gel de integridad del ADN de agarosa 1%.....	55
6.	Análisis PCA utilizando los datos de la caracterización por medio de marcadores moleculares para las muestras 1 a 18.....	57
7.	Análisis NMDS utilizando los datos de la caracterización por medio de marcadores moleculares para las muestras 1 a 18.....	58
8.	Dendrograma elaborado a partir del índice de disimilitud de Bray-Curtis.....	60

RESUMEN

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es una planta arbórea perteneciente a la familia Malvaceae, popularizado gracias al uso de sus semillas en el proceso de producción del chocolate. Fue de alta importancia para las civilizaciones mesoamericanas, especialmente en Guatemala, siendo aprovechada por los mayas para elaborar bebidas y utilizando las semillas como moneda. Existen tres principales variedades de cacao: criollo, forastero y trinitario, cada una con características distintas utilizadas en el sector agrícola. En Guatemala, si bien no juega un rol importante en los ingresos económicos totales del país, trae beneficio a una gran cantidad de familias del área rural, generando aproximadamente 9.34 millones de quetzales anuales (ENAC, 2016) gracias a la generación de empleos por el cultivo del fruto.

El objetivo de este estudio fue llevar a cabo una caracterización botánica y molecular de 34 árboles de *T. cacao* obtenidas de 10 fincas en la región de la costa sur de Guatemala. Estos fueron árboles elite seleccionados por los agricultores. Para la caracterización botánica se llevó a cabo una medición de 26 caracteres de las estructuras del árbol, hojas y flores. Utilizando los datos obtenidos en la caracterización botánica, se llevó a cabo un análisis de correlación canónica (CCA). Para la caracterización molecular, se llevó a cabo la ampliación utilizando marcadores microsatélites (SSRs), con un total de 10 marcadores polimórficos, analizados utilizando geles de poliacrilamida. Con los datos de la caracterización molecular, se llevó a cabo un análisis de componentes principales (PCA), un análisis de escala multidimensional no métrica (NMDS), y un dendrograma elaborado a partir del índice de disimilitud de Bray-Curtis. Las variables morfométricas utilizadas en el análisis CCA no mostraron una significancia positiva ($p < 0.1$) al evaluar el modelo a través de una ANOVA, lo cual no permitió generar la gráfica del CCA. Se observó una diferenciación clara entre el pataxte (*Theobroma bicolor* L.) y el cacao en los análisis

moleculares. Se encontró una agrupación pequeña de las muestras evaluadas que consiste en las muestras Sur10c, Sur12c, Sur07c y Sur08c, posiblemente estén relacionadas genéticamente. La muestra Sur16c es la muestra con mayor similitud al cacao criollo “Yucatan Greenhouse”.

ABSTRACT

The cacao plant (*Theobroma cacao* L.) is an arboreal plant belonging to the Malvaceae family, popularized thanks to the use of its seeds in the chocolate production process. It was of high importance to Mesoamerican civilizations, especially in Guatemala, being used by the mayans to prepare drinks and using the plant's seeds as a type of currency. Three main varieties of cacao currently exist: criollo, forastero and trinitario, each one with different characteristics used in its agriculture. In Guatemala, although cacao does not play a main role in the country's income, it is still an important crop for a large quantity of families in the rural area, generating an income of approximately 9.34 millions of quetzals annually, thanks to job creation caused by the cacao plantations.

This study's main objective was to do a botanical and molecular characterization of 34 *T. cacao* trees obtained from 10 plantations in the south coast region of Guatemala. These were elite trees selected by the farmers. For the botanical characterization, 26 total characteristics from the tree, leaves, and flowers were measured. Using this data, a canonical correlation analysis (CCA) was carried out. For the molecular characterization, simple sequence repeats (SSRs) were used as molecular markers for amplification. A total of 10 polymorphic markers were used, analyzed using polyacrylamide gels. With this data, a principal component analysis (PCA), a non-metric multidimensional scale analysis (NMDS) and a dendrogram generated with Bray-Curtis indexes were all carried out. The morphometric variables used in the CCA did not show a positive significance ($p < 0.1$) when evaluated with an ANOVA. This did not allow for a CCA plot to be generated. A clear differentiation between pataxte (*Theobroma bicolor* L.) and cacao was observed according to the molecular analysis. A small group of samples consisting of samples Sue10c, Sur12c, Sur07c and Sur08c were found to be possibly genetically related. Sample Sur16c was found to be the most similar to the criollo variety "Yucatan greenhouse".

I. INTRODUCCIÓN

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es una planta caracterizada por producir el fruto del cual se obtienen las semillas para la producción del chocolate. En Guatemala, esta planta está estrechamente relacionada con la cultura maya y un cultivo importante para diversas culturas mesoamericanas en América precolombina. Se cree que los mayas fueron de las primeras civilizaciones en domesticar la planta y utilizar su fruto para elaborar bebidas, así como utilizar la semilla del cacao como moneda. El cacao además era utilizado como estimulante, ya que contiene bajas cantidades de cafeína, suficientes para que los mayas notaran sus efectos después de consumirla. La alta importancia del cacao se dio gracias a que el centro de domesticación de la planta se dio en la región de Mesoamérica, gracias a que poseía las condiciones adecuadas para su aprovechamiento por parte de los mayas. Conforme el cacao fue popularizándose en el mundo, también fue incrementando el mercado del cultivo de cacao, especialmente para la industria de elaboración de dulces. Cada año, más países desarrollados buscan importar el cacao para elaboración de distintos productos (Staller, 2009; Wolfe, 2012; Ohene, 2014; Duiker, 2013).

En Guatemala, el cultivo del cacao aporta beneficios a la economía nacional, beneficiando a familias de nivel rural, generando aproximadamente 9.34 millones de quetzales anuales, y produciendo 272,800 jornales anuales en 2013 (ENAC, 2016). Si bien es un cultivo popular en algunas regiones de Guatemala, el país no exporta grandes cantidades de cacao al extranjero. Esto se debe a diversas problemáticas que generan un “cuello de botella” para la cadena de valor del cacao en Guatemala. Estas problemáticas tienen su raíz en la falta de conocimiento de las variedades de cacao utilizadas en el país. Esto limita los potenciales consumidores extranjeros ya que en el mercado internacional se exige cacao proveniente de variedades de cacao reconocidas para asegurar producto de alta

calidad, causando así el cuello de botella que afecta los ingresos de los agricultores. (Ministerio de Economía de Guatemala, 2018).

Aún cuando el cacao es una especie de gran importancia cultural y económica para el país, no se han realizado estudios sobre la caracterización exhaustiva de las variedades de cacao que se cultivan.

El objetivo de este estudio fue, entonces, el de realizar una caracterización botánica y molecular de las variedades de cacao cultivadas en las fincas de la región de la costa sur de Guatemala, para posteriormente identificar y diferenciar las variedades existentes de *Theobroma cacao* L. en esta región.

II. ANTECEDENTES

A. *Theobroma cacao* L.

1. Descripción botánica y hábitat

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es una planta arbórea perteneciente a la familia Malvaceae. La descripción de la especie, según Parker (2008) y Stevens *et al.* (2001) es la siguiente:

Árboles pequeños, de hasta 10 m de alto, ramas laterales en fascículos de 5. Hojas cortamente pecioladas, ovalado-lanceoladas u ovado-lanceoladas, 15-34 cm de largo y 5-11 cm de ancho, ápice abruptamente acuminado, base redonda u obtusa, a veces algo asimétrica, glabras o subglabras, tricomas sobre los nervios principales. Inflorescencias pequeñas sobre prominencias del tronco; flores largamente pediceladas; cáliz rosado, lóbulos lanceolado-acuminado, 6-7 mm de largo; pétalos amarillentos, obovado-lanceolada, más cortas que la capucha, glabra, blanco-amarillenta, la capucha 3-nervia, nervios laterales muy gruesos y purpúreos; estambres 10, en 5 haces 2-anteríferos; estaminodios largamente subulados, de la misma longitud de los pétalos, puberulentos. Fruto glabro, subabayado, ovoide o elipsoidal, muy variable en tamaño, 5-10 acostillado, verrugoso o liso, redondeado o afinado en el ápice; semillas ovoides.

La planta, en su hábitat silvestre, crece en el estrato bajo de la selva tropical húmeda. La temperatura y humedad son importantes para el crecimiento del árbol. Este puede soportar temperaturas de entre 13 a 33.5 °C, y precipitación anual de entre 1000 a 2500 mm de lluvia. Ya que crece bajo la sombra de otros árboles del bosque, esto permite permanecer en el rango de temperatura y humedad ideales para su crecimiento. El cacao puede crecer en alturas de entre 50 y 1400 msnm, pero el ideal es entre 50 y 450 msnm. La planta puede

encontrarse en estado silvestre en las regiones del sur de México, Guatemala, Belice y la cuenca amazónica. En Guatemala, se encuentra principalmente en dos regiones: Alta Verapaz, y la región de costa sur-occidental. (Despal, 2004; Parker, 2008; Stevens *et al.* 2001; Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación 2016.).

2. Historia del cacao

Estudios genéticos sugieren que el cacao surgió en la región de Sudamérica, principalmente en la cuenca superior del Amazonas, adaptado a la humedad y temperatura cálida de la región. Gracias a las civilizaciones mesoamericanas, el cacao extendió su distribución hacia el norte, llegando a ser cultivado por toda Mesoamérica. Si bien la planta en su estado silvestre se originó en el Amazonas, el centro de origen de la domesticación y diversidad se dio en Centroamérica, gracias a la influencia de los mayas, aztecas y olmecas (Lim, 2012).

Se estima que los primeros en domesticar la planta del cacao fueron los Mayas, comenzando a cultivar cacao unos 2000 a 4000 años antes de la llegada de los españoles. Los mayas aprovecharon los bosques tropicales de la región, los cuales eran aptos para el cultivo del cacao. La palabra “cacao” se deriva del olmeca/maya “Kakaw”, mientras que la palabra “chocolate” se deriva del azteca “chocolatl”, nombre que le asignaron a la bebida amarga producida a partir de las semillas del fruto (Ohene, 2014).

El cacao tuvo una alta importancia para estas culturas gracias a los usos que llegó a tener. Las semillas fueron utilizadas como moneda para intercambios, o para producir las bebidas de chocolate que se decían que eran “revitalizantes”. Esto se explica gracias a las pequeñas cantidades de cafeína que contiene el cacao, el cual permitía que los que consumieran la bebida estuvieran más alerta. Debido a que estas regiones del mundo no conocían el café en ese tiempo, esta cualidad ayudó a aumentar la popularidad de la bebida (Demarest, 2004; Wolfe, 2012).

Como la planta se cultivaba exclusivamente en algunas regiones húmedas del bosque tropical, regularmente había una alta demanda por el fruto que no se lograba satisfacer. Esto aumentó el valor del cacao, por lo que su consumo se daba principalmente por las élites de las sociedades. El cacao significó un símbolo de poder y riqueza, e incluso se han hallado trazas de semillas de cacao en tumbas sagradas mayas (Staller, 2009; Duiker, 2013).

Con la llegada de los españoles a América, a los conquistadores se les introdujo el proceso de elaboración de la bebida de chocolate. Sin embargo, añadieron miel o vainilla a la bebida para hacerla más dulce. Esta combinación ayudó a popularizar la bebida en España y subsecuentemente en Europa. A inicios del siglo quince, la bebida llega a ser de nuevo un símbolo de alto estatus social, esta vez en Europa, debido a la dificultad en su obtención y sus elevados precios (Ohene, 2014).

3. Importancia y usos del cacao

Desde los inicios de su consumo por las civilizaciones mesoamericanas, hasta la actualidad, el cacao sigue siendo un cultivo altamente popular gracias a su alta demanda debido a los numerosos productos que se producen a partir de la semilla. Es de alta importancia para bebidas de chocolate, compitiendo junto con el café y el té en cuanto al mercado de bebidas. En muchos de los lugares en donde es cultivado, el cacao se utiliza para elaborar bebidas alcohólicas. Además, es utilizado por las industrias para la elaboración de dulces. El cacao puede ser utilizado también para elaborar manteca de cacao, utilizado en la industria de los cosméticos para el cuidado de la piel. (Nair, 2010).

En la época prehispánica, el cacao jugó un rol importante para las civilizaciones mesoamericanas que lo cultivaban. En la región de Costa Rica, la tribu Bribri consideraba al cacao como “una mujer, un ser humano”, ya que, en su mitología, el árbol del cacao emergió a partir de una mujer, la cual recibió las semillas del árbol de cacao de los dioses. Además, esta tribu considera al cacao como “parte de su sangre”. A partir de ello, explican que todos los “seres sobrenaturales”, hostiles o amigables, buscaban “beber la sangre de los Bribri”, ya que su sangre era el cacao. Esta alta importancia de la planta se extiende a

otras culturas también, como era con los mayas. Los mayas consideraban a la naturaleza como algo importante, y establecieron que los espíritus de los cielos y los hombres en la tierra estaban unidos a partir de un árbol, el “árbol de la vida” (Dreiss, 2008). En muchos de los recuentos mayas, este árbol era representado por una ceiba (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.), o el cacao (*Theobroma cacao* L.). Lo cual también indica la veneración del cacao por los mayas y su asociación entre el cacao y los dioses (Halbmayer, 2020).

La alta apreciación del cacao se es atribuída a su facilidad de cultivo en la región mesoamericana, la cual poseía las características ambientales ideales para un alto rendimiento. Esto incentivó el consumo del cacao, el cual era preparado de diversas formas por cada una de las culturas nativas. Los pueblos Aztecas preparaban la “bebida de los dioses” al moler y cocer los granos de cacao, combinado con miel de maguey y harina de maíz. Esta preparación era considerada un ritual, por lo que al momento de consumirse se utilizaban solamente los contenedores mejor decorados. Al ser la bebida preferida por varias de estas civilizaciones, el cacao llegó a tener un alto valor económico y espiritual en el mundo de la Mesoamérica prehispánica (Dreiss, 2008).

Otro uso que se le proporciona al cacao es en el ámbito nutricional y farmacológico. Los granos de cacao contienen numerosos componentes importantes desde el punto de vista fisiológico. En el cacao puede encontrarse la teobromina, un compuesto que actúa como relajante sobre los músculos de los bronquios. También posee teofilina, la cual posee una actividad vasodilatadora. En general, gracias a la presencia de la cafeína, el cacao posee un efecto estimulante. También posee una alta cantidad de flavonoides, los cuales actúan como antioxidantes. En medicina tradicional, el cacao se utiliza como reconstituyente y diurético, además de proveer beneficios al sistema cardiovascular (Siedentopp, 2009)

En la actualidad, el cacao sigue teniendo un alto valor en el mercado de consumo, siendo utilizado no solo para bebidas, sino también para preparación de dulces y en la industria de los cosméticos. Sin embargo, el proceso de preparación del cacao para su consumo es extenso. Iniciando con el cultivo de la planta, la selección de la variedad juega un rol importante en el sabor final del producto. Algunas variedades producen materiales

de sabor más delicado que otros, o son más susceptibles a enfermedades por lo que requieren de un mayor mantenimiento. Una vez los árboles llegan a un estado maduro, los frutos son recolectados, con cuidado de no dañar el árbol para permitir siga produciendo. Los frutos son abiertos con machete, y las semillas pasan a un proceso de secado y fermentado que no es estandarizado. Cada plantación posee su propio proceso post-cosecha que influencia el sabor y la calidad del producto. Este después es exportado para preparación de productos. Por ejemplo, tabletas de chocolate amargo para preparación de bebidas, o barras de chocolate dulce vendidos con otras golosinas (Aguayo, 2010; Dreiss, 2008)

Esta planta es un cultivo popular en varios países en vías de desarrollo. En Centroamérica, México, Brasil, el Caribe, y África, el cacao es de alta importancia ya que provee ingresos por exportación. Estos países poseen condiciones ideales para la alta productividad del cacao. Los países desarrollados importan altas cantidades de cacao para elaboración de los subproductos como el chocolate (Squicciarini, 2016; Nair, 2010).

4. Variedades de cacao

El cacao se originó en las regiones de Mesoamérica, al ser cultivado por las civilizaciones locales. A partir de este centro de origen, el cacao se fue popularizando con el tiempo y comenzó a ser cultivado en otras regiones. Esto dio origen a dos grupos principales: el grupo de cacao “criollo”, en las regiones desde México, Centroamérica hasta la región de los Andes; y el grupo de cacao “forastero” en la región del valle del Amazonas y las Guayanas. La hibridización entre el cacao criollo y forastero, y el traslado del cultivo a las islas del Caribe dio origen a un tercer grupo, el cacao “trinitario”. Cada uno de estos grupos de cacao posee distintas características, principalmente en cuanto a la forma del fruto y calidad de la semilla (Nair, 2010).

La historia de la clasificación de estas tres variedades inicia cuando el cacao es introducido en Europa, en donde debido a su popularidad inician los estudios botánicos sobre el cacao y el intento de clasificar a la planta y sus variedades. A lo largo de la historia,

ha sido evaluado y clasificado por diversos autores. A continuación, se resume una cronología sobre esta historia:

En 1605, se encuentra la primera cita del cacao en la literatura botánica, llevado a cabo por Charles de l'Ecluse, un doctor y botánico belga. En su escrito hace referencia solamente al fruto. Esta es la primera referencia conocida escrita sobre la planta. En 1630, aparece la primera clasificación del cacao en cuatro variedades en el diccionario de Hernández. Estas son: quauhcacahoatl, mecacahoatl, xochicacahoatl, y talcacahoatl. Las variedades fueron clasificadas de acuerdo con el tamaño del fruto. En 1688, John Ray hace una descripción detallada del cacao y sus productos, y describe al árbol, fruto y las semillas, utilizando nuevamente cuatro clasificaciones para las variedades (Cuatrecasas 1964).

En 1737, Linneo introduce al cacao en su clasificación y le cambia el nombre a *Theobroma*. Sin embargo, Linneo se basó en dibujos y flores que recibió de Sloane. Esto pudo haber influenciado algunos errores en la descripción, como por ejemplo Linneo describe las anteras como de 5 celdas en lugar de 4. No es hasta 1753 en donde Linneo le da un nombre binomial al cacao: *Theobroma cacao* L. (Cuatrecasas 1964).

Alrededor del año 1800, el cacao se introduce en algunas islas del caribe. Ambas variedades, criolla y forastera, son llevadas para cultivar en esta región. El cruce entre ambas variedades se adapta al ambiente de las islas, y en años subsecuentes Venezuela obtiene plantas provenientes de la isla de Trinidad al buscar expandir su cultivo de cacao. Se notó que la variedad importada de Trinidad maduraba más pronto y tenía una mayor producción que el cacao local, por lo que se le designó como una variedad distinta, la variedad "Trinitaria", resultante del cruce de las otras dos variedades (Romano, 1999)

En 1882, D. Morris publica la primera clasificación de las variedades de cacao, basándose en el cacao de Trinidad. Lo divide en dos clases: Clase I, Cacao Criollo (Rojo), y Clase II, Cacao Forastero. La segunda clase la divide en múltiples variedades. En esta descripción, Morris detalla la calidad de las semillas de cacao de cada una de las variedades. Al poco tiempo, Kunth, en 1888, da una descripción mejorada y sin errores al género y

especie del cacao. Posteriormente, Hart, en 1892, modifica la clasificación de Morris, y agrega una tercera clase, quedando entonces la clase Criolla, la clase Forastera, y la clase Calabacilla, cada una con distintas variedades (Cuatrecasas 1964; Harwich, 2018).

En 1925, Pittier presenta una nueva teoría, estableciendo que todas las formas existentes de cacao cultivado son el resultado de la hibridación de dos especies iniciales: *Theobroma cacao* L. y *Theobroma leiocarpa* Bernoulli. La primera especie, dice Pittier, se conoce comúnmente como el cacao criollo, mientras que la segunda es el Calabacillo o Cumacaco. Pittier detalla que existen una gran cantidad de variedades de cacao todas derivadas de la hibridación de estas especies, y que debe abandonarse la nomenclatura anterior. Sin embargo, permanece la nomenclatura de clasificación de variedad criolla y forestera. (Cuatrecasas 1964; Harwich, 2018).

No es hasta 1944 que se comienza a discutir sobre el sitio de origen de la especie de cacao. Cheesman propone la teoría de que las dos especies de cacao se derivan de la región del Amazonas. Mora Urpi, en 1958, propone que, si bien la planta se originó en el Amazonas, el centro de origen de la diversidad de la especie se dio en Mesoamérica, tras un estudio de la alta variabilidad del cacao en esta región (Cuatrecasas 1964).

En la actualidad, se reconocen principalmente las tres variedades: criollo, forastero, y trinitario, cada una con características específicas pero beneficiosas a su vez, las cuales son seleccionadas según las necesidades del agricultor.

El cacao de tipo “criollo” tiene como característica frutos de forma alargada y cilíndrica, con surcos profundos y marcados, dispuestos en 5 pares o como 10 surcos individuales. Cáscara muy verrugosa, con una ligera capa lignificada. Puntas agudas en cinco ángulos, rectas o recurvadas. Coloración verde, verde rojizo o rojo. Las semillas son blancas o ligeramente pigmentadas, de forma cilíndrica u ovalada. El cacao proveniente de esta variedad tiende a ser de mucha mayor calidad: el fruto es suave y aromático y posee el mejor sabor. Sin embargo, tiende a un menor rendimiento y es más susceptible a enfermedades (Enríquez, 1985; Harwich, 2018).

El cacao de tipo “forastero” tiene como característica frutos de forma ovoide u amelonada, con surcos superficiales, dispuestos como 10 surcos individuales. Los dos extremos redondos, con un pequeño “cuello” en la base. Coloración verde, blanca o a veces con tonos rosados. Las semillas tienen alta pigmentación morada, de forma triangular y aplanada. El cacao de esta variedad es de menor calidad, es poco aromático y produce un sabor más ácido y menos deseable. Sin embargo, tiene un alto rendimiento y es más resistente a enfermedades, por lo que la mayoría del cacao mundial proviene de plantaciones de cacao forastero (Enríquez, 1985; Harwich, 2018).

El cacao de tipo “trinitario” tiene principalmente características intermedias entre ambos grupos anteriores. Forma alargada, con surcos superficiales o profundos. Coloración regularmente roja o verde rojiza. Las semillas tienen forma intermedia entre ovalada y aplanada. El fruto posee un sabor más deseable que el del forastero y tiene una alta resistencia a enfermedades, aunque no tiene un rendimiento tan alto como el cacao forastero (Enríquez, 1985; Harwich, 2018).

B. Cultivo del cacao

1. Cultivo a nivel mundial

El cacao, al ser nativo de la región mesoamericana, era cultivado exclusivamente en esta región antes de la época de la conquista. Con la llegada de los españoles, el cacao llegó a popularizarse en Europa y Asia por lo que surgió el interés de cultivarlo en estas regiones. Sin embargo, el cacao posee adaptaciones hacia el clima de las regiones tropicales, por lo que su producción se limitó solamente a aquellos países que contaban con tierras tropicales húmedas. En la actualidad, el cacao es un cultivo de muy alta popularidad en todas las regiones tropicales del mundo, principalmente la región africana y mesoamericana (Enríquez, 1985).

El Cuadro 1 muestra los detalles de producción de cacao de múltiples regiones del mundo para el 2002.

CUADRO 1. Producción del cacao a nivel mundial para el 2002.

País	Producción (miles de toneladas)	% del total
<i>Continentes africano</i>		
Costa de marfil	1175	41.92
Ghana	398	14.20
Nigeria	202	7.21
Camerún	121	4.32
Otros países africanos	40	1.43
Total	1936	69.08
<i>Centro y Sudamérica</i>		
Brasil	130	4.64
Otros países centro y sudamericanos	177	6.31
Total	307	10.95
Las Antillas	33	1.17
<i>Asia y Oceanía</i>		
Indonesia	393	14.02
Malasia	79	2.82
Papúa Nueva Guinea	35	1.25
Otros países asiáticos y de Oceanía	20	0.71
Total	527	18.80
Total mundial	2803	100

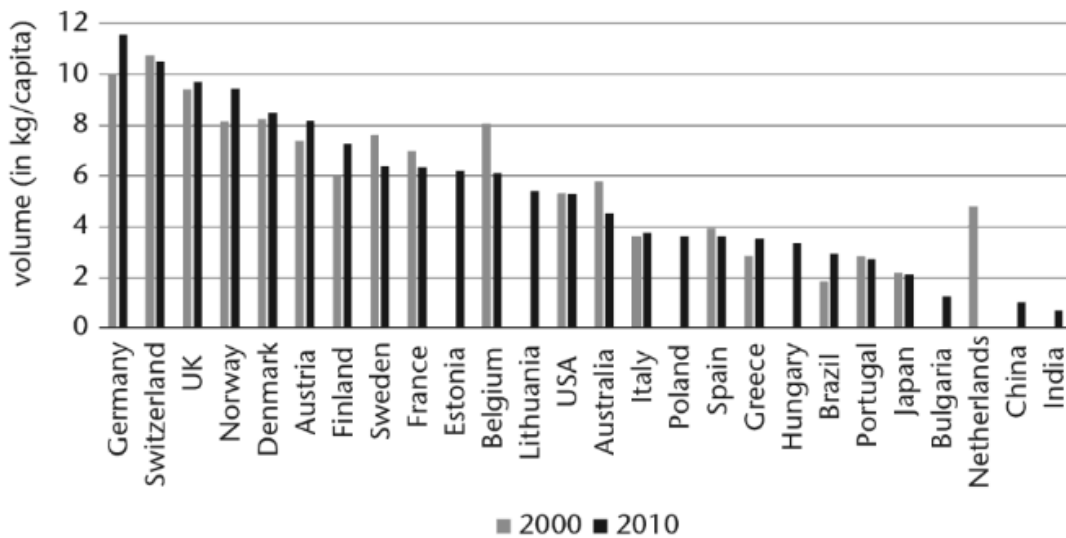
Fuente: Nair (2002)

En el Cuadro 1, se puede observar que la producción de cacao a nivel mundial se da principalmente en tres regiones: (1) África, (2) Centro y Sudamérica, y (3) Asia y Oceanía. Estas regiones tropicales permiten la alta productividad del cacao gracias a las condiciones

climáticas. La región con mayor producción de cacao es África, contando con el 69% de la producción total del mundo para el 2002. Después de este sigue la región de Asia y Oceanía, con una producción del 18% del total. Finalmente, la región de Centro y Sudamérica representa el 10% de la producción total. (Nair, 2002).

Una característica importante del cacao, que también se observa en los productos de café y té, es que son cultivados casi exclusivamente en países en desarrollo, pero la mayor tasa de consumo se da en los países desarrollados. Es por ello que son cultivos importantes para el crecimiento económico de muchos países de regiones tropicales (FAO, 1995).

La Figura 1 muestra el consumo promedio anual de cacao en *kg/cápita* para países seleccionados, comparando dos años: el 2000, y el 2010, para observar el crecimiento del consumo del cacao durante una década.



Fuente: Squicciarini (2010)

FIGURA 1. Consumo promedio anual de cacao en *kg/cápita* para países seleccionados en los años 2000 y 2010

El consumo del cacao incrementó en el período del 2000 al 2010 (Figura 1) en algunos de los países con mayor consumo de cacao. Debido a esto, se espera que el consumo del cacao siga en incremento, causando así también el incremento de la producción del cacao.

Dicha producción también ha incrementado, especialmente para el período de 1990-2008 (Squicciarini, 2010).

2. Cultivo en Guatemala

En Guatemala, un alto porcentaje de la región del país presenta condiciones aptas para el crecimiento del cacao. Para el 2014, la producción de cacao en el país cubre alrededor de 4410 hectáreas. De este total, el 31% pertenece a territorios de Alta Verapaz, 31% a Suchitepéquez, 25% a San Marcos, y el 13% restantes al resto de los departamentos, siendo los principales, Petén, Izabal, Quiché y Retalhuleu. Anualmente, existe un incremento en la producción del cacao del país, a su vez incrementando al área utilizada para su cosecha (ENAC, 2016).

En el Cuadro 2, se observan los detalles de la producción de cacao específicamente para Guatemala, abarcando el período 2007-2014.

CUADRO 2. Producción del cacao en Guatemala para el período 2007-2014.

Año	Área cosechada (Ha)	Producción (TM)	Rendimiento (TM/Ha)	Rendimiento (kg/Ha)
2007	3,892.31	1,014.97	0.26	260.78
2008	3,916.08	1,043.76	0.27	266.54
2009	3,916.08	1,061.57	0.27	271.09
2010	3,986.01	1,073.54	0.27	269.33
2011	4,125.87	1,161.82	0.28	281.65
2012	4,265.73	1,247.73	0.29	292.55
2013	4,335.66	1,259.55	0.29	290.55
2014	4,405.59	1,313.64	0.30	303.03

Fuente: Estrategia Nacional de la Agrocadena de Cacao (2016)

Se puede observar que para el período del 2007-2014, la producción anual en toneladas aumentó casi un 33% (Cuadro 2). Se espera que la producción siga en incremento para

Guatemala en años subsecuentes, incrementándose también el rendimiento observado en las cosechas (ENAC, 2016).

En cuanto al comercio del cacao producido en Guatemala, alrededor del 96% es utilizado internamente, mientras que el 4% de la producción es exportado a otros países. A pesar de ello, la producción local no es suficiente para satisfacer la demanda nacional, por lo que se realizan importaciones anuales de cacao. Se estima que se importa cuatro veces más de lo que se exporta como país en cuanto al cacao (ENAC, 2016; MARN, 2016).

En el país, existe un déficit creciente de materia prima del cacao, debido al aumento de la demanda por parte de industrias de chocolate artesanal y el autoconsumo de las familias productoras. A nivel mundial, existe también un déficit creciente. Para el 2014, se estimó un déficit de cacao mundial de 75,000 TM (MARN, 2016).

El cultivo del cacao aporta diversos beneficios a la economía nacional. Si bien no juega un rol importante en los ingresos económicos del país, el cacao beneficia a una gran cantidad de familias del área rural. El sector del cacao genera aproximadamente 9.34 millones de quetzales anuales, en donde el 45% es distribuido en el área rural. Esto es gracias a la generación de empleos que trae el cultivo del cacao para las familias rurales. En total, se estima que para el 2013 la industria del cacao produjo 272,800 jornales. A partir de estos datos, se estima se producen alrededor de 23 jornales anuales por hectárea de cacao, los cuales pueden incrementar a 69 jornales por hectárea mediante un manejo tecnificado (ENAC, 2016; MARN, 2016).

A pesar de los beneficios que trae consigo el cultivo de cacao, existen diversos cuellos de botella que limitan la producción en el país y la capacidad de exportación del cacao. La mayoría de los productores de cacao tienen muy pequeñas áreas de tierra, menores a 1 hectárea por asociado. Los rendimientos promedio de los productores son de menos de 0.3 Tm/Ha. Alrededor de un 40% de productores no están formalmente organizados, lo cual limita comercialización a escala mayor. Además, los productores no tienen acceso a información de precios. En su mayoría existe un desconocimiento del material genético

utilizado, lo cual dificulta la exportación ya que normalmente se exige material genético certificado en los mercados internacionales (ENAC, 2016).

3. Compatibilidad del cacao

El proceso de polinización del cacao se da por entomofilia, llevado a cabo principalmente por insectos del género *Forcipomyia* (Familia Ceratopogonidae). Debido a la dependencia de los insectos, la tasa de fertilización de las flores es relativamente baja, en promedio solamente el 2% de las flores producen fruto (Alvim, 1984). Además, numerosas variedades de cacao presentan una autoincompatibilidad sexual. Esto quiere decir que las flores deben ser fertilizadas por polen de otros individuos, no por flores de la misma planta, para poder producir fruto. Este mecanismo favorece la variabilidad genética de la especie al incentivar la fertilización de las flores por parte de otros individuos. Este proceso de incompatibilidad se da a través de la identificación de un gen llamado gen S en el polen. El óvulo identifica el gen y en caso de producirse una autopolinización, se da una reacción en donde se excisa la flor (Cope, 1962). Este proceso influye en el rendimiento de los cultivos, ya que aquellas variedades que son auto compatibles tienen un rendimiento más alto. Por ello ha sido un objeto importante de estudio para aumentar la producción. Se han realizado numerosos estudios anteriores para identificar las variedades auto incompatibles y su inter-compatibilidad con otras variedades, permitiendo así identificar los mejores cruces entre distintos genotipos de cacao (N’Zi, 2017; de Jesus, 2018; Warren, 1995; Yamada, 2010).

C. Caracterización de las variedades de cacao

1. Caracterización botánica

La caracterización botánica de una especie se basa en analizar y describir las características cualitativas (morfológico) y cuantitativas (morfométrico) de los individuos. Ambas clasificaciones permiten identificar el rango de fenotipos que puede presentar la especie y las variedades que existen dentro del grupo. Las características cuantitativas o morfométricas son aquellas que pueden ser medidas numéricamente. Por ejemplo, el largo de la hoja o la cantidad de pétalos. Por el otro lado, las características cualitativas o

morfológicas son aquellas que no pueden ser cuantificadas. Por ejemplo, el color de las flores o la forma del fruto (Núñez-Colín *et al.* 2011).

La caracterización botánica es indispensable para poder identificar las diferencias entre especies de plantas o entre variedades de la misma especie. Este método representa un relativo bajo costo, ya que se basa en observación de las muestras de los individuos a estudiar. A través de la caracterización botánica numerosos estudios han logrado la descripción de especies similares y variedades. La caracterización no necesariamente se lleva a cabo con la planta completa, puede realizarse utilizando un órgano exclusivo de la planta como las hojas, las flores, las semillas o el fruto. Sin embargo, la caracterización botánica tiene sus límites, ya que puede haber individuos con fenotipos iguales o muy similares pero que tienen diferencias genéticas significativas. Para ello, puede utilizarse el apoyo de una caracterización molecular que permita hallar estas diferencias que no pueden verse a simple vista (Núñez-Colín *et al.* 2011; Rondón, 2012).

2. Caracterización molecular

El proceso de caracterización molecular tiene el mismo objetivo que la caracterización botánica: lograr diferenciar individuos y agruparlos en clases o categorías. Sin embargo, el principio se basa en identificar secuencias específicas de ADN o genes específicos, es decir, observar el genotipo, en vez de utilizar el fenotipo. Las diferencias que se dan en las secuencias de ADN de cada individuo son a causa de mutaciones por sustitución, inserción o delección de nucleótidos, o bien por duplicación o inversión de grupos de nucleótidos. Estas variaciones pueden ser expresadas en el fenotipo o no, y si no son expresadas pueden detectarse gracias a la caracterización molecular. A comparación de la caracterización botánica, este proceso es más costoso, pero puede llegar a ser más efectivo en casos donde las variedades sean muy similares morfológicamente (FAO, 2010).

Existen diversos métodos para poder llevar a cabo una caracterización molecular. Puede utilizarse el ARN, las proteínas, polimorfismos de nucleótido simple (SNPs), o en el caso de este estudio, microsatélites del ADN. Los microsatélites o SSRs, por sus siglas en inglés (*simple sequence repeats*) son secuencias repetitivas de dos, tres o cuatro nucleótidos. Los

microsatélites son de los marcadores más populares para estudios de caracterización molecular. Esto se debe a que poseen una alta tasa de mutación y son fáciles de detectar. Sin embargo, para el estudio de caracterización los microsatélites deben cumplir con dos criterios: ser polimórficos y consistentes. A partir de los microsatélites se puede medir el número medio de alelos por población, heterocigosidad observada y heterocigosidad esperada, entre otros parámetros (FAO, 2010; Allegre, 2012).

D. Estudios previos

La caracterización de variedades de especies locales es una herramienta muy útil para poder identificar y aprovechar el material genético de las variedades de una región, por lo que ha sido utilizado en el pasado en diversos países para poder identificar aquellos individuos de alto valor genético que pueden ser aprovechados. Un estudio llevado a cabo en Colombia por Ballesteros *et al.* (2015), tuvo como objetivo identificar morfológicamente aquellos árboles de cacao considerados “élite” por los agricultores en la región de Tumaco, Nariño. A partir de esta investigación, lograron separar a los individuos en grupos según su genotipo y hallar una alta diversidad genética de cacao en la región. Esto fue importante pues la diversidad se encontraba amenazada debido al aumento del uso de variedades externas por parte de los agricultores, lo cual podía causar una pérdida de los genotipos locales.

De la misma manera, un estudio llevado a cabo por Zhang *et al* (2007), buscó caracterizar un grupo de muestras de cacao de un banco de germoplasma en Ecuador. Este grupo fue seleccionado específicamente ya que se caracteriza por ser resistente a una enfermedad denominada “escoba de bruja”, que causa deformidades en las plantas leñosas, en las que comienza a crecer una masa densa de brotes a partir de un punto en el tronco del árbol. En el cacao puede causar pérdida en la productividad del individuo afectado.

El objetivo entonces fue el de llevar a cabo una caracterización molecular utilizando microsatélites, de manera en que se identifiquen las relaciones entre los individuos seleccionados, ya que este grupo ha sido muy poco estudiado, pero resulta importante para aprovechar su resistencia ante esta enfermedad específica. Se determinó que los individuos

tenían una alta similitud genética, presentando un nivel de heterocigosidad alto sin señales de endogamia. A partir de ello, se identificó la importancia de este grupo de individuos de la región, ya que pueden ser utilizados para explorar nuevas fuentes de resistencia a enfermedades para cultivos futuros (Zhang, *et al.*, 2007).

Además de estos, existen numerosos estudios que utilizan el mismo principio de caracterización ya sea molecular o morfológica para identificar variedades de regiones locales que pueden tener propiedades importantes y que en un futuro su material genético puede ser aprovechado ya sea para mejorar la productividad o para resistencia ante enfermedades (Zhang, 2008; Ji, 2012; Arciniegas, 2005). Estos estudios demuestran que distintas localidades pueden poseer material genético importante que, si no es protegido, puede perderse y así desaprovecharse oportunidades valiosas para su uso.

Además de la pérdida de material genético importante, la falta de investigación trae consigo otras problemáticas que causan un cuello de botella en el avance de la mejora del cacao. Este tema fue abordado por Motamayor *et al.* (2008). Según dicho estudio, en Latinoamérica los numerosos proyectos de colecta de germoplasma del cacao no han brindado el beneficio esperado, ya que se conoce muy poco sobre las variedades cultivadas y su historia genética en la región. Esto ha causado errores en la identificación del germoplasma, lo cual impide la interpretación correcta de análisis de diversidad del germoplasma del cacao de Latinoamérica. Para resolver esto, analizaron 1241 accesos de muestras genéticas de cacao para su análisis con 106 marcadores, con el objetivo de verificar y promover una correcta clasificación del germoplasma de cacao para apoyar a su manejo adecuado. Esto además sentó las bases para la caracterización molecular del cacao en Latinoamérica, ya que se pudo evaluar la efectividad de los 106 marcadores utilizados, mostrando cuáles de estos presentaban alto polimorfismo.

En el caso de Guatemala, se han llevado a cabo pocos estudios de caracterización del cacao en la región, lo cual representa una falta de información importante ya que esta área fue un centro de diversificación de cacao. Guatemala tiene un alto potencial de poseer una gran diversidad de cacao que puede ser aprovechado para beneficiar a los agricultores

locales. Entre los pocos estudios realizados en Guatemala, destacan el de Ávalos *et al.* (2012), el cual trabajó específicamente con un jardín clonal de cacao de costa sur, y el de Del Cid (2013), el cual realizó una base para la descripción morfológica del fruto de cacao de costa sur. Sin embargo, estos estudios solamente tocan la superficie del vacío de información que existe. Esto denota que hace falta un trabajo más extenso de manera en que se identifiquen variedades de cacao importantes en Guatemala que pueden perderse si no son conservados.

III. JUSTIFICACIÓN

El cacao es una especie de alta importancia para Guatemala. No solo es un cultivo nativo y de importancia económica, sino también está relacionado con la cultura maya de la región. Si bien Guatemala tiene las condiciones ambientales ideales para el cultivo del cacao, no posee territorios tan extensos como otros países productores. Es por ello que Guatemala compite en el mercado internacional a través de la calidad del producto y no por la cantidad. Sin embargo, no se han caracterizado las variedades cultivadas por los agricultores en el país. Esta caracterización permitiría identificar la historia y relación de las variedades, así como poder identificar aquellas variedades con características favorables como resistencia a enfermedades o tolerancia a estrés ambiental.

Para este estudio, se realizaron dos tipos de caracterización: la caracterización botánica y la caracterización molecular. La caracterización botánica lleva un proceso más rápido y menos costoso que la caracterización molecular. Sin embargo, la caracterización molecular puede llegar a ser más precisa e identificar variedades que pueden parecer iguales según la caracterización botánica. El beneficio de llevar a cabo ambos tipos de caracterizaciones es que se podrán correlacionar las características morfológicas con el de las variedades identificadas por el análisis molecular. Esto sienta las bases para poder identificar en el campo, de manera más rápida, características morfológicas de las plantas que inmediatamente podrán correlacionarse a una variedad específica gracias a lo obtenido por la caracterización molecular. Esto facilita la identificación futura de variedades, ya que incluso puede llevarse a cabo por los agricultores, gracias al reducido costo y facilidad de la caracterización botánica. Esta base es importante además para futuros estudios ya que permite tener una base de datos con la cual podrán compararse otros individuos de regiones distintas a las de las trabajadas en este estudio.

Existen distintos sistemas de clasificación del cacao según morfología, pero en algunos casos no hay un consenso en cuanto a si un grupo es una especie distinta o una variedad perteneciente a una especie. Al comunicarse entre los agricultores, existe una problemática en cuanto a los nombres comunes de las variedades, ya que los nombres comunes varían en cada región del país, y puede que dos variedades con características distintas tengan el mismo nombre en regiones diferentes, o bien una misma variedad tenga nombres distintos. Otro problema que ocurre debido a la falta de clasificación del cacao se da por autoincompatibilidad de genotipos, que han sido trazados a marcadores moleculares específicos (Lanaud *et al*, 2017). Hace falta una identificación de las variedades de cacao en Guatemala para solucionar varias de estas problemáticas.

Esta falta de información actúa como un “cuello de botella” para la cadena del valor del cacao en Guatemala. Esto porque es necesario conocer el origen de las variedades cultivadas para poder identificar y asegurar que el producto exportado será de cierta calidad. La calidad del producto se ve influenciado por los procesos “Post-cosecha” de secado y fermentado llevado a cabo por los agricultores. Estos procesos deben ser optimizados según la variedad de cacao con la que se trabaja. El conocer la variedad cultivada facilita la optimización de estos procesos, a su vez mejorando la calidad del producto exportado. Esto es de especial importancia en el mercado internacional, ya que se exige producto proveniente de material genético certificado. Además, se podrán identificar aquellas variedades con características deseables que pueden ser de beneficio para las plantaciones, ya que al tener una alta variedad los agricultores pueden obtener mezclas y así aprovechar las ventajas de cada material genético. Finalmente, se logra también proteger aquellos individuos con material genético deseable que pueden perderse si se comienzan a utilizar variedades “comerciales” y se eliminan las variedades locales. El objetivo de este estudio fue el de llenar ese vacío de información existente en cuando al material genético del cacao en la región, para poder así ayudar a eliminar ese cuello de botella de la cadena de valor del cacao en el país, mejorando así la economía de los agricultores que trabajan con este cultivo

Existen muy pocos estudios sobre caracterización botánica y molecular del cacao en Guatemala, a pesar de que estudios más extensos ya se han llevado a cabo en otros países (Zhang, 2008; Ji, 2012; Arciniegas, 2005). En Guatemala, existe un estudio publicado sobre caracterización del cacao criollo de un jardín clonal en la zona sur de Guatemala (Ávalos *et al.* 2012) Y otro estudio sobre descriptores morfológicos de los frutos de cacao de árboles considerados “superiores” de la zona sur de Guatemala (Del Cid, 2013). Sin embargo, no existe información detallada sobre las variedades cultivadas en las distintas regiones del país.

IV. OBJETIVOS

A. General

- Caracterización botánica y molecular de las variedades de cacao cultivadas en la región de costa sur de Guatemala

B. Específicos

- Caracterización de variedades de cacao según las características morfológicas y morfométricas.
- Caracterización de variedades de cacao a través de la técnica de marcadores microsátélites.
- Identificación de marcadores morfológicos y/o morfométricos para la diferenciación de variedades de *Theobroma cacao* L.
- Identificación de marcadores genéticos para la diferenciación de variedades de *Theobroma cacao* L.
- Comparar patrones genéticos con características morfológicas para encontrar relaciones entre ambos.

V. HIPÓTESIS

- Ha: Existen variedades distintas de *Theobroma cacao* L. en la región de la costa sur de Guatemala identificadas a partir de los marcadores moleculares y botánicos del cacao.
- Ho: No existen distintas variedades de *Theobroma cacao* L. en la región de la costa sur de Guatemala identificadas a partir de los marcadores moleculares y botánicos del cacao.

VI. METODOLOGÍA

A. Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en 10 fincas de cacao de la región de costa sur de Guatemala, de las cuales nueve se encuentran en el departamento de Suchitepéquez, y una en Escuintla. La región del estudio se encuentra en la zona de vida del bosque húmedo tropical cálido (IARNA, 2018). Esta zona se caracteriza por poseer temperatura promedio de entre 24-28 °C, precipitación de entre 1426-4071 mm, y humedad relativa entre 50-85%. El 22.45% del área de esta zona de vida posee bosque, y el 47.47% del área es de uso agrícola (IARNA-URL, 2018).

La Figura 2 muestra la ubicación de las Fincas visitadas en este estudio para la colecta de las muestras.

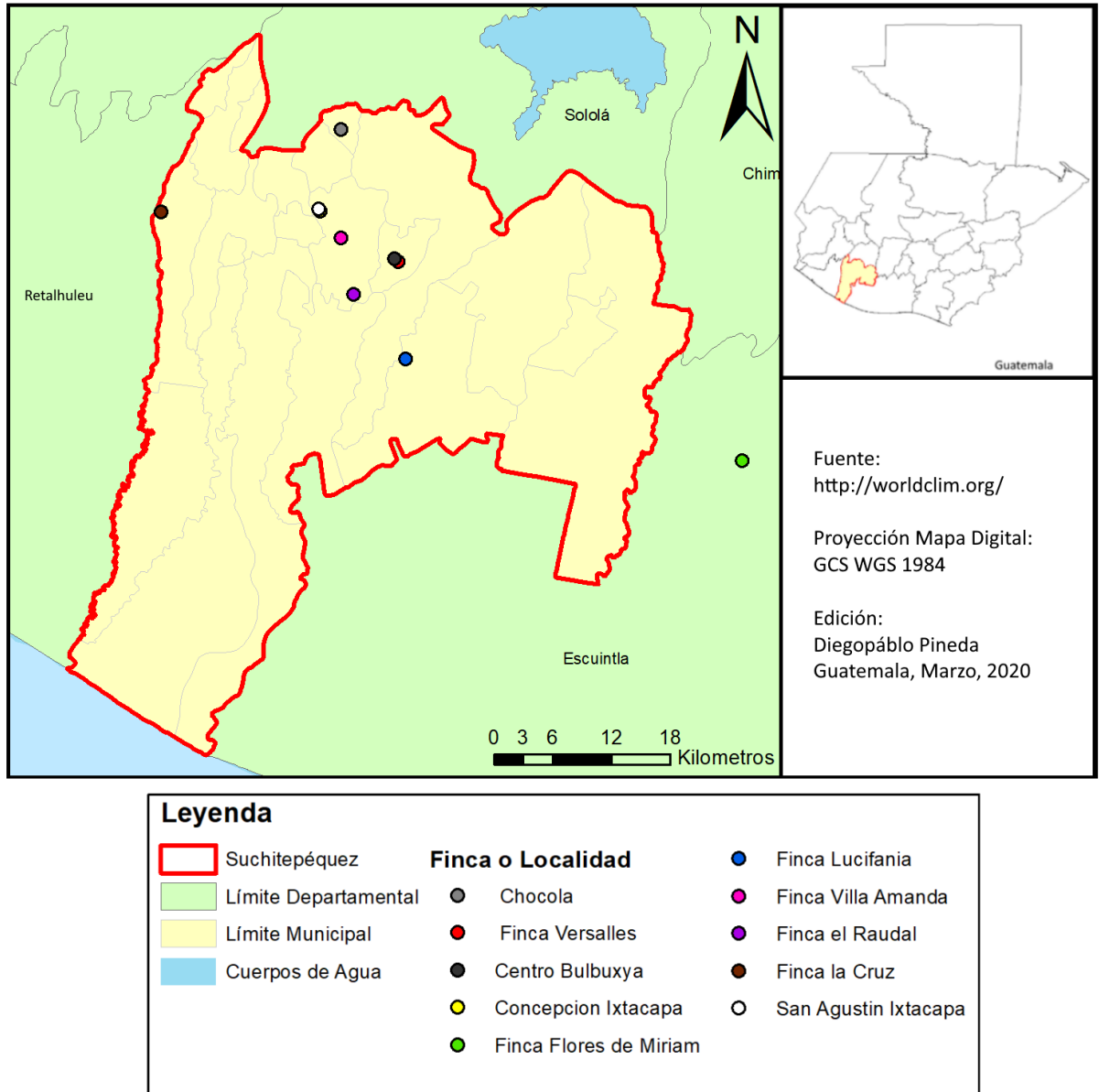


FIGURA 2. Mapa de la ubicación de las 10 Fincas del estudio en Suchitepéquez y Escuintla, Guatemala.

Nueve de las diez fincas se encuentran en Suchitepéquez, la finca restante se encuentra en Escuintla. Esta región representa una de las regiones de alta producción de cacao del país, por lo que hay numerosas fincas de cacao, cada una con un manejo y control distinto al de las demás (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación, 2016).

El Cuadro 3 muestra los nombres y detalles de las plantaciones de cacao utilizadas en el estudio.

CUADRO 3. Nombres de las plantaciones de cacao utilizadas en el estudio.

No.	Nombre de la finca o localidad	Departamento	Municipio	Coordenadas (Lat, Long)	Estado de manejo
1	Finca la Cruz	Suchitepéquez	Cuyotenango	14°32.517' 91°34.786'	Bajo manejo
2	Sector Hulera, Concepción, Ixtacapa	Suchitepéquez	San Antonio Suchitepéquez	14°32.565' 91°23.022'	Abandonado
3	Sector Hulera, San Agustín, Ixtacapa	Suchitepéquez	San Antonio Suchitepéquez	14°32.700' 91°26.104'	Bajo manejo
4	Finca Villa Amanda	Suchitepéquez	San Antonio Suchitepéquez	14°31.086' 91°24.886'	Bajo manejo / Centro turístico
5	Finca el Raudal, San Antonio	Suchitepéquez	San Antonio Suchitepéquez	14°30.899' 91°24.850'	Bajo manejo
6	Finca Flores de Miriam	Escuintla	Santa Lucía Cotzumalguapa	14°18.821' 91°02.781'	Bajo manejo
7	Finca Versalles	Suchitepéquez	San Miguel Panán	14°29.799' 91°21.728'	Bajo manejo
8	Centro de Agricultura Tropical Bulbuxyá	Suchitepéquez	San Miguel Panán	14°29.974' 91°21.917'	Centro de investigación agroforestal
9	Plantación Chicolá	Suchitepéquez	Santo Tomás la Unión	14°37.091' 91°24.893'	Bajo manejo
10	Finca Lucifania	Suchitepéquez	Río Bravo	14°24.452' 91°21.504'	Bajo manejo

En total, en el estudio se abarcaron dos departamentos y seis municipios. El orden en el cual se numeraron las fincas corresponde al orden de visita de cada una.

B. Colecta de muestras

En total, se seleccionaron 34 individuos que representen variedades catalogadas como “élite” según los productores de cada finca. Los criterios utilizados fueron: 1) índice de grano (peso igual o mayor a 1 gramo), 2) índice de mazorca (20-25 frutos para producir 1 kg de cacao seco), 3) resistencia a enfermedades, basado en casos de incidencia, 4) buenas características organolépticas (según criterio del productor) y 5) que fueran los árboles más antiguos de la localidad. Se organizaron dos viajes de campo para realizar las colectas. El primer viaje se llevó a cabo del 17 al 19 de enero del 2020, y el segundo viaje, del 9 al 11 de marzo. En campo, cada individuo fue georreferenciado y marcado para mantener la trazabilidad de las muestras. Además, se tomó medida de la altura, diámetro a la altura del pecho (DAP) y número de frutos del individuo. De cada árbol, se colectaron 3 ramas con al menos 5 hojas, además de 3 flores y 3 frutos. Cada muestra fue herborizada y rotulada. Estas muestras fueron utilizadas para la caracterización botánica. Adicionalmente, se almacenaron 100 a 200 gramos de tejido de hojas de cada individuo y se colocaron en bolsa ziploc con sílica gel. Estas muestras fueron utilizadas para la caracterización molecular. Las bolsas con muestras se almacenaron en hielera con refrigerante y fueron transportadas al Laboratorio de Protección Vegetal de la Universidad del Valle de Guatemala. En caso de no ser posible transportar la muestra el mismo día de la colecta, se almacenaron a 4°C para evitar degradación.

C. Caracterización botánica

El Cuadro 4 muestra el listado y detalles de todas las características morfométricas medidas en este estudio, utilizadas para la caracterización botánica.

CUADRO 4. Caracteres cuantitativos y cualitativos para la caracterización botánica de las variedades de cacao

No.	Estructura	Carácter	Medición	Medición en campo o en laboratorio
1	Árbol	Altura	M	campo
2		DAP	cm	campo
3		Número de frutos por árbol	-	campo
4	Hoja	Largo de la hoja	mm	laboratorio
5		Ancho de la hoja	mm	laboratorio
6		Número de pares de venas	-	laboratorio
7		Largo del peciolo	mm	laboratorio
8		Forma del limbo	-	laboratorio
9		Forma del ápice	-	laboratorio
10		Forma de la base	-	laboratorio
11		Largo del pedicelo	mm	laboratorio
12		Color del pedicelo	-	laboratorio
13		Número de sépalos	-	laboratorio
14	Largo de los sépalos	mm	laboratorio	
15	Forma de los sépalos	-	laboratorio	
16	Color de los sépalos	-	laboratorio	
17	Número de pétalos	-	laboratorio	
18	Flores	Largo de los pétalos	mm	laboratorio
19		Forma de los pétalos	-	laboratorio
20		Color de los pétalos	-	laboratorio
21		Número de estambres	-	laboratorio
22		Largo del estambre	mm	laboratorio
23		Número de estaminodios	-	laboratorio
24		Largo de estaminodios	mm	laboratorio
25		Color de estaminodio	-	laboratorio
26		Largo del pistil		laboratorio

(Continuación CUADRO 4.)

No.	Estructura	Carácter	Medición	Medición en campo o en laboratorio	
27	Fruto	Largo del fruto	mm	laboratorio	
28		Ancho del fruto	mm	laboratorio	
29		Forma del fruto	-	laboratorio	
30		Forma del ápice	-	laboratorio	
31		Forma de la base	-	laboratorio	
32		Número de surcos	-	laboratorio	
33		Textura	-	laboratorio	
34		Color del fruto Maduro	-	laboratorio	
35		Color del mesocarpio	-	laboratorio	
36		Número de semillas	-	laboratorio	
37		Semillas	Ancho de la semilla	mm	laboratorio
38			Largo de la semilla	mm	laboratorio
39			Grosor de la semilla	mm	laboratorio
40	Color de la semilla		-	laboratorio	
41	Forma longitudinal		-	laboratorio	

En el laboratorio, se realizó la medición de estas características, exceptuando las medidas de los árboles, los cuales se realizaron en campo. Además, se fotografiaron las formas de las hojas, flores, frutos y semillas que se obtuvieron. Para realizar las mediciones, se utilizó un vernier digital, en conjunto con un estereoscopio.

Adicionales a los 34 individuos élite, se utilizaron además tres variedades de cacao conocidas obtenidas en el Centro de Agricultura Tropical Bulbuxyá. Estas tres variedades fueron el “ICS95” (Trinitario), “SPA-9” (Trinitario), y el “Catongo” (Forastero). Además, se incluyó como “outgroup” una muestra de pataxte (*Theobroma bicolor* L.). Se realizaron las mismas mediciones morfológicas a estos controles para su uso como referencia en el análisis estadístico.

D. Caracterización molecular

La caracterización molecular se llevó a cabo con 18 de las muestras colectadas durante el trabajo en campo. Además, se incluyeron dos controles: una muestra de una variedad de cacao criollo conocido como “Yucatán greenhouse”, y una muestra de pataxte (*Theobroma bicolor* Humb. & Bonpl.) el cual pertenece al mismo género que el cacao.

Al obtener las muestras de las colectas, se procesaron lo más rápido posible, evitando la degradación y asegurando la confiabilidad de los datos. El ADN fue extraído utilizando una versión modificada de los protocolos de Murray (1980), Davis (1995), y Mathew (2014), el cual se detalla a continuación.

Para la extracción, se inicia tomando aproximadamente 0.3g de tejido del material vegetal, colocándolo en un tubo de 1.5 ml. A éste se le agregan 150 ul de PVP 10%, 100 ul de metabisulfito de sodio 5%, 200 ul de β -mercaptoetanol y 50 ul de agua desmineralizada. El material vegetal se macera en frío utilizando un pistilo estéril de madera. Al finalizar a cada tubo se le agregan 400 ul del buffer CTAB precalentado a 65°C, y se mantiene en incubación durante 30 minutos. Posteriormente se deja enfriar las muestras hasta temperatura ambiente, y se agregan 400 ul de cloroformo:alcohol isoamílico (24:1). Los tubos se mezclan y se centrifugan a 13,000 rpm por 10 min. El sobrenadante obtenido se transfiere a un tubo nuevo. A este sobrenadante se le agregan 400 ul de isopropanol frío y 40 ul de acetato de amonio 7.5 M. El tubo se mezcla por inversión y se incuba a -20°C mínimo por 20 min. Sin embargo las muestras pueden dejarse en esta incubación por varios días. Posteriormente, se descarta el sobrenadante y se seca el precipitado en el horno a 50°C. El *pellet* es resuspendido en aproximadamente 50 ul de *buffer* TE precalentado a 65°C. Este volumen puede variar de acuerdo al tamaño del *pellet* obtenido. El ADN finalmente es almacenado a 4°C si será utilizado, o a -20°C si se almacena por períodos prolongados de tiempo.

Una vez obtenido el ADN, se procedió a la amplificación usando marcadores microsátélites (SSR's, o Simple Sequence Repeats). Se utilizaron 10 marcadores, los cuales

fueron seleccionados a partir de 30 marcadores iniciales debido a que mostraban alto polimorfismo con las muestras trabajadas (Aragon, 2009; Ávalos, 2012; Cryer, 2006; Johnson, 2009; Lanaud, 1999; Loor, 2009; Motilal, 2009; Rulz-Erazo, 2015; Saunders, 2004; Schnell, 2005; Sereno, 2005).

Los detalles de los marcadores microsatélites utilizados para la caracterización molecular se encuentran en el Cuadro 5.

CUADRO 5. Marcadores microsatélites utilizados para la caracterización molecular

Nombre	No. alelos	Secuencias	Tamaño de fragmentos
mTcCIR1	3-10	GCAGGGCAGGCTCAGTGAAGCA TGGGCAACCAGAAAACGAT	143, 128-146
mTcCIR4	3	CGACTAAAACCCAAACCATCAA AATTATTAGGCAACCCGAACTT	259
mTcCIR10	4-18	ACAGATGGCCCTACACACT CAAGCAAGCCTCATACTC	208-274
mTcCIR19	6-10	CACAACCCGTGCTGATTA GTTGTTGAGGTTGTTAGGAG	376
mTcCIR25	11-13	CTTCGTAGTGAATGTAGGAG CTTCGTAGTGAATGTAGGAG	150-185
mTcCIR28	2	GATCAATCAGAAGCAAACACAT TAAAGCAGCCTACCAAGAAAAG	336
mTcCIR37	6-13	CTGGGTGCTGATAGATAA AATACCCTCCACACAAAT	133-185, 136-187
mTcCIR40	6-10	AATCCGACAGTCTTTAATC CCTAGGCCAGAGAATTGA	259-284, 262-288
mTcCIR58	6-12	CGCTACTAACAAACATCAAA AGAGCAACCATCACTAATCA	190-218
mTcCIR60	8	CGCTACTAACAAACATCAAA AGAGCAACCATCACTAATCA	190-218

Además del nombre de cada uno de los marcadores microsátélites, se obtuvo también el número de alelos promedio esperado para cada marcador, así como el tamaño de fragmento esperado para el análisis de los geles. Adicionalmente, se incluyeron las secuencias de los primers.

Al obtener el producto de la amplificación, este se separó por peso molecular mediante electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE) 20% de 38 x 20 cm, utilizando un voltaje de 160V, durante una hora. Se utilizó nitrato de plata para teñir los geles y poder visualizar los fragmentos para posterior análisis. Los geles fueron fotografiados y digitalizados para poder determinar el tamaño de los fragmentos utilizando el programa Gel Analyzer. Se utilizaron solamente las bandas que sean suficientemente claras y consistentes en el análisis. Con esto se generó una matriz de datos del tamaño de los fragmentos, que fue utilizada en el análisis estadístico. Dentro de esta matriz, se agregaron los datos de una muestra de cacao criollo llamado “Yucatan greenhouse”, y una muestra de pataxte (*Theobroma bicolor* Humb. & Bonpl.) los cuales fueron analizados con los mismos marcadores microsátélites, para utilizar como referencia en el análisis estadístico. Para finalizar, se deshidrataron los geles para ser almacenados

Adicionales a los 34 individuos élite, se agregó además una variedad de cacao criolla conocida como “Yucatán Greenhouse”, así como el control “outgroup” siendo la muestra de Pataxte (*Theobroma bicolor* L.) para su comparación en el análisis estadístico.

E. Análisis de datos

El análisis de los datos se llevó a cabo en el programa de análisis estadístico R (versión 3.6.1).

Para el análisis de los datos obtenidos en la caracterización botánica, se realizó un análisis de Correlación Canónica (CCA, por sus siglas en inglés). Este análisis permite generar una gráfica que distribuye y agrupa las muestras según la influencia de las variables morfológicas medidas, permitiendo utilizar las variables cuantitativas y cualitativas para

determinar las relaciones entre las muestras. Para evitar el uso de variables redundantes en el modelo, se evaluó el Factor de Inflación de la Varianza (VIF, por sus siglas en inglés) para cada variable, para identificar la influencia de la colinealidad sobre la varianza de cada una. Finalmente, se llevó a cabo una prueba de ANOVA con el modelo CCA para evaluar la significancia de las variables condicionantes utilizadas en el modelo.

En cuanto a los datos de la caracterización molecular, se realizó un análisis de componentes principales (PCA, por sus siglas en inglés) con el objetivo de visualizar la relación entre las muestras colectadas en cuánto a la presencia/ausencia de los distintos alelos encontrados. Adicionalmente, se realizó un análisis de escala multidimensional no métrica (NMDS por sus siglas en inglés) el cual permitió de la misma manera observar similitudes entre las muestras con la ventaja de evitar algunas problemáticas que surgieron con el uso del PCA, además de permitir observar la relación entre las agrupaciones de las muestras y los alelos específicos presentes en ellas.

Utilizando el índice de disimilitud de Bray-Curtis, se elaboró un dendrograma, el cual complementó los análisis PCA y NMDS al evaluar las diferencias de diversidad (Diversidad beta) entre cada una de las muestras y la presencia/ausencia de cada uno de los alelos encontrados.

VII. RESULTADOS

A. Caracterización botánica

1. Observaciones de campo

a. Colecta

Las 34 muestras de cacao fueron colectadas de 10 fincas distintas. Debido a las épocas de cosecha, no se logró obtener frutos de todas las muestras, por lo que estos datos no se lograron completar. Cada finca poseía un manejo distinto y se observaron distintas características en las plantas según cada finca. Una de las características más importantes observadas durante la colecta fue la presencia de enfermedades en algunos de los individuos. Especialmente las muestras de la finca de Sector Hulera (muestras 5 a 11, ver Cuadro 6), que presentaban enfermedades marcadas, se obtuvieron muestras para su análisis en el laboratorio, y se encontró padecían de hojas infectadas por hongos, siendo estos *Colletotrichum gloesporioides*, *Curvularia lunata*, *Nigrospora* sp. y *Monilophthora roreri*.

El Cuadro 6 resume los datos sobre el origen de cada muestra según las 10 fincas, el estado de manejo de la finca, los órganos colectados de cada muestra y observaciones de cada colecta.

CUADRO 6. Resumen de datos sobre muestras y fincas colectadas.

Muestra	Finca	Estado de manejo	Órganos colectados			Observaciones
			Hojas	Flores	Frutos	
Sur01			X	X		
Sur02	Finca la	Bajo manejo	X	X	X	
Sur03	Cruz		X	X	X	
Sur04			X	X		
Sur05			X	X		Presencia de múltiples enfermedades.
Sur06	Sector		X	X		
Sur07	Hulera,	Abandonado	X	X		Productividad alta. Abundancia de flores en cojinete floral.
Sur08	Concepción,		X	X		
Sur09	Ixtacapa		X	X	X	
Sur10			X	X		
Sur11			X	X		
Sur12	Sector		X	X		Ubicación cercana a las parcelas abandonadas
Sur13	Hulera, San	Bajo manejo	X	X		
Sur14	Agustín, Ixtacapa		X	X	X	
Sur15	Finca Villa	Bajo manejo	X	X		Finca utilizada también como centro turístico
Sur16	Amanda	/ Centro Turístico	X	X		
Sur17	Finca El	Bajo manejo	X	X		
Sur18	Raudal		X	X	X	
Sur19			X	X	X	
Sur20			X	X	X	
Sur21	Finca Flores	Bajo manejo	X	X	X	
Sur22	de Miriam		X	X	X	
Sur23			X	X	X	

(Continuación CUADRO 6.)

Muestra	Finca	Estado de manejo	Órganos colectados			Observaciones
			Hojas	Flores	Frutos	
Sur24			X	X	X	
Sur25	Finca	Bajo manejo	X	X	X	
Sur26	Versalles		X	X	X	
Sur27			X	X	X	
Sur28	Plantación Chocolá	Bajo manejo	X	X	X	
Sur29			X	X	X	
Sur30			X	X	X	
Sur31			X	X	X	Bajo manejo, pero
Sur32			X	X	X	algunos individuos
Sur33	Finca	Bajo manejo	X	X	X	presentaban
Sur34	Lucifania		X	X	X	enfermedades o tenían poco cuidado
Con01	Centro de	Centro de investigación agroforestal	X	X	X	
Con02	Agricultura		X	X	X	Centro de
Con03	Tropical Bulbuxyá		X	X	X	investigación

Como puede verse en el cuadro, la mayoría de las muestras provienen de fincas con manejo adecuado, en donde se tienen plantaciones para producción, tratado y venta de cacao. El Centro de Agricultura Tropical Bulbuxyá era un centro de investigación agroforestal por lo que fue posible la obtención de las variedades de cacao conocidas para su uso como controles. En el caso de Sector Hulera, Concepción Ixtacapa, las muestras se encontraban en una parcela sin manejo, mostrando alta cantidad de enfermedades.

b. Fotografías de flores

Las Figuras 3 y 4 muestran fotografías de las flores de las muestras de cacao con las que se realizó el estudio.

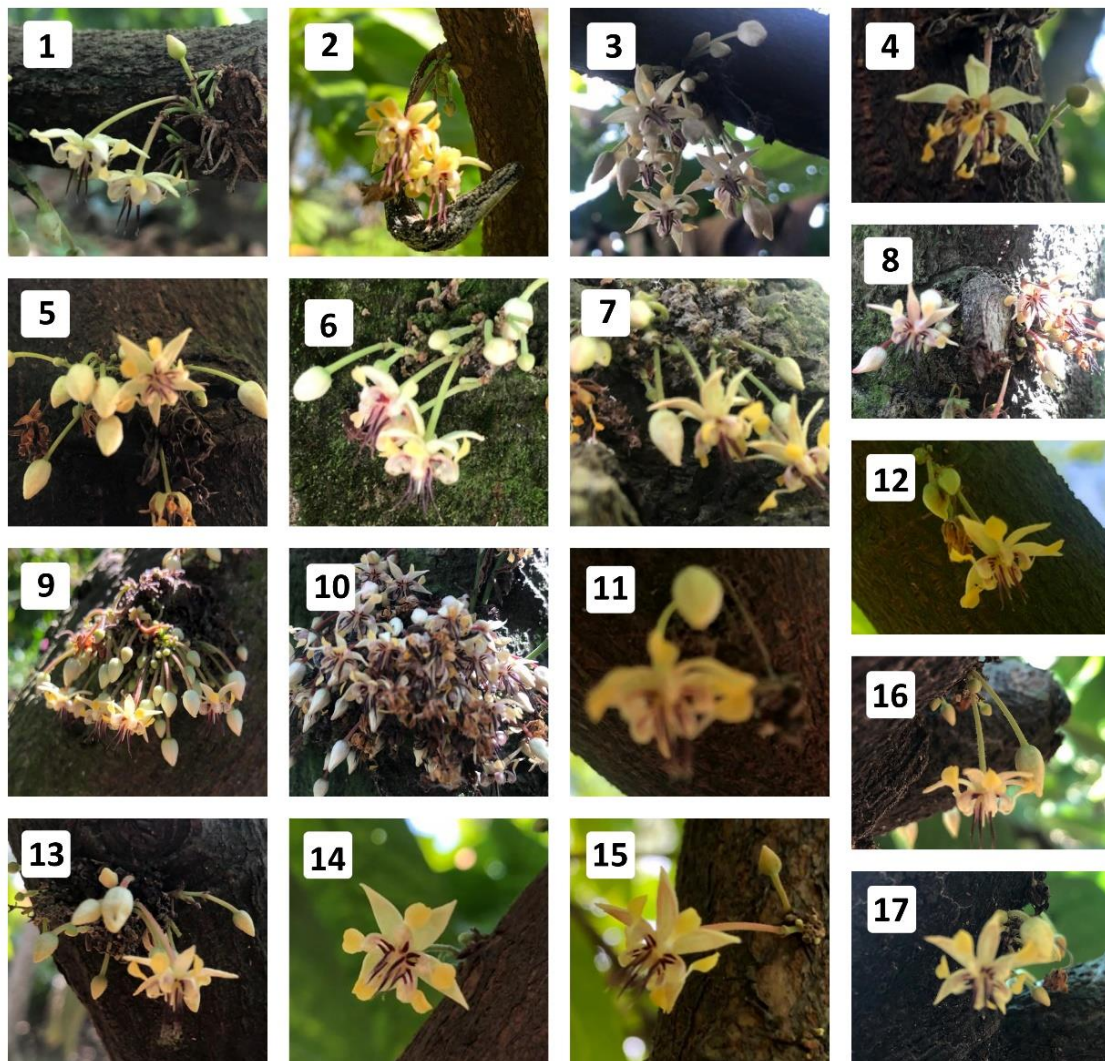


FIGURA 3. Fotografías en campo de las flores de las muestras de cacao (*Theobroma cacao* L.) 1 al 17.

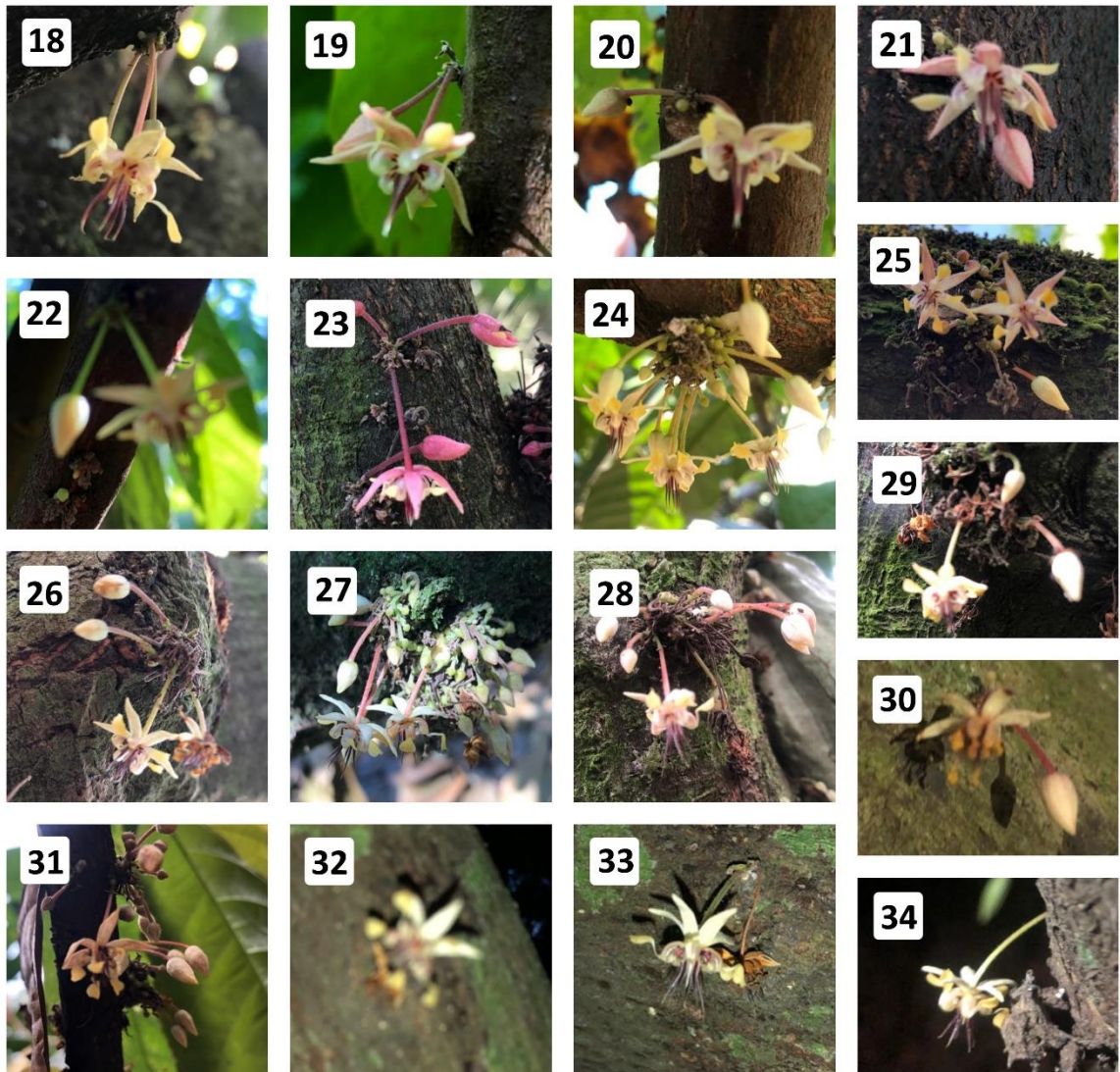


FIGURA 4. Fotografías en campo de las flores de las muestras de cacao (*Theobroma cacao* L.) 18 al 34

En estas fotos se pueden apreciar las diferencias entre algunas de las muestras, especialmente aquellas características que resaltan del resto de las muestras. Entre ellas, se encuentra la diferencia de la abundancia de flores en el cojinete floral. Las muestras 9 y 10 poseen alta abundancia de flores en el cojinete floral, mientras que otras muestras, como la 19 y 20, solamente presentan una o dos flores por cojinete.

Otra característica importante observada es la coloración de las flores. En su mayoría los colores son similares entre muestras, sin embargo, en la muestra 23 se observa una coloración rosada en el pedicelo y sépalos, algo no observado en las demás muestras.

2. Medidas morfométricas

Para las 34 muestras de cacao colectadas, y los 4 controles utilizados, se lograron medir todos los caracteres morfológicos para las estructuras de árbol, hojas, y flores indicadas en el Cuadro 3. En el caso de las estructuras de frutos y semillas, no se obtuvieron las mediciones completas para todas las muestras. En total, para las estructuras de árbol, hojas y flores, se obtuvieron las medidas para las 34 muestras, mientras que, para los frutos y semillas, solamente se obtuvieron las medidas para 21 muestras. En todos los casos, se obtuvo solamente un fruto por muestra, exceptuando para la muestra 18 de la cual se obtuvieron dos. No se lograron coleccionar frutos para todos los árboles debido a que los viajes de campo se traslaparon con las épocas de cosecha de los agricultores. Esto, junto con el límite de tiempo para el estudio, evitó la obtención completa de estos datos. Por ello, no se calculó la media y moda de las medidas de frutos y semillas.

Los cuadros 7 al 10 representan un resumen de los datos obtenidos de las variables cuantitativas y cualitativas medidas para los árboles, flores y hojas, indicando promedios de las mediciones para cada muestra, así como para cada uno de los controles. Los datos completos pueden encontrarse en los anexos 1 al 6.

CUADRO 7. Resumen de las mediciones de los árboles de cacao del estudio.

Muestra	Altura	DAP	Núm. de frutos
Sur01c	2	9	15
Sur02c	3.5	11.2	60
Sur03c	3	9.5	7
Sur04c	2.5	8.8	12
Sur05c	4.5	13.7	65
Sur06c	5	20.2	75
Sur07c	4	12	24
Sur08c	4	11.6	9
Sur09c	6	25.1	59
Sur10c	7	14.6	88
Sur11c	2.5	8.2	18
Sur12c	2	7.4	48
Sur13c	2	8.5	18
Sur14c	2.5	7	5
Sur15c	3	6.7	58
Sur16c	3	9.2	42
Sur17c	2.5	9.6	49
Sur18c	2	8.6	18
Sur19c	2	6.7	8
Sur20c	2	7.8	10
Sur21c	3	14	14
Sur22c	3	8.8	9
Sur23c	2	6.5	23
Sur24c	3	35.2	42
Sur25c	3	16.1	39
Sur26c	5	18.4	42
Sur27c	4	27.2	16
Sur28c	3.5	19.6	62

(Continuación CUADRO 7.)

Muestra	Altura	DAP	Núm. de frutos
Sur29c	3	20.9	150
Sur30c	2.5	16.5	23
Sur31c	4	14.5	5
Sur32c	5.5	48.8	2
Sur33c	7	45	36
Sur34c	6	18.2	18
ICS95	3	6.3	34
SPA-9	2.5	6.4	11
Catongo	2.5	14	8

CUADRO 8. Promedio de las mediciones de las flores de cacao del estudio (primer cuadro).

Muestra	Largo pedicelo	Color pedicelo	Largo sépalos	Forma sépalos	Número sépalos	Color sépalos	Largo pétalos	Forma del ápice
Sur01c	11.30	verde rojo	6.63	lanceolado	5.0	Verde-crema	4.69	redondeado
Sur02c	13.23	verde	6.87	lanceolado	4.6	crema	5.25	redondeado
Sur03c	16.98	verde rojo	7.29	lanceolado	5.0	crema - rojo	7.68	acuminado
Sur04c	13.44	verde	6.38	lanceolado	5.0	verde - crema	7.86	redondeado
Sur05c	13.58	verde	7.49	lanceolado	5.0	blanco	8.51	redondeado
Sur06c	14.31	verde	7.07	lanceolado	4.6	crema	7.24	acuminado
Sur07c	14.87	verde	7.48	lanceolado	4.3	crema - rojo	8.68	acuminado
Sur08c	12.75	rojo	5.83	lanceolado	5.0	blanco	7.54	redondeado
Sur09c	13.49	verde rojo	6.18	lanceolado	5.0	Verde-crema	8.55	acuminado
Sur10c	13.92	verde rojo	7.11	lanceolado	4.3	Verde-crema	7.32	redondeado
Sur11c	14.69	verde	5.84	lanceolado	4.6	Verde-crema	8.09	redondeado
Sur12c	12.54	verde	6.67	lanceolado	4.3	crema	7.78	redondeado
Sur13c	12.29	verde rojo	6.68	lanceolado	5.0	Crema-rojo	8.09	redondeado
Sur14c	16.62	verde	7.41	lanceolado	4.6	Verde-crema	8.44	redondeado
Sur15c	14.64	crema rojo	5.66	lanceolado	4.6	Crema-rojo	7.62	redondeado
Sur16c	14.97	verde rojo	6.93	lanceolado	5.0	blanco	8.41	acuminado
Sur17c	11.82	verde rojo	7.08	lanceolado	5.0	blanco	7.42	acuminado
Sur18c	18.80	rojo	6.49	lanceolado	5.0	blanco	8.88	redondeado
Sur19c	9.69	rojo	6.53	lanceolado	5.0	Crema-rojo	7.40	redondeado
Sur20c	9.52	rojo	7.30	lanceolado	5.0	Crema-rojo	7.60	redondeado

(Continuación CUADRO 8.)

Muestra	Largo pedicelo	Color pedicelo	Largo sépalos	Forma sépalos	Número sépalos	Color sépalos	Largo pétalos	Forma del ápice
Sur21c	8.13	rojo	5.33	lanceolado	5.0	Crema-rojo	5.49	acuminado
Sur22c	9.77	verde	5.01	lanceolado	5.0	Crema-rojo	5.55	redondeado
Sur23c	10.17	rojo	7.15	lanceolado	5.0	rojo	6.44	redondeado
Sur24c	10.35	verde	5.66	lanceolado	4.9	blanco	5.84	redondeado
Sur25c	8.68	verde	3.92	lanceolado	5.0	Crema-rojo	5.62	redondeado
Sur26c	11.91	verde	6.51	lanceolado	4.6	blanco	6.09	redondeado
Sur27c	14.74	rojo	5.83	lanceolado	4.6	blanco	7.21	redondeado
Sur28c	13.06	rojo	6.26	lanceolado	5.0	Crema-rojo	7.62	redondeado
Sur29c	8.70	verde	6.03	lanceolado	5.0	blanco	6.97	acuminado
Sur30c	12.62	rojo	6.93	lanceolado	5.0	Crema-rojo	6.98	redondeado
Sur31c	8.48	verde	5.78	lanceolado	5.0	blanco	5.21	redondeado
Sur32c	13.10	rojo	5.69	lanceolado	5.0	blanco	5.88	redondeado
Sur33c	10.11	rojo	5.06	lanceolado	5.0	blanco	5.26	redondeado
Sur34c	12.25	verde	5.78	lanceolado	5.0	blanco	7.03	redondeado
ICS95	11.82	rojo	5.90	lanceolado	5.0	Crema-rojo	6.61	redondeado
SPA-9	9.64	verde	5.89	lanceolado	5.0	blanco	5.79	redondeado
Catongo	8.26	verde	5.44	lanceolado	5.0	blanco	5.73	redondeado
Pataxte	4.48	rojo	4.79	lanceolado	5.0	rojo	2.02	Redondeado

CUADRO 9. Promedio de las mediciones de las flores de cacao del estudio (segundo cuadro).

Muestra	Núm. pétalos	Color pétalos	Largo estambre	Núm. estambres	Núm. estaminodios	Color estaminodios	Largo estaminodios	Largo pistilo
Sur01c	5.0	amarillo	1.45	4.6	5.0	morado	4.98	2.39
Sur02c	5.0	amarillo	2.06	4.6	5.0	morado	4.97	3.01
Sur03c	5.0	Amarillo-crema	1.51	4.6	5.0	morado	5.07	2.92
Sur04c	5.0	amarillo	2.15	5.0	5.0	rojo morado	4.48	2.55
Sur05c	5.0	amarillo	1.90	5.0	5.0	morado	4.88	3.20
Sur06c	4.6	amarillo	1.89	5.0	5.0	morado	5.61	3.17
Sur07c	5.0	amarillo	1.62	5.0	5.0	morado	4.94	3.52
Sur08c	5.0	Amarillo-crema	1.86	3.9	5.0	morado	5.53	3.80
Sur09c	5.0	amarillo	1.90	4.6	5.0	morado	5.27	3.87
Sur10c	5.0	amarillo	2.10	5.0	5.0	morado	4.49	2.76
Sur11c	5.0	amarillo	1.55	4.6	5.0	morado	4.66	3.35
Sur12c	5.0	amarillo	1.48	4.6	5.0	morado	4.58	3.07
Sur13c	5.0	Amarillo-crema	1.64	4.6	5.0	morado	5.85	3.46
Sur14c	5.0	Amarillo-crema	1.87	4.6	5.0	morado	5.00	4.00
Sur15c	5.0	amarillo	1.93	3.9	5.0	morado	2.61	2.61
Sur16c	5.0	amarillo	1.74	5.0	5.0	morado	1.86	3.93
Sur17c	5.0	amarillo	2.14	5.0	5.0	morado	1.67	1.67
Sur18c	5.0	amarillo	1.56	4.0	5.0	morado	3.63	3.63
Sur19c	5.0	amarillo	1.75	5.0	5.0	morado	6.21	3.10
Sur20c	5.0	amarillo	1.76	5.0	5.0	morado	5.46	2.93
Sur21c	5.0	Amarillo-crema	1.78	5.0	5.0	morado	5.15	2.93
Sur22c	5.0	amarillo	2.15	5.0	5.0	morado	5.05	3.16
Sur23c	5.0	Amarillo-crema	1.88	5.0	5.0	morado	5.00	2.59
Sur24c	4.9	amarillo	1.59	5.0	5.0	morado	4.80	2.89
Sur25c	4.6	amarillo	1.67	5.0	5.0	morado	3.30	2.24
Sur26c	5.0	amarillo	1.67	5.0	5.0	morado	5.29	2.82
Sur27c	5.0	Amarillo-crema	1.42	5.0	5.0	morado	5.06	3.15
Sur28c	5.0	amarillo	1.48	5.0	5.3	morado	5.62	3.18

(Continuación CUADRO 9.)

Muestra	Núm. pétalos	Color pétalos	Largo estambre	Núm. estambres	Núm. estaminodios	Color estaminodios	Largo estaminodios	Largo pistilo
Sur29c	5.0	amarillo	1.71	5.0	5.0	morado	5.05	2.89
Sur30c	5.0	amarillo	2.00	5.0	5.0	morado	5.96	2.94
Sur31c	5.0	amarillo	1.92	5.0	5.0	morado	5.16	3.22
Sur32c	5.0	amarillo	1.90	5.0	5.0	morado	4.82	3.28
Sur33c	4.6	amarillo	1.62	5.0	5.0	morado	4.72	2.70
Sur34c	4.6	amarillo	1.42	5.0	5.0	morado	5.49	3.79
ICS95	5.0	amarillo	1.34	5.0	5.0	morado	4.11	1.87
SPA-9	5.0	crema	1.54	5.0	5.0	morado	4.26	2.69
Catongo	5.0	Amarillo- crema	1.34	5.0	5.0	blanco	5.45	3.41
Pataxte	5.0	rojo	1.49	5.0	5.0	rojo	3.94	2.79

CUADRO 10. Promedio de las mediciones de las hojas de cacao del estudio.

Muestra	Largo	Ancho	Largo peciolo	Núm. pares de venas	Forma limbo	Forma ápice	Forma base
Sur01c	23.68	86.05	17.11	11.1	elíptico-oblongo	acuminado	redondeada
Sur02c	35.87	125.36	23.99	11.6	oblanceolado	cuspidado	obtusa
Sur03c	28.03	103.71	21.67	10.3	oblanceolado	cuspidado	obtusa
Sur04c	27.52	101.66	25.43	12.0	oblanceolado	cuspidado	obtusa
Sur05c	30.35	100.23	20.62	11.5	oblanceolado	acuminado	aguda
Sur06c	32.30	113.33	19.54	11.6	elíptico	acuminado	obtusa
Sur07c	32.08	107.31	19.71	11.5	oblanceolado	cuspidado	aguda
Sur08c	34.16	126.60	27.31	11.8	elíptico-oblongo	cuspidado	redondeada
Sur09c	31.00	94.45	16.07	11.8	oblanceolado	cuspidado	aguda
Sur10c	30.94	107.55	21.72	11.8	oblanceolado	cuspidado	obtusa
Sur11c	38.25	132.82	22.37	12.0	elíptico-oblongo	cuspidado	redondeada
Sur12c	23.96	79.94	15.20	11.7	oblanceolado	cuspidado	redondeada
Sur13c	27.44	92.38	18.04	11.3	elíptico-oblongo	cuspidado	redondeada
Sur14c	27.75	127.53	22.48	12.8	elíptico	cuspidado	obtusa
Sur15c	45.67	100.73	22.78	11.6	elíptico-oblongo	cuspidado	obtusa
Sur16c	35.76	125.08	24.63	11.3	elíptico-oblongo	cuspidado	redondeada
Sur17c	32.73	104.70	22.86	11.8	elíptico-oblongo	cuspidado	obtusa
Sur18c	34.96	76.58	23.66	10.6	oblanceolado	cuspidado	obtusa
Sur19c	33.57	102.05	22.62	13.1	elíptico	acuminado	obtusa
Sur20c	34.92	115.22	22.39	13.5	elíptico-oblongo	acuminado	obtusa
Sur21c	28.92	95.58	16.73	13.0	elíptico	acuminado	obtusa
Sur22c	28.74	96.81	14.06	14.8	elíptico	acuminado	obtusa
Sur23c	25.77	84.26	16.67	11.0	elíptico	acuminado	aguda
Sur24c	31.90	113.23	22.57	12.5	elíptico-oblongo	acuminado	obtusa
Sur25c	30.35	118.90	23.68	12.1	elíptico	acuminado	obtusa
Sur26c	31.36	102.83	24.82	12.3	elíptico	acuminado	obtusa
Sur27c	31.68	118.31	20.81	12.1	elíptico	acuminado	obtusa
Sur28c	30.38	109.69	18.77	12.1	elíptico	acuminado	redondeada

(Continuación CUADRO 10.)

Muestra	Largo	Ancho	Largo peciolo	Núm. pares de venas	Forma limbo	Forma ápice	Forma base
Sur29c	32.00	106.67	17.91	12.3	elíptico	acuminado	obtusa
Sur30c	28.68	108.22	18.93	12.0	elíptico	acuminado	obtusa
Sur31c	32.27	97.08	25.44	12.5	oblongo	acuminado	obtusa
Sur32c	31.23	108.92	21.89	14.8	elíptico	acuminado	obtusa
Sur33c	30.61	91.75	21.53	13.0	elíptico	acuminado	aguda
Sur34c	29.25	103.73	28.34	11.5	elíptico	cuspidado	obtusa
Catongo	24.79	97.32	18.58	11.5	elíptico	acuminado	obtusa
SPA-9	32.82	115.41	20.97	12.7	elíptico	acuminado	obtusa
ICS95	24.19	96.88	21.17	10.8	elíptico	acuminado	redondeada
Pataxte	28.57	114.51	16.31	5.3	obovado	acuminado	cordada

Los datos promedio de las mediciones cuantitativas y cualitativas de las estructuras medidas en el estudio se encuentran en los cuadros 7 a 10. En estos se pueden comparar las medidas de las muestras junto con las medidas de los 4 controles utilizados. Los datos para fruto y semilla (Anexos 5 y 6) no fueron suficientes para llevar a cabo un análisis confiable.

3. Análisis estadístico

Los Cuadros 11 y 12 muestran los resultados del análisis del Factor de inflación de la Varianza (VIF) para las variables cuantitativas y cualitativas evaluadas en el análisis morfológico.

CUADRO 11. Factor de inflación de la Varianza evaluado para las variables cuantitativas.

Variable	VIF
Diámetro a la altura del pecho	1.44
Largo de pétalos	1.06
Número de pétalos	1.31
Largo de estaminodios	1.72
Largo de las hojas	1.84
Ancho de las hojas	1.35

CUADRO 12. Factor de inflación de la Varianza evaluado para las variables cualitativas.

Variable	VIF
Color pedicelo (Rojo)	4.53
Color pedicelo (Verde)	6.66
Color pedicelo (Verde-Rojo)	5.92
Color sépalos (Crema)	2.41
Color sépalos (Crema-Rojo)	2.96
Color sépalos (Verde-Crema)	2.54
Color pétalos (Amarillo-Crema)	1.49
Color estaminodios (Rojo-Morado)	1.54

Estos cuadros muestran solamente aquellas variables que mostraban un VIF bajo, ya que las variables con VIF alto (mayor a 20) fueron eliminadas debido a su redundancia para el modelo CCA. Se realizaron dos modelos independientes para las variables cualitativas y

cuantitativas. No se tomaron en cuenta los datos para los frutos y semillas, debido a la falta de estas mediciones.

En el caso de ambos análisis de ANOVA para el modelo CCA, no se encontró una significancia positiva ($Pr < 0.1$) lo cual indica que las variables utilizadas para el modelo no representan datos de alta importancia para la diferenciación de las muestras. Debido a ello, no se realizó la gráfica del análisis CCA, ya que no se producirían resultados confiables para determinar relaciones entre las muestras a partir de los datos morfológicos utilizados.

4. Marcadores morfométricos

Debido a que no se encontraron caracteres significativos para la diferenciación de variedades en el análisis estadístico, no se pudieron establecer marcadores morfométricos con ninguna de las variables medidas. Esto quiere decir que las mediciones tomadas de árboles, hojas, y flores, no presentan diferencia significativa al compararse entre las muestras y los controles utilizados en el estudio

B. Caracterización molecular

1. Amplificación de alelos

El Cuadro 13 representa un resumen de los alelos encontrados para las muestras evaluadas según los 10 marcadores utilizados.

CUADRO 13. Número de alelos encontrados para cada muestra evaluada según el marcador utilizado.

Muestra	mTcCIR									
	1	4	10	19	25	28	37	40	58	60
Sur	8	6	6	12	6	7	7	9	10	10
“Yucatan”	1	0	0	0	0	0	0	1	2	2
Pataxte	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1

En el cuadro, se muestran los alelos encontrados para cada una de las muestras, en concordancia con cada uno de los marcadores evaluados. En el caso de las muestras del sur, se encontraron múltiples alelos para todos los marcadores utilizados. No hubo ningún marcador que no fuera efectivo con las muestras del sur.

De las 34 muestras de cacao colectadas, solamente las muestras 1 a 18 fueron analizadas con el método de marcadores microsatélites. Para estas 18 muestras, el cacao control criollo “yucatan greenhouse”, y el pataxte, se evaluaron los 10 marcadores. El número de alelos amplificados para cada muestra utilizando cada primer se puede observar en el cuadro 13. La única muestra que no amplificó con ningún primer fue la muestra Sur11. Las bases de datos completas para este análisis pueden verse en los anexos 7 al 17.

La Figura 5 muestra los resultados del gel de integridad llevado a cabo posterior al proceso de extracción del ADN, para verificar que se obtuviera un ADN íntegro.

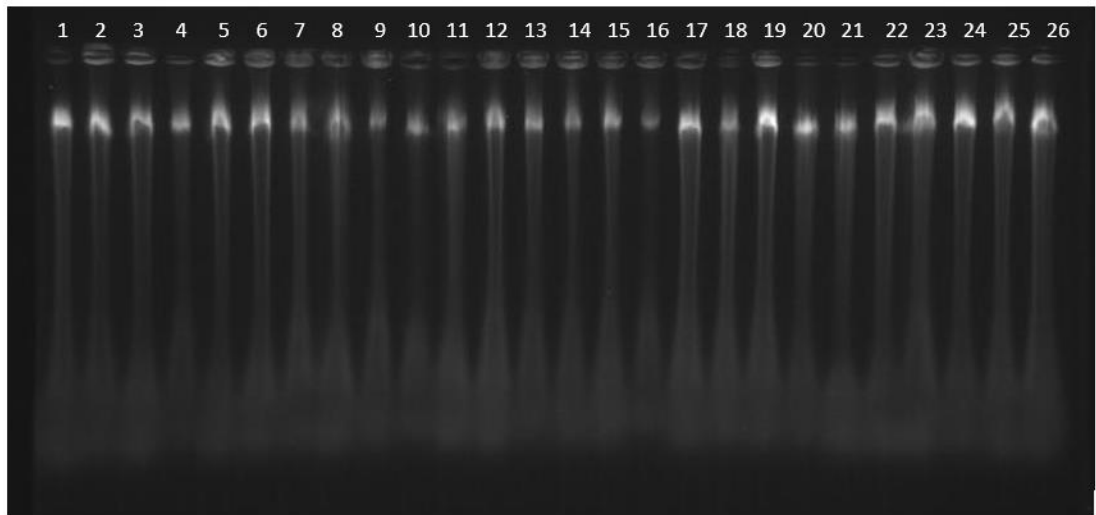


FIGURA 5. Gel de integridad del ADN de agarosa 1%

Los geles de integridad se llevaron a cabo con agarosa al 1%, en una corrida de 60 minutos a 100 voltios. La Figura 5 ejemplifica uno de los geles de integridad evaluados, en

este caso para las muestras sur 9 a sur 18, en donde todas las muestras presentaron ADN íntegro. Un ejemplo de los geles de agarosa utilizados para medición de alelos puede encontrarse en el anexo 18.

2. Análisis PCA

La Figura 6 muestra los resultados del análisis de componentes principales para los resultados de la caracterización molecular.

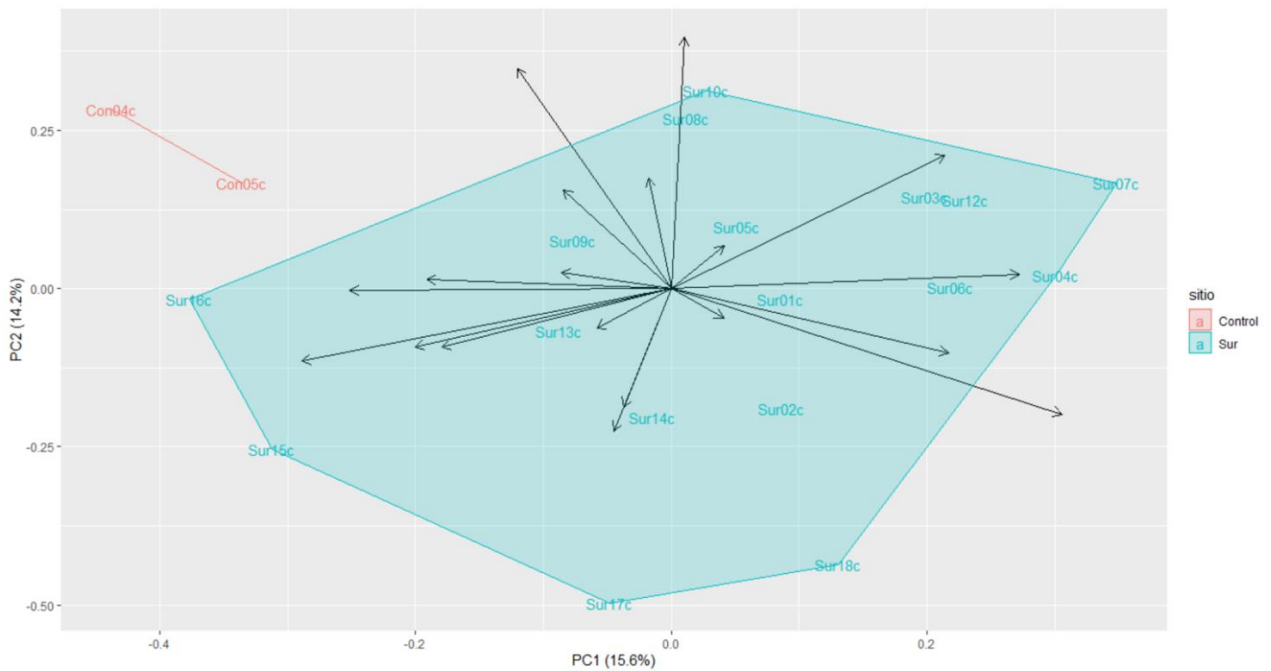


FIGURA 6. Análisis PCA utilizando los datos de la caracterización por medio de marcadores moleculares para las muestras 1 a 18.

Para este análisis, los componentes principales 1 y 2 utilizados para elaborar la gráfica representan solamente el 15.6% y el 14.2% de la variabilidad de los datos. En esta gráfica, Con05c corresponde al pataxte (*Theobroma bicolor* Humb. & Bonpl.), y Con04c corresponde al cacao criollo “yucatan greenhouse”.

3. Análisis NMDS

La Figura 7 muestra los resultados del análisis NMDS para la caracterización molecular.

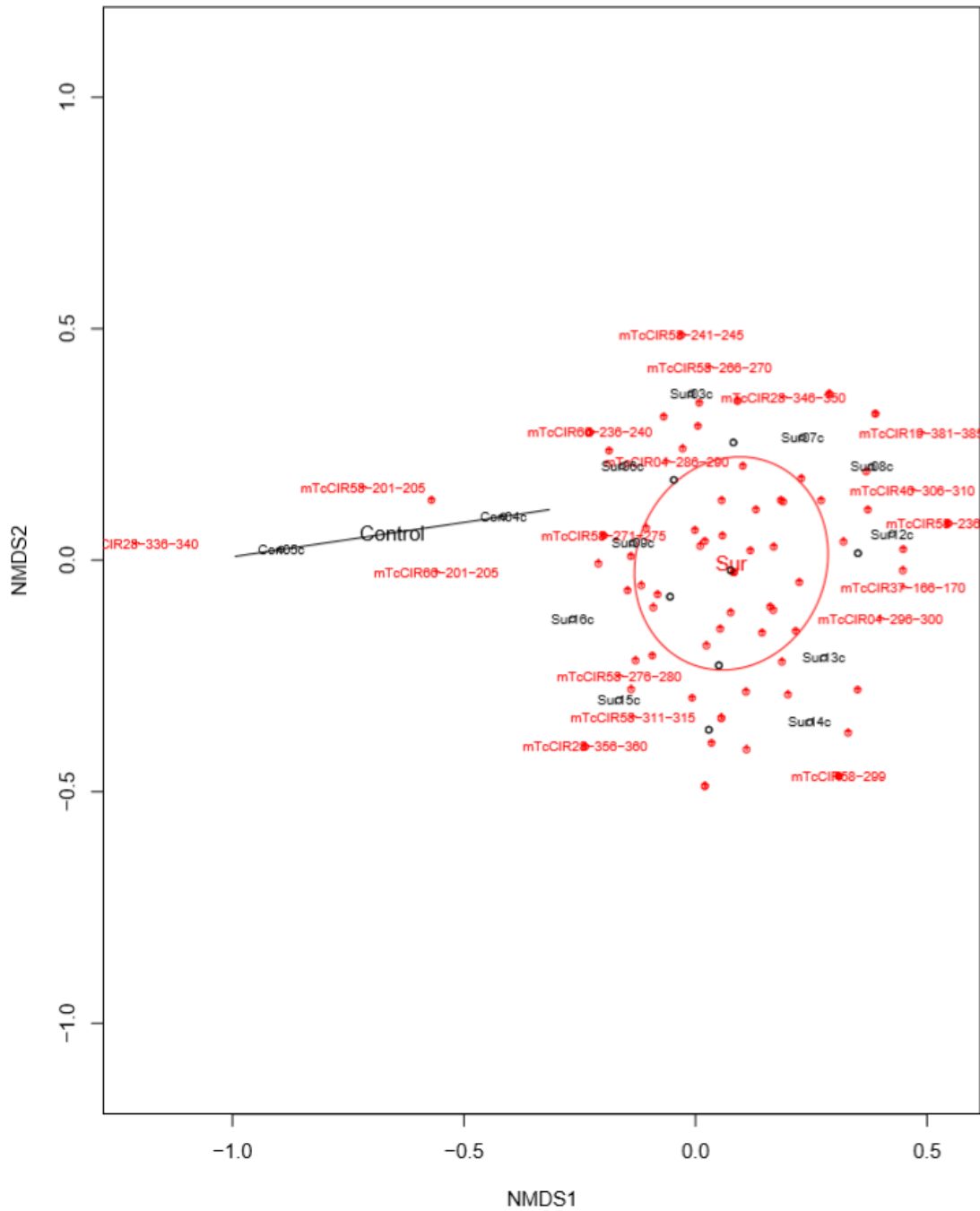


FIGURA 7. Análisis NMDS utilizando los datos de la caracterización por medio de marcadores moleculares para las muestras 1 a 18.

En la gráfica, los puntos rojos corresponden a los alelos específicos para cada uno de los marcadores utilizados. Los puntos negros corresponden a las muestras de cacao (*Theobroma cacao* L.) y controles utilizados en el estudio. Este análisis permite visualizar la relación entre los alelos y las agrupaciones formadas a partir del algoritmo. En esta gráfica, Con05c corresponde al pataxte (*Theobroma bicolor* Humb. & Bonpl.), y Con04c corresponde al cacao criollo “yucatan greenhouse”.

4. Dendrograma Bray-Curtis

La Figura 8 muestra el dendrograma elaborado a partir del índice de disimilitud de Bray-Curtis.

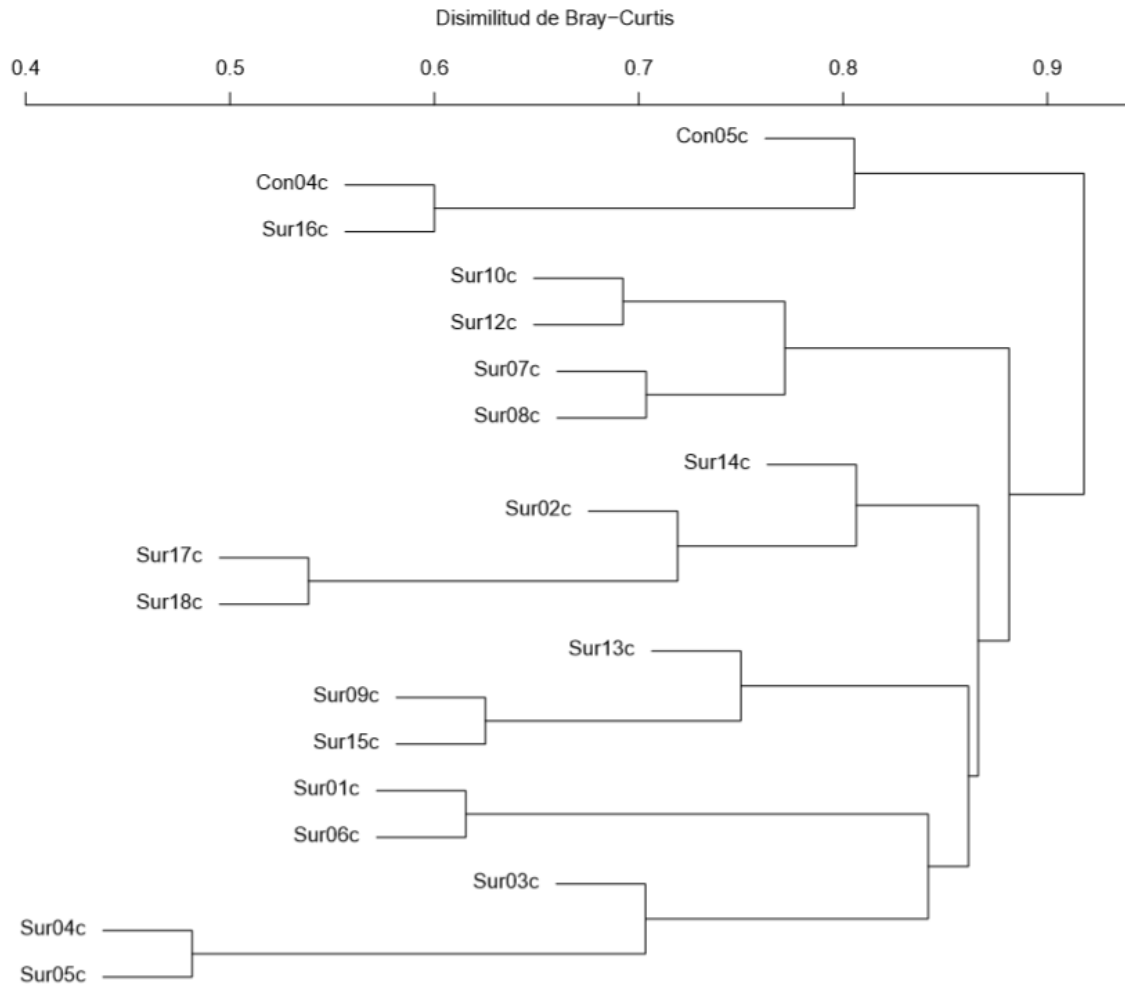


FIGURA 8. Dendrograma elaborado a partir del índice de disimilitud de Bray-Curtis

Este índice evalúa la diversidad beta entre pares de muestras de cacao y controles, y regresa un valor específico según la disimilitud entre las muestras. Un valor de 1 indica que las muestras no comparten ningún alelo en común, mientras que un valor de 0 indica que poseen los mismos alelos. Esto permite la agrupación de los datos según los alelos que tengan en común. En esta gráfica, Con05c corresponde al pataxte (*Theobroma bicolor* Humb. & Bonpl.), y Con04c corresponde al cacao criollo “yucatan greenhouse”. En el dendrograma se observa solamente un grupo de muestras relacionadas cercanamente, representado por Sur10c, Sur12c, Sur07c y Sur08c.

VIII. DISCUSIÓN

A. Colecta de muestras

Durante el proceso de colecta de muestras, se encontró un aspecto importante relacionado al manejo de algunas de las muestras colectadas. Por ejemplo, se observó diferencias en cuanto a la resiliencia de algunas de las muestras de cacao ante la ausencia de un manejo adecuado de las plantas. Tal fue el caso para las muestras 5 a la 11. Estas muestras fueron colectadas en Sector Hulera, Concepción Ixtacapa. Estas diferían de las demás muestras ya que se encontraban en parcelas de cacao que habían sido abandonadas, y no recibían un manejo adecuado (Cuadro 6). A causa de ello, se observó padecían de hojas infectadas por hongos, siendo estos *Colletotrichum gloesporioides*, *Curvularia lunata*, *Nigrospora* sp. y *Monilophthora roreri*. *M. roreri* es uno de los hongos más comunes a encontrarse en cacao, causando la enfermedad de moniliasis, la cual afecta a los frutos y causa numerosas pérdidas para los agricultores a nivel mundial (Hernández-Gomez, 2012). A pesar de esto, los árboles mantenían una productividad alta de frutos, e incluso, fueron algunas de las plantas en las cuales se observó la mayor abundancia de flores (Como se observa en la Figura 3, muestras 9 y 10). Esto indica que estas plantas pueden tener características deseables para los agricultores, al tener alta resiliencia ante enfermedades. Esto resalta la importancia de llevar a cabo estudios para documentar y proteger la variedad genética de cacao en Guatemala, ya que pueden encontrarse muestras con características deseables y positivas para el sector agrícola del cacao, pero que han sido abandonadas y que se encuentran en riesgo de perderse, tal como en el caso de las muestras de Sector Hulera, Concepción Ixtacapa.

B. Caracterización botánica

1. Observaciones de campo

Las Figuras 3 y 4 muestran fotografías de las flores de cada una de las muestras utilizadas en el estudio. Algunas características observadas no fueron tomadas en cuenta para este estudio, como en el caso del cojinete floral, y puede que sean características importantes para diferenciar entre las variedades de cacao. Es recomendable que, para estudios futuros, esta característica sea medida para determinar si muestra diferencias significativas al comparar entre variedades, o incluso, si tiene alguna relación con el nivel de productividad de la planta, indicando si esta alta producción de flores corresponde también con una alta producción de frutos.

2. Medidas morfométricas

Como puede verse en los Cuadros 7 a 10, las mediciones de árbol, flores y hojas estuvieron completas lo cual permitió comparar el promedio de las variables medidas entre las muestras del sur y los demás controles ICS, SPA-9 y Catongo.

En el caso de las medidas de los árboles, la medida de altura fue poco variable, con solamente algunas muestras presentando datos sobresalientes como la muestra sur 10 y sur 33, llegando hasta 7 m de altura. La variable de número de frutos fluctuó mucho entre muestras, sin embargo, esto puede deberse a la época de colecta de algunos agricultores, por lo que algunos árboles presentaron menor cantidad de frutos. El DAP de los tres controles fue de 6.3, 6.4 y 14, sin embargo, la mayoría de las muestras presentaron un DAP mucho más alto que cualquiera de los controles, por lo que no se pudo estimar a simple vista la similitud entre controles y muestras.

En el caso de las flores, las características más variadas en los controles se observan en el largo del pedicelo y el largo de pétalos, en donde se observó que el ICS95 poseía el largo de pedicelo y pétalos más alto, mientras que el Catongo posee las medidas más pequeñas. Todas las medidas de las muestras son similares a las medidas de los controles, exceptuando el caso del largo del pedicelo, el cual se observó una medida más alta en casi todas las muestras. En general, las medidas para los controles SPA-9 (Trinitario) y Catongo

(Forastero) fueron similares, por lo que se dificulta poder diferenciar las muestras según variedad trinitario o forastero si muestran medidas similares a estos dos controles.

En el caso de las hojas, la variable de largo y ancho de las muestras no varían mucho, exceptuando la muestra 15 que presenta el largo de hoja más grande. El número de pares de venas en las muestras se observa se mantiene en el rango de 11 o 12 pares, lo que corresponde con la medida de Catongo de 11 pares de venas o de SPA-9 con 12 pares de venas. Sin embargo, no se observa alguna correlación en las otras variables medidas para poder estimar la similitud a alguno de los dos controles.

Finalmente, se puede observar cómo el pataxte se diferencia de los controles y de todas las muestras. En la mayoría de las variables cuantitativas, el pataxte mostró mediciones mucho más bajas que las muestras de cacao, especialmente para las flores, en donde medidas como largo del pedicelo, largo de pétalos, y largo de estaminodios son los más bajos de todas las mediciones.

A simple vista, se observan pocas diferencias entre casi todas las mediciones, lo cual refuerza los resultados del análisis estadístico, en el cual no se encontraron diferencias significativas. La causa de esto posiblemente sea debido a que el árbol, las hojas y flores no cambien mucho entre variedades. Esto tiene relación con la forma en la cual los agricultores seleccionan las variedades que desean cultivar, ya que buscan características específicas en el fruto y semilla, e ignoran las características de hojas y flores. Esto causa que haya una mayor diferenciación en los frutos producidos según cada variedad, por lo que es posible que, utilizando datos completos de fruto y semilla, sí sea posible encontrar marcadores morfológicos importantes que permitan diferenciar entre variedades. Es por ello que se recomienda la ampliación de este estudio, enfocándose en las características del fruto y semilla.

3. Análisis estadístico

Previo a llevar a cabo el análisis CCA, se seleccionaron las variables a incluir en el modelo a través del análisis del VIF. Estos resultados se encuentran en los cuadros 11 y 12. Esto limitó la cantidad de variables a utilizar, reduciéndose a 6 variables cuantitativas y 8 variables cualitativas.

Para ninguno de los dos modelos se encontró una significancia positiva ($Pr < 0.1$) en las pruebas ANOVA, indicando que las variables no representaban datos significativos para la diferenciación de las muestras. Debido a la falta de datos, para este análisis no se pudieron incluir las mediciones de frutos y semillas. Sin embargo, estas pueden tener una mayor importancia que las mediciones de árboles, flores y hojas, ya que es usual que los agricultores prefieran ciertas variedades de acuerdo con las características del fruto y semilla. Para la selección e identificación del cacao, se observa la forma y rugosidad del fruto, la coloración del fruto, la coloración y forma de las semillas, la aromaticidad del fruto, y la susceptibilidad a enfermedades (Enríquez, 1985). Por ello, se recomienda la ampliación de este estudio tomando en cuenta priorizar las mediciones de frutos y semillas de las muestras, tomando la precaución de evitar los viajes de campo que correspondan con las fechas de colecta de los agricultores, para facilitar la obtención de frutos maduros ideales para realizar las mediciones.

Se espera que, con la inclusión de los datos completos de los frutos, pueda llevarse a cabo un análisis estadístico adecuado que permita una comparación más profunda entre los datos de la caracterización botánica con la caracterización molecular.

4. Marcadores morfométricos

Como se mencionó anteriormente, no fue posible la identificación de marcadores morfológicos para diferenciación de variedades en campo. Sin embargo, esto se observó solamente para árboles, hojas y flores. Como se observó en las tablas 7 a 10, las medidas se mostraron similares entre las muestras y los controles, o bien no se encontraron diferencias entre los controles para poder separar variedades. Esto se reforzó al llevar a cabo el análisis estadístico, el cual no encontró variedad significativa con las variables utilizadas.

De nuevo, es posible que sí existan marcadores morfométricos importantes en los frutos y semillas, por lo que se recomienda llevar a cabo el estudio utilizando estas estructuras para determinar si existen o no marcadores que puedan utilizarse fácilmente por los agricultores para la identificación de variedades.

C. Caracterización molecular

1. Amplificación de alelos

Después del proceso de extracción de ADN, y antes de llevar a cabo la amplificación, se llevaron a cabo geles de integridad del ADN con agarosa, similares al mostrado en la Figura 5. Estos geles fueron un paso importante ya que funcionaron como una prueba para determinar que se extrajo ADN íntegro, necesario para una correcta amplificación de los alelos. Esto permitió detectar errores previos a la elaboración del PCR, para ayudar a evitar amplificaciones fallidas. Como puede verse en la Figura 5, se observaban bandas claras que indicaban la presencia de ADN extraído correctamente y apto para su uso en el resto del procedimiento.

Como puede verse en el Cuadro 13, en la mayoría de las combinaciones de muestra sur y marcador se obtuvieron amplificaciones. No se observó un marcador molecular que no fuera efectivo para todas las muestras en la amplificación de alelos. La única muestra que no amplificó con ningún marcador fue la muestra Sur11. Sin embargo, esto posiblemente se deba a un error durante la extracción de ADN, repercutiendo en la efectividad del PCR. Se recomienda una repetición del análisis con esa muestra, ya que es posible que sí se obtengan resultados si se repite el proceso de extracción de ADN con modificaciones a los tiempos de incubación y purificación para eliminar contaminantes que puedan estar interfiriendo con la amplificación.

2. Análisis PCA

En la Figura 6, se observan los resultados de la caracterización molecular por medio del análisis de componentes principales (PCA). Debido a problemas ajenos al estudio, solamente se pudo llevar a cabo la caracterización molecular con 18 de las 34 muestras de cacao colectadas en campo. En la gráfica, al agrupar los datos en dos grupos: muestras y controles, inmediatamente se observa que los controles, en este caso el cacao criollo “Yucatan greenhouse” y el pataxte, son distintos a las muestras colectadas en el sur. Sin embargo, surgió un problema en el uso del PCA: Los componentes principales utilizados para la gráfica (PC1 y PC2) representan una variabilidad en las muestras muy baja, de 15.6% y 14.2% respectivamente. Esto no es apropiado para resultados confiables, ya que

se prefiere que los componentes representen una alta variabilidad de los datos (Kassambara, 2017). Por ello, para este estudio se prefirió el uso de un análisis de escala multidimensional no métrica (NMDS).

3. Análisis NMDS

La Figura 7 muestra los resultados del análisis NMDS, utilizado como alternativa ante el PCA. De la misma manera que en el PCA, en este análisis se logran observar agrupaciones de las muestras según su similitud en cuanto a los alelos que poseen compartidos entre sí. De la misma manera que en el PCA, se observa la separación entre los controles y las muestras colectadas.

En cuanto a los controles, se observa una distinción aparente: el pataxte (Con05c en la gráfica) es la muestra más alejada del grupo de muestras de sur. Esto era lo esperado, pues el pataxte (*Theobroma bicolor* Humb. & Bonpl.) al ser una especie distinta al cacao (*Theobroma cacao* L.), iba a mostrarse significativamente distinto al resto de los datos. El Alelo mTcCIR28:336-340 es un alelo encontrado únicamente en esa muestra de pataxte, por lo que se observa en la gráfica alejado también del resto de las muestras.

En cuanto a las muestras, estas se observan dispersas en la región derecha de la gráfica. Dentro de ellas no se observa alguna agrupación aparente que indique una diferenciación significativa entre ellas. De acuerdo con los resultados del análisis y usando los 10 marcadores microsatélites seleccionados, las muestras Sur09C y Sur16C son las más similares genéticamente al control criollo “Yucatan greenhouse”, ya que comparten los alelos mTcCIR01-156-160, mTcCIR40-301-305, mTcCIR58-291-295 y mTcCIR60-201-205

En el caso de este estudio no se lograron obtener los resultados del análisis molecular de muestras de cacao de variedad trinitaria o forastera. Para futuros estudios, se recomienda ampliar la cantidad de controles utilizados, principalmente a través de la inclusión de las tres principales variedades de cacao en vez de solamente una, así como el uso de múltiples

muestras de cada variedad. Esto permitiría evaluar efectivamente las relaciones genéticas del cacao de costa sur, ya que se podría visualizar si el material genético tiende hacia alguna de las tres variedades de cacao, y no solamente su similitud con la variedad criolla.

Adicionalmente, el aumento de muestras evaluadas puede de la misma manera ayudar a discernir mejor las diferencias dentro de la población, posiblemente causando una diferenciación más marcada de grupos dentro del análisis. Se recomienda un estudio más amplio, en donde abarque una mayor cantidad de plantaciones de la costa sur, para lograr obtener mayor información sobre el material genético de la región.

Debido a problemas ajenos al estudio, no fue posible el análisis molecular de las 34 muestras de cacao, solamente de las primeras 18. Por ello no todas las muestras se incluyeron en este análisis. Se recomienda finalizar el análisis con las muestras restantes, para poder complementar la información encontrada en el análisis morfológico de estas muestras.

4. Dendrograma Bray-Curtis

La Figura 8 muestra el dendrograma elaborado a partir del índice de disimilitud de Bray-Curtis, el cual compara cada una de las muestras y les asigna un valor de según la diferencia que existe entre ambas (En este caso, en cuanto a las diferencias de los alelos presentes).

En el dendrograma de nuevo se observa la diferenciación del pataxte (*Theobroma bicolor* Humb. & Bonpl.) con el resto de las muestras, obteniendo un índice de disimilitud alto en relación con las demás muestras, lo cual indica poca relación entre el pataxte y las muestras del sur.

El dendrograma coloca la muestra de Sur16c en una misma rama con el control criollo “Yucatan Greenhouse”. Esto puede indicar que esta muestra es la que posee mayor similitud a la variedad criolla del cacao. Esto se observó también en la Figura 6, en donde esta muestra se encontraba cercana al control criollo.

En concordancia con lo encontrado en el análisis NMDS, no se observa una agrupación significativa en el dendrograma que indique la presencia de un grupo distinto a los demás, exceptuando el pequeño grupo conformado por Sur10, Sur12, Sur07 y Sur08. Esto se debe a los alelos que comparten. El alelo mTcCIR01-146-150 se encontró en las muestras Sur07, Sur10 y Sur12; El alelo mTcCIR10-226-230 se encontró en Sur08, Sur10 y Sur12, y el alelo mTcCIR19-401-405 se encontró en Sur07, Sur10 y Sur12. Estas cuatro muestras fueron colectadas en Sector Hulera, Concepción Ixtacapa (Cuadro 3), una de las fincas abandonadas, por lo que puede que compartan material genético debido a resultados de hibridación o por polinización a nivel local.

5. Marcadores moleculares

En cuanto a los marcadores moleculares utilizados en el estudio, se puede concluir que estos 10 marcadores seleccionados sí son aptos para la caracterización genética del cacao (*Theobroma cacao* L.). Esto se debe principalmente a que los marcadores amplificaron efectivamente con todas las muestras del estudio, exceptuando la muestra número 11 (Cuadro 13). En futuros estudios de caracterización molecular del cacao, se recomienda el uso de estos marcadores por su alta efectividad según lo observado en este estudio.

D. Integración de las características botánicas y moleculares

En cuanto a la integración de ambas caracterizaciones realizadas, existe la limitante de la diferencia en las muestras utilizadas en ambos métodos. La caracterización botánica se realizó con las muestras Sur1 a Sur 34, pero la caracterización molecular se realizó solamente con las muestras Sur1 a Sur18. Por lo que solamente se pueden evaluar las primeras 18 muestras.

Si bien el análisis estadístico de las características botánicas no encontró diferencias significativas, la característica observada en campo de la abundancia de flores por cada árbol, así como la característica de resiliencia ante enfermedades de las plantas sin manejo adecuado, resultan importantes y se observa cierta concordancia con los datos moleculares. Las muestras de la parcela sin manejo fueron las muestras Sur05 a Sur11. Las muestras que mostraron alta abundancia de flores relativo a las demás muestras fueron las muestras

Sur08, Sur09 y Sur10. Por el otro lado, las muestras que se observaron similares en el dendrograma de Bray-Curtis fueron las muestras Sur07, Sur08, Sur10 y Sur12. Estas cuatro muestras, exceptuando la muestra 12, pertenecen a la parcela sin manejo (Cuadro 3). A partir de esto, se puede inferir que dentro del grupo de muestras de la parcela sin manejo puede que exista un grupo de plantas con características similares pero distintas al resto de las muestras del estudio. Tal es el caso de las muestras Sur08 y Sur10, que se encuentran agrupadas en el dendrograma por poseer alelos compartidos y que además muestran alta abundancia de flores por árbol. De nuevo, se recomienda la ampliación de las características medidas en la caracterización botánica, utilizando los frutos y semillas, e incluyendo la abundancia de flores por árbol, ya que al realizar el análisis estadístico con estos datos puede que pueda obtenerse información que permita concluir, con mejor evidencia, la existencia de este grupo de muestras de cacao. Esto es importante ya que resalta la importancia de la documentación y protección del material genético del cacao en Guatemala. Tal es el caso en este grupo encontrado, ya que posee características deseables (Abundancia en cojinete floral, resistencia a enfermedades) y a pesar de ello no es aprovechado y está olvidado. Al no ser manejado, corre el riesgo de que en algún momento se decidan talar estos árboles de cacao, perdiéndose así este material genético importante.

Adicionalmente, se recomienda realizar la caracterización botánica y molecular utilizando las mismas muestras para ambos procesos. Esto permitiría llevar a cabo una integración de ambas caracterizaciones más completa y que permita inferir mayor información.

IX. CONCLUSIONES

- No se encontraron variedades de *Theobroma cacao* L. en la región de la costa sur identificadas a partir de los marcadores moleculares y botánicos utilizados en este estudio.
- Se encontró un grupo de muestras (Sur05 a Sur11) que mostró alta productividad a pesar de no recibir manejo y padecer de enfermedades causadas por hongos, característica no encontrada en otras muestras.
- La característica de abundancia de flores por árbol no fue tomada en cuenta en el estudio, pero se infiere puede ser importante ya que se observaron diferencias marcadas de abundancia entre las muestras.
- Ninguno de los modelos para el análisis CCA mostró una significancia positiva ($P < 0.1$) para el ANOVA. Esto no permitió generar el gráfico a partir del CCA.
- No se encontraron marcadores morfométricos para diferenciación de variedades en campo a partir de las características medidas en este estudio.
- Solamente la muestra Sur11 no amplificó con ningún marcador.
- Se observó una diferenciación clara entre los controles y las muestras en el análisis PCA. Sin embargo, los componentes principales utilizados representan una variabilidad muy baja para obtener resultados confiables.
- Se observó una distinción entre el pataxte (*Theobroma bicolor* Humb. & Bonpl.) y el cacao (*Theobroma cacao* L.) en el análisis NMDS.
- No se observó una agrupación significativa dentro de las muestras de cacao en el análisis NMDS.
- La muestra Sur16c (Finca Villa Amanda) es la muestra con mayor similitud al cacao criollo “Yucatan Greenhouse” según el análisis MSDS y el análisis de disimilitud de Bray-Curtis.
- Se observó una agrupación en el dendrograma conformado por las muestras Sur10c, Sur12c, Sur07c, y Sur08c. Esta relación posiblemente se explique debido a que estas muestras comparten material genético dentro de la misma finca (Finca de Sector Hulera).

- Los 10 marcadores microsatélites utilizados en el estudio son aptos para la caracterización genética del cacao, al mostrar efectividad para la amplificación en la fase del PCR.

X. RECOMENDACIONES

- Es de alta importancia la documentación y protección del material genético del cacao en Guatemala, ya que existen muestras de cacao con características deseables que pueden perderse al ser abandonadas u olvidadas por los agricultores.
- Ampliar el estudio obteniendo los datos de las mediciones de frutos y semillas, las cuales pueden tener mayor importancia para el análisis estadístico.
- En cuanto al análisis morfológico, es posible que haya características importantes en las plantas que no se tomaron en cuenta para este estudio, como la abundancia de flores producidas por los árboles, así como la forma del fascículo.
- Incluir múltiples muestras de las tres variedades de cacao generales (Criollo, Trinitario y Forastero) en el análisis molecular, de manera en que se pueda observar la tendencia de las muestras del cacao de la región sur hacia alguna de esas tres variedades.
- Análisis de las muestras Sur05 a Sur11 con distintas características morfológicas, para verificar si existe un grupo distinto al resto dentro de estas muestras.
- Aumentar el número de muestras evaluadas, y abarcar una mayor región de la costa sur, para obtener mayor información sobre el material genético de esta área.
- Llevar a cabo el análisis molecular de las muestras 19 a 35, las cuales no fueron incluidas en este estudio.
- Repetición del análisis con la muestra Sur11, ya que por errores en la extracción del ADN no pudo llevarse a cabo su caracterización.
- Repetición de la caracterización botánica y molecular utilizando las mismas muestras para ambos procesos para permitir una mejor integración de ambos trabajos.

XI. BIBLIOGRAFÍA

- Aguayo, R. 2010. *The Metaknowledge Advantage: The Key to Success in the New Economy*. Simon and Schuster Press. 304 págs.
- Allegre, M; X. Argout, M. Boccara, O. Fouet, Y. Roguet, A. Bérard, J. Thévenin, A. Chauveau, T. Rivallan, D. Clement, B. Courtois, K. Gramacho, A. Boland-Augé, M. Tahi, P. Umaharan, D. Brunel y C. Lanaud. 2012. *Discovery and mapping of a new expressed sequence tag-single nucleotide polymorphism and simple sequence repeat panel for large-scale genetic studies and breeding of Theobroma cacao L.* DNA Research. 19 (1): 23-25 págs.
- Alvim, P. 1984. *Flowering of Cocoa*. Cocoa Growers' Bulletin. 25: 23-31 págs.
- Aragon O. 2009. *Caracterización de Theobroma cacao L. in Nicaragua using SSR*. Tesis de maestría. Universidad de Helsinki. 48 págs.
- Arciniegas, A. 2005. *Caracterización de árboles superiores de cacao (Theobroma cacao L.) seleccionados por el programa de mejoramiento genético del CATIE*. Turrialba: Costa Rica. 125 págs.
- Ávalos, A; M. Porres, E. Poll, E. Dardón, L. Arévalo y J. Rosales. 2012. *Caracterización agronómica, botánica, y molecular de clones de cacao tipo criollo y mejorado de la zona sur de Guatemala*. Universidad del Valle de Guatemala. 24: 99-104 págs.
- Ballesteros, W; T. Lagos y H. Ferney. 2015. *Morphological characterization of elite cacao trees (Theobroma cacao L.) in Tumaco, Nariño, Colombia*. Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas. 9 (2): 313-328 págs.
- Cope, F. 1962. *The Mechanism of Pollen Incompatibility in Theobroma cacao L.* Heredity. 17: 157-182 págs.
- Cryer, N; M. Fenn, C. Turnbull, y M. Wilkinson. 2006. *Allelic size standards and reference genotypes to unify international cocoa (Theobroma cacao L.) microsatellite data*. Genetic Resources and Crop Evolution 53: 1643-1652 págs.
- Cuatrecasas, J. 1964. *Cacao and its allies: A taxonomic revision of the genus Theobroma*. Contributions from the United States National Herbarium. 35: 379-614 págs.
- Davis, M. 1995. *Association of a bacterium and not a phytoplasma with Papaya Bunchy Top Disease*. Phytopathology. 86 (1): 102-109 págs.
- Del Cid, A. 2013. *Caracterización de árboles de cacao (Theobroma cacao L.) considerados superiores, seleccionados a partir de las características de sus frutos, diagnóstico y servicios realizados en la municipalidad de El Asintal, Retalhuleu, Guatemala, C. A.* Universidad de San Carlos de Guatemala. 152 págs.

- Demarest, A. 2004. *Ancient Maya: The Rise and Fall of a Rainforest Civilization*. Cambridge University: Reino Unido. 373 págs
- Despal, D. 2004. *Nutritional Properties of Urea Treated Cocoa Pod for Ruminant*. Cuvillier Verlag Göttingen: Alemania. 95 págs.
- Dreiss, M. y S. Greenhill 2008. *Chocolate: Pathway to the Gods*. Arizona: University of Arizona Press. 195 págs.
- Duiker, W. y J. Spielvogel. 2012. *Cengage Advantage Books: World History, Complete*. Boston: Cengage Learning. 1216 págs.
- Enríquez, G. 1985. *Curso sobre el cultivo del cacao*. Biblioteca del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza: Costa Rica. 239 págs.
- Estrategia Nacional de la Agrocadena de Cacao. 2016. *Plan estratégico de la Agrocadena de cacao de Guatemala*. 94 págs.
- FAO. 1995. *Agricultura Mundial Hacia el Año 2010. Estudio de la FAO*. Ediciones Mundi-Prensa. 493 págs.
- FAO. 2010. (Septiembre, 2019). *La situación de los recursos zoogenéticos mundiales para la alimentación y la agricultura*. Obtenido de: <http://www.fao.org/docrep/011/a1250s/a1250s00.htm>.
- Halbmayer, E. 2020. *Amerindian Socio-Cosmologies between the Andes, Amazonia and Mesoamerica: Toward an Anthropological Understanding of the Isthmo-Colombian Area*. Ed. Routledge. 354 págs
- Harwich, N. 2018. *Historia del chocolate*. Pensódromo 21. 340 págs.
- Hernández-Gomez, E; M. Lopez-Navarrete, E. Garrido-Ramirez y J. Solís-Bonilla. 2012. *La moniliasis (Moniliophthora roreri Cif & Par) del cacao: búsqueda de estrategias de manejo*. Agro Productividad. 8 págs.
- IARNA-URL. 2018. *Ecosistemas de Guatemala basado en el sistema de clasificación de zonas de vida*. Guatemala. 140 págs.
- Interián-Ku, V; J. Valdez-Hernández, E. García-Moya, A. Romero-Manzanares, M. Borja-de-la-Rosa, y H. Vaquera-Huerta. 2009. *Arquitectura y morfometría de dos especies arbóreas en una selva baja caducifolia del sur de Yucatán, México*. Boletín de la Sociedad Botánica de México. 85 págs.
- De Jesús, S; D. da Silva, U. Lopes y R. Correa. 2017. *Characterization of the Sexual Self- and Cross- Compatibility in Genotypes of Cacao*. American Journal of Plant Sciences. 9 (9): 13 págs.

- Ji, K; D. Zhang, L. Motilal, M. Boccara, P. Lachenaud, y L. Meinhardt. 2012. *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. 60 (2): 441-453 págs.
- Johnson, E; F. Bekele, S. Brown, Q. Song, D. Zhang, L. Meinhardt, y R. Schnell. 2009. *Population structure and Genetic Diversity of the Trinitario Cacao (Theobroma cacao L). from Trinidad and Tobago*. Crop Science 49: 564-572 págs.
- Kassambara, A. 2017. *Practical Guide to Principal Component Methods in R*. STHDA Publishing. 169 págs.
- Lanaud, C. 2017. *Deciphering the Theobroma cacao self-incompatibility system: from genomics to diagnostic markers for self-compatibility*. Journal of Experimental Botany. 68 (17): 4775-4790 págs.
- Lanaud, C; A. Risteruci, I. Pieretti, M. Falque, A. Bouet, y P. Lagoda. 1999. *Isolation and Characterizacion of microsatellites in Theobroma cacao L*. Molecular Biology. 8: 2141-2152 págs.
- Lim, T. 2012. *Edible Medicinal And Non Medicinal Plants: Volumen 3, Frutos*. Springer Science & Business Media. 898 págs.
- Loor, R; A. Risterucci, B. Courtois, O. Fouet, M. Jeanneau, R. Rosenquist, y F. Amores. 2009. *Tracing the native ancestors of the modern Theobroma cacao L. population in Ecuador*. Tree Genetics and Genomes. 5: 421-433 págs.
- Mathew, K. 2014. *Optimization of genomic DNA extraction from fresh and dry leaves of large cardamom (Amomum subulatum Roxb.) for diversity analysis*. Indian Journal of Biotechnology. 13: 221-224 págs.
- Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación. (2016). *Diagnóstico de la cadena de cacao*. Obtenido de: <http://www.marn.gob.gt/Multimedios/9810.pdf>.
- Ministerio de Economía de Guatemala. (2018). *Cacao Guatemalteco Busca Posicionarse en el Mercado Internacional*. Obtenido de: <https://www.mineco.gob.gt/cacao-guatemalteco-busca-posicionarse-en-el-mercado-internacional>.
- Motamayor, J; P. Lachenaud, J. DaSilva e Mota, R. Loor, D. Kuhn, J. Brown y R. Schnell. 2008. *Geographic and Genetic Population Differentiation of the Amazonian Chocolate Tree (Theobroma cacao L.)*. PLoS One. 3 (10) 8 págs.
- Motilal, L; D. Zhang, P. Umaharan, S. Mischke, V. Mooledhar, y L. Meinhardt. 2009. *The relic Criollo cacao in Belize – Genetic diversity and relationship with Trinitario and other cacao clones held in the International Cacao Genebank, Trinidad*. Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization. 1-10 págs.

- Murray, M. y W. Thompson. 1980. *Rapid isolation of high molecular weight plant DNA*. Nucleic acids research. 8 (19): 4321-4325 págs.
- Nair, K. 2010. *The Agronomy and Economy of Important Tree Crops of the Developing World*. Amsterdam: Elsevier. 368 págs.
- Núñez-Colín, C; M. Serrato-Cruz, C. Luna-Morales, J. Martínez-Solís, y J. Cuevas-Sánchez. 2011. *Caracterización de Tagetes filifolia del centro-sur de México por morfometría de los aquenios*. Revista Mexicana de Biodiversidad. 82 (2). 12 págs.
- N'Zi, J; J. Kahia, L. Diby, y C. Kouamé. 2017. *Compatibility of Ten Elite Cocoa (Theobroma cacao L.) clones*. Horticulturae. 3(3): 45 págs.
- Ohene, E. 2014. *Cocoa Production and Processing Technology*. Estados Unidos: Editorial CRC. 374 págs.
- Parker, T. 2008. *Trees of Guatemala*. The Tree Press: Texas. 1033 págs.
- Instituto de Investigación y Proyección sobre Ambiente Natural y Sociedad de la Universidad Rafael Landívar. 2018. *Ecosistemas de Guatemala basado en el sistema de clasificación de zonas de vida*. Guatemala: Universidad Rafael Landívar. 140 págs.
- Rivas, H. 1991. *Cocina prehispánica mexicana: la comida de los antiguos mexicanos*. México: Panorama Editorial. 187 págs.
- Romano, R; M. Carmagnani, y A. Hernández. 1999. *Para una historia de América, I. Las estructuras*. México: Fondo de Cultura Económica. 570 págs.
- Rondón, J; M. Trejo, y R. Pulido. 2012. *Evaluación morfométrica en frutos y semillas de tres especies de Cactaceae en la zona xerófila del estado Mérida, Venezuela*. La Revista Forestal Venezolana. 56 (2): 147-153 págs.
- Ruize-Erazo, X; M. Almanza-Pinzón, Y. Morillo-Coronado, A. Morillo-Coronado, A. González, A. Calcedo-Arena, y J. Muñoz-Flores. 2015. *Comparación Genética de Tres Fuentes del Cacao Theobroma cacao L., Mediante el uso de Marcadores Microsatélites*. 13 (1): 10-18 págs.
- Saunders, J; S. Mischke, E. Leamy, y A. Hemeida. 2004. *Selection of International Molecular Standards for DNA Fingerprinting of Theobroma cacao L.* Theoretical Applied Genetics. 110: 41-47 págs.
- Schnell, R; J. Brown, A. Meerow, y C. Cervantes-Martinez. 2005. *Retrospective Determination of the Parental Population of Superior Cacao (Theobroma cacao L.) Seedlings and Association of Microsatellite Alleles with Productivity*. Journal of the American Society for Horticultural Science. 130 (2): 10-18 págs.

- Sereno, M; P. Albuquerque, R. Vencovsky, y A. Figueira. 2005. *Genetic diversity and natural population structure of cacao (Theobroma cacao L.) from the Brazilian Amazon evaluated by microsatellite markers*. Conservation Genetics. 7(1): 1-12 págs.
- Siedentopp, U. 2009. *El cacao, planta medicinal y de deleite*. Revista internacional de Acupuntura. 3 (4): 197-200 págs.
- Squicciarini, M. y J. Swinnen. 2016. *The Economics of Chocolate*. Oxford University: Reino Unido. 478 págs.
- Staller, J, y M. Carrasco. 2009. *Pre-Columbian Foodways: Interdisciplinary Approaches to Food, Culture and Markets in Ancient Mesoamerica*. Springer Science and Business Media. 691 págs.
- Stevens, W; C. Ulloa, A. Pool, y O. Montiel. 2001. *Flora de Nicaragua*. Missouri Botanical Garden Press, Missouri. 2666 págs.
- Warren, J; S. Misir y Misir, S. y Kalai. 1995. *Isozyme markers for self-compatibility and yield in Theobroma cacao (cacao)*. 74: 354-356 págs.
- Wolfe, D. *Naked Chocolate: The Astonishing Truth About the World's Greatest Food*. Berkeley: North Atlantic Books. 256 págs.
- Yamada, M; F. Faleiro, D. Clement, U. Venderlei, J. Pires, y G. Pires. 2010 *Relationship between molecular markers and incompatibility in Theobroma cacao L*. Agrotrópica. 22(2): 71-74 págs.
- Zhang, D; M. Boccara, L. Motilal, D. Butler, P. Umaharan, S. Mischke, y L. Meinhardt. 2007. *Microsatellite variation and population structure in the "refractario" cacao of Ecuador*. Conservation Genetics. 9: 327-337 págs.
- Zhang, D; S. Mischke, E. Johnson, W. Phillips-Mora, y L. Meinhardt. 2008. *Molecular characterization of an international cacao collection using microsatellite markers*. Tree Genetics and Genomes. 5 (1): 1-10 págs.

XII. ANEXOS

Anexo 1. Mediciones completas de árboles de cacao (*Theobroma cacao* L.) tomadas en campo para su caracterización botánica.

Sitio de colecta	Número de muestra	Código	Altura (m)	DAP (cm)	Número de frutos
Sur	1	Sur01c	2	9	15
Sur	2	Sur02c	3.5	11.2	60
Sur	3	Sur03c	3	9.5	7
Sur	4	Sur04c	2.5	8.8	12
Sur	5	Sur05c	4.5	13.7	65
Sur	6	Sur06c	5	20.2	75
Sur	7	Sur07c	4	12	24
Sur	8	Sur08c	4	11.6	9
Sur	9	Sur09c	6	25.1	59
Sur	10	Sur10c	7	14.6	88
Sur	11	Sur11c	2.5	8.2	18
Sur	12	Sur12c	2	7.4	48
Sur	13	Sur13c	2	8.5	18
Sur	14	Sur14c	2.5	7	5
Sur	15	Sur15c	3	6.7	58
Sur	16	Sur16c	3	9.2	42
Sur	17	Sur17c	2.5	9.6	49
Sur	18	Sur18c	2	8.6	18
Sur	19	Sur19c	2	6.7	8
Sur	20	Sur20c	2	7.8	10
Sur	21	Sur21c	3	14	14
Sur	22	Sur22c	3	8.8	9
Sur	23	Sur23c	2	6.5	23
Sur	24	Sur24c	3	35.2	42
Sur	25	Sur25c	3	16.1	39
Sur	26	Sur26c	5	18.4	42
Sur	27	Sur27c	4	27.2	16
Sur	28	Sur28c	3.5	19.6	62
Sur	29	Sur29c	3	20.9	150
Sur	30	Sur30c	2.5	16.5	23

Sitio de colecta	Número de muestra	Código	Altura (m)	DAP (cm)	Número de frutos
Sur	31	Sur31c	4	14.5	5
Sur	32	Sur32c	5.5	48.8	2
Sur	33	Sur33c	7	45	36
Sur	34	Sur34c	6	18.2	18
Control	1	Con01c	3	6.3	34
Control	2	Con02c	2.5	6.4	11
Control	3	Con03c	2.5	14	8

Anexo 2. Mediciones completas de las hojas de cacao (*Theobroma cacao* L.) tomadas en laboratorio para su caracterización botánica

Sitio	Número de muestra	Código	Número de medición	Largo (cm)	Ancho (mm)	Largo del peciolo (mm)	Número de pares de venas	Forma del limbo	Forma del ápice	Forma de la base
Sur	1	Sur01c	1	24.3	71.74	17.76	12	oblanceolado	acuminado	obtusa
Sur	1	Sur01c	2	18.4	71.18	15.65	11	elíptico-oblongo	acuminado	obtusa
Sur	1	Sur01c	3	26.6	100.95	16.18	12	elíptico	acuminado	redondeada
Sur	1	Sur01c	4	23.8	91.1	12.8	11	oblanceolado	acuminado	redondeada
Sur	1	Sur01c	5	27.2	98.66	21.55	11	elíptico-oblongo	cuspidado	redondeada
Sur	1	Sur01c	6	22.9	87.61	20.2	10	elíptico-oblongo	cuspidado	redondeada
Sur	2	Sur02c	1	37.1	133.03	22.63	11	elíptico-oblongo	cuspidado	obtusa
Sur	2	Sur02c	2	29.4	101.51	17.95	10	oblanceolado	cuspidado	obtusa
Sur	2	Sur02c	3	32	113.07	29.5	13	elíptico	cuspidado	obtusa
Sur	2	Sur02c	4	39	144.84	27.01	13	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	2	Sur02c	5	45.5	138.57	26.93	11	oblongo	cuspidado	obtusa
Sur	2	Sur02c	6	34.4	126.64	21.85	12	oblanceolado	cuspidado	obtusa
Sur	3	Sur03c	1	26.8	96.88	29.17	10	oblanceolado	cuspidado	obtusa
Sur	3	Sur03c	2	30.7	111.39	25.33	11	elíptico	cuspidado	obtusa
Sur	3	Sur03c	3	29.2	99.61	18.59	10	elíptico-oblongo	cuspidado	obtusa
Sur	3	Sur03c	4	25.3	87.2	16.67	10	elíptico-oblongo	cuspidado	obtusa
Sur	3	Sur03c	5	28.7	113.13	21.59	10	oblanceolado	cuspidado	obtusa
Sur	3	Sur03c	6	27.8	117.31	20.92	11	oblanceolado	cuspidado	obtusa
Sur	4	Sur04c	1	33.3	124.16	26.43	13	oblanceolado	cuspidado	obtusa
Sur	4	Sur04c	2	28.9	112.24	19.9	12	oblanceolado	cuspidado	obtusa
Sur	4	Sur04c	3	23.8	86.69	29.45	11	elíptico-oblongo	acuminado	redondeada
Sur	4	Sur04c	4	23.6	84.44	26.91	13	elíptico	acuminado	redondeada
Sur	4	Sur04c	5	29.9	107.95	25.69	12	elíptico	cuspidado	obtusa
Sur	4	Sur04c	6	26.9	100.22	25.26	11	oblanceolado	cuspidado	obtusa
Sur	5	Sur05c	1	36.1	130.58	21.56	12	oblanceolado	acuminado	obtusa
Sur	5	Sur05c	2	27.5	100.8	17.88	11	elíptico	cuspidado	obtusa

Sítio	Número de muestra	Código	Número de medición	Largo (cm)	Ancho (mm)	Largo del peciolo (mm)	Número de pares de venas	Forma del limbo	Forma del ápice	Forma de la base
Sur	5	Sur05c	3	29.1	95.4	19.79	12	oblanceolado	cuspidado	aguda
Sur	5	Sur05c	4	30.5	92.2	22.57	11	elíptico	acuminado	aguda
Sur	5	Sur05c	5	29.1	95.04	19.79	12	oblanceolado	cuspidado	aguda
Sur	5	Sur05c	6	30.5	92.12	22.57	11	elíptico	acuminado	aguda
Sur	6	Sur06c	1	31.4	116.31	19.77	13	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	6	Sur06c	2	24.3	82.37	16.34	12	oblongo	redondeado	obtusa
Sur	6	Sur06c	3	31.1	111.13	18.64	10	elíptico-oblongo	acuminado	redondeada
Sur	6	Sur06c	4	33.5	128.06	19.56	10	elíptico-oblongo	acuminado	redondeada
Sur	6	Sur06c	5	37.7	122.97	21.4	13	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	6	Sur06c	6	37.9	126.37	22.08	12	elíptico	cuspidado	obtusa
Sur	7	Sur07c	1	31.1	101.28	18.61	12	oblanceolado	cuspidado	aguda
Sur	7	Sur07c	2	36.1	123.32	18.94	11	oblanceolado	cuspidado	aguda
Sur	7	Sur07c	3	37.1	101.07	17.76	11	oblanceolado	cuspidado	obtusa
Sur	7	Sur07c	4	29.2	121.13	11.91	11	oblanceolado	acuminado	obtusa
Sur	7	Sur07c	5	29.4	96.68	47.23	12	oblanceolado	cuspidado	aguda
Sur	7	Sur07c	6	30.5	103.32	16.66	12	oblanceolado	cuspidado	aguda
Sur	8	Sur08c	1	41	141.66	31.21	11	elíptico-oblongo	cuspidado	redondeada
Sur	8	Sur08c	2	38.4	133.9	28.05	12	elíptico	cuspidado	redondeada
Sur	8	Sur08c	3	31.9	96.53	29.85	12	elíptico-oblongo	cuspidado	redondeada
Sur	8	Sur08c	4	26.4	92.04	21.14	11	oblongo	cuspidado	redondeada
Sur	8	Sur08c	5	37.2	122.16	30.23	13	elíptico-oblongo	cuspidado	redondeada
Sur	8	Sur08c	6	32.2	199.99	24.87	12	elíptico	cuspidado	redondeada
Sur	9	Sur09c	1	36	111.79	20.89	12	oblanceolado	cuspidado	aguda
Sur	9	Sur09c	2	27.6	85.45	15.7	12	oblanceolado	cuspidado	aguda
Sur	9	Sur09c	3	28.9	81.8	13.58	12	oblanceolado	cuspidado	aguda
Sur	9	Sur09c	4	31.1	93.79	17.79	12	oblanceolado	cuspidado	aguda
Sur	9	Sur09c	5	30.7	95.94	15.5	11	oblanceolado	cuspidado	obtusa
Sur	9	Sur09c	6	32.4	100.99	14	12	oblanceolado	cuspidado	obtusa

Sítio	Número de muestra	Código	Número de medición	Largo (cm)	Ancho (mm)	Largo del peciolo (mm)	Número de pares de venas	Forma del limbo	Forma del ápice	Forma de la base
Sur	10	Sur10c	1	33.8	128.33	22.92	12	oblanceolado	cuspidado	obtusa
Sur	10	Sur10c	2	28.9	103.73	19.8	12	oblanceolado	acuminado	obtusa
Sur	10	Sur10c	3	33.2	96.2	21.61	11	elíptico-oblongo	cuspidado	obtusa
Sur	10	Sur10c	4	27	83.2	21.61	11	lanceolado	cuspidado	obtusa
Sur	10	Sur10c	5	28	113.26	21.46	12	oblanceolado	cuspidado	obtusa
Sur	10	Sur10c	6	35.8	128.25	23.08	13	elíptico-oblongo	cuspidado	obtusa
Sur	11	Sur11c	1	32.5	101.15	16.47	11	elíptico-oblongo	cuspidado	obtusa
Sur	11	Sur11c	2	40.5	122.66	17.57	12	elíptico-oblongo	cuspidado	redondeada
Sur	11	Sur11c	3	38.3	166	30.1	11	elíptico-oblongo	redondeado	redondeada
Sur	11	Sur11c	4	35.9	131.26	24.95	12	elíptico-oblongo	acuminado	obtusa
Sur	11	Sur11c	5	39.6	137.33	24.24	12	elíptico	cuspidado	redondeada
Sur	11	Sur11c	6	43.7	147.89	23.79	14	elíptico	cuspidado	redondeada
Sur	12	Sur12c	1	27.5	91.57	19.81	12	elíptico	acuminado	redondeada
Sur	12	Sur12c	2	22.5	79.53	14.31	11	oblanceolado	acuminado	redondeada
Sur	12	Sur12c	3	25.7	86.79	16.94	11	oblanceolado	cuspidado	obtusa
Sur	12	Sur12c	4	21	68.82	10.96	12	oblanceolado	cuspidado	obtusa
Sur	12	Sur12c	5	23.9	75.48	17.52	12	elíptico	cuspidado	redondeada
Sur	12	Sur12c	6	23.7	79.48	13.35	12	oblanceolado	cuspidado	obtusa
Sur	13	Sur13c	1	28.3	96.59	15.21	10	elíptico-oblongo	cuspidado	redondeada
Sur	13	Sur13c	2	26.5	83.83	15.36	8	elíptico-oblongo	cuspidado	redondeada
Sur	13	Sur13c	3	30.4	97.96	20.71	14	elíptico-oblongo	cuspidado	obtusa
Sur	13	Sur13c	4	24.3	80.75	18.26	12	elíptico	redondeado	redondeada
Sur	13	Sur13c	5	24.3	82.54	16.79	13	elíptico	cuspidado	obtusa
Sur	13	Sur13c	6	31.7	117.56	23.23	12	elíptico-oblongo	cuspidado	redondeada
Sur	14	Sur14c	1	35.7	124.33	18.01	14	elíptico	cuspidado	aguda
Sur	14	Sur14c	2	21.4	100.4	20.35	13	elíptico	cuspidado	aguda
Sur	14	Sur14c	3	34.7	129.3	32.26	13	elíptico-oblongo	cuspidado	obtusa
Sur	14	Sur14c	4	28.5	125.5	16.95	12	elíptico-oblongo	redondeado	obtusa

Sítio	Número de muestra	Código	Número de medición	Largo (cm)	Ancho (mm)	Largo del peciolo (mm)	Número de pares de venas	Forma del limbo	Forma del ápice	Forma de la base
Sur	14	Sur14c	5	14.9	144.39	22.65	13	elíptico	cuspidado	obtusa
Sur	14	Sur14c	6	40.6	147.11	28.41	12	elíptico	cuspidado	obtusa
Sur	15	Sur15c	1	30.5	106.82	19.47	11	oblanceolado	acuminado	obtusa
Sur	15	Sur15c	2	90.01	26.9	13.62	10	elíptico-oblongo	acuminado	obtusa
Sur	15	Sur15c	3	54	167.8	30.16	14	elíptico-oblongo	cuspidado	obtusa
Sur	15	Sur15c	4	42.3	144.38	29.16	13	elíptico-oblongo	cuspidado	obtusa
Sur	15	Sur15c	5	41	127.48	25.74	12	elíptico	cuspidado	redondeada
Sur	15	Sur15c	6	35.3	117.68	23.3	10	elíptico	cuspidado	redondeada
Sur	16	Sur16c	1	32.5	107.5	19.77	11	elíptico-oblongo	cuspidado	redondeada
Sur	16	Sur16c	2	39.1	139.62	27.33	12	oblanceolado	cuspidado	redondeada
Sur	16	Sur16c	3	33.5	112.22	24.45	10	elíptico	cuspidado	redondeada
Sur	16	Sur16c	4	39.8	150.14	31.38	12	elíptico	cuspidado	redondeada
Sur	16	Sur16c	5	35.9	126.2	26.23	12	elíptico-oblongo	cuspidado	redondeada
Sur	16	Sur16c	6	34.4	119.97	20.53	11	oblongo	cuspidado	redondeada
Sur	17	Sur17c	1	31.4	96.08	24.46	11	elíptico-oblongo	cuspidado	obtusa
Sur	17	Sur17c	2	31.3	97.27	22.48	12	oblanceolado	cuspidado	obtusa
Sur	17	Sur17c	3	35	112.28	22.52	11	elíptico	cuspidado	obtusa
Sur	17	Sur17c	4	30.4	99.18	20.62	12	elíptico	cuspidado	obtusa
Sur	17	Sur17c	5	36.5	119.69	24.91	13	oblanceolado	cuspidado	obtusa
Sur	17	Sur17c	6	32.2	105.75	22.45	12	elíptico-oblongo	cuspidado	redondeada
Sur	18	Sur18c	1	29.4	94.14	30.6	11	oblanceolado	cuspidado	redondeada
Sur	18	Sur18c	2	73.11	22.5	22.66	9	oblanceolado	cuspidado	redondeada
Sur	18	Sur18c	3	27.8	92.5	22.9	11	oblanceolado	cuspidado	obtusa
Sur	18	Sur18c	4	30.3	100.3	22.28	11	oblanceolado	cuspidado	obtusa
Sur	18	Sur18c	5	32	97.67	22.8	11	oblongo	cuspidado	obtusa
Sur	18	Sur18c	6	31.5	105.06	21.73	11	oblongo	cuspidado	obtusa
Sur	19	Sur19c	1	36.4	125.15	26.19	14	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	19	Sur19c	2	38.7	129.32	23.31	14	elíptico	acuminado	obtusa

Sítio	Número de muestra	Código	Número de medición	Largo (cm)	Ancho (mm)	Largo del peciolo (mm)	Número de pares de venas	Forma del limbo	Forma del ápice	Forma de la base
Sur	19	Sur19c	3	32	114.66	22.76	13	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	19	Sur19c	4	29.2	92.5	19.36	12	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	19	Sur19c	5	34	105.25	24	13	elíptico	acuminado	aguda
Sur	19	Sur19c	6	32	62.51	20.76	13	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	20	Sur20c	1	36.2	114.82	25.69	13	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	20	Sur20c	2	32.2	93.76	19.16	14	elíptico-oblongo	acuminado	obtusa
Sur	20	Sur20c	3	39.9	126.66	22.29	14	elíptico-oblongo	acuminado	obtusa
Sur	20	Sur20c	4	36.9	125.57	23.31	13	elíptico-oblongo	acuminado	obtusa
Sur	20	Sur20c	5	32.8	117.88	22.1	13	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	20	Sur20c	6	32.2	115.91	22.3	14	elíptico-oblongo	acuminado	obtusa
Sur	21	Sur21c	1	30.7	105.5	15.75	14	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	21	Sur21c	2	27.8	82.36	18.88	12	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	21	Sur21c	3	27.6	98.12	17.65	13	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	21	Sur21c	4	30.1	107.29	19.31	13	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	21	Sur21c	5	26.1	85.58	12.81	12	elíptico-oblongo	acuminado	obtusa
Sur	21	Sur21c	6	31.6	97.37	16.9	14	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	22	Sur22c	1	28.4	99.67	14.62	15	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	22	Sur22c	2	22.6	80.42	12.07	16	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	22	Sur22c	3	29.2	111.39	16.46	14	elíptico	cuspidado	obtusa
Sur	22	Sur22c	4	27.8	88.16	13.61	14	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	22	Sur22c	5	32.6	105.46	13.69	15	elíptico-oblongo	acuminado	obtusa
Sur	22	Sur22c	6	33.2	99.18	14.25	15	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	23	Sur23c	1	23.6	77.34	17.65	11	elíptico	acuminado	aguda
Sur	23	Sur23c	2	26.9	84.62	17.44	11	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	23	Sur23c	3	28.8	87.08	16.5	11	elíptico	acuminado	aguda
Sur	23	Sur23c	4	21.4	88.13	14.59	11	elíptico	cuspidado	obtusa
Sur	23	Sur23c	5	25.2	79.93	16.11	12	elíptico	acuminado	aguda
Sur	23	Sur23c	6	29.7	89.16	17.97	10	elíptico	acuminado	aguda

Sítio	Número de muestra	Código	Número de medición	Largo (cm)	Ancho (mm)	Largo del peciolo (mm)	Número de pares de venas	Forma del limbo	Forma del ápice	Forma de la base
Sur	24	Sur24c	1	31	101.67	19.1	12	elíptico-oblongo	acuminado	obtusa
Sur	24	Sur24c	2	27.8	105.39	21.14	12	elíptico	cuspidado	obtusa
Sur	24	Sur24c	3	32.8	133.82	26.08	13	elíptico-oblongo	cuspidado	redondeada
Sur	24	Sur24c	4	35.4	124.56	24.25	13	elíptico-oblongo	acuminado	obtusa
Sur	24	Sur24c	5	34.2	116.36	25.26	12	oblongo	acuminado	obtusa
Sur	24	Sur24c	6	30.8	101.39	20.5	13	elíptico	acuminado	aguda
Sur	25	Sur25c	1	36	127.09	22.35	13	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	25	Sur25c	2	31.1	124.63	25.95	13	elíptico	cuspidado	obtusa
Sur	25	Sur25c	3	35.2	133.66	23.59	13	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	25	Sur25c	4	36.4	136.84	25.2	13	elíptico	acuminado	aguda
Sur	25	Sur25c	5	26.2	95.88	22.03	11	elíptico	cuspidado	obtusa
Sur	25	Sur25c	6	20.8	101.71	23.22	10	elíptico	cuspidado	obtusa
Sur	26	Sur26c	1	31.2	110.21	24.98	12	elíptico-oblongo	acuminado	obtusa
Sur	26	Sur26c	2	45	122.94	24.4	12	elíptico-oblongo	acuminado	obtusa
Sur	26	Sur26c	3	33.9	111.43	27.27	13	elíptico	acuminado	aguda
Sur	26	Sur26c	4	29.4	102.98	27.06	12	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	26	Sur26c	5	28.3	93.45	27.09	13	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	26	Sur26c	6	24	81.38	19.19	12	elíptico	cuspidado	obtusa
Sur	27	Sur27c	1	32.1	115.52	19.57	13	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	27	Sur27c	2	32.1	132.05	19.91	12	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	27	Sur27c	3	35.9	128.48	22.38	13	elíptico-oblongo	cuspidado	obtusa
Sur	27	Sur27c	4	31.6	113.57	18.22	12	elíptico-oblongo	cuspidado	obtusa
Sur	27	Sur27c	5	29.9	106.95	21.92	11	elíptico-oblongo	acuminado	aguda
Sur	27	Sur27c	6	28.9	115.22	23.3	12	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	28	Sur28c	1	32.2	115.53	27.38	14	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	28	Sur28c	2	38.1	136.07	23.52	12	elíptico	redondeado	redondeada
Sur	28	Sur28c	3	28.9	110.89	13.9	12	elíptico	cuspidado	redondeada
Sur	28	Sur28c	4	32	106.55	14.18	11	elíptico	acuminado	redondeada

Sítio	Número de muestra	Código	Número de medición	Largo (cm)	Ancho (mm)	Largo del peciolo (mm)	Número de pares de venas	Forma del limbo	Forma del ápice	Forma de la base
Sur	28	Sur28c	5	22.3	89.77	18.35	11	elíptico	cuspidado	obtusa
Sur	28	Sur28c	6	31.1	104.45	18.78	13	elíptico	acuminado	aguda
Sur	29	Sur29c	1	30.8	98.36	13.32	11	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	29	Sur29c	2	23.8	80.25	13.56	12	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	29	Sur29c	3	32.4	104.94	18.93	13	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	29	Sur29c	4	38	138.32	25.97	12	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	29	Sur29c	5	33.4	110.56	18.52	13	elíptico	cuspidado	redondeada
Sur	29	Sur29c	6	35.6	116.27	20.08	13	elíptico	acuminado	redondeada
Sur	30	Sur30c	1	33.6	110.21	20.57	13	elíptico-oblongo	acuminado	aguda
Sur	30	Sur30c	2	32	137.09	19.76	12	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	30	Sur30c	3	29.1	115.07	18.28	11	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	30	Sur30c	4	28.6	100.59	18.57	12	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	30	Sur30c	5	25.5	96.26	16.53	12	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	30	Sur30c	6	24.4	95.45	20.18	12	elíptico	cuspidado	obtusa
Sur	31	Sur31c	1	31.3	92.61	26.33	12	oblongo	acuminado	obtusa
Sur	31	Sur31c	2	28.1	79.14	20.2	13	oblongo	acuminado	obtusa
Sur	31	Sur31c	3	35.4	97.33	26.72	13	oblongo	acuminado	obtusa
Sur	31	Sur31c	4	30.9	100.22	28.77	12	elíptico	cuspidado	obtusa
Sur	31	Sur31c	5	32.4	109.6	24.77	13	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	31	Sur31c	6	36.2	106.85	26.78	12	elíptico-oblongo	acuminado	obtusa
Sur	32	Sur32c	1	29.6	101	23.41	15	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	32	Sur32c	2	30	104.53	25.08	15	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	32	Sur32c	3	31.2	108.53	23.25	13	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	32	Sur32c	4	34.5	119.5	25.69	15	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	32	Sur32c	5	28.2	97.98	16.9	16	elíptico-oblongo	acuminado	obtusa
Sur	32	Sur32c	6	34.4	124.45	18.58	15	elíptico	acuminado	obtusa
Sur	33	Sur33c	1	39.6	121.75	29.58	13	elíptico	acuminado	aguda
Sur	33	Sur33c	2	38.9	119.39	26.93	13	elíptico	acuminado	aguda

Sítio	Número de muestra	Código	Número de medición	Largo (cm)	Ancho (mm)	Largo del peciolo (mm)	Número de pares de venas	Forma del limbo	Forma del ápice	Forma de la base
Sur	33	Sur33c	3	29.7	84.2	21.06	12	elíptico	acuminado	aguda
Sur	33	Sur33c	4	30.7	88.84	20.53	13	elíptico	acuminado	aguda
Sur	33	Sur33c	5	25.7	78.13	19.57	14	elíptico	acuminado	aguda
Sur	33	Sur33c	6	22.8	70.2	14.78	13	elíptico	acuminado	aguda
Sur	34	Sur34c	1	43.4	136.34	32.49	14	elíptico	cuspidado	obtusa
Sur	34	Sur34c	2	29.9	98.94	27.26	12	elíptico	cuspidado	obtusa
Sur	34	Sur34c	3	27.5	105.6	28.86	11	elíptico	redondeado	obtusa
Sur	34	Sur34c	4	24.4	93.54	28.03	8	elíptico	redondeado	obtusa
Sur	34	Sur34c	5	25.6	97.29	25.47	12	elíptico-oblongo	cuspidado	obtusa
Sur	34	Sur34c	6	28.1	96.07	28.38	13	elíptico	acuminado	obtusa
Control	3	Con03c	1	20.7	83.01	18.32	12	elíptico	redondeado	redondeada
Control	3	Con03c	2	25.7	85.73	19.28	10	elíptico	cuspidado	obtusa
Control	3	Con03c	3	32	132.14	20.62	12	elíptico	acuminado	obtusa
Control	3	Con03c	4	33.3	130.22	21.56	12	elíptico	acuminado	obtusa
Control	3	Con03c	5	23.4	98.91	17.21	12	elíptico	acuminado	obtusa
Control	3	Con03c	6	17.5	70.15	15.23	11	elíptico	acuminado	obtusa
Control	2	Con02c	1	32.5	117.84	22.67	12	elíptico	cuspidado	obtusa
Control	2	Con02c	2	31.8	117.25	19.26	13	elíptico	acuminado	obtusa
Control	2	Con02c	3	31.8	102.64	19.33	13	elíptico-oblongo	acuminado	obtusa
Control	2	Con02c	4	33.8	115.32	19.69	13	oblongo	cuspidado	obtusa
Control	2	Con02c	5	34	118.33	22.69	13	obovado	acuminado	obtusa
Control	2	Con02c	6	33.1	122.08	22.57	12	obovado	acuminado	obtusa
Control	1	Con01c	1	22.6	88.65	23.7	12	elíptico-oblongo	cuspidado	obtusa
Control	1	Con01c	2	22.5	87.07	19.51	11	oblongo	cuspidado	redondeada
Control	1	Con01c	3	23.7	99.64	15.88	10	elíptico	acuminado	redondeada
Control	1	Con01c	4	25.3	102.36	17.68	9	elíptico	acuminado	redondeada
Control	1	Con01c	5	26.5	101.23	27.66	11	elíptico	acuminado	aguda
Control	1	Con01c	6	24.8	103.78	25.05	12	elíptico	acuminado	aguda

Sitio	Número de muestra	Código	Número de medición	Largo (cm)	Ancho (mm)	Largo del peciolo (mm)	Número de pares de venas	Forma del limbo	Forma del ápice	Forma de la base
Pataxte	1	Pat01c	1	26.4	112.31	18.63	5	obovado	acuminado	cordada
Pataxte	1	Pat01c	2	32.2	119.49	16.02	5	oblongo	acuminado	cordada
Pataxte	1	Pat01c	3	29.8	129.3	14.9	6	obovado	acuminado	cordada
Pataxte	1	Pat01c	4	25	107.28	14.72	5	obovado	acuminado	cordada
Pataxte	1	Pat01c	5	29.9	117.34	17.53	6	oblongo	acuminado	cordada
Pataxte	1	Pat01c	6	28.7	103.22	16.38	5	oblongo	acuminado	cordada

Anexo 3. Primer cuadro de las mediciones completas de las flores de cacao (*Theobroma cacao* L.) tomadas en el laboratorio para la caracterización botánica.

Sitio	Número de muestra	Código	Número de medición	Largo del pedicelo (mm)	Color del pedicelo	Largo de sépalos (mm)	Forma de sépalos	Numero de sépalos	Color sépalos	Largo pétalos (mm)	Ápice pétalos
Sur	1	Sur01c	1	12.6	verde rojo	6.09	lanceolado	5	verde crema	3.69	redondeado
Sur	1	Sur01c	2	11.68	verde rojo	6.97	lanceolado	5	verde crema	7.54	acuminado
Sur	1	Sur01c	3	9.81	verde rojo	6.88	lanceolado	5	verde crema	3.71	redondeado
Sur	2	Sur02c	1	13.4	verde	6.54	lanceolado	5	crema	8.01	acuminado
Sur	2	Sur02c	2	15.32	verde	6.71	lanceolado	4	crema	4.05	redondeado
Sur	2	Sur02c	3	11.28	verde	7.39	lanceolado	5	crema	4.47	redondeado
Sur	3	Sur03c	1	17.71	verde rojo	7.41	lanceolado	5	crema rojo	9.16	acuminado
Sur	3	Sur03c	2	16.83	verde rojo	7.39	lanceolado	5	crema rojo	5.18	acuminado
Sur	3	Sur03c	3	16.43	verde rojo	7.08	lanceolado	5	crema rojo	9.56	acuminado
Sur	4	Sur04c	1	13.86	verde	5.64	lanceolado	5	verde crema	7.6	redondeado
Sur	4	Sur04c	2	12.97	verde	7.29	lanceolado	5	verde crema	8.74	acuminado
Sur	4	Sur04c	3	13.51	verde	6.33	lanceolado	5	verde crema	7.3	redondeado
Sur	5	Sur05c	1	15.18	verde	7.41	lanceolado	5	blanco	7.75	redondeado
Sur	5	Sur05c	2	12.1	verde	8.4	lanceolado	5	blanco	9.11	acuminado
Sur	5	Sur05c	3	13.64	verde	6.75	lanceolado	5	blanco	8.74	redondeado
Sur	6	Sur06c	1	13.76	verde	7.01	lanceolado	4	crema	8.03	acuminado
Sur	6	Sur06c	2	16.48	verde	6.77	lanceolado	5	crema	10.13	acuminado
Sur	6	Sur06c	3	12.93	verde	7.45	lanceolado	5	crema	4.67	redondeado
Sur	7	Sur07c	1	16.24	verde	8.55	lanceolado	5	crema rojo	8.64	redondeado
Sur	7	Sur07c	2	15.27	verde	7.11	lanceolado	4	crema rojo	8.49	acuminado
Sur	7	Sur07c	3	13.26	verde	6.88	lanceolado	4	crema rojo	8.9	acuminado
Sur	8	Sur08c	1	15.11	rojo	5.66	lanceolado	5	blanco	7.23	redondeado
Sur	8	Sur08c	2	11.3	rojo	6.42	lanceolado	5	blanco	8.77	redondeado
Sur	8	Sur08c	3	12.15	rojo	5.45	lanceolado	5	blanco	6.76	redondeado

Sitio	Número de muestra	Código	Número de medición	Largo del pedicelo (mm)	Color del pedicelo	Largo de sépalos (mm)	Forma de sépalos	Numero de sépalos	Color sépalos	Largo pétalos (mm)	Ápice pétalos
Sur	9	Sur09c	1	14.58	verde rojo	6.14	lanceolado	5	verde crema	8.96	acuminado
Sur	9	Sur09c	2	14.94	verde rojo	6.99	lanceolado	5	verde crema	8.13	acuminado
Sur	9	Sur09c	3	11.27	verde rojo	5.51	lanceolado	5	verde crema	8.59	redondeado
Sur	10	Sur10c	1	16.3	verde rojo	5.82	lanceolado	5	verde crema	6.64	redondeado
Sur	10	Sur10c	2	11.98	verde rojo	8.72	lanceolado	4	verde crema	7.06	redondeado
Sur	10	Sur10c	3	13.8	verde rojo	7.08	lanceolado	4	verde crema	8.35	redondeado
Sur	11	Sur11c	1	14.52	verde	5.93	lanceolado	5	verde crema	7.21	redondeado
Sur	11	Sur11c	2	14.33	verde	5.41	lanceolado	4	verde crema	8.19	redondeado
Sur	11	Sur11c	3	15.24	verde	6.2	lanceolado	5	verde crema	8.96	redondeado
Sur	12	Sur12c	1	11.81	verde	6.59	lanceolado	4	crema	8.24	redondeado
Sur	12	Sur12c	2	12.7	verde	7.03	lanceolado	4	crema	6.88	redondeado
Sur	12	Sur12c	3	13.14	verde	6.4	lanceolado	5	crema	8.31	acuminado
Sur	13	Sur13c	1	9.25	verde rojo	7.08	lanceolado	5	crema rojo	8.99	redondeado
Sur	13	Sur13c	2	12.35	verde rojo	6.64	lanceolado	5	crema rojo	7.55	redondeado
Sur	13	Sur13c	3	16.26	verde rojo	6.33	lanceolado	5	crema rojo	7.79	redondeado
Sur	14	Sur14c	1	16.98	verde	8.11	lanceolado	5	verde crema	8.71	redondeado
Sur	14	Sur14c	2	13.13	verde	6.71	lanceolado	4	verde crema	8.26	redondeado
Sur	14	Sur14c	3	20.61	verde	7.48	lanceolado	5	verde crema	8.36	redondeado
Sur	15	Sur15c	1	15.62	crema rojo	5.71	lanceolado	5	crema rojo	6.99	acuminado
Sur	15	Sur15c	2	13.33	crema rojo	6.44	lanceolado	4	crema rojo	7.81	redondeado
Sur	15	Sur15c	3	15.07	crema rojo	4.92	lanceolado	5	crema rojo	8.12	redondeado
Sur	16	Sur16c	1	16.23	verde rojo	6.93	lanceolado	5	blanco	8.12	acuminado
Sur	16	Sur16c	2	14.73	verde rojo	7.12	lanceolado	5	blanco	8.12	acuminado
Sur	16	Sur16c	3	14.03	verde rojo	6.74	lanceolado	5	blanco	9.03	acuminado
Sur	17	Sur17c	1	10.85	verde rojo	7.13	lanceolado	5	blanco	7.63	acuminado
Sur	17	Sur17c	2	12.98	verde rojo	7.48	lanceolado	5	blanco	7.86	acuminado
Sur	17	Sur17c	3	11.72	verde rojo	6.65	lanceolado	5	blanco	6.82	acuminado

Sitio	Número de muestra	Código	Número de medición	Largo del pedicelo (mm)	Color del pedicelo	Largo de sépalos (mm)	Forma de sépalos	Numero de sépalos	Color sépalos	Largo pétalos (mm)	Ápice pétalos
Sur	18	Sur18c	2	15.1	rojo	5.88	lanceolado	5	blanco	9.66	redondeado
Sur	18	Sur18c	1	22.82	rojo	7.11	lanceolado	5	blanco	7.91	redondeado
Sur	18	Sur18c	3	19.28	rojo	6.54	lanceolado	5	blanco	9.16	redondeado
Sur	19	Sur19c	1	10.46	rojo	6.26	lanceolado	5	crema rojo	7.88	redondeado
Sur	19	Sur19c	2	8.14	rojo	6.39	lanceolado	5	crema rojo	6.41	redondeado
Sur	19	Sur19c	3	10.67	rojo	6.97	lanceolado	5	crema rojo	8.03	redondeado
Sur	20	Sur20c	1	11.9	rojo	7.7	lanceolado	5	crema rojo	7.82	redondeado
Sur	20	Sur20c	2	8.48	rojo	7.21	lanceolado	5	crema rojo	7.63	redondeado
Sur	20	Sur20c	3	8.56	rojo	7.02	lanceolado	5	crema rojo	7.35	redondeado
Sur	21	Sur21c	1	7.45	rojo	4.99	lanceolado	5	crema rojo	4.66	acuminado
Sur	21	Sur21c	2	9.42	rojo	5.49	lanceolado	5	crema rojo	5.58	acuminado
Sur	21	Sur21c	3	7.65	rojo	5.54	lanceolado	5	crema rojo	6.38	acuminado
Sur	22	Sur22c	1	9.56	verde	5.3	lanceolado	5	crema rojo	5.55	acuminado
Sur	22	Sur22c	2	8.71	verde	4.35	lanceolado	5	crema rojo	4.78	redondeado
Sur	22	Sur22c	3	11.19	verde	5.47	lanceolado	5	crema rojo	6.43	redondeado
Sur	23	Sur23c	1	14.34	rojo	7.69	lanceolado	5	rojo	8.03	redondeado
Sur	23	Sur23c	2	6.76	rojo	7.31	lanceolado	5	rojo	7.31	redondeado
Sur	23	Sur23c	3	10.86	rojo	6.49	lanceolado	5	rojo	4.55	redondeado
Sur	24	Sur24c	1	13.49	verde rojo	5.93	lanceolado	5	blanco	7.28	redondeado
Sur	24	Sur24c	2	14.54	verde rojo	7.11	lanceolado	5	blanco	7.19	redondeado
Sur	24	Sur24c	3	14.36	verde rojo	6.48	lanceolado	5	blanco	7.49	redondeado
Sur	25	Sur25c	1	9.96	verde rojo	5.5	lanceolado	5	crema rojo	5.06	redondeado
Sur	25	Sur25c	2	9.2	verde rojo	1.9	lanceolado	5	crema rojo	6.02	redondeado
Sur	25	Sur25c	3	7.13	verde rojo	5.76	lanceolado	5	crema rojo	5.84	redondeado
Sur	26	Sur26c	1	14.58	verde	6.44	lanceolado	5	blanco	5.75	redondeado
Sur	26	Sur26c	2	7.75	verde	6.02	lanceolado	4	blanco	6.49	redondeado
Sur	26	Sur26c	3	14.96	verde	7.13	lanceolado	5	blanco	6.05	redondeado

Sitio	Número de muestra	Código	Número de medición	Largo del pedicelo (mm)	Color del pedicelo	Largo de sépalos (mm)	Forma de sépalos	Numero de sépalos	Color sépalos	Largo pétalos (mm)	Ápice pétalos
Sur	27	Sur27c	2	15.45	rojo	6.24	lanceolado	5	blanco	6.57	redondeado
Sur	27	Sur27c	3	14.36	rojo	5.56	lanceolado	5	blanco	7.95	redondeado
Sur	27	Sur27c	1	14.43	rojo	5.72	lanceolado	4	blanco	7.18	redondeado
Sur	28	Sur28c	1	12.41	rojo	6.95	lanceolado	5	crema rojo	7.98	redondeado
Sur	28	Sur28c	2	13.54	rojo	5.5	lanceolado	5	crema rojo	8.55	redondeado
Sur	28	Sur28c	3	13.25	rojo	6.41	lanceolado	5	crema rojo	6.48	redondeado
Sur	29	Sur29c	1	9.45	verde rojo	6.35	lanceolado	5	blanco	6.96	acuminado
Sur	29	Sur29c	2	9.39	verde rojo	5.78	lanceolado	5	blanco	7.83	acuminado
Sur	29	Sur29c	3	7.41	verde rojo	5.96	lanceolado	5	blanco	6.22	acuminado
Sur	30	Sur30c	1	14.88	rojo	5.92	lanceolado	5	crema rojo	6.13	redondeado
Sur	30	Sur30c	2	15.74	rojo	7.75	lanceolado	5	crema rojo	7.04	acuminado
Sur	30	Sur30c	3	8.58	rojo	7.26	lanceolado	5	crema rojo	7.88	redondeado
Sur	31	Sur31c	1	8.48	verde	5.78	lanceolado	5	blanco	5.21	redondeado
Sur	32	Sur32c	1	10.89	rojo	5.58	lanceolado	5	blanco	5.06	redondeado
Sur	32	Sur32c	2	13.72	rojo	6.27	lanceolado	5	blanco	7.42	redondeado
Sur	32	Sur32c	3	15.04	rojo	5.26	lanceolado	5	blanco	5.42	redondeado
Sur	33	Sur33c	1	10.62	rojo	6.27	lanceolado	5	blanco	5.73	redondeado
Sur	33	Sur33c	2	9.7	rojo	4.45	lanceolado	5	blanco	4.52	redondeado
Sur	33	Sur33c	3	10.02	rojo	4.65	lanceolado	5	blanco	5.62	redondeado
Sur	34	Sur34c	1	12.71	verde	6.16	lanceolado	5	blanco	7.26	redondeado
Sur	34	Sur34c	2	11.57	verde	6.18	lanceolado	5	blanco	7.4	redondeado
Sur	34	Sur34c	3	12.51	verde	5.08	lanceolado	5	blanco	6.48	redondeado
Control	1	Con01c	1	14	rojo	6.2	lanceolado	5	crema rojo	6.54	redondeado
Control	1	Con01c	2	11.3	rojo	5.86	lanceolado	5	crema rojo	7.1	redondeado
Control	1	Con01c	3	10.44	rojo	5.65	lanceolado	5	crema rojo	6.22	redondeado
Control	2	Con02c	1	10.2	verde	6.66	lanceolado	5	blanco	4.79	redondeado
Control	2	Con02c	2	8.72	verde	6.32	lanceolado	5	blanco	6.13	redondeado

Sitio	Número de muestra	Código	Número de medición	Largo del pedicelo (mm)	Color del pedicelo	Largo de sépalos (mm)	Forma de sépalos	Numero de sépalos	Color sépalos	Largo pétalos (mm)	Ápice pétalos
Control	2	Con02c	3	10.08	verde	4.86	lanceolado	5	blanco	6.6	redondeado
Control	3	Con03c	1	7.21	verde	5.46	lanceolado	5	blanco	4.66	redondeado
Control	3	Con03c	2	9.57	verde	6.1	lanceolado	5	blanco	6.4	redondeado
Control	3	Con03c	3	8.17	verde	4.83	lanceolado	5	blanco	6.3	redondeado
Pataxte	5	Pat01c	1	4.02	rojo	4.56	lanceolado	5	rojo	1.99	redondeado
Pataxte	5	Pat01c	2	4.23	rojo	5.21	lanceolado	5	rojo	1.54	redondeado
Pataxte	5	Pat01c	3	5.29	rojo	4.63	lanceolado	5	rojo	2.69	redondeado

Anexo 4. Segundo cuadro de las mediciones completas de las flores de cacao (*Theobroma cacao* L.) tomadas en el laboratorio para la caracterización botánica.

Sitio	Número de muestra	Código	Número de medición	Número de pétalos	Color de pétalos	Largo del estambre (mm)	Número de estambres	Número de estaminodios	Color de estaminodios	Largo de estaminodios (mm)	Largo del pistilo (mm)
Sur	1	Sur01c	1	5	amarillo	1.24	4	5	morado	4.91	1.82
Sur	1	Sur01c	2	5	amarillo	1.46	5	5	morado	4.78	2.69
Sur	1	Sur01c	3	5	amarillo	1.69	5	5	morado	5.27	2.8
Sur	2	Sur02c	1	5	amarillo	2.47	5	5	morado	6.38	3.08
Sur	2	Sur02c	2	5	amarillo	2.02	4	5	morado	3.75	3.11
Sur	2	Sur02c	3	5	amarillo	1.75	5	5	morado	5.13	2.84
Sur	3	Sur03c	1	5	amarillo crema	1.48	5	5	morado	4.96	2.65
Sur	3	Sur03c	2	5	amarillo crema	2	5	5	morado	4.61	2.88
Sur	3	Sur03c	3	5	amarillo crema	1.17	4	5	morado	5.7	3.26
Sur	4	Sur04c	1	5	amarillo	2.71	5	5	rojo morado	4.18	2.33
Sur	4	Sur04c	2	5	amarillo	1.54	5	5	rojo morado	4.84	2.53
Sur	4	Sur04c	3	5	amarillo	2.39	5	5	rojo morado	4.45	2.81
Sur	5	Sur05c	1	5	amarillo	1.73	5	5	morado	4.21	3.03
Sur	5	Sur05c	2	5	amarillo	2.42	5	5	morado	5	3.96
Sur	5	Sur05c	3	5	amarillo	1.64	5	5	morado	5.53	2.74
Sur	6	Sur06c	1	4	amarillo	1.68	5	5	morado	5.69	2.82
Sur	6	Sur06c	2	5	amarillo	1.95	5	5	morado	5.5	3.58
Sur	6	Sur06c	3	5	amarillo	2.07	5	5	morado	5.63	3.17
Sur	7	Sur07c	1	5	amarillo	1.28	5	5	morado	5.32	4.21
Sur	7	Sur07c	2	5	amarillo	2.06	5	5	morado	4.62	2.9
Sur	7	Sur07c	3	5	amarillo	1.6	5	5	morado	4.91	3.58
Sur	8	Sur08c	1	5	amarillo crema	1.6	5	5	morado	6.69	3.99
Sur	8	Sur08c	2	5	amarillo crema	1.95	3	5	morado	5.19	3.97
Sur	8	Sur08c	3	5	amarillo crema	2.07	4	5	morado	4.86	3.47

Sitio	Número de muestra	Código	Número de medición	Número de pétalos	Color de pétalos	Largo del estambre (mm)	Número de estambres	Número de estaminodios	Color de estaminodios	Largo de estaminodios (mm)	Largo del pistilo (mm)
Sur	9	Sur09c	1	5	amarillo	1.5	5	5	morado	5.84	3.63
Sur	9	Sur09c	2	5	amarillo	2.06	4	5	morado	5.53	4.27
Sur	9	Sur09c	3	5	amarillo	2.22	5	5	morado	4.54	3.74
Sur	10	Sur10c	1	5	amarillo	1.81	5	5	morado	4.13	2.63
Sur	10	Sur10c	2	5	amarillo	2.34	5	5	morado	4.11	3.02
Sur	10	Sur10c	3	5	amarillo	2.2	5	5	morado	5.35	2.65
Sur	11	Sur11c	1	5	amarillo	1.12	4	5	morado	4.32	3.5
Sur	11	Sur11c	2	5	amarillo	1.61	5	5	morado	5.22	3.14
Sur	11	Sur11c	3	5	amarillo	2.05	5	5	morado	4.48	3.42
Sur	12	Sur12c	1	5	amarillo	1.48	5	5	morado	5.02	3.6
Sur	12	Sur12c	2	5	amarillo	1.26	5	5	morado	4.64	2.66
Sur	12	Sur12c	3	5	amarillo	1.74	4	5	morado	4.13	3.01
Sur	13	Sur13c	1	5	amarillo crema	1.59	4	5	morado	6.12	3.17
Sur	13	Sur13c	2	5	amarillo crema	1.38	5	5	morado	5.92	3.44
Sur	13	Sur13c	3	5	amarillo crema	2.01	5	5	morado	5.52	3.81
Sur	14	Sur14c	1	5	amarillo crema	2.43	5	5	morado	6.28	4.27
Sur	14	Sur14c	2	5	amarillo crema	1.7	4	5	morado	4.29	3.81
Sur	14	Sur14c	3	5	amarillo crema	1.59	5	5	morado	4.64	3.93
Sur	15	Sur15c	1	5	amarillo	1.64	4	5	morado	2.11	2.11
Sur	15	Sur15c	2	5	amarillo	1.93	5	5	morado	2.93	2.93
Sur	15	Sur15c	3	5	amarillo	2.28	3	5	morado	2.86	2.86
Sur	16	Sur16c	1	5	amarillo	1.75	5	5	morado	1.54	14.54
Sur	16	Sur16c	2	5	amarillo	1.52	5	5	morado	1.87	1.87
Sur	16	Sur16c	3	5	amarillo	1.98	5	5	morado	2.23	2.23
Sur	17	Sur17c	1	5	amarillo	2.2	5	5	morado	1.55	1.55
Sur	17	Sur17c	2	5	amarillo	1.93	5	5	morado	2.02	2.02
Sur	17	Sur17c	3	5	amarillo	2.3	5	5	morado	1.49	1.49

Sitio	Número de muestra	Código	Número de medición	Número de pétalos	Color de pétalos	Largo del estambre (mm)	Número de estambres	Número de estaminodios	Color de estaminodios	Largo de estaminodios (mm)	Largo del pistilo (mm)
Sur	18	Sur18c	1	5	amarillo	1.32	4	5	morado	3.32	3.32
Sur	18	Sur18c	2	5	amarillo	1.77	4	5	morado	3.79	3.79
Sur	18	Sur18c	3	5	amarillo	1.64	4	5	morado	3.79	3.79
Sur	19	Sur19c	1	5	amarillo	1.27	5	5	morado	6.93	2.98
Sur	19	Sur19c	2	5	amarillo	2.41	5	5	morado	5.48	3.07
Sur	19	Sur19c	3	5	amarillo	1.74	5	5	morado	6.32	3.26
Sur	20	Sur20c	1	5	amarillo	2.22	5	5	morado	6.01	3.05
Sur	20	Sur20c	2	5	amarillo	1.26	5	5	morado	4.79	3.12
Sur	20	Sur20c	3	5	amarillo	1.96	5	5	morado	5.65	2.64
Sur	21	Sur21c	1	5	amarillo crema	1.58	5	5	morado	4.64	2.78
Sur	21	Sur21c	2	5	amarillo crema	1.44	5	5	morado	4.79	2.51
Sur	21	Sur21c	3	5	amarillo crema	2.48	5	5	morado	6.13	3.59
Sur	22	Sur22c	1	5	amarillo	2.46	5	5	morado	5.77	3.11
Sur	22	Sur22c	2	5	amarillo	2.23	5	5	morado	5.17	2.95
Sur	22	Sur22c	3	5	amarillo	1.82	5	5	morado	4.33	3.43
Sur	23	Sur23c	1	5	amarillo crema	2.11	5	5	morado	5.43	3.4
Sur	23	Sur23c	2	5	amarillo crema	1.59	5	5	morado	4.37	2.74
Sur	23	Sur23c	3	5	amarillo crema	1.97	5	5	morado	5.28	1.87
Sur	24	Sur24c	1	5	amarillo	1.62	5	5	morado	4.08	3.14
Sur	24	Sur24c	2	5	amarillo	1.44	5	5	morado	5.02	2.65
Sur	24	Sur24c	3	4	amarillo	2.2	5	5	morado	4.9	3.59
Sur	25	Sur25c	1	4	amarillo	1.72	5	5	morado	5.35	2.39
Sur	25	Sur25c	2	5	amarillo	1.6	5	5	morado	1.77	2.24
Sur	25	Sur25c	3	5	amarillo	1.7	5	5	morado	3.79	2.1
Sur	26	Sur26c	1	5	amarillo	1.79	5	5	morado	5.16	3.79
Sur	26	Sur26c	2	5	amarillo	1.86	5	5	morado	5.3	2.96
Sur	26	Sur26c	3	5	amarillo	1.41	5	5	morado	5.42	1.99

Sitio	Número de muestra	Código	Número de medición	Número de pétalos	Color de pétalos	Largo del estambre (mm)	Número de estambres	Número de estaminodios	Color de estaminodios	Largo de estaminodios (mm)	Largo del pistilo (mm)
Sur	27	Sur27c	1	5	amarillo crema	1.22	5	5	morado	5.12	3.18
Sur	27	Sur27c	2	5	amarillo crema	1.37	5	5	morado	4.94	3.05
Sur	27	Sur27c	3	5	amarillo crema	1.7	5	5	morado	5.13	3.23
Sur	28	Sur28c	1	5	amarillo	0.98	5	5	morado	6.34	3.05
Sur	28	Sur28c	2	5	amarillo	1.7	5	6	morado	5.09	3.17
Sur	28	Sur28c	3	5	amarillo	1.94	5	5	morado	5.5	3.33
Sur	29	Sur29c	1	5	amarillo	1.6	5	5	morado	5.96	3.16
Sur	29	Sur29c	2	5	amarillo	2.37	5	5	morado	5.22	2.5
Sur	29	Sur29c	3	5	amarillo	1.31	5	5	morado	4.15	3.05
Sur	30	Sur30c	1	5	amarillo	1.31	5	5	morado	5.4	2.61
Sur	30	Sur30c	2	5	amarillo	2.91	5	5	morado	6.84	2.9
Sur	30	Sur30c	3	5	amarillo	2.09	5	5	morado	5.74	3.36
Sur	31	Sur31c	1	5	amarillo	1.92	5	5	morado	5.16	3.22
Sur	32	Sur32c	1	5	amarillo	2.01	5	5	morado	5.04	3.07
Sur	32	Sur32c	2	5	amarillo	2.13	5	5	morado	5.07	3.33
Sur	32	Sur32c	3	5	amarillo	1.6	5	5	morado	4.37	3.45
Sur	33	Sur33c	1	4	amarillo	1.71	5	5	morado	5.06	2.59
Sur	33	Sur33c	2	5	amarillo	1.28	5	5	morado	4.06	2.29
Sur	33	Sur33c	3	5	amarillo	1.93	5	5	morado	5.11	3.32
Sur	34	Sur34c	1	5	amarillo	1.42	5	5	morado	5.75	3.96
Sur	34	Sur34c	2	5	amarillo	1.6	5	5	morado	5.16	3.67
Sur	34	Sur34c	3	4	amarillo	1.27	5	5	morado	5.57	3.75
Control	1	Con01c	1	5	amarillo	0.9	5	5	morado	4.15	1.88
Control	1	Con01c	2	5	amarillo	2.04	5	5	morado	4.8	2.56
Control	1	Con01c	3	5	amarillo	1.31	5	5	morado	3.49	1.36
Control	2	Con02c	1	5	crema	1.19	5	5	morado	4.32	2.71
Control	2	Con02c	2	5	crema	1.45	5	5	morado	3.73	2.65

Sitio	Número de muestra	Código	Número de medición	Número de pétalos	Color de pétalos	Largo del estambre (mm)	Número de estambres	Número de estaminodios	Color de estaminodios	Largo de estaminodios (mm)	Largo del pistilo (mm)
Control	2	Con02c	3	5	crema	2.12	5	5	morado	4.8	2.71
Control	3	Con03c	1	5	amarillo crema	1.23	5	5	blanco	5.48	2.8
Control	3	Con03c	2	5	amarillo crema	1.93	5	5	blanco	6.15	4.15
Control	3	Con03c	3	5	amarillo crema	1.01	5	5	blanco	4.81	3.41
Pataxte	5	Pat01c	1	5	rojo	2	5	5	rojo	4.45	2.9
Pataxte	5	Pat01c	2	5	rojo	1.15	5	5	rojo	3.65	2.87
Pataxte	5	Pat01c	3	5	rojo	1.45	5	5	rojo	3.76	2.62

Anexo 5. Mediciones completas de frutos de cacao (*Theobroma cacao* L.) tomadas en el laboratorio para la caracterización botánica.

Sitio	Numero de muestra	Código	Número de medición	Largo (cm)	Ancho (mm)	Forma del fruto	Forma del ápice	Forma de la base	Número de surcos	Textura del fruto	Color del fruto	Color del mesocarpio	Número de semillas
Sur	2	Sur02c	1	25.5	93.77	oblongo	agudo	fuerte	10	fuerte	amarillo	blanco	55
Sur	3	Sur03c	1	23.5	95.26	oblongo	agudo	intermedio	10	fuerte	verde rojo	blanco	42
Sur	9	Sur09c	1	26.2	85.34	oblongo	atenuado	fuerte	10	fuerte	amarillo rojo	blanco	50
Sur	14	Sur14c	1	19.8	106.53	elíptico	obtuso	ausente	10	intermedio	verde amarillo	blanco	43
Sur	18	Sur18c	1	18.8	81.16	oblongo	atenuado	intermedio	10	intermedio	verde amarillo	blanco	40
Sur	18	Sur18c	2	17	75.33	oblongo	atenuado	ligero	10	intermedio	amarillo	blanco	38
Sur	19	Sur19c	1	25.3	82.87	elíptico	atenuado	intermedio	10	fuerte	verde rojo	blanco	34
Sur	20	Sur20c	1	22.8	92.45	elíptico	atenuado	intermedio	10	fuerte	verde rojo	blanco	0
Sur	21	Sur21c	1	13.8	73.18	oblongo	apezonado	intermedio	10	ligero	rojo	blanco	30
Sur	22	Sur22c	1	17.4	87.81	elíptico	atenuado	intermedio	10	intermedio	verde amarillo	blanco	42
Sur	23	Sur23c	1	15.5	88.31	elíptico	atenuado	intermedio	10	ligero	verde rojo	blanco	25
Sur	24	Sur24c	1	17.4	104	elíptico	agudo	ausente	10	ligero	verde rojo	blanco	27
Sur	25	Sur25c	1	17.9	92.81	oblongo	redondeado	ausente	10	ausente	verde amarillo	blanco	27
Sur	26	Sur26c	1	20.2	101.95	elíptico	atenuado	ausente	10	ligero	verde amarillo	blanco	34
Sur	27	Sur27c	1	22.8	87.8	elíptico	agudo	intermedio	10	ligero	naranja	blanco	32
Sur	28	Sur28c	1	22.7	89.69	elíptico	agudo	ausente	10	ligero	amarillo	blanco	36
Sur	29	Sur29c	1	23	89.12	elíptico	atenuado	fuerte	10	intermedio	verde rojo	blanco	30
Sur	30	Sur30c	1	19.5	105.41	obovado	atenuado	ausente	10	intermedio	amarillo rojo	blanco	34
Sur	31	Sur31c	1	12.3	70.83	ovado	obtuso	ausente	10	ausente	verde	blanco	34
Sur	32	Sur32c	1	18.5	85.83	oblongo	agudo	intermedio	10	ligero	amarillo	crema	35
Sur	33	Sur33c	1	17.9	101.13	orbicular	obtuso	intermedio	10	ausente	amarillo	blanco	0
Sur	34	Sur34c	1	17.5	81.18	oblongo	agudo	intermedio	10	ausente	verde	blanco	39
Control	3	Con03c	1	13	82.38	orbicular	redondeado	ligero	10	ausente	NA	blanco	32
Control	1	Con01c	1	25	87.61	elíptico	agudo	ausente	10	intermedio	amarillo rojo	blanco	43
Control	2	Con02c	1	18.5	80.6	elíptico	atenuado	ligero	10	fuerte	verde amarillo	blanco	38

Anexo 6. Mediciones completas de semillas de cacao (*Theobroma cacao* L.) tomadas en el laboratorio para la caracterización botánica.

Sitio	Número de muestra	Código	Número de medicion	Ancho	Largo	Grosor	Color	Forma longitudinal de la semilla
Sur	2	Sur02c	1	13.18	23.7	10.99	violeta	irregular
Sur	2	Sur02c	2	14.2	24.5	12.14	violeta	ovada
Sur	2	Sur02c	3	13.91	23.96	10.86	violeta	irregular
Sur	3	Sur03c	1	17.58	29.15	10.75	violeta	ovada
Sur	3	Sur03c	2	16.4	29.8	10.7	morado	ovada
Sur	3	Sur03c	3	17.16	31.27	10.65	morado	elíptica
Sur	9	Sur09c	1	12.5	25	8.88	violeta	oblonga
Sur	9	Sur09c	2	12.49	24.3	8.98	cremas	ovada
Sur	9	Sur09c	3	12.5	23.22	9.18	violeta	ovada
Sur	14	Sur14c	1	16.55	28.95	9.03	morado	ovada
Sur	14	Sur14c	2	15.57	28.25	8.55	morado	ovada
Sur	14	Sur14c	3	15.83	28.65	8.6	morado	ovada
Sur	18	Sur18c	1	14.91	21.6	10.12	violeta	irregular
Sur	18	Sur18c	2	14.5	23.63	9.44	violeta	irregular
Sur	18	Sur18c	3	13.93	22.61	9.24	violeta	irregular
Sur	18	Sur18c	4	14.95	23.73	8.18	violeta	irregular
Sur	18	Sur18c	5	13.99	22.27	9.4	morado	irregular
Sur	18	Sur18c	6	14.97	22.17	8.22	morado	ovada
Sur	20	Sur20c	1	9.25	24.86	8.9	morado	elíptica
Sur	20	Sur20c	2	11.02	22.13	8.54	morado	elíptica
Sur	20	Sur20c	3	13.85	24	9.14	morado	oblonga
Sur	21	Sur21c	1	14.33	23.12	8.64	violeta	ovada
Sur	21	Sur21c	2	13.78	23.96	9.05	violeta	ovada
Sur	21	Sur21c	3	14.38	23.54	9.15	violeta	oblonga
Sur	22	Sur22c	1	10.07	27.35	8.07	morado	elíptica
Sur	22	Sur22c	2	10.54	27.12	7.77	morado	elíptica
Sur	22	Sur22c	3	11.01	25.94	7.9	morado	elíptica
Sur	23	Sur23c	1	12.95	27.22	6.25	violeta	irregular
Sur	23	Sur23c	2	12.42	24.76	8.03	violeta	ovada
Sur	23	Sur23c	3	12.74	22.11	7.03	violeta	irregular
Sur	24	Sur24c	1	14.7	28.09	7.11	violeta	oblonga
Sur	24	Sur24c	2	15.21	27.32	7.24	violeta	oblonga
Sur	24	Sur24c	3	15.23	28.18	7.18	violeta	oblonga
Sur	25	Sur25c	1	13.42	28.24	6.98	morado	elíptica
Sur	25	Sur25c	2	14.82	28.16	7.61	morado	elíptica
Sur	25	Sur25c	3	15.16	28.84	7.48	morado	elíptica
Sur	26	Sur26c	1	12.32	25.75	8.24	morado	elíptica
Sur	26	Sur26c	2	12.84	28.53	8.4	violeta	elíptica
Sur	26	Sur26c	3	13.54	29.26	8.04	morado	elíptica
Sur	27	Sur27c	1	12.89	24.8	8.25	morado	irregular
Sur	27	Sur27c	2	10.84	27.74	6.87	morado	elíptica
Sur	27	Sur27c	3	12.65	21.95	8.54	morado	elíptica
Sur	28	Sur28c	1	11	25.6	7.38	violeta	elíptica
Sur	28	Sur28c	2	13.91	23.16	9.07	violeta	ovada

Sitio	Número de muestra	Código	Número de medicion	Ancho	Largo	Grosor	Color	Forma longitudinal de la semilla
Sur	28	Sur28c	3	13.49	25.01	9.74	violeta	elíptica
Sur	29	Sur29c	1	14.18	23.29	9.93	violeta	irregular
Sur	29	Sur29c	2	13.93	24.1	10.43	violeta	irregular
Sur	29	Sur29c	3	14.4	21.8	9.34	violeta	irregular
Sur	30	Sur30c	1	18.95	30.48	10.41	violeta	oblonga
Sur	30	Sur30c	2	16.73	30.4	10.24	violeta	ovada
Sur	30	Sur30c	3	16.61	26.65	10.97	morado	irregular
Sur	31	Sur31c	1	10.46	23.07	7.87	violeta	elíptica
Sur	31	Sur31c	2	11.66	22.17	6.37	violeta	oblonga
Sur	31	Sur31c	3	9.49	19.87	6.38	violeta	elíptica
Sur	32	Sur32c	1	14.09	24.59	8.1	violeta	oblonga
Sur	32	Sur32c	2	12.92	27.14	8.67	violeta	elíptica
Sur	32	Sur32c	3	13.82	28.01	9.06	cremas	elíptica
Sur	34	Sur34c	1	12.54	23.48	8.1	violeta	oblonga
Sur	34	Sur34c	2	12.1	23	7.3	morado	oblonga
Sur	34	Sur34c	3	12.25	24.29	7.49	morado	oblonga
Sur	31	Sur31c	4	11.54	22.35	5.28	violeta	irregular
Sur	31	Sur31c	5	13.2	23.33	5.78	violeta	irregular
Sur	31	Sur31c	6	10.3	18.52	5.71	violeta	irregular
Control	3	Con03c	1	13.58	29.19	7.38	blancas	elíptica
Control	3	Con03c	2	12.9	25.96	8.91	cremas	ovada
Control	3	Con03c	3	13.64	26.66	10.03	cremas	irregular
Control	1	Con01c	1	13.26	24.82	9.9	violeta	oblonga
Control	1	Con01c	2	12.56	24.13	9.63	violeta	oblonga
Control	1	Con01c	3	12.41	24.18	10.48	violeta	elíptica
Control	2	Con02c	1	9.71	24.13	6.87	morado	elíptica
Control	2	Con02c	2	10.06	23.43	7.57	morado	elíptica
Control	2	Con02c	3	9.99	23.18	8.78	morado	elíptica

Anexo 7. Resultados de la presencia/ausencia de alelos en las muestras de cacao (*Theobroma cacao* L.) para el primer mTcCIR01, siendo 1 = presencia, 0 = ausencia.

Muestra	mTcCIR01- 121-125	mTcCIR01- 126-130	mTcCIR01- 136-140	mTcCIR01- 141-145	mTcCIR01- 146-150	mTcCIR01- 151-155	mTcCIR01- 156-160	mTcCIR01- 161-165
Sur01	0	0	0	0	1	0	0	0
Sur02	0	0	0	1	0	1	0	0
Sur03	0	0	0	0	1	0	0	0
Sur04	0	0	0	1	1	0	0	0
Sur05	0	0	0	0	1	0	0	0
Sur06	0	0	0	0	1	0	0	0
Sur07	0	0	0	0	1	0	0	1
Sur08	0	0	0	1	0	0	0	1
Sur09	0	0	0	0	1	0	1	0
Sur10	0	0	0	0	1	0	1	0
Sur12	0	0	0	1	1	0	0	0
Sur13	0	0	1	0	0	0	0	0
Sur14	0	1	1	0	0	0	0	0
Sur15	1	0	1	0	0	0	0	0
Sur16	0	0	0	1	0	0	0	0
Sur17	0	0	1	0	0	1	0	0
Sur18	0	0	0	1	0	1	0	0
Pat01	0	0	0	0	0	0	0	0
Con04	0	0	0	0	0	0	1	0

Anexo 8. Resultados de la presencia/ausencia de alelos en las muestras de cacao (*Theobroma cacao* L.) para el primer mTcCIR04, siendo 1 = presencia, 0 = ausencia.

Muestra	mTcCIR04- 271-275	mTcCIR04- 276-280	mTcCIR04- 281-285	mTcCIR04- 286-290	mTcCIR04- 291-295	mTcCIR04- 296-300	mTcCIR04- 301-305
Sur01	0	0	1	0	0	0	0
Sur02	0	0	1	0	0	0	0
Sur03	0	0	0	0	0	0	0
Sur04	0	0	0	1	0	0	0
Sur05	0	0	0	1	0	0	0
Sur06	0	0	1	0	0	0	0
Sur07	1	0	0	0	0	0	0
Sur08	1	0	0	0	0	0	0
Sur09	0	0	0	1	0	0	0
Sur10	0	0	0	0	0	1	0
Sur12	0	0	0	0	0	0	1
Sur13	0	1	0	0	0	1	0
Sur14	0	0	1	0	0	0	0
Sur15	0	1	0	0	0	0	0
Sur16	0	0	0	0	0	0	0
Sur17	0	0	1	0	0	0	0
Sur18	0	0	1	0	0	0	0
Pat01	0	0	0	0	0	0	0
Con04	0	0	0	0	0	0	0

Anexo 9. Resultados de la presencia/ausencia de alelos en las muestras de cacao (*Theobroma cacao* L.) para el primer mTcCIR10, siendo 1 = presencia, 0 = ausencia.

Muestra	mTcCIR10-191-195	mTcCIR10-201-205	mTcCIR10-206-210	mTcCIR10-211-215	mTcCIR10-216-220	mTcCIR10-221-225	mTcCIR10-226-230	mTcCIR10-231-235	mTcCIR10-241-245	mTcCIR10-246-250	mTcCIR10-251-255	mTcCIR10-256-260	mTcCIR10-266-270
Sur01	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Sur02	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Sur03	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Sur04	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Sur05	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sur06	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
Sur07	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
Sur08	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
Sur09	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Sur10	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Sur12	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
Sur13	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Sur14	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Sur15	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Sur16	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0
Sur17	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Sur18	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Pat01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Con04	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Anexo 10. Resultados de la presencia/ausencia de alelos en las muestras de cacao (*Theobroma cacao* L.) para el primer mTcCIR19, siendo 1 = presencia, 0 = ausencia.

Muestra	mTcCIR19- 321-325	mTcCIR19- 326-330	mTcCIR19- 331-335	mTcCIR19- 346-350	mTcCIR19- 351-355	mTcCIR19- 361-365	mTcCIR19- 366-370	mTcCIR19- 371-375	mTcCIR19- 381-385	mTcCIR19- 386-390	mTcCIR19- 391-395	mTcCIR19- 401-405
Sur01	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sur02	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sur03	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Sur04	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Sur05	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Sur06	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Sur07	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Sur08	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Sur09	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Sur10	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
Sur12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Sur13	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0
Sur14	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Sur15	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Sur16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sur17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Sur18	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Pat01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Con04	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Anexo 11. Resultados de la presencia/ausencia de alelos en las muestras de cacao (*Theobroma cacao* L.) para el primer mTcCIR25, siendo 1 = presencia, 0 = ausencia.

Muestra	mTcCIR25- 146-150	mTcCIR25- 151-155	mTcCIR25- 156-160	mTcCIR25- 161-165	mTcCIR25- 166-170	mTcCIR25- 171-175
Sur01	0	0	1	0	0	1
Sur02	0	0	0	1	0	0
Sur03	0	0	0	0	0	0
Sur04	0	1	0	1	0	0
Sur05	0	0	0	0	0	0
Sur06	0	1	1	0	0	0
Sur07	1	0	1	0	0	0
Sur08	0	0	1	0	0	0
Sur09	0	0	1	0	0	0
Sur10	0	0	0	1	0	0
Sur12	0	0	0	0	0	0
Sur13	0	0	1	0	0	0
Sur14	0	0	0	1	0	0
Sur15	0	0	0	0	1	0
Sur16	0	0	0	0	0	0
Sur17	0	0	0	0	0	0
Sur18	1	0	0	1	0	0
Pat01	0	0	0	0	0	0
Con04	0	0	0	0	0	0

Anexo 12. Resultados de la presencia/ausencia de alelos en las muestras de cacao (*Theobroma cacao* L.) para el primer mTcCIR28, siendo 1 = presencia, 0 = ausencia.

Muestra	mTcCIR28- 336-340	mTcCIR28- 341-345	mTcCIR28- 346-350	mTcCIR28- 351-355	mTcCIR28- 356-360	mTcCIR28- 361-365	mTcCIR28- 366-370	mTcCIR28- 376-380
Sur01	0	1	0	0	0	0	0	0
Sur02	0	0	0	1	0	0	0	0
Sur03	0	0	0	1	0	0	0	0
Sur04	0	0	1	0	0	0	0	0
Sur05	0	0	0	0	0	1	0	0
Sur06	0	0	0	0	0	0	0	0
Sur07	0	0	1	0	0	0	0	0
Sur08	0	0	0	0	0	0	0	0
Sur09	0	0	0	1	0	0	0	0
Sur10	0	0	0	0	0	1	0	0
Sur12	0	0	0	1	0	0	0	0
Sur13	0	1	0	0	0	0	0	0
Sur14	0	0	0	0	0	0	1	0
Sur15	0	0	0	0	1	0	0	0
Sur16	0	0	0	0	0	0	0	0
Sur17	0	0	0	0	0	0	0	1
Sur18	0	0	0	0	0	0	0	1
Pat01	1	0	0	0	0	0	0	0
Con04	0	0	0	0	0	0	0	0

Anexo 13. Resultados de la presencia/ausencia de alelos en las muestras de cacao (*Theobroma cacao* L.) para el primer mTcCIR37, siendo 1 = presencia, 0 = ausencia.

Muestra	mTcCIR37- 156-160	mTcCIR37- 161-165	mTcCIR37- 166-170	mTcCIR37- 171-175	mTcCIR37- 176-180	mTcCIR37- 181-185	mTcCIR37- 186-190
Sur01	0	0	0	0	1	0	0
Sur02	0	0	0	0	1	0	0
Sur03	0	1	0	0	0	0	0
Sur04	0	1	0	0	0	0	0
Sur05	0	1	0	1	0	0	0
Sur06	0	1	0	0	1	0	0
Sur07	0	1	0	0	1	0	0
Sur08	0	0	0	0	0	0	0
Sur09	0	0	0	1	0	0	1
Sur10	0	0	1	0	0	0	0
Sur12	0	0	1	0	0	0	0
Sur13	0	0	1	0	0	1	0
Sur14	1	0	0	1	0	0	0
Sur15	0	0	0	1	0	1	0
Sur16	0	0	0	1	0	0	0
Sur17	0	0	0	1	0	0	0
Sur18	0	0	0	0	1	0	0
Pat01	0	0	0	0	0	0	0
Con04	0	0	0	0	0	0	0

Anexo 14. Resultados de la presencia/ausencia de alelos en las muestras de cacao (*Theobroma cacao* L.) para el primer mTcCIR40, siendo 1 = presencia, 0 = ausencia.

Muestra	mTcCIR40- 283	mTcCIR40- 291-295	mTcCIR40- 296-300	mTcCIR40- 301-305	mTcCIR40- 306-310	mTcCIR40- 311-15	mTcCIR40- 321-325	mTcCIR40- 326-330	mTcCIR40- 331-335
Sur01	0	0	1	0	0	0	0	0	1
Sur02	0	0	0	1	0	0	0	0	1
Sur03	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sur04	0	1	0	0	0	0	1	0	0
Sur05	0	0	1	0	0	0	0	0	1
Sur06	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Sur07	1	0	0	0	0	0	1	0	0
Sur08	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Sur09	0	0	1	0	0	0	0	1	0
Sur10	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Sur12	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Sur13	0	0	1	0	0	0	1	0	0
Sur14	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Sur15	0	0	1	0	0	0	0	0	1
Sur16	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Sur17	0	1	0	0	0	0	1	0	0
Sur18	0	1	0	0	0	0	1	0	0
Pat01	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Con04	0	0	1	0	0	0	0	0	0

Anexo 15. Primer cuadro de resultados de la presencia/ausencia de alelos en las muestras de cacao (*Theobroma cacao* L.) para el primer mTcCIR58, siendo 1 = presencia, 0 = ausencia.

Muestra	mTcCIR58- 186-190	mTcCIR58- 201-205	mTcCIR58- 216-220	mTcCIR58- 221-225	mTcCIR58- 226-230	mTcCIR58- 236-240	mTcCIR58- 241-245	mTcCIR58- 246-250	mTcCIR58- 256-260	mTcCIR58- 261-265	mTcCIR58- 266-270	mTcCIR58- 271-275
Sur01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Sur02	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Sur03	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
Sur04	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
Sur05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sur06	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sur07	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0
Sur08	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sur09	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Sur10	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Sur12	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Sur13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sur14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sur15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sur16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sur17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sur18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pat01	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Con04	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Anexo 16. Segund cuadro de resultados de la presencia/ausencia de alelos en las muestras de cacao (*Theobroma cacao* L.) para el primer mTcCIR58, siendo 1 = presencia, 0 = ausencia.

Muestra	mTcCIR58- 276-280	mTcCIR58- 281-285	mTcCIR58- 291-295	mTcCIR58- 296-300	mTcCIR58- 299	mTcCIR58- 311-315
Sur01	0	0	0	0	0	0
Sur02	1	0	0	0	0	0
Sur03	0	0	0	0	0	0
Sur04	0	0	0	0	0	0
Sur05	0	0	0	0	0	0
Sur06	0	0	0	0	0	0
Sur07	0	0	0	0	0	0
Sur08	0	1	0	0	0	0
Sur09	0	0	1	0	0	0
Sur10	0	1	0	0	0	0
Sur12	0	0	0	0	0	0
Sur13	0	0	1	0	0	0
Sur14	0	0	0	0	1	0
Sur15	1	0	0	0	0	1
Sur16	0	1	0	0	0	1
Sur17	0	0	0	0	0	1
Sur18	0	0	0	0	0	1
Pat01	0	0	0	0	0	0
Con04	0	1	0	1	0	0

Anexo 17. Resultados de la presencia/ausencia de alelos en las muestras de cacao (*Theobroma cacao* L.) para el primer mTcCIR60, siendo 1 = presencia, 0 = ausencia.

Muestra	mTcCIR60- 176-180	mTcCIR60- 186-190	mTcCIR60- 191-195	mTcCIR60- 201-205	mTcCIR60- 206-210	mTcCIR60- 211	mTcCIR60- 216-220	mTcCIR60- 221-225	mTcCIR60- 226-230	mTcCIR60- 236-240
Sur01	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Sur02	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
Sur03	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Sur04	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Sur05	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Sur06	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Sur07	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Sur08	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
Sur09	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Sur10	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Sur12	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0
Sur13	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Sur14	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Sur15	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
Sur16	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
Sur17	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Sur18	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Pat01	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Con04	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0

Anexo 18. Ejemplos de los geles para la electroforesis con poliacriladnida utilizados en el análisis de marcadores moleculares

