

P- 2025/7703

Señora

SUPERINTENDENTE DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Dirección de Nuevas Creaciones

E. S. D.

Superintendencia de Industria y Comercio



Radicado: NC2024/0015213 **Folios :** 33
Dependencia: 2020 **Fecha:** 20/03/2025 3:58:21
Tipo aplicación: Respuesta A Requerimiento

EXPEDIENTE NO: NC2024/0015213
TÍTULO: PÉPTIDO CON ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA
SOLICITANTE: CABOSSE NATURALS NV.
ASUNTO: SOLICITUD DE SUSPENSION O APLAZAMIENTO DEL TRÁMITE

CLARKE MODET & CO COLOMBIA SAS, por intermedio de **JULIANA GONZÁLEZ GUZMÁN**, mayor de edad, identificada con cédula de ciudadanía número 39.808.557, abogada en ejercicio portadora de la tarjeta profesional número 174.941, actuando como apoderada de la sociedad **CABOSSE NATURALS NV.**, en atención a su Oficio **Nº 20162** del 20 de noviembre de 2024, me permito dar alcance a la respuesta presentada el día de ayer, y presentar la siguiente información.

1. Solicitud de suspensión de trámite

Su despacho señala que la invención se refiere a un péptido derivado o aislado de la especie *Theobroma cacao* variedad CCN-51, e indica que la variedad CCN-51 se reporta como originaria de Ecuador, resultado del cruce entre las variedades IMC 67 (variedad de la región del Alto Amazonas en Perú), ICS 95 (variedad de Trinidad y Tobago) y Oriente 1 (variedad del Valle de los Canelos en la Amazonia ecuatoriana).

De esta manera, su Despacho solicita allegar el contrato de acceso correspondiente, de acuerdo con el literal h) artículo 26 de la Decisión 486.

Al respecto, el solicitante señala que la variedad de cacao CCN-51 fue desarrollada en Ecuador en la década de 1960 mediante mejora genética y ha estado disponible comercialmente fuera de la región andina desde hace décadas. Su resistencia a

enfermedades y alta productividad han favorecido su adopción en múltiples países productores de cacao, consolidando su presencia en mercados internacionales^{1,2}.

En este contexto, el solicitante desea enfatizar que, al iniciar sus investigaciones con esta variedad, asumió de buena fe que se trataba de una variedad obtenida por intervención humana y de fácil acceso comercial y, por lo tanto, desconocía la necesidad de contar con un contrato de acceso. En consecuencia, procedió con su investigación y presentó las solicitudes de patente relacionadas sin percatarse de este requisito legal.

No obstante, una vez tuvo conocimiento de esta obligación, ha actuado con diligencia para regularizar la situación. En este sentido, dado que, como lo señaló su despacho, el origen de esta variedad es Ecuador, el solicitante actualmente, se encuentra en proceso de gestión ante el Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica de dicho país para que se emita una comunicación en la que se indique que no es necesario el contrato de acceso.

Dado que no se cuenta aún con una respuesta a este trámite el cual depende de una autoridad extranjera, el solicitante respetuosamente pide considerar las disposiciones contenidas en las páginas 382 a 384 del Manual Andino para el Examen de Patentes con respecto a la suspensión del trámite de la solicitud, en donde se señala:

"Cada País Miembro de la CAN puede, de acuerdo con su práctica y legislación nacional, adoptar medidas de aplazamiento contemplados dentro de su legislación local, con la finalidad de no afectar negativamente la solicitud de patente por el requisito del contrato de acceso de RR.GG.

Ejemplos de medidas de aplazamiento

- *Suspensión de trámite de la solicitud de patente de invención*
- *Aceptación parcial de la aportación de una prueba de inicio de trámite de contrato de acceso, siempre que el solicitante manifieste un compromiso expreso de proporcionar la copia del contrato una vez obtenido ante la ANC.*

También será aceptable una comunicación de la ANC donde se indique que no es

¹ Boza, E. J., Motamayor, J. C., Amores, F. M., Cedeno-Amador, S., Tondo, C. L., Livingstone, D. S., ... & 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.

² Jaimez, R. E., Barragan, L., Fernández-Niño, M., Wessjohann, L. A., Cedeño-García, G., Cantos, I. S., & Arteaga, F. (2022). *Theobroma cacao* L. cultivar CCN 51: a comprehensive review on origin, genetics, sensory properties, production dynamics, and physiological aspects. *Peer J*, 10, e12676.

necesario el contrato de acceso por no caer dentro de las actividades del paso 5 o por tratarse de actividades que no configuran acceso a RR.GG.” (Páginas 382 y 383, énfasis añadido).

(...)

“El requisito del contrato de acceso no debe convertirse en una carga excesiva para el solicitante” (Página 384).

En vista de lo anterior, se solicita respetuosamente la suspensión o aplazamiento del trámite de la presente solicitud hasta tanto se obtenga respuesta del Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica de Ecuador. Esto con el fin de garantizar el cumplimiento del requisito sin que ello afecte negativamente la solicitud de patente.

ANEXOS

1. Poder otorgado a favor de **CLARKE MODET & CO COLOMBIA S.A.S** por parte de la sociedad **CABOSSE NATURALS NV.**
2. Certificado de existencia y representación legal de **CLARKE MODET & CO COLOMBIA S.A.**
3. Copia del documento: Boza, E. J., Motamayor, J. C., Amores, F. M., Cedeno-Amador, S., Tondo, C. L., Livingstone, D. S., ... & 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.
4. Copia del documento: Jaimez, R. E., Barragan, L., Fernández-Niño, M., Wessjohann, L. A., Cedeño-García, G., Cantos, I. S., & Arteaga, F. (2022). *Theobroma cacao* L. cultivar CCN 51: a comprehensive review on origin, genetics, sensory properties, production dynamics, and physiological aspects. *Peer J*, 10, e12676.

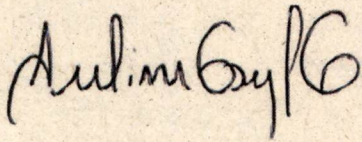
FUNDAMENTOS DE DERECHO

Fundamento lo expuesto en los Artículos 4, 29 y 61 de la Constitución Política de la República de Colombia de 1991; en los artículos 134, 135, 136 y siguientes de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, en las normas pertinentes de los Códigos de Procedimiento Administrativo y de lo Contencioso Administrativo (Ley 1437 de 2011), Código General del Proceso (Ley 1564 de 2012) Código de Comercio (Decreto Ley 410 de 1971) y demás normas conexas y complementarias que no se encuentren suspendidas por el Derecho Comunitario Andino.

NOTIFICACIONES

Para efectos de notificaciones manifiesto que estoy en disposición de recibir éstas en la secretaria de esa Dirección o en la Oficina de ClarkeModet ubicada en la Cra.11 No. 86-53 Piso 3, de la ciudad de Bogotá, y en el correo electrónico notificaciones@clarkemodet.com.co.

Señora Directora,

A handwritten signature in dark ink, appearing to read 'Juliana Guzmán' with a stylized flourish at the end.

JULIANA GONZÁLEZ GUZMÁN

C.C. 39.808.557 de Tabio, Cund.

T.P.A. 174.941

PODER

Yo (nosotros), abajo firmante(s) (el(la) "otorgante")

en mi (nuestro) carácter de representante(s) legales de

CABOSSE NATURALS NV

una sociedad organizada y existente de acuerdo con las leyes de

y en actual cumplimiento de su objeto social, con domicilio en **Brusselsesteenweg 450 1500 Halle, Bélgica**

por el presente instrumento confiero (conferimos) poder especial a favor de **CLARKE MODET & CO COLOMBIA S.A.S.**, una sociedad colombiana, con domicilio en la ciudad de Bogotá D.C., inscrita en el registro mercantil con matrícula número 03181546, y Número de Identificación Tributaria - NIT 830.008.643-3, cuyo objeto social es la prestación de servicios jurídicos, según se acredita mediante el certificado de existencia y representación legal expedido por la Cámara de Comercio de Bogotá para que - a través de sus Apoderados inscritos en la Cámara de Comercio de Bogotá- actúe en nombre del (de la) otorgante le (la) representen ante cualquier entidad, autoridad y/o persona, especialmente ante las del orden Administrativo, Contencioso Administrativo, Judicial, Tribunales de Arbitramento y/o cualquier otro en lo referente a los siguientes asuntos:

1) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar cualquiera de las modalidades de Propiedad Industrial, tales como: patentes de invención, modelos de utilidad; diseños industriales, variedades vegetales; marcas, lemas, nombres y enseñas comerciales y denominaciones de origen; así como sus renovaciones, prórrogas, transferencias, cambios de nombre y/o domicilio, contratos y licencias.

2) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar derechos de autor, en cualquiera de sus presentaciones, así como la protección de secretos industriales y know-how.

3) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar registros sanitarios, permisos y/o licencias de funcionamiento; así como sus renovaciones o prórrogas, transferencias, cambios de nombre y/o domicilio, contratos y licencias.

4) Ejercer acciones de oposición, observación, reclamos, reconsideración, reposición, apelación, cancelación administrativa o judicial, nulidad, protección al consumidor, concesión de licencias, protección de secretos industriales y demás acciones y recursos relacionados con derechos derivados de los asuntos arriba indicados y en contra de la competencia desleal, acciones derivadas de la obtención o explotación de licencias, acciones de indemnización de perjuicios. También podrá(n) intervenir en juicios civiles, comerciales, penales, contencioso-administrativos, tutelas y de policía; en acciones o juicios promovidos por el (la) mandante o en contra el (ella)

5) Registrar nombres de dominio ante la entidad competente.

6) Conciliar, cancelar, transigir, suscribir compromisos para someter a arbitraje cualquier controversia, participar en sorteos y/o designación de árbitros, desistir, recibir y tomar

POWER OF ATTORNEY

I (we), the undersigned (the "grantor")

legal representative(s) of

CABOSSE NATURALS NV

an organization existing under the laws of

and in present execution of its business activity, domiciled at **Brusselsesteenweg 450 1500 Halle, Belgium**

do hereby grant special POWER OF ATTORNEY to **CLARKE MODET & CO COLOMBIA S.A.S.**, a Colombian company, domiciled in Bogotá D.C., with commercial registration number 03181546, and tax identification number 830.008.643-3, which main economic activity is the provision of legal services, as evidenced by the certificate of existence and legal representation issued by the Bogotá Chamber of Commerce, so that -through its Representatives registered in the Bogotá Chamber of Commerce- act on behalf of the grantor before any entity, authority and/or natural or juridical person, especially before those Administrative, Administrative-Contentious, Judicial, arbitration courts, and/or any other, in all matters concerning the following:

1) To apply, process, obtain and/or register any of the modalities of Industrial Property, such as: Patents of Invention, Utility Models; Designs, plant varieties; Marks, Slogans, Trade Names and emblems and appellations of Origin; as well as their renewals, assignments, changes of name and/or domicile, agreements and licenses.

2) To apply, process, obtain and/or register copyrights of any kind as well as protection of industrial secrets or know-how.

3) To apply, process, obtain and/or register sanitary registrations, operating authorizations and/or licenses; as well as their renewals or assignments, changes of name and/or domicile, agreements and licenses.

4) To bring actions of opposition, observations, claims, reconsideration, appeal or legal remedies, cancellations, nullity, protection to the consumer, granting of licenses, protection of trade secrets and other actions related with rights derived from the above- mentioned matters and against the unfair competition, actions resulting from the obtaining or exploitation of licenses, recovering damages actions. They can also intervene or participate in Civil, Commercial, Criminal or Contentious-Administrative Trials; the actions for writ mandamus, police actions; in actions, lawsuits or litigations instituted by the grantor or against him.

5) To register domain names before the competent entity.

6) Conciliate, cancel, settle, submit to arbitration any controversy, participate in draws and/or appointment of arbitrators, withdraw and to receive and take possession of

posesión de la cosa objeto de litigio y renunciar o desistir a derechos concedidos o en curso de concesión, admitir los hechos del proceso.

7) Ratificar o no la agencia oficiosa.

8) Así mismo faculto (facultamos) a la mencionada apoderada para recibir notificaciones y designar apoderados judiciales o extrajudiciales, sustituir el presente poder y revocar las sustituciones que hicieren.

Dado y firmado en

a los días de 6 de marzo 2025

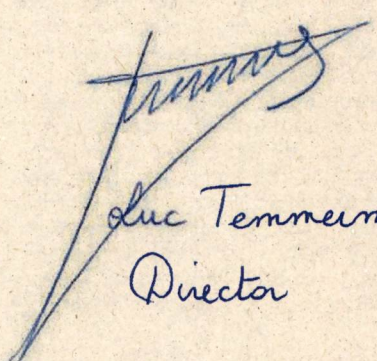
the litigation related objet and waive or renounce the rights granted or in process of granting, admit the facts of the case.

7) To ratify or not the officious agency.

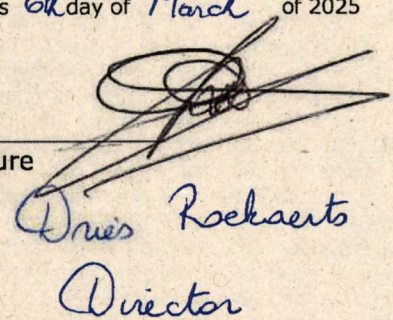
8) I (we) hereby appoint the afore mentioned attorney with powers to receive notifications and to designate judicial and extrajudicial attorneys, substitute this Power of Attorney and to revoke such substitutions.

Granted and signed at

on this 6th day of March of 2025


Luc Temmerman
Director

Firma / Signature
ID:


Dries Roekaerts
Director

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACIÓN LEGAL

Fecha Expedición: 4 de marzo de 2025 Hora: 10:33:18
Recibo No. AA25298162
Valor: \$ 11,600

CÓDIGO DE VERIFICACIÓN A25298162ED9C4

Verifique el contenido y confiabilidad de este certificado, ingresando a www.ccb.org.co/certificados/electronicos y digite el respectivo código, para que visualice la imagen generada al momento de su expedición. La verificación se puede realizar de manera ilimitada, durante 60 días calendario contados a partir de la fecha de su expedición.

CON FUNDAMENTO EN LA MATRÍCULA E INSCRIPCIONES EFECTUADAS EN EL
REGISTRO MERCANTIL, LA CÁMARA DE COMERCIO CERTIFICA:

NOMBRE, IDENTIFICACIÓN Y DOMICILIO

Razón social: CLARKE MODET & CO COLOMBIA S.A.S
Nit: 830.008.643-3
Domicilio principal: Bogotá D.C.

MATRÍCULA

Matrícula No. 03181546
Fecha de matrícula: 18 de octubre de 2019
Último año renovado: 2024
Fecha de renovación: 21 de marzo de 2024
Grupo NIIF: Grupo II.

UBICACIÓN

Dirección del domicilio principal: Cra 11 No. 86 53 Pis 3
Municipio: Bogotá D.C.
Correo electrónico: info@clarkemodet.com.co
Teléfono comercial 1: 6181088
Teléfono comercial 2: No reportó.
Teléfono comercial 3: No reportó.

Dirección para notificación judicial: Cra 11 No. 86 53 Pis 3
Municipio: Bogotá D.C.
Correo electrónico de notificación: info@clarkemodet.com.co
Teléfono para notificación 1: 6181088
Teléfono para notificación 2: No reportó.
Teléfono para notificación 3: No reportó.

La persona jurídica SI autorizó para recibir notificaciones personales a través de correo electrónico, de conformidad con lo establecido en los artículos 291 del Código General del Procesos y 67 del Código de Procedimiento Administrativo y de lo Contencioso Administrativo.

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACIÓN LEGAL

Fecha Expedición: 4 de marzo de 2025 Hora: 10:33:18

Recibo No. AA25298162

Valor: \$ 11,600

CÓDIGO DE VERIFICACIÓN A25298162ED9C4

Verifique el contenido y confiabilidad de este certificado, ingresando a www.ccb.org.co/certificados/electronicos y digite el respectivo código, para que visualice la imagen generada al momento de su expedición. La verificación se puede realizar de manera ilimitada, durante 60 días calendario contados a partir de la fecha de su expedición.

CONSTITUCIÓN

Por Escritura Pública No. 0002947 del 4 de septiembre de 1995 de Notaría 32 de Bogotá D.C., inscrito en esta Cámara de Comercio el 13 de septiembre de 1995, con el No. 00006121 del Libro XIII, se constituyó la sociedad de naturaleza Comercial denominada CLARKE MODET & CO COLOMBIA S.A.S.

REFORMAS ESPECIALES

Por Acta No. 55 de la Junta de Socios del 18 de junio de 2019, inscrita el 18 de octubre de 2019 bajo el Número 02516696 del Libro IX, la sociedad de la referencia cambió su nombre de: CLARKE MODET & CO COLOMBIA LTDA, por el de: CLARKE MODET & CO COLOMBIA S.A.S.

Por Acta No. 55 de la Junta de Socios del 18 de junio de 2019, inscrita el 18 de octubre de 2019 bajo el Número 02516696 del Libro IX, la sociedad de la referencia se transformó de Sociedad Limitada a Sociedad por Acciones Simplificada bajo el nombre de: CLARKE MODET & CO COLOMBIA S.A.S

Por Acta No. 55 de la Junta de Socios del 18 de junio de 2019, inscrita el 18 de octubre de 2019 bajo el Número 02516696 del Libro IX, la sociedad de la referencia cambió su naturaleza de civil a comercial.

TÉRMINO DE DURACIÓN

La persona jurídica no se encuentra disuelta y su duración es indefinida.

OBJETO SOCIAL

La sociedad tendrá como objeto social principal las siguientes actividades: 2.1. La identificación, fomento, estrategia, obtención, registro, realización, tramitación, mantenimiento, seguimiento, negociación, comercialización, explotación, defensa, gestiones

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACIÓN LEGAL

Fecha Expedición: 4 de marzo de 2025 Hora: 10:33:18

Recibo No. AA25298162

Valor: \$ 11,600

CÓDIGO DE VERIFICACIÓN A25298162ED9C4

Verifique el contenido y confiabilidad de este certificado, ingresando a www.ccb.org.co/certificados/electronicos y digite el respectivo código, para que visualice la imagen generada al momento de su expedición. La verificación se puede realizar de manera ilimitada, durante 60 días calendario contados a partir de la fecha de su expedición.

tributarias de todo tipo de servicios, así como sus incidencias, relacionados con la propiedad industrial e intelectual o con derechos conexos tales como dominios, know-how, secreto industrial, variedades vegetales, topografía de semiconductores, registros sanitarios, fitosanitarios, y cosméticos, registros de especialidades farmacéuticas y veterinarias, antipiratería, competencia desleal, publicidad, diseños industriales y otros servicios relacionados, cualquiera que sea su naturaleza y modalidad, cuenten con registro formal o de otra índole o no, tanto en Colombia como en el extranjero; 2.2. El registro, análisis e implantación de un sistema de control, definición de procesos, auditorías de estado, mantenimiento y adecuación a la legislación, establecimiento de políticas, explotación, identificación, y suministro, así como cualesquiera servicios de naturaleza similar, relativo a los datos (tanto de carácter personal como de cualquiera otra índole), nuevas tecnologías, sociedad de la información y del conocimiento, comercio electrónico y seguridad de la información; 2.3. La realización de consultorías, valoraciones, monetización, cursos y formación, asesoramiento, estudios, investigaciones, publicaciones, creación de políticas y sistemas de gestión, prestación y realización de soluciones tecnológicas (tales como informáticas, robóticas, de inteligencia artificial, realidad virtual, entre otras), así como la prestación de cualquier otro servicio en relación con lo anterior, tanto en Colombia como en el extranjero; quedan especialmente excluidas todas aquellas actividades para cuyo ejercicio la ley exija requisitos especiales o autorizaciones especiales que no queden cumplidos por esta sociedad. Las actividades comprendidas en el objeto social podrán ser desarrolladas por la sociedad, total o parcialmente, de modo indirecto, mediante la titularidad de acciones o de participaciones en otras sociedades con objeto idéntico o análogo, a cuyo fin la sociedad podrá adquirir cualquier título, administrar o disponer de acciones y otros títulos en otras sociedades asimismo, la sociedad podrá utilizar los profesionales que se requieran, incluidos agentes de la propiedad industrial, para el desarrollo de sus actividades en desarrollo del objeto antes enunciado, la sociedad podrá llevar a cabo, en general, todas las operaciones, de cualquier naturaleza que fueren relacionadas con el objeto mencionado, así como cualesquiera actividades similares, conexas o complementarias, o que permitan facilitar o desarrollar el comercio o la industria de la sociedad.

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACIÓN LEGAL

Fecha Expedición: 4 de marzo de 2025 Hora: 10:33:18

Recibo No. AA25298162

Valor: \$ 11,600

CÓDIGO DE VERIFICACIÓN A25298162ED9C4

Verifique el contenido y confiabilidad de este certificado, ingresando a www.ccb.org.co/certificados/electronicos y digite el respectivo código, para que visualice la imagen generada al momento de su expedición. La verificación se puede realizar de manera ilimitada, durante 60 días calendario contados a partir de la fecha de su expedición.

CAPITAL*** CAPITAL AUTORIZADO ***

Valor : \$89.540.800,00
No. de acciones : 89.540.800,00
Valor nominal : \$1,00

*** CAPITAL SUSCRITO ***

Valor : \$89.540.800,00
No. de acciones : 89.540.800,00
Valor nominal : \$1,00

*** CAPITAL PAGADO ***

Valor : \$89.540.800,00
No. de acciones : 89.540.800,00
Valor nominal : \$1,00

REPRESENTACIÓN LEGAL

La representación legal de la sociedad estará a cargo de una persona natural o jurídica, accionista o no, y su suplente, designado por la Asamblea General de Accionistas.

FACULTADES Y LIMITACIONES DEL REPRESENTANTE LEGAL

La sociedad será gerenciada, administrada y representada legalmente ante terceros por el Representante Legal, quien contará con las facultades que más adelante se describen, las cuales ejercerá de conformidad con las siguientes reglas. (A) Las marcadas como "sin límite" podrán ser ejercitadas por el Representante Legal, de manera individual, sin límite alguno de cantidad. (B) El resto de las facultades, es decir, las marcadas como "limitadas" podrán ser ejercitadas de la siguiente manera: (I) Hasta 80.000 euros (o su equivalente en pesos colombianos) de manera individual por el Representante Legal; (II) Por encima de 80.000 euros (o su equivalente en pesos colombianos) necesitará la aprobación de la Asamblea de Accionistas. 28.1. Administración y gestión. 28.1.1.

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACIÓN LEGAL

Fecha Expedición: 4 de marzo de 2025 Hora: 10:33:18

Recibo No. AA25298162

Valor: \$ 11,600

CÓDIGO DE VERIFICACIÓN A25298162ED9C4

Verifique el contenido y confiabilidad de este certificado, ingresando a www.ccb.org.co/certificados/electronicos y digite el respectivo código, para que visualice la imagen generada al momento de su expedición. La verificación se puede realizar de manera ilimitada, durante 60 días calendario contados a partir de la fecha de su expedición.

Hacerse cargo de la administración general de la sociedad y, a tal efecto, gestionar sus asuntos corporativos y de negocio, ostentar su representación legal y firmar cualquier documento en relación con asuntos que estén dentro de las actividades a desarrollar por la sociedad (limitado); 28.1.2. Representar a la sociedad ante toda clase de entidades, autoridades, personas individuales o jurídicas, tanto judicial como extrajudicialmente, pudiendo acordar y ejecutar cuanto estime conveniente para la gestión de los negocios de la sociedad, estando facultados para realizar toda clase de actos, negocios y contratos de administración, adquisición, enajenación, gravamen y obligación, con cualesquiera personas naturales o jurídicas, privadas o públicas, nacionales o extranjeras, incluso con entidades bancarias privadas y oficiales, así como cualquier clase de organismos u entidades públicas y cualesquiera otros, y con respecto a toda clase de bienes, derechos, efectos públicos y títulos valores, con las condiciones y pactos que tenga por conveniente en orden a la mejor gestión de los intereses de la sociedad (limitado); 28.1.3. Representar a la sociedad en juntas generales de socios/accionistas de sociedades en las que la sociedad tenga una participación, a los efectos de votar en la forma que estime conveniente (sin límite). 28.2. Facultades laborales y de contratación. 28.2.1. Admitir, contratar, suspender y despedir empleados y, en general, al personal de cualquier clase, fijando y/o modificando su remuneración, salarios y primas, así como los términos y condiciones de contratación (limitado); 28.2.2. Hacer pagos de nóminas, retribuciones de cualquier tipo y de contribuciones a la seguridad social. Fijar y/o modificar las funciones, así como adjudicar funciones y servicios de cada empleado y organizar el sistema de trabajo; designar y destituir representantes, depositarios, agentes y comisionistas (sin límite); 28.2.3. Firmar cuantos documentos sean necesarios con organismos o entidades de carácter privado o estatal y territorial relativos a la tramitación del alta de la sociedad y alta y/o baja de los trabajadores en la seguridad social (sin límite); 28.2.4. Representar a la sociedad ante toda clase de inspecciones o comprobaciones y en sus relaciones con las autoridades de trabajo, pudiendo prestar su conformidad o disconformidad en las actas o documentos que se extiendan con motivo de dichas inspecciones o comprobaciones (sin límite); 28.2.5. Percibir de la correspondiente entidad pagadora salarial, todas las cantidades que pudieran corresponder por cualquier concepto a la sociedad y facultar a las indicadas entidades pagadoras para subrogarse en los derechos de la sociedad, para el ejercicio de todo tipo de acciones que resultan procedentes en

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACIÓN LEGAL

Fecha Expedición: 4 de marzo de 2025 Hora: 10:33:18

Recibo No. AA25298162

Valor: \$ 11,600

CÓDIGO DE VERIFICACIÓN A25298162ED9C4

Verifique el contenido y confiabilidad de este certificado, ingresando a www.ccb.org.co/certificadoselectronicos y digite el respectivo código, para que visualice la imagen generada al momento de su expedición. La verificación se puede realizar de manera ilimitada, durante 60 días calendario contados a partir de la fecha de su expedición.

derecho (sin límite). 28.3. Actos y contratos del giro social. 28.3.1. Concertar, celebrar, otorgar, autorizar, modificar, ceder, terminar, extinguir y cancelar toda clase de actos, contratos o negocios jurídicos que sean convenientes para llevar a cabo las actividades que constituyen el objeto social de la sociedad, con los pactos, cláusulas, modos y condiciones que crea conveniente fijar (limitado); 28.3.2. Usar la firma social en la correspondencia y documentos precisos para la actividad diaria, tales como facturas, pólizas, conocimientos de embarque, guías, solicitudes, recibos de mercancías, declaraciones, manifestaciones, etc. (sin límite); 28.3.3. Administrar en los más amplios términos, bienes muebles e inmuebles, arrendar y tomar en arrendamiento bienes de cualquier naturaleza, obras y servicios, ejercitando todos los derechos que les correspondan como arrendador o como arrendatario, incluso los derechos de retracto y de traspaso, ya sea activa o pasivamente; celebrar contratos de leasing; modificar y extinguir arrendamientos y cualesquiera otras cesiones de uso y disfrute, en los términos y condiciones que estimen convenientes (limitado); 28.3.4. Comprar, adquirir, permutar, gravar, ceder, adjudicar en pago o para el pago de deudas, importar, exportar, vender, enajenar, transmitir, arrendar, hipotecar, gravar o pignorar por cualquier título toda clase de bienes muebles, maquinaria, mercaderías y materias primas, bienes inmuebles, derechos y obligaciones, así como constituir, concediéndolas, opciones de compra sobre los mismos bienes, derechos y obligaciones, por cualquier medio reconocido en derecho, en los términos, y por el precio y condiciones que estime oportunos (limitado); 28.3.5. Constituir, novar, subrogar, posponer, distribuir, amortizar, reconocer, rescatar, aceptar, extinguir y cancelar prendas, hipotecas y todo tipo de cargas y otros derechos reales o personales (limitado); 28.3.6. Hacer protestas y reclamaciones, certificaciones de cuenta y abandono de mercancías; solicitar y retirar cupos de materias primas o de carácter comercial. (sin límite). 28.3.7. Celebrar contratos con proveedores o clientes y participar en concursos o licitaciones que lleven a cabo estos últimos que se encuentren directamente relacionados con el cumplimiento del objeto social, efectuar reclamaciones o cobros a terceros de deudas que hubieren contraído con la Sociedad en cumplimiento de su objeto social, llevar a cabo traspasos y transferencias de recursos entre cuentas bancarias de la Sociedad cuando a ello hubiere lugar y dentro del giro ordinario de los negocios sociales, y pagar impuestos, nóminas, cargas sociales, dividen dos a los socios cuando corresponda y los demás gastos

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACIÓN LEGAL

Fecha Expedición: 4 de marzo de 2025 Hora: 10:33:18

Recibo No. AA25298162

Valor: \$ 11,600

CÓDIGO DE VERIFICACIÓN A25298162ED9C4

Verifique el contenido y confiabilidad de este certificado, ingresando a www.ccb.org.co/certificados/electronicos y digite el respectivo código, para que visualice la imagen generada al momento de su expedición. La verificación se puede realizar de manera ilimitada, durante 60 días calendario contados a partir de la fecha de su expedición.

ordinarios de la Sociedad. (Sin Límite). 28.4. Poderes bancarios y financieros. 28.4.1. Abrir, administrar, gestionar, seguir, disponer, mantener, cancelar o liquidar cuentas corrientes, de crédito, de débito o ahorro, o de valores y en general cuentas bancarias de cualquier tipo, en toda clase de entidades bancarias o financieras colombianas o extranjeras. Hacer transferencias entre cuentas de la sociedad. (sin límite); 28.4.2. Abrir, operar y realizar pagos y transacciones desde las cuentas bancarias en nombre de la sociedad; ingresar, depositar, disponer y retirar fondos o valores existentes en dichas cuentas mediante cualquier medio admitido en la práctica bancaria, firmar y expedir cheques, letras de cambio, transferencias, créditos documentarios, pagarés y órdenes de pago, solicitar los estados bancarios y aprobar o rechazar el saldo bancario. Solicitar cheques de las cuentas bancarias (limitado); 28.4.3. Negociar y suscribir contratos de préstamo o de crédito, reconocimiento de deuda o garantía de cualquier tipo a favor de la sociedad o de terceros. Librar, firmar, endosar, tomar, negociar, descontar, aceptar, avalar, intervenir, protestar, pagar, cobrar, pignorar y avalar letras de cambio, cheques, pagarés y demás documentos de giro o crédito con finalidad comercial o financiera; formular cuentas y requerir protestos por falta de pago, aceptación, de seguridad o de otra índole (limitado); 28.4.4. Transferir créditos no endosables, afianzar pólizas de cuentas de crédito y cualesquiera otras operaciones mercantiles; ceder a terceros los créditos que ostente la sociedad, con los pactos y condiciones que estime por conveniente (limitado); 28.4.5. Regular el empleo de los fondos de la sociedad o inversión que se acuerde, ordenar los pagos y satisfacer cuantas cantidades acredite o deba satisfacer la sociedad, firmando los oportunos recibos y otorgando cuando sea necesario cartas de pago y facturas (limitado); 28.4.6. Realizar todo tipo de cobros, percibir e ingresar los fondos recaudados en los establecimientos bancarios destinados al efecto, en las cuentas bancarias de la sociedad (sin límite); 28.4.7. Contratar y operar con cajas de seguridad; constituir, modificar, rectificar y cancelar depósitos de efectivo, valores y cualesquiera otros bienes ante autoridades, juzgados, tribunales, firmando las salvedades, declaraciones y demás documentos que sean precisos (limitado); 28.4.8. Firmar pólizas de crédito y disponer de fondos con cargo a las mismas, avalar pólizas de cuentas de crédito personal y de todo tipo (limitado); 28.4.9. Establecer, otorgar y levantar fianzas, avales o garantías bancarias de cualquier tipo, avalar o afianzar en nombre de la sociedad a personas naturales o jurídicas, en cualesquiera operaciones mercantiles y aceptar avales

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACIÓN LEGAL

Fecha Expedición: 4 de marzo de 2025 Hora: 10:33:18

Recibo No. AA25298162

Valor: \$ 11,600

CÓDIGO DE VERIFICACIÓN A25298162ED9C4

Verifique el contenido y confiabilidad de este certificado, ingresando a www.ccb.org.co/certificados/electronicos y digite el respectivo código, para que visualice la imagen generada al momento de su expedición. La verificación se puede realizar de manera ilimitada, durante 60 días calendario contados a partir de la fecha de su expedición.

y afianzamientos a favor de la sociedad (limitado); 28.4.10. Aceptar hipotecas, prendas, anticresis u otras garantías ofrecidas en seguridad de los créditos que ostenta la sociedad (limitado); 28.4.11. Tomar dinero en préstamo, con o sin interés, y con garantía personal, de valores, hipotecaria o cualquier otra; concertar activa o pasivamente créditos comerciales (limitado); 28.4.12. Ejecutar operaciones de compraventa de valores de renta variable y títulos de deuda (limitado); 28.4.13. Cobrar, compensar y percibir, por cualquier medio de pago admitido en derecho, toda clase de dividendos, intereses y amortizaciones de valores mobiliarios, depositados o no (sin límite); 28.4.14. Negociar y celebrar todo tipo de contratos con relación a cuentas bancarias, compensaciones, tarjetas de autorización de firmas y cualesquiera otros contratos bancarios, en los términos y condiciones que estimen oportunos (sin límite). 28.5. Seguros. 28.5.1. Concertar, resolver o renovar contratos de seguro de cualquier tipo en las condiciones que estime convenientes, pudiendo percibir y reclamar indemnizaciones en los supuestos en los que haya lugar a ello y obtener las compensaciones y devoluciones procedentes. Levantar protestos de avería para contratar, modificar, rescatar, pignorar, rescindir y liquidar seguros de todas clases (sin límite). 28.6. Relaciones con autoridades públicas y demás organismos oficiales. 28.6.1. Representar a la sociedad ante cualesquier autoridad o entidad pública, del orden central o territorial, centralizado o descentralizado y cámaras de comercio a fin de ejercitar sus derechos y cumplir sus obligaciones laborales, tributarias y administrativas en general, firmando a tal efecto cuantos documentos, declaraciones tributarias, formularios resulten precisos, e interponiendo y sosteniendo recursos y reclamaciones. (sin límite); 28.6.2. Solicitar y obtener concesiones gubernamentales de todo tipo, royalties, donaciones, subvenciones o subsidios que puedan ser de interés o apropiados para llevar a cabo cualquier actividad que, directa o indirectamente, esté relacionada con el negocio de la sociedad, realizando para tal fin los actos, convenios y cualesquiera otras gestiones necesarias para el cumplimiento de las condiciones establecidas para la obtención de las ayudas mencionada (sin límite); 28.6.3. Concurrir a subastas y todo tipo de concursos, oficiales y particulares, asistir con voz y con voto a juntas de acreedores y subastas públicas, a ministerios y organismos oficiales dependientes de la administración del estado. A tales efectos, consignar cantidades, suscribir pliegos, hacer proposiciones, constituir depósitos y retirarlos, aceptar adjudicaciones provisionales y

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACIÓN LEGAL

Fecha Expedición: 4 de marzo de 2025 Hora: 10:33:18

Recibo No. AA25298162

Valor: \$ 11,600

CÓDIGO DE VERIFICACIÓN A25298162ED9C4

Verifique el contenido y confiabilidad de este certificado, ingresando a www.ccb.org.co/certificados/electronicos y digite el respectivo código, para que visualice la imagen generada al momento de su expedición. La verificación se puede realizar de manera ilimitada, durante 60 días calendario contados a partir de la fecha de su expedición.

definitivas, aprobar e impugnar créditos y su graduación, aceptar o rechazar las proposiciones del deudor; nombrar y aceptar cargos de síndicos y administradores y designar vocales de organismos de conciliación y hacer todo lo necesario para representar a la sociedad en los citados trámites (sin límite). 28.7. Representación legal 28.7.1. Comparecer ante cualesquiera juzgados, audiencias y demás tribunales, ordinarios o especiales, de cualquier grado o jurisdicción, y ante cualquier otra autoridad, magistratura, fiscalía, organismo sindical, delegación, junta, jurado, tribunal de la competencia o de cuentas del estado, autoridad eclesiástica, servicio de mediación, centro, notaría, registro público y entidad pública de cualquier orden, incluso internacionales, y demás entidades creadas y por crear, en cualquiera de sus ramas, dependencias y servicios; y en ellos, instar, seguir y terminar, como actor, demandado, tercero, coadyuvante, requirente o en cualquier otro concepto, toda clase de expedientes, juicios y procedimientos, civiles, criminales, administrativos, constitucionales, contencioso-administrativos, de trabajo, gubernativos, notariales, hipotecarios, de hacienda, de jurisdicción voluntaria y de cualquier otra clase (sin límite); 28.7.2. En todos estos casos, entablar, contestar y seguir por todos sus trámites e instancias, hasta su conclusión, toda clase de acciones, demandas, denuncias, querellas, acusaciones, excepciones y defensas y ejercer cualquier otra pretensión, pedir suspensiones de juicios o procedimientos, validándolos mediante una ratificación personal en cuántos casos fuera menester; firmar y presentar escritos y asistir a toda clase de actuaciones; solicitar y recibir notificaciones, citaciones y emplazamientos (sin límite); 28.7.3. Dirigir, recibir y contestar requerimientos y notificaciones. Interponer recursos de alzada, y cualquier otro acto previo al proceso (sin límite); 28.7.4. Tachar testigos; suministrar y tachar pruebas, renunciar a ellas y a traslados de autos. Absolver posiciones y confesar en juicio y en todo tipo de interrogatorios previstos por la ley (sin límite); 28.7.5. Instar autorizaciones judiciales; expedientes de dominio, acumulaciones, liquidaciones y tasaciones de costas; promover conflictos de jurisdicción, cuestiones de competencia, diligencias preliminares, preparatorias o previas y otras cuestiones incidentales, siguiéndolas hasta que se dicte el auto o la resolución pertinente. Consentir las resoluciones favorables (sin límite); 28.7.6. Interponer y seguir toda clase de recursos, incluso los gubernativos y contencioso-administrativos y los de reposición, impugnación, reforma, súplica, apelación, suplicación, queja, nulidad

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACIÓN LEGAL

Fecha Expedición: 4 de marzo de 2025 Hora: 10:33:18

Recibo No. AA25298162

Valor: \$ 11,600

CÓDIGO DE VERIFICACIÓN A25298162ED9C4

Verifique el contenido y confiabilidad de este certificado, ingresando a www.ccb.org.co/certificadoselectronicos y digite el respectivo código, para que visualice la imagen generada al momento de su expedición. La verificación se puede realizar de manera ilimitada, durante 60 días calendario contados a partir de la fecha de su expedición.

e incompetencia, interponer y seguir recurso de amparo ante el tribunal constitucional, así como aquellos extraordinarios de casación o interés casacional y los extraordinarios por infracción procesal, y demás procedentes en derecho y, en general, practicar cuanto permitan las respectivas leyes de procedimiento, sin limitación (sin límite); 28.7.7. Instar, prestar, alzar o cancelar embargos, secuestros, depósitos, ejecuciones, desahucios y anotaciones preventivas, así como pedir administraciones, intervenciones o cualquier otra medida de conservación, seguridad, prevención o garantía, y modificarlos o extinguirlos; designar peritos. Intervenir en subastas judiciales y extrajudiciales, ceder remates a terceros o aceptar las cesiones que otros hicieren a favor del poderdante; pedir desahucios, lanzamientos, tomar posesión de los bienes muebles o inmuebles que deban como consecuencia de los juicios en que intervengan. Prestar cauciones; hacer depósitos y consignaciones judiciales, así como percibir del juzgado las cantidades consignadas como precio del remate (sin límite); 28.7.8. Actuar como apoderado ante las entidades estatales tributarias, en relación con el cumplimiento de las obligaciones tributarias relacionadas con la tasa por el ejercicio de la potestad jurisdiccional en los órdenes civil y contencioso-administrativo; en especial con objeto de obtener y dar de baja el número de identificación fiscal colombiano de la sociedad, así como para actuar ante los órganos administrativos correspondientes en relación con el cumplimiento de las obligaciones estadísticas, facultándolos a tal efecto para presentar declaraciones y escritos y representar a la sociedad; todo ello de conformidad con lo previsto en la normativa vigente (sin límite); 28.7.9. Interponer los recursos extraordinarios de casación y revisión. Desistir de cualquier recurso, incluso los de casación y revisión. Promover la recusación de jueces y magistrados (sin límite); 28.7.10. Celebrar actos de conciliación, con avenencia o sin ella, en cuanto impliquen actos dispositivos. Transigir, someter a arbitraje las cuestiones controvertidas u otras surgidas después. Otorgar ratificaciones personales en nombre de la parte poderdante. Renunciar o reconocer derechos; allanarse; renunciar a la acción de derecho discutida o a la acción procesal, o desistir de ellas; aceptar y rechazar las proposiciones del deudor, así como efectuar manifestaciones que puedan comportar sobreseimiento del proceso por satisfacción extraprocesal o carencia sobrevenida de objeto (sin límite); 28.7.11. Efectuar o retirar consignaciones y percibir cantidades, indemnizatorias o no, resultantes de decisiones judiciales o extrajudiciales y de cualesquiera otros organismos que

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACIÓN LEGAL

Fecha Expedición: 4 de marzo de 2025 Hora: 10:33:18

Recibo No. AA25298162

Valor: \$ 11,600

CÓDIGO DE VERIFICACIÓN A25298162ED9C4

Verifique el contenido y confiabilidad de este certificado, ingresando a www.ccb.org.co/certificados/electronicos y digite el respectivo código, para que visualice la imagen generada al momento de su expedición. La verificación se puede realizar de manera ilimitada, durante 60 días calendario contados a partir de la fecha de su expedición.

afecten a la parte poderdante, ya figuren en nombre del poderdante o del apoderado (sin límite); 28.7.12. Instar la autorización de actas notariales, de presencia, requerimiento, notificación, referencia, protocolización, remisión de documentos, exhibición, depósito voluntario o cualesquiera otras, incluida la intervención en las subastas notariales (sin límite); 28.7.13. A los efectos específicos de la comparecencia y posible arreglo, renuncia o transacción, poder efectuarlos con independencia del tipo de procedimiento de que se trate y de sus circunstancias concretas de identificación procesal, con facultad expresa de poder de disposición y capacidad suficiente sobre el objeto de litigio a los fines de alcanzar acuerdos en el seno de cualquier procedimiento judicial, ya sea en la comparecencia o en cualquier fase o momento del proceso (sin límite); 28.7.14. Promover y personarse, en representación del poderdante, en los procedimientos de insolvencia, reorganización empresarial o liquidación judicial, así como comunicar créditos, seguir los procedimientos hasta su conclusión, intervenir con voz y voto en junta de acreedores y para la aprobación del convenio de que se trate y, especialmente, representar en cualquier incidente concursal en que se demande o sea demandado el poderdante e intervenir en su nombre en todas las piezas del concurso de acreedores. Asimismo, ejecutar cuantos actos y firmar cuantos documentos privados, públicos, administrativos y judiciales sean necesarios o convenientes para dar cumplimiento a lo dispuesto en la ley al efecto y, específicamente, en cuanto a la negociación y tramitación de acuerdos de reorganización empresarial o propuestas de convenio, anticipadas o no (sin límite); 28.7.15. Constituir apoderados, judiciales o extrajudiciales y solicitar las copias que se precisen de este poder (sin límite); 28.7.16. Y cualquier otra facultad no enumerada anteriormente, relacionada con el otorgamiento de poderes generales o especiales para la defensa de los intereses de la sociedad, en instancias judiciales y extrajudiciales (sin límite). 28.8. Conciliación y arbitraje. 28.8.1. Celebrar actos de conciliación, con avenencia o sin ella, en cuanto impliquen actos dispositivos; transigir y someter a arbitraje cuestiones litigiosas de acuerdo con normas nacionales o extranjeras (sin límite). 28.9. Tributarias. 28.9.1. Representar a la sociedad en las gestiones tramitadas ante cualesquiera oficinas o delegaciones tributaria (sin límite); 28.9.2. Solicitar y obtener del organismo que corresponda el certificado y los documentos que permitan a la sociedad conectarse a internet con las administraciones y obtener la firma digital correspondiente, autorizándole a actuar en representación de la misma (sin límite);

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACIÓN LEGAL

Fecha Expedición: 4 de marzo de 2025 Hora: 10:33:18

Recibo No. AA25298162

Valor: \$ 11,600

CÓDIGO DE VERIFICACIÓN A25298162ED9C4

Verifique el contenido y confiabilidad de este certificado, ingresando a www.ccb.org.co/certificados/electronicos y digite el respectivo código, para que visualice la imagen generada al momento de su expedición. La verificación se puede realizar de manera ilimitada, durante 60 días calendario contados a partir de la fecha de su expedición.

28.9.3. Presentar y firmar declaraciones y autoliquidaciones de toda clase de impuestos, arbitrios, tasas y exacciones del estado u otras entidades estatales; presentar solicitudes de bonificación y/o exención, solicitar desgravaciones fiscales y formular solicitudes de devolución o reintegro de ingresos indebidos y cobrar las cantidades resultantes de dichas solicitudes (sin límite); 28.9.4. Pagar todo tipo impuestos, arbitrios, tasas y exacciones, incluyendo retenciones, pagos a cuenta, contribuciones sociales pagos a la seguridad social, y resto de declaraciones fiscales, con cargo a los fondos de que disponga la sociedad en sus cuentas bancarias (sin límite); 28.9.5. Representar a la sociedad ante la Dirección de Impuestos y Aduanas Nacionales -DIAN- u otra autoridad aduanera y tributaria, para realizar peticiones y solicitar permisos o licencias sobre importaciones y exportaciones de mercancías sin ninguna limitación; presentar documentos; iniciar y personarse en expedientes y diligencias; recibir notificaciones; suscribir correspondencia postal, telegráfica o de cualquier otro género en materia aduanera; retirar de las aduanas y empresas de transporte, mercancías, paquetes, sobres o cualquier otro envío, haciendo cuando proceda, las reclamaciones oportunas; atender inspecciones e intervenciones aduaneras (sin límite); 28.9.6. Firmar actas de conformidad o disconformidad y diligencias en inspecciones e intervenciones aduaneras en relación con la sociedad llevadas a cabo por el Dirección de Impuestos y Aduanas Nacionales -DIAN- o cualquier otra autoridad competente en la materia (sin límite); 28.9.7. Nombrar representantes fiscales (sin límite). 28.10. Correo y correspondencia 28.10.1. Abrir, contestar y firmar la correspondencia y llevar los libros comerciales con arreglo a la ley (sin límite), 28.10.2. Retirar, abrir y contestar la correspondencia postal, telegráfica, telefónica y de cualquiera otra clase, así como también certificados de correos y pliegos de valores declarados, y todo género de giros, y envíos postales, igualmente retirar de cualquier oficina o dependencia, los objetos consignados a nombre de la sociedad, haciendo las reclamaciones oportunas (sin límite) 28.10.3. Retirar y recibir de cualquier persona o de las oficinas o servicios del estado, demás entidades estatales de cualquier orden y organismos o entidades paraestatales, toda clase de comunicaciones o despachos para la sociedad, tales como cartas, certificados, liquidaciones, paquetes, giros, valores declarados, etc., y de las empresas de transportes, aduanas y agencias, géneros y efectos remitidos (sin límite). 28.11. Propiedad intelectual. 28.11.1. Actuar en nombre de la sociedad en todo tipo de actos y procedimientos para la

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACIÓN LEGAL

Fecha Expedición: 4 de marzo de 2025 Hora: 10:33:18

Recibo No. AA25298162

Valor: \$ 11,600

CÓDIGO DE VERIFICACIÓN A25298162ED9C4

Verifique el contenido y confiabilidad de este certificado, ingresando a www.ccb.org.co/certificados/electronicos y digite el respectivo código, para que visualice la imagen generada al momento de su expedición. La verificación se puede realizar de manera ilimitada, durante 60 días calendario contados a partir de la fecha de su expedición.

adquisición, utilización o explotación, en general, así como la venta, cesión o transferencia de las patentes, marcas y otros derechos de propiedad industrial y, en su caso, derechos de propiedad intelectual y, en todas las cuestiones relativas a la asistencia técnica, transferir tecnología y operaciones similares que se lleven a cabo para lograr los propósitos comerciales, y la sustitución de estos poderes en su totalidad o en parte a la persona o personas que nombren, así como revocar las delegaciones que se hicieron (sin límite). 28.12. Delegación. 28.12.1. Delegar estas facultades, en todo o en parte, y revocar las sustituciones conferidas, si bien no podrán en ningún caso excederse las facultades que hubieren sido otorgadas a la propia persona que las confiere (sin límite).

NOMBRAMIENTOS**REPRESENTANTES LEGALES**

Por Acta No. 72 del 7 de noviembre de 2024, de Asamblea de Accionistas, inscrita en esta Cámara de Comercio el 12 de noviembre de 2024 con el No. 03176213 del Libro IX, se designó a:

CARGO	NOMBRE	IDENTIFICACIÓN
Representante Legal	Juan Felipe Acosta Sanchez	C.C. No. 80874571

REVISORES FISCALES

Por Acta No. 34 del 22 de julio de 2013, de Junta de Socios, inscrita en esta Cámara de Comercio el 9 de agosto de 2013 con el No. 00014691 del Libro XIII, se designó a:

CARGO	NOMBRE	IDENTIFICACIÓN
Revisor Fiscal Persona Jurídica	CONTROL & GESTION S A S	N.I.T. No. 830050591 6

Por Documento Privado No. sin nú del 2 de agosto de 2013, de Revisor Fiscal, inscrita en esta Cámara de Comercio el 9 de agosto de 2013 con

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACIÓN LEGAL

Fecha Expedición: 4 de marzo de 2025 Hora: 10:33:18

Recibo No. AA25298162

Valor: \$ 11,600

CÓDIGO DE VERIFICACIÓN A25298162ED9C4

Verifique el contenido y confiabilidad de este certificado, ingresando a www.ccb.org.co/certificadosselectronicos y digite el respectivo código, para que visualice la imagen generada al momento de su expedición. La verificación se puede realizar de manera ilimitada, durante 60 días calendario contados a partir de la fecha de su expedición.

el No. 00014692 del Libro XIII, se designó a:

CARGO	NOMBRE	IDENTIFICACIÓN
Revisor Fiscal	Orlando Cubillos Ladino	C.C. No. 19275756 T.P. No. 15967

CARGO	NOMBRE	IDENTIFICACIÓN
Revisor Fiscal Suplente	Cesar Augusto Martinez Quintero	C.C. No. 19262980

Por Documento Privado del 13 de enero de 2020, de Revisor Fiscal, inscrita en esta Cámara de Comercio el 22 de enero de 2020 con el No. 02544281 del Libro IX, se designó a:

CARGO	NOMBRE	IDENTIFICACIÓN
Revisor Fiscal Suplente	Carlos Eduardo Peña Duarte	C.C. No. 1032383759

PODERES

Por Escritura Pública No. 761 del 28 de marzo de 2023, otorgada en la Notaría 11 de Bogotá D.C., registrada en esta Cámara de Comercio el 14 de abril de 2023, con el No. 00049677 del libro V, la persona jurídica confirió poder general, amplio y suficiente a Henry William Zorro Fajardo (en adelante el "Primer Apoderado") identificado con la cédula de ciudadana número 79.045.556 de Bogotá, para que dentro del marco de las disposiciones legales, reglamentarias y estatutarias aplicables a CLARKE MODET & CO COLOMBIA S.A.S., la represente en todos los actos, contratos, negocios jurídicos, trámites, diligencias y actuaciones que se requieran para el normal desarrollo de las funciones propias de su cargo, según las siguientes facultades y limitaciones. El Primer Apoderado queda facultado, incluyendo, pero sin limitarse, a: i) Abrir, administrar, gestionar, seguir, disponer, mantener, cancelar o liquidar cuentas corrientes, de crédito, de débito o ahorro, o de valores y en general cuentas bancarias de cualquier tipo, en toda clase de entidades bancarias o financieras colombianas o extranjeras. Hacer transferencias entre cuentas de la

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACIÓN LEGAL

Fecha Expedición: 4 de marzo de 2025 Hora: 10:33:18

Recibo No. AA25298162

Valor: \$ 11,600

CÓDIGO DE VERIFICACIÓN A25298162ED9C4

Verifique el contenido y confiabilidad de este certificado, ingresando a www.ccb.org.co/certificados/electronicos y digite el respectivo código, para que visualice la imagen generada al momento de su expedición. La verificación se puede realizar de manera ilimitada, durante 60 días calendario contados a partir de la fecha de su expedición.

Poderdante. ii) Abrir, operar y realizar pagos y transacciones desde las cuentas bancarias en nombre de La Poderdante. ingresar, depositar, disponer y retirar fondos o valores existentes en dichas cuentas mediante cualquier medio admitido en la práctica bancaria, firmar y expedir cheques, letras de cambio, transferencias, créditos documentarios, pagarés y órdenes de pago, solicitar los estados bancarios y aprobar o rechazar el saldo bancario. Solicitar cheques de las cuentas bancarias de la Poderdante. Que actuando en la calidad antes mencionada Confiere Poder general amplio y suficiente, a Mónica Lucía Arias Medina (en adelante La "Segunda apoderada") identificada con la cédula de ciudadanía número 65.776.063 de Ibagué, para que la represente ante cualquier autoridad, entidad, organismo o persona natural o jurídica, en todos los actos, contratos, negocios jurídicos, trámites, diligencias y actuaciones que se requieran para el normal desarrollo de las funciones propias de su cargo, según las siguientes facultades y limitaciones. la Segunda Apoderada queda facultada, incluyendo, pero sin limitarse, a: i) Suscribir en representación de la Poderdante, los contratos de trabajo, modificaciones a los mismos, y cualquier tipo de documentos que se refieran a las relaciones laborales en la empresa, así como dar por terminada cualquier relación laboral y atender cualesquiera diligencias ante las autoridades laborales. ii) Dar y asegurar el pleno cumplimiento de las obligaciones legales y contractuales que le asistan con los empleados de la Poderdante (incluyendo el pago de salarios, prestaciones sociales, compensaciones, contribuciones al sistema de seguridad social integral y cualquier otra obligación que nazca en virtud de relación laboral de acuerdo con Las normas legales correspondientes). iii) Expedir todas las certificaciones de índole laboral relacionadas la actividad de la Poderdante los empleados y ex empleados de esta. iv) Realizar cualesquiera gestiones necesarias ante las autoridades laborales administrativas en desarrollo de sus obligaciones laborales. Que actuando en la calidad antes mencionada Confiere Poder General amplio y suficiente, a Miguel José Rujana Acosta (en adelante "Tercer Apoderado") identificado con la cédula de ciudadanía número 79.981.095 de Bogotá, para que dentro del marco de las disposiciones legales, reglamentarias y estatutarias aplicables a CLARKE MODET & CO COLOMBIA S.A.S., i) la represente en todos los actos, contratos, negocios jurídicos, trámites, diligencias y actuaciones que se requieran para el normal desarrollo de las funciones propias de su cargo, según las siguientes facultades y limitaciones, y ii) represente, individualmente o en conjunto, a CLARKE MODET & CO COLOMBIA SAS. en los casos en que esta actúe en

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACIÓN LEGAL

Fecha Expedición: 4 de marzo de 2025 Hora: 10:33:18

Recibo No. AA25298162

Valor: \$ 11,600

CÓDIGO DE VERIFICACIÓN A25298162ED9C4

Verifique el contenido y confiabilidad de este certificado, ingresando a www.ccb.org.co/certificados/electronicos y digite el respectivo código, para que visualice la imagen generada al momento de su expedición. La verificación se puede realizar de manera ilimitada, durante 60 días calendario contados a partir de la fecha de su expedición.

nombre o por cuenta de terceros, sin limitarse a ello, cuando interviene en la calidad de mandatario. El Tercer apoderado queda facultado, incluyendo, pero sin limitarse, a: i) Facultades de representación del Tercer Apoderado en nombre y representación de CLARKE MODET & CO COLOMBIA S.A.S.. a) Comparecer ante cualesquiera juzgados, audiencias y demás tribunales, ordinarios o especiales, de cualquier grado o jurisdicción, y ante cualquier otra autoridad, magistratura, fiscalía, organismo sindical, delegación, junta, jurado, tribunal, servicio de mediación, centro, notaría, Registro Público y entidad pública de cualquier orden, incluso internacionales y demás entidades creadas y por crear, en cualquiera de sus ramas, dependencias y servicios; y en ellos: instar, seguir y terminar, como actor, demandado, tercero, coadyuvante, requirente o en cualquier otro concepto, toda clase de expedientes, juicios y procedimientos, civiles, penales, criminales, administrativos, constitucionales, contencioso administrativos, de trabajo, gubernativos, notariales, hipotecarios, de Hacienda, de jurisdicción voluntaria y de cualquier otra clase. b) Asumir la representación legal de CLARKE MODET & CO COLOMBIA SAS.. ante cualquier tipo de jueces, tribunales o Cortes, con capacidad para actuar en audiencias de conciliación, absolver interrogatorios de parte, recibir notificaciones, conferir, revocar, sustituir o reasumir poderes especiales; transigir, desistir y confesar en asuntos de procedimientos judiciales o administrativos en los que CLARKE MODET & CO COLOMBIA SAS.. sea parte. C) Presentar ante las autoridades administrativas, de cualquier orden, los recursos que considere pertinentes contra las providencias emanadas de las anteriores autoridades, y en general, para ejecutar ante ellas todos los actos y ejercer las facultades necesarias para que los intereses de CLARKE MODET & CO COLOMBIA SAS.. sean debidamente representados ii) Facultades de representación del Tercer Apoderado de CLARKE MODET & CO COLOMBIA SAS.. como mandataria o apoderada de terceros: a) Solicitar, tramitar, obtener, registrar, renovar, prorrogar, transferir, cambiar de nombre, suscribir acuerdos, contratos y licencias, y en general, ejecutar cualesquiera actos o actividades relacionados con patentes de invención, modelos de utilidad, diseños industriales, variedades vegetales, marcas, lemas, nombres y enseñas comerciales, denominaciones de origen, secretos industriales, Know How, y en esencia, cualesquiera modalidades de propiedad Intelectual ante cualquier autoridad competente. b) Solicitar, tramitar, obtener, registrar, renovar, prorrogar, transferir, cambiar de nombre, suscribir acuerdos, contratos y licencias, y en general, ejecutar cualesquiera actos o actividades relacionados con registros

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACIÓN LEGAL

Fecha Expedición: 4 de marzo de 2025 Hora: 10:33:18

Recibo No. AA25298162

Valor: \$ 11,600

CÓDIGO DE VERIFICACIÓN A25298162ED9C4

Verifique el contenido y confiabilidad de este certificado, ingresando a www.ccb.org.co/certificados/electronicos y digite el respectivo código, para que visualice la imagen generada al momento de su expedición. La verificación se puede realizar de manera ilimitada, durante 60 días calendario contados a partir de la fecha de su expedición.

sanitarios, permisos o licencias de funcionamiento ante el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos -INVIMA- y el Instituto Colombiano Agropecuario -ICA-, y, en general, ante cualquier otra autoridad competente. c) Solicitar, tramitar, obtener registrar, prorrogar transferir, cambiar de nombre, suscribir acuerdos, contratos y licencias, y en general, ejecutar cualesquiera actos o actividades relacionadas con los derechos de autor, en cualquiera de sus presentaciones ante cualquier autoridad competente. d) Ejercer acciones de oposición, observación, reclamos, reconsideración, reposición, apelación, cancelación administrativa o judicial, nulidad, protección al consumidor, concesión de licencias, protección de secretos industriales y demás acciones y recursos relacionados con derechos derivados de los asuntos arriba indicados y en contra de la competencia desleal, acciones derivadas de la obtención o explotación de licencias, acciones de indemnización de perjuicios. También podrá intervenir en juicios civiles, comerciales, penales, contencioso-administrativos, tutelas y de policía; en acciones o juicios promovidos por o en contra del (de la) Mandante. e) Representar ante las autoridades judiciales o administrativas, centralizadas o descentralizadas, del orden nacional, departamental, municipal o distrital a la Poderdante respecto de los asuntos mencionados previamente, así como presentar cualesquiera acciones o recursos que considere pertinente para ejercer las facultades necesarias para que los intereses del mandante sean debidamente representados. f) Registrar nombres de dominio ante la autoridad competente. g) Conciliar, cancelar, transigir, suscribir compromisos para someter a arbitraje cualquier controversia, participar en sorteos y/o designación de árbitros, desistir, recibir y tomar posesión de la cosa objeto de litigio y renunciar o desistir a derechos concedidos o en curso de concesión, admitir los hechos del proceso. h) Ratificar o no la agencia oficiosa. Parágrafo Primero: El Tercer Apoderado podrá ejecutar las facultades descritas en el numeral i) anterior, únicamente en ausencia temporal o absoluta del representante legal de la Poderdante. Así las cosas, en todas y cada una de las actuaciones, estará obligado a indicar la razón de su actuación, esto es, si actúa por falta temporal o absoluta del representante legal. Parágrafo Segundo: Cuando la cuantía de cualesquiera de las operaciones descritas en el numeral i) previo supere el monto de diez mil euros (10.000), se requerirá la firma conjunta de por lo menos el Tercer Apoderado y la cuarta apoderada. Parágrafo Tercero: Las facultades contenidas en el numeral ii) previo podrán ser desarrolladas por el Tercer Apoderado de manera

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACIÓN LEGAL

Fecha Expedición: 4 de marzo de 2025 Hora: 10:33:18

Recibo No. AA25298162

Valor: \$ 11,600

CÓDIGO DE VERIFICACIÓN A25298162ED9C4

Verifique el contenido y confiabilidad de este certificado, ingresando a www.ccb.org.co/certificados/electronicos y digite el respectivo código, para que visualice la imagen generada al momento de su expedición. La verificación se puede realizar de manera ilimitada, durante 60 días calendario contados a partir de la fecha de su expedición.

individual, sin requerir autorización alguna por parte del representante legal o estar sujetas a restricción o limitación alguna. Que actuando en la calidad antes mencionada Confiere Poder General amplio y suficiente a Juliana González Guzmán (en adelante la "Cuarta Apoderada") identificada con la cédula de ciudadanía número 39.808.557 de Bogotá, para que dentro del marco de las disposiciones legales, reglamentarias y estatutarias aplicables a CLARKE MODET & CO COLOMBIA SAS., i) la represente en todos los actos, contratos, negocios jurídicos, trámites, diligencias y actuaciones que se requieran para el normal desarrollo de las funciones propias de su cargo, según las siguientes facultades y limitaciones, y ii) represente, individualmente o conjunto, a CLARKE MODET & CO COLOMBIA SAS. en los casos en que esta actúe en nombre o por cuenta de terceros, sin limitarse a ello, cuando interviene en la calidad de mandatario. La Cuarta Apoderada queda facultada, incluyendo, pero sin limitarse a: i) Facultades de representación de la Cuarta Apoderada en nombre y representación de CLARKE MODET & CO COLOMBIA SAS. a) Comparecer ante cualesquiera juzgados, audiencias y demás tribunales, ordinarios o especiales, de cualquier grado o jurisdicción, y ante cualquier otra autoridad, magistratura, fiscalía, organismo sindical, delegación, junta, jurado, tribunal, servicio de mediación, centro, notaría, Registro Público y entidad pública de cualquier orden, incluso internacionales y demás entidades creadas y por crear, en cualquiera de sus ramas, dependencias y servicios; y en ellos, instar, seguir y terminar, como actor, demandado, tercero, coadyuvante, requirente o en cualquier otro concepto, toda clase de expedientes, juicios y procedimientos, civiles, penales, criminales, administrativos, constitucionales, contencioso administrativos, de trabajo, gubernativos, notariales, hipotecarios, de hacienda, de jurisdicción voluntaria y de cualquier otra clase. b) Asumir la representación legal de CLARKE MODET & CO COLOMBIA SAS.. ante cualquier tipo de jueces, tribunales o Cortes, con capacidad para actuar en audiencias de conciliación, absolver interrogatorios de parte, recibir notificaciones, conferir, revocar, sustituir o reasumir poderes especiales: transigir, desistir y confesar en asuntos de procedimientos Judiciales o administrativos en los que CLARKE MODET & CO COLOMBIA SAS.. sea parte. c) Presentar ante las autoridades administrativas, de cualquier orden, los recursos que considere pertinentes contra las providencias emanadas de las anteriores autoridades, y en general, para ejecutar ante ellas todos los actos y ejercer las facultades necesarias para que los intereses de CLARKE MODET & CO COLOMBIA SAS.. sean debidamente representados.

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACIÓN LEGAL

Fecha Expedición: 4 de marzo de 2025 Hora: 10:33:18

Recibo No. AA25298162

Valor: \$ 11,600

CÓDIGO DE VERIFICACIÓN A25298162ED9C4

Verifique el contenido y confiabilidad de este certificado, ingresando a www.ccb.org.co/certificados/electronicos y digite el respectivo código, para que visualice la imagen generada al momento de su expedición. La verificación se puede realizar de manera ilimitada, durante 60 días calendario contados a partir de la fecha de su expedición.

ii) Facultades de representación de la Cuarta Apoderada de CLARKE MODET & CO COLOMBIA S.A.S.. como mandataria o apoderada de terceros.

a) solicitar, tramitar, obtener, registrar, renovar, prorrogar, transferir, cambiar de nombre, suscribir acuerdos, contratos y licencias, y en general, ejecutar cualesquiera actos o actividades relacionados con patentes de invención, modelos de utilidad, diseños industriales, variedades vegetales, marcas, lemas, nombres y enseñas comerciales, denominaciones de origen, secretos industriales, Know How, y en esencia, cualesquiera modalidades de propiedad intelectual ante cualquier autoridad competente. b) Solicitar, tramitar, obtener, registrar, renovar, prorrogar, transferir, cambiar de nombre, suscribir acuerdos, contratos y licencias, y en general, ejecutar cualesquiera actos o actividades relacionados con registros sanitarios, permisos o licencias de funcionamiento ante el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos -INVIMA- y el instituto Colombiano Agropecuario -ICA-, y, en general, ante cualquier otra autoridad competente. c) Solicitar, tramitar, obtener, registrar, prorrogar transferir, cambiar de nombre, suscribir acuerdos, contratos y licencias, y en general, ejecutar cualesquiera actos o actividades relacionadas con los derechos de autor en cualquiera de sus presentaciones ante cualquier autoridad competente. d) Ejercer acciones de oposición, observación, reclamos, reconsideración, reposición, apelación, cancelación administrativa o judicial, nulidad, protección al consumidor, concesión de licencias, protección de secretos Industriales y demás acciones y recursos relacionados con derechos derivados de los asuntos arriba indicados, y en contra de la competencia desleal, acciones derivadas de la obtención o explotación de licencias, acciones de indemnización de perjuicios. También podrá intervenir en juicios civiles, comerciales, penales, contencioso-administrativos, tutelas y de policía: en acciones o juicios promovidos por o adelantados en contra del (de la) mandante. e) Representar ante las autoridades judiciales o administrativas, centralizadas o descentralizadas, del orden nacional, departamental, municipal o distrital a la Poderdante respecto de los asuntos mencionados previamente, así como presentar cualesquiera acciones o recursos que considere pertinente para ejercer las facultades necesarias para que los intereses del mandante sean debidamente representados. f) Registrar nombres de dominio ante la autoridad competente. g) Conciliar, cancelar, transigir, suscribir compromisos para someter a arbitraje cualquier controversia, participar en sorteos y/o designación de árbitros, desistir, recibir y tomar posesión de la cosa objeto de litigio y renunciar o desistir a

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACIÓN LEGAL

Fecha Expedición: 4 de marzo de 2025 Hora: 10:33:18

Recibo No. AA25298162

Valor: \$ 11,600

CÓDIGO DE VERIFICACIÓN A25298162ED9C4

Verifique el contenido y confiabilidad de este certificado, ingresando a www.ccb.org.co/certificadoselectronicos y digite el respectivo código, para que visualice la imagen generada al momento de su expedición. La verificación se puede realizar de manera ilimitada, durante 60 días calendario contados a partir de la fecha de su expedición.

derechos concedidos o en curso de concesión, admitir los hechos del proceso. h) Ratificar o no la agencia oficiosa. Parágrafo Primero: La Cuarta Apoderada podrá ejecutar Las facultades descritas en el numeral i) anterior, únicamente en ausencia temporal o absoluta del representante legal de la Poderdante. Así las cosas, en todas y cada una de las actuaciones, estará obligada a indicar la razón de su actuación, esto es, si actúa por falta temporal o absoluta del representante legal. Parágrafo Segundo: Cuando la cuantía de cualesquiera de las operaciones descritas en el numeral i) previo supere el monto de diez mil euros (10.000), se requerirá la firma conjunta del Tercer Apoderado y la Cuarta Apoderada, Parágrafo Tercero: Las facultades contenidas en el numeral ii) previo podrán ser desarrolladas por la Cuarta Apoderada de manera individual sin requerir autorización alguna por parte del representante legal o estar sujetas a restricción o limitación alguna. El presente poder terminará por las causales establecidas en el artículo 2189 del código civil.

Por Escritura Pública No. 2524 del 4 de septiembre de 2024, otorgada en la Notaría 11 de Bogotá D.C., registrada en esta Cámara de Comercio el 6 de Septiembre de 2024, con el No. 00053168 del libro V, la persona jurídica confirió poder general, amplio y suficiente a Henry William Zorro Fajardo, identificado con la cédula No. 79.045.556, para que dentro del marco de las disposiciones legales, reglamentarias y estatutarias aplicables a CLARKE MODET & CO COLOMBIA S.A.S., la represente en todas las actuaciones frente a todos los entes del orden nacional, departamental, distrital o municipal, entes privados y entes públicos, empresas industriales y comerciales del estado, sociedades de economía mixta, organismos autónomos e independientes, empresas de servicios públicos, organismos centralizados o descentralizados, sociedades controladas directa o indirectamente por el Gobierno, sociedades públicas financieras en Colombia. Las facultades conferidas al apoderado incluyen, pero no se limitan, a: (I) Representar a la poderdante en todos los asuntos tributarios, contables, cambiarios, aduaneros y legales. (II) Representar a la poderdante en Colombia ante todas las autoridades de impuestos nacionales, departamentales, distritales o municipales, con el fin de firmar todas las declaraciones tributarias, reportes o informes tributarios (nacionales, distritales, departamentales y/o municipales) que estén vigentes a la fecha en que se otorga el presente poder, así como las que en un futuro sean aplicables para la Poderdante. (III) Representar a la poderdante en Colombia ante las

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACIÓN LEGAL

Fecha Expedición: 4 de marzo de 2025 Hora: 10:33:18

Recibo No. AA25298162

Valor: \$ 11,600

CÓDIGO DE VERIFICACIÓN A25298162ED9C4

Verifique el contenido y confiabilidad de este certificado, ingresando a www.ccb.org.co/certificados/electronicos y digite el respectivo código, para que visualice la imagen generada al momento de su expedición. La verificación se puede realizar de manera ilimitada, durante 60 días calendario contados a partir de la fecha de su expedición.

autoridades de comercio para inscribir los libros oficiales, enviar información financiera y empresarial a la Superintendencia de Sociedades, renovar la matrícula mercantil, depositar los estados financieros, renovar, actualizar y/o corregir información en el registro mercantil y/o en el Certificado de Existencia y Representación. Esta facultad incluye la facultad de firmar todos los formatos y/o documentos requeridos para llevar a cabo estas actividades. (IV) Firmar ante el Banco Central de Colombia (Banco de la República) todos los formatos, declaraciones y reportes relacionados con el mercado cambiario. (V) Elevar a escritura pública el presente poder en la notaría colombiana de su elección y para aprobarla y firmarla en nombre de la Poderdante, así como para registrar la mencionada escritura pública ante la Cámara de Comercio de Bogotá y ante la Dirección de Impuestos y Aduanas Nacionales (DIAN), según aplique.

REFORMAS DE ESTATUTOS

Los estatutos de la sociedad han sido reformados así:

DOCUMENTO	INSCRIPCIÓN
E. P. No. 0003295 del 15 de octubre de 1997 de la Notaría 32 de Bogotá D.C.	00608355 del 29 de octubre de 1997 del Libro IX
E. P. No. 0000915 del 3 de abril de 1998 de la Notaría 32 de Bogotá D.C.	00007425 del 20 de abril de 1998 del Libro XIII
E. P. No. 0001998 del 30 de junio de 1999 de la Notaría 52 de Bogotá D.C.	00686586 del 1 de julio de 1999 del Libro IX
E. P. No. 0002500 del 12 de octubre de 2005 de la Notaría 36 de Bogotá D.C.	01020738 del 10 de noviembre de 2005 del Libro IX
E. P. No. 0000591 del 27 de marzo de 2007 de la Notaría 16 de Bogotá D.C.	01120274 del 29 de marzo de 2007 del Libro IX
E. P. No. 00634 del 25 de marzo de 2009 de la Notaría 16 de Bogotá D.C.	00011902 del 14 de abril de 2009 del Libro XIII
E. P. No. 5709 del 14 de agosto de 2013 de la Notaría 9 de Bogotá	00014720 del 30 de agosto de 2013 del Libro XIII

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACIÓN LEGAL

Fecha Expedición: 4 de marzo de 2025 Hora: 10:33:18

Recibo No. AA25298162

Valor: \$ 11,600

CÓDIGO DE VERIFICACIÓN A25298162ED9C4

Verifique el contenido y confiabilidad de este certificado, ingresando a www.ccb.org.co/certificadoselectronicos y digite el respectivo código, para que visualice la imagen generada al momento de su expedición. La verificación se puede realizar de manera ilimitada, durante 60 días calendario contados a partir de la fecha de su expedición.

D.C.

E. P. No. 3437 del 10 de junio de 00015052 del 19 de junio de
2014 de la Notaría 9 de Bogotá. 2014 del Libro XIII

D.C.

Acta No. 55 del 18 de junio de 02516696 del 18 de octubre de
2019 de la Junta de Socios 2019 del Libro IX

Acta No. 65 del 3 de agosto de 02869971 del 19 de agosto de
2022 de la Asamblea de Accionistas 2022 del Libro IX

SITUACIÓN DE CONTROL Y/O GRUPO EMPRESARIAL

Por Documento Privado de Juzgado Primero Municipal de Pequeñas Causas Laborales del 1 de agosto de 1996, inscrito el 8 de agosto de 1996 bajo el Número 00549585 del Libro IX, comunicó la sociedad matriz:

- AGENCE GENERALE DE MARQUES ET DE BREVETS S.A.H.

Domicilio: (fuera del país) que se ha configurado una situación de control con la sociedad de la referencia.

RECURSOS CONTRA LOS ACTOS DE INSCRIPCIÓN

De conformidad con lo establecido en el Código de Procedimiento Administrativo y de lo Contencioso Administrativo y la Ley 962 de 2005, los actos administrativos de registro, quedan en firme dentro de los diez (10) días hábiles siguientes a la fecha de inscripción, siempre que no sean objeto de recursos. Para estos efectos, se informa que para la Cámara de Comercio de Bogotá, los sábados NO son días hábiles.

Una vez interpuestos los recursos, los actos administrativos recurridos quedan en efecto suspensivo, hasta tanto los mismos sean resueltos, conforme lo prevé el artículo 79 del Código de Procedimiento Administrativo y de lo Contencioso Administrativo.

A la fecha y hora de expedición de este certificado, NO se encuentra en curso ningún recurso.

CLASIFICACIÓN DE ACTIVIDADES ECONÓMICAS - CIIU

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACIÓN LEGAL

Fecha Expedición: 4 de marzo de 2025 Hora: 10:33:18

Recibo No. AA25298162

Valor: \$ 11,600

CÓDIGO DE VERIFICACIÓN A25298162ED9C4

Verifique el contenido y confiabilidad de este certificado, ingresando a www.ccb.org.co/certificados/electronicos y digite el respectivo código, para que visualice la imagen generada al momento de su expedición. La verificación se puede realizar de manera ilimitada, durante 60 días calendario contados a partir de la fecha de su expedición.

Actividad principal Código CIIU: 6910**TAMAÑO EMPRESARIAL**

De conformidad con lo previsto en el artículo 2.2.1.13.2.1 del Decreto 1074 de 2015 y la Resolución 2225 de 2019 del DANE el tamaño de la empresa es Mediana

Lo anterior de acuerdo a la información reportada por el matriculado o inscrito en el formulario RUES:

Ingresos por actividad ordinaria \$ 16.072.072.000

Actividad económica por la que percibió mayores ingresos en el período - CIIU : 6910

INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA

Que, los datos del empresario y/o el establecimiento de comercio han sido puestos a disposición de la Policía Nacional a través de la consulta a la base de datos del RUES.

Los siguientes datos sobre RIT y Planeación son informativos: Contribuyente inscrito en el registro RIT de la Dirección de Impuestos, fecha de inscripción : 11 de marzo de 2022. Fecha de envío de información a Planeación : 12 de noviembre de 2024. \n \n Señor empresario, si su empresa tiene activos inferiores a 30.000 SMLMV y una planta de personal de menos de 200 trabajadores, usted tiene derecho a recibir un descuento en el pago de los parafiscales de 75% en el primer año de constitución de su empresa, de 50% en el segundo año y de 25% en el tercer año. Ley 590 de 2000 y Decreto 525 de 2009. Recuerde ingresar a www.supersociedades.gov.co para verificar si su empresa está obligada a remitir estados financieros. Evite sanciones.

El presente certificado no constituye permiso de funcionamiento en ningún caso.

Este certificado refleja la situación jurídica registral de la sociedad, a la fecha y hora de su expedición.

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACIÓN LEGAL

Fecha Expedición: 4 de marzo de 2025 Hora: 10:33:18

Recibo No. AA25298162

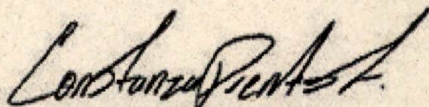
Valor: \$ 11,600

CÓDIGO DE VERIFICACIÓN A25298162ED9C4

Verifique el contenido y confiabilidad de este certificado, ingresando a
www.ccb.org.co/certificados/electronicos y digite el respectivo código, para que visualice la
imagen generada al momento de su expedición. La verificación se puede realizar de manera
ilimitada, durante 60 días calendario contados a partir de la fecha de su expedición.

Este certificado fue generado electrónicamente con firma digital y
cuenta con plena validez jurídica conforme a la Ley 527 de 1999.

Firma mecánica de conformidad con el Decreto 2150 de 1995 y la
autorización impartida por la Superintendencia de Industria y
Comercio, mediante el oficio del 18 de noviembre de 1996.


CONSTANZA PUENTES TRUJILLO

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/261713558>

Genetic Characterization of the cacao (*Theobroma cacao* L.) clone 'CCN 51' and its impact and significance on global cacao improvement and production.

Article in *Journal of the American Society for Horticultural Science* · March 2014

DOI: 10.21273/JASHS.139.2.219

CITATIONS

106

READS

4,072

8 authors, including:



Juan C. Motamayor

Mars, Inc.

156 PUBLICATIONS 3,698 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Freddy Amores

Catholic University of Louvain

37 PUBLICATIONS 949 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Cecile L. Tondo

United States Department of Agriculture

22 PUBLICATIONS 320 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Donald S. Livingstone

65 PUBLICATIONS 1,149 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

Genetic Characterization of the Cacao Cultivar CCN 51: Its Impact and Significance on Global Cacao Improvement and Production

Edward J. Boza

USDA-ARS Subtropical Horticulture Research Station, 13601 Old Cutler Road, Miami, FL 33158

Juan Carlos Motamayor

MARS, Inc., 295 Brown Street, Elizabethtown, PA 17022 C/O USDA-ARS Subtropical Horticulture Research Station, 13601 Old Cutler Road, Miami, FL 33158

Freddy M. Amores

Estación Experimental Tropical Pichilingue, INIAP, Km. 5 via Quevedo-El Empalme, Quevedo, Ecuador

Sergio Cedeño-Amador

Hacienda Cañas, P.O. Box 659, Guayaquil, Ecuador

Cecile L. Tondo

USDA-ARS Subtropical Horticulture Research Station, 13601 Old Cutler Road, Miami, FL 33158

Donald S. Livingstone, III and Raymond J. Schnell

MARS, Inc., 295 Brown Street, Elizabethtown, PA 17022 C/O USDA-ARS Subtropical Horticulture Research Station, 13601 Old Cutler Road, Miami, FL 33158

Osman A. Gutiérrez¹

USDA-ARS Subtropical Horticulture Research Station, 13601 Old Cutler Road, Miami, FL 33158

ADDITIONAL INDEX WORDS. cacao breeding, genetic groups, genetic identity, population structure, SSR, *Theobroma cacao*

ABSTRACT. Cacao (*Theobroma cacao* L.) is an important cash crop in tropical growing regions of the world and particularly for small cacao farmers. Over the past two decades, 'CCN 51' has become one of the most planted cultivars in Ecuador, mainly as a result of its high productivity and disease resistance. Intermixing of Nacional fine flavor Ecuadorian beans with beans of 'CCN 51' has become common practice, reducing overall bean quality and decreasing value. The primary goals of this study were to determine the genetic identity, structure, and allelic richness of 'CCN 51', its maternal origin and to compare 'CCN 51's' agronomic characteristics against a composite group of Nacional cultivars. To investigate the complex genetic background of this cultivar, 70 simple sequence repeat loci were used. The high heterozygosity observed (56 of 70 loci) for 'CCN 51' is not characteristic of traditional Nacional cultivars. Comparison of agronomic characteristics between 'CCN 51' and several Nacional cultivars indicates significant differences in cacao dry bean weight, yield potential, production efficiency, percent healthy pods, and witches' broom [*Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime & Phillips-Mora] disease incidence. Additionally, physical, chemical, and organoleptic characteristics suggest that 'CCN 51' is different from those of Nacional lineage. Based on population structure analysis, the predominant ancestries for 'CCN 51' are Iquitos (45.4%), Criollo (22.2%), and Amelonado (21.5%) genetic groups. A lesser proportion of its genome was accounted for by genetic groups Contamana (3.9%), Purús (2.5%), Maraño (2.1%), and Nacional (1.1%) admixtures. Results of phylogenetic analyses using the unweighted pair group method with arithmetic mean yielding high bootstrap values strongly support the relatedness of 'CCN 51' with Iquitos, Criollo, and Amelonado genetic groups. Moreover, seven mitochondrial simple sequence repeat loci revealed that 'CCN 51' maternally inherited the 'IMC 67' cytotyp. 'CCN 51' constitutes a valuable cacao genetic resource that is currently used not only in its country of origin, but also in many other national breeding and selection programs worldwide.

Received for publication 1 Oct. 2013. Accepted for publication 23 Jan. 2014. We thank MARS, Inc., for funding Trust Agreement #58-6631-6-123: Genetic Improvement of *Theobroma cacao* and the USDA-ARS-SHRs, Miami, FL, cacao program for their partial financial support. We also thank the EET Pichilingue, Ecuador, for support and assistance in the field work and statistical analysis. We are also grateful to Drs. Jose Chaparro, Tomas Ayala-Silva, Brian M. Irish, and Seth D. Findley for their constructive comments and suggestions on the manuscript as well as Kathleen Cariaga for her technical assistance. Finally, we are thankful to Dr. Cristian Melo for providing H. Castro's unpublished technical reports.

¹Corresponding author. E-mail: osman.gutierrez@ars.usda.gov.

Cacao is a diploid ($2n = 2x = 20$) perennial tropical tree belonging to the family Sterculiaceae (Malvaceae *sensu lato*), order Malvales (Alverson et al., 1999; Cope, 1984). It is native to the humid neotropics between latitudes 20° S and 20° N and has been grown for consumption and commerce in the Americas since the times of Olmec, Toltec, Maya, and Aztec civilizations (Henderson et al., 2007; Hurst et al., 2002). According to Cuatrecasas (1964), modern *Theobroma cacao* resulted from hybridization of *T. pentagona* Bern. and

T. leiocarpa Bern. High levels of genetic variability are found in the upper Amazonian region, which is considered the center of highest diversity for cacao, along with greater morphological admixture and disease resistance for the species (Cheesman, 1944; Coe and Coe, 1996; Cuatrecasas, 1964; Motamayor et al., 2008).

Cacao beans (seeds) are the source of chocolate, carbohydrates, fats, proteins, natural minerals, flavonoids, and vitamins, which are the raw materials for a competitive multibillion dollar industry. Cacao is cultivated in commercial plantations around the world (Dantas and Guerra, 2010; Rice and Greenberg, 2000; Steinberg, 2002). Cacao is a major crop in west and central Africa and southeast Asia (Bartley, 2005; Hebbbar et al., 2011; Hurst et al., 2002; Wood and Lass, 1985). Cacao bean production during 2011–12 was ≈ 4.4 million tonnes with a cultivated area over 10 million ha worldwide (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2013). The production chain comprises ≈ 5 to 6 million cacao farmers worldwide and ≈ 40 to 50 million people depend on cacao cultivation for their livelihood (International Cocoa Organization, 2012). Today the Americas produce nearly 13.0% of global cacao production, and Ecuador is ranked eighth in the world (International Cocoa Organization, 2012).

Cacao has been grown in Ecuador since pre-Columbian times; however, much of its history remains unknown. The history of cacao in South America suggests the idea that South American natives did not cultivate cacao or use it as in Mesoamerica and that Spaniards were responsible for bringing cacao cultivation to this part of the continent (Ogata, 2003). Historical evidence and anecdotal information indicate that the first commercial plantings in Ecuador started the early 1600s (Bartley, 2005). Until the beginning of the 20th century, Nacional genetic group cultivars were the only type cultivated in Ecuador (Soria, 1966), resulting in a limited genetic base. In the 1930s, Ecuadorian cacao production suffered a steep decline attributable mainly to a combination of aging plantations and damage caused by disease, specifically witches' broom disease, frosty pod or moniliasis disease (*Moniliophthora roreri* H.C. Evans, Stalpers, Samson & Benny), and mal de machete or ceratocystis wilt disease (*Ceratocystis cacaofunesta* Engelbrecht et Harrington) (Baker and Holliday, 1957; Phillips-Mora et al., 2005; Pound, 1938, 1945; Soria, 1966). There has been a substantial increase in Ecuadorian production since the 1930s, which is primarily the result of substitution of less productive Nacional types by more productive cultivars.

Ecuador's cacao production has become a major export commodity, particularly for fine-flavored cacao recognized for its unique flavor known as "arriba." Major production has been from cacao of the Nacional genetic group, which is renowned for its fine flavor and aroma. Traditional Nacional cultivars, belonging to a distinct genetic population, produce fine flavor cacao beans with the arriba flavor. Nacional genotypes produce large beans and a sweet-tasting pulp. The fermented beans have low acidity, low bitterness, low astringency, and a fruity, floral taste similar to violet, jasmine, lilac, or even orange blossom (Deheuvels et al., 2004; Eskes et al., 2007). However, the potential for fine flavor cacao might be largely influenced by the fermentation process and chocolate production practices (flavor attributes added), which have the capacity to either enhance or degrade the final taste, aroma, and texture of cacao products.

'CCN 51' [Colección Castro Naranjal (CCN)] is currently one of the most important genetic resources and widespread

cultivars in Ecuador. 'CCN 51' was developed by H. Castro in the early 1960s in Ecuador (Castro, 1981) from the following crosses: ('ICS 95' $\times$ 'IMC 67') $\times$ 'Oriente 1'. Castro reported 'Oriente 1' as an accession that he collected on his first trip to the Canelos Valley in the Ecuadorian Amazon. H. Castro, a graduate in Agronomy from the Inter-American Institute for Cooperation on Agriculture (IICA, Turrialba, Costa Rica), was a cacao expert who did most of his research at his own farm called "Theobroma." The earliest report of 'CCN 51' being used in a plantation was in 1965 on a farm called "Sofia" in the Naranjal area, south of Guayaquil. The farm was owned by C. Baquerizo, who was an enthusiastic cacao farmer and supporter of Castro's cacao research. Initial efforts to establish 'CCN 51' clonal planting for large-scale farming dates back to 1985 (Crespo and Crespo, 1997). 'CCN 51' is a highly productive, disease-resistant, and precocious cultivar that produces large pods and beans after only 2 years of transplanting to the field. The beans have high butter content (54%), one of the highest yields for the cacao butter industry. With appropriate pre-drying before box or "yute" (sack) fermentation, the cultivar produces low acidity and acceptable flavor but does not meet the qualification of fine-flavored beans (Amores et al., 2011). 'CCN 51' accounts for $\approx 80,000$ ha of the total planted area in Ecuador and yields an average of 1.0 t ha^{-1} that can be increased to over 3.0 t ha^{-1} under intensive management practices (Amores et al., 2011). Although the pod morphology and tree architecture of 'CCN 51' are distinct from traditional Nacional genotypes, 'CCN 51' is sometimes mistaken for being of Nacional lineage. Thus, a better understanding of the genetic constitution of 'CCN 51' is required for effective use of this valuable resource. A sustainable cacao breeding and selection program in Ecuador has been led by the Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) where an efficient selection process of superior cacao cultivars is in place. The active participation of cacao bean producers enriches the phenotypic and genotypic variability of the cacao genebank held by INIAP at the Estación Experimental Tropical (EET) in Pichilingue, Ecuador (Amores et al., 2011). Within the program, the best hybrid trees are selected and propagated clonally to compare their performance against other high-yielding and disease-resistant cultivars, including 'CCN 51'. The hybrids are compared in multisite trials conducted at both the EET Pichilingue and in farmers' fields (Amores et al., 2011). Now most of the cultivated cacao in Ecuador are Nacional hybrids, derived from hybridization between traditional Nacional and other Trinitario cacao.

Molecular markers such as simple sequence repeat (SSR) and single nucleotide polymorphism are used to study genetic identity and evolutionary relationships in germplasm collections. In cacao, these markers have been used for establishing genotype identities, genetic relationships, identification of genetic gaps, and in marker-assisted selection in both national and international cacao breeding and selection programs (Boza et al., 2013; Irish et al., 2010; Looor et al., 2009; Motamayor et al., 2002, 2003, 2008; Schnell et al., 2005, 2007; Zhang et al., 2006a, 2006b). A study by Motamayor et al. (2008) used SSR markers to improve the understanding of the origin, classification, and population differentiation within *T. cacao*. The study proposed that cacao be classified into 10 genetic clusters as opposed to the two genetic groups traditionally recognized within the species. The major clusters or genetic groups are: Marañon, Curaray, Criollo, Iquitos, Nanay, Contamana,

Amelonado, Purús, Nacional, and Guiana. This new classification more accurately reflects the genetic diversity that is available for breeders.

We report the uniqueness of 'CCN 51', a cultivar that has been widely used in Ecuador and is currently being used as a parent in many cacao breeding and selection programs in other countries. Although 'CCN 51' is prized for its high productivity and disease resistance, it is not favored over other Nacional cultivars by the fine chocolate industry because of its less desirable organoleptic quality. The primary objectives for this study were 1) to determine the genetic identity, structure, and allelic richness of 'CCN 51' based on Motamayor's new classification using SSR markers; 2) to determine the maternal origin of 'CCN 51' cytoplasm using mitochondrial and chloroplast DNA SSR markers; and 3) to compare 'CCN 51's' agronomic characteristics against a composite group of Nacional cultivars for diverse applications in cacao genomics, breeding, and selection programs. The goal of this work is to contribute key information that will be useful to cacao breeders and industry to more effectively use 'CCN 51' in breeding and selection programs. Unraveling the genetic origin of 'CCN 51' will provide an understanding of its genetic composition. In-depth analysis of physical, chemical, and organoleptic characteristics of 'CCN 51' and comparison with those of Nacional genotypes will provide a basis for breeding strategies. An understanding of the genetic constitution of 'CCN 51' will be of great value to breeders and the industry to exploit the favorable attributes of this genotype while removing less desirable characteristics.

Materials and Methods

PLANT MATERIAL, DNA EXTRACTION, AND SSR LOCI. 'CCN 51' cacao leaf material was obtained from different sources for genotype comparison. Young, fully expanded cacao leaves were collected from a single tree at EET Pichilingue in the Province of Quevedo, Ecuador; three trees (45 years old) on Hacienda Sofia, Guayaquil, Ecuador; in addition to a single tree located at the Mars Center for Cocoa Science (MCCS) farm in Bahia, Brazil. Because the original parents of 'CCN 51' as described by Castro (1981) are not available, as an alternative, the putative grandparents, 'ICS 95' (a Trinitario type that was developed from crosses between Criollo and Amelonado genetic group genotypes) and 'IMC 67' (Iquitos mixed Calabacillo, an upper Amazon genotype) as well as individuals representing the genotypes of progenitors for the putative grandparent 'ICS 95', 'LAN 21' (Criollo genetic group), and 'Original Amelonado 2' (Amelonado genetic group) were used in this study. Two trees each of cultivars ICS 95 and IMC 67 were also collected at EET Pichilingue. In addition to collection of this plant material for the purpose of obtaining SSR genotype data, the multilocus SSR genotypes of the available putative ancestors of 'CCN 51' ('ICS 95', 'IMC 67', 'LAN 21', 'Original Amelonado 2') were obtained from Motamayor et al. (2008). Additional multilocus SSR genotypes for other cultivars used in this study were provided by Motamayor et al. (2008) as noted subsequently. For all plant material, genomic DNA was extracted from 200 mg of fresh leaf tissue using a Fast-DNA SPIN kit (MP Biomedicals, Irvine, CA) as previously described (Schnell et al., 2005) except DNA was quantified on using a FLx800 Microplate Fluorescence Reader (Biotek Instruments, Winooski, VT). The study used 70 SSR markers previously

reported by Lanaud et al. (1999) and Saunders et al. (2004) (Table 1). These SSR markers are highly polymorphic, robust, and repeatable in cacao (Lanaud et al., 1999; Saunders et al., 2004). Polymerase chain reaction (PCR) amplification was carried out in a DNA Engine Tetrad 2 Peltier Thermal Cycler (MJ Research, Watertown, MA) as previously described (Motamayor et al., 2008) with the following changes: PCR amplification reactions contained 4 ng of genomic DNA, 0.05 U- μL^{-1} Taq DNA polymerase (New England Biolabs, Ipswich, MA), 1 $\times$ Thermopol buffer (New England Biolabs), 0.5 μM each forward and reverse primers, and 1 mg- mL^{-1} bovine serum albumin.

SSR GENOTYPING. Electrophoretic separation of all PCR products was conducted on an ABI Prism 3730 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA) using Performance Optimized Polymer 7 (POP 7; Applied Biosystems) as previously described by Motamayor et al. (2008). Briefly, after PCR samples were prepared by combining 1.0 μL of PCR product with 20.0 μL of distilled H_2O and 0.1 μL of GeneScan ROX 400HD size standard (Applied Biosystems), they were denatured at 95 $^{\circ}\text{C}$ for 5 min and immediately placed on ice. Electrophoresis was carried out using the default run module for fragment analysis with a 36-cm array. Fragment size and allelic designations of the SSR alleles were accomplished using GeneMapperTM software (Version 4.0; Applied Biosystems).

ALLELE ORIGIN. Allele origin was assigned to each of the 140 'CCN 51' alleles amplified across 70 SSR loci (i.e., two alleles per locus for diploid organisms such as cacao) based on observation of matching with alleles of putative grandparents ('ICS 95' and 'IMC 67') first followed by matching with alleles of putative allele donors [Amelonado genetic group ('Original Amelonado 2') or Criollo genetic group ('LAN 21')] at each of the 70 SSR loci (Table 1).

GENETIC STRUCTURE. Genetic structure analysis was conducted using the model-based Bayesian cluster analysis software Structure Version 2.3.3 (Falush et al., 2003; Pritchard et al., 2000, 2010). The software detects genetic structure and assigns individuals to subpopulations based on multilocus genotypes and allele frequencies (Falush et al., 2003; Pritchard et al., 2000). The Structure program estimates the natural logarithm of the probability $\text{Ln } P(D)$ of a given genotype being part of a given population (K). An admixture model was used with 200,000 replicates after a burn-in period of 100,000 iterations. 'CCN 51' was analyzed using the prior population information option along with 20 multilocus genotype references from each of the 10 previously described cacao genetic groups (Motamayor et al., 2008). The number of clusters was set to $K = 10$ to assign the respective genetic group of correspondence for 'CCN 51'. Structure generates (K) clusters to which individuals are assigned by highest coefficient of membership. Although individuals may have membership in multiple clusters, the overall sum for the individual across clusters adds up to one.

GENETIC RELATIONSHIP. Genetic distance among representatives of the cacao genetic groups (20 reference samples for each of the 10 genetic groups) as well as 'CCN 51', 'IMC 67', and 'ICS 95' were calculated using the Cavalli-Sforza and Edwards genetic distances method of cluster analysis (Cavalli-Sforza and Edwards, 1967). Similarly, genetic distance among cacao genetic group populations, 'CCN 51', 'IMC 67', and 'ICS 95', was calculated. The corresponding genetic distance matrices were used to generate dendrograms

using the unweighted pair group method with arithmetic mean (UPGMA). Populations Version 1.2.32 (Free Software Foundation, Boston, MA) was used, with 1000 bootstrap replica-

tions, to test the reliability and robustness of the dendrograms. The trees were constructed using TreeExplorer Version 2.12 (Tamura et al., 2007).

Table 1. Description of 70 simple sequence repeat (SSR) loci used to investigate the genetic identity of cacao cultivar CCN 51 and results of comparison against ancestral reference genotypes for designation of allele origin to each of the alleles of CCN 51.^a

Locus name	Linkage group no.	Distance (cM)	CCN 51 alleles (bp)		Locus name	Linkage group no.	Distance (cM)	CCN 51 alleles (bp)	
			Allele 1	Allele 2				Allele 1	Allele 2
mTcCIR1	8	1.7	126	138	mTcCIR75	8	4.9	113	119
mTcCIR6	6	—	238	246	mTcCIR77	10	39.0	280	288
mTcCIR8	9	54.6	286	302	mTcCIR80	5	71.1	99	99
mTcCIR9	6	63.1	274	286	mTcCIR81	3	78.4	204	212
mTcCIR10	5	26	203	205	mTcCIR94	1	21.86	190	192
mTcCIR12	4	45.4	187	199	mTcCIR96	9	92.6	133	133
mTcCIR15	1	—	232	232	mTcCIR107	4	27.3	111	117
mTcCIR17	4	31	271	281	mTcCIR109	5	85.4	163	165
mTcCIR18	4	25.8	331	333	mTcCIR116	7	50.0	312	314
mTcCIR19	2	4.4	371	371	mTcCIR119	5	5.2	110	122
mTcCIR21	3	11.5	142	153	mTcCIR124	9	48.6	128	132
mTcCIR24	9	29.2	184	184	mTcCIR126	9	9.9	205	211
mTcCIR25	6	36.3	132	145	mTcCIR127	5	82.5	129	141
mTcCIR26	8	36.3	296	303	mTcCIR135	3	64.7	225	247
mTcCIR32	4	53.5	191	201	mTcCIR138	1	34.8	121	126
mTcCIR35	9	36.1	237	237	mTcCIR141	7	5.0	209	215
mTcCIR37	10	4.0	146	176	mTcCIR146	3	2.18	92	117
mTcCIR49	3	0.0	196	209	mTcCIR148	5	16.0	234	234
mTcCIR54	1	40.3	155	163	mTcCIR149	5	40.0	234	234
mTcCIR64	9	81.3	166	166	mTcCIR155	10	41.8	276	276
mTcCIR73	2	104.4	114	114	mTcCIR167	3	52.8	226	236
mTcCIR168	4	0.0	174	176	mTcCIR235	6	27.6	295	297
mTcCIR181	7	30.9	197	207	mTcCIR238	6	34.8	126	126
mTcCIR184	1	0.0	116	141	mTcCIR255	6	42.6	198	201
mTcCIR186	7	49.2	145	145	mTcCIR264	1	92.1	196	206
mTcCIR189	8	50.5	150	152	mTcCIR265	5	0.0	236	246
mTcCIR190	7	5.3	151	173	mTcCIR266	9	7.0	190	196
mTcCIR193	6	33.8	125	134	mTcCIR277	7	50.3	300	302
mTcCIR194	1	99.1	179	187	mTcCIR289	3	40.3	121	131
mTcCIR204	3	17.6	128	130	SHRSTc3	1	56.9	151	175
mTcCIR222	4	5.6	219	221	SHRSTc5	3	69.8	294	311
mTcCIR227	2	55.1	139	141	SHRSTc7	3	70.0	297	314
mTcCIR230	2	89.7	234	254	SHRSTc11	5	10.2	304	307
mTcCIR233	4	72.1	209	211	SHRSTc19	5	49.0	178	188
mTcCIR234	4	77.6	121	121	SHRSTc21	2	23.8	204	206

^aCCN 51' alleles are color-coded by origin as follows: olive designates alleles inherited from 'ICS 95'; blue designates alleles inherited from 'IMC 67'; green designates alleles present in 'Original Amelonado 2'.

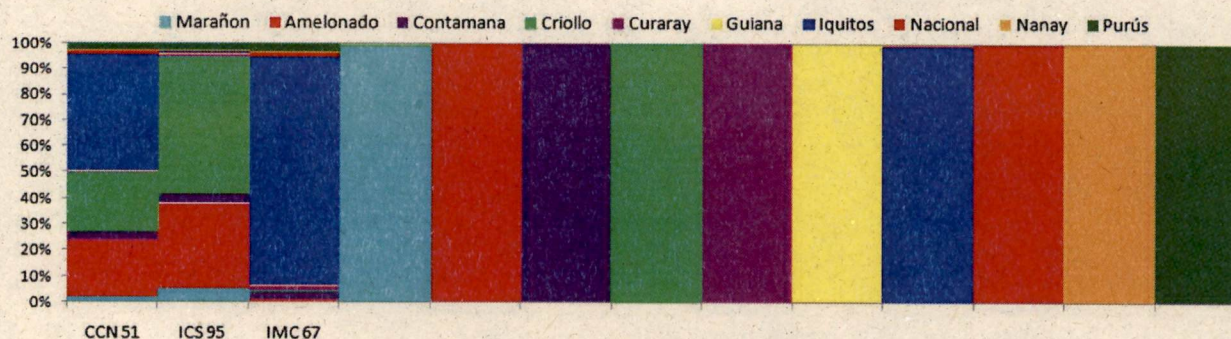


Fig. 1. Population structure analysis of the cacao cultivars CCN 51, ICS 95, IMC 67, and representative genotypes of 10 cacao genetic groups (see color key) produced using Structure Version 2.3.3 (Pritchard et al., 2010). Admixed 'CCN 51' genotype is denoted with multiple colors representing specific genetic groups as are 'ICS 95' and 'IMC 67'.

ORGANELLE ORIGIN. Seven mitochondrial SSR markers (mtTc7, mtTc8, mtTc9, mtTc10, mtTc11, mtTc12, and mtTc13) were developed and used to determine the maternal origin of 'CCN 51' alleles (Table 3). Primers were developed using draft sequence data and assemblies for *T. cacao* mitochondrial and chloroplast genomes that were published with the 'Matina 1/6' nuclear genome sequence (Motamayor et al., 2013). The mitochondrial assembly was screened for potential microsatellites using the Simple Sequence Repeat Server available at the Genome Database for Rosaceae (2013) using default parameters. Additionally, the mitochondrial assembly from 'Matina 1/6' was BLASTed against the *T. cacao* Criollo nuclear genome sequence assembly (Argout et al., 2011); we found that a large portion of the mitochondrial sequence aligned to scaffold Tc05 of the Criollo assembly, suggesting that the mitochondrial sequence may have been positioned within the Criollo nuclear genome assembly. Potential insertions/deletions (in/dels) were identified between the sequences of the aligned regions of Criollo Tc05 and the 'Matina 1/6' mitochondrial assembly. The potential in/dels identified were compared with potential microsatellites identified from the mitochondrial assembly screening. Primers generated by the Simple Sequence Repeat Server were used for loci common to both methods of identification. Additional primers flanking in/dels were designed using Primer3 software. All primers were evaluated for polymorphism across a set of 89 cacao cultivars, representing nine of the 10 genetic groups (excluding the Guiana group) reported in Motamayor et al. (2008). Seven mitochondrial SSR markers were selected for this study and used to amplify 'CCN 51', 'ICS 95', 'IMC 67', and four additional cultivars (LcTEEN 74, LcTEEN 81, Criollo 13, and SCA 6), the DNA of which was obtained from samples used in a previous study (Motamayor et al., 2008). PCR amplification was carried out in a DNA Engine Tetrad 2 Peltier Thermal

Cycler (MJ Research), as described previously for SSR loci, using an annealing temperature of 61 °C. A single chloroplast SSR marker [CaCrSSR1 (forward CATGGATTTCAGCAGCAGTTC, reverse CGAGTCCGCTTATCTCCAAC), GenBank accession No JF979116], previously reported by Yang et al. (2011, 2013), was used to corroborate the results of the mitochondrial DNA data for the maternal origin of 'CCN 51' alleles. Electrophoretic separation of PCR products, fragment size, and allelic designations of the alleles were accomplished as stated previously for SSR genotyping.

AGRONOMIC CHARACTERISTICS. Agronomic characteristics for 'CCN 51' were analyzed and compared against a subset of cacao cultivars of Nacional lineage using the analysis of variance procedure (SAS Version 9.2; SAS Institute, Cary, NC). Trees were planted in a randomized complete block design with four replicates evaluated over a 5-year period (2003–07) at EET Pichilingue. Cacao cultivars were previously propagated by side-grafting the selected cultivar onto cacao rootstocks obtained from open-pollinated seeds of 'IMC 67'. There were 100 trees per cultivar and 25 trees per replicate planted at a distance of 3 m. A custom-designed fertilizer with the final formula of 27N–6.6P–4.2K at a rate of 750 kg·ha⁻¹ was applied at the beginning of each year. No overhead irrigation, chemical weed, or pest controls were used. After harvesting cacao pods, cacao beans were subjected to a natural wooden box fermentation process for 5 to 6 d to kill seed embryo, after which cacao beans were dried until water content was ≈8%. The percentage of healthy pods (no disease observed), total dry weight (grams), yield potential (calculation of hypothetical total yield equivalent to sum of healthy and diseased pods), production efficiency (total annual yield divided by annual transversal section growth of tree), total number of witches' brooms produced during the year, and witches' broom efficiency (total number of witches' brooms divided by annual

Table 2. Comparison of cacao cultivar CCN 51 alleles against alleles of putative ancestral reference genotypes: number of heterozygous and homozygous loci for each cultivar and number of alleles of CCN 51 originating from each putative ancestral genotype.

Category	ICS 95 putative parents		CCN 51 putative grandparents		CCN 51 ^w
	LAN 21 ^z	Original Amelonado 2 ^y	ICS 95 ^x	IMC 67 ^x	
Heterozygous loci (no.)	2	1	55	51	56
Homozygous loci (no.)	65	64	15	19	14
CCN 51 alleles of IMC 67 origin (no.)					70
CCN 51 alleles of ICS 95 origin (no.)					64
CCN 51 alleles of OA 2 ^y origin (no.)					6

^zRepresentative Criollo genotype and putative parent of ICS 95.

^yRepresentative Amelonado genotype and putative parent of ICS 95; OA 2 = Original Amelonado 2.

^xPutative grandparents of CCN 51.

^wOffspring.

Table 3. Cacao mitochondrial simple sequence repeat DNA primers used to determine the maternal or cytoplasmic inheritance of cultivar CCN 51 alleles.

Primer name	Forward sequence	Reverse sequence	Motif	Repeats (no.)	Product size (bp) ^z
mtTc7	ttccagttcttcttccgc	ttgaaagatggcaaaaacc	aaga	3	279
mtTc8	atgagtgacactgatgcttg	tccccgggttaagagtagt	aatt	3	275
mtTc9	cgttacgccccaaatagaa	cttgaccgtgtctgcttcaa	ctaca	3	239
mtTc10	ctttcatggctgaatgggt	cccgaatttcaacaagaa	ta	5	177
mtTc11	caggcccaactgaagaaag	ttcgctgatagtttatggag	tgagtgagg	in/del ^y	250
mtTc12	agatgtgataggctggcgtaa	cgatgtcggattcggattat	catt	in/del ^y	270
mtTc13	gtggaagggaatgctctgctc	tctttctgtctcgtggcta	gtaaa	in/del ^y	312

^zPredicted 'Matina1-6' size.

^yInsertion/deletion.

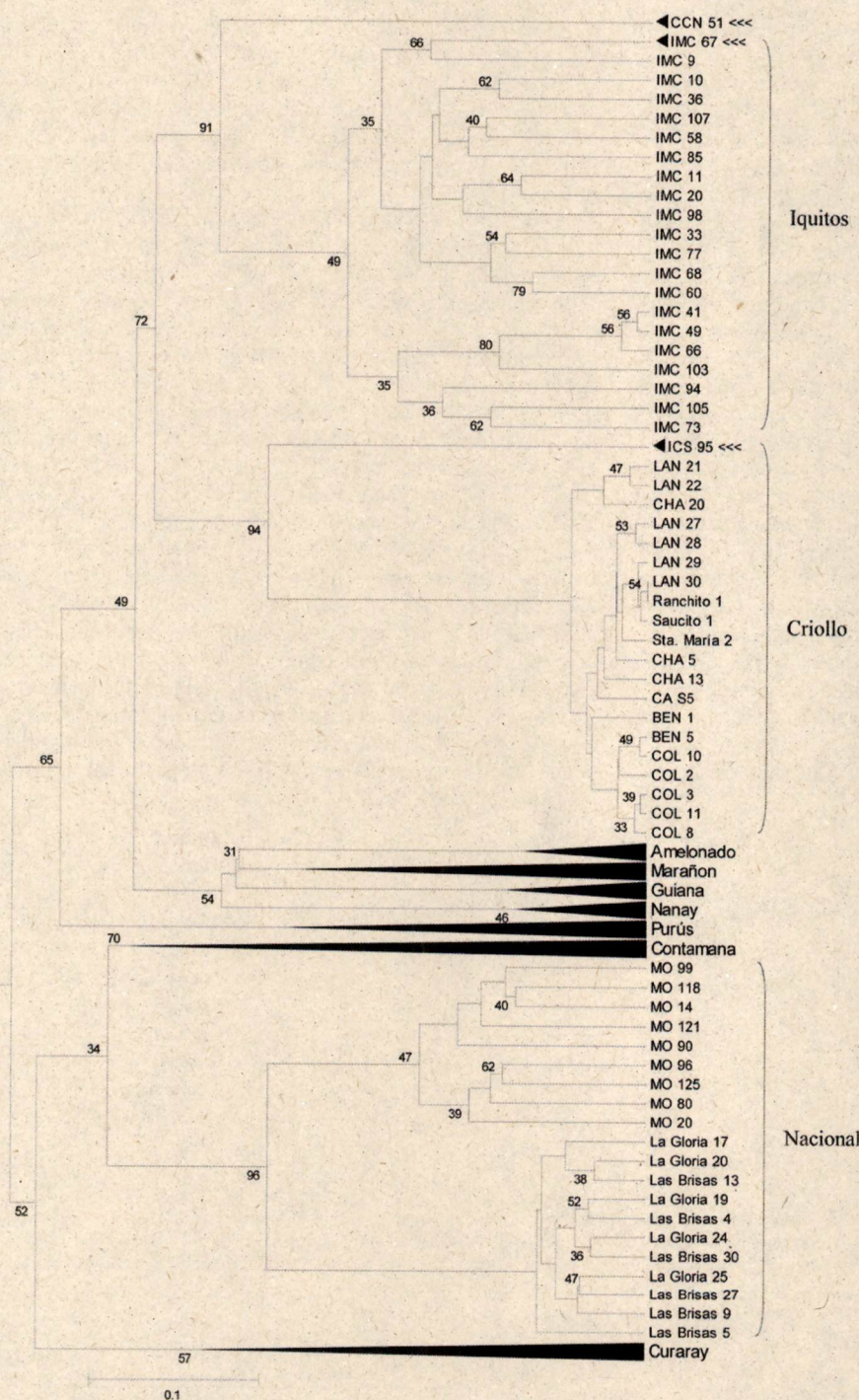


Fig. 2. Phylogenetic relationship of cacao cultivar CCN 51 and representative individual genotypes belonging to 10 genetic groups of cacao described by Motamayor et al. (2008) based on 70 simple sequence repeat (SSR) loci. Bootstrap values (%), based on 1000 replications, are indicated on branches. Cavalli-Sforza and Edwards (1967) genetic distance was used to generate the most parsimonious tree using unweighted pair group method with arithmetic mean (UPGMA). Tree was obtained with TreeExplorer Version 2.12 (Tamura et al., 2007).

transversal section growth of tree) were determined. Additionally, 'CCN 51' was compared with a diverse group of seven Nacional cultivars for physical, chemical, and sensory (organoleptic) characteristics as previously described (Elwers et al., 2009; Sukha and Butler, 2005).

Results

GENOTYPING AND ALLELE ORIGIN.

The 70 SSR markers used to genotype 'CCN 51', the putative grandparents 'ICS 95' and 'IMC 67' as well as putative allele donors ('LAN 21' and 'Original Amelonado 2') generated a total of 220 polymorphic alleles. The multilocus genotypes of all 'CCN 51' trees collected at EET Pichilingue station, at the Sofia farm in Ecuador, and at MCCC in Brazil were identical. No amplification products were observed for 'LAN 21' for primer sets mTcCIR35, mTcCIR81, or SHRSTc5; likewise, no amplification products were observed for 'Original Amelonado 2' for primer sets mTcCIR37, mTcCIR54, mTcCIR138, mTcCIR181, or SHSRtc11. Of the 70 SSR loci analyzed in 'CCN 51', 56 (80%) loci were heterozygous, whereas 14 (20%) were homozygous (Table 1). For the putative grandparents, 'ICS 95' and 'IMC 67', 55 (79%) and 51 (73%) of the loci were heterozygous and 15 (21%) and 19 (27%) were homozygous, respectively (Table 2). Furthermore, for the putative allele donors 'LAN 21' and 'Original Amelonado 2', two of 67 amplified loci (3%) and one of 65 amplified loci (1.5%) were heterozygous, and 65 (97%) and 64 (98%) were homozygous, respectively (Table 2). Multilocus genotype data for putative grandparents ('ICS 95' and 'IMC 67') and putative allele donors ('LAN 21' and 'Original Amelonado 2') were compared with that of 'CCN 51'. It was observed that of the 'CCN 51' alleles, 70 (50%) were of 'IMC 67' origin, 64 (45.7%) were of 'ICS 95' origin, and of the alleles not of 'ICS 95' origin, all six (4.3%) were found within 'Original Amelonado 2'.

GENETIC STRUCTURE. The structure analysis was conducted to infer the admixture composition for 'CCN 51' and to understand its genetic relationship within the cacao genetic groups reported by Motamayor et al. (2008). Results of the structure analysis indicated

that the highest coefficient of genetic similarity for 'CCN 51' was for the Iquitos genetic group (45.4%) followed by the Criollo (22.2%) and Amelonado (21.5%) genetic groups (Fig. 1). A lower proportion of the 'CCN 51' genome was accounted for by Contamana (3.9%), Purús (2.5%), Marañon (1.8%), and

Nacional (1.1%) genetic groups, indicating fewer admixtures of these genetic groups.

GENETIC RELATIONSHIP. Phylogenetic trees constructed to determine the genetic relationships between 'CCN 51' and the 10 genetic groups of cacao reported by Motamayor et al. (2008) are presented in Figures 2 and 3. UPGMA clustering reflects the phylogenetic order of each accession or population. The relationship based on genetic distance among 'CCN 51', 'IMC 67', 'ICS 95', and individual cultivar representatives of the 10 genetic groups agree with results from population structure analysis (Figs. 1 and 2) by clustering 'CCN 51' and 'IMC 67' with the Iquitos population and 'ICS 95' (Criollo and Amelonado genetic groups) with the Criollo population. 'CCN 51', 'IMC 67', and 'ICS 95' also grouped with Iquitos and Criollo genetic groups when the UPGMA method was used and analyzed as a group of individual populations (Fig. 3).

ORGANELLE ORIGIN. Mitochondrial and chloroplast DNA analysis results for 'CCN 51' are presented in Figure 4. Seven mitochondrial DNA markers amplified maternally inherited 'CCN 51' alleles demonstrating them to be of 'IMC 67' origin. All 'CCN 51' alleles for each mitochondrial SSR locus were identical to those alleles amplified for 'IMC 67' suggesting cytoplasmic or maternal inheritance. Additionally, cacao cultivars LcTEEN 74, LcTEEN 81 (Nacional genetic group), Criollo 13 (Criollo genetic group), SCA 6 (Contamana genetic group), and ICS 95 (Trinitario type of Criollo and Amelonado origin) were also amplified and found to have different mitochondrial haplotypes. Moreover, chloroplast SSR marker analyses

corroborated the results of the mitochondrial marker analysis. The chloroplast SSR marker CaCrSSR1 (Yang et al., 2011, 2013) amplified a 392-bp homozygous allele in both 'CCN 51' and 'IMC 67'. A phylogenetic haplotype relationship using UPGMA cluster analysis (Fig. 4) was generated for 'CCN 51', 'IMC 67', 'ICS 95', and other reference haplotypes detected in the analysis.

AGRONOMIC CHARACTERISTICS. Significant differences were observed for all the agronomic traits evaluated between 12 cacao cultivars and 'CCN 51' (Table 4). The difference in cacao bean dry weight between 'CCN 51' and several other Nacional cultivars was highly significant (Table 4). 'CCN 51' produced 89% more dry cacao beans as compared with 'EET 95' and 235% more than 'EET 19', which were the second highest producer and the least productive in the evaluations, respectively. Yield potential for 'CCN 51' was 53% higher than 'EET 574' (second in the test) and 275% over the lowest performer, 'EET 513'. Yield potential and productive efficiency of 'CCN 51' were the highest as compared with the Nacional cultivars. Additionally, 'CCN 51' had the lowest witches' broom incidence and the best witches' broom efficiency as compared with the Nacional cultivars. Differences between Nacional cultivars and 'CCN 51' for physical, chemical, and sensory characteristics were observed (Table 5). Among physical characteristics, 'CCN 51' had the highest average bean weight and lowest pH values for both testa and cotyledon. 'CCN 51' was also ranked second and third on testa (%) and number of beans per 100 g, respectively. Regarding chemical properties,

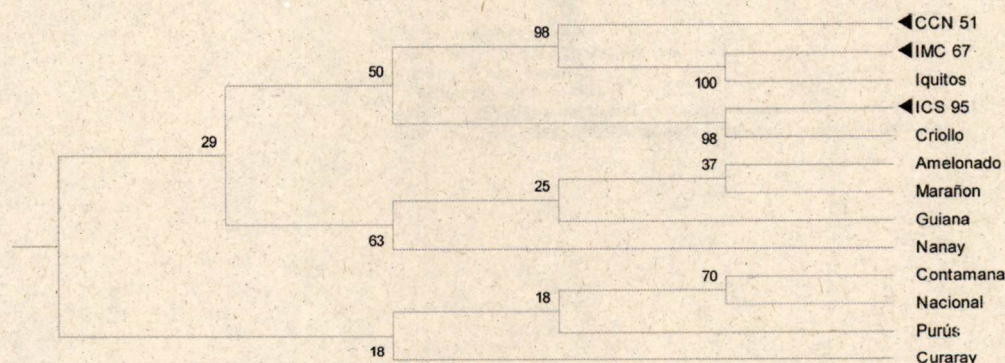


Fig. 3. Phylogenetic relationship of cacao cultivar CCN 51 and 10 genetic groups of cacao described by Motamayor et al. (2008) based on 70 simple sequence repeat (SSR) loci. Bootstrap values (%), based on 1000 replications, are indicated on branches. Cavalli-Sforza and Edwards (1967) genetic distance was used to generate the most parsimonious tree using unweighted pair group method with arithmetic mean (UPGMA). Tree was obtained with TreeExplorer Version 2.12 (Tamura et al., 2007).

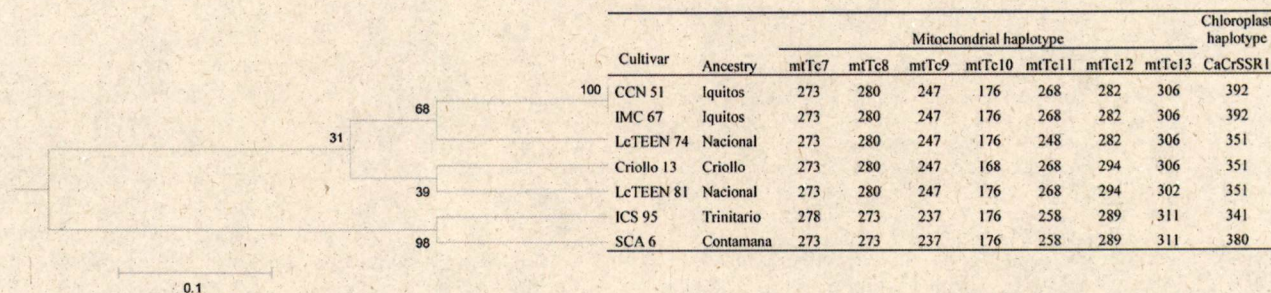


Fig. 4. Phylogenetic relationship, mitochondrial, and chloroplast haplotype product size (bp) for seven mitochondrial loci and one chloroplast locus for 'CCN 51' and six cacao cultivars. Cavalli-Sforza and Edwards (1967) genetic distance was used to generate the most parsimonious tree using unweighted pair group method with arithmetic mean (UPGMA). Tree was obtained with TreeExplorer Version 2.12 (Tamura et al., 2007).

Table 4. Comparison over a 5-year period between cacao cultivar CCN 51 and 12 Nacional cacao cultivars for agronomic characteristics and incidence of witches' broom disease conducted at Estación Experimental Tropical (EET), Pichilingue in the Province of Quevedo, Ecuador.

Cultivar	Healthy pods (%)	Dry wt (kg·h ⁻¹)	Yield potential (kg·h ⁻¹) ^y	Productive efficiency (kg·h ⁻¹) ^x	Total witches' broom (no.)	Witches' broom efficiency (%) ^w
CCN-51	65.42 ab ^z	6,948.66 a	10,939.71 a	118.25 a	19.27 d	0.30 c
EET-103	58.99 bcd	2,924.44 b	5,021.33 bc	58.45 b	48.94 abc	1.01 ab
EET-19	54.10 de	2,074.38 b	3,870.91 bc	33.75 b	65.80 a	1.12 ab
EET-48	51.99 de	2,835.08 b	5,490.40 bc	52.72 b	69.42 a	1.22 a
EET-513	70.74 a	2,080.38 b	2,916.64 c	29.99 b	38.01 bc	0.55 bc
EET-547	62.49 bc	2,735.49 b	4,406.86 bc	49.11 b	57.39 ab	1.03 ab
EET-552	54.85 de	3,284.62 b	5,961.95 b	55.66 b	54.20 ab	0.80 abc
EET-574	50.03 de	3,386.17 b	7,129.05 b	57.24 b	32.25 cd	0.59 bc
EET-577	52.56 de	2,848.09 b	5,478.11 bc	57.08 b	52.93 ab	1.08 ab
EET-578	50.65 de	2,213.52 b	4,257.43 bc	42.97 b	57.47 ab	1.11 ab
EET-62	49.44 e	3,240.32 b	6,502.27 b	58.52 b	59.19 ab	1.05 ab
EET-95	56.89 cde	3,672.62 b	6,458.42 b	65.18 b	52.36 ab	0.95 ab
EET-96	53.01 de	3,261.28 b	6,180.18 c	69.84 b	56.81 ab	1.23 a
Mean	56.24	3,192.70	5,739.48	57.60	51.08	0.93
P value	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
F calculated	10.52**	10.18**	6.84**	6.38**	6.60**	4.51**
F at P ≤ 0.01	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
F at P ≤ 0.05	1.92	1.92	1.92	1.92	1.92	1.92
cv (%)	8.72	29.75	32.08	36.17	25.78	35.25

^zMean separation in columns by analysis of variance procedure (SAS Version 9.2; SAS Institute, Cary, NC). Similar letters have no significant difference at $P \leq 0.05$.

^yCalculation of hypothetical total yield equivalent to sum of healthy and diseased pods.

^xTotal annual yield divided by annual transversal section growth of tree.

^wTotal number of witches brooms produced during the year divided by annual transversal section growth of tree.

**Significant at $P \leq 0.01$.

'CCN 51' had the highest percent fat, polyphenol content, and theobromine/cafeine (T/C) ratio. In organoleptic properties, 'CCN 51' exhibited a moderate amount of cocoa flavor and higher levels of bitterness and astringency.

Discussion

Over the last few decades, great effort has been made to improve Ecuadorian cacao production for agronomic yield, disease resistance, improved genetics, and fine flavor characteristics. Ecuador was second to Brazil in total cacao production in the Americas during the period 2008–11 (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2013). Cacao production in Ecuador over the last 6 years increased from ≈104,000 to 180,000 t with a cultivated area of over 400,000 ha (Asociación Nacional de Exportadores de Cacao, 2013). This represents a significant increase of 73.8%; in contrast, Brazil only experienced an increase of 23% (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2013). This success in Ecuador was achieved by the national breeding and selection program pursuing a more efficient selection of superior cacao cultivars and hybrid trees for clonal propagation. 'CCN 51' was developed and selected by H. Castro in the early 1960s; as a result of its high yield potential and disease resistance, the cultivar has played a unique role in increasing the cacao bean production in the country. Witches' broom disease drastically reduced and impacted vast areas of cultivated cacao in Ecuador since it was first reported in the 1930s (Baker and Holliday, 1957; Bartley, 2005; Pound, 1938, 1945; Soria, 1966). However, even in areas with high witches' broom disease inoculum and

disease pressure, 'CCN 51' is still highly tolerant. These agronomic and disease severity differences were also observed when 'CCN 51' was evaluated against genotypes of Nacional origin grown in other countries (F.M. Amores, unpublished data). Similar observations have been obtained for genotypes derived from families in which 'CCN 51' was used as a parent as determined by tests conducted at the EET Pichilingue (J.C. Motamayor, unpublished data). These observed differences are therefore likely attributable to the general and specific combining ability of 'CCN 51'. This suggests the presence of both additive and dominance gene action effects with a significant role in the inheritance of superior traits, as observed in 'CCN 51', that are taken advantage of in the breeding of new cacao cultivars. The exploitation of heterosis or hybrid vigor is one of the best breeding strategies used in cacao improvement. Selection and combination of best parents in crossing schemes based on general and specific combining ability continue to be an important approach for selection of favorable genes in cacao. In addition, the information available from the two cacao genome sequence projects will expedite the selection of elite cacao trees by detecting and using mutations in the genetic code associated with cacao diseases and identifying those gene clusters with the greatest influence on desirable traits.

Despite the complexity initially suspected for the 'CCN 51' pedigree, the present study provides evidence of the origin and inheritance of each individual allele observed for the 70 assayed loci. This study assigned the origin of the majority of 'CCN 51' alleles to 'IMC 67' and 'ICS 95'. However, a small number of alleles (six) were found in 'Original Amelonado 2', the putative

Table 5. Physical, chemical, and sensory characteristics for cacao cultivar CCN 51 and a diverse group of Nacional genotypes conducted at Estación Experimental Tropical (EET), Pichilingue in the Province of Quevedo, Ecuador.

Characteristic	CCN 51	EET 103	EET 62	EET 95	La Gloria	Las Brisas	Voluntad de Dios	Santa Lucia
Physical								
Avg bean wt (g)	1.54	1.39	1.52	1.46	1.17	1.22	1.34	1.20
Testa (%)	12.1	12.0	12.6	12.2	13.7	13.3	13.4	13.4
Beans (no./100 g)	73.6	71.4	67.7	72.4	85.1	81.1	72.7	94.0
pH of testa	4.8	5.2	5.4	5.0	5.4	5.4	5.5	5.6
pH of cotyledon	5.7	5.9	5.8	6.0	5.8	5.8	5.8	5.8
Chemical								
Fat (%)	50.3	47.4	48.4	48.3	45.8	47.2	49.3	47.9
Polyphenols (mg·g ⁻¹)	85.6	66.3	75.5	79.1	46.3	54.5	75.0	65.5
Theobromine (%)	2.2	2.3	2.2	2.3	1.9	1.8	2.3	2.2
Caffeine (%)	0.3	0.4	0.5	0.4	0.4	0.4	0.5	0.4
T/C ^a	6.9	5.5	4.7	5.2	5.0	4.6	5.0	5.6
Glucose	0.2	0.2	0.2	0.1	0.2	0.3	0.2	0.3
Fructose	0.4	0.5	0.5	0.4	0.6	0.5	0.5	0.6
Sucrose	0.8	0.6	0.6	0.6	0.8	0.5	0.5	0.6
Organoleptic								
Cocoa	3.3	1.3	4.7	1.8	5.7	3.7	3.3	3.0
Floral	0	1.0	3.0	1.4	3.0	4.7	1.3	3.0
Fruity	0	2.0	1.3	1.1	1.3	2.3	1.0	1.3
Nutty	0	0.1	0.0	0.3	0.3	0.1	0.0	0.2
Caramel	0	0	0	0	0	0	0	0
Bitterness	4.3	3.3	4.7	3.6	4.7	3.0	4.3	3.7
Acidity	1.0	0.8	2.7	2.0	1.0	3.0	2.7	3.7
Astringency	6.3	5.8	5.0	3.9	5.0	3.7	4.3	6.0
Floral grassy	0	0	0	0	0	0	0	0

^aTheobromine/caffeine ratio.

progenitor of 'ICS 95'. Considerable genetic variation was detected by these 70 loci predicting a heterozygosity level of 80% for 'CCN 51', yet the presence of high heterozygosity in 'CCN 51' is not consistent with that of traditional Nacional genotypes, which are highly homozygous (Amores et al., 2011; Soria, 1966). However, the minor amount of Nacional ancestry of 1.1% that was detected in 'CCN 51' is insignificant in relation to the entire genome, and it can be accounted for by residual admixture. The Nacional lineage includes genotypes from the Amazonian side of the Andes (Morona, Nangaritza, and Zamora rivers) as well as the Pacific side; however, these two groups can be distinguished based on their allelic frequencies, likely reflecting centuries of human selection in the Ecuadorian Coast (Motamayor et al., 2008). Geographic location or local selective adaptation may also have played a role in driving divergence and structuring the Nacional population, because ecosystems in the mountain and the Pacific plain areas differ in many respects, contributing to its genetic differences. Furthermore, the evolutionary potential of the Nacional genetic group may be largely dependent on levels and patterns of genetic variation. However, the amount of that variation may have been determined by the effective population size, historical events, mating systems, and population structure. In addition, gene flow and selection pressure also contribute to population differentiation shaping the genetic structure both within and among populations.

Interpopulation differences in allele frequency distribution are also significant among Nacional, Iquitos, Criollo, and Amelonado genetic groups including those genetic groups that compose the residual admixture of 'CCN 51' (Motamayor et al., 2008). This variation in the allele frequencies for the SSR

loci contributed significantly to the genetic discrimination of the lineage of 'CCN 51', and this was confirmed based on its multilocus genotype and genetic structure analysis using the bayesian method for individual assignment. The Nacional lineage is a distinctive genetic group of cacao with a fine flavor not found in other types of cacao with evidence of high homozygosity and low introgression levels (Loor et al., 2012; Zhang et al., 2008, 2012). Although fine flavor is known to be largely influenced by the fermentation process, great effort has been made over the past few years to improve the selection and breeding programs for this trait in Ecuador. However, this specific characteristic may have been eroded by successive introductions of foreign germplasm whose hybrid descendants have gradually replaced native plantations (Loor et al., 2009). The structure analysis results indicate that the origin of 'CCN 51' is based on its hybridization, suggesting the IMC type as the primary genetic source followed by Criollo and Amelonado ancestries. Substantial differentiation occurred across the geographic range of these genetic groups. Overall, the genetic differentiation within these lineages may largely have occurred as a result of spatial variation in selection pressures, genetic drift, or the joint effects of both processes.

Ecuadorian cacao is recognized internationally for its fine arriba flavor and quality. Typically, fine flavor is associated with Criollo or Trinitario genetic backgrounds. However, traditional Nacional, a genetically distinct population (Loor et al., 2012; Motamayor et al., 2008), also produces fine flavor cacao beans. Research conducted to compare 'CCN 51' and several Nacional cultivars for physical, chemical, and organoleptic characteristics suggests that 'CCN 51' is distinct from the Nacional genotypes. 'CCN 51' showed the highest

average bean weight, fat percent, and T/C ratio; however, 'CCN 51' has less desirable traits such as a low pH for both testa and cotyledon, moderate to low amount of cocoa flavor, and high levels of bitterness and astringency. However, bitterness and astringency can be significantly reduced by a pre-drying process before box fermentation takes place. These latter characteristics make 'CCN 51' less attractive to high-end, fine-flavored chocolate makers as compared with traditional Nacional cultivars.

In plants, the direct maternal ancestor can be traced using mitochondrial and chloroplast DNA. Mitochondrial and chloroplast DNA have successfully determined genetic relationships in previous studies (Nishikawa et al., 2002, 2005; Wolfe et al., 1987). Mitochondrial DNA data reported in this study suggest 'IMC 67' as a maternal ancestor of 'CCN 51' based on the cytoplasmic inheritance of 'CCN 51' alleles from 'IMC 67' origin. The chloroplast DNA data corroborate the results of the mitochondrial DNA data. Allele origin analysis using 70 genomic DNA SSR loci reported in this study indicates the genetic pedigree of 'CCN 51' could be the product of a cross between 'IMC 67' as one of the parents and a Trinitario genotype genetically very similar to 'ICS 95' as the other parent. Therefore, because the accession 'Oriente 1' cannot be located and no information is available about its genetic constitution (with the exception that it was collected in Ecuadorian Amazon), it appears that the genetic foundation of 'CCN 51' is comprised of alleles of 'IMC 67' origin as well as those of traditional Trinitario origin (Criollo × Amelonado). Furthermore, the structure and genetic relationship analysis additionally support these findings because they reveal that 'CCN 51' has alleles belonging to the Iquitos, Criollo, and Amelonado genetic groups in its genetic lineage. Moreover, after a widespread search by INIAP researchers and other independent cacao researchers in Ecuador for the 'Oriente 1' accession, it has not been found.

'CCN 51' often is used as a parent in crosses as a result of its high general and specific combining ability and it has had a major impact on the breeding programs in Ecuador and other cacao breeding and selection programs worldwide. The present study provides and summarizes agronomic characteristic comparisons between cultivar CCN 51 and several traditional Nacional cultivars. It also presents an in-depth analysis of 'CCN 51' physical, chemical, and organoleptic characteristics. This work has significantly improved our understanding of 'CCN 51's' genetic constitution that will allow for optimizing breeding schemes for the genetic improvement of complementary traits of inter- and intragenetic groups in cacao. One of the key goals of the genotypic characterization of cultivar CCN 51 was to dissect its genetic variation, expressed in a manner that can be useful to cacao breeders and producers. The important outcomes that have emerged from this effort highlight the future direction for their use in functional genomics. An understanding of the genetic constitution of 'CCN 51' will be of great value to cacao breeders and industry for improving unattractive characteristics of this genotype while taking advantage of the favorable traits.

Literature Cited

Alverson, W.S., B.A. Whitlock, R. Nyffeler, C. Bayer, and D.A. Baum. 1999. Phylogeny of the core Malvales: Evidence from ndhF sequence data. *Amer. J. Bot.* 86:1474–1486.

- Amores, F.M., S.A. Vasco, A.B. Eskes, C. Suarez, J.G. Quiroz, R.G. Llor, J.C. Jimenez, J. Zambrano, M.J. Bolaños, V.H. Reynel, M.M. Teran, and G.C. Quijano. 2011. On-farm and on-station selection of new cocoa varieties in Ecuador, p. 59–72. In: Eskes, A.B. (ed.). Collaborative and participatory approaches to cocoa variety improvement. Final report of the CFC/ICCO/Bioversity International project on cocoa productivity and quality improvement: A participatory approach (2004–2010). Common Fund for Commodities (CFC), Amsterdam, The Netherlands; Intl. Cacao Organization (ICCO), London, UK; Bioversity Intl., Rome, Italy.
- Argout, X., J. Salse, J.M. Aury, M.J. Guiltinan, G. Droc, J. Gouzy, M. Allegre, C. Chaparro, T. Legavre, S.N. Maximova, M. Abrout, F. Murat, O. Fouet, J. Poulain, M. Ruiz, Y. Roguet, M. Rodier-Goud, J.F. Barbosa-Neto, F. Sabot, D. Kudrna, J.S. Ammiraju, S.C. Schuster, J.E. Carlson, E. Sallet, T. Schiex, A. Dievart, M. Kramer, L. Gelley, Z. Shi, A. Bérard, C. Viot, M. Boccara, A.M. Risterucci, V. Guignon, X. Sabau, M.J. Axtell, Z. Ma, Y. Zhang, S. Brown, M. Bourge, W. Golser, X. Song, D. Clement, R. Rivallan, M. Tahj, J.M. Akaza, B. Pitollat, K. Gramacho, A. D'Hont, D. Brunel, D. Infante, I. Kebe, P. Costet, R. Wing, W.R. McCombie, E. Guiderdoni, F. Quetier, O. Panaud, P. Wincker, S. Bocs, and C. Lanaud. 2011. The genome of *Theobroma cacao*. *Nat. Genet.* 43:101–108.
- Asociación Nacional de Exportadores de Cacao. 2013. ANECACAO, Asociación nacional de exportadores de cacao. Guayaquil, Ecuador. 13 Dec. 2013. <<http://www.anecacao.com/>>.
- Baker, R.E.D. and P. Holliday. 1957. Witches' broom disease of cocoa (*Marasmius perniciosus* Stahel). *Phytopathology Papers* 2. Commonwealth Mycol. Inst., Kew, UK.
- Bartley, B.G.D. 2005. The genetic diversity of cacao and its utilization. CAB Intl., Wallingford, UK.
- Boza, E.J., B.M. Irish, A.W. Meerow, C.L. Tondo, O.A. Rodríguez, M. Ventura-López, J.A. Gómez, J.M. Moore, D. Zhang, J.C. Motamayor, and R.J. Schnell. 2013. Genetic diversity, conservation, and utilization of *Theobroma cacao* L.: Genetic resources in the Dominican Republic. *Genet. Resources Crop Evol.* 60:605–619.
- Castro, H.U. 1981. Posibilidad de creación de una nueva variedad de cacao de fruto hexalocular por cruzamiento entre flores mutantes hexameras. *Arch. Victor Chacon Salinas, Jesus Maria, Quito, Ecuador.*
- Cavalli-Sforza, L.L. and A.W.F. Edwards. 1967. Phylogenetic analysis: Models and estimation procedures. *Evolution* 21:550–570.
- Cheesman, E.E. 1944. Notes on the nomenclature, classification and possible relationship of cocoa populations. *Trop. Agr.* 21:144–159.
- Coe, S.D. and M.D. Coe. 1996. The true history of chocolate. Thames and Hudson, London, UK.
- Cope, F.W. 1984. Cacao *Theobroma cacao* (Sterculiaceae), p. 285–289. In: Simmonds, N.W. (ed.). *Evolution of crops plants*. Longman, London, UK.
- Crespo, E. and F. Crespo. 1997. Cultivo y beneficio del cacao CCN-51. Editorial El Conejo, Quito, Ecuador.
- Cuatrecasas, J. 1964. Cacao and its allies. A taxonomic revision of the genus *Theobroma*. *Contrib. U.S. Natl. Herbarium* 35:375–614.
- Dantas, L.G. and M. Guerra. 2010. Chromatin differentiation between *Theobroma cacao* L. and *T. grandiflorum* Schum. *Genet. Mol. Biol.* 33:94–98.
- Deheuvels, O., B. Decazy, R. Perez, G. Roche, and F. Amores. 2004. The first Ecuadorean 'Nacional' cocoa collection based on organoleptic characteristics. *Trop. Sci.* 44:23–27.
- Elwiers, S., A. Zambrano, C. Rohsius, and R. Lieberei. 2009. Differences between the content of phenolic compounds in Criollo, Forastero and Trinitario cocoa seed (*Theobroma cacao* L.). *Eur. Food Res. Technol.* 229:937–948.
- Eskes, E.B., D. Guarda, L. Garcia, and P. Garcia. 2007. Is genetic variation for sensory traits of cocoa pulp related to fine flavor cocoa traits? *INGENIC Nwsl.* 11:22–28.
- Falush, D., S. Matthew, and J.K. Pritchard. 2003. Interference of population structure using multilocus genotype data: Linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics* 164:1567–1587.

- Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2013. FAOSTAT, Food and agriculture organization of the United Nations. 12 Dec. 2013. <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>.
- Genome Database for Rosaceae. 2013. GDR, Genome database for Rosaceae. Genomic genetic and breeding resources for Roseaceae crop improvement. 3 Apr. 2013. <<http://www.rosaceae.org/node/55>>.
- Hebbbar, P., H.C. Bittenbender, and D. O'Doherty. 2011. Farm and forestry production and marketing profile for cacao (*Theobroma cacao*). 10 Dec. 2013. <http://agroforestry.net/scps/Cacao_specialty_crop.pdf>.
- Henderson, J.S., R.A. Joyce, G.R. Hall, W.J. Hurst, and P.E. McGovern. 2007. Chemical and archeological evidence for the earliest cacao beverages. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104:18937–18940.
- Hurst, W.J., S.M. Tarka, T.G. Powis, F. Valdez, and R.T. Hester. 2002. Cacao usage by the earliest Maya civilization. *Nature* 418:289–290.
- International Cocoa Organization. 2012. Cocoa market update. 20 Mar. 2012. <<http://worldcocoafoundation.org/wp-content/uploads/Cocoa-Market-Update-as-of-3.20.2012.pdf>>.
- Irish, B.M., R. Goenaga, D. Zhang, R.J. Schnell, and J.S. Brown. 2010. Microsatellite fingerprint of the USDA-ARS Tropical Agriculture Research Station cacao (*Theobroma cacao* L.) germplasm collection. *Crop Sci.* 50:656–667.
- Lanaud, C., A.M. Risterucci, I. Pieretti, M. Falque, and A. Bouet. 1999. Isolation and characterization of microsatellites in *Theobroma cacao* L. *Mol. Ecol.* 8:2141–2143.
- Loor, R.G., O. Fouet, A. Lemaingue, S. Pavék, M. Boccara, X. Argout, F. Amores, B. Courtois, A.M. Risterucci, and C. Lanaud. 2012. Inside into the wild origin, migration and domestication history of the fine flavor Nacional *Theobroma cacao* L. variety from Ecuador. *PLoS One* 7:e48438.
- Loor, R.G., A.M. Risterucci, B. Courtois, O. Fouet, M. Jeanneau, E. Rosenquist, F. Amores, A. Vasco, M. Medina, and C. Lanaud. 2009. Tracing the native ancestors of the modern *Theobroma cacao* L. population in Ecuador. *Tree Genet. Genomes* 5:421–433.
- Motamayor, J.C., P. Lachenaud, J.W. da Silva e Mota, R. Loor, D.N. Kuhn, J.S. Brown, and R.J. Schnell. 2008. Geographic and genetic population differentiation of the Amazonian chocolate tree (*Theobroma cacao* L.). *PLoS One* 3:e3311.
- Motamayor, J.C., K. Mockaitis, J. Schmutz, N. Haiminen, D. Livingstone, O. Comejo, S.D. Findley, P. Zheng, F. Utro, S. Royaert, C. Saski, J. Jenkins, R. Podicheti, M. Zhao, B.E. Scheffler, J.C. Stack, F.A. Feltus, G.M. Mustiga, F. Amores, W. Phillips, J.P. Marelli, G.D. May, H. Shapiro, J. Ma, C.D. Bustamante, R.J. Schnell, D. Main, D. Gilbert, L. Parida, and D.N. Kuhn. 2013. The genome sequence of the most widely cultivated cacao type and its use to identify candidate genes regulating pod color. *Genome Biol.* 14:R53.
- Motamayor, J.C., A.M. Risterucci, M. Heath, and C. Lanaud. 2003. Cacao domestication. II: Progenitor germplasm of Trinitario cacao cultivar. *Heredity* 91:322–330.
- Motamayor, J.C., A.M. Risterucci, P.A. Lopez, C.F. Ortiz, A. Moreno, and C. Lanaud. 2002. Cacao domestication. I: The origin of the cacao cultivated by the Mayas. *Heredity* 89:380–386.
- Nishikawa, T., B. Salomon, T. Komatsuda, R. von Bothmer, and K. Kodowaki. 2002. Molecular phylogeny of the genus *Hordeum* using three chloroplast DNA sequences. *Genome* 45:1157–1166.
- Nishikawa, T., D.A. Vaughan, and K. Kodowaki. 2005. Phylogenetic analysis of *Oryza* species, based on simple sequence repeats and their flanking nucleotide sequences from the mitochondrial and chloroplast genomes. *Theor. Appl. Genet.* 110:696–705.
- Ogata, N. 2003. Domestication and distribution of the chocolate tree (*Theobroma cacao*) in Mesoamerica, p. 415–433. In: Gómez-Pompa, A., M.F. Allen, S.L. Fedick, and J.J. Jimenez-Osornio (eds.). *The lowland Maya area: Three millennia at the human-wildland interface*. Haworth Press, Binghamton, NY.
- Phillips-Mora, W., J. Castillo, U. Krauss, E. Rodriguez, and M.J. Wilkinson. 2005. Evaluation of cacao (*Theobroma cacao*) clones against seven Colombian isolates of *Moniliophthora roreri* from four pathogen genetic groups. *Plant Pathol.* 54:483–490.
- Pound, F.J. 1938. Cacao and witches' broom disease (*Marasmius perniciosus*) of South America, with notes on other species of *Theobroma*. Youille's Printerie, Port-of-Spain, Trinidad and Tobago, 9–49. Reprinted 1982. *Arch. Cocoa Res.* 1:21–64.
- Pound, F.J. 1945. A note about the cacao populations of South America. *Rpt. Proc. Cocoa Res. Conf.*, London. Colonial 192:95–7. Reprinted 1982. *Arch. Cocoa Res.* 1:93–97.
- Pritchard, J.K., S. Donnelly, and P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155:945–959.
- Pritchard, J.K., X. Wen, and D. Falush. 2010. Documentation for STRUCTURE software: Version 2.3. 19 Mar. 2013. <http://pritch.bsd.uchicago.edu/structure_software/release_versions/v2.3.3/structure_doc.pdf>.
- Rice, R.A. and R. Greenberg. 2000. Cacao cultivation and the conservation of biological diversity. *Ambio* 29:167–173.
- Saunders, J.A., S. Mischke, E.A. Leamy, and A.A. Hemeida. 2004. Selection of international molecular standards for DNA fingerprinting of *Theobroma cacao* L. *Theor. Appl. Genet.* 110:41–47.
- Schnell, R.J., D.N. Kuhn, J.S. Brown, C.T. Olano, W. Phillips-Mora, F.M. Amores, and J.C. Motamayor. 2007. Development of a marker assisted selection program for cacao. *Phytopathology* 97:1664–1669.
- Schnell, R.J., C.T. Olano, J.S. Brown, A.W. Meerow, C. Cervantes-Martinez, C. Nagami, and J.C. Motamayor. 2005. Retrospective determination of the parental population of superior cacao (*Theobroma cacao* L.) seedlings and association of microsatellites alleles with productivity. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 130:181–190.
- Soria, V.J. 1966. Principales variedades cultivadas en América tropical. *Turrialba* 16:261–266.
- Steinberg, M.K. 2002. The globalization of a ceremonial tree: The case of cacao (*Theobroma cacao*) among the Mopan Maya. *Ecol. Bot.* 56:58–65.
- Sukha, D.A. and D.R. Butler. 2005. The CFC/ICCO/INIAP cocoa flavor project: Investigating the spectrum of fine flavor within genotypes and between origins. *INGENIC Nwsl.* 10:22–25.
- Tamura, K., J. Dudley, M. Nei, and S. Kumar. 2007. MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol. Biol. Evol.* 24:1596–1599.
- Wolfe, K.H., W.H. Li, and P.M. Sharp. 1987. Rates of nucleotide substitution vary greatly among plant mitochondrial, chloroplast, and nuclear DNAs. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:9054–9058.
- Wood, G.A.R. and R.A. Lass. 1985. Cacao. 4th Ed. Iowa State Univ. Press, Ames, IA.
- Yang, J.Y., L.A. Motilal, H. Dempewolf, K. Maharaj, and Q.C. Cronk. 2011. Chloroplast microsatellite primers for cacao (*Theobroma cacao*) and other Malvaceae. *Amer. J. Bot.* 372–374.
- Yang, J.Y., M. Scascitelli, L.A. Motilal, S. Saemundur, J.M.M. Engels, N.C. Kane, H. Dempewolf, D. Zhang, K. Maharaj, and Q.C.B. Cronk. 2013. Complex origin of Trinitario-type *Theobroma cacao* (Malvaceae) from Trinidad and Tobago revealed using plastid genomics. *Tree Genet. Genomes* 9:829–840.
- Zhang, D., E. Arevalo-Gardini, S. Mischke, L. Zúñiga-Cernades, A. Barreto-Chavez, and J. Adiazola del Aguila. 2006a. Genetic diversity and structure of managed and semi-natural populations of cacao (*Theobroma cacao*) in the Huallaga and Ucayali valleys of Peru. *Ann. Bot. (Lond.)* 98:647–655.
- Zhang, D., S. Mischke, R. Goenaga, A.A. Hemeida, and J.A. Saunders. 2006b. Accuracy and reliability of high-throughput microsatellite genotyping for cacao clone identification. *Crop Sci.* 46:2084–2092.
- Zhang, D., M. Boccara, M. Lambert, D.R. Butler, P. Umaharan, S. Mischke, and L. Meinhardt. 2008. Microsatellite variation and population structure in the 'Refractario' cacao of Ecuador. *Conserv. Genet.* 9:327–337.
- Zhang, D., W.J. Martínez, E.S. Johnson, E. Somarriba, W. Phillips-Mora, C. Astorga, S. Mischke, and L.W. Meinhardt. 2012. Genetic diversity and spatial structure in a new distinct *Theobroma cacao* L. population in Bolivia. *Genet. Resources Crop Evol.* 59:239–252.

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/357578537>

Theobroma cacao L. cultivar CCN 51: A comprehensive review on origin, genetics, sensory properties, production dynamics, and physiological aspects

Article in PeerJ · January 2022

DOI: 10.7717/peerj.12676

CITATIONS

42

READS

905

7 authors, including:



Ramon E. Jaimez
Universidad técnica de Manabí (Ecuador) University of the Andes (Venezuela)

96 PUBLICATIONS 994 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Miguel Fernández-Niño
Institute of Agrochemistry and Food Technology

68 PUBLICATIONS 337 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



George Alexander Cedeño García
Universidad Técnica de Manabí

17 PUBLICATIONS 102 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Ignacio Sotomayor
Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias

19 PUBLICATIONS 173 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

Theobroma cacao L. cultivar CCN 51: a comprehensive review on origin, genetics, sensory properties, production dynamics, and physiological aspects

Ramon E. Jaimez¹, Luigy Barragan², Miguel Fernández-Niño³,
Ludger A. Wessjohann³, George Cedeño-García¹, Ignacio
Sotomayor Cantos⁴ and Francisco Arteaga¹

¹ Facultad de Ingeniería Agronómica, Universidad Técnica de Manabí, Manabí, Ecuador

² Mars La Chola MLCH C.L., Guayas, Ecuador

³ Department of Bioorganic Chemistry, Leibniz-Institute of Plant Biochemistry, Halle (Saale), Germany

⁴ Estación Experimental Tropical Pichilingue, Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Los Ríos, Ecuador

ABSTRACT

Many decades of improvement in cacao have aided to obtain cultivars with characteristics of tolerance to diseases, adaptability to different edaphoclimatic conditions, and higher yields. In Ecuador, as a result of several breeding programs, the clone CCN 51 was obtained, which gradually expanded through the cacao-production regions of Ecuador, Colombia, Brazil and Peru. Recognized for its high yield and adaptability to different regions and environments, it has become one of the most popular clones for breeding programs and cultivation around the world. This review aims to summarize the current evidence on the origin, genetics, morphological, volatile compounds, and organoleptic characteristics of this clone. Physiological evidence, production dynamics, and floral biology are also included to explain the high yield of CCN 51. Thus, characteristics such as osmotic adjustment, long pollen longevity, and fruit formation are further discussed and associated with high production at the end of the dry period. Finally, the impact of this popular clone on the current and future cacao industry will be discussed highlighting the major challenges for flavor enhancement and its relevance as a platform for the identification of novel genetic markers for cultivar improvement in breeding programs.

Subjects Agricultural Science, Genetics, Plant Science

Keywords *Theobroma cacao*, Ecuadorian cacao, Cacao, CCN 51, Cacao ecophysiology, Chocolate quality

INTRODUCTION

The recent archaeological evidence shows the use of cacao (*Theobroma cacao* L.) 5,300 years ago in Santa Ana-La Florida in the Zamora-Chinchipe province in the South-East of Ecuador, the upper part of the Amazon (Zarrillo *et al.*, 2018). Cacao was probably already cultivated by the year 1600 and the largest Ecuadorian cacao productions were plantations located in the tributaries upstream of Guayaquil city. At that time, Ecuadorian cacao

Submitted 3 September 2021

Accepted 2 December 2021

Published 5 January 2022

Corresponding authors

Ramon E. Jaimez,
rjaimezarellano@gmail.com

Miguel Fernández-Niño,
mfernand@ipb-halle.de

Academic editor

Mohamed Farag

Additional Information and
Declarations can be found on
page 16

DOI 10.7717/peerj.12676

© Copyright
2022 Jaimez et al.

Distributed under
Creative Commons CC-BY 4.0

OPEN ACCESS

was known as ‘Cacao de Arriba’ (name attributed to the high-quality cacao produced in the Ecuadorian district “Arriba” (currently known as Los Rios Province)). Higher production and quality of cacao in this province compared with other production provinces (e.g., Machala, Manabí, and Balao) were attributed to a deep alluvial soil, better drainage due to its higher altitude above sea level, a low prevalence of strong winds, and high rainfall (Maiguashca, 2014). In 1890, Ecuadorian cacao exports increased to 12000 t compared to the 6000 t that was produced in 1850 (Maiguashca, 2014). Over time, Ecuador began to have a large number of cacao cultivars as a result of the hybridization of Ecuadorian “Nacional” cacaos with Trinidadian, Venezuelan, and Amazonian cultivars, introduced in the 1940s (Arosemena, 1991). Since that time, several international and national cacao collections were established, which provided an opportunity for Ecuador to carry out breeding programs to obtain clones that were evaluated in various locations. In these programs, Nacional-type cultivars were first selected based on their yield, which exceeded the national averages of that time and delivered to the producers by the Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) at the end of the 1950s. The breeding programs continued with the idea to achieve Nacional cacaos with higher yields, and for the first time in the 70s, INIAP released Nacional-type clones to producers. In this period, there were also breeding trials carried out by personal initiatives and private companies. From these the clone CCN 51 emerged, a clone of high yield, interestingly unrelated to Nacional cacao. This clone showed its great adaptability to a variety of climates and today it is cultivated in all cacao regions of Ecuador (Amores et al., 2011; Sánchez-Mora et al., 2015), in some regions of Colombia (Sánchez et al., 2007; Quintana Fuentes et al., 2015a), Peru (Tuesta Hidalgo et al., 2014; Hernández Calderón & Gonzáles Hidalgo, 2016), Brazil (Reges et al., 2021) and some Central American countries such as Guatemala. CCN 51 has physiological, floral biology, and production characteristics that give it greater productivity and adaptation to different environments varying from areas characterized by high rainfall to others with dry climates. Little research has been performed to dissect the physiological characteristics and production dynamics that give CCN 51 its high performance in different edaphoclimatic conditions. The objective of this review is therefore to discuss the evidence that until now exists in gas exchange, floral biology, water relations, and production dynamics, to explain how they interrelate and contribute to the high yields of CCN 51. Firstly, the origin, genetic and organoleptic characteristics of this popular clone are summarized. Then, the behavior of physiological traits (i.e., CO₂ assimilation rates (A), water relations, chlorophyll (Chl_a) parameters, and osmotic adjustment) in periods of dry and rain in different environments are shown. In addition, the production dynamics and its relationship with floral biology are also analyzed to show its implications in greater productions. Finally, the relevance of this clone in the current and future cacao industry is discussed based on the reviewed data. This manuscript represents the first comprehensive review for this widespread popular clone, and it will constitute a valuable tool for future physiological, breeding, genetic, biochemical, and sensory studies.

RATIONALE FOR THE CURRENT REVIEW

As mentioned before, the popularity of CCN 51 has been increased worldwide (especially in Latin America) due to its high productivity, resistance to diseases, and adaptability to a large number of ecogeographical regions and environments. Consequently, the number of hectares planted with this popular clone has increased, thus contributing to the regional rise in cacao production. At the same time, small producers have placed their expectations on this clone in hope of achieving a significant reactivation of their farms. This manuscript represents the first comprehensive review for this widespread popular clone. Here, we summarize the current evidence on the origin, genetics, morphological and organoleptic characteristics of CCN 51. Its relevance in the current and future cacao industry is discussed based on the reviewed data. Moreover, we also highlighted the major challenges for its flavor enhancement and its application as a platform for cultivar improvement in breeding programs.

This article is intended for cacao researchers around the world and, it will be also beneficial to local cacao producers and cacao companies specially located in Latin America.

SEARCH METHODOLOGY

Literature was reviewed using six electronic databases (*i.e.*, PubMed, Google Scholar, EBSCO, ScienceDirect, Wiley, and SciELO). English and Spanish language articles (published in peer-reviewed journals between earliest record and August 1, 2021). Literature was searched using (“CCN 51” OR “Theobroma cacao CCN 51”). AND (“genetics” OR “origin” OR “sensory”, “flavor” OR “QTL mapping” OR “physiology” OR “production” OR “floral biology” OR “yield” OR “osmotic adjustment” OR “fruit formation” OR “gas exchange” OR “pollen longevity” OR “cacao industry” OR “fine-flavour” OR “breeding”) as search terms in the title and abstract. Duplicated publications were manually removed by REJ and MFN, thus obtaining a total of 82 peer-reviewed selected publications. This review includes four main sections: first, a compressive review of CCN 51 relevance, origin, and genetics, second, a review of its sensory profile and flavor chemistry, third, a review on its physiological characteristics and finally, a conclusion section on current challenges and perspectives for CCN 51 utilization.

THE RELEVANCE OF CCN 51 FOR CACAO PRODUCTION IN LATIN AMERICA

Possibly the creator of CCN 51, Homero Castro Zurita, did not imagine that this clone would be so productive and adaptable to a wide variety of places (Fig. 1), as has been extensively reported (Boza *et al.*, 2014; Díaz-Valderrama, Leiva-Espinoza & Catherine Aime, 2020; Fernandes *et al.*, 2020; Reges *et al.*, 2021). As shown in Fig. 1, he obtained this clone from the crosses (IMC-67 X ICS-95) x “Canelo” (Oriente 1) in his Theobroma farm in the Naranjal region (Guayas Province, Ecuador) in response to a devastating incidence of witches’ broom disease in Ecuador by 1960 (Castro, 1981). The “Sofia” farm, located in the Naranjal region, was the first farm to be reported with CCN 51 plantations in

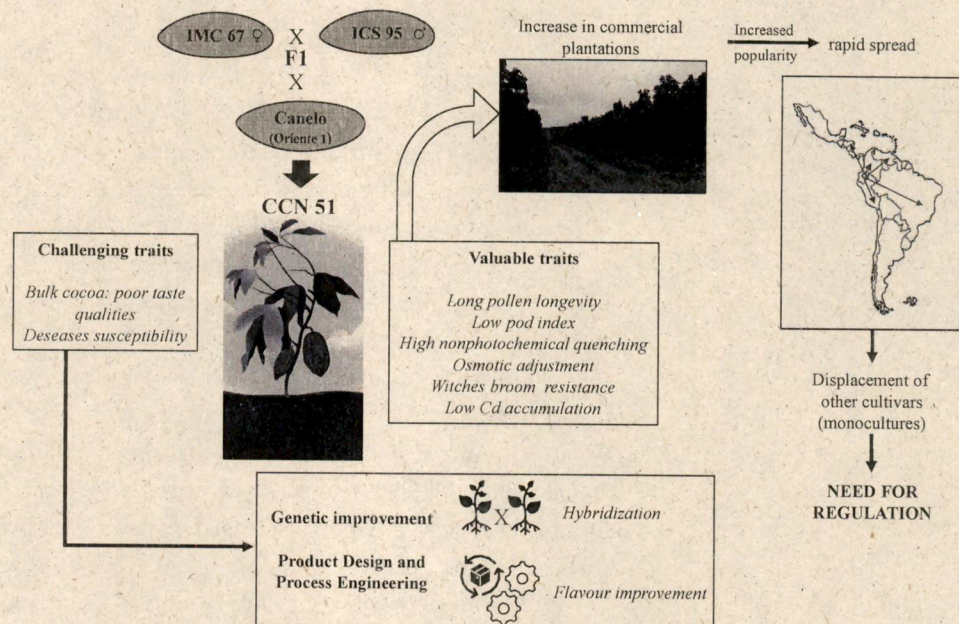


Figure 1 Origin, distribution, and relevance of CCN 51 for cacao production in Latin America. CCN 51 was obtained from the crosses (IMC-67 X ICS-95) x “Canelo” (Oriente 1) in the Naranjal region (Guayas Province, Ecuador). The rapid spread of this clone in Latin America has been mainly associated with its valuable traits. Additional research is still required to improve CCN 51 challenging traits and regulate its utilization.

Full-size [DOI: 10.7717/peerj.12676/fig-1](https://doi.org/10.7717/peerj.12676/fig-1)

1965 (Crespo del Campo & Crespo Andia (1997)). Its commercial plantations began in Ecuador in 1985, and thirty years later, by 2015, the Association of cacao exporters of Ecuador (ANECACAO) reported an estimated cacao production of 260000 t, of which 30% corresponded to CCN 51, that is, 120000 t. In 2018, the National Institute of Statistics and Censuses of Ecuador (INEC) reported 573000 hectares of cacao, of which 70% corresponded to CCN 51. It is also worth noting that 54% of Peruvian production, which is 84700 t, comes from CCN 51 (Hernández Calderón & Gonzáles Hidalgo, 2016) and the popularity of this clone is also increasing in other countries of the region (Fig. 1) including Colombia, Panama, Guatemala, and Brazil (Sanchez, Zambrano & Iglesias, 2019). The rapid spread of this clone in Latin America has been associated with its valuable traits as described in Fig. 1. One of the most important traits of CCN 51 is its remarkable productivity, with estimated yields of 1300-1800 kg/ha, which on average is higher than for other economically relevant clones in the region, as reported for Ecuador (Ramlachan et al., 2009; Boza et al., 2014; Sánchez-Mora et al., 2015; Jaimez et al., 2018), Colombia (Puentes-Páramo, Menjivar-Flores & Aranzazu-Hernández, 2014) and Brazil (Reges et al., 2021)

ORIGIN AND GENETICS

As mentioned before, CCN 51 is traditionally recognized as a clone originated from the triple cross of (IMC-67 X ICS-95) × “Canelo” (Oriente 1). ICS-95 (Imperial college selection) is a Trinitario clone with parental contributions from lower Amazon Forastero and Criollo (Lanaud, Motamayor & Risterucci, 2001), whereas IMC-67 is an upper Amazon Forastero collected from Peru (Lanaud, Motamayor & Risterucci, 2001; Bekele & Phillips-Mora, 2019). In 2014, Boza and co-workers reported novel molecular evidence on the origin of this clone by multilocus genotyping and studying its gene structure (Boza et al., 2014). In their work, they confirmed the clones IMC 67 and ICS 95 as parentals for CCN 51. Nuclear, mitochondrial, and chloroplast DNA analysis revealed IMC 67 (i.e., the maternal allele donor with a significant contribution to the global genetic structure) as a principal genetic origin followed by ICS 95 (a cultivar that originated from the hybridization of Criollo and Amelonado) and finally some alleles related to the Iquitos, Criollo, and Amelonado genetic groups. These groups belong to the new classification proposed by Motamayor et al. (2008) that reflects the existence of genetic diversity which is very different from that previously proposed with only two segregated groups (Criollo and Forasteros) (Motamayor et al., 2008). Interestingly, the Oriente 1 cultivar (collected by Castro in the Ecuadorian Amazon) (Castro, 1981) was not found in germplasm collections, thus the authors did not find any genetic information that can be related to this clone (Boza et al., 2014).

The work from Boza et al. (2014) also highlighted the wide differences between CCN 51 and the Nacional fine-flavor cultivars. Unlike Nacional cultivars, CCN 51 has high heterozygosity (80%) and only 1.1% of its analyzed alleles were associated with the Nacional ones (Boza et al., 2014). CCN 51 is highly appreciated for its high tolerance to diseases and its productivity, however, it is currently considered as a “bulk” type cacao lacking the valuable fine-flavor profile of Nacional types as will be discussed below (Quintana Fuentes et al., 2015b; Perea et al., 2017; Rottiers et al., 2019). Unfortunately, intermixing CCN 51 and fine-flavor cultivars has become a frequent practice by some local farmers in Ecuador, which is currently affecting its value as a premium commodity (Motamayor et al., 2013; Nader, Brendel & Schubert, 2016). Consequently, several alternatives have been developed to identify adulteration of Nacional beans with CCN-51. A popular method relies on the phenotypic evaluation of CCN 51 traits (e.g., yield, beans weight, pod color, and flavor). Thus, CCN 51 cultivar is distinguished by its oblong-shaped fruits, with an obtuse apex, red when immature, and orange when they reach maturity (Fig. 2). It has purple seeds with an average length of 25 mm and a diameter of 14 mm (Perea et al., 2017). This clone is also recognized by its heavier beans as compared to other clones, which has been recently reported as an attribute in clones with Criollo ancestry (Doaré, Ribeyre & Cilas, 2020). Nevertheless, phenotypic evaluation is an expensive and vague method, even when a quick method using computational images has been also developed to differentiate CCN 51 and Nacional beans in mixtures (Jimenez et al., 2018a). Consequently, several molecular-based approaches have been developed recently for CCN 51 identification (Herrmann et al., 2014; Vargas Jentzsch et al., 2016; Scharf, Lang & Fischer, 2020; Stagnati et al., 2020). These methods include DNA fingerprinting of liquor using Simple Sequence Repeats (SSR)

profiling (Stagnati *et al.*, 2020), Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) profiling of chloroplast DNA (Herrmann *et al.*, 2014), Raman Spectroscopy of cacao beans (Vargas Jentzsch *et al.*, 2016), and even CRISPR/Cas9-based *in vitro* approach targeting specific SNPs in CCN 51 DNA (Scharf, Lang & Fischer, 2020).

The characterization of several DNA sequences for CCN 51 traceability has improved the knowledge regarding SNPs that can be used for mapping experiments aimed to identify genetic determinants associated with the higher tolerance to diseases and productivity in other cultivars using the CCN 51 as reference parental. Thus, in the last six years, several Quantitative Trait Loci (QTL) mapping experiments have been performed using CCN 51 as one of the parental, which allowed the identification of genes in other cultivars responsible for tolerance to Witches' broom disease (Royaert *et al.*, 2016; Santana *et al.*, 2018), black pod disease (Barreto *et al.*, 2015; Barreto *et al.*, 2018; Villamizar-Gallardo, Osma & Ortiz-Rodriguez, 2019), Ceratocystis wilt Disease (Fernandes *et al.*, 2018), fat content and fatty acid composition (Mustiga *et al.*, 2019) and recently the genetic basis for exceptional yield (Fernandes *et al.*, 2020). These kinds of studies are crucial for the subsequent design of novel hybridization programs and the identification of molecular targets for clone improvement.

SENSORY PROFILES AND FLAVOR CHEMISTRY

As mentioned before, CCN 51 is considered by the International Cacao Organization (ICCO) as a bulk cacao (*i.e.*, ordinary cacao) lacking many of the valuable floral, nutty, and fruity attributes identified in premium fine-flavor cultivars. Up to now, two different approaches have been used to determine its sensory profile: (1) a descriptive evaluation by a trained sensory panel (Quintana Fuentes *et al.*, 2015b; Quintana Fuentes, García Jerez & Moreno Martínez, 2018), and (2) metabolic profiling of volatile compounds *via* gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and GC electronic nose (Kadow *et al.*, 2013; Pallares-Pallares, Perea-Villamil & López-Giraldo, 2016; Rottiers *et al.*, 2019).

Sensory evaluation by trained panels has been performed for CCN 51 liquor obtained from samples collected in different harvesting periods (*i.e.*, 2012, 2013, 2015, and 2018) and from different ecogeographic regions in Colombia by Quintana and co-workers (Quintana Fuentes *et al.*, 2015b; Quintana Fuentes, García Jerez & Moreno Martínez, 2018). The authors defined CCN 51 as a cultivar characterized by strong acidity, bitterness, and astringency with the additional presence of undesirable green flavors. However, their data also revealed the presence of slight notes of fine-flavor attributes (*i.e.*, floral, nutty, and fruity), yet not sufficient to be classified as fine-flavor (Quintana Fuentes *et al.*, 2015b). Interestingly, mixtures of this clone with fine-flavor cultivars have been shown to improve their sensory profile (Quintana Fuentes, García Jerez & Moreno Martínez, 2018) becoming an alternative for flavor enhancement. Nevertheless, research in this regard is still in its infancy and additional experiments still have to be performed to evaluate the sensory profile of popular mixtures used by the farms in different regions.

In 2013, Kadow and Co-workers studied the presence of fine-flavor compounds in CCN 51 by GC/MS and compared their results with the profile of two popular fine-flavor cultivars (Kadow *et al.*, 2013). The authors reported a lower abundance of monoterpenes



Figure 2 CCN 51 oblong-shaped fruits with an obtuse apex. Pictures of plants growing at the Universidad Técnica de Manabí, Ecuador.

Full-size [DOI: 10.7717/peerj.12676/fig-2](https://doi.org/10.7717/peerj.12676/fig-2)

and secondary alcohols (potential sources of fine-flavor notes) in CCN 51 as compared to the evaluated fine-flavor cultivars. For instance, the presence of monoterpenes like linalool (frequently associated with floral and fruity notes) and other compounds such as

isoamylacetate, or undecanone was shown to occur in lower and sometimes undetectable amounts in CCN 51 as compared to fine-flavor cultivars (Kadow *et al.*, 2013). Recently, similar results have been observed when comparing the volatile profile of CCN 51 and four different Nacional cultivars (*i.e.*, EET-103, EET-559, EET-576, and EET-577) (Rottiers *et al.*, 2019). In this recent study, the authors performed a deeper characterization of CCN 51 by using headspace–solid-phase microextraction (HS–SPME) combined with GC–MS (Rottiers *et al.*, 2019). Thus, seventy volatile compounds were identified, grouped in odor/flavor groups and their estimated concentration compared across the evaluated clones as shown in Table 1. GC–MS data confirmed the previously described sensory profile of CCN 51 with a lower content of volatile compounds related to floral and fruity attributes as compared to Nacional cultivars. Interestingly, nutty-associated compounds were found at lower concentrations in CCN 51 as compared to other cultivars or even not detectable as, *e.g.*, is the case for pyrrole-2-carboxaldehyde. As reported in the panel's evaluation, Rottiers *et al.* also confirmed the presence of higher concentrations of undesirable compounds (off-flavors) associated with sour, pungent, and rancid attributes in CCN 51 (Rottiers *et al.*, 2019). Interestingly, the concentration of compounds associated with chocolate notes was higher in CCN 51 as compared to the Nacional types, which is also in agreement with the results observed in sensory panel evaluations (Quintana Fuentes *et al.*, 2015b).

The influence of a pre-drying step (before the fermentation process) on the sensory profile of CCN 51 has been determined by HS–SPME–GC–MS (Pallares-Pallares, Perea-Villamil & López-Giraldo, 2016). Drying of the fermentation mass several hours before fermentation was shown to reduce astringency and bitterness (Jimenez *et al.*, 2018b), and resulted in a lower concentration of undesirable compounds (Pallares-Pallares, Perea-Villamil & López-Giraldo, 2016). It is important to mention that some variations in the flavor quality also depend on the conditions under which the fermentation, drying, and roasting processes take place, in addition to the selected cultivar (Luna *et al.*, 2002). Thus, the addition of pre-drying steps, a decrease in the humidity of the bean mass, the assisted increased temperature, and other post-harvest pre-treatments could be alternatives to improve the sensory quality of CCN 51 as it has been shown for other cultivars (Hii *et al.*, 2011). Very recently, a controlled postharvest process for enhancing fine flavor attributes in CCN 51 has been proposed (Santander *et al.*, 2021). The authors developed a laboratory-controlled fermentation using acidic reagents that lead to an improvement in flavor profiling. This kind of study is very promising and further research is required to bring these protocols into large-scale industrial fermentations. In this regard, additional experiments will be required to elucidate a process that can be engineered to enhance fine-flavor attributes in CCN 51 and to reduce the concentration of undesirable compounds.

It is important to mention that up to now, there are no studies related to the identification of bioactive compounds (flavonoids, bioactive peptides, vitamins, etc.) in cacao products obtained from cultivar CCN 51. This is a relevant topic that still must be explored as it could open novel business opportunities for this clone in the nutraceutical, cosmetic and pharmaceutical industry beyond chocolate.

Table 1 Estimated concentration of volatile compounds determined by HSSPMEGCMS of cocoa liquors obtained from beans of CCN 51 and four Nacional type cultivars. (Adapted from *Rottiers et al. (2019)*). Mean values standard $\pm$ deviations are shown.

Flavor group	Concentration ($\mu\text{g/g}$ liquor)				
	CCN 51	EET 103	EET 559	EET 576	EET 577
Fruity-associated compounds (e.g., furaneol, 2-Pentanol, Ethyl acetate and Limonene)	4.88 $\pm$ 0.12	7.53 $\pm$ 0.65	7.20 $\pm$ 0.36	6.83 $\pm$ 0.43	6.53 $\pm$ 0.36
Floral-associated compounds (e.g., Linalool, 2-Phenylacetaldehyde, Acetophenone and β -Myrcene)	5.80 $\pm$ 0.07	6.76 $\pm$ 0.06	3.95 $\pm$ 0.20	5.22 $\pm$ 0.30	5.16 $\pm$ 0.26
Chocolate/nutty-associated compounds (e.g., Tetramethylpyrazine, 3-Methylbutanal, 2,3-Dimethylpyrazine, and Pyrrole-2-carboxaldehyde)	16.85 $\pm$ 0.30	9.54 $\pm$ 0.32	12.69 $\pm$ 0.76	11.89 $\pm$ 0.73	10.30 $\pm$ 0.48
Buttery/creamy-associated compounds (e.g., 2,3-Butanedione, 2,3-Pentanedione, 3-Hydroxy-2 butanone and Butyrolactone)	4.00 $\pm$ 0.15	1.81 $\pm$ 0.04	4.75 $\pm$ 0.29	2.37 $\pm$ 0.11	2.03 $\pm$ 0.16
Undesirable (Off-flavor)-associated compounds (e.g., Acetic acid, Propionic acid, 3-Methylbutanoic acid, 2-Methylpropanoic acid)	32.92 $\pm$ 0.89	23.64 $\pm$ 0.77	31.04 $\pm$ 2.39	24.31 $\pm$ 1.21	25.07 $\pm$ 1.97

PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS AND IMPLICATION FOR AGRONOMICAL MANAGEMENT

Gas exchange and osmotic adjustment

Cacao is a crop that adapts to shady conditions (*Almeida & Valle, 2007*), but for CCN 51 it has been found that it has higher CO_2 assimilation rates (A) in open field conditions compared to growing it in shade in agroforestry systems, as reported by *Suárez Salazar et al., 2018*. For the Amazon region of Colombia, these authors reported maximum rates of A of $8 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ at full solar exposure, while cultivation under trees, where the density of photosynthetic photon flux (DFF) that reaches CCN 51 is $400 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ at times of higher radiation, only A maxima of $3 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ have been measured. However, in shade, the quantum efficiency is significantly higher ($3.8 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$), as compared to plants grown at full exposure ($3.1 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$). The highest rates of A in this study at full exposure may be related to the specific leaf area (SLA). In their study, *Suárez Salazar et al.* reported SLA values of $149 \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$ at high radiation and $185 \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$ at low radiation (*Suárez Salazar et al., 2018*). Also, in plants grown under full sun exposure, *Jaimez et al. (2018)* in Ecuador reported A of $8.5 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ and $5.3 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ at DDF of $1000 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ and $400 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectively (*Jaimez et al., 2018*). Under these conditions of full sun exposure, they reported an SLA of $116 \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$.

Subsequent trials in CCN 51 seedlings grown under DFF conditions of 2000, 1150 and $630 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ showed significant decreases of A ($4 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$) under DFF 2000 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ in comparison to the other two radiation conditions that showed A between $7\text{--}8 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Low and significant A at high radiation is also manifested in other cultivars (ICS 1, ICS 95, Luker 40, and Luker 50). (*Suárez Salazar et al., 2021*). Decreases in

A at high radiation rates are related to also significant decreases in foliar water potentials (Suarez Salazar *et al.*, 2021). However, a characteristic that stands out of CCN 51 is the increase in the non-photochemical quenching of Chla at higher radiation as compared to other cultivars (Suarez Salazar *et al.*, 2021) which allows greater heat dissipation of Chl excitation and protection of the photosynthetic apparatus. CCN 51 has exhibited A less than $2.8 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ in plants of 1.5 years of age, planted in pots and growing under conditions of DFF below $400 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Baligar *et al.*, 2008; Baligar *et al.*, 2021), which coincides with field values reported by Suárez Salazar *et al.* (2018) for shaded plants in agroforestry systems (Suárez Salazar *et al.*, 2018). The increase in A rates under high radiation conditions in CCN 51 is also reported for other Ecuadorian clones with A values similar to those obtained in CCN 51 (Jaimez *et al.*, 2018). It seems that in environments of high cloudiness that predominate at the Ecuadorian coast and in the Colombian Amazon, growing cacao under shady conditions can limit its maximum photosynthetic capacity due to excess shade. In addition, keeping the cacao under excessive shade can increase the incidence of frosty pod rot infection (*Moniliophthora roreri*) (Gidoín *et al.*, 2014).

Under dry conditions without irrigation, Tezara Fernández *et al.* (2020) reported A values of around $5 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ with DFF of $1000 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ in the province of Esmeraldas, Ecuador. Despite the decrease in A rate in the dry period, CCN 51 maintained a higher yield (above 1200 kg ha^{-1}). Like other cacao cultivars in Ecuador, CCN 51 maintains higher rates of stomatal conductance (between $250\text{--}350 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) (Tezara Fernández *et al.*, 2020; Jaimez *et al.*, 2018). In these high conductances in plantations under full sun exposure, CCN 51 exhibits water use efficiency (WUE) around $2.3 \text{ mmol mol}^{-1}$. Concerning other Ecuadorian cultivars, they are intermediate values (Tezara Fernández *et al.*, 2020; Jaimez *et al.*, 2018). Other cultivars of Criollo type in field conditions have shown greater WUE in dry periods ($3.5\text{--}4.5 \text{ mmol mol}^{-1}$), and in other cultivars, higher WUE has been obtained in periods of rain (Ávila Lovera *et al.*, 2016).

Several cacao cultivars have shown osmotic adjustment (Rada *et al.*, 2005; Almeida *et al.*, 2002), which has been attributed to increases in K and P under conditions of water deficit (Almeida *et al.*, 2002). In cacao, it has previously been shown that maintaining higher osmotic adjustments contributes to a lower number of dead juvenile plants during the dry season (Araque *et al.*, 2012). In the case of CCN 51, using 18-month-old juvenile plants sown in pots and subjected to different amounts of irrigation (varying between 100 to 40% of evapotranspiration), it has been observed osmotic adjustments of 0.60 MPa in plants watered with 60% of evapotranspiration (Arteaga, 2020). Table 2 summarizes the osmotic potential at full turgor (Ψ), at the point of turgor loss (Ψ) and, the osmotic adjustment obtained for 6 years old trees (from 3 clones (EETP-800, EETP-801 and CCN 51)) in field conditions during the dry and rainy season in Quevedo, Ecuador, according to methodology reported by Tyree & Jarvis (1982) and Schulte & Hinckley (1985). EETP-800 and EETP-801 are cultivars recently released by the INIAP (Loor-Solórzano *et al.*, 2019) and have as common parents the cross between CCN 51 $\times$ EET-233. Interestingly, the latter has shown a low susceptibility to frosty pod rot disease and a medium incidence of witch's broom infection (*Moniliophthora perniciosa*) (Jaimez *et al.*, 2020). CCN 51 showed

Table 2 Osmotic potentials at saturation (Ψ_{π}^{100}), turgor loss point (Ψ_{π}^0) and osmotic adjustment (OA) of Ecuadorian cocoa cultivars. Data reported by Pichilingue Experimental Station, Ecuador. Mean values of three curves $\pm$ standard errors are shown.

Cultivars	Season	Ψ_{π}^{100} (MPa)	Ψ_{π}^0 (MPa)	OA (MPa)
EETP-800	Rainy	$-1.20 \pm 0.08a$	$-1.55 \pm 0.08a$	0.40
	Dry	$-1.60 \pm 0.05A$	$-2.11 \pm 0.18A$	
EETP-801	Rainy	$1.48 \pm 0.09b$	$-1.84 \pm 0.02b$	0.43
	Dry	$-1.71 \pm 0.22B$	$-2.55 \pm 0.02B$	
CCN 51	Rainy	$-1.14 \pm 0.07a$	$-1.45 \pm 0.10a$	0.46
	Dry	$-1.60 \pm 0.12A$	$-2.24 \pm 0.30A$	

Notes.

Different letters for the same variable indicate significant differences according to the Tukey test ($p < 0.05$). Uppercase letters for the dry season, lowercase for the rainy season.

*Significant differences between seasons for each clone according to Student's T ($p < 0.05$).

the highest osmotic setting of 0.46 MPa, while EETP-800 and EETP 801 showed an osmotic adjustment of 0.40 and 0.43 MPa, respectively.

Another important physiological trait that has been recently reported for CCN 51 is its low Cd intake (Argüello et al., 2019; Barraza et al., 2019; Arevalo-Hernandez et al., 2021). For example, an average of 1.4 times higher concentration of Cd has been found in beans of National types when compared to CCN 51 (Argüello et al., 2019). Similar trends have been also reported by Barraza et al. (2019). Remarkably, Arevalo-Hernandez et al. (2021) in an evaluation of 53 genotypes have included CCN 51 between the top 11 genotypes showing a low accumulation of Cd.

Regarding its agronomical management, it seems convenient for CCN 51 in the seedling stage to avoid high radiation due to decreases in A and possibly leading to lower growth rates. This aspect must be taken when planning new plantations in regions with high radiation throughout the year. However, the ability of photoprotection mechanisms associated with increased xanthophyll's cycle exhibited by CCN 51 allows it to avoid drastic damage to the photosynthetic apparatus due to the excess radiation received in the juvenile stages. Already in the productive stage CCN 51 has shown higher A at full sun exposure but in conditions where there is low evaporative demand due to the predominance of high cloudiness (Suarez Salazar et al., 2018; Jaimez et al., 2018). It would be appropriate to evaluate the effect of partial shade conditions for at least the first two years on growth and production in regions with high DFF throughout the year. The irrigation and fertilization conditions that occur in large commercial plantations undoubtedly offer less stressful conditions, avoiding important reductions in water potentials that lead to stomatal closures and consequently lower A rates. Its osmotic adjustment capacity and its median WUE allow the CCN 51 to tolerate periods of water deficit and probably fewer juvenile plant deaths. For small producers that mostly lack irrigation services, this trait offers a great advantage as compared to other more susceptible cultivars.

Production dynamics

In Ecuador, the highest yields of CCN 51 occur between October - December, regardless of the amount of water supplied to the plantation. For example, in the province of Los Ríos, where the average rainfall is 1800 mm and plants received irrigation, the highest yield in

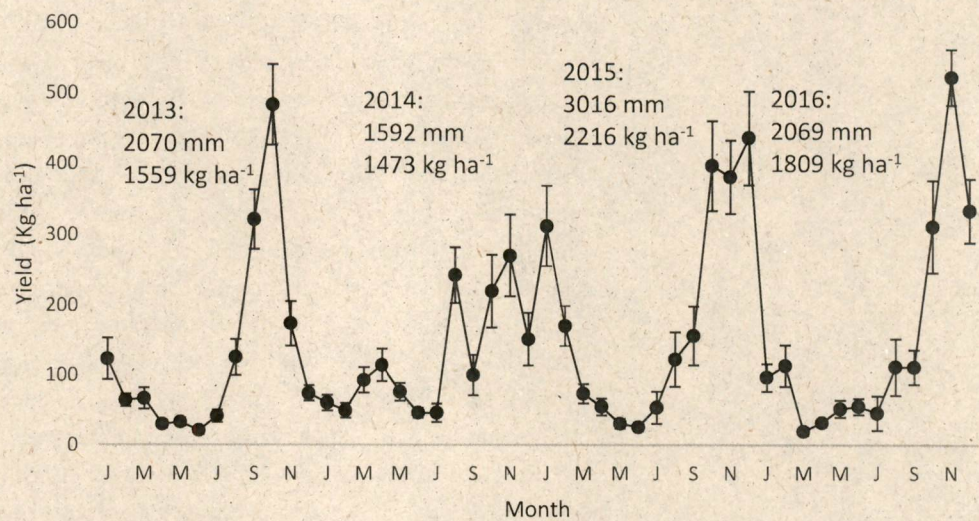


Figure 3 Monthly yield dynamics of CCN 51 in Quevedo province of Los Rios (Ecuador) - Río Lindo Alto Farm- in the period 2013-2016. Irrigated plantation. Precipitation and total yield for each year. Bars are standard errors of the mean. Each point is the average of eight plots. Historical data provided by the cocoa producing company Agrotropical S.A.

Full-size [DOI: 10.7717/peerj.12676/fig-3](https://doi.org/10.7717/peerj.12676/fig-3)

the period 2013-2016 was observed between the months of October-November as shown in Fig. 3. The yield values with irrigation range from 33 to 50 quintals (equivalent to 1500 and 2300 kg ha⁻¹, respectively), while the average yields without irrigation reach average values of 1050 kg ha⁻¹ in the localities of Quevedo, Tenguel, and Esmeraldas, Ecuador (Sánchez-Mora et al., 2015; Tezara Fernández et al., 2020). This is a high yield considering that these areas are experiencing 5 months without rain. The high-yield Nacional -type clones from the Centro de Cacao Aroma Tenguel-CCAT collection, in the same trial showed yield averages between 200 and 590 kg h⁻¹ which is between 80 to 44% lower compared to those obtained with CCN 51 (Sánchez-Mora et al., 2015). In other evaluations with 5-year records for the Quevedo region, CCN 51 showed superior yields between 50 to 70% higher, compared to Nacional-type clones (Boza et al., 2014). In Colombia, average yields between 1000 and 2000 kg ha⁻¹ have been registered. It seems that the high variation depends on the fertilization program (Puentes-Páramo, Menjivar-Flores & Aranzazu-Hernández, 2014).

It is known that the amount of precipitation is a factor that notably influences cacao production (Zuidema et al., 2005). However, the higher production at the end of the dry period of CCN 51 in the Ecuadorian coast implies changes in the distribution of assimilate between the vegetative and reproductive parts. Very little is known regarding the distribution of assimilates in cacao (Lahive, Hadley & Daymond, 2018). Therefore, is important to understand why despite water limitations pods grow. This period is also characterized by a low incidence of DFF in this region. It seems the low DFF and the lower vapor pressure deficit (DPV) is a result of high relative humidity (RH) and cloud cover, thus creating a favorable condition of less evaporative demand and less stress, which may favor the continued productivity of CCN 51. It is likely that in the dry period,

the growth rate of the pods is lower due to lower rates of A, but it seems that a greater amount of assimilates are destined for the growth of pods. The characteristic of the fruit ripening period during the dry season influences a lower incidence of fungal diseases such as frosty pod rot disease (Ploetz, 2016) or pod infections by witch's broom *M. perniciosa* (Sánchez-Mora et al., 2015). Environmental conditions in the dry period thus increase the growth of fruits in CCN 51. The physiological mechanisms that induce high flowering during the late rainy/early dry period are unknown and it has usually been reported that the largest numbers of flowers occur during the rainy period (Adjaloo, Oduro & Banful, 2012). Besides, a lower amount of rain leads to a lower number of cacao pollinating insects (Arnold et al., 2018) which would influence a lower number of fruits, but this is not what happens with CCN 51. Branco et al. (2018) have classified CCN 51 as a self-compatible and cross-compatible clone. Such characteristics could partially explain its higher production, as it is less dependent on pollinators. Moreover, it has been previously shown that its number of retained flowers is higher as compared to other clones cultivated in other countries after 15 days of self-pollination (Branco et al., 2018).

Floral biology

The flower of CCN 51 is pinkish, with staminodes and style averaging 6.6 and two mm in length, respectively. The ovary reaches a length of 1.9 mm and has 46.2 ovules (Perea et al., 2017). A significantly greater number of flowers and pollinated flowers have been reported for CCN 51 than for Nacional cacaos that were used in 2010 in Ecuador (Montoya Bazán, 2010). The greater quantity of pollinated flowers can be related to pollen viability as recently found by García Talledo et al. (2019), who have reported that the viability of CCN 51 pollen lasts around 24 h, while in 10 cultivars of the Nacional type, viability is between 3 and 7 h (García Talledo et al., 2019). This gives an advantage for CCN 51 as a possible pollinator. The greater longevity of pollen can influence pollination and produce a high number of seeds compared to other clones. Additionally, CCN 51 has around 44,000 pollen grains per flower, above the average for Nacional cacaos (33,000 grains per flower) (García-Cruzatty et al., 2020) and a higher average number of pollen grains have been found to reach stigmas per flower per month (19.4) than other clones used at the Ecuadorian coast (Mena-Montoya et al., 2020). It has also been recorded that the highest number of grains arriving at the stigmas occurs in February (rainy season) and the lowest number between October and December, i.e., the last months of the dry period (Mena-Montoya et al., 2020). This suggests a reduction in pollen production and flowers due to the lower availability of water that leads to a lower probability of seed production. Also, a lower percentage of falls of small immature pods (cherelles wilt) has been reported in CCN 51 (Montoya Bazán, 2010), which corroborates its advantages for higher production.

CCN 51 has a low pod index (number of pods to get one kilogram of dried cacao- value (15.2)) as compared to other higher National-type cultivars (values between 17.8 and 22.8) (Jaimez et al., 2018). Similar values have been obtained in several locations in Ecuador and Colombia (Quintana Fuentes et al., 2015a; Perea et al., 2017; Jaimez et al., 2018). Its low value is related to an average of 71 seeds in 100 g and an average weight per seed that varies between 1.54 g in Ecuador (Boza et al., 2014) and 1.6 g in Colombia (Quintana Fuentes

et al., 2015a). This seed weight is higher than those reported for Nacional-type cacao, suggesting that CCN 51 allocates a larger amount of photoassimilates to the development of seeds, more than for other parts of the pods. Other clones with a higher quantity of seeds in 100 g (between 94 and 85) present averages of weight per seed of 1.2 and 1.17 g (Boza *et al.*, 2014).

CCN 51 CURRENT CHALLENGES AND PERSPECTIVES

As discussed in this review, the high production and great adaptability of CCN 51 to various environmental and soil conditions have propelled its expansion into several countries of Latin America. The availability of this clone, its increasing popularity, and its advantages/challenges (Fig. 1) call for some actions that should be done to guarantee its appropriate use by the local farmers.

Efforts to provide alternative cultivars to local farmers

One current challenge for CCN 51 utilization is to further optimize its agronomical management and to increase its use in breeding programs. The current evidence suggests that the osmotic adjustments observed in CCN 51 are a valuable trait conferring a greater tolerance to water deficit, which might represent an advantage for small farmers without an appropriated irrigation system. Nevertheless, additional research in this field is still required to further evaluate the effect of water supply on yield, as the current evidence suggests the possibility to achieve higher efficiency in the use of water in this clone. The review data suggest that during the end of the rainy season and the first three months of the dry season, pollination occurs preferentially, and consequently in the following dry months the development of pods reaches their highest production rate (October-December period). This occurs independent of irrigation, but with higher production in irrigated plants. The higher production also can be associated with a higher number of pollen grains that ensure better pollination success. Its high seed weight leads to a low value of the pod's index. Unfortunately, all these physiological characteristics in response to environmental factors have not yet been widely used in breeding programs with goals to obtain cultivars with better adaptation to future climate change scenarios.

Undoubtedly, the development of novel cacao cultivars must be oriented to obtain clones not only with high productivity but also showing a low demand for fertilizers and displaying a high tolerance to diseases, thus reducing the use of fungicides and pesticides. For example, two clones have been recently released in Ecuador by INIAP (EETP 880 and EETP 801) using CCN 51 as parental. These clones have shown higher productions as compared to CCN 51 (Jaimez *et al.*, 2018) and keep both the Nacional-type organoleptic qualities (Llor-Solórzano *et al.*, 2019) and high tolerance to frosty pod rot disease (Jaimez *et al.*, 2020). It is noteworthy that the improvement of cacao is limited by the length of the breeding cycle of the crop that can take at least a decade and these efforts should start soon (Bekele & Phillips-Mora, 2019).

Efforts to develop an optimal agronomical management

The higher energy dissipation capacity of CCN 51 allows its cultivation under full sunlight exposure. CCN 51 has shown consistent and high yields when growing alone (*i.e.*,

monocultures under full sun exposure). Unfortunately, this has led to the displacement of other premium cultivars with excellent flavor potential and other interesting characteristics, thus reducing the diversity in the producers' farms. For example, *Melo & Hollander (2013)* point out that between 2002 and 2009, 38% of the interviewed farmers had renewed their plantations using only CCN-51 and sowing it in full sun. On the other hand, the strong increase of this clone in cultivation bears risks of monoculture in cacao such as a higher incidence of pests and diseases (*Andres et al., 2016*). Diversification will reduce dependence on a single cultivar prone to the risk of being eliminated by the high incidence of insects and diseases (*Niether et al., 2020*). Therefore, avoiding monoculture protects against devastating losses and would also increase the likelihood of a recovery in less time. Probably each country should implement the possibility of cultivating CCN 51 combined with other cultivars that have been successfully used in each region. Unfortunately, the co-cultivation of CCN 51 and premium clones has resulted in the incorrect tendency to mix beans of this clone with premium cacao beans aimed to increase farm productivity. This has been shown to directly affect the sensorial quality of the final product (*i.e.*, premium chocolate) with deleterious economic consequences. In this regard, as previously discussed, several methodologies have been developed to assure traceability based on the identification of selected molecular markers for each clone. Nevertheless, further research still must be done in this regard to discouraging these bad agronomical practices. Monocultures of CCN 51 (*i.e.*, without shade trees or in the presence of temporary shade species) can lead to a faster depletion of the soil (*Andres et al., 2016*) and loss of pollinators, which significantly influences the production (*Groeneveld et al., 2010*). For this reason, despite its good production under full sunlight exposure, different production models (*i.e.*, agroecological farming systems) that combine CCN 51, and shade trees still must be designed, implemented, and transferred to the local farmers.

An important advantage of the cultivation of CCN 51, is its lower accumulation of Cd as compared to other clones. This is certainly a field that still must be explored as Cd uptake is a current bottleneck to access the European premium markets.

Efforts to develop an optimal post-harvest management

Generally, CCN 51 is considered bulk cacao with negative impacts in the fine-flavor market. However, as mentioned before, several alternatives have been proposed to further engineer the post-harvesting process to demystify its utilization as a potential clone for controlled production of fine-flavor cacao either by standardized controlled fermentations, or by breeding, or both, to eventually enhance its sensory profile to unite the best of the two worlds. Research in this topic is still in its infancy and additional experiments will be required to engineer a process that redefines the flavor profile of CCN51, thus opening better opportunities for this clone in the complex cacao market.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank the engineer Byron Flores for the data of Rio Lindo Alto Farm, Agrotropical Company S.A.

ADDITIONAL INFORMATION AND DECLARATIONS

Funding

The authors received no funding for this work.

Competing Interests

Luigy Barragan is employed by Márs la Chola C.L. (MLCH, Ecuador).

Author Contributions

- Ramon E Jaimez, Miguel Fernández-Niño and Ludger A. Wessjohann conceived and designed the experiments, performed the experiments, analyzed the data, prepared figures and/or tables, authored or reviewed drafts of the paper, and approved the final draft.
- Luigy Barragan, George Cedeño-Garcia, Ignacio Sotomayor Cantos and Francisco Arteaga conceived and designed the experiments, performed the experiments, analyzed the data, authored or reviewed drafts of the paper, and approved the final draft.

Data Availability

The following information was supplied regarding data availability:

This is a literature review.

REFERENCES

- Adjaloo MK, Oduro W, Banful BK. 2012. Floral phenology of upper amazon cocoa trees: implications for reproduction and productivity of cocoa. *ISRN Agronomy* 2012:1–8 DOI 10.5402/2012/461674.
- Almeida AAF, Brito RCT, Aguilar MAG, Valle RR. 2002. Water relations' aspects of *Theobroma cacao* L. clones. *Agrotrópica* 14:35–44.
- Almeida AAF, Valle RR. 2007. Ecophysiology of the cacao tree. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 19:425–448 DOI 10.1590/S1677-04202007000400011.
- Amores FM, Vasco SA, Eskes A, Suarez C, Quiroz JG, Loor RG, Jimenez JC, Zambrano J, Bolanos MJ, Reynel VH, Teran MM, Quijano GC. 2011. *Collaborative and participatory approaches to cocoa variety improvement: final report of the CFC/IC-CO/Biodiversity international project on Cocoa productivity and quality improvement: a participatory approach (2004-2010)/Eskes Albertus (ed.)*. Amsterdam: CFC.
- Andrés C, Comoé H, Beerli A, Schneider M, Rist S, Jacobi J. 2016. Cocoa in monoculture and dynamic agroforestry. In: Lichtfouse E, ed. *Sustainable agriculture reviews*. Cham: Springer, 19 DOI 10.1007/978-3-319-26777-7_3.
- Araque O, Jaimez RE, Tezara W, Coronel I, Urich R, Espinoza W. 2012. Comparative photosynthesis, water relations, growth and survival rates in juvenile criollo cacao cultivars (*theobroma cacao*) during dry and wet seasons. *Experimental Agriculture* 48:513–522 DOI 10.1017/S0014479712000427.

- Arévalo-Hernández CO, Arévalo-Gardini E, Farfán A, He Z, Baligar VC. 2021. Growth and nutritional responses of wild and domesticated cacao genotypes to soil cd stress. *Science of the Total Environment* 763:144021 DOI 10.1016/j.scitotenv.2020.144021.
- Argüello D, Chavez E, Laurysen F, Vanderschueren R, Smolders E, Montalvo D. 2019. Soil properties and agronomic factors affecting cadmium concentrations in cacao beans: a nationwide survey in Ecuador. *Science of the Total Environment* 649:120–127 DOI 10.1016/j.scitotenv.2018.08.292.
- Arnold SEJ, Bridgemohan P, Perry GB, Spinelli GR, Pierre B, Murray F, Haughton C, Dockery O, Grey L, Murphy ST, Belmain SR, Stevenson PC. 2018. The significance of climate in the pollinator dynamics of a tropical agroforestry system. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 254:1–9 DOI 10.1016/j.agee.2017.11.013.
- Arosemena G. 1991. *El fruto de los Dioses. el cacao en el Ecuador, desde la colonia hasta el ocaso de su industria, 1600-1983*. Guayaquil: Guillermo Arosemena Arosemena.
- Arteaga F. 2020. Respuestas fisiológicas de cuatro clones de cacao *Theobroma cacao* L. a diferentes niveles de agua en el suelo. Tesis Doctoral Universidad Nacional De Colombia Sede Palmira Colombia, 135 p .
- Ávila Lovera E, Coronel I, Jaimez R, Urich R, Pereyra G, Araque O, Chacón I, Tezara W. 2016. Ecophysiological traits of adult trees of criollo cocoa cultivars (*Theobroma cacao* L.) from a germplasm bank in venezuela. *Experimental Agriculture* 52:137–153 DOI 10.1017/S0014479714000593.
- Baligar VC, Bunce JA, Machado RCR, Elson MK. 2008. Photosynthetic photon flux density, carbon dioxide concentration, and vapor pressure deficit effects on photosynthesis in cacao seedlings. *Photosynthetica* 46:216–221 DOI 10.1007/s11099-008-0035-7.
- Baligar VC, Elson MK, Almeida A-AF, De Araujo QR, Ahnert D, He Z. 2021. The impact of carbon dioxide concentrations and low to adequate photosynthetic photon flux density on growth, physiology and nutrient use efficiency of juvenile cacao genotypes. *Agronomy* 11(2):397 DOI 10.3390/agronomy11020397.
- Barraza F, Moore RET, Rehkämper M, Schreck E, Lefeuvre G, Kreissig K, Coles BJ, Maurice L. 2019. Cadmium isotope fractionation in the soil cacao systems of Ecuador: a pilot field study. *RSC Advances* 9:34011–34022 DOI 10.1039/C9RA05516A.
- Barreto MA, Rosa JRBF, Holanda ISA, Cardoso-Silva CB, Vildoso CIA, Ahnert D, Souza MM, Corrêa RX, Royaert S, Marelli J, Santos ESL, Luz EDMN, Garcia AAF, Souza AP. 2018. QTL mapping and identification of corresponding genomic regions for black pod disease resistance to three *Phytophthora* species in *Theobroma cacao* L. *Euphytica* 214:1–16 DOI 10.1007/s10681-018-2273-5.
- Barreto MA, Santos JCS, Corrêa RX, Luz ED, Marelli J, Souza AP. 2015. Detection of genetic resistance to cocoa black pod disease caused by three *Phytophthora* species. *Euphytica* 206:677–687 DOI 10.1007/s10681-015-1490-4.
- Bekele F, Phillips-Mora W. 2019. Cacao (*Theobroma cacao* L.) breeding. In: *Advances in plant breeding: industrial and food crops*, vol 6. DOI 10.1007/978-3-030-23265-8_12.

- Boza EJ, Motamayor JC, Amores FM, Cedeño Amador S, Tondo CL, Livingstone DS, Schnell RJ, Gutiérrez OA. 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* 139:219–229 DOI 10.21273/JASHS.139.2.219.
- Branco SM de J, Da Silva DV, Lopes UV, Corrêa RX, Branco SM de J, Da Silva DV, Lopes UV, Corrêa RX. 2018. Characterization of the sexual self- and cross-compatibility in genotypes of cacao. *American Journal of Plant Sciences* 9:1794–1806 DOI 10.4236/AJPS.2018.99131.
- Castro HU. 1981. Posibilidad de creacion de una nueva variedad de cacao de fruto hexalocular por cruzamiento entre flores mutantes hexámeras. Archivos de Victor Chacon Salinas. Jesus Maria. Available at www.anecacao.com Retrieved December 24, 2021.
- Crespo del Campo E, Crespo Andia F. 1997. *Cultivo y beneficio del cacao CCN 51*. Quito: Editorial El Conejo.
- Díaz-Valderrama JR, Leiva-Espinoza ST, Catherine Aime M. 2020. The history of cacao and its diseases in the Americas. *Phytopathology* 110:1604–1619 DOI 10.1094/PHYTO-05-20-0178-RVW.
- Doaré F, Ribeyre F, Cilas C. 2020. Genetic and environmental links between traits of cocoa beans and pods clarify the phenotyping processes to be implemented. *Scientific Reports* 10:1–6 DOI 10.1038/s41598-020-66969-9.
- Fernandes LDS, Royaert S, Corrêa FM, Mustiga GM, Marelli JP, Corrêa RX, Motamayor JC. 2018. Mapping of a major QTL for ceratocystis wilt disease in an F1 population of theobroma cacao. *Frontiers in Plant Science* 9:155 DOI 10.3389/fpls.2018.00155.
- Fernandes L dos S, Correa FM, Ingram KT, Almeida AAF, Royaert S. 2020. QTL mapping and identification of SNP-haplotypes affecting yield components of *Theobroma cacao* L. *Horticulture Research* 7:26 DOI 10.1038/s41438-020-0250-3.
- García-Cruzatty LC, Vera-Pinargote L, Zambrano-Gavilanes F, Zamora-Macías A, Cedeño Ortega J. 2020. Pollen production in *Theobroma cacao* L. genotypes national type and ccn-51 and its relationship with climatic factors on the ecuadorian coast. *Acta Agrobotanica* 73:1–9 DOI 10.5586/AA.7323.
- García Talledo B, Bazurto Zambrano A, Cruzatty LGarcía, Zambrano Gavilanes F. 2019. Morphology, viability, and longevity of pollen of National Type and Trinitarian (CCN-51) clones of cocoa (*Theobroma cacao* L.) on the Coast of Ecuador. *Revista Brasileira de Botanica* 42:441–448 DOI 10.1007/s40415-019-00541-2.
- Gidoín C, Avelino J, Deheuvels O, Cilas C, Bieng MAN. 2014. Shade tree spatial structure and pod production explain frosty pod rot intensity in cacao agroforests, Costa Rica. *Phytopathology* 104:275–281 DOI 10.1094/PHYTO-07-13-0216-R.
- Groeneveld JH, Tschardt T, Moser G, Clough Y. 2010. Experimental evidence for stronger cacao yield limitation by pollination than by plant resources. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 12(3):183–191 DOI 10.1016/j.ppees.2010.02.005.

- Hernández Calderón JM, Gonzáles Hidalgo JC. 2016. *Estudio del cacao en el Perú y en el mundo, un análisis de la producción y el comercio (informe del ministerio de agricultura y riego)*. Jr. Yauyos 262. Lima. Perú: Ministerio de Agricultura y Riego.
- Herrmann L, Haase I, Blauhut M, Barz N, Fischer M. 2014. DNA-based differentiation of the ecuadorian cocoa types CCN-51 and Arriba based on sequence differences in the chloroplast genome. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62:12118–12127 DOI 10.1021/jf504258w.
- Hii CL, Law CL, Cloke M, Sharif S. 2011. Improving Malaysian cocoa quality through the use of dehumidified air under mild drying conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 91:239–246 DOI 10.1002/jsfa.4176.
- Jaimez RE, Puyutaxi FAmores, Vasco A, Loor RG, Tarqui O, Quijano G, Jimenez JC, Tezara W. 2018. Respuestas fotosintéticas de cacao cultivado sin sombra a alta y baja radiación en áreas de baja demanda evaporativa. *Acta Biologica Colombiana* 23:95–103 DOI 10.15446/abc.v23n1.64962.
- Jaimez RE, Vera DI, Mora A, Loor RG, Bailey BA. 2020. A disease and production index (DPI) for selection of cacao (*Theobroma cacao*) clones highly productive and tolerant to pod rot diseases. *Plant Pathology* 69:698–712 DOI 10.1111/ppa.13156.
- Jimenez JC, Amores FM, Solórzano EG, Rodríguez GA, Mantia ALa, Blasi P, Loor RG. 2018a. Differentiation of Ecuadorian National and CCN-51 cocoa beans and their mixtures by computer vision. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 98:2824–2829 DOI 10.1002/jsfa.8790.
- Jimenez JC, Guncay GTuz, Quevedo Guerrero JN, García Batista RM. 2018b. Presecado: su efecto sobre la calidad sensorial del licor de cacao *Theobroma cacao* L. *Revista Científica Agroecosistemas* 62:63–73.
- Kadow D, Bohlmann J, Phillips W, Lieberei R. 2013. Identification of main fine or flavour components in two genotypes of the cocoa tree (*Theobroma cacao* L.). *Journal of Applied Botany and Food Quality* 86:90–98 DOI 10.5073/JABFQ.2013.086.013.
- Lahive F, Hadley P, Daymond AJ. 2018. The impact of elevated CO2 and water deficit stress on growth and photosynthesis of juvenile cacao (*Theobroma cacao* L.). *Photosynthetica* 56:911–920 DOI 10.1007/s11099-017-0743-y.
- Lanaud C, Motamayor JC, Risterucci AM. 2001. Implications of new insight into the genetic structure of *Theobroma cacao* L. for breeding strategies. In: *Proceedings of the international workshop on new technologies for cocoa breeding*. Kota Kinabalu, Malaysia, London: Ingenic Press, 89–107.
- Loor-Solórzano RG, Amores-Puyutaxi FM, Vasco-Medina SA, Quiroz-Vera JG, Casanova-Mendoza T de J, Garzón-Catota AI, Sotomayor-Cantos IA, Jiménez-Barragán JC, Tarqui-Freire OM, Rodríguez-Zamora GA, Quijano-Rivadeneira GC, Plaza-Avellán LF, Guerrero-Castillo HE, Zambrano-Flores FG. 2019. INIAP-EETP-800 Aroma pichilingue, Nueva variedad ecuatoriana de cacao fino de alto rendimiento. *Revista Fitotecnia Mexicana* 42:187–189 DOI 10.35196/rfm.2019.2.187-189.

- Luna F, Crouzillat D, Cirou L, Bucheli P. 2002. Chemical composition and flavor of Ecuadorian cocoa liquor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50:3527–3532 DOI 10.1021/jf0116597.
- Maiguashca J. 2014. La incorporación del cacao ecuatoriano al mercado mundial entre 1840 y 1925, según los informes consulares. Procesos. *Revista Ecuatoriana de Historia* 1:67–97 DOI 10.29078/rp.v1i35.49.
- Melo C, Hollander G. 2013. Unsustainable development: alternative food networks and the Ecuadorian Federation of Cocoa Producers, 1995–2010. *Journal of Rural Studies* 32:251–263 DOI 10.1016/j.jrurstud.2013.07.004.
- Mena-Montoya M, García-Cruzatty L, Cuenca-Cuenca E, Pinargote L, Villamar-Torres R, Jazayeri SM. 2020. Pollen flow of *Theobroma cacao* and its relationship with climatic factors in the central zone of the Ecuadorian littoral. *Bioagro* 32:39–47.
- Montoya Bazán JL. 2010. *Comparación de un grupo de clones de cacao tipo nacional vs CCN-51 bajo condiciones de secado en la zona de Quevedo*. Quevedo, EC: Universidad Agraria del Ecuador, Facultad de Ciencias Agrarias, Carrera de Ingeniería Agronómica, 70 p.
- Motamayor JC, Lachenaud P, Da Silva e Mota JW, Loor R, Kuhn DN, Brown JS, Schnell RJ. 2008. Geographic and genetic population differentiation of the Amazonian chocolate tree (*Theobroma cacao* L). *PLOS ONE* 3:3311 DOI 10.1371/journal.pone.0003311.
- Motamayor JC, Mockaitis K, Schmutz J, Haiminen N, Livingstone D, Cornejo O, Findley SD, Zheng P, Utro F, Royaert S, Saski C, Jenkins J, Podicheti R, Zhao M, Scheffler BE, Stack JC, Feltus FA, Mustiga GM, Amores F, Phillips W, Marelli JP, May GD, Shapiro H, Ma J, Bustamante CD, Schnell RJ, Main D, Gilbert D, Parida L, Kuhn DN. 2013. The genome sequence of the most widely cultivated cacao type and its use to identify candidate genes regulating pod color. *Genome Biology* 14:53 DOI 10.1186/gb-2013-14-6-r53.
- Mustiga GM, Morrissey J, Stack JC, DuVal A, Royaert S, Jansen J, Bizzotto C, Villela-Dias C, Mei L, Cahoon EB, Seguíne E, Marelli JP, Motamayor JC. 2019. Identification of climate and genetic factors that control fat content and fatty acid composition of *Theobroma cacao* L. Beans. *Frontiers in Plant Science* 10:1159 DOI 10.3389/fpls.2019.01159.
- Nader WF, Brendel T, Schubbert R. 2016. Advances in DNA fingerprinting for food authenticity testing. In: *Advances in food authenticity testing*. Amsterdam, Países Bajos: Elsevier Inc, 7–33 DOI 10.1016/B978-0-08-100220-9.00002-3.
- Niether W, Jacobi J, Blaser W, Andres C, Armengot L. 2020. Cocoa agroforestry systems versus monocultures: a multi-dimensional meta-analysis. *Environmental Research Letters* 15(10):104085 DOI 10.1088/1748-9326/abb053.
- Pallares-Pallares A, Perea-Villamil JA, López-Giraldo LJ. 2016. Impacto de las condiciones de beneficio sobre los compuestos precursores de aroma en granos de cacao (*Theobroma cacao* L) del clon CCN-51. *Respuestas* 21(1):120–133 DOI 10.22463/0122820x.726.

- Perea JA, Martínez N, Hernández FA, Cadena Cala T. 2017. *Características de la calidad del cacao: catálogo de 26 cultivares.*
- Ploetz R. 2016. The impact of diseases on cacao production: a global overview. In: *Cacao diseases: a history of old enemies and new encounters*. London: Springer International Publishing, 33–59 DOI 10.1007/978-3-319-24789-2_2.
- Puentes-Páramo Y, Menjivar-Flores J, Aranzazu-Hernández F. 2014. eficiencias en el uso de nitrógeno, fósforo y potasio en clones de cacao (*Theobroma cacao* L.). *Bioagro* 26:99–106.
- Quintana Fuentes LF, García Jerez A, Moreno Martínez E. 2018. Perfil sensorial de cuatro modelos de siembra de cacao en Colombia. *Entramado* 14:256–268 DOI 10.18041/1900-3803/entramado.2.4756.
- Quintana Fuentes LF, Gomez S, García A, Martinez N. 2015b. Perfil sensorial del Clon de cacao (*Theobroma cacao* L.) CCN51 (primera @limentech). *Ciencia y Tecnología Alimentaria* 13:60–65 DOI 10.24054/16927125.v1.n1.2015.1866.
- Quintana Fuentes LF, Gómez Castelblanco S, García Jerez A, Martínez Guerrero N. 2015a. Caracterización de tres índices de cosecha de cacao de los clones CCN51, ICS60 e ICS 95, en la montaña santandereana, Colombia. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental* 6:252 DOI 10.22490/21456453.1284.
- Rada F, Jaimez R, Garcia-Núñez C, Azócar A, Ramírez M. 2005. Water relations and gas exchange in *Theobroma cacao* var. Guásare under periods of water deficit. *Revista de la Facultad de Agronomía* 22(2):112–120.
- Ramlachan N, Agama J, Amores F, Quiroz J, Vaca D, Zamora C, Moore J, Brown J, Schnell ii R, Motamayor J. 2009. Regional selection of hybrid Nacional cacao genotypes in Coastal Ecuador. *Ingenic Newsletter* 12:25–35.
- Reges B, Maia A, Sarmento D, Silva M, Santos S, Damaceno M. 2021. Quality variables for technological application of cocoa clones from the Brazilian semiarid region. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola y Ambiental* 25(3):203–208 DOI 10.1590/1807-1929/agriambi.v25n3p203-208.
- Rottiers H, Tzompa Sosa DA, Lemarcq V, De Winne A, De Wever J, Everaert H, Jaime JABonilla, Dewettinck K, Messens K. 2019. A multipronged flavor comparison of Ecuadorian CCN51 and Nacional cocoa cultivars. *European Food Research and Technology* 245:2459–2478 DOI 10.1007/s00217-019-03364-3.
- Royaert S, Jansen J, Da Silva DV, de Jesus Branco SM, Livingstone DS, Mustiga G, Marelli JP, Araújo IS, Corrêa RX, Motamayor JC. 2016. Identification of candidate genes involved in Witches' broom disease resistance in a segregating mapping population of *Theobroma cacao* L. in Brazil. *BMC Genomics* 17:1–16 DOI 10.1186/s12864-016-2415-x.
- Sánchez I, Zárate LA, Gallego G, Tohme J. 2007. Análisis de la diversidad genética de accesiones de *Theobroma cacao* L. del banco de conservación a cargo de Corpoica. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria* 8:26–31 DOI 10.21930/rcta.vol8_num2_art91.
- Sanchez V, Zambrano J, Iglesias C. 2019. *La Cadena del valor del cacao en America Latina y el Caribe*. Dirección de Investigaciones –Gestión del Conocimiento Científico del INIAP. Quito: INIAP, Estación Experimental Santa Catalina.

- Sánchez-Mora FD, Medina-Jara SMariela, Díaz-Coronel GT, Ramos-Remache RA, Vera-Chang JF, Vásquez-Morán VF, Troya-Mera FA, Garcés-Fiallos FR, Onofre-Nodari R. 2015. Potencial sanitario y productivo de 12 clones de cacao en ecuador. *Revista Fitotecnia Mexicana* 38:265–274 DOI 10.35196/rfm.2015.3.265.
- Santana JO, Gramacho KP, De Souza Eduvirgens Ferreira KT, Rezende RP, Mangabeira PAO, Dias RPM, Couto FM, Pirovani CP. 2018. Witches' broom resistant genotype CCN51 shows greater diversity of symbiont bacteria in its phylloplane than susceptible genotype catongo 06 Biological Sciences 0605 Microbiology. *BMC Microbiology* 18:1–10 DOI 10.1186/s12866-018-1339-9.
- Santander M, Vaillant F, Sinuco D, Rodríguez J, Escobar S. 2021. Enhancement of fine flavour cocoa attributes under a controlled postharvest process. *Food Research International* 143:110236 DOI 10.1016/j.foodres.2021.110236.
- Scharf A, Lang C, Fischer M. 2020. Genetic authentication: differentiation of fine and bulk cocoa (*Theobroma cacao* L.) by a new CRISPR/Cas9-based in vitro method. *Food Control* 114:107219 DOI 10.1016/j.foodcont.2020.107219.
- Schulte PJ, Hinckley TM. 1985. A comparison of pressure-volume curve data analysis techniques. *Journal of Experimental Botany* 36:1590–1602 DOI 10.1093/jxb/36.10.1590.
- Stagnati L, Soffritti G, Martino M, Bortolini C, Lanubile A, Busconi M, Marocco A. 2020. Cocoa beans and liquor fingerprinting: a real case involving SSR profiling of CCN51 and nacional varieties. *Food Control* 118:107392 DOI 10.1016/j.foodcont.2020.107392.
- Suárez Salazar JC, Gelpud C, Noriega JE, Ortiz-Morea FA. 2021. How do different cocoa genotypes deal with increased radiation? An analysis of water relation, diffusive and biochemical components at the leaf level. *Agronomy* 11(7):1422 DOI 10.3390/agronomy11071422.
- Suárez Salazar JC, Melgarejo LM, Casanoves F, Di Rienzo JA, DaMatta FM, Armas C. 2018. Photosynthesis limitations in cacao leaves under different agroforestry systems in the Colombian Amazon. *PLOS ONE* 13:e0206149 DOI 10.1371/journal.pone.0206149.
- Tezara Fernández WA, Valencia Caicedo EE, Reynel Chila VH, Bolaños Ortega MJ, Blanco Flores HA. 2020. Actividad fotosintética y su relación con el rendimiento de diez clones de cacao nacional. *Revista ESPAMCIENCIA* 11:19–27 DOI 10.51260/revista_espamciencia.v11i1.202.
- Tuesta Hidalgo O, Julca Otiniano A, Borjas Ventura R, Rodríguez Quispe P, Santistevan Méndez M. 2014. Tipología de fincas cacaoteras en la subcuenca media del río Huayabamba, distrito de Huicungo (San Martín, Perú). *Ecología Aplicada* 13:71 DOI 10.21704/rea.v13i1-2.457.
- Tyree MT, Jarvis PG. 1982. Water in tissues and cells. In: *Physiological plant ecology II*. 3. Berlin Heidelberg: Springer, 35–77 DOI 10.1007/978-3-642-68150-9_3.
- Vargas Jentzsch P, Ciobotă V, Salinas W, Kampe B, Aponte PM, Rösch P, Popp J, Ramos LA. 2016. Distinction of Ecuadorian varieties of fermented cocoa beans using Raman spectroscopy. *Food Chemistry* 211:274–280 DOI 10.1016/j.foodchem.2016.05.017.

- Villamizar-Gallardo R, Osma JF, Ortíz-Rodríguez OO. 2019. Regional evaluation of fungal pathogen incidence in Colombian cocoa crops. *Agriculture* 9(3):44 DOI 10.3390/agriculture9030044.
- Zarrillo S, Gaikwad N, Lanaud C, Powis T, Viot C, Lesur I, Fouet O, Argout X, Guichoux E, Salin F, Solorzano RL, Bouchez O, Vignes H, Severts P, Hurtado J, Yepez 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 and Evolution* 2:1879–1888 DOI 10.1038/s41559-018-0697-x.
- Zuidema PA, Leffelaar PA, Gerritsma W, Mommer L, Anten NPR. 2005. A physiological production model for cocoa (*Theobroma cacao*): model presentation, validation and application. *Agricultural Systems* 84:195–225 DOI 10.1016/j.agsy.2004.06.015.