

ESTUDIO DE LA RESISTENCIA DEL CACAO AL MAL DEL MACHETE
PRODUCIDO POR CERATOCYSTIS FIMBRIATA ELLIS & HALSTED

por



Julio César Delgado Arce

Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA

Centro de Enseñanza e Investigación

Turrialba, Costa Rica

Setiembre, 1964

ESTUDIO DE LA RESISTENCIA DEL CACAO AL MAL DEL MACHETE

PRODUCIDO POR CERATOCYSTIS FIMBRIATA ELLIS & HALSTED

Tesis

Sometida al Consejo de Estudios Graduados
como requisito parcial para optar al grado

de

Magister Scientiae

en el

Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA

APROBADA



Consejero

Dr. Eddie Echandi



Comité

Dr. Jorge Soria



Comité

Dr. J. K. Knoke

Setiembre de 1964

A mi esposa

A la memoria de mi madre

AGRADECIMIENTOS

El autor deja constancia de su agradecimiento al Dr. Eddie Echandi por la ayuda y orientación recibida como Consejero Principal, durante la realización del presente trabajo.

A los miembros de su Comité Consejero doctores Jorge Soria, por su asesoramiento y gentil colaboración proporcionada y A. J. Hansen, por su orientación en la fase inicial de este trabajo.

Al Dr. J. K. Knoke, quien se prestó para reemplazar al Dr. A. J. Hansen por ausencia de éste.

Al American Cacao Research Institute (ACRI), entidad que proporcionó la beca. Al Instituto Nacional de Investigaciones del Ecuador (INIAP) y al Servicio Cooperativo Interamericano de Agricultura (SCIA), que dejó de operar en ese país, por haberle brindado la oportunidad de efectuar estudios postgraduados.

A aquellos miembros del personal del Centro de Turrialba que en una u otra forma prestaron su colaboración.

BIOGRAFIA

El autor nació en la ciudad de Guayaquil, Ecuador, en el año de 1935.

Realizó sus estudios universitarios en la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad de Guayaquil, graduándose de Ingeniero Agrónomo en 1960.

De 1959 a 1962 trabajó primero como Asistente Graduado y posteriormente como Asistente Fitopatólogo del Departamento de Fitopatología de la Estación Experimental Tropical de Pichilingue, Ecuador.

En mayo de 1962 ingresó al Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA, para realizar estudios postgraduados, mediante una beca del American Cacao Research Institute, egresando en setiembre de 1964.

CONTENIDO

	Página
INTRODUCCION	1
REVISION DE LITERATURA	2
MATERIALES Y METODOS	10
Efecto de la humedad del suelo en el desarrollo de la enfermedad	10
Presencia de toxinas en cultivos del hongo y en la madera de plantas afectadas	11
Pruebas de resistencia	12
RESULTADOS EXPERIMENTALES	15
DISCUSION	24
CONCLUSIONES	27
RESUMEN	29
SUMMARY	30
LITERATURA CITADA	31
APENDICE	36

INTRODUCCION

La enfermedad del cacao conocida como mal del machete, es causada por el hongo Ceratocystis fimbriata Ell. & Halst., y constituye en la actualidad uno de los problemas más serios de la explotación cacaotera de América. Esta enfermedad es responsable de la destrucción de miles de árboles principalmente en Ecuador, Colombia y Venezuela.

Son escasos los estudios de la enfermedad, desconociéndose, entre otros aspectos, la influencia de la humedad del suelo en el desarrollo de la misma y la posible producción de toxinas por parte del hongo. La probable relación del mal del machete con insectos taladradores del género Xyleborus (27, 33) y la existencia de otras plantas susceptibles al patógeno (3, 46), hacen difícil su combate. No se ha encontrado hasta el momento un sistema eficaz de combate; sin embargo, se ha señalado que la obtención de individuos resistentes sería la solución al problema, pero ha hecho falta un método adecuado y rápido para hacer este tipo de selección.

En el presente trabajo se estudió la influencia de la humedad del suelo en el desarrollo de la enfermedad en plantas de cacao. La capacidad del hongo de producir toxinas, a fin de conocer mejor el mecanismo de la enfermedad. Por último, se trató de obtener un método de evaluación de la resistencia al mal del machete.

REVISION DE LITERATURA

Síntomas de la enfermedad

La enfermedad se presenta asociada con heridas provocadas, principalmente, por herramientas utilizadas en las labores de cultivo, razón por la cual en muchos países se la denomina mal del machete. Provoca cánceres y decoloraciones rojo-púrpura en la madera del tronco y de las ramas de los árboles de cacao. Causa también la muerte de los brotes y una podredumbre de las mazorcas, que normalmente carecen de importancia económica (2, 12).

La primera manifestación de la enfermedad, consiste en el amarillamiento de las hojas, iniciándose este en las ramas superiores, llegando luego a abarcar todo el follaje por encima de la lesión del tronco o de la rama. Las hojas de las plantas afectadas adquieren inicialmente un color amarillamiento y luego se tornan pardo rojizas al secarse. Las hojas secas permanecen adheridas a las ramas por mucho tiempo (2, 12). Si el cáncer está localizado en la base del tronco, el árbol muere poco tiempo después de haberse manifestado los síntomas foliares.

Organismo causal y especies susceptibles

El organismo causal del mal del machete es el hongo Ceratocystis fimbriata Ell. & Halst. Este hongo pertenece a la clase Ascomycetes, subclase Euascomycetidae, serie Plectomycetes, orden Microascales, familia Ophiostomataceae y al género Ceratocystis (1). Fue descrito por primera vez en 1891 por Halsted y Fairchild (19) y su morfología ha sido estudiada por varios autores (3, 4, 7, 19). Ataca un gran número de hospederos, y su distribución es casi universal. Barba (3) y

Valle (46), trabajando independientemente, recopilaron sendas listas de especies susceptibles, que incluyen 17 especies pertenecientes a 9 familias diferentes. A estas listas deben agregarse el Quercus ellipsoidalis E. G. Hill (familia Fagaceae) y el Prunus amigdalus Batsch., Prunus domestica L. y Prunus armeniaca L. (familia Rosaceae), que también se han señalado como hospederos de C. fimbriata (5, 13, 14, 36).

Distribución e importancia económica

Se ha informado sobre la presencia de la enfermedad en áreas cacaoteras de Ecuador (41), Colombia (22), Venezuela (31), Costa Rica (38, 44), Guatemala (43), México (35), Jamaica (10, 31), Trinidad y Tobago (25) y Haití (39, 40). En la mayoría de estos países causa grandes pérdidas debido a la destrucción de un número elevado de árboles. En Colombia (2), en la zona de Puerto Tejada, en 1956, se eliminaron más de 5.000 árboles afectados, y en los Departamentos del Valle y del Cauca, la distribución de la enfermedad era tan amplia que casi no existían plantaciones sanas. En el mismo año en los valles de Choroní y Chuao, en el Estado de Aragua, Venezuela (32), la enfermedad destruyó más del 20% de las plantas existentes, mientras que en Ocumare de la Costa, Turiamo, Cayagua y Aroa, los daños sólo ascendieron al 2%, calculándose que más de 120.000 árboles fueron destruidos en estas regiones. En River Estate, Trinidad (26), en un período comprendido entre marzo de 1958 y febrero de 1960, se registraron 2.153 árboles muertos en una población de 90.000 árboles, lo que significa una pérdida de 2.5% en dos años. Informes recientes (24) indican que en esta Estación

Experimental, algunos ensayos de campo han sido abandonados debido al ataque de la enfermedad.

En la Estación Experimental de Pichilingue, en Ecuador, se observó en 1951 (9), un violento ataque que prácticamente eliminó todos los árboles de tipo 'Criollo' que existían en una colección de introducciones. En este mismo país, en la Hacienda Clementina, en la provincia de Los Ríos, entre 1955 y 1960, la enfermedad destruyó 65.000 árboles (8).

No existen datos concretos sobre las pérdidas que ocasiona en Costa Rica, pero se estima que en la costa atlántica destruye anualmente hasta un 5% de la población total de árboles de cacao (21).

Relación entre la humedad del suelo y la susceptibilidad al mal del machete

Spence (45), observó en Trinidad, en el año 1958, pequeños grupos de árboles aislados que murieron a causa de la enfermedad. Él estimó este hecho como un efecto secundario provocado por una sequía inusitada, ya que la enfermedad, aunque endémica en la isla desde 1932, aparecía esporádicamente y carecía de importancia. En América del Sur, según Iton (25), la enfermedad ocurre en las áreas cacaoteras más secas; él supone que el incremento adquirido por la enfermedad en Trinidad entre 1956 y 1958, pudo ser inducido por condiciones de debilidad de las plantas, a causa de una notable disminución en la precipitación pluvial durante esos años. A. J. Hansen (Información personal), también supone que la elevada incidencia de la enfermedad en Ecuador, especialmente en plantaciones sin sombra, puede deberse al efecto indirecto de la sequía que ocurre durante la época seca prolongada, característica

de la zona del litoral o costa, en la cual están localizadas las principales áreas cacaoteras ecuatorianas. En Venezuela la enfermedad es más grave en los cacaotales cercanos a la costa que en los de las zonas altas; este hecho según Malaguti (31), puede estar relacionado con la menor cantidad de agua de lluvia o riego que se estanca en las alturas. Este mismo autor (32), efectuó inoculaciones mensuales para determinar la influencia de las distintas épocas del año sobre la infección; encontró que el porcentaje de plantas enfermas era más o menos igual en los distintos meses del año, siendo el período de incubación más corto en los meses de la época lluviosa.

Es difícil, según la opinión de Goberdhan, citado por Cevallos (6) y Chong (8), apreciar diferencias en la reacción de las plantas inoculadas durante la estación seca y la estación lluviosa.

Hansen (20), indica que no encontró diferencia en susceptibilidad entre un grupo de plantas inoculadas con C. fimbriata y mantenidas luego en condiciones secas y otro, igualmente inoculado, que recibió riego abundante.

Conforme a un reconocimiento efectuado en Costa Rica (17), el ataque de C. fimbriata en café, es más grave en plantaciones mal drenadas y con suelos húmedos, que en plantaciones con suelos secos. En Guatemala, según Schieber y Echandi (42), los síntomas en plantas de café, son más conspicuos durante la época seca, ya que la falta de agua los acentúa apreciablemente.

La susceptibilidad del olmo americano al ataque de Ceratocystis ulmi es influenciada notablemente por la humedad del suelo. Kais y otros (28), encontraron que plantas inoculadas y mantenidas en suelos

con baja capacidad de retención de agua aparecieron menos susceptibles a la enfermedad holandesa de los olmos.

Producción de toxinas

Se ha propuesto el término "vivotoxinas" para aquellas sustancias producidas en el hospedero por acción del patógeno y que juegan un papel importante en el complejo de la enfermedad, pero que no son por sí solas los agentes primarios de ésta (16). Se cree que la marchitez provocada en plantas adultas de algunas especies, por hongos de los géneros Fusarium, Verticillium, Cephalosporium y Ceratostomella, se debe a sustancias de este tipo y/o a la obstrucción de los vasos por polisacáridos u otros productos metabólicos del hongo, antes que a una obstrucción debida a un excesivo desarrollo miceliar (30).

Zentmyer (49, 50), logró determinar la producción de toxinas por el hongo Ceratocystis ulmi, siendo posible con éstas reproducir los síntomas de la enfermedad holandesa de los olmos (50, 51), al inyectar plantitas de olmos con filtrados de los medios en que fue sembrado el hongo. Dimond (15), indica que C. ulmi cultivado en medios artificiales produce, por lo menos, dos tipos de sustancias tóxicas, las cuales actuando independientemente, reproducen sólo una parte de los síntomas típicos del síndrome de la enfermedad.

Naundorf e Idrovo (34), obtuvieron indicios de la presencia de toxinas en árboles de cacao atacados por C. fimbriata. Ellos observaron este hecho al colocar plantas de tomate en contacto con extractos de la madera de partes afectadas por el mal del machete.

Resistencia y susceptibilidad de variedades de cacao

La mayor parte de la información conocida, relacionada con la resistencia y susceptibilidad de tipos y cultivares de cacao al mal del machete, se basa principalmente, en observaciones de campo; existiendo consecuentemente, muchas opiniones contradictorias al respecto (12, 24, 25, 37, 41, 47, 48).

Rorer (41), quien observó por primera vez la enfermedad, indica que los árboles de la variedad 'Nacional', oriunda del Ecuador, son más o menos resistentes al daño, debido a la rápida cicatrización de las lesiones; fenómeno que no ocurre en los árboles de la variedad 'Venezuela*', que es muy susceptible. Wood (48) concuerda con el criterio de Rorer, en tanto que Orellana (37) afirma que el cacao 'Nacional' es muy susceptible.

Observaciones efectuadas en Ecuador (9), Colombia (22), Venezuela (32), Trinidad (25) y México (35), coinciden al señalar, que los árboles genéticamente relacionados a los tipos 'Criollos', denota alta susceptibilidad a la enfermedad, mientras que los de tipo 'Forastero' y algunos segregantes del tipo 'Trinitario' presentan evidencias de poseer cierta resistencia.

Pruebas de resistencia a la enfermedad

Como solución al problema del mal del machete, se ha sugerido la búsqueda de individuos resistentes en poblaciones de cacao de tipo 'Forastero' y en segregantes de tipo 'Trinitario' (9, 11). Existen muy

* Nombre con el que se designa en Ecuador a árboles de tipo 'Trinitario'.

pocos trabajos experimentales dirigidos a la evaluación de la resistencia al mal del machete. Además en la mayoría de estos trabajos, se ha utilizado un número pequeño de plantas que impide establecer conclusiones válidas. En estos trabajos se han usado siempre plantas jóvenes, provenientes de estacas o semilla que no excedían, de manera general, los doce meses de edad.

L. C. Goberdhan (Información personal), inoculó plantas de seis meses de edad, desarrolladas de estacas, y encontró que los clones SCA 6, ICS 1, IMC 67, TSH 67, TSH 516, TSH 519, TSH 552, y P 7 son altamente resistentes a la enfermedad, pero el número de plantas que utilizó fue muy pequeño.

Chong (8) inoculó grupos de clones y de híbridos interclonales, de diferente edad, registrando en plantitas de seis meses, provenientes de estacas, una mortalidad de 100% en los clones ICS 1, ICS 45 y EET 62; sólo el clon SCA 6 presentaba alta resistencia. También encontró que plantitas de 16 meses de edad de los cruces ICS 1 x SCA 6 y SCA 6 x ICS 1 fueron susceptibles.

Cevallos (6), trató de determinar la reacción al mal del machete de varios cruces interclonales y también la reacción de sus clones padres. Encontró que plantas de 10 meses de edad del cruce SCA 6 x ICS 1 fueron menos susceptibles a la enfermedad, pero de manera general todos los cruces con SCA 6 fueron más resistentes. Los resultados obtenidos con plantas de más de un año difieren de los anteriores, puesto que las plantas del cruce SCA 6 x ICS 1 se mostraron susceptibles. Inoculaciones practicadas en estacas de los clones progenitores de los cruces estudiados por Cevallos (6), no dieron evidencias de poseer

resistencia, sin embargo en el clon SCA 6 se observó, que los síntomas de la enfermedad tardaron más en manifestarse, y en muchos casos se formaron brotes nuevos debajo del punto de inoculación, después que la parte aérea de la planta había muerto.

La evaluación de resistencia mediante el uso de plantas jóvenes exige la preparación de estacas, acodos o semillas. Para el caso de plantas originadas de autopolinizaciones y de cruzamientos interclonales, se estima que se requiere, desde el inicio de la preparación del material a la obtención de los datos finales, un tiempo no menor de año y medio.

El uso de las sustancias tóxicas extraídas de árboles enfermos, fue propuesto por Idrovo (23), como instrumento para detectar posibles grados de resistencia o susceptibilidad, a través de su efecto en plántulas de cacao de 30 días de edad.

Knoke y Saunders (29), sugieren que la selección de clones de cacao se haga mediante pruebas de resistencia al ataque de Xyleborus, pero no indican el método a seguir.

Echandi y Fernández (18), efectuaron en el laboratorio inoculaciones en secciones de corteza de Coffea arabica, C. canephora, C. liberica y del híbrido C. dewevrei x C. arabica; ellos encontraron que el organismo no se desarrolla sobre la corteza de C. canephora, C. liberica y del híbrido C. dewevrei x C. arabica, confirmando los resultados obtenidos anteriormente por medio de inoculaciones de los árboles en el campo (42, 46). Estos mismos autores lograron determinar que la resistencia puesta de manifiesto por C. canephora, C. liberica y del híbrido C. dewevrei x C. arabica estaba relacionada con un alto contenido de ácido clorogénico (18).

MATERIALES Y METODOS

Efecto de la humedad del suelo en el desarrollo de la enfermedad

Para efectuar esta prueba se escogieron plántulas de cacao de polinización libre de seis meses de edad de los clones UF 29, UF 168, UF 296, UF 654, UF 667, UF 676 y CC 2 y se separaron en dos grupos. En cada grupo se colocó igual número de plantas de cada clon, variando entre 12 y 57 plantas. Un grupo se sometió a condiciones secas y el otro a condiciones húmedas. Las plantas fueron sembradas en bolsas de polietileno a razón de tres plantas por bolsa. Las bolsas tenían una capacidad aproximada de 3 Kg de tierra. El grupo de plantas bajo condiciones secas recibió 50 ml de agua por bolsa, aplicados al suelo cada dos días. El grupo de plantas bajo condiciones húmedas recibió un riego abundante cada dos días, hasta saturar el suelo. Las plantas se mantuvieron en el invernadero y se inocularon con C. fimbriata, cuatro meses después de iniciados los tratamientos, los cuales se continuaron hasta el final del experimento, ocho meses después de practicadas las inoculaciones. El método de inoculación consistió en practicar en el tallo una herida profunda que llegara hasta la madera, aproximadamente, en el punto en que estuvieron insertados los cotiledones, e inmediatamente aplicar el inóculo, que consistió en una suspensión acuosa de esporas del hongo. La herida se cubrió con algodón hidrófilo, que se fijó al tallo de la planta con cinta engomada. El algodón se mantuvo húmedo durante cuatro días, a partir del momento en que se efectuaron las inoculaciones.

Presencia de toxinas en cultivos del hongo y en la madera de plantas afectadas

Se condujeron separadamente dos pruebas diferentes para determinar la presencia de toxinas en cultivos de C. fimbriata y en madera de plantas afectadas por el hongo.

En la primera prueba el hongo se desarrolló en un medio de serrín de madera sana del clon UF 221. Este medio se preparó colocando 50 gr de serrín fresco en frascos de 1.000 ml de capacidad, añadiendo luego 150 ml de agua destilada. El medio se esterilizó, por 20 minutos a 15 lbs de presión, y luego se sembró el hongo, que se dejó incubar a la temperatura ambiente. El medio con las colonias desarrolladas por 30 días, se filtró a través de celita y una parte del filtrado fue esterilizado en el autoclave. Los extractos estudiados fueron los siguientes:

- 1 = Extracto del medio inoculado
- 2 = Extracto del medio inoculado esterilizado
- 3 = Extracto del medio esterilizado
- 4 = Agua estéril.

Para la segunda prueba se prepararon extractos de madera necrosada proveniente de plantas afectadas por la enfermedad, usando una técnica similar a la empleada por Naundorf e Idrovo (23, 34). Estos extractos fueron tratados en la misma forma en que se trataron los de la primera prueba. Los tratamientos estudiados fueron los siguientes:

- 1 = Extracto de la madera de plantas enfermas
- 2 = Extracto de la madera de plantas sanas
- 3 = Agua estéril

En ambas pruebas se usaron como indicadoras plantas de tomate de 45 días de edad, a las que se eliminó el sistema radical, a la altura del cuello, mediante un corte en bisel hecho con una navaja filosa. Los cortes se efectuaron bajo agua y las plantas se mantuvieron en este líquido hasta el momento de someterlas a los tratamientos. Los extractos se envasaron en tubos de ensayos, a razón de 20 ml por cada tubo. Durante todo el período de observación, las plantas se mantuvieron bajo iluminación constante. La iluminación fue proporcionada por dos lámparas fluorescentes de luz diurna de 40 vatios y por dos lámparas incandescentes de 150 vatios. La temperatura se mantuvo a un promedio de 27°C.

La presencia de toxinas se determinó por los síntomas de marchitez acusados por las plantas indicadoras. Las lecturas fueron tomadas cada cuatro horas usando la siguiente escala:

- 0 = Normal
- 1 = Ligeramente marchita
- 2 = Marchita
- 3 = Totalmente marchita
- 4 = Muerta

Pruebas de resistencia*

Siguiendo una técnica similar a la empleada en plantas de café por Echandi y Fernández (18), se trató de perfeccionar un método combinado de laboratorio y campo, que permitiera evaluar en cacao, grados de

* El material usado en esta prueba se obtuvo de la Colección de Germoplasma del Programa de Cacao del IICA.

resistencia al mal del machete. Para el efecto se colectaron ramas de 1.5 cm de diámetro, de 10 especies del género Theobroma, 7 del género Herrania y dos híbridos interespecíficos del género Theobroma. De cada rama se tomaron seis porciones de corteza y seis trocitos de madera, de aproximadamente 4.0 x 1.5 cm y se colocaron en cajas petri, acondicionadas para servir como cámaras húmedas. Los trocitos de corteza y de madera se inocularon con una suspensión acuosa del hongo de una concentración de 15.000 esporas/ml y se incubaron a la temperatura ambiente.

Se tomaron datos por separado del desarrollo del micelio y de la formación de peritecios del hongo. Las lecturas se hicieron tres y cuatro días después de iniciado el experimento. En cada porción de madera o corteza se hicieron tres observaciones. Las pruebas se repitieron dos veces dando en total 36 lecturas en la corteza y 36 lecturas en la madera de cada especie. Los datos se tomaron de acuerdo a la siguiente escala:

Desarrollo de micelio y peritecios

- 0 = Nada
- 1 = Muy poco
- 2 = Poco
- 3 = Bastante
- 4 = Cubierto totalmente

Se decidió que debían seleccionarse las especies que presentaron en el laboratorio grados de infección entre 0.00 y 2.00. Ramas de árboles adultos de las especies que presentaron grados de infección entre 0.00 y 2.00 se inocularon en el campo. La mitad de las ramas inoculadas se cortaron a los 15 días para efectuar las primeras observaciones

y las ramas restantes a los 30 días. En cada rama se midió el desarrollo de la infección. Tanto en las pruebas de laboratorio como en las de campo se incluyeron como testigos ramas de árboles de cacao conocidos como susceptibles al mal del machete.

Esta misma técnica se aplicó a 50 clones de cacao de diferente origen genético.

RESULTADOS EXPERIMENTALES

Efecto de la humedad del suelo en el desarrollo de la enfermedad

Los síntomas iniciales de la enfermedad aparecieron entre 7 y 15 días después de efectuadas las inoculaciones. Ninguno de los dos tratamientos aceleró la expresión de los síntomas; ni tampoco se notó ninguna diferencia en el desarrollo de la enfermedad en ambos grupos de plantas, como puede observarse en el Cuadro 1. Los datos fueron sometidos a la prueba de independencia de "Chi cuadrado" y a la prueba de "t". Los resultados de estas pruebas indican que las diferencias entre tratamientos no fueron significativas al nivel de 0.01 o 0.05 de probabilidad estadística.

Presencia de toxinas en cultivos del hongo y en la madera de plantas enfermas

Las plantas de tomate colocadas en los extractos de cultivos del hongo en serrín de madera de cacao, comenzaron a mostrar síntomas a las dos horas. En el Gráfico 1 se observa el progreso de la marchitez.

Se analizaron únicamente los datos obtenidos a las 12, 24, 36 y 48 horas, encontrándose en todos los casos diferencias con significación estadística al nivel del 1% entre el efecto inducido por extractos de medios inoculados y el provocado por el extracto del medio no inoculado. No hubo diferencia entre el efecto del extracto del medio inoculado y el extracto del medio inoculado y esterilizado.

El extracto de madera afectada procedente de plantas de cacao enfermas, provocó síntomas de marchitez en las plantas de tomate, dos horas después de iniciado el experimento. El efecto inducido por este extracto fue diferente estadísticamente al nivel del 1% a las 12 y 24

Cuadro 1. EFECTO DE LA HUMEDAD DEL SUELO EN EL DESARROLLO DEL MAL DEL MACHETE
 EN PLANTULAS DE CACAO INOCULADAS ARTIFICIALMENTE

C L O N	Suelo seco				Suelo húmedo				
	Número plantas inoculadas	Número plantas muertas	% Mortalidad	Número plantas inoculadas	Número plantas muertas	% Mortalidad	Número plantas inoculadas	Número plantas muertas	% Mortalidad
UF 29	18	12	66.7	18	15	83.3			
UF 168	27	20	74.1	27	16	59.3			
UF 296	27	18	66.7	27	26	93.3			
UF 654	18	13	72.2	18	17	94.5			
UF 667	12	8	66.7	12	8	66.7			
UF 676	57	42	73.7	57	38	66.7			
CC 2	15	10	66.7	15	13	86.7			
TOTAL	174	123		174	133				

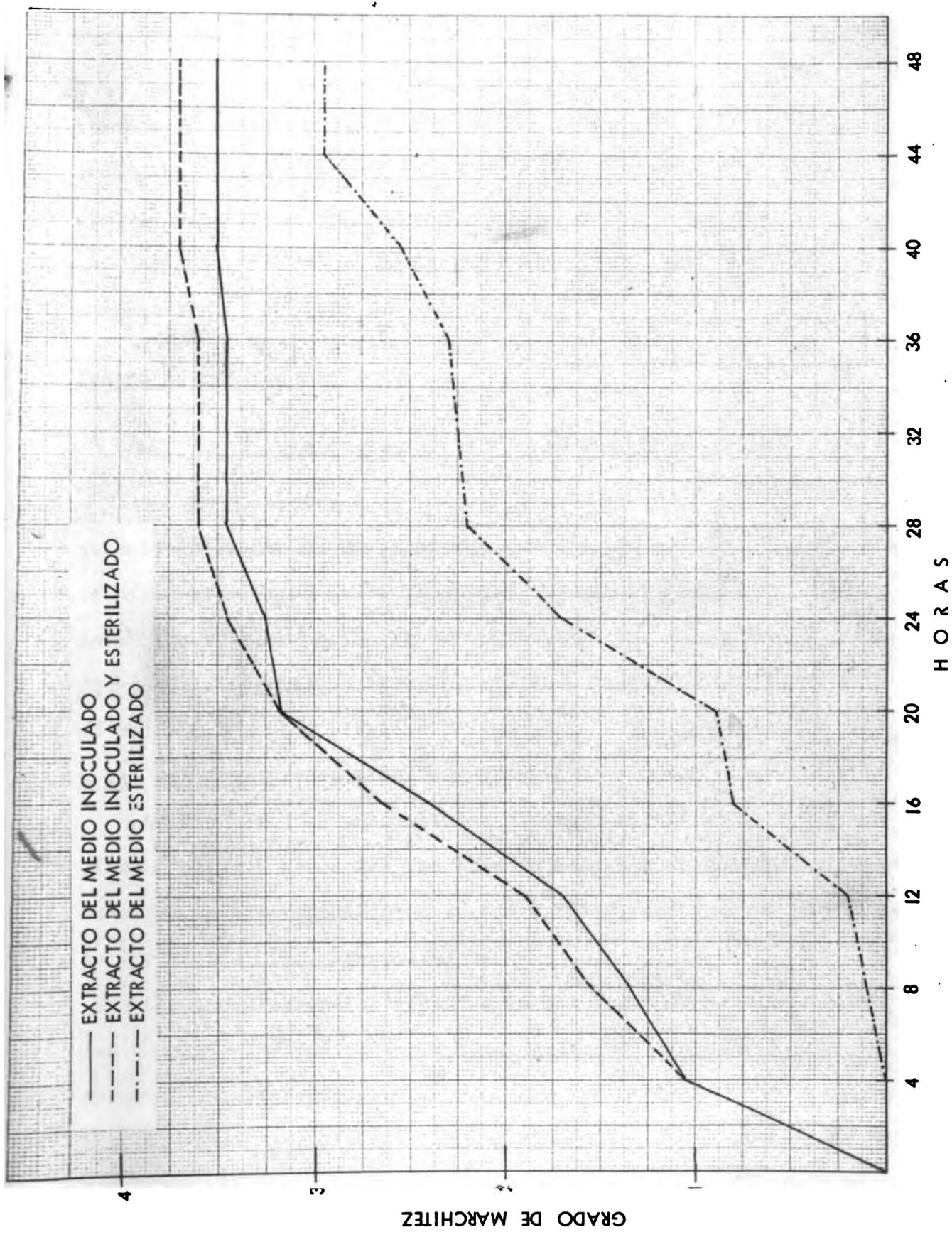


GRAFICO 1. Tendencia del progreso de los síntomas de marchitez registrados en plantas de tomates colocadas en extractos de cultivos de C. fimbriata en medio de serrín de madera de cacao .

horas y al nivel del 5% a las 36 y 48 horas, con respecto al efecto inducido por extractos de madera sana. El Gráfico 2 presenta la tendencia del proceso de los síntomas en las plantas indicadoras.

Las plantas que se mantuvieron en agua no mostraron indicios de marchitez al finalizar los experimentos.

Prueba de resistencia

a. Inoculaciones en especies de Theobroma y Herrania

En el Cuadro 2 se indican los resultados obtenidos en las inoculaciones hechas en el laboratorio sobre trocitos de corteza y madera de diferentes especies de Theobroma; Th. angustifolia y Th. mammosa acusaron los valores más bajos de infección. Th. subincana, Th. grandiflora y Th. speciosa mostraron grados de infección que no sobrepasaron el valor 2.00. Los híbridos Th. simiarum x Th. mammosa y Th. mammosa x Th. simiarum presentaron baja infección.

En las especies susceptibles el hongo creció bien; a los cuatro días se observó sobre los trocitos de madera y de corteza, abundante cantidad de endoconidióforos y endoconidias, así como un elevado número de peritecios bien desarrollados.

Las inoculaciones efectuadas en las ramas de árboles adultos de las especies que mostraron el menor grado de infección dieron los siguientes resultados:

1. Th. angustifolia: La mayoría de las ramas inoculadas mostraron buena cicatrización. La necrosis no profundizó ni en la madera ni en la corteza y únicamente comprometió la zona herida.

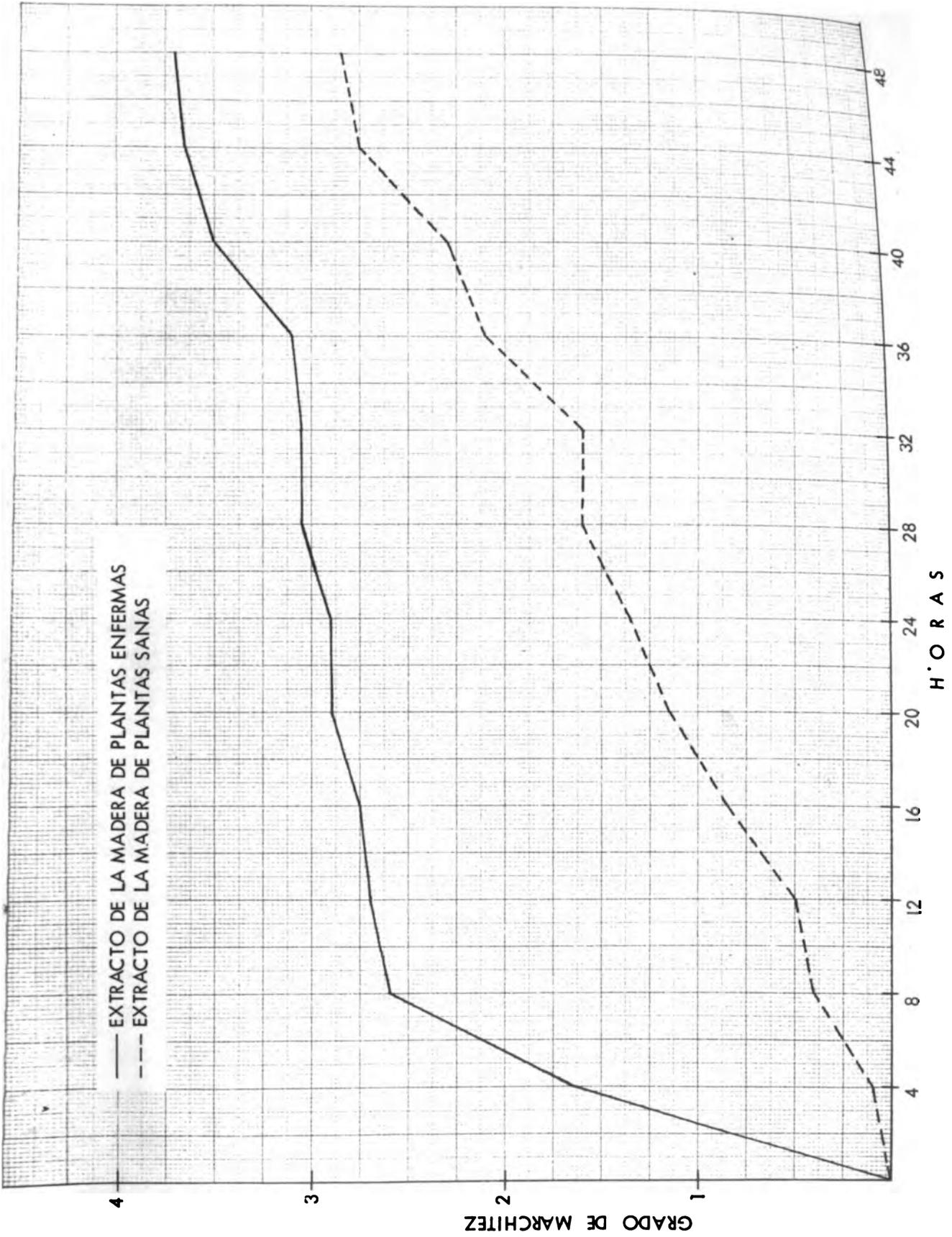


GRAFICO 2. Tendencia del progreso de los síntomas de marchitez registrados en las plantas de tomates colocadas en extractos de madera de plantas de cacao enfermas con el mal del machete .

Cuadro 2. CRECIMIENTO PROMEDIO DE MICELIO Y PERITECIOS CALCULADOS EN BASE A UNA ESCALA DE 0 a 4, EN 36 LECTURAS TOMADAS AL CUARTO DIA DE EFECTUADAS LAS INOCULACIONES.

E S P E C I E S	MADERA		CORTEZA	
	Micelio	Peritecios	Micelio	Peritecios
<u>Th. bicolor</u>	2.83	1.78	3.72	1.94
<u>Th. angustifolia</u> *	0.05	0.05	0.05	0.00
<u>Th. mammosa</u> *	0.17	0.00	0.00	0.00
<u>Th. subincana</u> *	1.61	1.05	1.88	0.89
<u>Th. simiarum</u>	3.44	3.94	0.79	0.58
<u>Th. microcarpa</u>	3.67	3.94	2.05	2.89
<u>Th. grandiflora</u> *	2.00	2.00	1.53	2.00
<u>Th. speciosa</u> *	2.00	1.22	1.14	0.11
<u>Th. cacao</u> var. <u>pentagona</u>	4.00	4.00	3.61	3.83
<u>Th. cacao</u> var. <u>pentagona</u> rojo	4.00	4.00	3.11	3.17
<u>Th. cacao</u>	3.83	4.00	3.61	3.67
<u>Th. simiarum</u> x <u>Th. mammosa</u> *	0.47	0.05	0.19	0.00
<u>Th. mammosa</u> x <u>Th. simiarum</u> *	0.72	0.36	0.25	0.00
<u>H. Purpurea</u>	3.94	3.50	3.67	3.56
<u>H. balaoensis</u>	3.67	3.83	2.33	2.83
<u>H. nitida</u>	3.89	3.89	3.33	3.44
<u>H. humbratica</u>	4.00	4.00	3.89	3.06
<u>H. cuatrecasana</u>	4.00	3.72	2.28	2.89
<u>H. albiflora</u>	3.44	3.22	2.00	3.06
<u>H. nictrodendron</u>	3.17	3.17	2.33	3.00

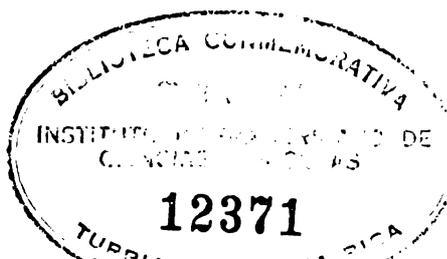
2. Th. mammosa: El comportamiento de esta especie fue similar a Th. angustifolia.

3. Th. subincana: Se notaron zonas necróticas que se extendían en la madera. La extensión del área necrosada varió entre 10.0 y 37.0 cm, con un promedio de 22.8 cm. De manera general el área necrótica sólo profundizó en la madera un máximo de 4 a 5 mm. En unos pocos casos las manchas se presentaron como zonas necróticas aisladas y discontinuas.

4. Th. grandiflora: A los quince días, en todas las ramas inoculadas, se observó que la necrosis estaba muy extendida en la madera. La extensión máxima fue de 56.0 cm y la mínima de 11.0 cm, siendo el promedio de 35.0 cm. La necrosis abarcaba la madera en casi todo el grosor de la rama e igualmente afectaba la corteza. Una rama de esta especie mostró síntomas de marchitamiento.

5. Th. speciosa: El progreso de la necrosis fue lento en esta especie, profundizando poco en la madera, con excepción de dos casos en que la necrosis llegó a la médula, en el área próxima a la herida. La extensión total de la lesión varió entre 23.0 y 4.5 cm, con un promedio de 14.5 cm.

6. Th. cacao (tipo Matina): Ninguna de las ramas inoculadas mostraron síntomas foliares, pero a los 15 días el progreso de la necrosis en el interior de las ramas fue grande. La necrosis abarcaba la madera en todo el grosor de la rama y también la parte interna de la corteza. La extensión de la necrosis varió entre 47.0 y 19.0 cm, siendo el promedio de 34.3 cm.



7. Th. simiarum x Th. mammosa: La reacción observada, fue similar a la que mostraron las ramas de Th. angustifolia y Th. mammosa.

b. Inoculaciones en diferentes clones de cacao

Casi todos los clones de cacao estudiados mostraron un alto grado de infección como puede observarse en el Cuadro 3. Únicamente los clones SPA 9, IMC 67 y POUND 12 presentaron grados de infección menores de 1.00 que fue, en este caso, el límite fijado para efectuar la selección.

En las inoculaciones realizadas en el campo sobre ramas de árboles adultos de los clones SPA 9, IMC 67 y POUND 12, estos se comportaron en forma similar entre ellos. En las ramas, los tejidos de la zona herida se mostraron necrosados pero, sin profundizar en la madera. También se observó en la superficie externa de la madera, ténues líneas de color pardo-rojizo que no llegaron a profundizar en la madera. El promedio de la extensión total alcanzada por estas líneas fue de 9.85 cm y el ancho en ningún caso fue mayor de 1 mm. En la mayoría de los casos se observaron procesos de cicatrización similares a los presentados por Th. angustifolia y Th. mammosa.

En las ramas inoculadas del clon UF 668, susceptible, según el método de laboratorio; el progreso de la enfermedad fue acelerado. Los tejidos necrosados abarcaron la madera, prácticamente en todo el grosor de las ramas, y afectaron también internamente la corteza. La necrosis progresó rápidamente, alcanzando una extensión comprendida entre 48.0 y 17.0 cm, siendo el promedio de 20.75 cm. A los 30 días una rama inoculada presentó claramente los síntomas foliares característicos de la enfermedad.

Cuadro 3. CRECIMIENTO PROMEDIO DE MICELIO Y PERITECIOS CALCULADOS EN BASE A UNA ESCALA ARBITRARIA DE 0 a 4, EN 36 LECTURAS TOMADAS AL CUARTO DIA DE EFECTUADAS LAS INOCULACIONES

C L O N	MADERA		CORTEZA		C L O N	MADERA		CORTEZA	
	Micelio	Peritecios	Micelio	Peritecios		Micelio	Peritecios	Micelio	Peritecios
UF 10	3.94	3.78	4.00	4.00	R 2	4.00	3.33	4.00	3.28
UF 11	4.00	3.94	4.00	4.00	R 9	3.61	3.28	3.72	3.33
UF 12	4.00	3.89	2.83	3.17	R 19	3.94	3.72	3.17	3.61
UF 29	3.06	3.39	3.61	3.22	R 41	3.89	3.33	4.00	1.94
UF 168	4.00	4.00	4.00	4.00	R 48	3.89	3.33	2.61	3.00
UF 221	3.78	3.78	4.00	4.00	R 52	3.83	3.28	4.00	3.05
UF 242	2.44	2.56	2.94	3.00	R 101	3.00	2.17	3.55	2.17
UF 273	2.05	2.11	2.72	3.00	R 105	2.61	3.00	2.83	3.00
UF 296	3.94	3.94	4.00	4.00	R 117	2.83	3.33	3.78	3.17
UF 613	4.00	4.00	3.50	3.78	APA 4	3.28	3.33	3.39	3.55
UF 650	4.00	4.00	4.00	4.00	APA 5	3.44	3.89	3.67	3.50
UF 654	4.00	4.00	3.39	3.67	SPA 5	3.94	3.94	3.78	3.33
UF 667	4.00	4.00	4.00	4.00	SPA 7	1.89	2.17	2.61	3.00
UF 668	4.00	4.00	4.00	4.00	SPA 9*	1.00	0.72	0.00	0.00
UF 672	4.00	4.00	3.72	3.78	SPA 10	2.22	1.89	2.28	2.72
UF 676	4.00	4.00	4.00	4.00	SPA 11	1.83	2.28	2.28	2.56
UF 677	3.94	4.00	4.00	4.00	SPA 12	1.72	2.28	2.50	3.00
SIC 2	2.94	3.00	3.56	3.61	ICS 6	3.61	3.83	3.83	4.00
SIC 6	2.33	2.17	2.61	2.94	ICS 45	4.00	4.00	4.00	4.00
SIC 28	3.15	3.00	3.39	3.67	ICS 95	4.00	3.83	4.00	3.93
JIAL 93	2.22	2.05	1.78	2.05	LAFI 7	3.67	3.33	3.22	3.05
Catongo	2.11	0.89	2.11	2.67	POUND 12*	0.67	0.06	1.00	0.33
SCA 6	4.00	4.00	4.00	4.00	IMC 67*	0.67	0.61	0.72	0.39
SCA 12	4.00	4.00	4.00	4.00	UF 613 Ir.	3.33	3.72	2.44	2.78
ICS 1	4.00	4.00	4.00	4.00	Matina	3.83	4.00	3.61	3.67

* Clones que fueron seleccionados

Ir.= Irradiado

DISCUSION

Efecto de la humedad del suelo en el desarrollo de la enfermedad

Se considera que las condiciones a las cuales fueron sometidas las plantas de cacao, antes y después de inoculadas, fueron suficientemente rigurosas para representar las condiciones extremas que se deseaban estudiar.

Los resultados de este trabajo confirman lo señalado por Hansen (20), y con base en éstos se considera que condiciones de sequía o humedad del suelo, no tienen marcada influencia sobre el desarrollo de la enfermedad. Sin embargo, se estima que bajo condiciones de campo, cualquier factor que contribuya a provocar debilidad general de los árboles podría predisponer las plantas al ataque de la enfermedad.

Presencia de toxinas en cultivos del hongo y en la madera de plantas afectadas

Los resultados obtenidos demuestran claramente la producción de alguna sustancia(s) tóxica por el hongo C. fimbriata, y que ésta sustancia(s) es producida tanto en plantas de cacao enfermas como en un sustrato a base de madera de cacao. Los resultados del presente trabajo confirman lo señalado por Naundorf e Idrovo (34), y permiten suponer que la sustancia(s) tóxica elaborada sea responsable, en parte por lo menos, de la producción de los síntomas de la enfermedad, explicando así la muerte rápida que ocurre en los árboles de cacao afectados por C. fimbriata.

El hecho de que los extractos esterilizados, por 20 minutos a 15 lbs de presión y a 120°C, produzcan igual efecto que los extractos no

esterilizados, indica que la sustancia(s) responsable no es de carácter enzimático, ya que la elevada temperatura a que fueron sometidos durante el proceso de esterilización, desnaturalizaría cualquier producto de este tipo. Las sustancias tóxicas producidas por C. ulmi también permanecen activas después de hervirlas por 5 a 10 minutos o de someterlas a esterilización en el autoclave (49, 51).

Pruebas de resistencia

Se observó una clara relación entre los resultados obtenidos en las inoculaciones de trocitos de madera y de corteza en el laboratorio, con los provenientes de inoculaciones de ramas en el campo; correspondiendo a una elevada resistencia de laboratorio, una alta resistencia en el campo.

Th. angustifolia y Th. mammosa mostraron mayor resistencia y prácticamente no se observó diferencia en la reacción de ambas especies. Se supone que Th. mammosa es cercana genéticamente a Th. angustifolia*, lo cual explicaría la similitud en la reacción de ambas especies.

La resistencia expresada por los híbridos Th. simiarum x Th. mammosa y Th. mammosa x Th. simiarum, permite suponer que el carácter de resistencia aportado por Th. mammosa podría ser dominante y encontrarse en homocigosis en las especies resistentes.

Las inoculaciones realizadas en el laboratorio sobre material colectado de 50 diferentes clones de cacao, permitieron determinar a los

* Soria, J. Información personal.

clones SPA 9, IMC 67 y POUND 12, como los más resistentes del grupo. Los clones que mostraron mayor resistencia son de tipo 'Forastero', originarios de la región amazónica de América del Sur. Este hecho confirmaría la posibilidad, sugerida anteriormente (9, 11), de encontrar fuentes de resistencia a la enfermedad en árboles de tipo 'Forastero' y coincide también con las observaciones hechas por Doak y Zambrano, citados por Cevallos (6), quienes durante un recorrido por la región amazónica ecuatoriana no lograron observar árboles enfermos o muertos a causa del mal del machete.

Se estima que la prueba usada para la evaluación del material estudiado, es válida para seleccionar individuos resistentes dentro de una población de árboles adultos y que permite la rápida evaluación de un crecido número de árboles de cacao, acelerando en esta forma los trabajos de selección clonal para resistencia a C. fimbriata.

CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos se pueden hacer las siguientes conclusiones:

1. Las condiciones secas o húmedas del suelo no influyen en el desarrollo de la enfermedad, ni contribuyen a acelerar la expresión de los síntomas y la muerte de las plantas.
2. Parece claro que el hongo C. fimbriata es capaz de producir alguna sustancia(s) tóxica al infectar plantas de cacao.
3. Es posible que la sustancia(s) tóxica elaborada por C. fimbriata sea responsable, en parte por lo menos, de la producción de los síntomas de marchitez típicos de la enfermedad.
4. La sustancia(s) tóxica no es de tipo enzimático y permanece activa aún después de someterla a temperatura elevada durante el proceso de esterilización.
5. Las especies Th. angustifolia, Th. mammosa, los híbridos Th. simiarum x Th. mammosa, Th. mammosa x Th. simiarum y los clones de cacao SPA 9, IMC 67 y POUND 12, poseen alta resistencia a la enfermedad en base a pruebas de laboratorio y campo.
6. Se supone que otros individuos resistentes se podrían obtener en árboles de tipo 'Forastero', especialmente en aquellos oriundos de la región amazónica de América del Sur.
7. La prueba usada para evaluar grados de resistencia combinando inoculaciones de laboratorio y campo, parece útil para seleccionar en forma rápida, individuos resistentes dentro de poblaciones de árboles adultos.

8. Se sugiere el estudio de la posibilidad de combinar la resistencia encontrada en otras especies de Theobroma, principalmente en Th. angustifolia, mediante hibridaciones con clones de cacao que también han demostrado resistencia a la enfermedad.

RESUMEN

Se estudió el efecto del contenido de agua del suelo con respecto al desarrollo de la enfermedad del cacao conocida como mal del machete (Ceratocystis fimbriata). No se notó ninguna diferencia en susceptibilidad entre plantas inoculadas y mantenidas en condiciones de suelo seco y en condiciones de suelo húmedo.

El hongo C. fimbriata produce alguna sustancia(s) tóxica en plantas enfermas y en medios de cultivos.

Se desarrolló un método rápido para evaluar grados de resistencia al mal del machete combinando inoculaciones de laboratorio y campo. Los resultados obtenidos mediante inoculaciones en el laboratorio y en el campo fueron similares. Se encontró que las especies Th. angustifolia, Th. mammosa, los híbridos Th. simiarum x Th. mammosa, Th. mammosa x Th. simiarum y los clones de cacao SPA 9, IMC 67 y POUND 12, poseen alta resistencia a la enfermedad.

SUMMARY

The effect of soil water content on the development of the cacao disease known as "mal del machete", was studied. No difference in degree of susceptibility was found among inoculated cacao plants kept in dry and wet soil conditions.

Ceratocystis fimbriata produced toxic substances in diseased plants as well as in cultures maintained "in vitro".

A rapid laboratory method to evaluate resistance to "mal del machete" was developed. With this method; a good correlation was obtained between laboratory and field observations. Theobroma angustifolia, Th. mammosa, the hibrid plants of Th. simiarum x Th. mammosa, Th. mammosa x Th. simiarum and the cacao clones SPA 9, IMC 67 and POUND 12, were highly resistant to the disease both in the laboratory and in the field.

LITERATURA CITADA

1. ALEXOPOULUS, C. J. Introductory Mycology. 2nd ed. New York, Wiley, 1962. 613 p.
2. ARBELAEZ, E. La llaga macana del tronco de cacao. Acta Agronómica (Colombia) 7(1):71-103. 1957.
3. BARBA D., C. Estudio morfológico y pruebas de patogenicidad de varias cepas de Ceratocystis fimbriata Ell. & Halst. Tesis Mag. Agr. Turrialba, Costa Rica, Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, 1961. 59 p. (mimeografiada).
4. BESSEY, F. A. Morphology and taxonomy of fungi. Rev. ed. Philadelphia, Blakiston, 1952. 791 p.
5. CAMPBELL, R. N. Some sap-stain found in Minnesota. Plant Disease Reporter 44(8):625-628. 1960.
6. CEVALLOS, A. Reacción de las progenies híbridas de cacao (Theobroma cacao L.) y de sus clones padres a Ceratostomella fimbriata Ellis & Halsted, por medio de inoculaciones artificiales. Tesis Ing. Agr. Quito, Ecuador, Facultad de Ingeniería Agronómica y Medicina Veterinaria, Universidad Central, 1962. 104 p. (mimeografiada).
7. CHEVAUGEON, J. Ceratocystis fimbriata Ellis & Halsted. Revue de Micologie. Supplement Colonial (Paris) 22(2):45-60. 1957.
8. CHONG, LORGIA. Desarrollo de la infección y naturaleza de la resistencia clonal a Ceratostomella fimbriata. Tesis Ing. Agr. Guayaquil, Ecuador, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad de Guayaquil, 1961. 120 p. (mimeografiada).
9. DESROSIERS, R. Diferenciación entre variedades de cacao con base a su susceptibilidad a la infección con Ceratostomella fimbriata (E. and H.) Elliot, en el Ecuador. Turrialba 6(3): 48-52. 1956.
10. _____ y DIAZ, J. The world distribution of diseases of cacao. In Conferencia Interamericana de Cacau, 6a., Salvador, Bahía, Brasil, 1956. Bahía, Brasil, Instituto de Cacau da Bahía, 1957. pp. 331-341.
11. _____ El problema de la Ceratostomella en el Ecuador. In Conferencia Interamericana de Cacau, 7a., Palmira, Colombia, 1958. Bogotá, Colombia, Ministerio de Agricultura, División de Investigaciones Agropecuarias, 1959? pp. 270-273.

12. DESROSIERS, R. y DIAZ, J. Enfermedades fungosas del cacao y su control. In Hardy, F. Ed. Manual de cacao. Ed. española. Turrialba, Costa Rica, Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, 1961. pp. 253-286.
13. De VAY, J. E. et al. Canker of almond trees. California Agriculture 14(8):8-9. 1960.
14. _____ et al. Ceratocystis canker. California Agriculture 6(1):2-3. 1962.
15. DIMOND, A. E. Symptoms of dutch elm diseases reproduced by toxins of Graphium ulmi in culture. (Abstract). Phytopathology 37(1):7. 1947.
16. _____ y WAGGONER, P. E. On the nature and role of vivotoxins in plant diseases. Phytopathology 43(5):229-235. 1953.
17. ECHANDI, E. Estudio de la llaga macana. San José, Costa Rica, Ministerio de Agricultura e Industrias, 1956. 6 p. (mimeografiado).
18. _____ y FERNANDEZ, C. E. Relación entre el contenido de ácido clorogénico y la resistencia a la llaga macana o cáncer de los cafetos causado por Ceratocystis fimbriata. Turrialba (Costa Rica) 12(2):87-90. 1962.
19. HALSTED, B. D. y FAIRCHILD, D. G. Sweet potato black rot (Ceratocystis fimbriata Ell. & Halst.). Journal of Mycology 7(1):1-11. 1891.
20. HANSEN, A. J. Ceratocystis fimbriata. Cacao (Costa Rica) 8(3): 5. 1963.
21. HAVORD, G. Problemas esenciales en las investigaciones en cultivos perennes. In Seminario sobre diseños estadísticos y técnicas experimentales con cultivos perennes. Turrialba, Costa Rica, Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, 1962. Doc. 4, Tema II. 6 p.
22. IDROVO, S. El complejo Xyleborus-Ceratostomella en Colombia. In Conferencia Interamericana de Cacao, 7a., Palmira, Colombia, 1958. Bogotá, Colombia, Ministerio de Agricultura, División de Investigaciones Agropecuarias, 1959? pp. 73-79.
23. _____ Una prueba posible de resistencia a Ceratostomella fimbriata (E. and H.) Elliot. In Conferencia Interamericana de Cacao, 7a., Palmira, Colombia, 1958. Bogotá, Colombia, Ministerio de Agricultura, División de Investigaciones Agropecuarias, 1959? pp. 149-151.

24. IMPERIAL COLLEGE OF TROPICAL AGRICULTURE. A guide to River Estate Experimental Station. St. Augustine, Trinidad, 1964. 39 p. (mimeographed).
25. ITON, E. F. Studies on a wilt disease of cacao at River Estate. In Imperial College of Tropical Agriculture, Trinidad. A report on cacao research, 1957-1958. St. Augustine, Trinidad, 1959. pp. 55-66.
26. _____ Ceratostomella wilt in cacao in Trinidad. In Inter-American Cacao Conference, 8th, Port of Spain, Trinidad, 1960. Proceedings. (Port of Spain, Government Press), 1960? pp. 201-204.
27. _____ y CONWAY, G. R. Studies on a wilt disease of cacao at River Estate. III. Some aspects of the biology and habits of Xyleborus spp. and their relation to disease transmission. In Imperial College of Tropical Agriculture, Trinidad. A report on cacao research, 1959-1960. St. Augustine, Trinidad, 1961. pp. 59-65.
28. KAIS, A. G., SMALLEY, E. B. y RIKER, A. J. Environment and development of dutch elm disease. *Phytopathology* 52(11): 1191-1196. 1962.
29. KNOKE, J. K. y SAUNDERS, J. L. Report on a study trip to Venezuela, Trinidad and Ecuador in connection with entomological problems of cacao. Turrialba, Costa Rica, Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, 1964. 11 p. (mimeographed).
30. LILLY, V. G. y BARNETT, H. L. Physiology of fungi. New York, McGraw-Hill, 1951. 494 p.
31. MALAGUTI, G. Ceratostomella fimbriata en el cacao de Venezuela. *Acta Científica Venezolana* 3(3):94-97. 1952.
32. _____ La necrosis del tronco del cacao en Venezuela. *Agronomía Tropical (Venezuela)* 5(4):207-226. 1956.
33. NAUNDORF, G. La relación entre Phytophthora faberi, Ophiostoma fimbriata y Xyleborus sp. *Cacao en Colombia* 5:37-39. 1956.
34. _____ e IDROVO, S. Producción de toxinas por el Ceratostomella fimbriata en el cacao. *Cacao en Colombia* 5:37-39. 1956.
35. OESCHSLI, P. L. Recent developments in the control of cocoa pests and diseases in Latin America. In Cocoa, Chocolate and Confectionary Alliance, Ltd. Report of the Cacao Conference, London, 1957. London, 1958. pp. 71-77.

36. O'REILLY, H. J. Ceratocystis canker of prunus, almonds and apricots. California Agricultural Experiment Station. Circular 519. 1963. 8 p.
37. ORELLANA, R. G. Enfermedades del cacao en Venezuela, Colombia, Ecuador y Trinidad. FAO Boletín Fitosanitario 2(4):49-52. 1954.
38. _____ Cacao disease in México, Nicaragua, Costa Rica and Jamaica. FAO Plant Protection Bulletin 4(3):35-37. 1955.
39. _____ Las enfermedades del cacao en Haití. FAO Boletín Fitosanitario 4(10):148-151. 1956.
40. PIERRE-LOUIS, F. y DADAILLE, B. Les maladies du cacaoyer en Haití. Bulletin Agrícola (Haití) 5(2):1-7. 1956.
41. RORER, J. B. Enfermedades y plagas del cacao en el Ecuador y métodos modernos apropiados al cultivo del cacao. Trad. del inglés por Abelardo Pachano. Guayaquil, Ecuador, Asociación de Agricultores del Ecuador, 1918? 80 p.
42. SCHIEBER, E. y ECHANDI, E. El cáncer de los cafetos en Guatemala, provocado por Ceratocystis fimbriata (Ell. Halst.) Hunt. Café (Costa Rica) 2(7):91-93. 1960.
43. _____ y SOSA, O. N. Cacao canker in Guatemala incited by Ceratocystis fimbriata. Plant Disease Reporter 44(8):672. 1960.
44. SILLER, L. R. La Ceratostomella fimbriata en el cacao en Centro América. In Conferencia Interamericana de Cacao, 7a., Palmira, Colombia, 1958. Bogotá, Colombia, Ministerio de Agricultura, División de Investigaciones Agropecuarias, 1959? pp. 95.
45. SPENCE, J. A. Preliminary observations on a wilt condition of cocoa. Port of Spain, Trinidad, Caribbean Commission. Cocoa Publications Exchange Service 76:1-4. 1958.
46. VALLE, G. A. Estudio sobre el comportamiento y combate del cáncer del cafeto provocado por Ceratocystis fimbriata Ellis & Halsted. Tesis Mag. Agr. Turrialba, Costa Rica, Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, 1961. 46 p. (mimeografiada).
47. WALLENIUS, K. E. Observaciones sobre Xyleborus y el combate del mismo en el cacao. In Conferencia Interamericana de Cacao, 7a., Palmira, Colombia, 1958. Bogotá, Colombia, Ministerio de Agricultura, División de Investigaciones Agropecuarias, 1959? pp. 270-273.

48. WOOD, G. A. R. El cultivo del cacao en Venezuela, Colombia y Ecuador, con notas sobre tres enfermedades del cacao. Bournville, Inglaterra, Cadbury Brothers, 1959. 59 p.
49. ZENTMYER, G. A. Toxin formation by Ceratostomella ulmi. Science 95(2472):512-513. 1942.
50. _____ Toxin formation and chemotherapy in relation to dutch elm disease. (Abstract). Phytopathology 32(1):20. 1942.
51. _____, HORSFALL, J. G. y WALLACE, P. P. Dutch elm disease and its chemotherapy. Connecticut (New Haven) Agricultural Experiment Station. Bulletin 498, 1946. 70 p.

A P E N D I C E

SECO Y EN SUELO HUMEDO, DESPUES DE INCULCADAS CON C. finbriata

TRATAMIENTOS	C I O N	Número total plantas	OBSERVADAS						ESPERADAS						(o-e) ² /e	
			0		o-e		(o-e) ²		e		(o-e) ²					
			Número plantas vivas	Número plantas muertas	Plantas vivas	Plantas muertas	Plantas vivas	Plantas muertas	Plantas vivas	Plantas muertas	Plantas vivas	Plantas muertas	Plantas vivas	Plantas muertas		
Suelo seco	UF 29	18	6	12	4.76	13.24	+1.24	-1.24	1.5376	1.5376	1.5376	1.5376	0.3230	0.1161		
	UF 168	27	7	20	7.14	19.86	-0.14	+0.14	0.0196	0.0196	0.0196	0.0196	0.0027	0.0110		
	UF 296	27	9	18	7.14	19.86	+1.86	-1.86	3.4596	3.4596	3.4596	3.4596	0.4745	0.1742		
	UF 654	18	5	13	4.76	13.24	+0.24	-0.24	0.0576	0.0576	0.0576	0.0576	0.0171	0.0044		
	UF 667	12	4	8	3.17	8.83	+0.83	-0.83	0.6889	0.6889	0.6889	0.6889	0.2173	0.0750		
	UF 676	57	15	42	15.07	41.93	-0.07	+0.07	0.0049	0.0049	0.0049	0.0049	0.0007	0.0001		
	CC-2	15	5	10	3.97	11.03	+1.03	-1.03	1.0609	1.0609	1.0609	1.0609	0.2672	0.0961		
Suelo húmedo	UF 29	18	3	15	4.76	13.24	-1.76	+1.76	3.0976	3.0976	3.0976	3.0976	0.6508	0.2440		
	UF 168	27	11	16	7.14	19.86	+3.86	-3.86	14.8996	14.8996	14.8996	14.8996	2.0863	0.7502		
	UF 296	27	1	26	7.14	19.86	-6.14	+6.14	37.6996	37.6996	37.6996	37.6996	5.2201	1.9233		
	UF 654	18	1	17	4.76	13.24	-3.76	+3.76	14.1376	14.1376	14.1376	14.1376	2.3700	1.0670		
	UF 667	12	4	8	3.17	8.83	+0.83	-0.83	0.6889	0.6889	0.6889	0.6889	0.2173	0.0750		
	UF 676	57	19	38	15.07	41.93	+3.93	-3.93	14.6609	14.6609	14.6609	14.6609	0.9734	0.4498		
	CC-2	15	2	13	3.97	11.03	-1.97	+1.97	3.8809	3.8809	3.8809	3.8809	0.9776	0.4517		
Total		348	92	256									14.4631	5.2110		

Chi cuadrado = 19.6631
0.10 < P < 0.20

Suelo seco	174	51	123	46	106	+ 5	- 5	25	25	25	25	25	0.443	0.196		
Suelo húmedo	174	41	133	46	128	- 5	+ 5	25	25	25	25	25	0.443	0.196		
Total	348	92	256										14.4631	5.2110		

Chi cuadrado = 1.476

0.20 < F < 0.30

Cuadro 5. PRUEBA DE "t" DEL PORCENTAJE DE MORTALIDAD DE PLANTAS DE CACAO EN GRUPOS MANTENIDOS EN SUELO SECO Y EN SUELO HUMEDO, DESPUES DE INOCULADOS CON C. fimbriata

C L O N	% Mortalidad		Valores angulares		Diferencia d	d ²
	Suelo seco	Suelo húmedo	Suelo seco	Suelo húmedo		
UF 29	66.7	83.3	54.8	65.5	10.8	116.64
UF 168	74.1	59.3	59.5	50.4	-9.1	82.81
UF 196	66.7	96.3	54.8	78.9	24.1	580.81
UF 654	72.2	94.5	58.2	76.4	18.2	331.24
UF 667	66.7	66.7	54.8	54.8	0.0	0.00
UF 676	73.7	66.7	59.1	54.8	-4.3	18.49
CC - 2	66.7	86.7	54.8	68.6	13.8	190.44
					$\Sigma d=53.5$	$\Sigma d^2=1.320.43$

$$\bar{D} = 7.64$$

$$s^2 = 151.92$$

$$s_D = 4.65$$

$$t = 1.643$$

$$t = 1.643 < 1.943 = t_6(0.1)$$

Cuadro 6. TOTAL POR REPETICION DE DATOS DE MARCHITAMIENTO DE PLANTAS DE TOMATE COLOCADAS EN EXTRACTOS DE CULTIVOS DE C. fimbriata EN MEDIO DE SERRIN DE MADERA DE CACAO

Los datos se tomaron en plantas individuales de acuerdo a una escala de 0 a 4.

TRATAMIENTOS	12 horas					24 horas						
	Repetición				Total	\bar{X}	Repetición				Total	\bar{X}
	I	II	III	IV			I	II	III	IV		
Extracto del medio inoculado	8	6	10	10	34	1.70	17	15	16	17	65	3.25
Extracto del medio inoculado y esterilizado	10	9	9	10	38	1.90	18	16	17	18	69	3.45
Extracto del medio esterilizado	1	0	2	1	4	0.20	7	8	11	8	34	1.70

TRATAMIENTOS	36 horas					48 horas						
	Repetición				Total	\bar{X}	Repetición				Total	\bar{X}
	I	II	III	IV			I	II	III	IV		
Extracto del medio inoculado	18	15	18	18	69	3.45	18	15	19	18	70	3.50
Extracto del medio inoculado y esterilizado	19	18	17	18	72	3.60	19	18	18	19	74	3.70
Extracto del medio esterilizado	8	11	15	12	46	2.30	13	15	16	15	59	2.95

Cuadro 7. ANALISIS DE LA VARIANCIA DE LOS DATOS DEL CUADRO 6.

A las 12 horas

Fuentes de variación	GL	SC	CM	F
Tratamientos	2	172.67	86.33	55.34**
Medios inoculados vs. medios no inoculados	1	170.67	170.67	109.40**
Entre medios inoculados	1	2.00	2.00	1.28
Error	9	14.00	1.56	
Total	11	186.67		

A las 24 horas

Fuentes de variación	GL	SC	CM	F
Tratamientos	2	183.50	91.75	56.99**
Medios inoculados vs. medios no inoculados	1	181.50	181.50	112.73**
Entre medios inoculados	1	2.00	2.00	1.24
Error	9	14.50	1.61	
Total	11	198.00		

A las 36 horas

Fuentes de variación	GL	SC	CM	F
Tratamientos	2	101.17	50.59	13.49**
Medios inoculados vs. medios no inoculados	1	100.04	100.04	26.68**
Entre medios inoculados	1	1.13	1.13	0.30
Error	9	33.75	3.75	
Total	11	134.92		

A las 48 horas

Fuentes de variación	GL	SC	CM	F
Tratamientos	2	30.17	15.09	9.20**
Medios inoculados vs. medios no inoculados	1	28.17	28.17	17.18**
Entre medios inoculados	1	2.00	2.00	1.22
Error	9	14.75	1.64	
Total	11	44.92		

Cuadro 8. TOTAL POR REPETICION DE DATOS DE MARCHITAMIENTO DE PLANTAS DE TOMATE COLOCADAS EN EXTRACTOS DE MADERA DE PLANTAS DE CACAO ENFERMAS CON MAL DEL MACHETE Y EN EXTRACTOS DE MADERA DE PLANTAS SANAS.

Los datos se tomaron en plantas individuales de acuerdo a una escala de 0 a 4.

TRATAMIENTOS	12 horas					24 horas						
	Repetición					Repetición						
	I	II	III	IV	Total	\bar{X}	I	II	III	IV	Total	\bar{X}
Extracto de madera de plantas enfermas	12	14	14	14	54	2.70	14	15	14	15	58	2.90
Extracto de madera de plantas sanas	1	4	0	5	10	0.50	3	7	7	10	27	1.35

TRATAMIENTOS	36 horas					48 horas						
	Repetición					Repetición						
	I	II	III	IV	Total	\bar{X}	I	II	III	IV	Total	\bar{X}
Extracto de madera de plantas enfermas	14	16	17	15	62	3.10	18	19	18	19	74	3.70
Extracto de madera de plantas sanas	7	10	12	13	42	2.10	11	14	15	17	57	2.85

Cuadro 9. ANALISIS DE LA VARIANCIA DE LOS DATOS DEL CUADRO 8.

A las 12 horas

Fuentes de variación	GL	SC	CM	F
Tratamientos	1	242.00	242.00	72.67**
Error	6	20.00	3.33	
Total	7	262.00		

A las 24 horas

Fuentes de variación	GL	SC	CM	F
Tratamientos	1	120.13	120.13	28.00**
Error	6	25.75	4.29	
Total	7	145.88		

A las 36 horas

Fuentes de variación	GL	SC	CM	F
Tratamientos	1	50.00	50.00	11.55*
Error	6	26.00	4.33	
Total	7	76.00		

A las 48 horas

Fuentes de variación	GL	SC	CM	F
Tratamientos	1	36.13	36.13	10.98*
Error	6	19.75	3.29	
Total	7	55.88		