



Cultivos Nativos de Guatemala y Bioseguridad del Uso de Organismos Vivos Modificados

Cacao (*Theobroma cacao*)





CONSEJO NACIONAL DE AREAS PROTEGIDAS -CONAP-

DOCUMENTO ELABORADO POR EL CONSEJO NACIONAL DE ÁREAS PROTEGIDAS

CULTIVOS NATIVOS DE GUATEMALA Y BIOSEGURIDAD DEL USO DE ORGANISMOS VIVOS MODIFICADOS

El presente documento es producto del proyecto "Desarrollo de Mecanismos para Fortalecer la implementación del Protocolo de Cartagena en Guatemala" Proyecto UNEP-GEF GFL 2328-2716 4B43, ejecutado por el Consejo Nacional de Áreas Protegidas -CONAP-, a través de la Oficina Técnica de biodiversidad -OTECBIO-, y financiado por el Fondo Mundial para el Medio Ambiente (GEF, por sus siglas en inglés) y el Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA-UNEP).

Publicación patrocinada gracias al apoyo de GEF-UNEP

Documento elaborado por el proyecto: "Desarrollo de Mecanismos para Fortalecer la implementación del Protocolo de Cartagena en Guatemala", OTECBIO

Dr. César Azurdia

Licda. Mariana del Cid

Licda. Mónica Barillas

Lic. Msc. José Luis Echeverría

Autor

Dr. César Azurdia

Coordinador

Dr. César Azurdia

Elaboración de mapas:

Ing. Kenset Rosales

Edición

Licda. Azucena Caremina Barrios Orozco

Diseño y diagramación

Licda. Ana Lucía Barrios Girón

Licda. Paula González de Aguilar

Se sugiere citar el documento de la siguiente manera:

Azurdia, C. 2014. Cultivos Nativos de Guatemala y Bioseguridad del Uso de Organismos Vivos Modificados. Cacao (*Theobroma cacao*). Consejo Nacional de Áreas Protegidas. Documento Técnico No. 5-2014. 29 p.

Consejo Nacional de Áreas Protegidas -CONAP-

5a. Av. 6-06 zona 1, Edificio IPM, 5to, 6to, y 7mo. nivel

PBX (502) 24226700

FAX (502) 22534141

www.conap.gov.gt


[www.chmguatemala.gov.gt/página especializada en Diversidad Biológica](http://www.chmguatemala.gov.gt/página_especializada_en_Diversidad_Biológica)

[www.bchguatemala.gov.gt/página especializada en Biotecnología Moderna](http://www.bchguatemala.gov.gt/página_especializada_en_Biotecnología_Moderna)



Oficina Técnica de Biodiversidad/otecbio@conap.gov.gt

Esta publicación se realiza de acuerdo al normativo de propiedad intelectual de CONAP, aprobado por el Consejo Nacional de Áreas Protegidas con fecha 28 de agosto del 2013.



CULTIVOS NATIVOS DE GUATEMALA Y BIOSEGURIDAD DEL USO DE ORGANISMOS VIVOS MODIFICADOS

La colección de módulos de “Cultivos nativos de Guatemala y bioseguridad del uso de organismos vivos modificados” es producto del proyecto “Desarrollo de Mecanismos para Fortalecer la Implementación del Protocolo de Cartagena en Guatemala” GFL 2328-2716 4B43 implementado por el Consejo Nacional de Áreas Protegidas a través de la Oficina Técnica de Biodiversidad –OTECBIO–, financiado por el Fondo Mundial de Medio Ambiente –GEF–, por sus siglas en inglés y el Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente, PNUMA-UNEP.

PROYECTO UNEP-GEF GFL 2328-2716 4B43







Presentación

El Consejo Nacional de Áreas Protegidas –CONAP– es el ente gubernamental responsable de la conservación y uso sostenible de la diversidad biológica en todo el territorio nacional de Guatemala, responsabilidad otorgada en la Ley de Áreas Protegidas y su Reglamento, asimismo el Decreto 5-95 a través del cual el país se adhiere como Estado parte del Convenio de Diversidad Biológica - CDB-. De la misma manera, el Protocolo de Cartagena Sobre la Seguridad de la Biotecnología –PC- es parte del CDB y fue ratificado por Guatemala por medio del Decreto 44-203, siendo su objetivo “Contribuir a garantizar un nivel adecuado de protección en la esfera de la transferencia, manipulación y utilización seguras de los organismos vivos modificados resultantes de la biotecnología moderna que puedan tener efectos adversos para la conservación y la utilización sostenible de la diversidad biológica, teniendo también en cuenta los riesgos para la salud humana”.

El artículo 15 del PC mandata el desarrollo de análisis de riesgo previo a la introducción de organismos vivos modificados, haciendo énfasis en que el mismo debe de desarrollarse con base científica. Guatemala es uno de los ocho centros de origen y diversidad de plantas cultivadas, dentro de las cuales se encuentran especies de importancia alimenticia mundial como el maíz, frijoles, yuca, camote, entre otros. Se reconoce que dentro de los cultivos nativos de Guatemala así como de sus parientes silvestres se presenta alta diversidad genética, la cual ha servido de base para el mejoramiento de dichos cultivos.

Debido al desarrollo de variedades genéticamente modificadas de los cultivos con mayor impacto en la agricultura mundial, varios de los cuales tienen su centro de origen y diversidad en Guatemala, es necesario contar con línea base para apoyar el análisis de riesgo previo a la introducción de dichas variedades al territorio nacional. El programa “Desarrollo de Mecanismos para Fortalecer la Implementación del Protocolo de Cartagena en Guatemala” conducido por el CONAP, dentro de sus productos ha desarrollado los módulos de “Cultivos Nativos de Guatemala y Bioseguridad del Uso de Organismos Vivos Modificados”, como una herramienta de apoyo a los tomadores de decisiones para dar respuesta a aquellas solicitudes de uso de organismos vivos modificados que se planteen en el futuro inmediato.

La información contenida en los módulos indicados representa el esfuerzo conjunto de investigadores nacionales e internacionales que constituye la línea base actual sobre la cual se deberá fundamentar el análisis de riesgo basado en ciencia, tal como el PC lo mandata.

Ing. Manuel Benedito Lucas López
Secretaría Ejecutiva



5.Ave. 8-06 Zona 1 Edificio IPM, PBX. (502) 2422-6700 Consejo Nacional de Áreas Protegidas - CONAP -

www.guatemala.gob.gt



Índice

▶ Presentación General	10
▶ Introducción	12
▶ Origen del cacao	13
▶ Especies de cacao en Guatemala	14
▶ Theobroma bicolor	15
▶ Theobroma cacao	17
▶ Relaciones filogenéticas	23
▶ Polinización	25
▶ Flujo genético	26
▶ Desarrollo de tecnología GM	26
▶ Conclusiones y reflexiones	27
▶ Bibliografía	28




PRESENTACIÓN GENERAL

El Consejo Nacional de Áreas Protegidas (CONAP), es el ente gubernamental responsable de la conservación y uso sostenible de la Diversidad Biológica en todo el territorio nacional de Guatemala, descrito en la Ley de Áreas Protegidas y su Reglamento (Decreto 4-89). Así mismo, el Decreto legislativo 5-95 que refiere a la adhesión de Guatemala como Estado-parte ante la Convención de Diversidad Biológica (CDB), siendo el CONAP el punto focal responsable de darle seguimiento. De igual manera, el Protocolo de Cartagena sobre Seguridad de la Biotecnología (PC) del CDB ha sido firmado y ratificado por Guatemala, del cual, también el CONAP es el Punto Focal Nacional.

El objetivo del PC es contribuir a garantizar un nivel adecuado de protección en la esfera de la transferencia, manipulación y utilización seguras de los organismos vivos modificados resultantes de la biotecnología moderna que puedan tener efectos adversos para la conservación y la utilización sostenible de la diversidad biológica, teniendo en cuenta los riesgos para la salud humana.

Como parte de la implementación del Protocolo y con el apoyo de entidades internacionales como Global Environment Fund (GEF) y United Nations Environment Programme (UNEP) a través del proyecto: “Desarrollo de Mecanismos para Fortalecer la Implementación del Protocolo de Cartagena en Guatemala GFL-2328-2716-4B43, se presentan los módulos de “Cultivos nativos de Guatemala y bioseguridad del uso de organismos vivos modificados”, diseñado para tomadores de decisión, en instituciones involucradas directamente en la seguridad de la biotecnología como: el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación y el Ministerio de Ambiente y Recursos Naturales, entre otros. Así como también a estudiantes y profesionales con interés en esta disciplina.



Siendo Guatemala parte de uno de los ocho centros de origen y diversidad de plantas cultivadas, se espera que en su territorio se encuentre alta diversidad genética en aquellos cultivos nativos así como en sus parientes silvestres más cercanos. Esta riqueza es única y debe conservarse y utilizarse sosteniblemente para beneficio de la sociedad guatemalteca y del mundo. En los momentos actuales cuando el desarrollo de la biotecnología moderna ha conducido a la creación de organismos vivos modificados, como una nueva alternativa tecnológica con el propósito de incrementar la disponibilidad de alimento a través de la agricultura; así como para otros fines que vienen a mejorar el nivel de vida del ser humano, es necesario considerar los posibles efectos negativos que el uso de dichos cultivos pudieran tener sobre la agrobiodiversidad. Para llegar a establecer dicha posibilidad es necesario desarrollar análisis de riesgo ambiental, el cual deberá estar basado en evidencia científica. De esta manera, la línea base mínima requerida comprende aspectos tales como presencia y distribución de especies silvestres emparentadas, diversidad de las especies cultivadas nativas, aspectos biológicos como floración, polinización, flujo genético, hibridación, capacidad invasiva, entre otros. Además, se debe incluir el desarrollo actual de la biotecnología que genera cultivos genéticamente modificados y el uso actual de los mismos en las regiones aledañas a Guatemala.

Los presentes módulos contienen información básica de nueve cultivos de origen mesoamericano y uno asiático, pero con parientes silvestres en Guatemala, tratando de cubrir los temas fundamentales que apoyan el análisis de riesgo ambiental descritos con anterioridad. Se espera que sea de utilidad para aquellos funcionarios que tienen que realizar análisis de riesgo ambiental, previo a la toma de decisiones relativa al uso seguro de aquellos cultivos nativos de Guatemala modificados genéticamente a través del uso de la biotecnología moderna.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de cacao es importante a nivel mundial debido a su amplia utilización en la elaboración de chocolate. Los países más productores son los africanos Costa de Marfil y Ghana. Asia, Indonesia y Malasia son productores con una producción notable y creciente, mientras que la incidencia de América del Sur en la producción mundial que ha caído en las últimas décadas es inferior al 20%.

De acuerdo con datos del INE (2008), citado por Avalos *et al.* (2012), en Guatemala se cultivan alrededor de 2,709 hectáreas, con una producción de 1,136 toneladas métricas; siendo los departamentos con mayor número de fincas y mayor producción Alta Verapaz y San Marcos. Estos datos indican que la producción guatemalteca en el nivel centroamericano y mundial es relativamente baja. Sin embargo, en el país se reporta la existencia de cacao tipo criollo, el cual se considera que es el que produce chocolate de la mejor calidad, por lo que su precio internacional es más alto.

Dado el avance de la biotecnología, en la actualidad a nivel experimental ya se cuenta con cacao genéticamente modificado, el cual en el futuro podría ser una alternativa tecnológica para enfrentar principalmente los efectos de plagas y enfermedades. Por lo tanto, es necesario conocer aspectos del cacao nacional, tal como riqueza genética, especies silvestres, su distribución y potencial de flujo genético tanto entre materiales cultivados como silvestres. No hay que olvidar que Guatemala se considera como el centro de domesticación del cacao, por lo que se espera presencia de diversidad genética valiosa. Esta información es fundamental para orientar los análisis de riesgo que se requieren conducir previo a cualquier autorización de liberación al ambiente de cacao GM cuando el caso se presente.

ORIGEN DEL CACAO

El origen del cacao ha sido motivo de controversia ya que se plantean varios escenarios. La teoría más aceptada es que el cacao se originó en América del Sur y luego fue introducido a Centroamérica. Sin embargo, también existen científicos que han propuesto que el cacao silvestre alcanzó hasta el sur de México y que a partir de estas poblaciones los antiguos Mayas domesticaron el cacao que se conoce actualmente como variedad “criollo”, mientras que a partir de las poblaciones silvestres de Sudamérica evolucionó la variedad “forastero”. La tercera variedad que se conoce (“trinitario”) se ha considerado como el resultado del cruce entre las variedades criollas y forasteras.

Algunos estudios soportan el posible origen del cacao en Mesoamérica. Por ejemplo, Cruz *et al.* (1995) y Whitkus *et al.* (1998), utilizando marcadores moleculares, mostraron que los materiales mexicanos de la Sierra del Lacandón en Chiapas, considerados como silvestres, y algunos materiales cultivados en Yucatán se diferencian de otros materiales suramericanos pertenecientes a las tres variedades cultivadas mencionadas, así como a materiales silvestres. Sin embargo, un estudio posterior (Motamayor y Lanaud, 2002) utilizando una combinación de marcadores moleculares con expresión codominante (RFLPs y microsatélites) mostró que los silvestres y llamados criollos de Mesoamérica tienen poca diversidad genética y no se pueden diferenciar entre ellos. Además, el grupo de criollos no se separa de los materiales de origen suramericano. Por lo tanto, sugieren que el centro de origen del cacao es Sudamérica, de donde se movió una pequeña parte para Mesoamérica. En esta región se originaron algunas mutaciones responsables de las características del fruto, las cuales fueron seleccionadas por los agricultores dando origen a la alta diversidad morfológica existente en la actualidad en dicha región. En este sentido, las poblaciones de cacao llamadas silvestres en Mesoamérica no pueden ser más que poblaciones remanentes de los materiales cultivados por los Mayas.

Más recientemente, Thomas *et al.* (2012) reconfirmaron que el origen del cacao es Sudamérica, ya que la diversidad genética más grande fue observada en las áreas que conforman la parte superior del Amazonas desde el sur de Perú hasta el Amazonas ecuatoriano y las áreas borde entre Colombia, Perú y Brasil.

ESPECIES DE CACAO EN GUATEMALA



Pataxte (*Theobroma bicolor*)

Crédito: M. Hermann



Cacao (*Theobroma cacao*)

Crédito: www.montosogardens.com



Pataxte (*Theobroma bicolor*)

Crédito: www.gregneise.fatcow.com



Cacao (*Theobroma cacao*)

Crédito: www.naturfoto.ez

PATAXTE

(Theobroma bicolor)

El *T. bicolor* o pataxte es poco conocido y se cultiva en huertos familiares de la costa sur de Guatemala así como en huertos familiares y dentro de áreas sembradas con pastizales en el norte de Alta Verapaz. Se utiliza para consumir el mucílago de la semilla en estado fresco y algunas veces se elabora chocolate con sus semillas tostadas.

Encontrado aparentemente en estado silvestre en bosques húmedos densos en el departamento de Huehuetenango (Standley y Steyermark, 1946).



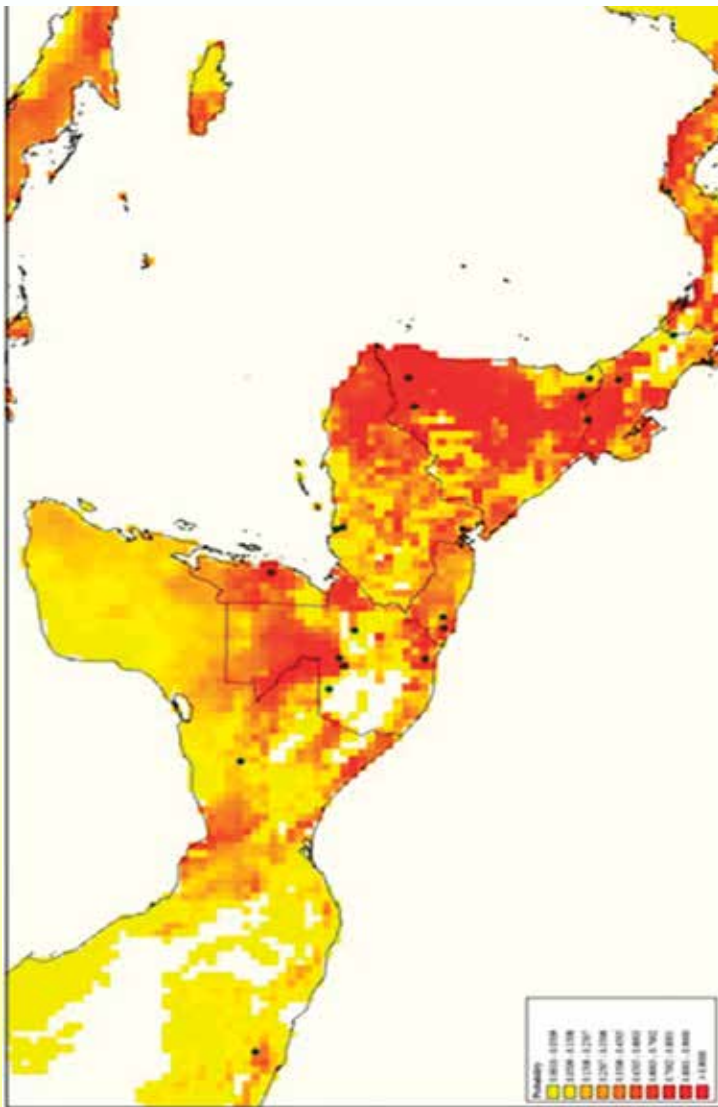
Crédito: www.3.bp.blogspot.com



Crédito: M. Hermann



Distribución potencial de *Theobroma bicolor* en Mesoamérica



Crédito: C. Azurdia

CACAO (*Theobroma cacao*)

Existen diferentes reportes indicando la presencia de cacao silvestre en Guatemala. Sin embargo, análisis moleculares han mostrado que posiblemente sean remanentes de los materiales que cultivaron los Mayas (Motamayor y Lanaud, 2002). En el trabajo conducido por Azurdía *et al.* (2011) se reporta su distribución tanto en la costa sur como en el norte del país. Así mismo, la exploración conducida por Rivera en 1986 confirman estos resultados.

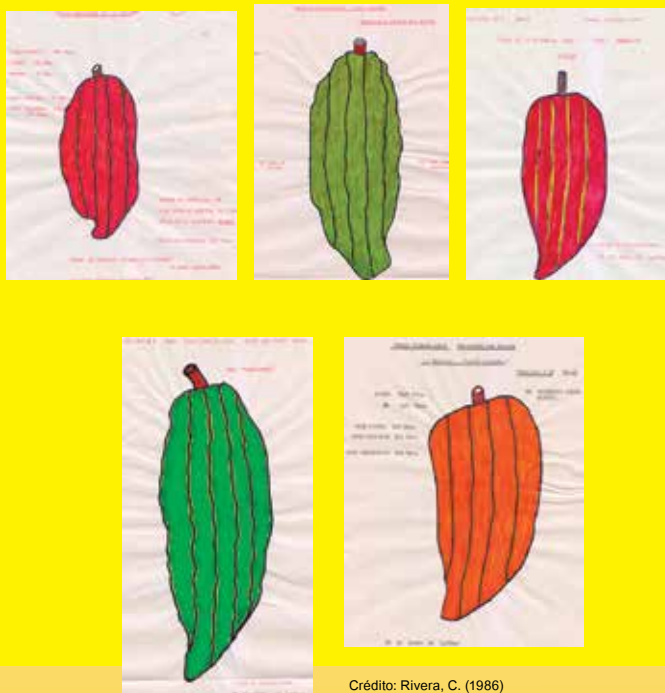
Estudios más recientes desarrollados por Otzoy (2013) conducen a resultados similares. En general, estas poblaciones de cacao se encuentran dentro de áreas boscosas o bien forman parte de plantaciones comerciales de cacao, plantadas principalmente con variedades introducidas de cacao híbrido.

La Universidad del Valle de Guatemala realizó un trabajo de caracterización de cacao criollo y mejorado de la costa sur de Guatemala (Avalos *et al.*, 2012). Se reporta información de tipo agronómica, botánica y molecular.

CACAO CRIOLLO SILVESTRE

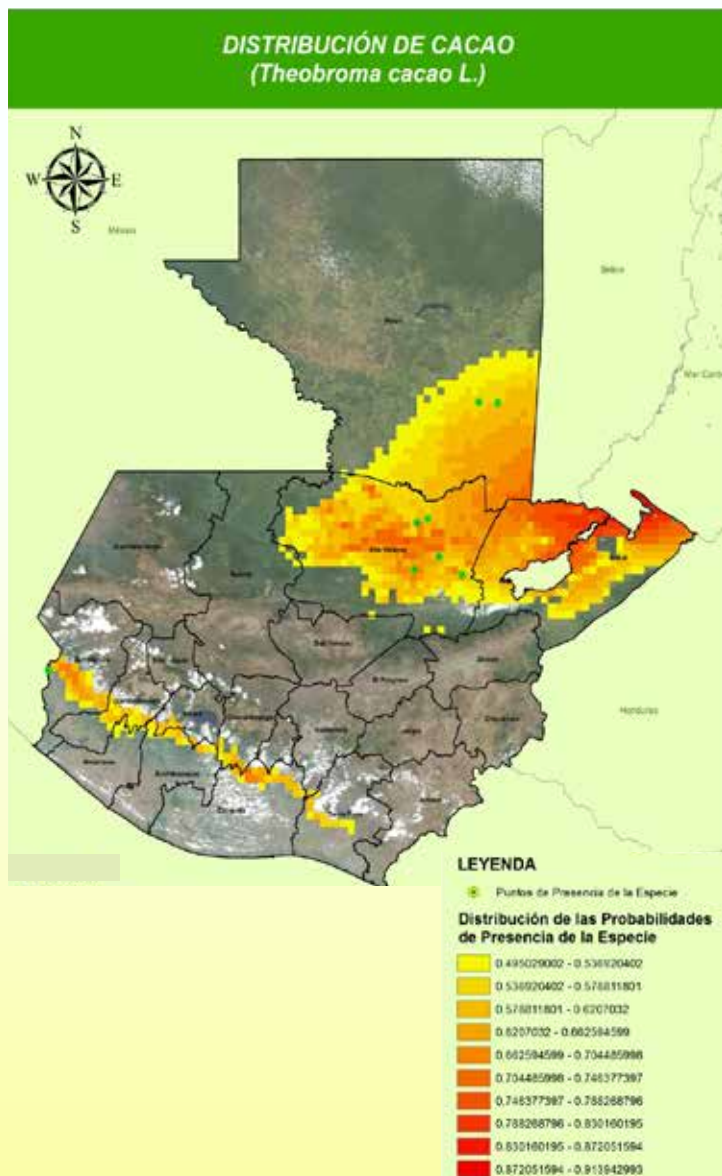
Rivera (1986) realizó una expedición de colecta de cacao criollo silvestre en el sur y norte de Guatemala. Los pocos materiales reportados se muestran con dibujos de sus respectivos frutos y con sus datos de proveniencia se elaboró un mapa de distribución potencial, el cual es muy similar al elaborado con otros datos de recolección reportados por Azurdía *et al.* (2011). Rivera (1986) concluye que sí existen materiales de cacao criollo en Guatemala, pero que debido a la destrucción de bosques y el crecimiento de la frontera agrícola y ganadera este recurso está en proceso de erosión genética.

Dibujos originales representando cacaos criollos (silvestres) recolectados en el norte y sur occidente de Guatemala.



Crédito: Rivera, C. (1986)

Distribución de cacao silvestre elaborado con base a datos reportados por Rivera (1986)



RECOLECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE CACAO CRIOLLO (OTZOY, 2013)

La búsqueda se centró en los departamentos de Petén, Alta Verapaz, Suchitupéquez, Quiché e Izabal, para hacer una caracterización agromorfológica, botánica y molecular de este tipo de cacao y empezar el establecimiento de un jardín clonal.

Se encontraron 12 matas: una en Petén, dos en Alta Verapaz, tres en Izabal y seis en Suchitupéquez; ninguna en Quiché. A través de análisis molecular se identificaron tres grupos de variabilidad genética entre las distintas regiones del norte y la Costa Sur.

CARACTERIZACIÓN DE CACAO CRIOLLO Y VARIEDADES MEJORADAS (AVALOS ET AL. 2012)

Tabla 1. Información de las muestras de cacao recolectadas. Las muestras pertenecen a un jardín clonal ubicado en Santa Cruz Muluá, Retalhuleu (14.5833N, -91.6167W, 397msnm).

Clon	Largo fruto cm	Ancho fruto cm	Grosor cascara cm	Peso fruto g	Peso semillas g	Color semilla	Tamaño semilla. cm	Número semillas
22P	16	8	0.7	233	21.18	Blancas y violeta	Grande	11
30R	21	7	0.5	289	13.14	Violeta	Grande	22
SGU 2	21	8	0.7	400	20.00	Violeta	Grandes	19
UF221	16	8	0.3	256	9.14	Violeta	Grandes	28
SGU 5	16	8	0.4	236	5.76	Violetas y blancas	Medianas	41
Mezcla	20	10	0.5	553	5.90	blancuzcas	Medianas	40
UF 650	20	9	0.8	505	12.95	Violeta	Grandes	39
San Antonio	22	10	0.5	575	33.82	Violeta blancuzca	Medianas	17
15R	20	8	0.5	432	13.94	Blancuzca y violeta	Grandes	31
8P	17	8	0.7	376	12.96	Blancas	Medianas	29
24R	21	9	1.7	450	15.00	Blancuzcas y violetas	Grandes	30

VARIETADES MEJORADAS

(AVALOS ET AL. 2012)

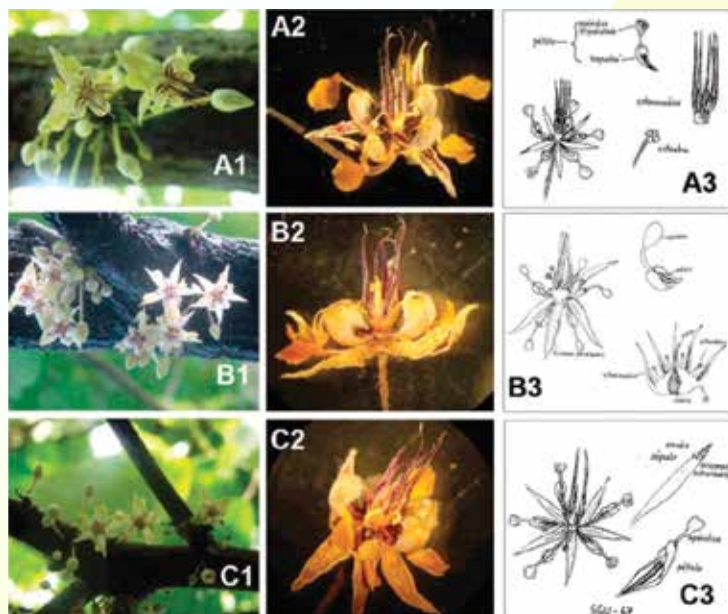
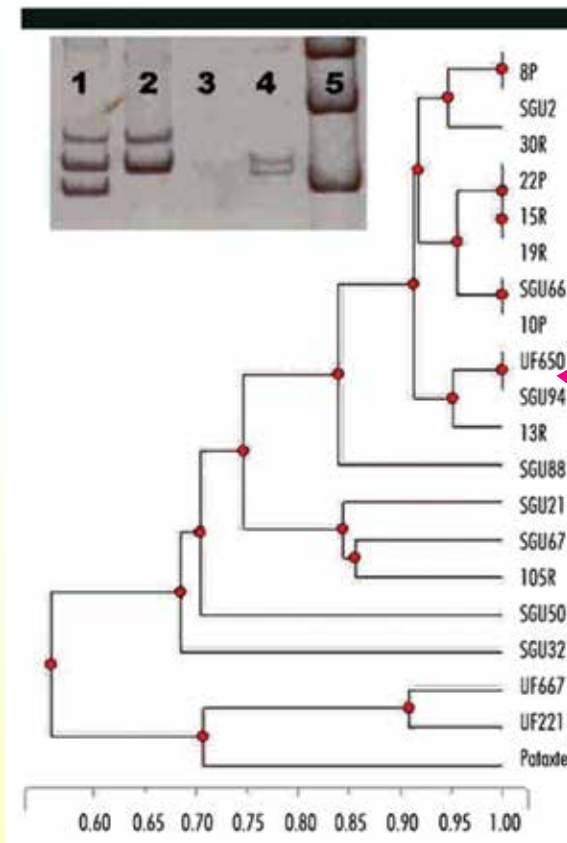


Figura 1. Caracterización botánica.

- A) Cacao "criollo", 22P
 - B) Cacao de alta producción, SGU2
 - C) Cacao de alta producción, SGU67.
- 1: fotografía en campo
2: micrografía
3: dibujo botánico.

RELACIONES FILOGENÉTICAS



Theobroma cacao
Crédito: www.upload.wikimedia.org



Theobroma bicolor
Crédito: www.toptropicals.com

Fuente: Avalos et al. (2012)

POLINIZACIÓN

Las flores de cacao son hermafroditas, en plantas silvestres están agrupadas en ramas delgadas y en la copa de los árboles, mientras que en variedades cultivadas se forman grupos de inflorescencias a lo largo del tallo, por lo que son más abundantes. La dehiscencia de las anteras ocurre entre las 6 y 9 de la mañana, siendo el pistilo receptivo en toda su longitud. Se ha comprobado que en flores autocompatibles la receptibilidad es buena desde la apertura de la flor hasta el atardecer del mismo día; sin embargo, esta se va perdiendo después de este período.

La polinización se realiza especialmente por acción de insectos, siendo el grupo más importante el de la familia Ceratoponidae, conociéndose en el mundo un poco más de 75 especies pertenecientes a 10 géneros, el más importante *Forcipomyia*.

Otro grupo importante de especies son de la familia Cecidomyiidae, así mismo, se cree que algunas meliponas son importantes (Free, 1993).

Estudios más recientes confirman que la mayor actividad de polinización por parte de miembros de la familia Ceratoponidae se da entre las 7 y 12 de la mañana (Frimpong *et al.* 2009).



Crédito: www.blog.soliditytrade.com

FLUJO GENÉTICO

Poco se conoce sobre el flujo genético entre materiales cultivados y silvestres de cacao. Un estudio reciente (Chumacero *et al.* 2013) reporta información importante. Se estudiaron materiales silvestres y cultivados de Bolivia a través de marcadores moleculares (microsatélites), llegándose a establecer que los materiales cultivados presentan mayor variabilidad que los silvestres (como ya se conocía); además, reportan que ambos tipos de cacao presentan alta tasa de cruzamiento, pero el análisis de paternidad reveló un 7-14% de autopolinización. A pesar del tamaño del polen, este fue transferido por polinizadores hasta una distancia de 3 km; en promedio, en el cacao silvestre se observó a 922 m, mientras que en el cultivado 826 m. Además, se observó que el 16-20% de eventos de polinización se llevan a cabo entre poblaciones cultivadas y silvestres. Entonces, se considera que las distancias de movimiento de polen son grandes (lo que no es común en árboles tropicales) y que el intercambio alto de polen puede comprometer la identidad genética de las poblaciones silvestres.

DESARROLLO DE TECNOLOGÍA GM

No se ha alcanzado éxito en la regeneración de nuevas plántulas por medio de cultivo de tejidos de aquellas células transformadas. Sin embargo, mediante la utilización de *Agrobacterium tumefaciens* se ha transformado embriones somáticos, los cuales producen plantas GM estables, expresando adecuadamente el gene transferido (Maximova *et al.* 2003; Maximova *et al.* 2006).

Maximova *et al.* (2006) reportan por primera vez la utilidad de un cacao GM con un gene quitinasa clase I para reducir los efectos de la enfermedad producida por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides*. Debido a la controversia existente sobre el uso de variedades GM no existen planes, por el momento, de liberar al ambiente este tipo de materiales genéticos en ningún país (Guiltinan, 2010).

Una revisión del BCH internacional (<http://bch.cbd.int/>) muestra que no hay reportes relacionados a análisis de riesgo o liberación de cacao GM.

CONCLUSIONES Y REFLEXIONES

- ▶ Se reporta la presencia de materiales de cacao en estado silvestre, sin embargo, no se tiene exactitud si realmente son silvestres o bien remanentes de los materiales cultivados por los Mayas.
- ▶ Guatemala es considerado como parte del centro de domesticación del cacao. Su centro de diversidad se encuentra en América del Sur.
- ▶ El cacao de origen guatemalteco corresponde a la variedad criollo, la cual es de mejor calidad comparada con las otras dos variedades existentes (forastero y trinitario).
- ▶ Otra especie presente en Guatemala es *Theobroma bicolor*, el conocido “pataxte”, el cual no tiene mucha importancia comercial.
- ▶ El cacao y el pataxte no son filogenéticamente cercanos, por lo cual la hibridación natural entre los mismos no parece llevarse a cabo.
- ▶ Actualmente se cuenta con la tecnología para la creación de cacao genéticamente modificado, habiéndose desarrollado algunos ensayos experimentales.
- ▶ Se conoce poco sobre la polinización y flujo genético entre las especies de cacao.
- ▶ Debido a la controversia en el uso de cacao GM, a la fecha no se reporta liberación de cacao GM en ningún país del mundo.
- ▶ El efecto devastador de las plagas y enfermedades en el cacao podría conducir en el futuro inmediato a la utilización de materiales genéticamente modificados para enfrentar dicha amenaza.
- ▶ Conociendo el alto valor biológico del cacao de origen guatemalteco, es necesario desarrollar un programa de conservación *ex situ e in situ* de este germoplasma.

BIBLIOGRAFÍA

- ▶ 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. *Revista 24 de la Universidad del Valle de Guatemala*. 100-104.
- ▶ Azurdia, C., Williams, K.A., Williams, D.E., Van Damme, V. Jarvis, A., and Castaño, S.E. 2011. *Guatemalan Atlas of Crop Wild Relatives*. Available at <http://www.ars.usda.gov/Services/docs.html?docid=22225> United States Department of Agriculture/Agricultural Research Service (USDA/ARS); Bioversity International; International Center for Tropical Agriculture (CIAT); and the University of San Carlos in Guatemala (FAUSAC).
- ▶ Chumacero, C., Durka, W., Tschardtke, T., Hensen, I., and 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.
- ▶ Cruz de la, M., Whitkus, R., Gómez-Pompa, A. and Mota-Bravo, L. 1995. Origins of cacao cultivation. *Nature* 375: 542-543.
- ▶ Gultinan, M.J. 2010. Cacao. In: Pua, E.C. and Davey, M.R. (eds.). *Transgenic crops V. Biotechnology in Agriculture and Forestry* 60. Edited by Nagata, T., Lorz, H. and Widholm, J.M. 497-518.
- ▶ Figueira, A., Janick, J., Levy, M., and Goldsbrough, P. 1994. Reexamining the classification of *Theobroma cacao* L. using molecular markers. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 119(5) 1073-1082.
- ▶ Free, J.B. 1993. *Insect pollination of Crops*. Academic Press, London, UK. 505-514.
- ▶ Frimpong, E.A., Gordon, I., Kwapon, K., and Gemmill-Herren, B. 2009. Dynamics of cocoa pollination: tools and application for surveying and monitoring cocoa pollinators. *International journal of Tropical Insect Science* 29 (2): 62-69.

BIBLIOGRAFÍA

- ▶ Maximova, S., Marelli, J.P., Young, A., Pishak, S., Verica, J.A. and Guiltinan, M.J. 2006. Over-expression of a cacao class I chitinase gene in *Theobroma cacao* L. enhances resistance against the pathogen, *Colletotrichum gloeosporioides*. *Planta* 224: 740–749
- ▶ Maximova, S., Miller, C., Antfflnez, G., Pishak, S., Young, A., and Guiltinan, M.J. 2003. Stable transformation of *Theobroma cacao* L. and influence of matrix attachment regions on GFP expression. *Plant Cell Rep* 21: 872-883.
- ▶ Motamayor, J.C. and Lanaud, C. 2002. Molecular analysis of the origin and domestication of *Theobroma cacao* L. En: J.M.M. Engels, V. Ramanatha Rao, A.H.D. Brown y M.T. Jackson (eds.). *Managing Plant Genetic Diversity*. GRST, IPGRI. 77-87.
- ▶ Otzoy, M. 2013. Al rescate del cacao criollo. *Revista D, Prensa Libre*. Edición 2/6/2013.
- ▶ Rivera, S. 1986. Informe de recolección de cacao. IBPGR.
- ▶ Standley, P.C. and Steyermark, J.A. 1946. *Flora of Guatemala*. Chicago. Natural History Museum, Fieldiana Botany. Vol. 24.
- ▶ Thomas, E., van Zonneveld, M., Loo, J., Hodgkin, T. and Galluzzi, G.. 2012. Present spatial diversity patterns of *Theobroma cacao* L. in the neotropics reflect genetic differentiation in pleistocene refugia followed by human-influence dispersal. *PLoS ONE* 7(10):e47676. doi:10.1371/journal.pone.0047676
- ▶ Whitkus, R., de la Cruz, M., Mota-Bravo, L. and Gómez-Pompa, A.G. 1998. Genetic diversity and relationships of cacao (*Theobroma cacao* L.) in southern Mexico. *Theor Appl Genet* 96: 621-627.