



Serie Materiales
de Enseñanza No.9

MEJORAMIENTO GENETICO PARA RESISTENCIA A CINCO ENFERMEDADES DEL CACAO

Gustavo A. Enríquez
Jorge Soria A.

Publicación financiada con fondos de la
Fundación W. K. Kellogg como parte del Proyecto
de Capacitación Agropecuaria para el
Istmo Centroamericano

CENTRO AGRONOMOICO TROPICAL DE INVESTIGACION Y ENSEÑANZA, CATIE
Programa de Plantas Perennes
Turrialba, Costa Rica, 1981

ENRIQUEZ, H. A. y SOBLE, J. W. *Resistencia genética para resistancia a cinco enfermedades de cacao*. *Trópicos*, Vol. 8, No. 1, 1977. 35 p. 102 ref.

El presente estudio hace un resumen de los aspectos más sobresalientes, en cuanto de las más importantes enfermedades en el mundo, incluyendo los métodos de investigación para encontrar resistencia o tolerancia, algunos aspectos generales relativos al uso de los híbridos y su aplicación. Se recopiló la información sobre los cultivares resistentes o tolerantes que se encontró en la literatura a nuestro alcance.

Las enfermedades que se consideraron son: "Black Pod" causada por el hongo *Phytophthora palmivora*, "Witches' Broom" causada por el hongo *Crinipellis perniciosa*, "Monilia" causada por el hongo *Monilia rosae*, "Huel de machete" o "Worms sítia" causada por el hongo *Ceratocystis fimbriata* e "Hinchazón de los brotes" o "Swollen shoot" causada por el virus CSSV.

SUMMARY

This paper is a Summary of the most pertinent aspects of the most important five cacao diseases in the world. It summarizes the essential methodologies for resistant screenings and lists the most important cacao cultivars that were available in the literature.

The diseases studied were: "Black Pod" caused by *Phytophthora palmivora*, "Witches' Broom" caused by *Crinipellis perniciosa*, "Monilia" caused by *Monilia rosae*, *Ceratocystis*, caused by *Ceratocystis fimbriata* and Swollen shoot (CSSV).

* Ph.D. Especialista en Agronomía CATIE

** Ph.D. Jefe del Departamento de Cultivos y Suelos Tropicales CATIE

*** Documento preparado para su presentación en la Sexta Conferencia Internacional sobre investigaciones en Cacao. Caracas, Venezuela, 6-12 Noviembre, 1977.

TABLA DE CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESUMEN	ii
SUMMARY	ii
TABLA DE CONTENIDO	iii
LISTA DE CUADROS	iv
INTRODUCCION	1
PODREDUMBRE NEGRA DE LA MAZORCA	4
1. Inoculación a mazorcas separadas de la planta	4
2. Inoculación de trozos de tejido de mazorcas	5
3. Inoculaciones a las mazorcas directamente en el árbol...	6
4. Inoculaciones a plantitas provenientes de semilla o ramillas enraizadas o a ramas en el árbol	7
5. Inoculaciones a las hojas	8
6. Inoculaciones a las raíces	8
7. Inoculaciones a las semillas	9
ESCOBA DE BRUJA <i>Crinipellis perniciosus</i> STAHEL	16
PUDRICION ACUOSA CAUSADA POR <i>Monilia rozeri</i> CIF. Y PAR.	21
VIRUS DE LA HINCHAZON DEL BROTE EN CACAO (CSSV)	23
MAL DE MACHETE <i>Ceratocystis fimbriata</i>	28
REFERENCIAS	31

LISTA DE CUADROS

	<u>Página</u>
CUADRO 1. Material reportado como tolerante o resistente a la Podredumbre Negra de la Mazorca	13
CUADRO 2. Material clonal reportado como resistente a "Escoba de Bruja"	20
CUADRO 3. Material reportado como tolerante o resistente al CSSV, usados como padres	27
CUADRO 4. Material reportado como tolerante o resistente al "Mal de Machete" o "Muerte súbita"	30

MEJORAMIENTO GENETICO PARA RESISTENCIA

A CINCO ENFERMEDADES DE CACAO*

Gustavo A. Enríquez**
Jorge Soria V.***

INTRODUCCION

Se estima que la producción del cultivo del cacao a nivel mundial, sufre pérdidas de entre 10 al 25% por enfermedad.

Las enfermedades más importantes en orden relativo son:

1. "Podrición negra" causada por el hongo *Phytophthora palmivora*, que ocurre a nivel mundial.
2. Escoba de bruja causada por el hongo *Crinipellis perniciosus*, ataca las regiones cacaoteras del norte y oeste de Sur América, incluyendo la Hoya Amazónica y Trinidad.
3. Monilia, causada por el hongo *Monilia rozeri*, ocurre en Ecuador, Colombia y el oeste de Venezuela.
4. La muerte súbita, causada por *Ceratocystis fimbriata*, con excepción de Brasil y República Dominicana ocurre en todas las áreas cacaoteras de América Tropical.
5. El virus Swollen shoot afecta grandes áreas de Africa Occidental

En los esfuerzos para reducir las pérdidas por las enfermedades, se han ensayado métodos químicos y profilácticos. Ha sido posible reducir pérdidas solamente en el caso de *P. palmivora*, pero poco se ha

* Documento preparado para su presentación en la Sexta Conferencia Internacional sobre Investigaciones en Cacao. Caracas, Venezuela. 6-12 Noviembre, 1977.

** Ph.D. Especialista en Agronomía CATIE

*** Ph.D. Jefe del Departamento de Cultivos y Suelos Tropicales CATIE

logrado, con las otras enfermedades que continúan limitando la producción.

En vista del poco éxito tenido en el uso de productos químicos en la mayoría de las enfermedades y el alto costo de los mismos para su uso, en el control particularmente de *P. palmivora*, entre los pequeños agricultores (particularmente en épocas de precios bajos), en varios centros experimentales se han hecho esfuerzos por seleccionar material resistente a estas enfermedades para usarlos en programas de mejoramiento genético.

Para realizar mejoramiento genético para resistencia a enfermedades de cacao, se han usado dos métodos principales:

1. Selección de árboles que muestran resistencia o tolerancia a la enfermedad, bajo condiciones de infección natural o por medios artificiales. Una vez comprobada la reacción de resistencia, el árbol es propagado vegetativamente y se convierte en clones.
2. Incorporación de la resistencia en descendencias de padres resistentes o de diferente reacción. Para este fin, se producen descendencias legítimas, mediante cruzamientos dirigidos y se estudia el grado de transmisión genética de la resistencia a las descendencias, antes de recomendarles como resistentes.

En la presente revisión se presenta los avances logrados hasta la fecha en mejoramiento genético, para resistencia de las siguientes enfermedades: Podredumbre de la mazorca (*P. palmivora*); Escoba de Bruja (*C. perniciosus*); Hinchazón del retoño (shollen shoot virus); Mal de Machete (*C. fimbriata*) y Monilia (*M. rozeri*). No se incluyen trabajos sobre otras enfermedades, debido a que en el contexto mundial tienen

menos importancia, o también se dispone de menos información.

Muchos de los programas de cacao han seguido uno o varios de los siguientes procedimientos, para llegar a desarrollar un programa de mejoramiento para la enfermedad (64).

1. Registros de reacción a infección natural en condiciones de campo.
2. Estudio de los métodos de inoculación para detectar fuentes de resistencia a la población local y la introducida.
3. Estudio del mecanismo y la herencia de el ó los factores que controlan la tolerancia o la resistencia.
4. Estudio del mecanismo de resistencia anatómica, fisiológica y bioquímica.
5. Estudios de las variaciones en tolerancia de los mismos tipos o variedades de cacao en diferentes áreas ecológicas, con relación al ecotipo del patógeno (Strain) del área determinada.
6. Estudios biológicos de los diferentes ecotipos del organismo. Estudio de la variabilidad patogénica.

PODREDUMBRE NEGRA DE LA MAZORCA - *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl.

La podredumbre de la mazorca causada por *P. palmivora* es una de las enfermedades que mayores pérdidas ocasiona a los cultivadores de cacao en todas las áreas de cultivo, (53) sin embargo es difícil encontrar mazorcas afectadas por el organismo en la parte del Amazonas donde ha sido localizado el centro de origen del cultivo. En algunos otros lugares como la parte costanera del Pacífico en Ecuador, aunque la enfermedad está presente, su efecto no es económicamente importante y con las prácticas que se aplican para controlar otras enfermedades, se mantiene lo suficientemente bajo el nivel de inóculo, como para ser peligroso, quizá la razón sea el hecho de que las lluvias están presentes en la época calliente; mientras que la época seca es más fría (36,85). Es muy posible pues que el origen y distribución de la enfermedad sea diferente al del cacao. Si éste es el caso, es lógico que la mayoría de la resistencia a la enfermedad se debe encontrar donde el patógeno y el huésped han convivido por largo tiempo (85):

MÉTODOS PARA INOCULAR EL PATÓGENO

Varios son los métodos para inocular el patógeno en diferentes órganos de la planta de cacao. En la presente revisión se resumirán 7 de esos métodos (53).

1. Inoculación a mazorcas separadas de la planta. Este método ha sido usado por varios autores (53,91,92,93) aunque con pequeñas variaciones que se resumen en la siguiente metodología.

Se toman del campo mazorcas sanas bien desarrolladas pero aun no maduras, se lavan con agua corriente luego se ponen en cajones que tengan

una reserva de agua, pero no debe estar, las mazorcas en contacto con el agua o entre ellas.

Se practica dos inoculaciones sin hacer heridas, con 0.1 ml de una suspensión de zoosporas, una cerca del pedúnculo y la otra en la parte cercana a la punta de la mazorca, ambas en la parte superior del lomo. Las inoculaciones siempre se debe hacer en la tarde, cerca de las 3pm. Luego de la inoculación, la caja se cierra herméticamente y se pone a incubar bajo las condiciones normales de laboratorio.

La infección se registra haciendo medidas diarias del diámetro promedio (2 sentidos) de la mancha. En general, la caja debe permanecer con el mayor % de humedad relativa, al momento de abrir la caja para tomar los datos se debe asperjar agua sobre la mazorca para restituir el % de humedad relativa ambiental.

2. Inoculación de trozos de tejido de mazorcas. Método desarrollado por Prendesgast en 1965, citado por Lawrence (53).

Se toman trozos de mazorcas de 5 cm^2 , sin dañar la epidermis, de la parte central de la mazorca sana, desarrollada, pero no madura. Se debe esterilizar previamente la mazorca, con una solución de 5% de Hipoclorito de Sodio o un equivalente. Dos trocitos de cada mazorca se inoculan, poniendo 0.1 ml de una suspensión de zoosporas en la parte central de la epidermis y se pone a incubar en una caja a 100% de humedad relativa. A los 4 días se registra el número de trocitos infectados. Se debe usar por lo menos unas 10 mazorcas por cada cultivar, lo que daría un total de 20 trocitos tratados, el número de repeticiones puede ser aumentado a discreción del investigador.

3. Inoculaciones a las mazorcas directamente en el árbol.

Hay muchos sistemas muy similares descritos en la literatura que pueden resumirse en una sola metodología general como resumen de varios autores citados por Lawrence (53) y de Tarjot (90, 93) y Blaha (22, 24).

En mazorcas sanas bien desarrolladas se inocula en dos lugares de la mazorca, lateralmente opuestos en la mazorca, usando una gota de 0.1 ml de una suspensión de zoosporas. La suspensión se pone sobre la mazorca en un recipiente que puede ser hecho de plasticina o de arcilla para que no se escurra. La mazorca debe ser cubierta con una funda de polietileno que contenga unos 10 ml de agua destilada, para mantener una humedad relativa permanente. Sobre el nivel del agua, se debe perforar ligeramente la funda con la finalidad de que la bolsa no se llene de agua de lluvia. La funda se amarra cuidadosamente al pedúnculo de la mazorca o a la rama del árbol. En general se debe evitar la luz solar directa al momento de la inoculación. Tres días después de la inoculación, sin remover las fundas de polietileno se debe separar los recipientes de arcilla o plasticina que se usan, los que deben caer al fondo de la bolsa. Las fundas se deben mantener durante la prueba para proteger las mazorcas inoculadas.

Las lesiones se deben medir diariamente y tomar el diámetro promedio en forma similar que el caso anterior. Una variable que se puede usar, es el inóculo como una mezcla de micelio y suspensión de esporangios. Se puede también usar una herida, de aproximadamente 1 mm al punto de inoculación. También se puede asperjar completamente la parte inferior de la mazorca con un aspersor de Wilbiss.

Este método tiene la ventaja sobre el de mazorcas removidas del

árbol en que no se necesita ninguna cámara para las pruebas y además de que parece que las mazorcas, pierdan un poco de resistencia al ser separadas del árbol (74). Otra variación al método es la descrita por Screenivasan (79) que consiste en hacer crecer una colonia en un medio puro de cultivo, sobre granos de trigo esterilizados y cada grano es usado como fuente de inóculo, dándole un medio adecuado para que el organismo pueda seguir viviendo por un período largo en el medio, hasta tener la oportunidad de infectar la mazorca, la cual si es susceptible, mostrará síntomas a los dos días de inoculada, momento que puede retirarse el medio en el cual está soportado el grano infectado. Este método puede ser económicamente aplicado en grandes extensiones a campo abierto con gran facilidad.

4. Inoculaciones a plantitas provenientes de semilla o ramillas enraizadas o a ramas en el árbol. En éste método, desarrollado por Zentmayer (99, 100, 101) y Zentmayer y colaboradores (102) se puede aplicar a varios tipos de rama o plantitas en desarrollo (no menores de seis meses de edad), haciendo un corte vertical con una cuchilla bien afilada en la corteza, en la cual se incarta un disco de unos 3-4 mm, de un cultivo del patógeno crecido en agar V-3, de tal suerte que el agar quede dentro de la herida. Luego se cubre la herida con una bandita plástica, en la cual se puede o no adicionar una motita de algodón húmedo con agua destilada, para mantener una buena humedad atmosférica y mantener las plantas inoculadas en un invernadero bajo buenas condiciones de humedad relativa y protegidas de la acción directa del sol. Entre los 18-25 días la enfermedad debe desarrollarse y se pueden comenzar a hacer las evaluaciones, dependiendo del material.

Algunas variaciones pueden ser introducidas a este método como la de Amposan y colaboradores (7) que han servido para hacer estudios genéticos de la herencia a la resistencia.

5. Inoculaciones a las hojas. Desde que este método fue desarrollado por Siller y McLaughlin (31) y por Hansen (43), en los años 1950 y 1961 respectivamente, muchos cambios han sido introducidos como los propuestos por Galindo y Salazar, citado por Lawrence (53) y el de este último investigador (53). Básicamente este método consiste en asperjar una suspensión de micelio, zoosporas o aplicar discos de agar con micelio o una suspensión de una mezcla de agar medio y zoosporas, a las hojas, ya sean de plántulas de semilla o de ramillas enraizadas o a hojas de árboles creciendo en el campo. Las hojas inoculadas, especialmente en el campo, deben ser cubiertas por una funda de polietileno, para mantener la humedad relativa alta, conteniendo unas 10 ml de agua destilada, en este caso la funda debe ser perforada para que haya fácil y rápido intercambio de gases. Se debe evitar el efecto directo al sol o a la sequedad.

Las lesiones y su desarrollo se debe medir diariamente.

6. Inoculaciones a las raíces. Este método, descrito por Turner y Asomaning (96), Asomaning en 1964 (9) y por Weststeijn en 1965 y 1966 citado por Lawrence, (53), puede también tener algunas variaciones al ser aplicado en diferentes localidades. En general consiste en aplicar al suelo una cantidad estandar de una suspensión de zoosporas alrededor del tronco de la plantita en unas 3 o 4 cm de separación. La cantidad puede variar, dependiendo del tamaño de la planta y del recipiente. También se puede sumergir las raíces de plantitas al momento de

transplantar del semillero al vivero. El método de calificación o medida del daño también puede variar; puede ser hecho por simple inspección del daño ocasionado a la raíz y la planta, o por medio del peso seco de las plantas inoculadas, comparadas con un testigo apropiado. Cada método de evaluación, dependerá de los objetivos y de las condiciones de la investigación.

7. Inoculaciones a la semilla. Hay varias tecnologías para inocular semillas, algunas de ellas una metodología muy similar a la desarrollada por Holliday (45) para hacer pruebas de resistencia a "Escoba de Bruja" y ha sido utilizado por Amponsah y colaboradores (8) y Amponsah y Agase-Nyako (4).

En este método se pone a germinar semillas entre papeles absorbentes húmedos, bajo condiciones de oscuridad por 4 días, estas semillas se introducen por tres minutos en una suspensión del patógeno, la cual se prepara de la siguiente manera. Se toma una cantidad adecuada de cultivo del patógeno que está creciendo en platos petri, en agar de avena por 6 días, se mezcla en una licuadora a baja velocidad en una cantidad adecuada de agua para luego diluirlo en una proporción de 10 cajas petri por 1 litro de agua. Esta sería la solución madre, luego se diluye en agua otra vez, en una proporción que puede variar alrededor de 1:15. Una vez sumergidas las semillas germinadas, se trasplanta a un semillero que debe estar esterilizado por cualquier método. Luego se cuenta las semillas que emergen alrededor de los 10 días y un chequeo final al finalizar unas 8 semanas, cuando se puede tomar datos del daño a la planta.

Lawrence (53) describe algunas variaciones, entre otras las más

importantes son: la germinación de la semilla se hace en agua corriente por dos días, la inoculación se hace goteando 0.1 ml a una semilla en una caja adecuada, una suspensión de zoosperas y luego siembra de las semillas en suelo esterilizado. Las lecturas del daño debe hacerse un poco más tarde. La suspensión de zoosporas que Lawrence recomienda es la equivalente a 1×10^5 /ml de concentración. Una concentración más alta no da buenos resultados.

Hay varios intentos de estudios genéticos para determinar el sistema de herencia, de la resistencia al hongo, pero debido seguramente a las diferentes variantes del patógeno o variaciones del organismo, algunas contradicciones se han encontrado (6, 61). De acuerdo con Soria (85) y Rocha y Machado (73) se puede concluir que la resistencia es altamente transmisible a la descendencia, cuando se cruza entre cultivares resistentes. Al cruzar cultivares resistentes con susceptibles, se nota que hay dominancia o dominancia parcial en los genes.

Amponsah y colaboradores (4, 6, 8) notaron que algunos padres cuando cruzados con un cultivar, daba una respuesta, mientras que cruzado con otros cultivares daba respuestas diferentes. Estos resultados hace suponer que el número de factores y el tipo de complementación o epistasis es bastante complicado y que se necesita un estudio bastante extenso para darle una interpretación.

Gregory (41) piensa que, en la resistencia a la enfermedad, están envueltos tanto la resistencia vertical como la horizontal, que explicaría las diferencias o contradicciones encontradas en la literatura.

También es muy claro que hay poblaciones de cacao que presentan más resistencia que otros lo cual hace más fácil la búsqueda de padres

resistentes que den descendencias de buenas características agronómicas y/o de calidad superior. Entre las poblaciones del Amazonas, que se hallan en Trinidad, la resistencia o alta tolerancia ha sido muy común, lo mismo que algunas poblaciones de Brasil y Ecuador (85).

El clon 'SCA-6' se comporta prácticamente como inmune a la mayoría de las 24 cepas que Rocha y Vello (76) probaron en Brasil, llegando a determinar que la resistencia está localizada en los tejidos superficiales del pericarpio, lo cual corrobora con los resultados de otros autores (67, 78).

Medeiros (62) encontró que la población de 'Catongo' es mucho más resistente que otras poblaciones de Brasil, pero encontró que la mazorca al ser separada del árbol, perdía paulatinamente su resistencia, lo cual fue detectado también por Rocha y Mariano (74), quienes observaron que hay dos tipos diferentes de resistencia, uno igual al descrito anteriormente y otro en las capas más profundas de la corteza de la mazorca.

Blaha (23) pudo detectar, que compuestos como la galactosa y la fructosa, estaban presentes en mayor cantidad en clones resistentes como el 'SNK-64', 'SNK-12', mientras que Turner (95) piensa que son los polifenoles los responsables de la resistencia.

La fuente primaria del patógeno puede ser muy variada y la importancia puede variar mucho de lugar a lugar y de estación a estación (31) para un mejor control habrá que hacer estudios más profundos locales para decidir una solución. Lo que está claramente determinado es que la humedad relativa, especialmente durante el día es el factor crítico para el desarrollo de la enfermedad. Cuando en una área se mantiene por sobre 90% la humedad relativa y/o hay intensa lluvia que hace que

la temperatura caiga rápidamente, la enfermedad puede adquirir características catastróficas rápidamente (32).

En los últimos años, Griffin y colaboradores (42), han encontrado que entre los tipos de *P. palmivora* del Africa Occidental, hay verdaderamente dos tipos diferentes en la clase de cromosomas, el uno tiene el número básico de 9-12 cromosomas, relativamente pequeños, mientras que el número básico del otro tipo es de 5-6, pero mucho más largos que corresponde al tipo MF-2, el autor sugiere que debe haber por lo menos 2 especies de *P. palmivora* que ataca a las mazorcas de cacao.

El cuadro 1 constituye una lista de los clones reportados como resistentes en varias partes del mundo. No se pretende endozar que todo el material citado sea resistente en otro lugar distinto del sitio y la sepa de estudio.

LISTA DE CULTIVARES Y REFERENCIAS

<u>CULTIVAR</u>	<u>REFERENCIA</u>
UF: 11 y 12	83, 85
29	75, 85, 86, 87, 99, 102
613	52, 53, 74, 75, 85, 86, 87, 99, 102
X	75
Y-44	3, 4, 5, 6, 8, 11, 85, 95
12-B	29, 30, 83, 85

El presente informe tiene por objeto suministrar a la Comisión de Fomento Agrario, para sus fines, los datos estadísticos que se solicitan en el presente informe.

Los datos estadísticos que se solicitan en el presente informe son los siguientes:

1. Cultivos de maíz, trigo, cebada, avena, sorgo, arroz, frijol, haba, papa, papa nativa, papa nativa amarilla, papa nativa roja, papa nativa blanca, papa nativa morada, papa nativa negra, papa nativa verde, papa nativa amarilla, papa nativa roja, papa nativa blanca, papa nativa morada, papa nativa negra, papa nativa verde.

2. Cultivos de papa nativa amarilla, papa nativa roja, papa nativa blanca, papa nativa morada, papa nativa negra, papa nativa verde.

3. Cultivos de papa nativa amarilla, papa nativa roja, papa nativa blanca, papa nativa morada, papa nativa negra, papa nativa verde.

4. Cultivos de papa nativa amarilla, papa nativa roja, papa nativa blanca, papa nativa morada, papa nativa negra, papa nativa verde.

5. Cultivos de papa nativa amarilla, papa nativa roja, papa nativa blanca, papa nativa morada, papa nativa negra, papa nativa verde.

6. Cultivos de papa nativa amarilla, papa nativa roja, papa nativa blanca, papa nativa morada, papa nativa negra, papa nativa verde.

7. Cultivos de papa nativa amarilla, papa nativa roja, papa nativa blanca, papa nativa morada, papa nativa negra, papa nativa verde.

8. Cultivos de papa nativa amarilla, papa nativa roja, papa nativa blanca, papa nativa morada, papa nativa negra, papa nativa verde.

9. Cultivos de papa nativa amarilla, papa nativa roja, papa nativa blanca, papa nativa morada, papa nativa negra, papa nativa verde.

10. Cultivos de papa nativa amarilla, papa nativa roja, papa nativa blanca, papa nativa morada, papa nativa negra, papa nativa verde.

ESCOBA DE BRUJA. *Crinipellis perniciosus* STAHEL

La "Escoba de Bruja" es una enfermedad que entre los años 1905 a 1925 devastó las plantaciones del Norte de América del Sur, incluyendo Trinidad. Ocurre como enfermedad endémica en las poblaciones silvestres de cacao en las Hoya Amazónica. Su ataque destruye brotes nuevos, cojines florales y frutos.

En 1933 el Gobierno de Trinidad y Tobago decidió enviar un patólogo a Ecuador (63) para investigar sobre los árboles reportados como "Refractorios" a la enfermedad en ese país. Encontró que había alguna resistencia, aunque no tanto como se había publicado.

En 1937 el Dr. F.S. Pound de Trinidad visitó Ecuador. Del material que se había sembrado en Ecuador de los árboles "Refractorios", encontró que el 90% de las descendencias eran susceptibles y que sólo un 10% tenían alguna resistencia, observándose unos pocos árboles con mucha resistencia o inmunes. Muchos de estos materiales, más algunos de otras áreas del Amazonas, fueron enviados a Trinidad vía Barbados (Isla que no cultivaba cacao), por temor a introducir *Monilia*. Del material observado en Trinidad por muchos años, se encontró que algunos árboles de la familia "Scavina" (SCA) no presentaban escobas o algunos habían tenido muy pocas, a pesar de estar rodeados por muchos árboles fuertemente afectados.

Con el fin de seleccionar árboles resistentes y con buenas características de semilla y fruto, cruzaron clones SCA con muchos otros clones de características agronómicas buenas, puesto que la familia SCA tenía semillas y frutos muy pequeños, pero tenía un buen potencial de producción y una alta resistencia a la enfermedad.

En Ecuador se comenzó un programa de selección de plantas de cacao basados en lo que se llamó el "Índice Escoba Edad", que es el número de escobas que el árbol había producido de acuerdo con su edad (37). Las descendencias de los cruces de los árboles seleccionados se hicieron crecer bajo una fuerte presión de inoculación artificial. Luego las que escapaban a la inoculación eran puestas en el campo para futura selección por caracteres agronómicos.

En Trinidad se adoptó un nuevo método descrito por Holliday (45), desarrollado en base a un procedimiento usado en Ecuador, que consiste en sumergir semillas de cacao germinando en una suspensión de esporas (200.000 por milímetro cúbico), por un tiempo determinado y luego puestas en un semillero para ser calificadas más tarde en base a la susceptibilidad, luego de unas pocas semanas de desarrollo. La técnica ha sido modificada ligeramente, pero se viene usando como el mejor medio para evaluar la resistencia y hacer varios tipos de estudio (13).

Varios clones fueron descubiertos como resistentes en Trinidad. El clon 'SCA-6' fue clasificado como inmune a la enfermedad y su comportamiento ha sido igual por varios años. El clon 'SCA-12' fue clasificado como resistente y algunos de los clones de la serie ICS fueron clasificados como resistentes y tolerantes.

De varios estudios genéticos (14, 15, 18, 19) se dedujo que los clones 'SCA-6' y 'SCA-12' eran heterocigotos para los genes que controlan la resistencia, pero que imprimían directamente resistencia a las descendencias, mientras que los clones 'SCA-3', 'SCA-5' y 'SCA-24' tienen genes para resistencia y lo demuestran al ser cruzados con los clones 'SCA-12' solamente.

En Ecuador se encontró que los clones 'Silicia-1' y 'Silicia-5' imprimían en sus descendencias la resistencia y así fueron desarrollados clones de descendencia ilegítima, especialmente del primero, de muy buenas características agronómicas y que al mismo tiempo tenían resistencia a otras enfermedades. Algunos de sus retrocruzamiento también resultaron de alta resistencia y de buenas características agronómicas (38).

Desde el año 1961, el primero autor observó en Ecuador que las matas del Clon 'SCA-6' se había comportado como inmune hasta entonces, presentaban algunas escobas, especialmente la llamada "Chirimoya", años más tarde la infección se extendió a las partes vegetativas. Para el año 1965, Trinidad (16, 17) reporta las primeras infecciones de las descendencias del 'Clon SCA-6' y 'SCA-12', que se habían considerado como inmunes y que habían sido seleccionados para progenitores.

Selecciones provenientes de otros lugares, como Venezuela, se comportan como susceptibles bajo las condiciones de Ecuador y Trinidad (17). Por lo tanto, la búsqueda de material resistente en los países afectados por la enfermedad aún es uno de los objetivos de primera prioridad para esos programas.

En Ecuador las cruces de los clones 'EET-399' y 'EET-400' (ambos descendientes del 'Silicia-1') con otros materiales resistentes está dando buenos resultados, pues sus descendientes muestran alta tolerancia de campo y los árboles en general son robustos, buenos productores y de otra características agronómicas deseables (20).

La selección 'MX-76-5' de Trinidad, también se está comportando como un árbol con descendencias resistentes o tolerantes, bajo condiciones

de campo.

Mucho material proveniente de las últimas colecciones de cacao silvestre, realizadas en los últimos años en Brasil, Colombia, Ecuador y Bolivia se están evaluando aún, en esperanza de encontrar algún material inmune para esta nueva forma del patógeno (84).

El Cuadro 2, contiene los principales clones reportados como resistentes o tolerantes, pero una revisión completa de esta lista se hace necesaria debido a la aparición en Ecuador y Trinidad de esta nueva forma del patógeno.

Cuadro 2. Material clonal reportado como resistente a "Escoba de Bruja"

<u>CULTIVAR</u>	<u>REFERENCIA</u>
Cuira-38, Caño la Palma-63 y 170	67
EET: 332, 333, 377, 381, 392, 399, 404	86
400	38
ICS: 1, 6, 95, 98	44, 46, 86
38	86
44	44, 46
45	44, 86
91	44
La Concepción-168, La Mariquita-169, Moreno muro-50, Playa Alta: 1,2,4 y 5 Santa Cruz: 6 y 10	67
Ocumarc-61	67, 86
Panaquírito-87, SC-10, SCA-6, SCA-12	86
SCA: 3 y 24	18, 27
5	27
TSA: 644 y 654, TSH 565 y 792	39

PUDRICION ACUOSA CAUSADA POR *Monilia roxeri* CIF. Y PAR.

La *Monilia* es una enfermedad que apareció a comienzos de siglo, en la parte norte de América del Sur. En Surinam fue descubierto en 1915 y en Ecuador fue encontrado en 1916, como una enfermedad que causaba daños muy graves entre las plantaciones, (49).

Desde que se conoció la enfermedad, se trató sin éxito de hacer inoculaciones artificiales a las mazorcas en el árbol. Algunas mazorcas separadas del árbol fueron inoculadas bajo condiciones de invernadero. En Colombia, Naundorf y sus colaboradores trabajaron por varios años, sin mucho éxito, tratando de desarrollar un método para provocar inoculaciones artificiales en mazorcas. Más tarde, estos mismos autores, encontraron que la infección podía mejorarse al hacerla con la participación de insectos, como con el *Mesistorhinos tripterus* F., lo cual fue confirmado por otros autores, pero no quedó muy claro el valor del método por la posible intervención de otros insectos en el proceso.

En 1961 Bejarano (21) desarrolló en Ecuador una metodología, con la cual aseguró un porcentaje muy alto de infección en condiciones de campo y sus resultados se podían repetir fácilmente. El método en general, ya había sido practicado anteriormente por varios autores.

La metodología se puede resumir así: Se hacen polinizaciones manuales, con la finalidad de conocer la edad de la mazorca al momento de la inoculación. Las mazorcas son protegidas con fundas de polietileno, para evitar infecciones naturales. Las mazorcas pueden ser inoculadas a cualquier edad, pero las mazorcas tiernas son las más fáciles de infectar. Se prepara una suspensión (no es crítica la relación) con 1 gramo de esporas en 100 a 10.000 ml de agua destilada. Entre mas

concentrada sea la suspensión, se obtiene mayor porcentaje de mazorcas infectadas. Se asperjan las mazorcas, retirando las fundas y luego restituyéndolas tan pronto se inocule. No es necesario hacer ninguna lastimadura, ni usar insectos, para obtener un buen porcentaje de infección (89). Las mazorcas inoculadas se califican aproximadamente a los dos meses, tiempo en el cual se desarrolla la enfermedad. Las fundas de polietileno deben permanecer con agua en el interior, pero deben ser perforadas para que no se llenen y su nivel se mantenga a una altura conveniente.

No se ha descubierto aún material inmune a *Monilia*, pero de las pruebas de Ecuador (35, 48, 77, 86), se conocen que hay clones que consistentemente tienen menor número de mazorcas infectadas, entre ellos figuran: de la serie EET: 233, 296, 381, 382, 387, 406 y el clon 'SCA-12'. A pesar de que todos estos clones son citados como resistentes, en la práctica solamente 'EET-233' y 'SCA-12' parecen mostrar tolerancia (89).

VIRUS DE LA HINCHAZON DEL BROTE EN CACAO (CSSV)

La infección del cacao con el virus de la hinchazón del brote (Swollen shoot) cepa I_A, reduce los rendimientos en los árboles en un 25% el primer año, el 50% después del segundo año y casi totalmente después del tercer año, época en la cual la mayoría de los árboles están muertos o muriendo (25).

Esta enfermedad junto con la Pudrición Negra de la Mazorca (*P. palmivora*) son las enfermedades más importantes en la zona cacautera del Africa Occidental.

Posnette y colaboradores han trabajado desde los años 40 desarrollando métodos de inoculación del virus, con la finalidad de encontrar material resistente en las poblaciones de cacao amelonado. Pronto fue evidente que había más tolerancia en las poblaciones de cruces con cacaos Amazónicos, por lo que la mayoría de los trabajos se están haciendo con esas poblaciones, de materiales provenientes de Trinidad (2, 50, 51, 56, 57, 58, 59, 60, 94). El mejoramiento en Africa Occidental se hace por medio de cruces dialélicos con árboles sobresalientes o tolerantes y usando métodos de inoculación como semillas germinando, plantitas y plantas adultas (12).

Legg y Lockwood (56) diferencian la resistencia y la tolerancia de la siguiente manera: resistencia se refiere al proceso de infección en sí, mientras que tolerancia se refiere a la reacción del huésped, cuando es infectado.

La selección de árboles en las fincas, donde ha habido un fuerte ataque de virus ha permitido descubrir strains del virus menos virulentos que protegen los árboles del efecto de los virus más virulentos,

cuando atacan previamente un árbol (2), este mismo fenómeno se ha podido observar al hacer injertos de material infectado en las pruebas de resistencia por esa metodología.

La tolerancia al virus ha sido observada como una característica que es altamente influenciada por factores genéticos como por factores medio ambientales. Entre los factores medio ambientales, el vigor del árbol parece jugar un papel bastante importante, el estado nutricional de la planta también juega un papel muy importante, pues una deficiencia de Zinc, parece ser especialmente efectiva en acrecentar la susceptibilidad de los árboles al virus, una adecuada fertilización por lo tanto, tiende a disminuir el efecto destructivo del virus (47), esto tiene también relación, con el sombreado, pues si un cacaotal tiene mucho sombreado, sus plantas son más débiles y por lo tanto se debe esperar un rápido desarrollo de la enfermedad (65). Brunt en 1975 encontró que poca importancia tenía el estado nutricional de la planta o el sombreado y que el material era igual de afectado en cualquier circunstancia, bajo las condiciones de su trabajo.

El método más antiguo para seleccionar material resistente fue el del injerto del material infectado sobre las plantas que se desea probar, este método daba buenos resultados y generalmente tanto el patrón como el injerto, tenían el mismo daño cuando los brotes se desarrollaban, algunas ocasiones el daño era muy poco o el injerto no prendía, esto se adujo a la protección, debido a la presencia de una infección previa como se dijo anteriormente. El método fue usado ampliamente en todas las Estaciones Experimentales, pero traja consigo otros problemas, como la lentitud en la selección del material. Por medio de éste sistema

se probó también la resistencia a otros virus.

Más tarde, se encontró que entre los insectos vectores de la enfermedad, por lo menos dos de ellos podrían ser usados para transmitir la enfermedad artificialmente, (*Pseudococcus njalensis* y *Ferrisa virgata*). *P. njalensis* fue el más usado para transmitir la enfermedad, aunque la crianza y uso de éste chinche harinoso presenta algunos problemas. Pronto fue el método más generalizado para determinar resistencia tanto en plantas, plántulas como en semillas.

La ninfa del insecto es el mejor estadio para éste tipo de trabajo, aunque el insecto en otros estadios, también pueden servir. Los insectos se debe dejar hambrientos por algunas horas o sea que no coman, luego ponerlos en hojas jóvenes que tengan síntomas, por espacio de 4 horas por lo menos, para que pueda comer y al mismo tiempo adquirir el virus. Luego se pone sobre las plantas unos 30 ninfas por espacio de 3 horas. El virus no es persistente en el insecto (68). Pasadas unas 8 semanas, se puede comenzar a observar y medir los daños y los síntomas (69,70).

Siguiendo casi la misma metodología descrita anteriormente se pone a alimentar los chinches harinosos que vienen de partes infectadas con virus, sobre semillas germinadas de 2-3 días o en embriones más frescos, removiendo una parte de un cotilidón. Estos métodos quizá son los más fáciles y que más se están usando actualmente, pues han sido los que más correlacionan con los datos de campo y los que menos espacio ocupan en el laboratorio e invernaderos. Los síntomas además asoman entre los 15-25 días lo cual también acorta el tiempo de la prueba (69).

Legg y Kenten (55), encontraron que haciendo la inoculación a mano en las semillas de cacao, se obtenía los mismos resultados que cuando se hacía con el chinche harinoso, por lo tanto propuso el método como un medio de acelerar las pruebas de descendencias. Una razón para usar este método es que la inoculación por el insecto, no es altamente reproducible, y por eso es que había que usar un número alto, (30 chinches harinosos). Además la preparación que se usa para la inoculación mecánica, puede ser altamente purificada, lo que garantizaría un poco más la infección.

Adomoko y Owusu (1) discutieron las diferencias entre la inoculación mecánica y la inoculación por medio del chinche harinoso, encontrando que hay más ventajas en la inoculación con el insecto, debido a los hábitos de alimentación, que le permite penetrar con su proboscis mucho más profundo que lo que se puede penetrar mecánicamente, además el insecto puede llegar a tejidos de transporte de savia, lo cual aseguraría la inoculación, cosa que no siempre es posible con la inoculación mecánica.

Los mismos argumentos se pueden usar al inocular hojas y tallos, puesto que el insecto tiene más habilidad para poner el inóculo en el floema y en los tubos de sieve, que la inoculación mecánica; además se debe tomar en cuenta que el virus en el insecto es circulatorio y no reproductivo.

No es conveniente inocular semilla que tengan varios días de germinadas, pues Owusu y Adomaks (66) encontraron que a esa edad las plantitas producen un inhibidor del virus lo que impide la inoculación.

En el Cuadro 3, se presentan los principales cultivares reportados como resistentes o tolerantes. La mayoría de ellos han sido usados como padres y no se está recomendando para plantaciones clonales.

Cuadro 3. Material reportada como tolerante o resistente al CSSV, usado como padres.

<u>CULTIVAR</u>	<u>REFERENCIA</u>
C-23, Na-32	12
C-77, T9/15	12, 65, 94
F-85, SCA-12, T61 y 62	55
Iquitos 85-0, INE 76/122, Standar 537, T61/1313, T62/958	51
IMC-76, T17/524, T62/977	50, 51, 52
Na-33 y 34,	51, 55
2/21, T17/433, T62/891, T81/1792 T81/1880, W-41, T62/799	57
T9/21	50, 51
T12/26	51, 57
T12/10	51, 54
T12/150	54
T12/151	51, 54, 57
T17/359, T85/799	50, 57
T17/521	2
T65/10, T73/55, T101/5, T101/42	65
T72/20	65, 94
T90/1345, T101/1950, T101/2540	50

MAL DEL MACHETE. *Ceratocystis fimbriata*

En 1964 se demostró experimentalmente que había gran variabilidad en la resistencia a *C. fimbriata* (33,34), en las poblaciones de cacao. Mientras tanto, muchos de los países afectados por esta enfermedad habían venido observando que habían poblaciones de cacao muy susceptibles a la enfermedad, tales como los de origen criollo y sus poblaciones derivadas y como muchos de los Trinitarios. Dentro del Complejo Forastero, el cacao "Nacional", fue considerado como susceptible (83).

En 1964 Delgado (33) y en 1965 Delgado y Echandi (34) describieron el método para evaluar la resistencia a *C. fimbriata*, tanto en cultivares de cacao como en especies de *Theobroma*. Con esta metodología fue posible encontrar un buen número de árboles resistentes, aunque ya otros autores habían venido haciendo intentos por desarrollar una técnica con este propósito.

La técnica de Delgado (33,34) básicamente consiste en hacer crecer el hongo en trocitos de ramas maduras, divididas por la mitad longitudinalmente, bajo condiciones controladas de temperatura y alta humedad ambiental. Soria y Esquivel (87) y Soria y Salazar (88) pronto detectaron que la prueba producía resultados algo diferentes cuando cambiaba la estación del año, aunque no cambió el rango o la posición de resistencia relativa de los cultivares probados.

Con la finalidad de resolver el problema de los pequeños cambios que puedan ocasionar el medio ambiente, Small (82) propuso un Índice (Índice C), el cual consistía en inocular al mismo tiempo que el material en prueba, uno o dos cultivares altamente susceptibles para comparar con

las lecturas del material en prueba. El usó los cultivares 'ICS-1' y el 'ICS-95', dando el nombre de Índice C_1 y C_{95} con la finalidad de compararlos y tener un punto de partida para clasificarlos en forma más estricta.

También, con la finalidad de buscar un Índice más exacto y cuantitativo, Ruiz y colaboradores (80) idearon un método colorimétrico, basado en la estimación del grado de clorosis inducida por el organismo hospedante. Este método parece tener la ventaja de basarse en una medida más exacta, pero también, puede ser afectado por variaciones ambientales, cambiando la reacción de acuerdo con la fisiología de la planta. Quizá, se podría obviar este problema trabajando con Índices indicadores de la susceptibilidad, lo cual daría más confianza al método. La ventaja que tendría este método es que se puede usar solamente la toxina y no el patógeno, pudiéndose aplicar la metodología en áreas donde no haya la enfermedad sin peligro de transmitirlo, lamentablemente no se ha seguido perfeccionando el método.

Siguiendo la Metodología de Delgado, Reyes y Reyes (72) en Venezuela encontraron cultivares resistentes, en la población de criollos, al igual que Viteri y Delgado (97), encontraron material resistente entre cultivares de origen "Nacional" de Ecuador e Iton en Trinidad. En base a estos resultados, es necesario continuar una intensa búsqueda de material resistente en los tipos de cacao de cada localidad, con la finalidad de hacer híbridos entre estos cultivares, sin perder la calidad de cada uno de ellos. Hasta el momento los mejores padres para mejoramiento se han detectado de las poblaciones de Forasteros.

El Cuadro 4, contiene los cultivares más importantes que han sido reportados como resistentes o tolerantes al "Mal del Machete".

Cuadro 4. Material reportado como tolerante o resistente al "Síndrome de Machete" o "Muerte súbita".

<u>CULTIVAR</u>	<u>REFERENCIA</u>
ACT-1-5, ACT-1-9, AX-3-25, C87-P146, C87-P137, C88-P111, C90-P-62, C91-P64, C94-P25, C94-P35, C94-P48, DE 52-B, IMC-53, P-16A, P16B, P24B, PA-12	82
C83-P105, MC = 11, 27, 31, 60, 11A, 12-A, 12-B, 14-A, 18-A, 18-B, 19-A, 19-B, 25-A y 30-B, PA-303, SCA-12	82, 86
C-91-P64, IMC-57 y 76, Monasterio: 5, 11, 44, 65, Pound-12, Panaquirito-87	86
EET: 4, 58, 61, 65, 272,	26
EET: 129, 400, 407, 409, ICS-6, UF-29, 221	97
EET: 399	82, 97
IMC-67	34, 67, 72, 80, 82, 86, 87, 97
OC = 61, 71	67, 72
P-12, SPA-9	34, 86, 87

REFERENCIAS

1. Adomoko, D. and G.K. Owusu 1974. Ghana Jnal. Agric. Sci. 7:7-15.
2. Ampomah, J.D. 1969. II Intern. Cacao Res. Conf. 1967. 134-137 p.
3. _____ 1975. V Intern. Cacao Res. Conf. 1975. 5-6 p.
4. _____ and A. Asare-Nyako. 1973. Trop. Agr. (Trinidad) 50:143-152.
5. _____ 1976. Rep. Cacao Res. Inst. Ghana 1973-1974.
6. _____, and J.D. Dakwa 1969. II Intern. Cacao Res. Conf. 1967.
7. _____, A. Asare-Nyako and G.E.A. Naumah. 1972. Rep. on Cacao Res. Inst. Ghana 1969-1970. 155 p.
8. _____ 1973. Ann. Rep. on Cacao Res. Ghana 1970-71. 195 p.
9. Asomaning, E.J.A. 1964. Trop. Agr. (Trinidad) 41:251-256.
10. _____ 1964. Rep. on Cacao Res. Inst. Ghana 1962-1963. 23-25 p.
11. _____ and A. L. Wharton 1963. Ann. Report WACRI 1961-1962. London 27-28 p.
12. Atanda, D.A. 1975. V Intern. Cacao Res. Conf. 1975. 14 p.
13. Bartley, B.G.D. 1959. Ann. Rep. on Cacao Res. 1957-1958. ICTA, Trinidad W.I. 49-52 p.
14. _____ 1964. Ann. Rep. on Cacao Res. ICTA, Trinidad, W.I. 26 p.
15. _____ 1965. I Intern. Cacao Res. Conf. 1965. 228-233 p.
16. _____ 1965. Ann. Rep. on Cacao Res. 1964. ICTA, Trinidad, W.I. 11-34 p.
17. _____ 1966. Ann. Rep. on Cacao Res. 1965. ICTA, Trinidad, W. I. 21 p.
18. _____ 1968. Ann. Rep. on Cacao Res. 1968. ICTA, Trinidad, W.I. 28-33 p.
19. _____ 1969. II Intern. Cacao Res. Conf. 1967. 29-23 p.
20. _____ and W.S. Chalmers. 1970. Ann. Rep. on Cacao Res. 1970. ICTA, Trinidad, W.I. 39 p.

21. Bejarano, G. 1961. Tesis Ing. Agr. Quito, Ecuador 60 p.
22. Blaha, G. 1971. III Intern. Cacao Res. Conf. 1969. 410-421 p.
23. _____. 1972. IV Intern. Cacao Res. Conf. 1972. 429-434 p.
24. _____. 1972. IV Intern. Cacao Res. Conf. 1972. 435-445 p.
25. Brunt, A. 1975. Ann Appl. Biol. 80:169-180.
26. Chalmers, W.S. 1969. Ann. Rep on Cacao Res. 1968 ICTA, Trinidad. 23-26 p.
27. _____. 1972. Ann. Rep on Cacao Res. 1971. U.W.I. Trinidad. 22-27 p.
28. _____. 1973. Ann. Rep. on Cacao Res. 1972. U.W.I. Trinidad 29 p.
29. Dakwa, J.T. 1968. Rep. Cacao Res. Int. Ghana 1965-1966. 31-32 p.
30. _____. 1973. Ghana J. Agr. Sci. 6:205-211.
31. _____. 1975. V Intern. Cacao Res. Conf. 1975. 9 p.
32. _____. 1975. V Inter. Cacao Res. Conf. 1975. 12 p.
33. Delgado, J.C. 1964. Tesis Mag. Sci. Turrialba, Costa Rica. 42 p.
34. _____ y E. Echandi 1965. Turrialba, Costa Rica. 15:286-289.
35. Delgado, J.C., E. Ampuero and K.D. Doack 1960. Interam. Cacao Res. Conf. 1960. 148-192 p.
36. Desrosiers, R. y J. Díaz M. 1957. VI Conf. Interam. de Cacao, 1956. 331-341 p.
37. _____, C.W. Bolaños y J. Vargas 1954. V Conf. Interam. de Cacao 1954. Doc. 17.
38. Enríquez, G.A. 1969. II Intern. Cacao Res. Conf. 1967. 76-80 p.
39. _____. J. Soria V. Catálogo de cultivos de cacao. Turrialba, Costa Rica. 547 p. (También en Inglés)
40. Evans, H.C. 1975. Rep on Cacao Res. Inst. Ghana 1972-1973. 55 p.
41. Gregory, P.H. 1969. The Cacao, Chocolate and Confect. Alliance. 52 p.
42. Griffin, M.J., C.M. Brasier and A.C. Maddison. 1975. V Intern. Cacao Res. Conf. 1975. 20 p.

43. Hauser, A.J. 1961. Cacao (Costa Rica) 6:8.
44. Holliday, P.C. 1954. Rep. on Cacao Res. 1953. ICTA. Trinidad, W.I. 58-63 p.
45. _____, 1965 Rep. on Cacao Res. 1954. ICTA, Trinidad, W.I. 50-55 p.
46. _____ and R.E.D. Baker, 1953. Rep. on Cacao Res. 1945-1951 Trinidad W.I. 119-121 p.
47. Hutcheon, W.V. 1972. IV Intern. Cacao Res. Conf. 1972. 493-502 p.
48. I.N.I.A.P. 1970. Inform Annual 1968. Ecuador. 28 p.
49. Jorgeusen, H. 1970. Cacao (Costa Rica) 15:4-13.
50. Kenten, R.H., J.T. Legg and J.K. Bonney 1968. Rep. on Cacao Res. Inst. Ghana, 1966-1967. 22-30 p.
51. _____, _____, _____, 1969. Rep. on Cacao Res. Inst. Ghana. 1967-1968. 25-43 p.
52. Lawrence, J.S. 1976. Informe CATIE, Turrialba, Costa Rica. 50 p.
53. _____. 1977. Informe CATIE, Turrialba, Costa Rica. 44 p.
54. Legg, J.T. and F.X. Agbodjan. 1969. Rep. on Cacao Res. Inst. Ghana, 1967-1968. 25-43 p.
55. _____ and R.H. Kenten. 1971. III Intern. Cacao Res. Conf. 1969. 503-511 p.
56. _____ and G. Lockwood. 1975. V Intern. Cacao Res. Conf. 1975. 62-63 p.
57. _____ and N.K. Lovi 1968. Rep. on Cacao Res. Inst. Ghana 1965-1966. 25-28 p.
58. _____, D. F. Edwards and G. Lockwood. 1972. IV Intern, Cacao Res. Conf. 1972. 490-492 p.
59. Lockwood, G. 1975. V Intern. Cacao Res. Conf. 1975. 29-30 p.
60. Longworth, J.F. 1963. Ann. Rept. W.A.C.R.I. 1961-1962. 82-87 p.
61. Matta, E.A.F. da, y R. de P. Pereira. 1963. Boll. Inst. Biol. da Bahia. 1:31-40.
62. Medeiros, A.G. 1965. I Intern. Cacao Res. Conf. 1965. 205-211 p.

63. Montserin, B.G. and L.L. de Verteuil. 1957. Reunión Comité Tec. Interam. de Cacao 1956. 6:203-211.
64. Muller, R.A. 1971. III Intern. Cacao Res. Conf. 1969. 405-409 p.
65. Opeke, L.K. 1972. IV Intern. Cacao Res. Conf. 1972. 25-31 p.
66. Owusu, G.K. and D. Adomako 1973. Rep. Cacao Res. Inst. Ghana 1970-1971. 48-49 p.
67. Perez Z., A., H. Reyes E. y L.C. de Reyes 1972. IV Intern. Cacao Res. Conf. 1972. 57-68 p.
68. Posnette, A.F. 1951. Trop. Agr. (Trinidad) 28:133-142.
69. _____ and A.H. Strickland. 1948. Ann. Apl. Biol. 35:53-63.
70. _____, and J. McA. Tood. 1951. Ann. Apl. Biol. 38:785-800.
71. Quesnel, V.C. and E.F. Iton 1974. Ann. Rep. on Cacao Res. 1973. U.W.I. Trinidad. 31-32 p.
72. Reyes, L.C. de, y H. Reyes 1971. III Intern. Cacao Res. Conf. 1969. 499-502 p.
73. Rocha, H.M. y A.D. Machado 1972. IV Intern. Cacao Res. Conf. 1972. 360-378 p.
74. _____, y Mariano 1969. II Intern. Cacao Res. Conf. 1967. 166-169 p.
75. _____, y A.G. Medeiros 1969. II Intern. Cacao Res. Conf. 1967. 150-156 p.
76. _____, y F. Vello 1971. III Intern. Cacao Res. Conf. 1969. 430-438 p.
77. Rodriguez M. y C. Suárez 1973. Rep. 2nd. Regional Conf. on *Phytophthora palmivora*. 9 p.
78. Screenivasan, T.N. 1975. V Intern. Cacao Res. Conf. 1975. 12 p.
79. _____ 1975. Ann. Rep. on Cacao Res. 1975. U.W.I. Trinidad. 19-20 p.
80. Ruiz Z. M., G. Jiménez S. y J. Soria V. 1969. II Intern. Cacao Res. Conf. 1967. 177-180 p.
81. Siller L.R. y J.H. McLaughlin. 1950. Cacao (Costa Rica) 2:13.
82. Small, L.W. 1967. Ann. Rep. on Cacao Res. ICTA. UWI. 40-49 p.

83. Soria V., J. 1960. Cacao Manual. IIAS, Costa Rica 325-244 p.
(También en Español)
84. _____. 1970. Cacao (Costa Rica) 15:5-15.
85. _____. 1974 In. Phytophthora Diseases of Cacao. Longman 197-
202 p.
86. Soria V., J. 1976. In Cacao Prod. Econ. and Bot. Perspective.
Praeger, 299-337 p.
87. _____, y O. Esquivel 1969. II Intern. Cacao Res. Conf. 1967.
174-175 p.
88. _____, y G. Salazar 1965. Turrialba (Costa Rica) 15:290-295 p.
89. Suárez, C. 1972. IV Intern. Cacao Res. Conf. 1972. 506-510 p.
90. Tarjot, M. 1965. I Intern. Cacao Res. Conf. 1965. 217-225 p.
91. _____, 1967. Café, Cacao, Thé. 11:3-13.
92. _____, 1969. II Intern, Cacao Res. Conf. 1967. 213-218 p.
93. _____, 1969. Café, Cacao Thé. 13-297-309.
94. Toxopeus, H. 1969. II Intern. Cacao Res. Conf. 1967. 1129-133 p.
95. Turner, P.D. 1963. Ann. Rep. WACRI 1961-1962. 21-25 p.
96. _____, and E.J.A. Asomong 1962. Trop. Agri. (Trinidad) 39:399-
343.
97. Viteri, M. y J.C. Delgado 1969. II Intern. Cacao Res. Conf. 1967.
170-173 p.
98. Westseijn 1963. II Intern. Cacao Res. Conf. 1967. 157-161 p.
99. Zentmeyer, G.A. 1969. II Intern. Cacao Res. Conf. 1967. 147-149 p.
100. _____. 1972. IV Intern. Cacao Res. Conf. 1972. 469-470 p.
100. _____. 1973. Rep. 2nd. Regional Conf. on *Phytophthora palmivora*
7 p.
102. _____. S.M. Mircotich and D.M. Mitchell. 1968. Plant Disease
Report. 52:790-791.