

ANÁLISIS DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA EN CACAO (*Theobroma cacao* L.) Y PATAXTE (*T. bicolor* Humb. & Bonpl.) DE LOS ESTADOS DE TABASCO Y CHIAPAS, MÉXICO

GENETIC DIVERSITY ANALYSIS IN COCOA (*Theobroma cacao* L.) AND PATAXTE (*T. bicolor* Humb. & Bonpl.) FROM TABASCO AND CHIAPAS, MEXICO

Hernández Montes, F.S., G.C. Rodríguez Castillejos, G. Castañón Nájera, O. Castillo-Ruiz, C.A. Pérez Obrador, H.W. Araujo Torres, R. Ruiz Salazar

ANÁLISIS DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA EN CACAO (*Theobroma cacao* L.) Y PATAXTE (*T. bicolor* Humb. & Bonpl.) DE LOS ESTADOS DE TABASCO Y CHIAPAS, MÉXICO

GENETIC DIVERSITY ANALYSIS IN COCOA (*Theobroma cacao* L.) AND PATAXTE (*T. bicolor* Humb. & Bonpl.) FROM TABASCO AND CHIAPAS, MEXICO



Análisis de la diversidad genética en cacao (*Theobroma cacao* L.) y pataxte (*T. bicolor* Humb. & Bonpl.) de los estados de Tabasco y Chiapas, México

Genetic diversity analysis in cocoa (*Theobroma cacao* L.) and pataxte (*T. bicolor* Humb. & Bonpl.) from Tabasco and Chiapas, Mexico

Fernanda Sarahí Hernández
Montes, Guadalupe
Concepción Rodríguez
Castillejos, Guillermo
Castañón Nájera, Octelina
Castillo-Ruiz, Christian Asur
Pérez-Obrador, Hernán
Wenceslao Araujo Torres,
Régulo Ruíz Salazar

ANÁLISIS DE LA
DIVERSIDAD GENÉTICA
EN CACAO (*Theobroma cacao*
L.) Y PATAXTE (*T. bicolor*
Humb. & Bonpl.) DE LOS
ESTADOS DE TABASCO Y
CHIAPAS, MÉXICO

GENETIC DIVERSITY
ANALYSIS IN COCOA
(*Theobroma cacao* L.) AND
PATAXTE (*T. bicolor* Humb.
& Bonpl.) FROM TABASCO
AND CHIAPAS, MEXICO

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 61: 295-310. Enero 2026

DOI:
10.18387/polibotanica.61.17

Fernanda Sarahí Hernández-Montes <https://orcid.org/0000-0003-3530-068X>
Guadalupe Concepción Rodríguez-Castillejos <https://orcid.org/0000-0003-0205-9340>

Unidad Académica Multidisciplinaria Reynosa – Axtlán,
Universidad Autónoma de Tamaulipas,
Calle 16 y Lago de Chapala S/N, CP. 88740, Reynosa, Tamaulipas

Guillermo Castañón-Nájera <https://orcid.org/0000-0001-8901-0421>

División Académica de Ciencias Biológicas Universidad Juárez Autónoma de
Tabasco, Carretera Villahermosa-Cárdenas, Entronque Bosques de Saloya, kilómetro
0.5, C.P. 86040, Villahermosa, Tabasco

Octelina Castillo- Ruiz <https://orcid.org/0000-0001-9566-3584>

Unidad Académica Multidisciplinaria Reynosa – Axtlán,
Universidad Autónoma de Tamaulipas,
Calle 16 y Lago de Chapala S/N, CP. 88740, Reynosa, Tamaulipas

Christian Asur Pérez-Obrador <https://orcid.org/0000-0001-7483-0304>

Colegio de postgraduados-Campus Tabasco. México. Periférico A. Molina s/n. Carr.
Cárdenas-Huimanguillo km.3 C.P. 86500 Cárdenas, Tabasco, México

Hernán Wenceslao Araujo-Torres <https://orcid.org/0009-0007-4140-4318>

Tecnológico Nacional de México Campus Reynosa. Av. Tecnológico S/N Col. Loma
real de Jarachina Sur C.P. 88730. Reynosa, Tamaulipas

Régulo Ruíz-Salazar / regulo.ruiz@docentes.uat.edu.mx 

<https://orcid.org/0000-0001-6579-6458>

Unidad Académica Multidisciplinaria Reynosa – Axtlán,
Universidad Autónoma de Tamaulipas,
Calle 16 y Lago de Chapala S/N, CP. 88740, Reynosa, Tamaulipas

RESUMEN: El cacao (*Theobroma cacao* L.), junto con el pataxte (*T. bicolor* Humb. & Bonpl) son dos especies cultivadas de suma importancia agronómica, ambas crecen juntas en plantaciones de los estados de Tabasco y Chiapas al sur de México. Las dos especies presentan cierto parecido fenotípico, y quizá genotípico, pero pocas investigaciones se han realizado para estudiar la relación genética que pudiera existir entre ambas especies. Por lo anterior, y por lo importante que son ambas especies en el sur-sureste de la república Mexicana, el objetivo del presente trabajo fue analizar la diversidad genética entre ambas especies de cacao y pataxte del sur de México. Para ello, se colectaron 56 accesiones, que pertenecen a cinco grupos genéticos de cacao (Guayaquil, Criollo, Calabacillo, Patastillo y Guayaquil rojo) y uno de Pataxte. La purificación del ADN se realizó con el fin de amplificar cuatro marcadores microsatélite, dos de ellos (mTcCIR11 y mTcCIR12), reportados como informativos en estudios de diversidad genética en cacao. Con los análisis de diversidad, se estimó el número total de alelos por locus (N_a), el número efectivo de alelos (N_e), la heterocigosidad observada (H_o) y esperada (H_e) y el coeficiente de endogamia (F_{IT}). El rango alélico observado en

mTcCIR11 fue de 121-313 pb y en MTcCIR12 fue de 190-232 pb. Para cada marcador se encontró un $N_a = 6.50$, con un N_e para Guayaquil = 4.00, Criollo = 2.00, Calabacillo = 2.50, Patastillo = 3.00, Guayaquil rojo = 1.75 y Pataxte = 3.00. La H_o fue inferior a la H_e , para todas las variedades de estudio. El AMOVA mostró una variación de 1% entre poblaciones, 85% entre los individuos y 14% entre individuos dentro de poblaciones.

Palabras clave: Cacao, diversidad genética, germoplasma, marcadores moleculares, pataxte.

ABSTRACT: Cacao (*Theobroma cacao* L.), along with pataxte (*T. bicolor* Humb. & Bonpl), are two cultivated species of agricultural importance. Both grow together on plantations in the states of Tabasco and Chiapas in southern Mexico. The two species share some phenotypic and perhaps genotypic similarity, but little research has been conducted to study the genetic relationship that may exist between them. Therefore, and given the importance of both species in the south-southeast of Mexico, the objective of this study was to analyze the genetic diversity between both species of cacao and pataxte in southern Mexico. To this end, 56 accessions were collected, belonging to five genetic groups of cacao (Guayaquil, Criollo, Calabacillo, Patastillo, and Guayaquil Rojo) and one of Pataxte. DNA purification was performed to amplify four microsatellite markers, two of which (mTcCIR11 and mTcCIR12) have been reported to be informative in cacao genetic diversity studies. Diversity analyses were used to estimate the total number of alleles per locus (N_a), the effective number of alleles (N_e), the observed (H_o) and expected (H_e) heterozygosity, and the inbreeding coefficient (F_{IT}). The allelic range observed in mTcCIR11 was 121–313 bp, and in mTcCIR12 was 190–232 bp. $N_a = 6.50$ was found for each marker, with N_e for Guayaquil = 4.00, Criollo = 2.00, Calabacillo = 2.50, Patastillo = 3.00, Guayaquil Rojo = 1.75, and Pataxte = 3.00. H_o was lower than H_e for all study varieties. The AMOVA showed a variation of 1% between populations, 85% between individuals, and 14% between individuals within populations.

Key words: Cocoa, genetic diversity, germplasm, molecular markers, pataxte

INTRODUCCIÓN

Las especies *Theobroma cacao* L. y *T. bicolor* Humb. & Bonpl. pertenecen a la familia Sterculiaceae, alternativamente Malvaceae (Southgate, 2000; Zequeira y Beaugard, 2024). Ambas especies son árboles con hojas siempre verdes que alcanzan altura de 3 - 12 m, y se desarrollan en la franja geográfica entre los 18° LN y 15° LS, con temperaturas de 20° a 30° C y más de 2,000 mm de lluvia distribuida en todo el año (Cuatrecasas, 1964). Por otro lado, Southgate (2000) menciona que *T. cacao* se cultivó por primera vez durante los años 250 – 900 de la era actual, aunque Cornejo *et al.*, (2018) señalan que el cacao fue domesticado hace 3,600 años de donde surgió la variedad ‘Criollo’ y posteriormente fue introducido a Europa a mediados de 1550 (Dillinger *et al.*, 2000; Coe & Coe, 2018). El cacao es una planta cuyos frutos tienen gran capacidad antioxidante debido a los polifenoles que contiene (Kim *et al.*, 2011; Córdova-Avalos *et al.*, 2023; Gómez-Rivera *et al.*, 2024). A nivel mundial se reconocen los tipos de cacao Criollo, Forastero y Trinitario, este último es una variedad híbrida resultado del cruzamiento de las dos primeras. En México el cacao criollo es apreciado por su perfil sensorial y también es un cultivo importante para la economía familiar del sureste de la república Mexicana (Córdova-Lázaro *et al.*, 2018; Pérez-Obrador *et al.*, 2025). Con respecto al centro de origen del cacao, Zarrillo *et al.*, (2018) mencionan que el cacao es originario de la zona amazónica de Santa Ana-La Florida al sureste de Ecuador y refuerzan su hipótesis con el descubrimiento de semillas de 5,300 años de antigüedad y el correspondiente análisis molecular de DNA (Pérez-Obrador *et al.*, 2025). Respecto al pataxte (*T. bicolor*), éste es una especie con alto potencial productivo que se encuentra en proceso de domesticación y su distribución se restringe al Continente Americano (Tinajero-Carrizales *et al.*, 2021). En México, al pataxte se le encuentra en los estados de Chiapas, Oaxaca, Tabasco y con pequeñas poblaciones en el estado de Guerrero. Sin embargo, también crece y se desarrolla en Colombia, Venezuela y Brasil, de manera general al pataxte se le puede

encontrar asociado a cacao o como cultivo de traspatio (Rendón-Aguilar *et al.*, 1998; Gálvez-Marroquín *et al.*, 2016).

La diversidad genética y estructura poblacional del cacao ha sido estudiada con diferentes tipos de marcadores moleculares de ADN como los polimorfismos de secuencia simple (SNP) (Martínez *et al.*, 2017; Osorio-Guarín *et al.*, 2017; Cornejo *et al.*, 2018; Lindo *et al.*, 2018; De Wever *et al.*, 2019; Bustamante *et al.*, 2022), polimorfismo en longitud de los fragmentos de restricción (RFLP) (Motamayor & Lanaud, 2002; Motamayor *et al.*, 2003), secuencias simples repetidas (SSRs) (Zhang *et al.*, 2006; Ruíz-Eraza *et al.*, 2015) y con marcadores de cloroplasto (Nieves-Orduña *et al.*, 2021). Sin embargo, hay pocos estudios en los que se haya realizado análisis de la diversidad genética del pataxte con este tipo de marcadores, dentro de ellos se puede mencionar el uso de los RAPDs o amplificación aleatoria de ADN polimórfico (Moreno *et al.*, 2004). Arteaga-Voigt *et al.* (2016) estudiaron con nueve marcadores SSRs la estructura genética y relación filogenética de poblaciones de Cacao Nacional Silvestre y Cultivado procedente de 19 zonas productoras del Norte de La Paz, Bolivia. De sus resultados los autores citados reportan que el número de polimorfismo por locus fue de 4 a 13 alelos, el contenido de información polimórfica (PIC), presentó patrones de distribución semejantes entre sí. En todas las poblaciones estudiadas la heterocigosidad esperada (H_e) y heterocigosidad observada (H_o) presentó un 99.98%. Por otro lado, Ricaño-Rodríguez *et al.* (2019) genotificaron muestras de cacao de Tabasco y Chiapas, y encontraron que *T. cacao* posee porcentajes entre 2-11% de SNPs. Los autores referidos observaron secuencias conservadas en las regiones codificantes de los genomas de las variedades de cacao estudiadas. Por su parte, Pérez-Pérez *et al.* (2025) realizaron un estudio morfológico y molecular en pataxte de los cuatro estados en los que se le encuentra a esta especie en México, de sus principales resultados reportan no haber encontrado variación genética en las regiones de ADN analizadas, pero sí diferencias morfológicas, las que deben ser modificadas por los diferentes ambientes en donde se tienen establecidas las plantaciones de pataxte referidas. Por la relevancia e importancia que tiene el cultivo de cacao y pataxte en el sureste de la república Mexicana, el objetivo del presente estudio fue determinar y caracterizar la estructura poblacional de 56 accesiones de *Theobroma* spp. mediante marcadores microsátélites.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

La colecta del material experimental de esta investigación se realizó durante septiembre – diciembre 2018 y enero - agosto 2019 en los estados de Tabasco y Chiapas, México, se obtuvieron 56 accesiones, de las cuales, 43 pertenecen a cacao (*T. cacao* L.) representadas por cinco grupos genéticos: Guayaquil, Criollo, Calabacillo, Patastillo y Guayaquil/rojo y uno de pataxte (*T. bicolor*) representado por 13 colectas (Cuadro 1). Se tomaron de 2 a 3 mazorcas y de una a cinco plantas por variedad en manera aleatoria. La edad de los árboles muestreados oscila entre 15 y 25 años. Los suelos son profundos, temperatura apta para el desarrollo de los árboles y precipitación mayor a 2,000 mm durante el año.

Cuadro 1. Datos de pasaporte de 56 colectas que incluyen 43 accesiones de cacao y 13 de pataxte procedentes de Tabasco y Chiapas, México

Table 1. Passport data for 56 collections, including 43 cacao accessions and 13 pataxte accessions from Tabasco and Chiapas, Mexico

No.	Variedades	Estado	Municipio	Localidad	Tipo de tejido	LN	LO
1	Guayaquil	Tabasco	Centro	González 1ª	Fresco	17°10'05	93°04'58"
2	Guayaquil	Chiapas	Acapetahua	Ejido Arenal	Fresco	17°58'38.21	92°18'18.0"
3	Criollo	Chiapas	Acapetahua	Ejido Arenal	Fresco	17°58'38.21	92°18'18.0"
4	Guayaquil	Chiapas	Chicomucelo	Zacoalpa	Fresco	15°10'23.27"	92°41'59.93"
5	Guayaquil	Tabasco	Paraíso	Oriente 1ª	Fresco	18°21'12.2"	93°11'54.6"
6	Calabacillo	Chiapas	Acapetahua	Ejido Arenal	Fresco	17°58'38.21	92°18'18.0"

No.	Variedades	Estado	Municipio	Localidad	Tipo de tejido	LN	LO
7	Criollo	Tabasco	Paraíso	Oriente 1ª	Fresco	18°21'12.2"	93°11'54.6"
8	Guayaquil	Chiapas	Chicomucelo	Piedra Labrada	Fresco	15°10'23.27"	92°41'59.93"
9	Calabacillo	Tabasco	Paraíso	Oriente 1ª	Fresco	18°21'12.2"	93°11'54.6"
10	Guayaquil	Tabasco	Teapa	Cerro de Puyacatengo	Fresco	18°07'27.7"	92°55'86"
11	Guayaquil	Tabasco	Cunduacán	Huapacal	Fresco	18°3'2.52"	93°9'21.24"
12	Calabacillo	Tabasco	Teapa	Cerro de Puyacatengo	Fresco	18°07'27.7"	92°55'86"
13	Patastillo	Tabasco	Cunduacán	Las Cruces	Fresco	18°07'36.5"	93°11'29"
14	Calabacillo	Tabasco	Cunduacán	Rio Seco	Fresco	18°07'39.1"	93°18'02.9"
15	Patastillo	Tabasco	Cunduacán	Rio Seco	Fresco	18°07'39.1"	93°18'02.9"
16	Calabacillo	Chiapas	Reforma	Macayo	Fresco	17°8'20.6"	93°16'27.2"
17	Calabacillo	Tabasco	Cunduacán	Los Cerros	Seco	18°02'14.7"	93°06'04.9"
18	Pataxte	Tabasco	Huimanguillo	Los Naranjos	Seco	17°54'05"	93°35'11"
19	Guayaquil	Tabasco	Cunduacán	Rio Seco	Fresco	18°07'36.5"	93°11'29"
20	Patastillo	Tabasco	Cunduacán	Pechucalco	Fresco	18°06'42.2"	93°11'13.6"
21	Patastillo	Tabasco	Tacotalpa	Zunup y Patastal	Fresco	17°28'22.1"	92°48'48.1"
22	Calabacillo	Tabasco	Cunduacán	La Trinidad	Fresco	18°09'12"	93°16'11.7"
23	Pataxte	Tabasco	Pichucalco	Los Cascabeles	Seco	17°50'16"	93°11'33"
24	Patastillo	Tabasco	Cunduacán	Los Cerros	Fresco	18°02'14.7"	93°06'04.9"
25	Pataxte	Tabasco	Cunduacán	Las Cruces	Seco	18°07'36.5"	93°11'29"
26	Pataxte	Tabasco	Teapa	Cerro de Puyacatengo	Fresco	15°41'12.26"	92°18'40.08"
27	Patastillo	Chiapas	Macayo	Reforma	Fresco	17°58'20.6"	93°16'27.2"
28	Calabacillo	Tabasco	Cunduacán	Las Cruces	Fresco	18°07'36.5"	93°11'29"
29	Criollo	Tabasco	Teapa	Cerro de Puyacatengo	Fresco	17°32'45.1"	92°55'04.6"
30	Patastillo	Tabasco	Tacotalpa	Agua Escondida	Fresco	17°29'14.3"	92°46'37.5"
31	Calabacillo	Tabasco	Tacotalpa	Zunup y Patastal	Fresco	17°28'22.1"	92°46'37.5"
32	Calabacillo	Tabasco	Tacotalpa	Agua Escondida	Fresco	17°29'14.3"	92°46'37.5"
33	Patastillo	Tabasco	Paraíso	Oriente 1ª	Fresco	18°21'12.2"	93°11'54.6"
34	Guayaquil	Tabasco	Comacalco	Ra. Reyes Hernández	Seco	18°13'52.0"	93°15'09.5"
35	Trinitario	Tabasco	Comacalco	Ra. Reyes Hernández	Seco	18°13'52.0"	93°15'09.5"
36	Pataxte	Tabasco	Cárdenas	Nueva Zelanda	Seco	17°54'05"	93°35'11"
37	Criollo Blanco	Tabasco	Paraíso	Oriente 1ª	Seco	18°21'12.2"	93°11'54.6"
38	Criollo Rojo	Tabasco	Paraíso	Oriente 1ª	Seco	18°21'12.2"	93°11'54.6"
39	Pataxte	Tabasco	Pichucalco	Los Cascabeles	Seco	17°50'16"	93°11'33"
40	Pataxte	Tabasco	Paraíso	Oriente 1ª	Seco	18°21'12.2"	93°11'54.6"
41	Patastillo	Tabasco	Tenosique	El Palmar	Seco	17°28'00"	91°25'00"
42	Calabacillo	Tabasco	Cunduacán	Pechucalco	Seco	18°06'42.2"	93°11'13.6"
43	Guayaquil Rojo	Tabasco	Cunduacán	Pechucalco	Seco	18°06'42.2"	93°11'13.6"
44	Pataxte	Tabasco	Comacalco	Ra. Reyes Hernández	Seco	18°13'52.0"	93°15'09.5"
45	Criollo/ Calabacillo	Tabasco	Comacalco	Ra. Reyes Hernández	Seco	18°13'52.0"	93°15'09.5"
46	Guayaquil	Tabasco	Centro	Plátano y Cacao 1ª Sección	Seco	17°57'47.5"	93°10'23.0"
47	Guayaquil	Chiapas	Reforma	Macayo	Seco	17°58'20.6"	93°16'27.2"
48	Pataxte	Chiapas	Reforma	Macayo	Seco	17°58'20.6"	93°16'27.2"
49	Patastillo	Tabasco	Cunduacán	La Trinidad	Seco	18°09'12.0"	93°16'11.7"

No.	Variedades	Estado	Municipio	Localidad	Tipo de tejido	LN	LO
50	Pataxte	Tabasco	Nacajuca	Bosques de Saloya	Seco	18°05'49"	92°56'41"
51	Pataxte	Tabasco	Comalcalco	R/A Norte 1ª Sección	Seco	18°21'12.2"	93°15'09.5"
52	Guayaquil	Tabasco	Paraiso	Oriente 1ª	Fresco	18°21'12.2"	93°11'54.4"
53	Criollo	Tabasco	Paraiso	Oriente 1ª	Fresco	18°21'12.2"	93°11'54.4"
54	Calabacillo	Tabasco	Cunduacán	Huapacal	Fresco	18°3'2.52"	93°9'21.25"
55	Pataxte	Tabasco	Teapa	Cerro de Puyacatengo	Seco	18°07'27.7"	92°55'86"
56	Guayaquil Rojo	Tabasco	Teapa	Cerro de Puyacatengo	Fresco	18°07'27.7"	92°55'86"

Extracción de ADN

La caracterización molecular de las accesiones de cacao y pataxte se realizó en el Laboratorio de Biotecnología de Alimentos de la Unidad Académica Multidisciplinaria Reynosa-Aztlán de la Universidad Autónoma de Tamaulipas (UAMRA - UAT). La semilla de cada una de las 56 colectas se hizo germinar en charolas de 21 cavidades con una mezcla de "Perlita y Peatmoss" en proporción 40/60. Después de la germinación se colectaron las primeras dos hojas de cada plántula, de las cuales se extrajo el DNA con el kit comercial 'DNeasy Plant Mini Kit' de Quiagen® sin modificaciones del instructivo. Después de la extracción, el ADN genómico obtenido de cada una de las accesiones se cuantificó mediante un equipo NanoDrop® de Thermo Fisher, posterior a ello, se realizó una mezcla de colorante para tinción de ácidos nucleicos SYBR Gold en dilución 1:100,000 con 2 µL de DNA genómico, la mezcla se colocó en gel de agarosa al 1% en una cámara de electroforesis cuyas condiciones de electroforesis fueron 95 Volts y 50 mA por una hora, posterior a esto, las muestras se visualizaron mediante un fotodocumentador de luz UV 'Gel Doc™ EZ Imager' de Bio-Rad®.

Condiciones de amplificación y visualización de los microsatélites

Los cuatro marcadores microsatélites empleados en el estudio se presentan en el Cuadro 2 y fueron seleccionados por ser informativos de acuerdo con el trabajo realizado por Saunders *et al.* (2004). La amplificación del ADN de las muestras colectadas se realizó mediante la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) en un termociclador 'T100' de Bio-Rad®, con temperaturas acordes a las condiciones de amplificación indicadas por Saunders *et al.* (2004). La PCR se realizó en un volumen final de 25 µL compuesto por: 70 ng de ADN_g (molde), 50 pmol de cada iniciador, 200 µM de dNTP's, búfer PCR 5X (Tris-HCl a 10 mM, pH 9; KCl a 50 mM; Triton X-100 al 0.1%), MgCl₂ a 4 mM y 1 U de Taq DNA polimerasa de Promega (Madison, WI, EE.UU.). Los productos amplificados se visualizaron y cuantificaron en geles de agarosa al 1.2% 'NuSieve' de Lonza® con búfer SB (Borato de sodio decahidratado 5 mM) para alta resolución de los alelos producto de la amplificación y se analizaron mediante el software GelAnalyzer 19.1 con marcadores de peso estándar para determinar los tamaños de los fragmentos amplificados por SSR.

Cuadro 2. Descripción de los marcadores microsatélites empleados en la caracterización de accesiones de cacao y pataxte

Table 2. Description of the microsatellite markers used in the characterization of cacao and pataxte accessions

SSR	Secuencias	T _m °C	Pb	Motivo
mTcCIR11	F-5'TTTGGTGATTATTAGCAG3' R-3'GATTCGATTTGATGTGAG5'	46	286 - 321	(TC) ₁₃
mTcCIR12	F-5'TCTGACCCCAAACCTGTA3' R-3'ATCCAGTTAAAGCACAT5'	46	165 - 256	(CATA) ₄ N ₁₈ (TG) ₆
mTcCIR18	F-5'GATAGCTAAGGGGATTGAGGA3' R-3'GGTAATTC AATCATTTGAGGATA5'	51	331 - 354	(GA) ₁₂
mTcCIR58	F-5'TTTTTGGTGATGGA ACTAT3' R-3'TGGTTAAGCAACTAAACT5'	52	254 - 274	(GT) ₄₀

T_m= temperatura de alineamiento; Pb= pares de bases; Fuente: Saunders *et al.* (2004).

Análisis estadístico

Durante la visualización de los geles, se anotó el peso molecular del producto amplificado para cada alelo de cada colecta evaluada donde se tomó como referencia el un marcador de peso molecular de 50 a 1,000 pares de bases Promega® G3161 y con ello, se estimó la frecuencia alélica para cada microsatélite probado en el presente estudio. La estimación de la diferenciación genética entre colectas, se realizó mediante un Análisis molecular de varianza (AMOVA), con el software GenAlEx 6.5.1 (Peakall & Smouse, 2012), y de acuerdo con De Vicente et al. (2004), los parámetros de diversidad estimados en esta investigación son:

H_T = heterocigosidad esperada en la población total, estimada a partir de las frecuencias alélicas combinadas

H_o = heterocigosidad promedio observada en un grupo de poblaciones

H_e = heterocigosidad esperada, estimada a partir de cada subpoblación

$F_{IS} = 1 - \frac{H_o}{H_e}$, la deficiencia o el exceso de heterocigotos promedio en cada población

$F_{ST} = 1 - \frac{H_e}{H_T}$, el grado de diferenciación génica entre las poblaciones, en función de las frecuencias alélicas

$F_{IT} = 1 - \frac{H_o}{H_T}$, la deficiencia o exceso de heterocigotos promedio en un grupo de poblaciones

$P = \frac{n_{pj}}{n_{total}}$, P=proporción de loci polimórficos, n_{pj} = número de loci polimórficos, n_{total} = total de loci

N_a = número de alelos por locus

N_e =número promedio de alelos por locus

Los datos de los pesos moleculares fueron transformados a una matriz de disimilitud alélica con la fórmula siguiente:

$$d_{ij} = 1 - \frac{1}{L} \sum_{i=1}^L \frac{m_i}{\pi}$$

Donde:

d_{ij} = disimilitud entre las unidades de i y j

L = número de loci

π = ploidía

m_i = número de alelos pares para el locus i

Con la matriz de disimilitud generada se construyó un dendrograma mediante el método 'UnWeighted Neighbor Joining' "Vecinos no ponderados con el software DARWin 6.0.014 (Perrier *et al.*, 2003). La estructura de las poblaciones analizadas se determinó con el software STRUCTURE V 2.3.4 (Chumacero *et al.*, 2013) mediante ajuste del valor de ΔK que fue de uno a ocho con 200,000 'burn-ins periods' "Periodos de alineamiento" y 800,000 repeticiones a través de veinte simulaciones (iteraciones) independientes para cada valor de ΔK , se empleó un modelo mezclado y correlacionado en cada caso. El número óptimo de poblaciones se estimó con la prueba de ΔK propuesta por Evanno *et al.* (2005) con el software disponible en línea STRUCTURE HARVESTER V 0.6.94 (Earl & vonHoldt, 2012).

RESULTADOS

El rango alélico observado para cada marcador fue el siguiente: mTcCIR11 (121-313 pb), mTcCIR12 (190-232 pb), mTcCIR18 (333-357 pb) y mTcCIR58 (254-274 pb). Se observó exceso de homocigotos dado el valor de $F_{IS}=0.861$ lo cual es derivado de la presencia de alelos nulos en las colectas evaluadas. Se encontraron 10 alelos para la variedad de cacao 'Guayaquil'

y 10 para pataxte, el valor más alto para el número de alelos promedio ($N_e=4$), lo mostró la variedad 'Guayaquil', a diferencia del pataxte, que presentó tres alelos, pero superó al $N_e=2$ observado en la variedad Criollo. El valor más alto de heterocigosidad (H_e) lo presentó la variedad Guayaquil (0.595), pero fue inferior al 0.602 observado en Pataxte (Cuadro 3).

Cuadro 3. Parámetros obtenidos en la evaluación de la diversidad genética de poblaciones de cacao y pataxte colectadas en Tabasco y Chiapas, México.

Table 3. Parameters obtained in the evaluation of the genetic diversity of cacao and pataxte populations collected in Tabasco and Chiapas, Mexico.

Variedades	Na	Ne	He	Ho	Nivel de significancia
Guayaquil	10	4.00	0.595	0.100	0.000
Criollo	3	2.00	0.278	0.167	0.039
Calabacillo	6	2.50	0.458	0.083	0.000
Patastillo	8	3.00	0.543	0.188	0.000
Guayaquil/Rojo	2	1.75	0.281	0.125	0.111
Pataxte	10	3.00	0.602	0.165	0.000
Promedio	6.5	2.5	0.460	0.138	

Na= Número de alelos por locus; Ne= Número promedio de alelos por locus; He= Heterocigosidad esperada; Ho= Heterocigosidad observada.

De los resultados arrojados por el Análisis molecular de varianza (AMOVA), se puede observar (Cuadro 4) que el 1.0% de la variación fue explicada por la moderada diferenciación genética entre las poblaciones de cacao y pataxte estudiadas. Sin embargo, se observó que el 85.0% de la varianza estimada se atribuye a diferencias entre los individuos, y 14.0% a la variación entre los individuos dentro de las poblaciones.

Con respecto a los índices de fijación o estadísticos de Wright, se observa que el F_{ST} presentó un valor de 0.011, lo que se puede interpretar como poca diferenciación genética debido a las frecuencias alélicas entre las accesiones evaluadas. El F_{IT} de 0.861 y F_{IS} también con un valor de 0.861, señalan exceso promedio de heterocigotos en promedio en un grupo de poblaciones y en cada una de las poblaciones evaluadas.

Cuadro 4. Análisis molecular de varianza de 56 accesiones de *Theobroma* spp. colectados en los estados de Tabasco y Chiapas, México.

Table 4. Molecular analysis of variance of 56 *Theobroma* spp. accessions collected in the states of Tabasco and Chiapas, Mexico.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados Medios	% de varianza explicada	Índices de fijación
Entre poblaciones	4	11.211	2.803	1.0	$F_{ST}= 0.011$
Entre individuos	51	126.039	2.471	85.0	$F_{IT}= 0.861$
Entre individuos dentro de poblaciones	56	10.500	0.188	14.0	$F_{IS}= 0.861$
Total	111	147.750		100.0	

El dendrograma (Figura 1), muestra las relaciones genéticas entre las accesiones evaluadas en el presente estudio, obsérvese que se formaron cuatro grupos o clústers donde se consideró una distancia de similitud igual 0.2. En el primer grupo (clúster 1) se agruparon 18 accesiones, entre ellas, se encuentran dos de Chiapas (Chis_Pataxte-1 y Chis_Patastillo-55), y el resto es

germoplasma colectado en el estado de Tabasco. Este agrupamiento es posible que se haya debido a que presentaron similitud en el número de bandas identificadas por los marcadores en cada accesión, además de su origen geográfico. Dentro de este primer grupo (clúster 1) predominaron Pataxte (5) y Patastillo (4). El segundo grupo (clúster 2) se conformó por 13 accesiones y al igual que en el primer clúster, en éste, también predominaron los tipos Pataxte (4) y Patastillo (3). El grupo 3 (clúster 3) agrupó a 18 variedades de cacao y fue la variedad Guayaquil la que sobresalió en mayor número, cuatro de Chiapas, y tres de Tabasco, luego, el Pataxte y Patastillo con cuatro colectas cada uno, y por último el Calabacillo con tres colectas. El último grupo (clúster 4) fue en el que se agrupó el menor número de colectas (7) donde predominaron en número, los tipos Calabacillo con tres colectas y Criollo con dos.

El análisis de estructura poblacional (Figura 2) clasificó a las variedades de cacao y pataxte evaluadas en tres grupos ($\Delta K=3$). El grupo 2 lo conformaron 23 accesiones, el grupo 3 se integró por 19 accesiones y el grupo 1 fue el de menor número de accesiones ya que solamente incluyó 14 accesiones. Obsérvese (Figura 2) que los pataxtes se encuentran distribuidos en cada uno de los tres grupos en cantidad más o menos proporcional por grupo.

DISCUSIÓN

Los marcadores moleculares tipo microsatélite (SSR) en el presente estudio resultaron ser una herramienta útil y eficiente para determinar la diversidad de las colectas de cacao y pataxte evaluadas, lo cual quedó demostrado debido al número de alelos por locus amplificado. Cabe mencionar el trabajo de Chumacero *et al.*, (2013) quienes emplearon los microsatélites mTcCIR11, mTcCIR12 y mTcCIR18 entre otros, en reacciones de PCR multiplex, con lo cual pudieron detectar el flujo génico y la diversidad genética entre variedades de cacao silvestres y cultivadas. El microsatélite, que por los resultados arrojados, mostró más eficiencia en la presente investigación, además de ser significativo es el mTcCIR12, sin embargo, Smulders *et al.*, (2012) en su investigación realizada en cacao en Trinidad y Tobago, reportaron que el microsatélite mTcCIR18 resultó ser el más eficiente en cuanto al número de alelos amplificados, a diferencia del presente trabajo, pero que coincide con los resultados del marcador mTcCIR12 que reportó en cacao Londoño-Murillo *et al.* (2011), y menciona que este marcador es uno de los más informativos y polimórficos, esta discrepancia puede deberse a que los autores referidos emplearon plata para teñir sus geles, y en la presente investigación se usó SYBR Gold lo que permitió una tinción de banda muy eficiente en todos los microsatélites evaluados.

Al comparar los resultados obtenidos en la presente investigación con los encontrados por (Aikpokpodion *et al.*, 2010; Londoño-Murillo *et al.*, 2011; Loo Solorzano *et al.*, 2012; Vázquez-Ovando *et al.*, 2014) quienes en sus trabajos emplearon los mismos microsatélites, se puede establecer que el número de alelos y rangos fueron consistentes entre sí, lo que se corrobora también por lo reportado por Saunders *et al.* (2004). En el presente estudio, se identificaron pequeñas variaciones en la estimación de los pesos moleculares de los alelos, pero esto puede ser un efecto de la sensibilidad que se presenta al realizar la lectura del programa GelAnalyzer 19.1 (Lazar *et al.*, 2010). O también del ambiente en que se desarrollan las diferentes colecciones de cacao o pataxte de cada sitio experimental.

En relación al número de alelos por locus reportados en algunos trabajos con cacao se tienen los de Aikpokpodion *et al.* (2010) con 3.25, Aikpokpodion *et al.* (2009) con 4.39 alelos, Sereno *et al.* (2006) con 4.45 alelos, Boza *et al.* (2014) que reportó 3.14 alelos, y Velayutham *et al.*, (2013) encontraron 3 alelos, que son valores menores al 6.50 de alelos promedio por locus detectados en este trabajo para las variedades cultivadas de cacao y pataxte, y similar al promedio de 6 alelos por locus reportado por Vázquez-Ovando *et al.* (2014).

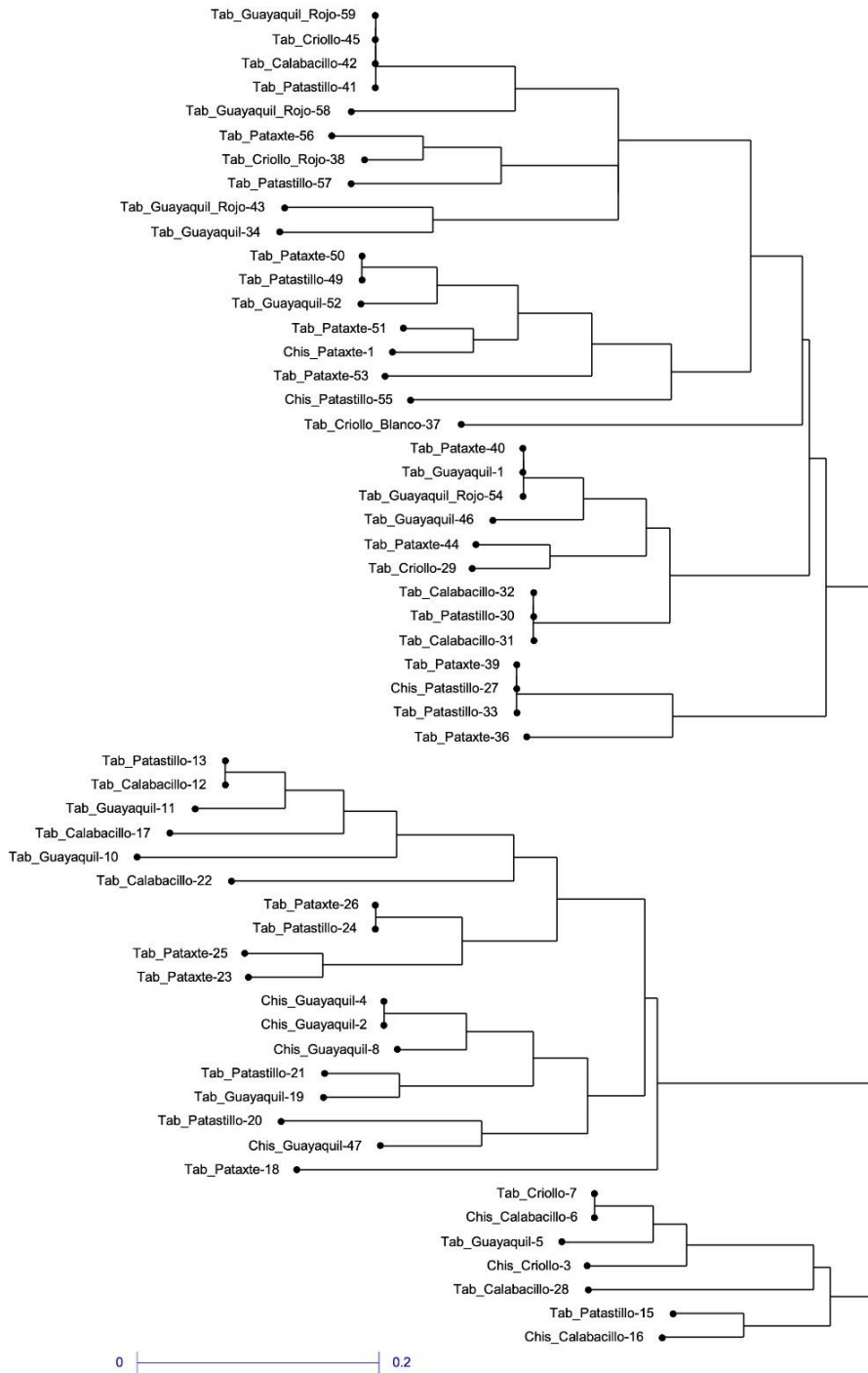


Figura 1. Dendrograma de 56 accesiones de *Theobroma* spp. colectadas en Tabasco y Chiapas, México.
Figure 1. Dendrogram of 56 *Theobroma* spp. accessions collected in Tabasco and Chiapas, Mexico.

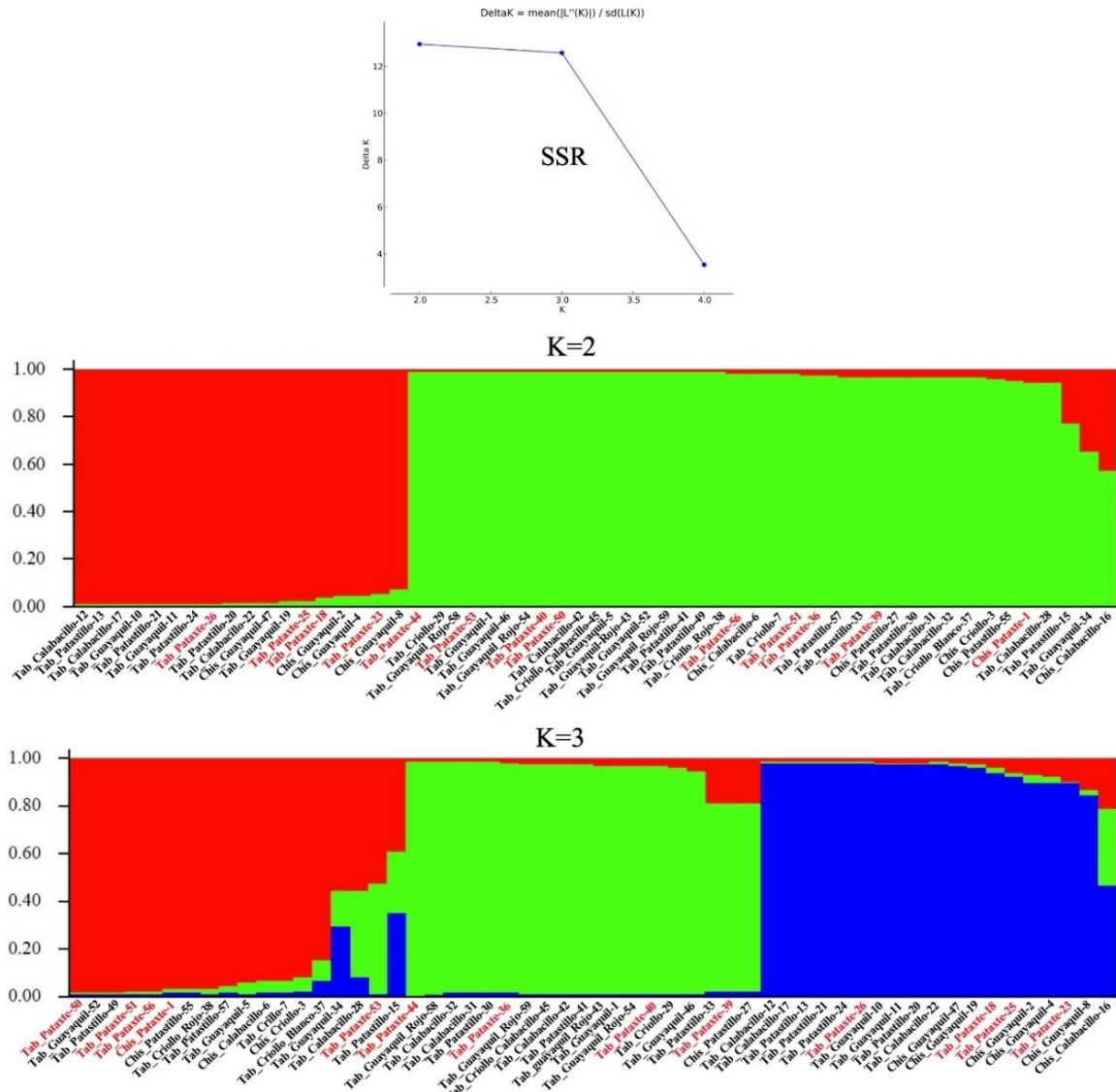


Figura 2. Determinación de la estructura poblacional de 56 accesiones de cacao y pataxte con marcadores microsatélites (SSR).

Figure 2. Determination of the population structure of 56 cacao and pataxte accessions with microsatellite markers (SSR).

Es posible que el número variable de alelos por locus reportados en los estudios previamente mencionados se deba a que se incluyeron materiales cultivados procedentes de distintas poblaciones, y por ello, cuando se comparan los resultados de este trabajo con estudios realizados en una única población se obtienen polimorfismos similares en cuanto al número de alelos amplificados.

Cabe mencionar que los resultados obtenidos se basan en la comparativa de las diferencias en cuanto a los tamaños y número de alelos que se pueden obtener, los cuales, en gran medida se deben a la técnica de detección empleada (Smulders *et al.*, 2010). Mientras que la detección por radioactividad (NUCTECH) y por electroforesis capilar (poliacrilamida) permite la identificación de un mayor número de alelos, el uso de nitrato de plata es efectivo en menor proporción para la

detección de alelos, pero con la ventaja de ser de bajo costo, mientras que en el presente trabajo, se optó por emplear la tinción de SYBR Gold para visualizar ácidos nucleicos ello, por su alta similitud con la tinción de bromuro de etidio (EtBr) una vez que se expone a luz ultravioleta.

En relación a la varianza encontrada en el AMOVA, la variación de 1% de varianza explicada entre poblaciones puede deberse a que las accesiones evaluadas presentan poca diferenciación, la cual puede deberse a la similitud génica o alélica que existe entre ellas. Lo anterior se refuerza por lo encontrado por Aikpokpodion *et al.* (2010), quienes al evaluar 11 poblaciones (híbridos, poblaciones, y colecciones) del banco de germoplasma de Nigeria, encontraron 37% de varianza entre poblaciones y 67% dentro de poblaciones.

Con respecto a los estimadores de la estructura poblacional, Opoku *et al.* (2007) obtuvieron un valor de $F_{ST} = 0.076$, no obstante que este índice de fijación indica moderada diferenciación genética entre las subpoblaciones evaluadas (no existe divergencia genética), los autores mencionan haber observado grandes diferencias genéticas entre las accesiones evaluadas, con lo cual separaron el germoplasma mejorado del criollo de los agricultores. En los resultados de sus trabajos de investigación Aikpokpodion *et al.* (2009); Loor Solorzano *et al.* (2012); Ruiz *et al.* (2011); y Vázquez-Ovando *et al.* (2014), encontraron valores de F_{ST} que fluctuaron de 0.123, 0.209, 0.4979 y 0.230, los que son superiores al $F_{ST} = 0.011$ estimado en la presente investigación, es decir, las poblaciones evaluadas de los investigadores citados mostraron diferenciación genética de moderada a muy grande, mientras que las accesiones evaluadas en el presente estudio, presentan poca diferenciación o pequeña, misma que es posible que sea producto del intercambio de germoplasma entre agricultores de cacao de las localidades estudiadas en cada estado. Con respecto al valor $F_{IS} = 0.861$ se encontró más exceso de homocigotos que el reportado ($F_{IS} = 0.2402$) por Loor Solorzano *et al.* (2012) para este índice de fijación, lo cual pone de manifiesto la poca diferenciación genética que existe entre las accesiones evaluadas.

En cuanto a la heterocigosidad esperada ($H_e = 0.460$), y la observada ($H_o = 0.138$) el valor promedio encontrado para H_e , superó al reportado por Sereno *et al.* (2006); Chumacero *et al.* (2013); Vázquez-Ovando *et al.* (2014) y Gopaulchan *et al.* (2020), pero inferior al estimado por Aikpokpodion *et al.* (2010); y menor para H_o del trabajo de Ruiz *et al.* (2011) y Batista *et al.* (2016). Resultados que pueden deberse, en parte a la constitución genética del germoplasma evaluado en cada trabajo.

Con relación al agrupamiento encontrado en las accesiones evaluadas, obsérvese (Figura 1 y 2), que el pataxte se mezcló con los demás tipos o accesiones de cacao, esto se contrapone con lo asegurado por Azurdia, (2014) y Avalos *et al.*, (2012) de que no existe relación filogenética entre el cacao criollo y el pataxte, y que por ello la hibridación natural entre ambas especies no es posible que se lleve a cabo.

CONCLUSIONES

La investigación realizada en la que se emplearon cuatro microsatélites, generó información con la que se puede establecer la hipótesis de que es posible que haya alguna relación filogenética entre el cacao y pataxte que se cultivan en los estados de Tabasco y Chiapas. Lo anterior se sustenta en el hecho de que es común que los agricultores de los estados referidos cultivan juntos en sus plantaciones al cacao y pataxte, y seleccionen semilla de las mejores mazorcas de cacao para tener nuevas plantas en sus predios, las que es posible que pudieran ser producto de posible hibridación, ya sea entre variedades de cacao o entre cacao y pataxte.

El mayor número efectivo de alelos (N_e) se encontró en las accesiones de cacao Guayaquil, que puede ser resultado del posible entrecruzamiento entre las variedades mencionadas.

LITERATURA CITADA

- Aikpokpodion, P. O., Kolesnikova-Allen, M., Adetimirin, V. O., Gultinan, M. J., Eskes, A. B., Motamayor, J. C., & Schnell, R. J. (2010). Population structure and molecular characterization of nigerian field genebank collections of cacao, *Theobroma cacao* L. *Silvae Genetica*, 59(1–6), 273–285. <https://doi.org/10.1515/sg-2010-0039>
- Aikpokpodion, P. O., Motamayor, J. C., Adetimirin, V. O., Adu-Ampomah, Y., Ingelbrecht, I., Eskes, A. B., Schnell, R. J., & Kolesnikova-Allen, M. (2009). Genetic diversity assessment of sub-samples of cacao, *Theobroma cacao* L. collections in West Africa using simple sequence repeats marker. *Tree Genetics & Genomes*, 5(4), 699–711. <https://doi.org/10.1007/s11295-009-0221-1>
- Arteaga-Voigt, D., Sandy-Valencia, x., Torres-Tola, E., Luna-Barrón, R., & Chávez-Carranza, E. (2016). Caracterización de la variabilidad genética de cacao nacional (*Theobroma cacao* L.) en la región del norte Paceño Boliviano. *Wildlife Conservation Society*, 14(1), 1–14. <https://shorturl.at/upLYa>
- Avalos, A., Porres, M. A., Poll, E., Dardón, E., Arévalo, L. A., & Rosales, J. A. (2012). Caracterización agronómica, botánica y molecular de clones de cacao tipo criollo y mejorado de la zona sur de Guatemala. *Rev. Univ. Valle de Guatemala*, 1(4), 100–104. <https://shorturl.at/OFCnU>
- Azurdia, C. (2014). Cultivos nativos de Guatemala y bioseguridad del uso de organismos vivos modificados. *Guatemala CONAP*, 1(7), 1–54. <https://doi.org/https://shorturl.at/p0iUu>
- Batista, L. A., Ramos, L. P., Magalhaes, A. M., Amato, F., & Xavier, R. (2016). Molecular genetic diversity in a core of cocoa (*Theobroma cacao* L.) clones with potential for selection of disease resistance, plant height and fruit production. *African Journal of Biotechnology*, 15(44), 2517–2523. <https://doi.org/10.5897/AJB2015.15188>
- Boza, E. J., Motamayor, J. C., Amores, F. M., Cedeño-Amador, S., Tondo, C. L., Livingstone, D. S., Schnell, R. J., & Gutiérrez, O. A. (2014). Genetic Characterization of the Cacao Cultivar CCN 51: Its Impact and Significance on Global Cacao Improvement and Production. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 139(2), 219–229. <https://doi.org/10.21273/JASHS.139.2.219>
- Bustamante, D. E., Motilal, L. A., Calderon, M. S., Mahabir, A., & Oliva, M. (2022). Genetic diversity and population structure of fine aroma cacao (*Theobroma cacao* L.) from north Peru revealed by single nucleotide polymorphism (SNP) markers. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 10, 1–15. <https://doi.org/10.3389/fevo.2022.895056>
- Chumacero, C., Durka, W., Tschardtke, T., Hensen, I., & Kessler, M. (2013). Gene flow and genetic diversity in cultivated and wild cacao (*Theobroma cacao*) in Bolivia. *American Journal of Botany*, 100(11), 2271–2279. <https://doi.org/10.3732/ajb.1300025>
- Coe, S. D., & Coe, M. D. (2018). La verdadera historia del chocolate (M. A. Pulido-Rull, Ed.; Primera edición, Vol. 1). Fondo de Cultura Económica. 396 pp.
- Córdova-Avalos, V., Mena-De los Santos, G., Cruz- Palacios, V., Pérez-Flores, J., Chávez-García, E., Córdova-Avalos, A., Córdova-Aquino, J., & Izquierdo-Reyes, F. (2023). Benefits of homemade chocolate consumption on human health. *Agro Productividad*, 5(16), 147–154. <https://doi.org/10.32854/agrop.v15i4.2497>
- Córdova-Lázaro, C. E., Jaramillo-Villanueva, J. L., Córdova-Avalos, V., Carranza-Cerda, I., & Morales-Jiménez, J. (2018). Chocolate casero tradicional en la región de la Chontalpa Tabasco, México: actores y saberes locales. *Estudios Sociales. Revista de Alimentación Contemporánea y Desarrollo Regional*, 28(52), 1–27. <https://doi.org/10.24836/es.v28i52.577>
- Cornejo, O. E., Yee, M. C., Dominguez, V., Andrews, M., Sockell, A., Strandberg, E., Livingstone, D., Stack, C., Romero, A., Umaharan, P., Royaert, S., Tawari, N. R., Ng, P., Gutierrez, O., Phillips, W., Mockaitis, K., Bustamante, C. D., & Motamayor, J. C. (2018). Population genomic analyses of the chocolate tree, *Theobroma cacao* L., provide insights into its domestication process. *Communications Biology*, 1(1), 167–178. <https://doi.org/10.1038/s42003-018-0168-6>

- Cuatrecasas, J. (1964). Cacao and its allies, a taxonomic revision of the genus *Theobroma*. En *Systematic Plant Studies* (First edition, Vol. 1, pp. 379–614). Smithsonian Institution Press.
- De Wever, J., Everaert, H., Coppieters, F., Rottiers, H., Dewettinck, K., Lefever, S., & Messens, K. (2019). The development of a novel SNP genotyping assay to differentiate cacao clones. *Scientific Reports*, 9(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45884-8>
- Dillinger, T. L., Barriga, P., Escárcega, S., Jimenez, M., Lowe, D. S., & Grivetti, L. E. (2000). Food of the Gods: Cure for humanity? A cultural history of the medicinal and ritual use of chocolate. *The Journal of Nutrition*, 130(8), 2057S–2072S. <https://doi.org/10.1093/jn/130.8.2057S>
- Earl, D. A., & vonHoldt, B. M. (2012). STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*, 4(2), 359–361. <https://doi.org/10.1007/s12686-011-9548-7>
- Evanno, G., Regnaut, S., & Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: A simulation study. *Molecular Ecology*, 14(1), 2611–2620. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x>
- Gálvez-Marroquín, L. A., Reyes-Reyes, A. L., Avendaño-Arrázate, C. H., Hernández-Gómez, E., Mendoza-López, A., & Díaz-Fuentes, V. H. (2016). Pataxte (*Theobroma bicolor* Humb. & Bonpl.): especie subutilizada en México. *Agro Productividad*, 9(1), 41–47.
- Gómez-Rivera, A., Lobato, C. E., & López-Rodríguez, R. (2024). *El Cacao tabasqueño: de los olmecas a nuestro tiempo* (C. Zequeira Larios & G. Beauregard Solís, Eds.; 1a ed., Vol. 1). Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. <https://doi.org/10.19136/ect120424a0>
- Gopaulchan, D., Motilal, L. A., Kalloo, R. K., Mahabir, A., Moses, M., Joseph, F., & Umaharan, P. (2020). Genetic diversity and ancestry of cacao (*Theobroma cacao* L.) in Dominica revealed by single nucleotide polymorphism markers. *Genome*, 63(12), 583–595. <https://doi.org/10.1139/gen-2019-0214>
- Kim, J., Lee, K. W., & Lee, H. J. (2011). Cocoa (*Theobroma cacao*) seeds and phytochemicals in human health. *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*, 351–360. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-375688-6.10042-8>
- Lazar, I. Jr., Horvath-Lazar, E., & Lazar, I. Sr. (2010). *GelAnalyzer 19.1* (19.1). www.gelanalyzer.com
- Lindo, A. A., Robinson, D. E., Tennant, P. F., Meinhardt, L. W., & Zhang, D. (2018). Molecular characterization of cacao (*Theobroma cacao*) germplasm from Jamaica using single nucleotide polymorphism (SNP) markers. *Tropical Plant Biology*, 11(3–4), 93–106. <https://doi.org/10.1007/s12042-018-9203-5>
- Londoño-Murillo, J., Gil-Villa, D. M., Aguilar-Marín, S. B., Rivera-Páez, F. A., & López-Gartner, G. A. (2011). Caracterización molecular de clones de *Theobroma cacao* L., por medio de marcadores moleculares microsatélites. *Revista Luna Azul*, 32(1), 32–50.
- Loor Solorzano, R. G., Fouet, O., Lemainque, A., Pavék, S., Boccara, M., Argout, X., Amores, F., Courtois, B., Risterucci, A. M., & Lanaud, C. (2012). Insight into the Wild Origin, Migration and Domestication History of the Fine Flavour Nacional *Theobroma cacao* L. Variety from Ecuador. *PLoS ONE*, 7(11), e48438. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048438>
- Martínez, N., Gallego, G., Zapata, P., Quintero, C., Duarte, D., Tohme, J., & Darío Ramírez, O. (2017). Caracterización morfoagronómica y molecular de la colección de cacao de la Federación Nacional de Cacaoteros de Colombia. <https://shorturl.at/lykyu>
- Moreno, Y., Melgarejo, L. M., Hernández, M. S., Quintero, L., & Vargas, G. (2004). Caracterización molecular de un banco de germoplasma del género *Theobroma* mediante la técnica RAPD. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 6(2), 15–24.
- Motamayor, J. C., & Lanaud, C. (2002). Molecular analysis of the origin and domestication of *Theobroma cacao* L. En J. M. M. J.M.M. Engels, V. R. Rao, A. H. D. Brown, & M. T. Jackson (Eds.), *Managing Plant Genetic Diversity* 1(1), 77–87.
- Motamayor, J. C., Risterucci, A. M., Heath, M., & Lanaud, C. (2003). Cacao domestication II: progenitor germplasm of the Trinitario cacao cultivar. *Heredity*, 91(3), 322–330. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800298>

- Nieves-Orduña, H. E., Müller, M., Krutovsky, K. V., & Gailing, O. (2021). Geographic patterns of genetic variation among cacao (*Theobroma cacao* L.) populations based on chloroplast markers. *Diversity*, 13(6), 1–17. <https://doi.org/10.3390/d13060249>
- Opoku, S. Y., Bhattacharjee, R., Kolesnikova-Allen, M., Motamayor, J. C., Schnell, R., Ingelbrecht, I., Enu-Kwesi, L., & Adu-Ampomah, Y. (2007). Genetic diversity in cocoa (*Theobroma cacao* L.) germplasm collection from Ghana. *Journal of Crop Improvement*, 20(1–2), 73–87. https://doi.org/10.1300/J411v20n01_04
- Osorio-Guarín, J. A., Berdugo-Cely, J., Coronado, R. A., Zapata, Y. P., Quintero, C., Gallego-Sánchez, G., & Yockteng, R. (2017). Colombia a source of cacao genetic diversity as revealed by the population structure analysis of germplasm bank of *Theobroma cacao* L. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1–13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01994>
- Peakall, R., & Smouse, P. E. (2012). GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update. *Bioinformatics*, 28(19), 2537–2539. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460>
- Pérez-Obrador, C. A., Córdova Ávalos, V., Solana-Villanueva, N., Zaldívar-Cruz, J. M., & García-Alamilla, P. (2025). Bromatological characterization of three types of semi-industrial chocolates. *Agro Productividad*, 18(3), 211–216. <https://doi.org/10.32854/fnz7h270>
- Pérez-Obrador, C. A., Solana-Villanueva, N., Córdova-Avalos, V., & Saldívar-Cruz, J. M. (2025). Preferencias de los consumidores de la Chontalpa tabasqueña de chocolate semiindustrial. *Revista de Alimentación Contemporánea y Desarrollo Regional*, 35(65), 1–25. <https://doi.org/10.24.836/es.v35i65.1577>
- Pérez-Pérez, M. A., Sánchez-Chino, X. M., García-Bautista, M., Ángel González-Díaz, A., Ruíz-Montoya, L., & Castellanos-Morales, G. (2025). Phenotypic and genetic variation in pataxte (*Theobroma bicolor* Humb. & Bonpl.) from cacao growing regions from southeastern Mexico. *Botanical Sciences*, 103(4), 858–875. <https://doi.org/10.17129/botsci.3693>
- Perrier, X., Flori, A., & Bonnot, F. (2003). Data analysis methods. En P. Hamon, M. Seguin, X. Perrier, & J. C. Glaszmann (Eds.), *Genetic diversity of cultivated tropical plants* (First, Vol. 1, pp. 43–76). Enfield, Science Publishers.
- Rendón-Aguilar, B., González Soto, G., Oble-Delgado, M. I., Ojeda-Cornejo, V., Parra-Padilla, R. E., Pérez-González, E., & Ramírez-Hernández, L. (1998). *Theobroma bicolor* Humb. & Bonpl. (Sterculiaceae, “Cuapataxtle”) en el Municipio de Ayutla de los Libres, Guerrero. Composición Florística de los huertos y aspectos etnobotánicos. *Botanical Sciences*, 1(63), 75–84. <https://doi.org/10.17129/botsci.1569>
- Ricaño-Rodríguez, J., Hipólito-Romero, E., Ramos-Prado, J. M., & Cocoltzi-Vásquez, E. (2019). Genotipado por secuenciación de variedades tradicionales de *Theobroma cacao* (Malvaceae) del Estado de Tabasco, México. *Botanical Sciences*, 97(3), 381–397. <https://doi.org/10.17129/botsci.2258>
- Ruiz, J., Roa, O., & Marin, I. (2011). Molecular ecology of genetic diversity of cacao cultivated in the south-east region of Nicaragua. *International Research Journal of Agricultural Science and Soil Science*, 1(1), 6–13.
- Ruiz-Eraza, X., Almanza-Pinzón, M., Morillo-Coronado, A. C., Morillo-Coronado, Y., González, A., Caicedo-Arana, A., & Muñoz-Flores, J. E. (2015). Comparación genética de tres fuentes de cacao *Theobroma cacao* L., mediante el uso de marcadores microsatélites. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 13(1), 10–18.
- Saunders, J. A., Mischke, S., Leamy, E. A., & Hemeida, A. A. (2004). Selection of international molecular standards for DNA fingerprinting of *Theobroma cacao*. *Theoretical and Applied Genetics*, 110(1), 41–47. <https://doi.org/10.1007/s00122-004-1762-1>
- Sereno, M. L., Albuquerque, P. S. B., Vencovsky, R., & Figueira, A. (2006). Genetic diversity and natural population structure of cacao (*Theobroma cacao* L.) from the Brazilian Amazon evaluated by microsatellite markers. *Conservation Genetics*, 7(1), 13–24. <https://doi.org/10.1007/s10592-005-7568-0>

Recibido:
5/agosto/2025

Aceptado:
5/diciembre/2025

- Smulders, M. J. M., Esselink, D., Amores, F., Ramos, G., Sukha, D. A., Butler, D. R., Vosman, B., & van Loo, E. N. (2010). Identification of cocoa (*Theobroma cacao* L.) varieties with different quality attributes and parentage analysis of their beans. *Ingenics Newsletters*, 1(12), 1–13.
- Southgate, D. (2000). Chocolate and Cocoa: Health and Nutrition. *European Journal of Clinical Nutrition*, 54(4), 364–365. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1600955>
- Tinajero-Carrizales, C., González-Pérez, A. L., Rodríguez-Castillejos, G. C., Castañón-Nájera, G., & Ruíz-Salazar, R. (2021). Comparación proximal en cacao (*Theobroma cacao*) y pataxte (*T. bicolor*) de Tabasco y Chiapas, México. *Polibotánica*, 1(52), 135–149. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.52.10>
- Vázquez-Ovando, J. A., Molina-Freaner, F., Nuñez-Farfán, J., Ovando-Medina, I., & Salvador-Figueroa, M. (2014). Genetic identification of *Theobroma cacao*. *Genetics and Molecular Research*, 13(4), 10404–10414. <https://doi.org/10.4238/2014.December.12.2>
- Velayutham, T., Rajamani, K., Senthil, N., Shoba, N., & Joel, A. J. (2013). Genetic diversity in cocoa (*Theobroma cacao* L.) plus trees in Tamil Nadu by simple sequence repeat (SSR) markers. *African Journal of Biotechnology*, 12(30), 4747–4753. <https://doi.org/10.5897/AJB2013.12423>
- Zarrillo, S., Gaikwad, N., Lanaud, C., Powis, T., Viot, C., Lesur, I., Fouet, O., Argout, X., Guichoux, E., Salin, F., Solorzano, R. L., Bouchez, O., Vignes, H., Severts, P., Hurtado, J., Yopez, A., Grivetti, L., Blake, M., & Valdez, F. (2018). The use and domestication of *Theobroma cacao* during the mid-Holocene in the upper Amazon. *Nature Ecology & Evolution*, 2(12), 1879–1888. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0697-x>
- Zequeira, C., & Beauregard, G. (2024). *El cacao tabasqueño: de los Olmecas a nuestro tiempo* (C. Zequeira & G. Beauregard, Eds.; Primera edición, Vol. 1). Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. <https://shorturl.at/yfOY>
- Zhang, D., Arevalo-Gardini, E., Mishke, S., Zúñiga-Cernades, L., Barreto-Chavez, A., & Adriazola-Del Aguila, J. (2006). Genetic diversity and structure of managed and semi-natural populations of cocoa (*Theobroma cacao*) in the Huallaga and Ucayali valleys of Peru. *Annals of Botany*, 98(3), 647–655. <https://doi.org/10.1093/aob/mcl146>