

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

REACCION DE CULTIVARES DE CACAO A LA INOCULACION
ARTIFICIAL CON Monilia roreri

Tesis sometida a la consideración de la Comisión del Programa
Conjunto de estudios de Posgrado en Ciencias Agrícolas y Recursos
Naturales de la Universidad de Costa Rica y el Centro Agronómico
Tropical de Investigación y Enseñanza, para optar al grado de

Magister Scientiae

por

JESUS ALFONSO SANCHEZ LOPEZ

Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza
Departamento de Producción Vegetal
Turrialba, Costa Rica
1982

DEDICATORIA

A mis PADRES Y HERMANOS
con eterno cariño y gratitud

A MARIA VICTORIA, mi esposa
por su estímulo, ayuda y comprensión

Con cariño especial
A la familia MARIN-CORTES
A mis amigos
A los que trabajan el campo

AGRADECIMIENTOS

Mi sincera gratitud:

A los miembros del Comité Consejero Drs. Gustavo Enríquez, Joseph Saunders, Jorge Hernán Echeverri y en especial al Dr. Luis Carlos González por su dedicación y acertada orientación durante el desarrollo de este estudio.

A la Universidad de Costa Rica, al Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza y a los Directivos de la Compañía Nacional de Chocolates S.A. por haberme dado la oportunidad de efectuar mis estudios de posgrado.

Al Gobierno de Holanda por la beca concedida y al American Cocoa Research Institute, ACRI, por la contribución económica oportuna que hizo posible la publicación de este trabajo.

Al Dr. Julio Henaó por su ayuda en el análisis estadístico de los datos.

A las secretarías Lorena Jiménez de Murillo, Felicia Royo de Cisneros, Anabelle Mora de Romero, Cecilia Murillo de Gamboa y Alba Iris de Cerdas por su colaboración desinteresada y oportuna.

Al Ingeniero Alfredo Paredes, a los señores Eddie Salazar, Marvin González, Guillermo Salazar y todo el personal de cacao por su amistad y colaboración.

A todos mis compañeros de promoción por la amistad brindada.

A las familias Brenes-Esquivel y Cerdas-Ramírez por su colaboración y muy especialmente por la amistad que siempre me brindaron.

BIOGRAFIA

El autor nació en el municipio de Nariño en el Departamento de Antioquia, Colombia.

Realizó sus estudios primarios en su pueblo natal. Terminó sus estudios secundarios en el colegio Santo Tomás de Aquino en Guarne, Antioquia. Sus estudios universitarios los realizó en la Universidad Nacional Seccional de Medellín donde obtuvo el título de Ingeniero Agrónomo en junio de 1978.

Desde 1977 perteneció al Departamento de Fomento de la Compañía Nacional de Chocolates S.A. en Medellín, donde laboró hasta Marzo de 1980 cuando ingresó al programa de Estudios de Posgrado de la Universidad de Costa Rica-Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, CATIE, en Turrialba, Costa Rica, donde obtuvo el título de *Magister Scientiae* en mayo de 1982.

Esta tesis fue aceptada por la Comisión del Programa de Estudios de Posgrado en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales de la Universidad de Costa Rica



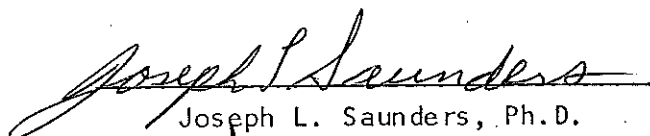
Gustavo A. Enríquez, Ph.D.

Profesor Consejero



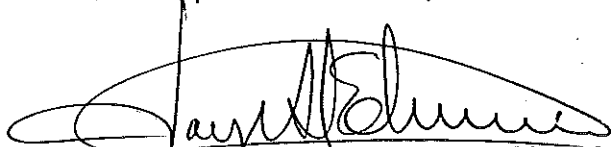
Luis Carlos González, Ph.D.

Miembro del Comité



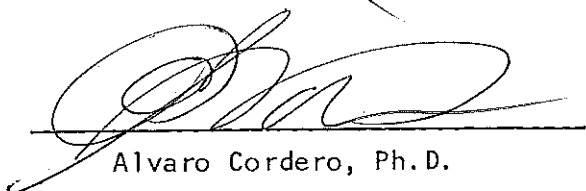
Joseph L. Saunders, Ph.D.

Miembro del Comité



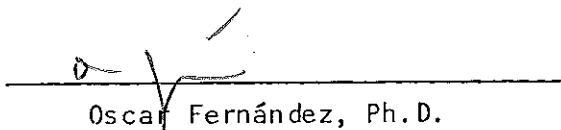
Jorge H. Echeverri, M. S.

Miembro del Comité



Alvaro Cordero, Ph.D.

Director del Programa de Estudios de Posgrado en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales



Oscar Fernández, Ph.D.

Decano del Sistema de Estudios de Posgrado de la Universidad de Costa Rica



Jesús Alfonso Sánchez López

Candidato a *Magister Scientiae*

CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESUMEN.....	x
SUMMARY.....	xii
LISTA DE CUADROS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	ix
I. INTRODUCCION.....	1
II. REVISION DE LITERATURA	3
A. LA ENFERMEDAD.....	3
1. Distribución y aparición.....	3
2. Otros nombres vulgares de la enfermedad.....	3
3. Agente causal.....	3
4. Proceso de infección.....	4
5. Hospedantes.....	4
6. Sintomatología.....	4
7. Pérdidas que ocasiona.....	5
B. COMBATE.....	6
1. Combate cultural.....	6
2. Combate químico.....	6
3. Combate por resistencia.....	6
a. Resistencia <u>per se</u> (Morfo-fisiológica).....	6
b. Escape a la época favorable a la enfermedad.....	7
C. PROCEDIMIENTOS QUE SE HAN UTILIZADO PARA EVALUAR RESISTENCIA A MONILIASIS.....	8
1. Material de campo.....	8
2. Métodos de inoculación: formas de aplicación, edad y concentración del inóculo.....	8
3. Criterios para postular que hay resistencia.....	10
D. SELECCION POR RESISTENCIA A ENFERMEDADES EN EL PROGRAMA DE CACAO DEL CATIE.....	12
1. Origen de los materiales en la colección.....	12

	<u>Página</u>
2. Resistencia a <u>Phytophthora</u>	12
3. Resistencia a <u>Ceratocystis</u>	13
4. Criterios para la escogencia de cultivares como padres en la producción de semilla híbrida.....	14
III. MATERIALES Y METODOS.....	15
A. LOCALIZACION DEL AREA EXPERIMENTAL.....	15
B. PRUEBA DE METODOS DE INOCULACION Y CONCENTRACION DE INOCULO.....	15
C. EVALUACIONES UNIFORMES DE CULTIVARES.....	17
IV. RESULTADOS.....	23
A. PRUEBA DE METODOS DE INOCULACION Y CONCENTRACION DE INOCULO.....	23
1. Desarrollo de la enfermedad.....	23
2. Concentración del inóculo y métodos de aplicarlo para las evaluaciones uniformes de cultivares.....	24
B. EVALUACIONES UNIFORMES DE CULTIVARES.....	26
1. Severidad externa.....	26
2. Severidad interna.....	27
3. Capacidad de esporulación.....	29
4. Comportamiento del cultivar 'Catongo' tomado como control.....	29
C. ANALISIS ESTADISTICO.....	31
V. DISCUSION.....	34
A. ACERCA DE LA METODOLOGIA.....	34
1. Concentración del inóculo.....	34
2. Aplicación del inóculo.....	35
3. Edad de los frutos inoculados.....	35
4. Uso de la bolsa plástica en el cubrimiento de los frutos.....	36
5. Escala utilizada para la cuantificación de la severidad.....	37
6. Sistema de ajuste para los datos de campo.....	38
7. Lectura a la 8a semana como punto crítico: correlación con la calificación promedio de las 11 lecturas.....	38

	<u>Página</u>
B. DESARROLLO DE LA ENFERMEDAD.....	39
1. Sintomatología a los 35 días.....	39
2. El agrietamiento del fruto como síntoma de la enfermedad.....	40
3. Aparición y avance de los síntomas secundarios.....	40
4. Limitaciones de tipo ambiental en el área de estudio para pruebas de resistencia a <u>M. royeri</u>	41
5. Observaciones sobre el desarrollo de la enfermedad en las diferentes épocas de inoculación.....	41
C. CLASIFICACION RELATIVA DE LOS MATERIALES PROBADOS.....	43
1. Resistentes.....	43
2. Tolerantes o de reacción mixta.....	44
3. Moderadamente susceptibles.....	46
4. Susceptibles.....	47
5. Muy susceptibles.....	48
6. Cultivares excluidos del análisis.....	49
VI. CONCLUSIONES.....	50
VII. BIBLIOGRAFIA.....	52

LISTA DE CUADROS

<u>Cuadro No.</u>		<u>Página</u>
1	Algunas características de los materiales evaluados contra moniliasis.....	18
2	Efecto de la dilución del inóculo y la forma de aplicarlo, sobre la incidencia de moniliasis en frutos inoculados de dos a tres meses de edad.....	24
3	Esporulación por áreaestromática en algunos cultivares inoculados artificialmente en el CATIE, Turrialba, Costa Rica.....	30
4	Severidad externa (0 - 10), severidad interna (0 - 5), incidencia (%) y severidad externa a la 8a semana en cultivares de cacao inoculados artificialmente con <u>M. roreri</u>	32

LISTA DE FIGURAS

<u>Figura No.</u>		<u>Página</u>
1.	Epocas en que se hicieron las inoculaciones y lecturas de lluvia y temperaturas promedio durante 1981 en el CATIE, Turrialba, Costa Rica.....	16
2.	Escala de severidad externa utilizada.....	20
3.	Porcentaje de frutos infectados por tratamiento en la prueba de concentración y métodos de inoculación.....	25
4.	Frutos del cultivar 'Pound-7' a las 8 semanas de haber sido inoculados artificialmente con <u>Monilia roreri</u>	28
5.	Avance de severidad externa de la moniliasis en el cultivar 'Catongo', en las diferentes etapas de inoculación.....	31

RESUMEN

La moniliasis del cacao (causada por Monilia roreri Cif. y Par.) se ha combatido generalmente por métodos culturales y ocasionalmente químicos, pero se conoce muy poco sobre posibilidades de combate por resistencia. La presente investigación tuvo como fin obtener información sobre este enfoque.

Con el fin de desarrollar métodos para evaluar la reacción de diferentes cultivares de cacao del CATIE, en Turrialba, Costa Rica, se realizó una prueba preliminar en cinco cultivares usando dos métodos de inoculación y cuatro concentraciones de inóculo en Tween-80 al 0,01%. Se encontró que una concentración de 10^5 conidios/ml, aplicados por aspersión alrededor de frutos de 60 días de edad, permite detectar diferencias de susceptibilidad a moniliasis entre cultivares, cuando éstas existen.

Con el anterior método de evaluación se probaron 33 cultivares de la colección del CATIE, los cuales fueron inoculados en cuatro etapas, de acuerdo a su época de mayor floración. En cada cultivar se tomaron entre 40 y 60 frutos provenientes de polinización artificial, que se protegieron con una bolsa plástica desde el momento de la inoculación hasta la cosecha por madurez o remoción por síntomas avanzados. Con cada etapa se inoculó también el cultivar 'Catongo', usado como control permanente para compensar el efecto de variaciones ambientales o del inóculo sobre la severidad de la inoculación.

Las evaluaciones sobre infección y avance semanal de la enfermedad en cada fruto se iniciaron a la quinta semana y se continuaron hasta la quinceava, cuando ya se había cosechado casi la totalidad de los frutos. Para la calificación sobre severidad externa se usó una escala de 0 a 10, que calificó las distintas combinaciones de síntomas que suelen presentarse. También se calificó la severidad interna en cada fruto al momento de ser cosechado, mediante una escala de 0 a 5, según el grado de descomposición de las almendras. Las diferencias entre las cuatro distintas etapas se corrigieron ajustando los datos en cada cultivar con el promedio de las dos etapas más severas del 'Catongo' (control), por considerar que representan más lo que sucede en áreas tradicionalmente cacaoteras.

El análisis de varianza para severidad externa e interna mostró diferencias altamente significativas entre los materiales evaluados. Se encontró también que una sola lectura de severidad externa, a la octava semana, es suficiente para detectar diferencias de susceptibilidad entre cultivares, ya que correlaciona estrechamente ($r=0,96$) con la calificación promedio de 11 semanas (de la quinta a la quinceava).

Las diferencias significativas ocurrieron tanto en reacción externa como interna; ambos parámetros generalmente coincidieron, pero no siempre. Entre los cultivares que pueden considerarse con resistencia o tolerancia en base a ambos criterios están 'CC-210', 'EET-59', 'EET-48' y 'CC-266'. Los cultivares 'UF -613' y 'EET-400' se podrían considerar tolerantes, pues dieron reacción externa intermedia (en parte por alta incidencia) pero mostraron resistencia interna. En contraste, los cultivares 'SCA-6', 'CC-224', 'EET-397', 'CC-182' y 'UF-11' tuvieron reacción externa baja o intermedia, pero mostraron gran susceptibilidad interna; esto sugiere que tienen tendencia al escape, pero serían severamente afectados si se encuentran cerca de fuentes de inóculo abundante. Los cultivares 'CC-211', 'CC-9', 'CC-235', 'UF-677', 'UF-654', 'UF-4', 'UF-29', 'UF-650', 'UF-667', 'Pound-7', y 'SPA-5' fueron muy susceptibles tanto en reacción externa como interna. El cultivar testigo 'Catongo' fué moderadamente resistente en reacción externa e intermedio en reacción interna.

Se concluye que existen diferencias de susceptibilidad a moniliasis entre cultivares de cacao y que la metodología utilizada en el presente trabajo permite detectar esas diferencias. Se recomienda continuar estudios en zonas cacaoteras con los cultivares promisorios bajo diferentes condiciones ambientales y de presión de inóculo.

SUMMARY

The moniliasis or pod rot disease of cacao (caused by Monilia roreri Cif. and Par.) has generally been controlled by cultural methods, and occasionally by chemicals. Little is known, however, about the possibilities of control through host resistance; the present research is an attempt to gain information on this approach.

In order to develop methods for evaluating the reaction of different cacao cultivars kept at CATIE, in Turrialba, Costa Rica, a preliminary test was run involving five cultivars, two inoculation procedures and four inoculum concentrations in 0.01% Tween-80. It was found that a suspension of 10^5 conidia/ml, sprayed around 60 days-old pods, allowed the detection of differences in susceptibility to moniliasis among cultivars.

Using that method of evaluation, 33 cultivars of the CATIE collection were tested by inoculating them in four successive groups, according to their major flowering periods. Forty to sixty fruits, produced by artificial pollination, were selected for each cultivar, and kept inside a plastic bag from inoculation to either ripe harvest or removal due to advanced symptoms. The cultivar 'Catongo' was inoculated along with each group, using it as a permanent control treatment which allowed to compensate for the effects of environmental or inoculum variability upon the severity of each inoculation.

Data on infection and weekly disease progress were taken starting on the 5th week after inoculation and continued until the 15th, when nearly all fruits had been harvested. External symptom severity was rated on the basis of a 0 to 10 scale, which graded the different symptom combinations that may appear. Also, internal symptom severity was rated in each fruit as it was harvested, using a 0 to 5 scale according to the degree of seed mass decay.

Differences among the four inoculation groups were corrected by adjusting the data to the average of the two most severe inoculations of the 'Catongo' control, considering that these two were more representative of the situation in traditional cacao areas.

The analysis of variance for external and internal severity indicated highly significant differences among the materials evaluated. It was also found that a single external severity reading, on the 8th week, was enough to detect differences in susceptibility among cultivars, as this reading closely correlated ($r=0.96$) with the average grade of 11 readings (from 5th to 15th week).

The significant differences occurred both in external as well as internal reaction; both parameters generally coincided, but not always. Among the cultivars that can be considered resistant or tolerant on the basis of both criteria are 'CC-210', 'EET-59', 'EET-48', and 'CC-266'. Cultivars 'UF-613' and 'EET-400' could be considered tolerant, since they had intermediate external reaction (partly due to high incidence) but showed internal resistance. In contrast, cultivars 'SCA-6', 'CC-224', 'EET-397', 'CC-182' and 'UF-11' had a low or intermediate external reaction, but showed great internal susceptibility; this suggests that they have a tendency to escape, yet would be severely affected if located near abundant sources of inoculum. Cultivars 'CC-211', 'CC-9', 'CC-235', 'UF-677', 'UF-654', 'UF-4', 'UF-29', 'UF-650', 'UF-667', 'Pound-7' and 'SPA-5' were very susceptible, both externally as well as internally. Control cultivar 'Catongo' was moderately resistant externally and intermediate in internal reaction.

It can be concluded that there are differences in susceptibility to monilliasis among cacao cultivars, and that the methodology used allows to detect these differences. It is recommended that promising cultivars be tested in continuing studies in traditional cacao areas, where environmental conditions and inoculum pressure are more favorable to disease than in Turrialba.

I. INTRODUCCION

La moniliasis del cacao (Theobroma cacao L.), causada por el hongo Monilia rozeri Cif. y Par. es una de las principales enfermedades de este cultivo en países de Sur América, Panamá y actualmente en Costa Rica, desde donde puede extenderse a otras áreas de Centro América y México.

La enfermedad ataca el fruto de varias especies de Theobroma y Herrania. En el cacao los primeros estados de formación del fruto son los mas susceptibles, sin embargo las síntomas se observan solo semanas más tarde. La incidencia y severidad en el desarrollo de la enfermedad dependen mucho de las condiciones ambientales, especialmente humedad y temperatura, así como del manejo de la plantación (1, 2). En Colombia las pérdidas son del 40% en promedio (2), en Ecuador llegan hasta el 80% en muchas haciendas (1) y en Costa Rica, en 1980, se perdió un 60% de la cosecha aproximadamente.

De acuerdo a los anteriores porcentajes de pérdida, los países Centro-americanos, Panamá y México podrían tener grandes pérdidas si la enfermedad se extiende a las plantaciones del área, estimada en unas 100 mil hectáreas. Si se toma como ejemplo la producción de 400 Kg/ha, registrada en Costa Rica en 1978 (a fines de este año apareció la moniliasis), serían 40 mil toneladas métricas. Si por la enfermedad se perdiera un 60% como en Costa Rica en 1980, serían 24 mil toneladas que a razón de 2 mil dólares cada una significaría una pérdida de 48 millones de dólares para la región.

El combate de la moniliasis por remoción de frutos enfermos y otras prácticas de cultivo ha mostrado ser, hasta ahora, el más eficiente y económico. La aplicación de fungicidas, ha mostrado poca eficiencia y sus resultados no siempre son consistentes y económicos. El combate por resistencia ha sido hasta ahorapoco considerado. Registros de infección natural y estudios con inoculación artificial en Ecuador (31, 35), han mostrado la posibilidad de encontrar resistencia en algunos cultivares a la enfermedad. Sin embargo no se ha tratado de verificar si los resultados son reproducibles y eficientes para la medición de diferencias de susceptibilidad, en caso de existir éstas. En los registros de infección natural, donde se ha tenido en cuenta la incidencia solamente, hay limitaciones al no estar controladas

la edad y la concentración del inóculo. Esto es muy importante cuando se quiere medir la susceptibilidad en base al porcentaje de infección y a la severidad que presente la enfermedad. Además, los porcentajes de incidencia varían considerablemente de un año a otro o al plantarse los cultivares en zonas ecológicamente diferentes (35).

En la literatura no se encuentra una metodología claramente establecida que permita detectar diferencias de susceptibilidad entre cultivares de cacao. En este trabajo se trató de establecer un método de campo que permita detectar diferencias entre cultivares. El estudio tuvo los siguientes objetivos:

1. Establecer una metodología reproducible que permita cuantificar diferencias de susceptibilidad a la moniliasis entre distintos cultivares de cacao.
2. Probar el comportamiento de algunos cultivares de cacao de la colección del CATIE.

II. REVISION DE LITERATURA

A. LA ENFERMEDAD

1. Distribución y aparición

La moniliasis del cacao es una enfermedad que causa serios problemas en la producción de países cacaoteros de Sur América, como Ecuador donde apareció en 1916, en Colombia, Perú, Venezuela, Brasil (1) y extremo sur-este de Panamá (30). A finales de 1978 se encontró en Costa Rica, en la región de Cahuita, provincia de Limón (22), diseminándose en menos de dos años a todas las plantaciones de cacao de la costa Atlántica.

A fines de 1980 se encontró en el sur en algunas plantaciones de la costa Pacífica, así como en la frontera con Nicaragua, al norte (*).

2. Otros nombres vulgares de la enfermedad

La moniliasis se conoce también con otros nombres como helada, hielo, ceniza, mal palúdico, pasmo, polvillo, pringue, pudrición acuosa, podredumbre acuosa o enfermedad de Quevedo (20). Estos nombres se han originado principalmente de la sintomatología y signos de la enfermedad o de la región donde se cree apareció por primera vez. En Costa Rica, los cultivadores suelen denominar "mano de piedra" a cierta forma de manifestarse la enfermedad en frutos adultos.

3. Agente causal

En el año de 1918, Rorer (37) sostuvo que la enfermedad era causada por un hongo del género Monilia, pero solo en 1925 se identificó el patógeno como una nueva especie de este género.

En 1933 Ciferri y Parodi citados por Bejarano (7) hicieron una descripción morfológica del hongo y desde ese año se le ha denominado Monilia roreri Cif. y Par. El hongo pertenece a la clase Deuteromicetos, orden Moniliales,

(*) BRENES, O. Comunicación personal. Turrialba, Costa Rica, diciembre 1981.

Familia Moniliaceae, Género Monilia y especie roreri.

4. Proceso de infección

Suárez (44) anota que la penetración del hongo se efectúa por medio de hifas infectivas finas, de punta aguda y no tabicadas que atraviesan por cualquier parte la epidermis pero muy especialmente lo hacen por la base de los pelos glandulares.

Según esta autora (44) una vez atraviesa la epidermis, el hongo empieza a emitir conidióforos y conidias para diseminarse intercelularmente, siendo más rápida la diseminación en mazorcas tiernas que en adultas. Una vez que el hongo ha invadido intercelularmente un grupo de tejidos y ha alcanzado cierto desarrollo, produce nuevas hifas infectivas que penetran al interior de las células iniciándose la destrucción de las mismas, esto coincide con la aparición de los primeros síntomas (44). Ya el hongo en estado adulto provoca en poco tiempo la maceración y pudrición de los tejidos y cuando éstos han perdido un poco de agua aparece el micelio que sale por las aperturas estomatales y por las heridas del fruto. Suárez (44) anota así mismo que este micelio posiblemente proviene de la germinación de unas esporas de pared gruesa, semejante a esporas de resistencia, que se observan con los fragmentos de micelio adulto cuando el hongo se desintegra una vez que ha consumido el contenido celular.

5. Hospedantes

El hongo se ha encontrado atacando únicamente el frutos de Theobroma cacao y de otras especies de Theobroma, como T. simiarum, T. gileri, T. bicolor, T. mamosum, T. grandiflora, etc: (19). Además ataca en el género Herrania las especies H. baloencis, H. nitida, H. pulaherina y H. purpurea (*).

6. Sintomatología

La enfermedad ataca en cualquier estado de desarrollo de la mazorca. Según Suárez (44), Ampuero (1) y Bejarano (7), los frutos son infectados

(*) ENRIQUEZ, G. Comunicación personal. Turrialba, Costa Rica, abril 1982,

principalmente en los primeros estados de formación y la infección se desarrolla internamente durante su crecimiento. Los síntomas varían según la edad del fruto, así: cuando la enfermedad se manifiesta en aquéllos menores de dos y medio a tres meses, se presentan deformaciones o especies de "jibas", ligeramente pálidas y de aspecto brillante (2, 15), tales frutos no llegan a su completo desarrollo, ya que pronto se necrosan, se momifican y permanecen adheridos al árbol (2). Si los síntomas se presentan en frutos adultos, (tres meses en adelante), aparecen manchas pardas o de color chocolate de borde indefinido al principio, pero bien definidos a los dos o tres días; más tarde aparece sobre esta mancha un estroma de color blanco, que pronto se torna de color crema cuando se empiezan a formar los conidios; estos son fácilmente diseminados por el viento sobre todo (1) y posiblemente por el agua lluvia. Si los frutos son observados cuidadosamente antes de la aparición de la mancha, se puede notar la presencia de "puntos aceitosos" en mayor o menor grado que al coalescer van a formar tales manchas necróticas.

A veces aparecen frutos con infecciones "ocultas" que pueden llegar hasta su madurez sin mostrar síntomas visibles, pero al cosecharlos se detecta la enfermedad, por estar infectados en su interior. Estos frutos con frecuencia muestran internamente una consistencia acuosa, que los hace más pesados que los frutos normales. En ocasiones estos frutos muestran una madurez desuniforme, contrastando áreas verdes con otras total o parcialmente maduras (2). Esta forma de presentarse la enfermedad es conocida como "pudrición oculta" en Ecuador (7), "mano de piedra" en Costa Rica y "monilia de agua" en Colombia.

7. Pérdidas que ocasiona

Dependiendo de las condiciones ambientales, especialmente humedad y temperatura, y de acuerdo al manejo de la plantación la moniliasis puede causar pérdidas hasta del 80% (1, 15). En Colombia por ejemplo, las pérdidas son del 40% en promedio (2), pero en muchas fincas de este país y del Ecuador la cosecha llega a ser nula, debido al manejo deficiente de las plantaciones (1, 36), lo que lógicamente favorece el desarrollo de esta y otras enfermedades.

B. COMBATE

Por las características de esta enfermedad y del cultivo mismo, su combate es costoso y no siempre hay éxito, especialmente desde el punto de vista económico.

1. Combate Cultural

El combate por prácticas culturales ha mostrado ser el más efectivo y económico, en Colombia y Ecuador. Trabajos realizados por Barros (3) y Cubillos y Aranzazu (9) han demostrado que las prácticas de cultivo oportunas, como desyerbas, podas, drenaje y sobre todo la remoción semanal de los frutos enfermos, permiten mantener la moniliasis por debajo de niveles económicamente perjudiciales y tener así plantaciones rentables.

2. Combate Químico

Los resultados obtenidos con fungicidas en el combate de la moniliasis del cacao no han sido muy promisorios. Aunque con algunos productos aplicados en ciclos cortos se ha conseguido bajar la incidencia, dicha práctica resulta la mayoría de las veces antieconómica, o los resultados no son consistentes (8, 11, 14, 36). Otras veces los incrementos significativos en la producción, obtenidos con tratamientos químicos, han sido atribuidos a abonamiento foliar o al saneamiento general del follaje y de los árboles, al combatirse otras enfermedades como el Antracnosis, el Diplodía, etc (14).

3. Combate por resistencia

a. Resistencia per se (morfo-fisiológica)

El posible combate de la moniliasis por resistencia no ha sido usado, a pesar de que se conoce bien la gran diversidad genética del cacao. Es posible que algunos tipos de cacao toleren mejor la enfermedad que otros, como ya lo anotaba Rorer en 1918 (37), cuando consideraba que la variedad nacional era menos susceptible a la moniliasis que la variedad Venezuela, lo cual encontraba lógico dada la menor rusticidad de esta última.

Algunos trabajos realizados en Ecuador bajo condiciones de inóculo natural, en los cuales se llevaron registros de producción, muestran la posibilidad

de encontrar diferencias en la respuesta de algunos cultivares a la enfermedad (31). Este tipo de trabajo con inóculo natural tiene el limitante de no estar controlada la edad del fruto y la presión del inóculo, factores muy importantes en la infección y desarrollo de la enfermedad. Es así como algunos de esos cultivares que han tenido un buen comportamiento bajo condiciones de inóculo natural, han dado otros resultados al llevarlos a otras condiciones ambientales, donde seguramente existían cambios en la presión del inóculo (35). En un estudio realizado por Sotomayor en Ecuador (43) controlando la edad de las mazorcas (83 días) y la concentración del inóculo (35×10^6 conidios/ml), no encontró diferencias en el material probado lo que atribuye, obviamente, a la alta concentración del inóculo; sin embargo, no repitió las pruebas a menores concentraciones. Rodríguez y Suárez (35) obtuvieron alta infección de Monilia al inocular cultivares con una concentración de 25×10^4 conidios/ml y atribuyen también a la concentración los altos niveles de infección encontrados. De acuerdo a la incidencia de la enfermedad, consideraron como promisorios los cultivares 'EET-381', 'EET-382', 'EET-387', 'EET-396' y 'EET-406'.

En registros de producción e infección natural en Ecuador, Delgado Ampuero y Doak (13) destacan el comportamiento de los cultivares 'EET-396', 'EET-36', 'ICS-48' por su baja incidencia y los cultivares 'EET-114' y 'EET-96', por sus buenos rendimientos y baja infección. Otros cultivares que han mostrado en algunos años en Ecuador baja infección natural han sido 'EET-19', 'EET-95', 'ICS-6', 'EET-48', etc. Pero el comportamiento de los distintos cultivares e híbridos varía considerablemente de un año a otro y de una localidad a otra (13, 31, 35).

b. Escape a la época favorable a la enfermedad.

El escape de algunos cultivares a la enfermedad puede ser muy importante como una forma de combatirla. Según Toxopeus (46) el patrón de distribución de cosecha a través del año es un carácter heredable y algunos cultivares producen su máxima cosecha al final de la estación seca y no en la época lluviosa, lo cual les permite escapar a enfermedades como Phytophthora sp, conforme lo demostró este autor en Nigeria.

Trabajos realizados en Ecuador (31) sobre registros de producción en

cultivares, han mostrado que los menores porcentajes de infección en algunos de ellos se debe a la tendencia a florecer en época seca, que es cuando la moniliasis presenta su menor incidencia; sin embargo sus autores (31) no mencionan cuales cultivares específicamente presentaron esa característica y los más bajos porcentajes de frutos infectados, durante el tiempo en que se tomó la información. Entre los cultivares del estudio estaban: 'ICS-6', 'ICS-1', 'EET-19', 'EET-61', 'EET-48', 'EET-353', 'EET-272', 'EET-95', 'EET-96' y 'EET-400'. En esta forma, el escape a la enfermedad en algunos materiales puede ser muy importante en programas de mejoramiento en regiones que presentan épocas de lluvia bien definidas.

C. PROCEDIMIENTOS QUE SE HAN UTILIZADO PARA EVALUAR RESISTENCIA A MONILIASIS

1. Material de campo

Son muy pocos los trabajos tendientes a determinar si hay resistencia en los materiales utilizados para el establecimiento de plantaciones. Entre los estudios realizados con este hongo en Ecuador, ya sea con infección natural o artificial, se destacan cultivares de los grupos EET, ICS, UF y SCA (31, 35, 43), que agrupan materiales de distinto origen, sin que se mencione en detalle en la literatura, los criterios que se tuvieron en cuenta al momento de hacer las selecciones.

2. Métodos de inoculación: Forma de aplicación, edad y concentración del inóculo.

Son numerosos los intentos que han hecho distintos investigadores para reproducir la enfermedad en el campo y en el laboratorio. Para esto, han inoculado frutos por varios métodos con distintas concentraciones de conidios de edad no siempre conocida.

Rorer en 1918 (37) efectuó 46 inoculaciones en distintos frutos sobre los árboles, aplicando en seco esporas y micelio del hongo y no obtuvo resultados positivos. Según este autor, varios cultivadores lo habían intentado y habían obtenido iguales resultados. Sin embargo, después de varios intentos con mazorca inoculadas y puestas en cámara húmeda, Rorer (37) obtuvo infección en tres de nueve mazorcas inoculadas. Bastidas (6), en estudios sobre patogenicidad del hongo utilizó una suspensión de conidios a una

concentración no inferior de 100 conidios por campo microscópico, vistos en aumento de 15 x 20. Este autor (6) utilizó también otros métodos de inoculación: Pequeño depósito de parafina adherido al fruto y tapándolo una vez depositada la suspensión de conidios con una capa delgada del mismo material; trozos de gasa o algodón empapados con la suspensión de conidios y tapados luego con cartón parafinado, que se fijaba con cinta adhesiva; inóculo seco puesto directamente sobre heridas de la mazorca; trocitos de mazorca enferma injertados en mazorcas sanas; soplando conidios en seco sobre las gotas de lluvia que quedan suspendidas en el extremo inferior de los frutos después de la lluvia. También en el laboratorio inoculó frutos por medio de la aspersión de una suspensión concentrada y por injerto de porciones de mazorca enferma. Para todos los casos obtuvo resultados negativos en el campo y laboratorio. Sepúlveda (38), sí logro obtener infección en algunos frutos empolvados con conidios del hongo de edad no conocida; advierte la importancia de la edad de los conidios pudiendo ser ésto el factor determinante del éxito o fracaso en las inoculaciones.

Bejarano (7), en estudios sobre métodos de inoculación y factores favorables a la enfermedad, inoculó por aspersión mazorcas de distinta edad, con y sin heridas cerca del pedúnculo. La suspensión de esporas de siete a nueve días de edad pero de concentración no determinada, la aplicó por medio de un atomizador manual en una de las caras de la mazorca y sobre la herida que cubrió luego con algodón humedecido en agua destilada; en todos los casos protegió los frutos después de inoculados, con bolsa de polietileno, para evitar posible infección natural y los daños de insectos; en todos los casos obtuvo frutos enfermos.

Rodríguez y Suárez (35), en estudios de evaluación de cultivares por inoculación artificial utilizaron una concentración de 25×10^4 conidios/ml y obtuvieron altos porcentajes de infección en todos los cultivares. Sotomayor (43), en estudios preliminares sobre la resistencia en algunos cultivares del grupo EET (-19, -95, -114, -162), ICS (-1, -6, -95) y SCA-6, utilizó una concentración de 35×10^6 conidios/ml (1 gr de conidios por 100 ml de agua), aplicada mediante atomización con un De Vilbiss.

Buscando la calibración de un método de inoculación con Monilia, Merchán y Restrepo (29) utilizaron la cantidad de conidios secos adheridos a las

siguientes longitudes de un alfiler entomológico: 2 cm, 1 cm, 0,5 cm y la punta del mismo. Según los mismos autores estas longitudes llevan adheridos aproximadamente 546×10^3 , 103×10^3 , 36×10^3 conidios/ml respectivamente. El inóculo lo aplicaron liberándolo sobre un surco del fruto mediante aspersión de agua destilada con un atomizador manual De Vilbiss y redistribuyendo, a lo largo del surco, las gotas que se forman en el ápice del fruto. También emplearon otros tratamientos: conidios adheridos a la punta del alfiler liberados con el atomizador pero sin redistribución de la gota suspendida en el ápice; conidios de un fruto esporulante mantenido durante 22 meses en condiciones secas de laboratorio y con viabilidad inferior al 1%, por último, disco miceliar de una colonia de ocho días de edad. A excepción de este último tratamiento en que no se reprodujo la enfermedad, en todos los demás obtuvieron altos porcentajes de infección. Las dosis más altas llevaron a una pérdida total de las almendras.

Por último, Enríquez, Salazar y Paredes (20) reprodujeron la enfermedad en mazorcas de distintas edad aplicando una suspensión de conidios cuya concentración y edad no fueron determinadas. La suspensión fue inyectada en la corteza por medio de una jeringa y también colocándola en un pequeño recipiente de plasticina adherido a la superficie del fruto. Con el método de inyección obtuvieron altos porcentajes de infección.

Con estos métodos de inoculación mencionados se han obtenidos diversos resultados pero nadie ha tratado de verificar si estos son reproducibles y eficientes para la medición de diferencias de susceptibilidad entre cultivares, en caso de existir éstas. Por otra parte hay diversos ensayos con infección natural, realizados en Ecuador (35) y que muestran en algunos cultivares, porcentajes de infección muy variables de un año a otro o al plantárseles en zonas ecológicas diferentes (35).

3. Criterios para postular que hay resistencia

Prácticamente el único criterio tenido en cuenta para evaluar reacción a la enfermedad ha sido el porcentaje de frutos infectados (incidencia). Así por ejemplo, Sotomayor (43) no consideró diferencias en el material probado por haber obtenido el 100% de frutos infectados en todos los cultivares. En los ensayos de comparación de cultivares realizados en el Ecuador

(31, 32) bajo presión de inóculo natural, también se ha tenido en cuenta sólo el porcentaje de frutos enfermos durante el tiempo de duración del ensayo.

A nivel de laboratorio, se ha tratado de encontrar algún grado de resistencia midiendo el crecimiento del hongo en medio artificial PDA (papa, dextrosa, agar) más decocción de distintas concentraciones de corteza del fruto, o brotes tiernos de cacao de distinto color (rojos y verdes). Al respecto Barros y Sánchez (4) no encontraron ninguna diferencia. Tampoco en el INIAP Ecuador (33), encontraron diferencias en el crecimiento "in vitro" en agar más extracto de corteza procedente de cultivares tenidos como tolerantes y susceptibles a la enfermedad; no se encontró consistencia en la forma de crecimiento ni en la esporulación del hongo.

Un estudio en el cual se tuvo en cuenta el grado de descomposición de la mazorca, (severidad) fue realizado en Ecuador por Rodríguez y Suárez (35) quienes encontraron que el cultivar 'EET-233' bajo inoculación artificial, además de mostrar baja incidencia (16%) no presentó una verdadera descomposición de las mazorcas infectadas, como sí sucedió con otros más susceptibles, como el 'EET-278'. Allí mismo se realizaron otros estudios con inoculación artificial y tuvieron en cuenta también el porcentaje de frutos enfermos, como criterio para evaluar la reacción a la enfermedad. Consideran Rodríguez y Suárez (35) que la incidencia fue muy alta debido a la severidad de la técnica de inoculación utilizada (25×10^4 conidios/ml, aplicando la suspensión con un atomizador). Entre los cultivares que mediante esta prueba mostraron mayor resistencia a Monilia royeri figuran varios conocidos como resistentes o tolerantes a Escoba de bruja: 'SCA-12', 'EET-381', 'EET-382', 'EET-396' y 'EET-406' (32).

También se ha tenido en cuenta la incidencia en trabajos tendientes a encontrar alguna relación entre color de la mazorca y la susceptibilidad a la enfermedad; al respecto Díaz (16), analizando los datos de producción de 5 años en árboles de mazorcas rojas y amarillas o verdes en estado joven, no encontró relación alguna entre la pigmentación y la susceptibilidad a la enfermedad.

D. SELECCION POR RESISTENCIA A ENFERMEDADES EN EL PROGRAMA DE CACAO DEL CATIE.

1. Origen de los materiales de la colección

Entre los cultivares de cacao presentes en la colección del CATIE en Turrialba, existen materiales de prácticamente todo el mundo y aunque el país, y aun el sitio de selección para la mayoría se conoce, no es así para el origen y el tipo genético, que son desconocidos para algunos de ellos, sabiéndose sí, que son híbridos naturales formados en poblaciones locales. Para todos los cultivares existe una descripción de sus principales características y de su comportamiento ante algunas enfermedades (5, 17, 21, 39).

2. Resistencia a Phytophthora

Muchos materiales de la colección con una u otra metodología, incluyendo inoculación o registros de infección natural en el campo, se han probado para resistencia a la mazorca negra, causada por Phytophthora palmivora. Los resultados suelen variar con la metodología empleada: así, algunos cultivares pueden aparecer como resistentes en una prueba y susceptibles o apenas toletantes en otra. Por ejemplo Soria y Esquivel (40) en estudios con infección natural obtuvieron un 7 y 10% de infección para los cultivares 'UF-613' y 'UF-221' respectivamente. En inoculaciones de plantas jóvenes Hansen (27) clasifica el primero como resistente y susceptible el segundo.

Lawrence (28), inoculando en el campo con una suspensión de 2×10^5 esporangios/ml encontró 9 cultivares de la colección con un grado promisorio de resistencia. Entre ellos están 'Pound-7', 'SCA-6', 'SCA-12', 'Catongo' y 'Diamante-800'. El 'UF-613' se mostró muy tolerante, mientras que el 'UF-296', 'UF-701', 'UF-654' y 'EET-397' tuvieron un comportamiento medio; 'UF-29', 'UF-650', 'UF-667' y 'EET-338' fueron muy susceptibles. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Hansen (27) en plantas jóvenes que mantuvo bajo sombra una vez inoculadas. Soria y Esquivel (41) en trabajos de campo comparando plantas de estaca, injerto y de semilla de 6 cultivares UF, en Turrialba, y con inóculo natural encontraron resultados semejantes en algunos de estos materiales.

Esquivel (23), en estudios bajo infección natural en la Costa Atlántica de Costa Rica, no encontró resultados consistentes con la inoculación artificial en el cultivar 'UF-29', el cual, teniendo bajo infección natural un buen comportamiento, fue muy susceptible en la prueba artificial; el 'UF-613' volvió a destacarse como tolerante, y como susceptible el 'UF-667', 'UF-677' y 'UF-676'.

En algunos cultivares los resultados de inoculación en el laboratorio guardan siempre relación con los obtenidos en el campo, bajo infección natural y artificial. Este comportamiento lo ha tenido siempre el 'UF-613'. No sucede lo mismo con otros cultivares con el 'UF-29' que muestra resistencia bajo infección natural pero es susceptible en pruebas artificiales, en el campo y en el laboratorio (23).

3. Resistencia a Ceratocystis

Varios estudios se han realizado en distintos materiales de la colección y los resultados han variado también de acuerdo a la metodología empleada. Delgado (10) inoculó plantas de 6 meses de edad, a las que hizo una herida hasta llegar al leño y a la altura donde habían estado insertados los cotiledones, a esta altura aplicó una suspensión de esporas del hongo, cubriendo luego la herida con algodón que humedeció por cuatro días después de inocular. Aunque obtuvo porcentajes de mortalidad por encima de 66%, no encontró diferencias en los cultivares probados ('UF-29', -296, -654, -168, -676, y CC-2).

Inoculando en el laboratorio trozos de corteza y de madera de distintos cultivares, con una suspensión de 3×10^4 esporas/ml, el mismo Delgado (10) encontró como resistentes los cultivares 'SPA-9', 'IMC-67' y 'Pound-12', los cuales tuvieron el mismo comportamiento cuando fueron probados en el campo por inoculación de ramas. En sus estudios en el laboratorio los cultivares 'UF-11', 'UF-29', 'UF-296', 'UF-613', 'UF-650', 'UF-654', 'UF-667', 'UF-672', 'UF-677', 'SCA-12', 'SPA-5' fueron clasificados como susceptibles o muy susceptibles por presentar gran crecimiento micelial y de peritecios, tanto en la madera como en la corteza.

Soria y Salazar (42) modificaron en parte el método de Delgado (10) y probaron 113 cultivares de la colección. Encontraron como resistentes

los cultivares 'SPA-9', 'Pound-12', 'IMC-67' y 'Catongo'; como más susceptibles nuevamente aparecieron el 'UF-296', 'UF-667', 'UF-650', 'SCA-6' y 'SCA-12' y medianamente susceptibles 'SPA-11', 'Pound-7' y 'UF-701'. Aunque en la mayoría de los cultivares reprodujeron los resultados de Delgado (10), encontraron ciertas diferencias que atribuyeron al medio ambiente o a la época de las inoculaciones. Estos resultados de Soria y Salazar (42) concuerdan bastante con los obtenidos por Delgado y Echandi (12) quienes utilizaron metodología muy semejante.

Más tarde Gardella (24) encontró algunas diferencias con los resultados de Delgado (10) al reevaluar cultivares mediante el mismo método, pero agregando 1% de cáscara de cacao pulverizada, al medio en que creció el hongo (PDA). Gardella y Enríquez (25) atribuyeron las diferencias a efectos nutricionales del medio, que ocasionó cambios fisiopatológicos en el hongo. Sin embargo, ellos (25) anotan que ambas pruebas, sí permiten medir diferencias de crecimiento del hongo, en los tejidos de los cultivares inoculados en el laboratorio. Cuando trataron de correlacionar estos datos con los del campo, encontraron que ninguna de las pruebas tenían una buena correlación; por ejemplo el 'Pound-12' considerado como resistente por Delgado (10) y Gardella (24), no presenta el mismo comportamiento en el campo, pues asoma como susceptible y su descendencia tiende a ser más susceptible aún (24). En cambio el 'UF-613' que en el laboratorio siempre fue susceptible, en el campo presenta resistencia, igual que su descendencia (25, 26).

El 'UF-29' también escapa a la infección bajo condiciones naturales pero cuando se inocula su comportamiento no es igual (24, 42).

5. Criterios para la escogencia de cultivares como padres en la producción de semilla híbrida.

Varios son los criterios que se tienen en cuenta para que un cultivar sea considerado como un buen padre en programas de producción de semilla. En el CATIE, para la producción de semilla, se han tenido en cuenta aquellos cultivares que en su descendencia presentan una o varias de estas características: altos rendimientos (más de 1500 Kg/ha de cacao seco en parcelas experimentales), resistencia a enfermedades como Phytophthora, Ceratocystis y Crinipellis pernicioso; también que presenten alta habilidad combinatoria (18).

III. MATERIALES Y METODOS

A. LOCALIZACION DEL AREA EXPERIMENTAL

El estudio se realizó en el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, CATIE, en Turrialba, Costa Rica, ubicada a $83^{\circ}39'40''$ de longitud oeste y $9^{\circ}55'21''$ de latitud norte. La altura es de 602 m.s.n.m., la temperatura promedio anual es de $22,3^{\circ}\text{C}$ con una máxima promedio anual de 27°C ; una mínima promedio de 17°C , con humedad relativa promedio de 87% (*); ecológicamente la zona corresponde a bosque muy húmedo tropical premontano (45). Para el año de 1981, durante el cual se realizó el estudio, las temperaturas máximas y mínimas promedio y la lluvia quincenal se resumen en la Figura 1 (*).

B. PRUEBAS DE METODOS DE INOCULACION Y CONCENTRACION DE INOCULO

Para determinar la concentración del inóculo a utilizar y la forma de aplicarlo, se realizó una prueba preliminar en frutos de dos a tres meses de edad aproximadamente en los cultivares siguientes: 'R-2', 'R-8', 'TSH-792', 'Diamante-800', 'UF-701', 'CATIE-1000'. Se usaron varios cultivares y frutos de distinta edad debido a que no fue posible conseguir suficientes frutos de una misma edad en un solo cultivar. La mitad del número de frutos disponibles en cada cultivar se dividió en cuatro grupos, los cuales fueron asperjados con un atomizador De Vilbiss No. 15 con $0,10^4$, 10^5 , 10^6 conidios/ml. Las aspersiones se hicieron después de cubiertos los frutos con bolsas plásticas plenamente perforadas en sus esquinas inferiores por donde se introdujo, para la atomización, la boquilla de salida del asperjador. Las bolsas se colocaron principalmente para mantener un ambiente mas favorable a la infección después de la inoculación y para evitar la diseminación del inóculo en el área de estudio en donde la infección natural es muy baja.

(*) Datos de la estación meteorológica del CATIE.

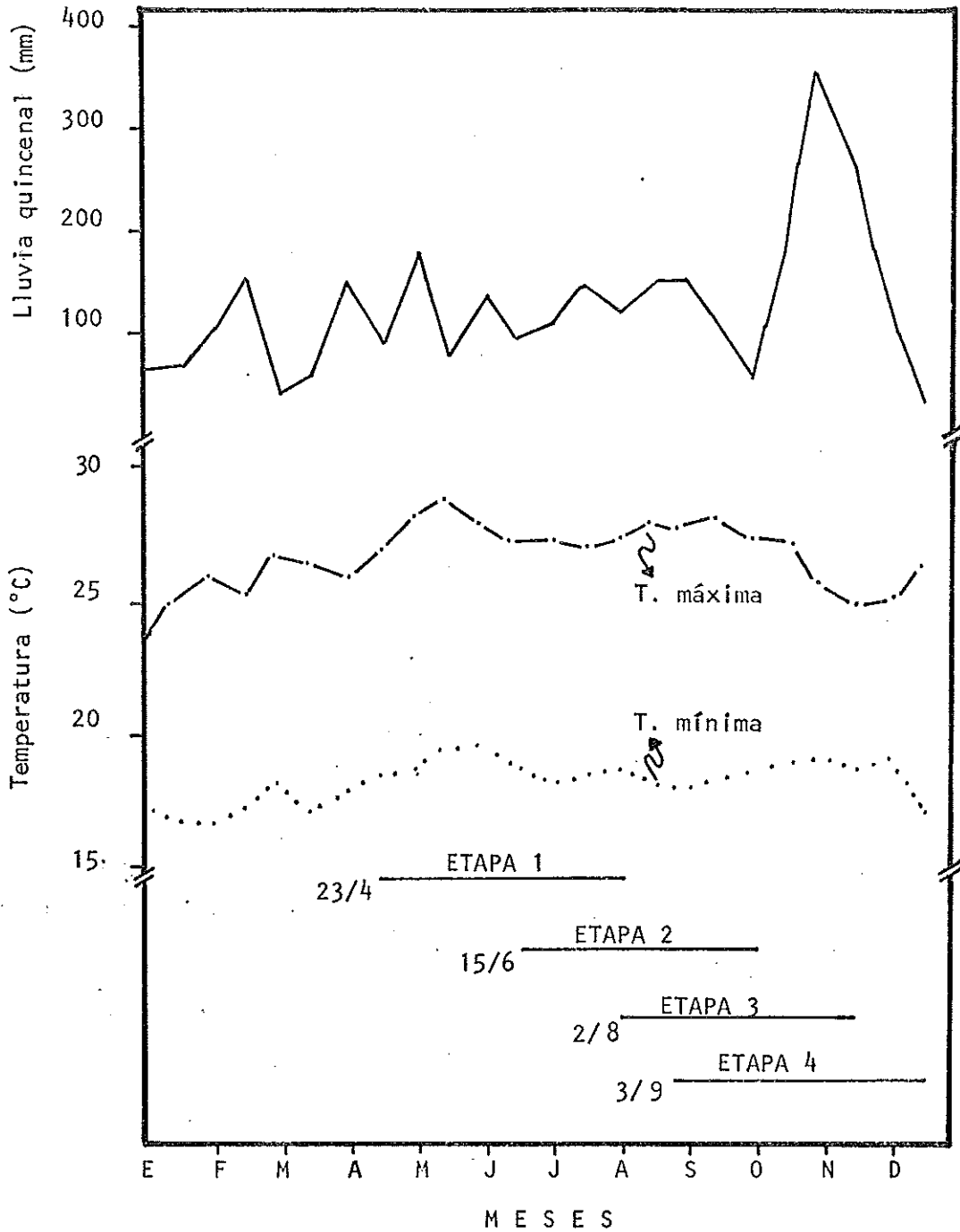


Figura 1. Epoca en que se hicieron las inoculaciones y lecturas quincenales de lluvia y temperaturas promedio durante 1981 en el CATIE, Turrialba, Costa Rica.

Las perforaciones en las esquinas, por donde se introdujo la boquilla, se hicieron también con el fin de evitar la acumulación de agua.

La otra mitad de los frutos, de cada cultivar, fue repartida también en 4 grupos, que recibieron las mismas 4 concentraciones de inóculo, esta vez utilizando un pedazo de algodón sumergido en la suspensión y aplicado con la ayuda de pinzas en uno de los surcos de la parte media superior del fruto, donde quedó adherido. Seguidamente se procedió a colocarle la bolsa plástica protectora, perforada en las esquinas, a cada fruto.

En la preparación de la suspensión se utilizó agua destilada más Tween-80 al 0,01% como dispersante, que evitaba la formación de grumos de conidios. Las lecturas se iniciaron a los 24 días y se continuaron una vez por semana para conocer el avance de la enfermedad en los distintos tratamientos. Los frutos se cosecharon cuando apareció la esporulación o llegaron a la madurez completa.

C. EVALUACIONES UNIFORMES DE CULTIVARES.

De acuerdo con los resultados de las pruebas preliminares de inoculación y concentración de inóculo, se procedió a realizar la evaluación de los cultivares. La selección de los cultivares en cada etapa estuvo condicionada a la presencia de floración y en lo posible que fueran utilizados como padres en el programa de producción de semilla del CATIE. El Cuadro No. 1 detalla el país donde se hizo la selección (origen) de estos cultivares así como algunas de sus características.

El estudio se dividió en cuatro etapas, tomando en cada una de ellas un número variable de cultivares. Sus flores fueron polinizadas manualmente para obtener entre 40 y 60 frutos por cultivar. A los 2 meses de edad los frutos fueron divididos en 4 grupos o repeticiones, que se inocularon sucesivamente, en la mañana y la tarde; en todos los casos esta labor se realizó durante dos días consecutivos, de 7:30 a 10:30 am y de 1:00 a 3:00 pm. La inoculación se hizo asperjando cada fruto con una suspensión recién preparada (1-3 horas antes) de conidios en agua destilada más Tween-80 al 0,01% y a una concentración de 10^5 conidios/ml aproximadamente, determinada con un hematocímetro. Los conidios tenían de 9 a 15 días de edad y se produjeron por reaislamiento en un cultivo que creció en el medio ADA

Cultivar	País donde se seleccionó	Tipo genético 1/	Color sin madurar	Fruto		Compatibilidad ^{3/}	Resistencia a enfermedades ^{4/}		
				Forma 2/	Rugosidad		P. palmívora	Escoba de bruja	Cerato-cystis
Catongo	Brasil	F.C	verde	Am.	Lisa	+	R.	--	--
CATIE-1000	Costa Rica	A(H.D)	verde	Am.	Ligera	--	--	--	--
CC-9	Costa Rica	A(H.D)	verde	Cun.	Ligera	--	M.	--	T.
CC-18	Costa Rica	Mat.(F)	verde	Am.	Intermed.	--	--	--	--
CC-48	Costa Rica	Mat.(F)	verde	Am-Cun.	Ligera	0	R?	--	--
CC-144	Costa Rica	Mat.(F)	verde	Am.	Ligera	--	--	--	--
CC-182	Costa Rica	Cr-F.	verde	Am-Cun.	Ligera	0	--	--	--
CC-210	Costa Rica	A.	verde	Am.	Ligera	--	--	--	--
CC-211	Costa Rica	A.	verde	Am-Ang.	Intensa	--	--	--	--
CC-224	Costa Rica	F.	verde	Am.	Ligera	--	--	--	--
CC-235	Costa Rica	Cr.F.	rojo	Cun.	Ligera	--	--	--	--
CC-264	Costa Rica	F.	rojo	Am-Cun.	Ligera	--	--	--	--
CC-266	Costa Rica	-	rojo	Am-Cun.	Ligera	--	--	--	--
EET-48	Ecuador	(NxD)	verde	Am-Cun.	Intermed.	0	--	S.	T.
EET-59	Ecuador	(NxD)	verde	Am.	Intermed.	0	R.	--	--
EET-338	Ecuador	F.	rojo	Cun.	Ligera	--	--	--	--
EET-397	Ecuador	(NxD)	verde	Ang.	Ligera	--	--	--	--
EET-400	Ecuador	A.	verde	Ang.	Intermed.	0	--	R.	T.
IMC-67	Perú	A.	verde	Cun.	Ligera	0	T.	S.	R.
POUND-7	Perú	A.	verde	Am.	Ligera	0	T.	S.	T.
POUND-12	Perú	A.	verde	Am.	Ligera	0	S.	S.	R.
SGU-69	Guatemala	F.	verde	Cun.	Intermed.	--	--	--	--
SCA-6	Perú	F.A.	verde	Cun.	Ligera	0	--	R??	T.
SCA-12	Perú	F.A.	verde	Cun.	Ligera	0	--	R??	T.
SPA-5	Colombia	A.	verde	Ang.	Intermed.	--	--	--	--
SPA-9	Colombia	A.	verde	Ang.	Ligera	0	--	--	R.
SPA-11	Colombia	F.	verde	Am.	Ligera	--	--	--	--
UF-4	Costa Rica	Tr.	verde	Am-Cun.	Intermed.	0	--	--	--
UF-11	Costa Rica	Tr.	verde	Ang-Am.	Ligera	0	T.	--	--
UF-29	Costa Rica	N.E.	verde	Am.	Ligera	+	--	--	S.
UF-296	Costa Rica	Tr.	rojo	Am.	Ligera	+	T?	--	T.
UF-613	Costa Rica	Tr.	rojo	Am.	Ligera	0	R.	S.	T.
UF-650	Costa Rica	Tr.	rojo	Ang.	Ligera	+	S.	--	S.
UF-654	Costa Rica	Tr.	rojo	Am.	Intermed.	0	--	--	--
UF-667	Costa Rica	Tr.	rojo	Ang.	Intermed.	0	--	--	S.
UF-677	Costa Rica	Tr.	verde	Ang.	Intermed.	+	S.	--	S.
UF-672	Costa Rica	Tr.	rojo	Am.	Intermed.	--	--	--	--
UF-701	Costa Rica	Tr.	rojo	Am.	Ligera	--	--	--	--

Adaptado de: Engels (17), Enríquez y Sorio (21) y Sorio y Enríquez (39)

1/ A: Amazónico; Cr: Criollo; F: forastero; Mat: Matina; N.E: Nacional Ecuatoriano; H.D: Híbrido desconocido; NxD: Nacional por desconocido; Tr: Trinitario

2/ Am: Arnelonado; Ang: Angoleta; Cun: Cundeamor

3/ : Autocompatible; 0: Autoincompatible

4/ R: Resistente; T: Tolerante; S: Susceptible

R?, T?: Aparecen en la literatura como resistentes o tolerantes pero en el campo hubo muchas pérdidas por esta enfermedad

R??: Presentaron resistencia anteriormente pero lo han perdido

--: No se encontró información

(agar 1,5%; dextrosa 2% y hojuelas de avena 5%). Los frutos fueron protegidos con bolsas plásticas antes de ser inoculados; para esto la boquilla de salida del atomizador se introdujo por una de las esquinas de la bolsa tratando de que quedara a una distancia de 10 a 15 cm del fruto. En cada aspersión se dieron entre 5 y 6 bombeos manuales a la perilla de caucho del De Vilbiss. Se trató que la suspensión cubriera la mayor parte de la superficie del fruto aplicando aproximadamente 0,5 ml de la suspensión. Con cada etapa y acorde con cada repetición, fueron inoculados entre 40 y 50 frutos del cultivar 'Catongo', considerado como control permanente, que permitiera detectar el efecto de variaciones ambientales y del inóculo mismo. Se usó 'Catongo' sólo porque el número de árboles de este cultivar en la colección, daban más seguridad de disponer de flores y frutos en las distintas épocas de inoculación.

El grupo de cultivares de la primera etapa se inoculó el 23 y 24 de abril, el de la segunda el 15 y 16 de junio y por la no disponibilidad de flores suficientes y/o poco cuajamiento, fue necesario inocular la tercera etapa, así: 2 repeticiones en la primera semana de agosto y el resto en la primera de setiembre. Simultáneamente con cada una de éstas se hicieron las respectivas repeticiones en el control.

Las lecturas de reacción externa se iniciaron a la quinta semana y se continuaron hasta la decimaquinta después de la inoculación; para ello se hizo uso de una escala (Figura 2) con la cual se calificó semanalmente cada fruto, de acuerdo al grado de severidad del ataque. El valor en la escala para las distintas combinaciones de síntomas que pueden presentarse se detalla a continuación:

- 0: Ningún síntoma aparente.
- 1: Pequeños y pocos puntos aceitosos (PPA) o ligera deformación (d).
- 2: Puntos aceitosos bien definidos y abundantes (PA), deformación pronunciada (D) o madurez irregular debida a la enfermedad (M).
- 3: Puntos aceitosos bien definidos y abundantes más deformación (PA+D) o más madurez irregular (PA+M); ligero agrietamiento a los largo de uno de los surcos del fruto (R⁻).
- 4: Mancha hasta de 3 cm de diámetro sola (mn⁻) o acompañada de madurez irregular (mn⁻+M) o también con deformación (mn⁻+D); agrietamiento pronunciado (R⁻+D).

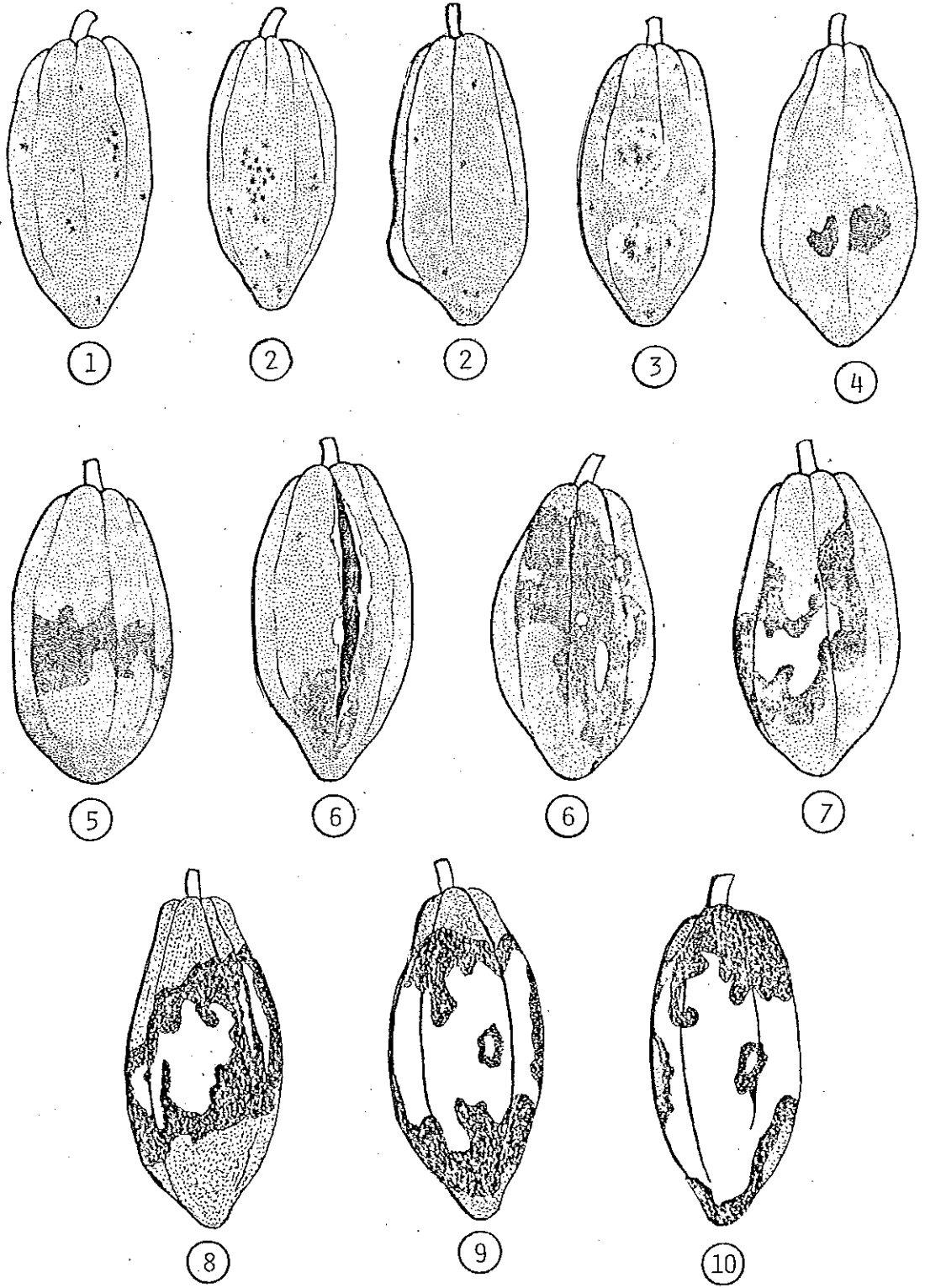


Figura 2. Escala de severidad externa utilizada

- do a lo largo del fruto (R).
- 5: Mancha de más de 3 cm de diámetro pero sin cubrir más de 2/3 del fruto (mn^+) o esta misma acompañada de madurez debida a la enfermedad ($mn^+ + M$).
 - 6: Mancha hasta cubrir 2/3 del fruto con presencia de micelio ($mn^+ + mi$), o también la sola mancha o necrosis desde 2/3 del fruto hasta cubrir toda la superficie del mismo (mnT).
 - 7: Mancha desde 2/3 del fruto hasta cubrirlo totalmente más micelio ($mnT + mi$); mancha hasta 3 cm de diámetro más esporulación pero en poco grado ($mn^- + E^-$).
 - 8: Mancha desde 2/3 hasta cubrir toda la superficie del fruto más esporulación en poco grado ($mnT + E^-$); mancha desde 2 cm de diámetro hasta aproximadamente la mitad del fruto con esporulación mas bien abundante hasta la mitad de la misma ($mn + E$).
 - 9: Mancha desde 2/3 hasta cubrir todo el fruto más esporulación hasta la mitad de la mancha ($mnT + E$), o mancha hasta 2/3 del fruto más esporulación que cubre toda el área necrosada ($mn + E^+$).
 - 10: Mancha total más esporulación abundante que cubre toda el área necrosada ($mnT + E^+$) o también con madurez pronunciada debido a la enfermedad ($MnT + E^+ + M$).

Los frutos fueron cosechados cuando presentaban esporulación o madurez completa, ya fuera ésta por efecto de la enfermedad o por completar su ciclo normal. Cada fruto cosechado fue partido para darle una calificación, en una escala de 0 a 5, según el grado de necrosis interna. Para obtener la calificación interna promedio para cada cultivar se tuvieron en cuenta sólo los frutos que tenían también síntomas externos (hubo frutos con síntomas externos y sin síntomas internos pero lo inverso no ocurrió)./

Por último, se midió la capacidad de esporulación por área estromática en aquellos cultivares que así lo permitieron. Para esto, de algunos frutos esporulados se tomaron muestras con un sacabocado, que se llevaron a un volumen conocido de Tween-80 al 0,01% y por medio de un hemacitómetro se determinó la concentración; con esta concentración y el área de la muestra se determinó la cantidad de esporas por cm^2 .

Debido a las variaciones en las condiciones ambientales y posiblemente del mismo inóculo, el desarrollo de la enfermedad puede variar de una etapa a otra. Para poder hacer comparaciones entre los cultivares inoculados en

las distintas etapas, se corrigieron una a una, todas las repeticiones en cada cultivar, multiplicando los valores promedios semanales en cada repetición por un factor de corrección obtenido en base a los valores del cultivar 'Catongo', tomando solo el promedio de las 2 etapas más severas. Se consideró que estas 2 etapas son las más representativas de lo que sucede en una zona cacaotera donde se encuentra la enfermedad.

Los factores de corrección de severidad externa e interna para las respectivas repeticiones se obtuvieron mediante la siguiente ecuación:

$$Fci = \frac{PCes}{PCri}$$

Donde Fci: factor de corrección para la repetición i.

PCes: promedio de severidad del 'Catongo' en las 2 etapas más severas.

PCri: promedio del 'Catongo' en la respectiva repetición.

i : 1 a 16 (No.de repeticiones totales en el 'Catongo' considerando las 4 etapas en que fue inoculado en la prueba regular).

Los datos una vez corregidos, se sometieron a un análisis de varianza y posteriormente a una prueba de Duncan, para establecer las diferencias posibles entre los distintos cultivares.

Por último se buscó la correlación entre la lectura final, promedio de las 11 semanas, con cada una de las lecturas semanales en cada cultivar, para tratar de encontrar el punto crítico, o lectura semanal que refleja mejor el comportamiento total de cada cultivar, que permitiría detectar con una sola lectura las diferencias existentes entre los distintos materiales inoculados con M. royeri; esto evitaría en futuros trabajos tomar varias lecturas semanales.

IV. RESULTADOS

A. PRUEBA DE METODOS DE INOCULACION Y CONCENTRACION DE INOCULO.

1. Desarrollo de la enfermedad

Los primeros síntomas, consistentes en puntos "aceitosos" o hidrosos y en algunos casos deformaciones, empezaron a aparecer 32 días después de la inoculación en los tratamientos de mayor concentración: 10^5 y 10^6 conidios/ml. Los síntomas aparentemente eran más concentrados donde el inóculo se aplicó con algodón, especialmente en la concentración de 10^6 conidios/ml. La aparición de las primeras manchas o necrosis se inició 45 días después de la inoculación. La mayor frecuencia y tamaño de las lesiones ocurrió también a concentraciones mayores (10^5 y 10^6), especialmente en los cultivares 'R-2' y 'R-8', que en toda la prueba se mostraron como los más susceptibles, ya que en estos fue donde primero aparecieron síntomas y donde más rápido avanzó la enfermedad, hasta completar su ciclo con la esporulación en 67 días aproximadamente.

La intensidad de la esporulación para estos cultivares, 'R-2' y 'R-8', en base al promedio de dos frutos y 4 muestras por fruto, fue de aproximadamente 10 y 20 millones de conidios/cm², respectivamente.

El Cuadro 2 y la Figura 3, muestran el número y el porcentaje de frutos infectados por tratamiento y por cultivar. Se exceptúan aquellos perdidos por marchitamiento fisiológico u otras causas. Los cultivares 'R-2', 'R-8' y 'TSH-792' presentaron las más altas incidencias y aunque no se midió la severidad, por observaciones de campo se dedujo que fueron más afectados, especialmente en las concentraciones mayores (10^5 y 10^6 conidios/ml), llegando a la esporulación abundante la mayoría de los frutos. El cultivar 'Diamante-800' tuvo también alta incidencia con la concentración mayor, pero se observó que la severidad fue menor si se compara con los cultivares anteriores; además, fue el cultivar que presentó más pérdidas por marchitez fisiológica, seguido por el 'UF-701'. Aparentemente en este marchitamiento no hubo influencia de los tratamientos. Por último en los cultivares 'CATIE-1000' y 'UF-701' hubo baja incidencia y se observó poca severidad,

Cuadro 2. Efecto de la dilución del inóculo y la forma de aplicarlo, sobre la incidencia de moniliasis en frutos inoculados de dos a tres meses de edad.

CULTIVAR	Inoculados por aspersión				Inoculados con algodón			
	Concentración (conidios por mililitro)							
	0	10^4	10^5	10^6	0	10^4	10^5	10^6
R-8	0/8 <u>1/</u>	0/8	6/8	8/8	0/8	2/8	5/8	8/8
R-2	0/4	1/4	4/4	4/4	0/4	0/4	3/4	4/4
UF-701	0/4	1/4	1/4	2/4	0/4	0/4	2/4	1/4
Diamante-800	0/8	2/8	4/8	7/8	0/8	1/8	1/8	8/8
TSH-792	0/2	0/2	2/2	2/2	0/2	1/2	2/2	2/2
CATIE-1000	0/6	1/6	5/6	5/6	0/6	1/6	2/6	2/6
Total <u>2/</u>	0/24	5/24	22/28	28/29	0/27	5/27	15/25	25/28
Porcentaje	0,0	20,8	78,6	96,5%	0,0	18,5	60,0	89,3%

1/: Frutos con infección (numerador) del total inoculados (denominador).

2/: Se descartan del total inoculados los perdidos por otras causas.

no presentaron frutos esporulados pero sí algunos infectados internamente, de los inoculados por aspersión.

2. Concentración del inóculo y métodos de aplicación para las evaluaciones uniformes de cultivares

De acuerdo a los resultados de la prueba preliminar, se seleccionó para la prueba posterior la concentración de 10^5 conidios/ml, por considerarse que esta concentración permite detectar mayores diferencias de susceptibilidad entre diversos cultivares. Concentraciones más altas parecieron enmascarar o vencer alguna resistencia si es que existiera ésta, y concentraciones más bajas, como la de 10^4 conidios/ml parecieron ser insuficientes

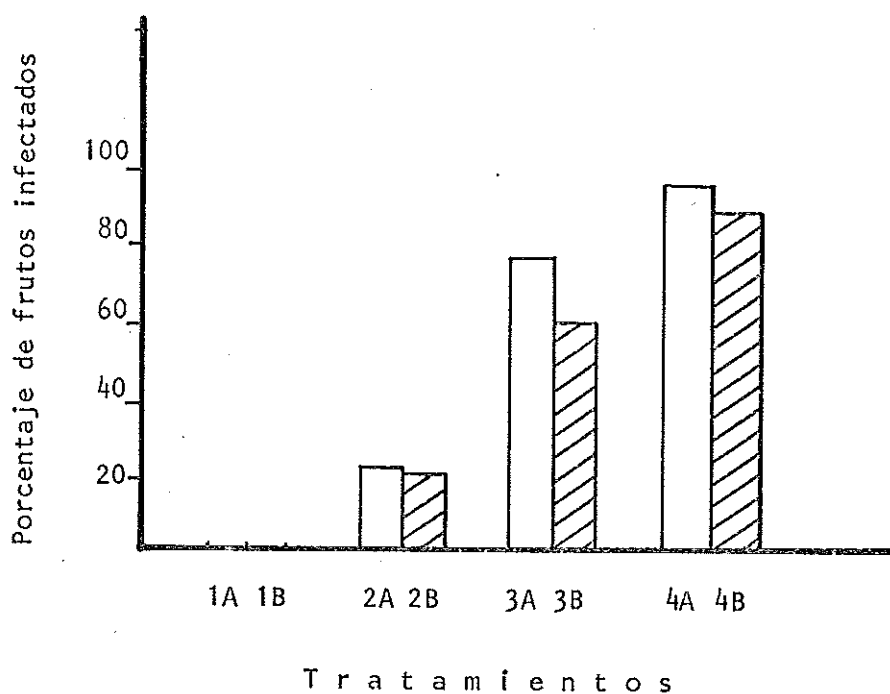


Figura 3. Porcentaje de frutos infectados por tratamiento en la prueba de concentración y métodos de inoculación. A: (□) inóculo aplicado por aspersión, B: (▨) inóculo aplicado con algodón; 1=0; 2= 10^4 ; 3= 10^5 ; 4= 10^6 conidos/ml respectivamente.

para infectar aun los medianamente susceptibles, pues el porcentaje de infección fue muy bajo si se compara con las otras concentraciones.

Como método de inoculación, se consideró que la aspersión con el atomizador De Vilbiss produjo una infección más natural. Este simula más las condiciones de campo en donde todo el fruto está expuesto a la llegada del inóculo, sin que normalmente se den concentraciones tan altas para una pequeña área. Esto sí puede suceder con la porción de algodón, lo cual podría llevar a la manifestación de una mayor severidad de la enfermedad, debido a la presión de inóculo concentrado en un solo sitio.

B. EVALUACIONES UNIFORMES DE CULTIVARES

1. Severidad externa

Al iniciarse las lecturas a la 5a. semana, en la totalidad de los cultivares probados se presentaban, en mayor o menor grado, los primeros síntomas en forma de "puntos aceitosos" o hidrosos y en algunos casos deformaciones ligeras (protuberancias) que ocasionalmente en algunos frutos llegaron a ser bien pronunciadas. Tales síntomas continuaron detectándose por 3 semanas más, especialmente en aquellos cultivares cuya coloración o rugosidad impidieron detectarlos fácilmente más temprano, sobre todo cuando estos puntos aceitosos estaban dispersos y en poca cantidad.

Las primeras lesiones necróticas se presentaron a la 7a semana en los siguientes cultivares: 'CC-182', 'CC-224', 'UF-650', 'Catongo', 'Pound-7', 'SPA-5', 'SPA-9', 'SPA-11', 'CC-18', 'CC-9', 'CC-235', 'UF-4', 'UF-667', 'UF-677', 'UF-701', 'CC-144' y 'UF-29'. Sólo el 'CC-211' presentó necrosis a la 6a semana; en los demás cultivares se presentaron entre la 8a y 9a semana, excepto en los cultivares 'CC-210' y 'EET-48', que tardaron 10 semanas para mostrar síntomas. La forma de las lesiones fue irregular, de bordes no bien definidos al principio, pero sí después. El color de estas lesiones fué café oscuro y su tamaño variable, muy influenciado seguramente por el cultivar, las condiciones ambientales y por la frecuencia y tamaño de los puntos aceitosos, área en donde apareció ligera madurez antes de la necrosis. La consistencia de dichas lesiones fué dura, tornándose un poco suave cuando los frutos se dejaban en el campo por unos días más, en espera de estroma y esporulación. Este cambio de textura está muy influenciado por la invasión de microorganismos saprófitos, que aceleran la descomposición del tejido.

Aunque el sistema de lecturas semanales no permitió conocer el tiempo exacto de aparición del estroma en cada cultivar, sí pudo observarse que inicialmente aparecía en forma muy fina y por gran parte de la mancha necrótica. Esto no ocurrió en las áreas que hacían contacto con la bolsa plástica, donde permanecía la necrosis sin este signo de la enfermedad.

Por este motivo la distribución del estroma con respecto al área necrótica fue muy irregular, sobre todo cuando esas áreas en contacto con la

bolsa permanecían húmedas por efecto de transpiración del fruto o por la lluvia frecuente.

Las primeras esporulaciones en el campo se dieron a la 8a y 9a semana en la mayoría de los cultivares, sólo el 'CC-211' lo hizo a la 7a semana y el 'SCA-6', 'SPA-9', 'SPA-11' y el 'CC-144' a la 10a semana.

En general los cultivares inoculados en abril y agosto fueron los que tuvieron el más rápido desarrollo externo de la enfermedad hasta completar su ciclo en la esporulación, que fue abundante en muchos de ellos.

La Figura 4, muestra grados avanzados de la enfermedad en dos frutos de 'Pound-7' a la 8a. semana después de la inoculación. Contrario a lo ocurrido en abril y agosto, los cultivares inoculados en junio y setiembre esporularon muy poco en el campo. No se descarta en esto un posible efecto del inóculo y de algunos materiales, pero se considera que las bolsas influyeron para que en muchos frutos no hubiera formación de estroma o fuera muy poco e irregular. Esto se debió quizás a las condiciones de alta humedad dentro de la bolsa que hace que los frutos permanezcan húmedos; esto es mayor entre áreas de contacto de la bolsa y el fruto, donde permanece una película de agua entre las dos superficies. Esto fue más crítico cuando hubo lluvias frecuentes aunque no siempre intensas, que favorecieron la acumulación de agua en rugosidades de la bolsa.

En varios cultivares fue común encontrar un agrietamiento a lo largo de uno de los surcos del fruto, por donde posteriormente se desarrolló el estroma y se produjo la esporulación. Esta esporulación no fue común para todos los materiales ya que algunos permanecieron agrietados sin formarse los signos de M. roreri; sin embargo, sí se presentaron otros saprófitos que invadían y aceleraban la descomposición de la mazorca internamente. Cuando se presentó el agrietamiento ya los frutos tenían formadas o casi bien formadas sus semillas. En algunos casos cuando el agrietamiento llegó hasta la parte interna del fruto, ya se había iniciado la formación del arilo que cubre las semillas cuando se inicia la madurez.

2. Severidad interna

La severidad interna no siempre estuvo relacionada con la severidad externa; sin embargo, los tres cultivares con menor calificación, fueron



Figura 4. Frutos del cultivar 'Pound-7' a la 8a semana de haber sido inoculados artificialmente con Monilia roreri. Nótese el agrietamiento por donde ha aparecido el estroma en uno de los frutos (derecha) y que recibió una calificación de 7; el otro (izquierda), recibió una calificación de 9 en la escala de 0 a 10.

también aquellos de mayor severidad externa. Otros cultivares mostraron bastante diferencia entre su severidad interna y externa, siendo una muy superior a la otra. Entre los que presentaron una severidad externa relativamente alta y una severidad interna baja, están: 'UF-613', 'EET-400', 'SPA-9' y 'UF-701'; en cambio el 'CC-182', 'CC-224', 'SCA-6', 'UF-11', 'CC-266', y 'EET-397' tuvieron una mayor severidad interna que externa. Por último, un considerable número de cultivares mostraron bastante relación entre el daño externo e interno por la enfermedad.

3. Capacidad de esporulación

La capacidad de esporulación no pudo ser medida en forma consistente para todos los cultivares, pues como se anotó antes, muchos no esporularon en el campo y fueron invadidos por otros hongos antes de la aparición del estroma, impidiendo el normal crecimiento de Monilia. Probablemente esto se debió en parte a la alta humedad dentro de las bolsas plásticas. Otros cultivares mostraron una esporulación deficiente y no permitieron la toma de muestras apropiadas, pues el estroma y la esporulación eran escasos, y muy adheridos a la superficie del fruto, al punto de que eran difícilmente separados de la muestra una vez colocada esta en el medio líquido, aunque se agitara fuertemente la suspensión. Estos cultivares donde no se desarrolló el hongo hasta formar estroma, o tuvieron esporulación muy deficiente y no permitieron lecturas normales, fueron: 'UF-613', 'EET-397', 'EET-338', 'SPA-9', 'SPA-11', 'CC-266', 'EET-48', 'EET-59', 'CC-210' y 'CC-224'; también ocurrió en muchos de los frutos de 'CC-182', 'SCA-12', 'CC-18' y 'CC-144'. El Cuadro 3 contiene los valores para algunos cultivares, en conidios por cm^2 .

4. Comportamiento del cultivar 'Catongo' tomado como control

Las etapas en donde la enfermedad alcanzó, en promedio, la mayor severidad fueron las inoculadas en abril y agosto, como se anotó anteriormente. El índice promedio de reacción externa del 'Catongo' para cada etapa, fue el siguiente: 2,89 en abril, 1,40 en junio, 2,56 en agosto y 1,68 en setiembre. En la Figura 5 se puede ver el avance semanal de la enfermedad en este cultivar, para cada una de las etapas de inoculación y el

Cuadro 3. Esporulaci3n por 1rea estrom1tica en algunos cultivares inoculados artificialmente con M. rozeri en el CATIE, Turrialba, Costa Rica.

CULTIVAR	Conidios/cm ² (millones)	CULTIVAR.	Conidios/cm ² (millones)
UF-11	11,8 (1) ^{1/}	CC-235	43,3 (4)
CC-182	15,0 (1)	Pound -7	44,2 (3)
UF-650	17,7 (4)	UF-654	45,0 (6)
CC-211	26,2 (3)	SGU-69	45,1 (2)
CC-144	28,1 (1)	UF-667	46,2 (4)
CC-18	30,6 (3)	CATIE-1000	46,4 (4)
CC-9	31,1 (6)	Catongo	46,9 (6)
UF-29	32,0 (2)	EET-400	47,9 (1)
UF-4	32,0 (4)	SCA-6	50,6 (3)
UF-677	38,2 (4)	UF-701	51,5 (2)
SPA-5	43,0 (4)	SCA-12	57,2 (1)

^{1/}: N1mero de frutos de donde proviene la medici3n.

promedio general de las mismas. Puede apreciarse que, al tomar el promedio de abril y agosto para el respectivo ajuste, en las lecturas de los dem1s cultivares, se sube la calificaci3n de severidad de aquellos inoculados en junio y setiembre, pero baja un poco a la vez la de los inoculados en los meses donde, aparentemente, el desarrollo de la enfermedad fue favorecida por condiciones ambientales o del in3culo mismo. De este modo se compensaron y ajustaron las diferencias entre cultivares inoculados en 1pocas diferentes, lo cual fue previsto al inocular el 'Catongo' como tratamiento control permanente.

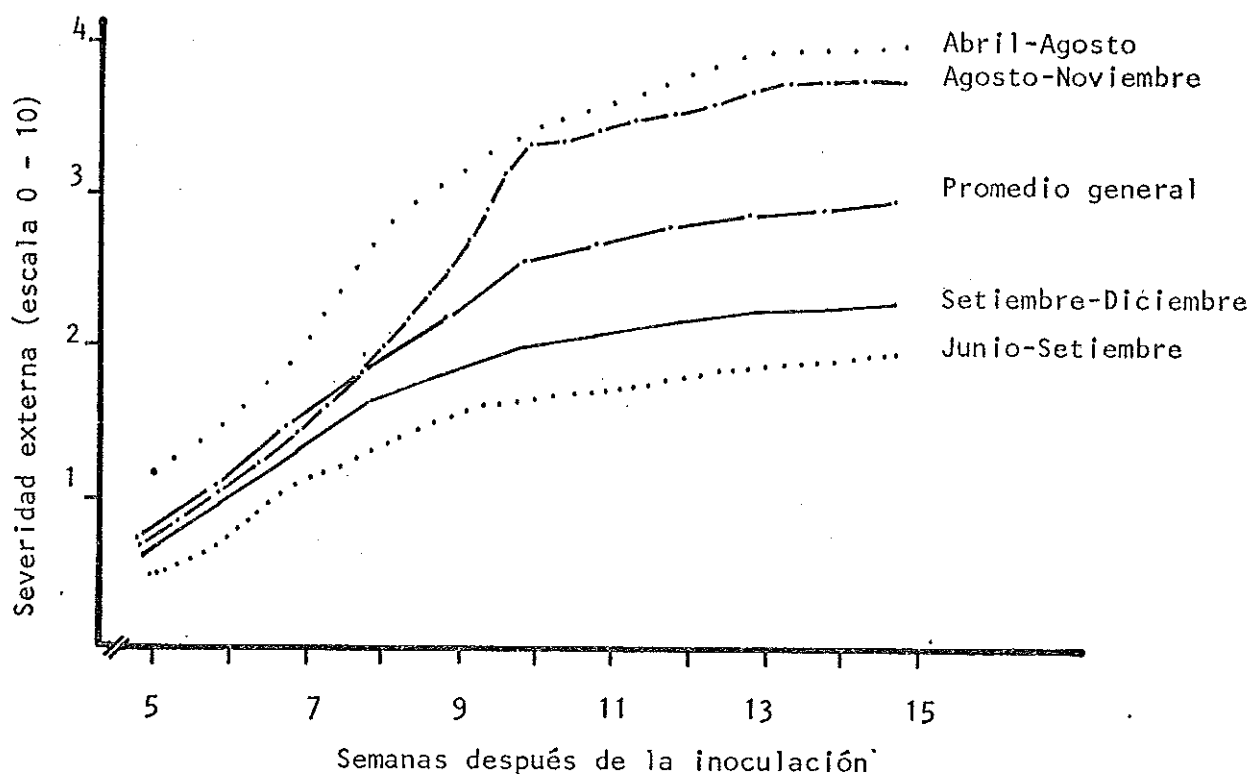


Figura 5. Avance de severidad externa de la moniliasis en el cultivar 'Catongo', en las diferentes etapas de inoculación.

C. ANALISIS ESTADISTICO

Por pérdidas debidas a marchitamiento, y sobre todo a Phytophthora, sólo 33 de los 40 cultivares inoculados pudieron ser tomados en cuenta para someter la información a un Análisis de Varianza.

El análisis mostró que habían diferencias altamente significativas ($p=0,01$) entre los distintos tratamientos (cultivares), tanto en daño externo como interno. Los coeficientes de variación para severidad externa e interna fueron de 31,11 y 35,12% y las desviaciones estándar de 1,10 y 1,13, respectivamente. La prueba de Duncan separó los cultivares entre los cuales había diferencia. Estos grupos que presentan diferencias externas o internas al nivel de significancia del 5%, se pueden ver en el Cuadro 4. Por último, un análisis de correlación entre la calificación promedio de 11 semanas

Cuadro 4. Severidad externa (0- 10), severidad interna (0, 5), incidencia (%) y severidad externa a la 8a. semana en cultivares de cacao inoculados artificialmente con *M. royeri*.

	Severidad externa <u>1/</u> Escala 0-10	Severidad interna <u>2/</u>	Incidencia (%)	Severidad 8a. semana
CC-210	0,45 a	1,10 a	19,2	0,33
EET-59	0,79 a b	1,13 a	23,1	0,73
EET-48	1,40 a b c	1,06 a	34,2	1,05
CC-266	1,61 a b c	2,65 a b c	31,6	1,19
UF-11	2,00 a b c d	3,77 b c d	36,4	1,48
CC-182	2,06 a b c d	3,40 b c d	77,4	1,57
EET-397	2,67 b c d e	3,57 b c d	53,6	2,32
Catongo	2,73 b c d e	2,92 a b c d	76,1	2,24
CC-224	2,94 b c d e f	4,04 b c d	77,8	2,84
SCA-6	2,99 c d e f	4,33 b c d	51,1	2,27
EET-338	3,07 c d e f	2,50 a b	57,1	2,37
CC-18	3,37 d e f g	3,68 b c d	86,1	2,49
CC-144	3,39 d e f g	2,88 a b c d	79,5	2,79
UF-613	3,41 d e f g h	1,30 a	76,2	2,85
SPA-9	3,42 d e f g h i	2,51 a b c	95,8	3,11
SPA-11	3,43 d e f g h i	2,43 a b	96,2	2,89
EET-400	3,49 d e f g h i	1,26 a	78,3	2,88
UF-29	3,78 d e f g h i	4,52 c d	83,7	3,48
SGU-69	4,06 e f g h i	3,81 b c d	93,3	2,95
SCA-12	4,10 e f g h i	4,38 b c d	70,7	2,88
UF-672	4,15 e f g h i	3,25 b c d	95,9	3,80
UF-4	4,16 e f g h i	4,17 b c d	98,2	3,66
UF-650	4,29 e f g h i	3,65 b c d	84,8	3,42
UF-667	4,46 e f g h i	4,01 b c d	83,8	3,06
CC-211	4,63 f g h i	4,80 d	71,7	4,09
UF-701	4,63 f g h i	2,73 a b c	88,4	3,78
CC-9	4,69 f g h i	4,26 b c d	92,6	4,34
CC-235	4,72 f g h i	4,07 b c d	90,9	3,94
UF-677	4,73 f g h i	3,56 b c d	94,4	3,62
UF-654	5,00 g h i	3,92 b c d	96,1	3,44
CATIE-1000	5,02 g h i	3,46 b c d	94,1	4,26
Pound-7	5,20 h i	3,74 b c d	95,4	4,88
SPA-5	5,87 i	4,18 b c d	98,1	4,21

1/: Promedio de 11 lecturas semanales.

2/: Incluye solo los frutos que fueron infectados también externamente.

3/: Valores con una misma letra no difieren entre si (5%) estadísticamente.

para cada cultivar, con las respectivas calificaciones semanales, mostró que ya en la 8a semana después de la inoculación existe una alta correlación ($r= 0,96$). Esto indica que para futuros trabajos puede seleccionarse la 8a semana para hacer una única lectura de severidad.

En el cuadro 4 se da además el porcentaje de incidencia para cada cultivar; este parámetro está incluido en el cálculo de la severidad externa, donde los frutos sin síntomas se calificaron con cero. Por estar incluida la incidencia en el cálculo de severidad externa no se hizo análisis estadístico por separado para esta variable. Tampoco se hizo análisis para la capacidad de esporulación debido a las irregularidades presentadas para la medición de la misma.

V. DISCUSION

A. ACERCA DE LA METODOLOGIA

La ausencia en la literatura de un método preciso y reproducible para evaluar diferentes grados y tipos de respuesta de los distintos cultivares de cacao a la moniliasis condujo al primer objetivo de este estudio, que fue establecer una metodología que permitiera detectar moderadas diferencias de susceptibilidad en distintos cultivares de cacao.

1. Concentración del inóculo

De acuerdo a los resultados obtenidos, incluyendo la prueba preliminar, 10^5 conidios/ml parece ser la concentración mejor para detectar diferencias en susceptibilidad M. rozeri. Sin embargo, para trabajos con cultivares muy susceptibles esta concentración podría resultar alta, en especial, si las condiciones ambientales favorecen el desarrollo de la enfermedad.

Las diferencias obtenidas, aun en cultivares inoculados en una misma época y bajo las condiciones del presente estudio, sugieren que las concentraciones utilizadas por Sotomayor (43) (35×10^6 conidios/ml) y por Rodríguez y Suárez (35) (25×10^4 conidios/ml), eran excesivas para el primer caso y tal vez altas, en el segundo. Además si se considera que la temperatura en Pichilingue, Ecuador es más favorable que en Turrialba al desarrollo de la enfermedad, es aceptable que las concentraciones por ellos utilizadas no permiten detectar mayores diferencias, como bien lo manifestaron dichos autores (35, 43). Merchán y Restrepo (29) por su parte, consideran que 36×10^3 conidios adheridos a la punta de un alfiler entomológico son suficientes para producir niveles altos de infección cuando éstos son aplicados por lavado en un surco de la mazorca. Esto podría ser bastante mayor a los 10^5 conidios/ml, aplicados en el presente estudio por aspersion alrededor del fruto, donde difícilmente quedan áreas en el mismo con una concentración tan alta. Es muy importante tener en cuenta la concentración del inóculo cuando se evalúa la reacción a la enfermedad en base a su incidencia (%) y su severidad (grado de descomposición de los frutos). La reacción externa e interna puede estar muy influenciada por la concentración del inóculo y el cultivar. Ya

Rodríguez y Suárez (35) anotaban en su trabajo que algunos cultivares presentaron baja descomposición interna de los frutos infectados. Esto concuerda con lo encontrado en el presente estudio ya que la concentración utilizada permitió que algunos cultivares presentaran alta incidencia y considerable severidad externa, sin afectarse mucho las semillas; así, se obtuvo almendras sanas en una mitad o más del fruto de varios cultivares. Por esto se recomienda para futuros trabajos tomar el peso de las almendras aprovechables en aquellos cultivares que se muestren promisorios por no ser muy afectados internamente los frutos.

2. Aplicación del inóculo

La inoculación al fruto por aspersión desde distintos ángulos demostró ser adecuada. Permitted no sólo alta incidencia sino también un desarrollo normal de la enfermedad al no concentrar el inóculo en un solo sitio. Este hecho podría llevar a la manifestación de un grado tal de severidad que no corresponda a la situación normal de un cacaotal en donde el fruto naturalmente, raras veces recibe concentraciones de inóculo tan altas en pequeñas áreas, como puede suceder con el algodón sumergido en la suspensión y puesto en contacto con el fruto, o con el depósito de plasticina. Este último sistema tiene además el agravante de que los conidios quedan sumergidos o pueden irse a la superficie formando grupos o grumos. Además Rodríguez y Suárez (35) anotan que los conidios de M. royeri solamente germinan cuando están cubiertos por una película de agua; la formación de esta película estará favorecida con el atomizador y la evaporación rápida del exceso de agua, quedando pronto cada conidio en contacto con las paredes del fruto.

3. Edad de los frutos inoculados

Si los frutos son más susceptibles en los primeros estados del desarrollo (1, 7, 44), la reacción a la enfermedad en frutos inoculados a los 90 o más días de edad (frutos adultos) podría no mostrar diferencias entre cultivares que sí se muestren a edades tempranas. En este caso es más realista trabajar con frutos de 60 días y en general menores de 80 días, pero esto tiene un serio limitante: el riesgo de perder muchos frutos por marchitamiento fisiológico u otras causas. En este trabajo se corrió ese riesgo, pero la mayoría

de los cultivares mantuvieron 40 o más frutos que era el mínimo propuesto inicialmente. A pesar del riesgo sólo dos cultivares debieron ser descartados por este motivo (perdieron dos o más repeticiones por marchitamiento), en cambio cinco de los cultivares debieron descartarse por pérdidas debidas a Phytophthora sp. Trabajar con frutos de 60 días hacen la prueba más realista y los resultados más confiables. Aun así, en trabajos posteriores se deben probar los materiales promisorios de estas pruebas preliminares, con frutos menores de 60 días, e incluso apenas recién cuajados, pues la enfermedad podría atacar desde el estado de flor o en fases muy cercanas a la fecundación.

La resistencia de los frutos a la enfermedad, adquirida con la edad, podría empezar a manifestarse entre los 60 y 90 días, como consecuencia de los cambios fisiológicos dados en el fruto al entrar en la fase de formación de las almendras, etapa que coincide con una gran velocidad de crecimiento, lo que podría afectar a su vez la rapidez con que el hongo invade el tejido. Los cambios químicos ocurridos en el fruto al cesar su crecimiento e iniciar la acumulación de azúcares y otros compuestos hasta llegar a su madurez, pueden ser muy importantes en la invasión del tejido por el hongo, pues como lo sugiere Suárez (44), es posible que la tolerancia se deba más a factores fisiológicos que a mecánicos, dada la dificultad que tiene el hongo para desarrollarse intracelularmente a medida que aumenta la edad del fruto. También los cambios fisiológicos ocurridos en el fruto durante su desarrollo podrían llevar a la síntesis de compuestos que favorezcan el crecimiento del hongo y que con la edad se reduzca la síntesis de tales compuestos, haciendo con ello más lenta la invasión del tejido por el patógeno. En cambio con Phytophthora palmivora los frutos son más resistentes en los primeros estados (\pm 2 meses) debido a la mayor cantidad de polifenoles y orto-dihidroxifenoles y se tornan más susceptibles a medida que el contenido baja con la edad de la mazorca (34).

4. Uso de la bolsa plástica en el cubrimiento de los frutos

Observaciones de campo durante las diferentes etapas del estudio sugieren que la bolsa impide un normal desarrollo de la enfermedad. Los frutos embolsados permanecieron húmedos gran parte del tiempo y la bolsa se adhirió en partes

a la superficie del mismo. En estas áreas en contacto entre la bolsa y el fruto no había formación de estroma ni esporulación; esto influye al evaluar severidad externa en base a una escala de valores como la utilizada. De acuerdo a los anteriores se considera que la bolsa no es conveniente en este tipo de trabajos. Se recomienda para futuros estudios utilizarla solo al momento de la inoculación, hasta unos 15 días después, y luego retirarla para permitir un desarrollo más natural de la enfermedad. En los casos en que sea necesario usarla para evitar diseminación de inóculo, se recomienda buscar la manera que no haga contacto con las paredes del fruto.

5. Escala utilizada para la cuantificación de la severidad

Aparentemente no existen otros estudios donde se haya hecho uso de una escala de valores para cuantificar las distintas combinaciones de síntomas que pueden aparecer durante el desarrollo de frutos infectados con M. royeri. El uso de la escala no solo facilitó la toma de información sino también permitió cuantificar el avance semanal de la enfermedad. La escala utilizada (0-10) abarcó prácticamente todas las situaciones que pueden presentarse en un fruto infectado con este hongo. Sin embargo, se considera que en futuros trabajos podría reducirse a 6 categorías, de 0 a 5, que corresponderían a: ausencia total de cualquier síntoma=0; puntos "aceitosos" o hidrosos y/o deformaciones ligeras=1; puntos aceitosos y/o deformaciones pronunciadas=2; presencia de necrosis=3; aparición de estroma=4; esporulación=5. Una escala como esta permitiría establecer más rápidamente las diferencias entre un grado y otro, lo que no es fácil en la escala de 0 a 10, donde las diferencias entre dos valores consecutivos después de 7 quedan parcialmente a juicio del observador; y requieren cierto detenimiento. Además, durante el desarrollo de la enfermedad debería dársele más importancia a ciertas manifestaciones, como por ejemplo, calificarse la aparición de necrosis con un valor fijo sin tener en cuenta, en este valor, los síntomas que antecedieron a la aparición de la misma, como son los puntos aceitosos, deformación y madurez desuniforme. Así mismo, calificar la presencia de estroma y esporulación con un valor fijo sin considerar la madurez ni la porción de la necrosis que presenta estos signos de la enfermedad, aunque la superficie cubierta por éstos podría estar influenciada por el cultivar, la distribución y presión

del inóculo. Al respecto, Merchán y Restrepo (29) destacan que a mayores concentraciones del inóculo, generalmente corresponden mayores porcentajes de área necrótica y que a esto se debe en parte, las variaciones en el porcentaje de área necrótica que presentan los frutos en condiciones naturales.

6. Sistema de ajuste para los datos de campo

El ajuste por repetición en cada cultivar, para contrarrestar diferencias de inóculo o ambiente entre materiales inoculados en épocas diferentes, puede parecer caprichoso o arbitrario. Pero al hacerlo en base a las etapas más severas del control ('Catongo'), se está simulando más lo que puede suceder en una zona cacaotera donde las condiciones ambientales normales para el cultivo son las que favorecen el desarrollo de la enfermedad. Al no incluir las etapas de menor severidad se hizo más drástico el ajuste, lo cual es preferible si se considera la naturaleza del trabajo. En este caso el error por exceso es mejor que el error por defecto, ya que este último llevaría a que un mayor número de materiales aparecieran como resistentes o tolerantes a la enfermedad. Se pudo notar que el ajuste en severidad externa podría haber sido demasiado drástico para algunos cultivares como el 'UF-613', 'EET-400' y 'SCA-12', llevándoles a una posición tal que en la prueba de Duncan (Cuadro 4), no difieren de otros que sí tuvieron un comportamiento muy susceptible a la enfermedad. Por otra parte, en el caso particular del 'UF-29' conocido como muy susceptible en condiciones de inóculo natural en zonas cacaoteras, se considera que el ajuste no bastó para llevarlo a la calificación externa esperada. Es de anotar en este caso que la severidad interna de sus frutos infectados sí correspondió a la susceptibilidad mostrada por el cultivar en otras áreas y bajo presión de inóculo natural.

7. Lectura a la 8a semana como punto crítico: correlación con la calificación promedio de las 11 lecturas.

La calificación del desarrollo de la enfermedad a la 8a semana después de la inoculación, relacionada estrechamente con la lectura promedio de 11 semanas tomadas a partir de la 5a ($r=0,96$), tiene gran importancia para posteriores trabajos de investigación por permitir la prueba de un mayor número de materiales, eliminar diferencias entre cultivares por efecto del

ambiente y permitir que se aprovechen para el análisis todos aquellos frutos atacados en las últimas semanas del desarrollo por otros patógenos, especialmente Phytophthora sp. Este aspecto del punto crítico y otros aclarados con la metodología, son muy importantes para continuar las pruebas de tantos otros materiales de la misma colección donde se realizó el estudio.

De acuerdo a lo observado en el campo, las lecturas alrededor de la 8a semana son las que aportan mayor información sobre el grado de ataque de la enfermedad ya que en ésta y la siguiente es cuando se cosecha el mayor número de frutos con esporulación, o por su maduración prematura. Esto resulta acorde con lo anotado por Rodríguez y Suárez (35) para mazorcas inoculadas entre 60 y 100 días de edad. Ellos consideran que en dos meses aproximadamente ocurre el proceso completo de desarrollo de síntomas. Por otra parte, si se realizara una única lectura en las últimas semanas, ésta no mostraría las diferencias que pueden observarse a la 8a o 9a semana; debido a que todos los frutos tienden a uniformizarse por descomposición del tejido, ya sea por la enfermedad o por saprófitos que aceleran su descomposición.

B. DESARROLLO DE LA ENFERMEDAD

1. Sintomatología a los 35 días

La aparición de los primeros síntomas (puntos aceitosos), estuvo influenciado por el cultivar, por el ambiente y por el inóculo. En general se considera que cinco semanas después de la inoculación son suficientes para iniciar ya lecturas cuando se quiere seguir el desarrollo de la enfermedad, ya que únicamente el 10 al 15% de los frutos mostraron los primeros síntomas en este tiempo; esto sin contar los perdidos por marchitamiento y en el que no se descarta un posible efecto del hongo M. royeri. Al respecto Suárez (44) anota que la marchitez y las deformaciones son los síntomas más sobresalientes en mazorcas inoculadas con menos de 100 días de edad.

El tiempo que dura el apareamiento de los primeros síntomas concuerda bastante con lo encontrado por Sotomayor (43), en Ecuador, en distintos cultivares inoculados artificialmente. Este investigador que utilizó, no obstante una concentración mucho mayor, anota que en su estudio fueron necesarios

34 días en promedio para que aparecieran los primeros síntomas, tiempo que varió desde 26 a 43 días en el 'ICS-6' e 'ICS-95' respectivamente.

En el presente trabajo debe destacarse el hecho de no haber sido muy común la deformación como primer síntoma, lo que indica que tal síntoma está muy relacionado con la edad. La infección en las primeras semanas de formación del fruto, debe ser necesaria para que aparezca este síntoma. Tampoco Sotomayor (43) encontró deformaciones al inocular frutos de 80 días, aunque Suárez (44) concluyó que este síntoma puede ocurrir en frutos inoculados hasta de 100 días de edad.

2. El agrietamiento del fruto como síntoma de la enfermedad

El no estar descrito hasta ahora el agrietamiento del fruto como una manifestación de la enfermedad y el hecho de haberse presentado sólo en algunos cultivares que mostraron diferencias entre sí en el campo, muestran que este agrietamiento es una reacción poco común, producto de las condiciones ambientales interactuando con el cultivar. El haber sido encontrado este síntoma también en condiciones naturales, muestra que la presión del inóculo quizás no influye mucho en esto, pues el inóculo natural en el área de estudio, es muy bajo.

3. Aparición y avance de los síntomas secundarios

La frecuencia de las lecturas permitió observar que la rapidez en aparecer la mancha necrótica y el avance de la misma, estaban muy influenciados por la concentración previa de puntos aceitosos, que al coalescer pronto forman la necrosis. También se observó que la presencia de la bolsa influyó en la formación del estroma y la posterior esporulación, así como en la distribución de estos signos sobre la necrosis. Esto fue más notorio cuando hubo lluvias frecuentes y temperaturas relativamente frescas en los días siguientes a la aparición de la necrosis. Esto podría no ser así en frutos infectados y no embolsados, ya que al estar expuestos al ambiente el exceso de humedad en la superficie de los mismos es mínimo o dura poco tiempo.

Algunos autores (1, 2, 37), al describir las etapas del desarrollo de la enfermedad, destacan la importancia de las condiciones ambientales y especialmente la humedad (2). Pero no se menciona explícitamente hasta qué punto

algunos factores ambientales pueden afectar el normal desarrollo de la necrosis y la posterior formación del estroma y la esporulación.

4. Limitaciones de tipo ambiental en el área de estudio para pruebas de resistencia a M. royeri

Condiciones ambientales no propicias al desarrollo de la enfermedad podrían llevar a enmascarar la verdadera susceptibilidad de algunos cultivares, pudiendo éstos presentarse como tolerantes e incluso resistentes. Es posible que las condiciones del área de estudio no sean las más favorables para la moniliasis. Sin embargo, cuando se trata de materiales donde no se sabe aun si hay diferencias de susceptibilidad, aunque sean pequeñas, un ambiente medianamente favorable a la enfermedad permite detectar diferencias, que por ser pequeñas, no se observarían en condiciones ambientales favorables.

Con las condiciones ambientales de Turrialba, donde se encuentra la colección de cacao, se corre el riesgo con algunos cultivares que enmascaren parcialmente su verdadera susceptibilidad, pero a la vez, se tiene la posibilidad de detectar algunos materiales promisorios que deberán ser probados posteriormente en otras condiciones ambientales. Así mismo, se hace posible descartar rápidamente gran cantidad de materiales que presentan alta susceptibilidad, mostrando incluso abundante esporulación, como ocurrió en muchos de los cultivares UF probados, en el 'Pound-7', 'CC-235', 'CC-9' y otros.

5. Observaciones sobre el desarrollo de la enfermedad en las diferentes épocas de inoculación

El comportamiento de la enfermedad varió con las épocas de inoculación. Esto puede notarse en la figura 5 que muestra la severidad externa semanal que presentó el control en las cuatro inoculaciones. Observaciones de campo en las distintas etapas de inoculación, sugieren que las lluvias frecuentes, una vez aparecida la necrosis, impiden y/o retrasan el normal desarrollo de signos de la enfermedad. Esto pudo deberse a que las lluvias frecuentes hicieron más críticas las condiciones de alta humedad dentro de la bolsa, como se anotó antes. En abril, el desarrollo de la enfermedad fue rápido hasta cuando apareció la necrosis en la mayoría de los frutos infec-

tados, pero luego aumentaron las lluvias y la formación de estromas fue mínimo; sólo el cultivar 'UF-650' mostró esporulación en aquellos frutos que primero presentaron necrosis. El cultivar 'CC-224' presentó necrosis abundante acompañada de madurez prematura en la mayoría de los frutos.

En la inoculación de junio se presentó alta incidencia en varios de los cultivares inoculados, incluyendo el control 'Catongo', pero el desarrollo fue más lento a través de las 11 semanas en que se tomó la información. Fue la etapa en que se perdieron más frutos por Phytophthora sp, y en esto pudo influir mucho el exceso de humedad dentro de las bolsas.

Contrario con lo ocurrido en las inoculaciones anteriores, la que se hizo en agosto mostró gran severidad y muchos frutos en varios cultivares esporularon abundantemente. Se considera que una ligera baja en las lluvias entre finales de setiembre y primera quincena de octubre influyó en la aparición de signos de la enfermedad. En este período la formación de estroma y esporulación ocurría en una semana o menos, e incluso algunos frutos que fueron registrados en una lectura sin necrosis, una semana después llegaron hasta la esporulación.

La última etapa de setiembre fue la menos severa, aunque también se presentó alta incidencia. Una vez más, las lluvias frecuentes e intensas propiciaron un ambiente demasiado húmedo en las bolsas plásticas, lo que muy posiblemente no favoreció la aparición de estroma y la esporulación. El avance de la enfermedad fue muy lento, muchos frutos permanecieron con los puntos aceitosos hasta presentarse solo en algunos el síntoma de madurez desuniforme y muchos otros llegaron a ser cosechados con madurez "normal", ya que la lesión no iba más allá del mesocarpo, permitiendo aprovechar la totalidad de las almendras. Al igual que en junio, se presentaron muchas pérdidas por Phytophthora sp en varios cultivares, principalmente en el 'CC-48' y 'UF-296', apesar de que en la literatura estos cultivares aparecen como resistente y tolerante respectivamente.

Estas diferencias observadas entre las distintas etapas de inoculación fueron bien marcadas también en el cultivar 'Catongo', utilizado como control permanente. Como ya se anotó, los valores obtenidos en el campo se ajustaron en base a las dos etapas más severas del control (abril y agosto), para

contrarrestar de este modo, las diferencias debidas a la época de inóculación.

C. CLASIFICACION RELATIVA DE LOS MATERIALES PROBADOS

Teniendo en cuenta la severidad externa e interna, la incidencia y algunas observaciones particularmente de campo, se da la siguiente clasificación que no es absoluta para todas las condiciones ambientales y de inóculo pero que reflejan la posición relativa del comportamiento de los cultivares probados, en una escala de menor a mayor susceptibilidad.

1. Resistentes

En las condiciones en las cuales se llevó a cabo este trabajo cuatro cultivares mostraron incidencia menor del 34%, además de muy baja severidad externa e interna y por ello se considera que estos materiales merecen considerarse promisorios. Estos cultivares fueron el 'CC-210', 'EET-59', 'EET-48' y 'CC-266' y no presentaron diferencias entre sí, según la prueba de Duncan (Cuadro 4).

'CC-210': Este cultivar ha sido poco estudiado hasta ahora, es auto-incompatible proveniente del 'SCA-12' por polinización abierta, de excelente producción según lo observado en el campo, y presenta floración y fructificación gran parte del año. Este cultivar presentó una severidad externa e interna de 0,45 y 1,10 respectivamente y una incidencia de 19,2% (Cuadro 4). Muestra un lento desarrollo externo de la enfermedad, aunque internamente los frutos infectados se descomponen con rapidez, permaneciendo el mesocarpio en buen estado lo que sugiere una posible resistencia del mismo; el endocarpio o cavidad interna sí es muy afectado en los frutos que son atacados por la enfermedad en este cultivar. Además todos los frutos enfermos presentan un aspecto más bien seco y con almendras bien formadas pero no utilizables. De acuerdo a los resultados de este estudio, no sólo debe evaluarse su comportamiento ante otros problemas fitosanitarios, sino también incluirlos en otros trabajos de mejoramiento y continuar las pruebas de resistencia a moniliasis en áreas con otras condiciones ambientales y de presión de inóculo.

'EET-59': Es un cultivar autocompatible, excelente productor, con resistencia a Phytophthora sp y por esto se le utiliza en los programas de producción de semilla híbrida. Por su comportamiento en este primer estudio, debe formar parte del material considerado promisorio para continuar estudios de esta índole.

'EET-48': Este cultivar que está clasificado por Soria y Enríquez (39) como susceptible, presentó muchas pérdidas por marchitamiento fisiológico lo que pudo influir en los resultados finales de baja incidencia y severidad, pues no se descarta un efecto del inóculo en el marchitamiento de frutos. En Ecuador (35) este cultivar ha presentado porcentajes de incidencia hasta de 76% bajo condiciones de inóculo natural en regiones favorables al desarrollo de la enfermedad, pero no se menciona el grado de descomposición que presentaron los frutos infectados. Por su utilización en programas de producción de semilla, gracias a su productividad y tolerancia a Ceratocystis (no ha sido probado contra Phytophthora), se debe probar, con la misma metodología pero en diferentes condiciones ambientales.

'CC-266': Un cultivar de origen desconocido al que no se le han hecho otros estudios de comportamiento a otras enfermedades ni de producción. Por lo observado en el campo durante el año en que se realizó el estudio es un cultivar de buena producción, con tendencia a florecer gran parte del año en las condiciones de Túrialba. Muchos de los frutos inoculados en este cultivar presentaron superficialmente, como especies de pequeñas quemazones aisladas y en número variable; estas lesiones no se extendían ni profundizaban, manteniéndose sano el tejido por debajo de la epidermis. Estas lesiones pudieron influir para que en las últimas semanas se presentaran muchas pérdidas por Phytophthora, por facilitar posiblemente la penetración de este hongo. Se recomienda mayor atención a este detalle para futuras pruebas con este cultivar, ya que las pérdidas ocurridas por Phytophthora dejaron alguna duda sobre su baja incidencia, debido a que dificultaron la identificación de los síntomas de la Monilia. Igual que los anteriores, este cultivar debe considerarse promisorio para continuar otros estudios.

2. Tolerantes o de reacción mixta

Como se observa en el cuadro 4, hubo varios cultivares que mostraron

resistencia en algunos de los aspectos medidos, pero no en otros. Se incluyen aquí como mejores por su baja severidad interna los cultivares 'EET-400' (1,26), 'UF-613' (1,30), 'SPA-11' (2,43) y 'SPA-9' (2,51); por su incidencia mediana (57,1%) y su reacción interna relativamente baja (2,50) se incluye en este grupo el 'EET-338'; por su incidencia mediana (53,6%) y baja severidad externa (2,67) el cultivar 'EET-397'. También por su incidencia (36,4%) y severidad externa baja (2,0), el cultivar 'UF-11'.

Es importante destacar en este grupo el comportamiento de los cultivares 'EET-400' y 'UF-613', muy utilizados en la producción de semilla híbrida. Estos cultivares presentaron muy baja severidad interna, permitiendo aprovechar total o parcialmente muchos de los frutos infectados, además de aquellos que escaparon a la infección. El 'UF-613', que no llegó a esporular, es de los mejores para la producción de semilla híbrida por su buena habilidad combinatoria general, por presentar en la descendencia buena producción y resistencia a Phytophthora y tolerancia a Ceratocystis fimbriata. Se recomienda continuar estudios con este cultivar para conocer mejor su comportamiento ante esta enfermedad.

El 'EET-400' se utiliza en la producción de semilla por su buena habilidad combinatoria, altos rendimientos, amplia adaptación, resistencia a Ceratocystis y por su resistencia inicial a Crinipellis pernicioso (Escoba de bruja). Tuvo como el anterior un comportamiento medio, no obstante los síntomas iniciales fueron más notorios en número y tamaño que en el 'UF-613'. La coloración roja oscura de este último pudo dificultar la observación clara de esos síntomas incipientes. Este cultivar, el 'EET-400', bajo condiciones de inóculo natural en Ecuador (35), ha presentado un comportamiento variable en cuanto a su incidencia, siendo hasta de 76% en regiones favorables a la enfermedad, pero de sólo 4,43% en otras. Es importante entonces estudiar mejor su comportamiento en otras áreas pero considerando ambos aspectos: incidencia y severidad, tanto externa como interna.

'SPA-9' y 'SPA-11': Estos cultivares tuvieron un comportamiento muy similar, con poco desarrollo del estroma y la esporulación, no obstante haber sido inoculados dos repeticiones en agosto, cuando se presentó mayor esporulación en los otros materiales.

'EET-338': Tuvo muchas pérdidas por marchitamiento y se considera que

de no haber sido así la incidencia posiblemente hubiera aumentado; la severidad externa no fue alta y la formación de estroma fue mínima en los frutos que escaparon al marchitamiento y que presentaron síntomas de la enfermedad.

'UF-11': En algunos frutos considerablemente más afectados presentó agrietamiento. Debido a la baja incidencia de frutos enfermos, se considera que no debe ser descartado en otros estudios. Muchos frutos no se infectaron, pero aquellos en que sí hubo infección la severidad interna fue alta.

3. Moderadamente susceptibles

Pueden presentarse de esta manera los cultivares 'SCA-6', 'CC-144', 'CC-182' y 'Catongo'. Hay que destacar algunos aspectos en este grupo, así: la incidencia del 'SCA-6' (51%), es contradictoria a lo encontrado por Rodríguez y Suárez (35) y Sotomayor (43), quienes obtuvieron el 100% de incidencia, con concentraciones mayores de inóculo. También en Ecuador, bajo presión de inóculo natural, se ha considerado el 'SCA-6' más susceptible que el 'SCA-12' (13, 31) lo cual no resultó ser así en este estudio. El 'SCA-6' de moderada incidencia tuvo una severidad externa menor (2,99) que 'SCA-12', (4,10), siendo significativamente diferentes según la prueba de Duncan (Cuadro 4). Internamente estuvo igualmente afectado, con tendencia a mostrar frutos de consistencia acuosa o hidrosis. Quedan aquí algunas dudas respecto con este cultivar que es utilizado en la producción de semilla por su alta habilidad combinatoria general y por su resistencia a Phytophthora y tolerancia a Ceratocystis; además porque anteriormente fue resistente a Crinipellis pernicioso. Por las diferencias entre estos cultivares y que no concuerdan con los obtenidos por otros autores (13,31) se recomienda confirmar estos resultados.

'CC-182' y 'CC-144'. Dos cultivares de un comportamiento intermedio, por la severidad externa en el primero e interna en el segundo, en el que hubo poca esporulación. El primero fue inoculado en una época en que la enfermedad mostró, en general, alta severidad; por esto se destaca su comportamiento que lo ubica en el grupo de los que tuvieron menor severidad externa (2,06), según la prueba de Duncan (Cuadro 4).

'Catongo': Este cultivar fue inoculado en cuatro épocas diferentes durante el tiempo en que se realizó el trabajo. Aunque se tomó para la calificación promedia definitiva sólo las dos etapas más severas, su susceptibilidad (2,73 y 2,92) externa e interna respectivamente, puede considerarse media, si se compara con aquéllos más susceptibles que tuvieron una calificación promedia externa mayor de 4,50 e interna mayor de 4,00 (Cuadro 4). Además con una incidencia de 76%, se pudo cosechar varios frutos que escaparon a la infección. Esto puede ser importante en áreas con baja presión de inóculo.

4. Susceptibles

Se incluyen en esta categoría los siguientes cultivares: 'CC-211', 'CC-224', 'UF-672', 'UF-701', 'SCA-12' y 'CATIE-1000'.

'CC-211': Inoculado en dos épocas diferentes (2 repeticiones en junio y 2 en agosto). Muchos frutos mostraron externamente sólo puntos aceitosos, y pronto apareció en esta área una madurez irregular que en ocasiones se extendió considerablemente hasta cubrir gran parte de la superficie del fruto. Presentó incidencia del 81% (Cuadro 4), se infectó mucho internamente y tuvo tendencia a mostrar frutos hidrosos o acuosos. El mesocarpio de muchos frutos se afectó tanto como la cavidad interna, pero no siempre apareció necrosis externa en todos los frutos infectados.

'CC-224': Aunque inoculado en época diferente (abril), tuvo un comportamiento interno muy paralelo al cultivar anterior, excepto que la necrosis y madurez irregular fueron más pronunciadas. En la época en que aparecieron las manchas necróticas se presentaron lluvias frecuentes que pudieron influir en la falta de esporulación.

'UF-701': Este cultivar aunque mostró alta incidencia y severidad externa, no fue tan afectado internamente, permitiendo cosechar algunos frutos con almendras aprovechables.

'SCA-12': Cultivar utilizado como padre en la producción de semilla híbrida, por su habilidad combinatoria general, resistencia a Phytophthora, tolerante a Ceratocystis y resistencia a Crinipellis pernicioso (Escoba de bruja). Este cultivar presentó alta severidad externa e interna aunque muy poca esporulación, posiblemente influenciado por las condiciones de alta

humedad dentro de la bolsa que no favorecieron la formación de estroma. Su incidencia del 70% sugiere que este cultivar puede ser importante en zonas de baja presión de inóculo. Para este cultivar Rodríguez y Suárez (35) en Ecuador, tuvieron una incidencia del 63% inoculando con una concentración mayor; sin embargo no mencionan el grado de descomposición que presentaron los frutos infectados.

'CATIE-1000': Es un material excelente productor, según lo observado en el campo. Presentó en dos repeticiones, alta severidad con las inoculaciones de agosto, pero no en las de setiembre; que fue cuando la enfermedad permaneció mas en el mesocarpio sin afectar mucho la cavidad interna de la mayoría de los frutos. No hay estudios sobre su comportamiento ante otras enfermedades como Phytophthora y Ceratocystis, pero de llegar a mostrar resistencia o tolerancia a las mismas, podría constituirse en un material de importancia en regiones de baja presión de inóculo y siempre que se de un buen manejo sanitario.

'CC-18': Este cultivar se utiliza en la producción de semilla por su habilidad combinatoria específica. Presentó muchas pérdidas por marchitamiento. Muchos de los frutos infectados presentaban hidrosis interna al momento de ser cosechados, incluso con una severidad externa relativamente baja. En algunos frutos se podía aprovechar parte de las almendras al no ser afectada totalmente la cavidad interna.

5. Muy susceptibles

Se incluyen en este grupo cultivares que mostraron alta severidad externa e interna y alta incidencia y abundante esporulación, son estos:

'UF-677', 'UF-667', 'UF-650', 'Pound-7', 'SGU-69' y 'UF-29'.

Los cultivares 'UF-667', 'UF-677', 'UF-650', 'UF-654' y 'UF-29' son utilizados en programas de producción de semilla por presentar una o varias de estas características: alta producción, autocompatibilidad y habilidad combinatoria. Sin embargo, por ser también susceptibles a Phytophthora y Ceratocystis (el 'UF-29' escapa a la última en condiciones de campo), se considera que deberían descartarse de tales programas hasta tanto no se conozca su comportamiento cuando son cruzados con otros, que presenten alguna tolerancia o resistencia a la moniliasis.

El cultivar 'Pound-7' por su buena productividad, su buena habilidad combinatoria general y su tolerancia a Phytophthora y Ceratocystis, podría ser utilizado en la producción de semilla, pero con ciertas limitaciones dada la gran susceptibilidad que mostró a moniliasis. Esto será más importante tenerlo en cuenta en regiones con alta presión de inóculo o donde el ambiente sea favorable al desarrollo de la enfermedad.

6. Cultivares excluidos del análisis

Los siguientes cultivares no pudieron ser analizados por perderse una o más repeticiones especialmente debido al ataque de Phytophthora; ellos son: 'UF-296', 'UF-713', 'CC-264' (perdió también muchos frutos por marchitamiento), 'CC-48', 'IMC-67' (tuvo también pérdidas considerables por marchitamiento), 'Pound-12' y 'Diamante-800'. Aunque se descartaron en el análisis, algunos de ellos mostraron muy baja severidad e incidencia en los frutos que escaparon a Phytophthora, como fue el 'UF-713', 'CC-264', 'IMC-67' y 'UF-296'. Especialmente este último, que perdió las 2 repeticiones de setiembre, mostró muy baja severidad externa en las otras 2 inoculaciones en agosto, que fue cuando hubo abundante esporulación en la mayoría de los cultivares inoculados. Sin embargo al partir algunos de esos frutos con síntomas incipientes, ya estaban muy afectados internamente y presentaban un aspecto más bien seco. Sería importante probar este cultivar para ver su real comportamiento ante la enfermedad. Es importante anotar que de los cultivares que tuvieron pérdidas por Phytophthora, el más afectado fue el 'CC-48' que perdió el 100% de los frutos inoculados, además de muchos otros frutos que no habían sido seleccionados para la prueba.

Por último, hay que aclarar que la discusión de resultados, incluyendo la clasificación relativa de los materiales probados, se hizo bajo el supuesto que no existen razas del hongo, pues de ser así algunas diferencias podrían tener explicación en esto. Así mismo se consideró que el hongo mantiene su virulencia al ser transferido en medio artificial ya que se controló la edad de los conidios (9 a 15 días) pero no el número de réplicas provenientes de un mismo aislamiento.

V. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados del presente estudio, se concluye lo siguiente:

1. Hay diferencias en la susceptibilidad a Monilia roreri entre muchos cultivares de la especie Theobroma cacao, lo cual muestra la existencia en esta especie de una o varias fuentes de resistencia a este hongo; esto lleva a aceptar la hipótesis original planteada.

2. La inoculación de frutos de 60 días mediante atomización con una suspensión de 10^5 conidios/ml en Tween-80 al 0,01%, es un método efectivo que lleva a altos porcentajes de infección en cultivares muy susceptibles, pero que permite, bajo las condiciones de Turrialba, establecer diferencias entre cultivares, afectando muy poco a aquellos con alguna resistencia.

3. El mantenimiento de la bolsa plástica en frutos inoculados con Monilia podría interferir con el normal desarrollo de signos de la enfermedad, y estos son muy importantes cuando se está evaluando susceptibilidad en base a incidencia y severidad.

4. El uso de una escala para calificar severidad externa en frutos atacados por moniliasis, ayuda a evaluar objetivamente las diferentes combinaciones de síntomas que pueden presentarse, permitiendo cuantificar posibles diferencias entre distintos cultivares y facilitando además la toma de información.

5. La cuantificación del grado de descomposición interna de los frutos infectados en cada cultivar es importante cuando se quiere caracterizar diferencias de susceptibilidad a Monilia roreri, ya que puede haber susceptibilidad externa y resistencia interna, o viceversa.

6. De acuerdo a la metodología utilizada y al ambiente en que se realizó el estudio, una sola lectura de severidad externa e interna, a la 8a y 9a semana, permite detectar diferencias esencialmente definitivas entre distintos materiales inoculados, al correlacionar estrechamente con el promedio de 11 lecturas semanales.

7. Aunque el ambiente en el que se realizó el estudio tiene limitantes para este tipo de pruebas, por posible encubrimiento de la verdadera susceptibilidad de algunos cultivares y por la incidencia de Phytophthora sp,

sin embargo permite detectar diferencias que posiblemente no se manifestarían en otros ambientes netamente favorables a la enfermedad.

8. Dado que al aumentar la presión de inóculo aumentó la susceptibilidad de algunos de los materiales evaluados, estas pruebas deben repetirse, bajo condiciones más severas, en áreas típicamente cacaoteras.

9. Los cultivares 'CC-210', 'EET-59', 'EET-48', 'CC-266' y 'UF-613', entre otros, constituyen materiales promisorios con los cuales se deben continuar estudios para tratar de introducir cierto grado de resistencia como una nueva medida de combate que, como complemento a la remoción de frutos enfermos principalmente, haga más eficiente la lucha contra la moniliasis.

10. Como el número de cultivares promisorios encontrados es aún bajo, se debe continuar estos estudios en lo posible, en tantos otros materiales de la colección del CATIE, para seleccionar un grupo de buen comportamiento agronómico y reacción aceptable ante la enfermedad, para probarlo luego en otros ambientes y bajo distinta presión de inóculo.

VI. BIBLIOGRAFIA

1. AMPUERO, E. *Monilia* pod rot of cocoa. *Cocoa Growers' Bulletin* 9:1518. 1967.
2. BARROS N., O. Investigaciones sobre el hongo *Monilia roreri* Cif. and Par., causante de la pudrición acuosa de la mazorca del cacao: sus daños y su control. *El Cacaotero Colombiano* 3:42-52. 1977.
3. _____. Valor de las prácticas culturales como método para reducir la incidencia de *Monilia* en plantaciones de cacao. *Agricultura Tropical (Colombia)* 22:605-612. 1966.
4. _____ y SANCHEZ L, J. A. Un método de aislamiento del hongo *Monilia roreri* Cif. y Par. *El Cacaotero Colombiano* 11:27-40. 1979.
5. BARTLEY B., G. D. Observations on the reaction of young cacao seedlings to artificial inoculation by *Marasmius perniciosus* Stahel. In Conferencia Interamericana de cacao, 7ª. Palmira Colombia, 1958. Informe. Bogotá, División de Investigaciones Agropecuarias, 1958. pp. 104-117.
6. BASTIDAS, A. Patogenicidad de *Monilia* sp. en *Theobroma cacao* L. *Cacao en Colombia* 2:139-153. 1953.
7. BEJARANO V., G. Método de inoculación artificial y factores favorables para la infección de *Monilia roreri*. Tesis Ing. Agr. Quito, Ecuador, Universidad Central. 1961. 69 p.
8. CRONSHAW, K., RODRIGUEZ, M. y ARAGUNDI, J. Progresos en las investigaciones sobre las principales enfermedades del cacao en el Ecuador. Pichilingue, Ecuador, INIAP, 1977. 8 p.
9. CUBILLOS A., G. y ARANZAZU H., F. Comparación de tres frecuencias de remoción de frutos enfermos en el control de *Monilia roreri* Cif. y Par. *El Cacaotero Colombiano* 8:27-34. 1979.
10. DELGADO A., J. C. Estudio de la resistencia del cacao al mal del machete producido por *Ceratocystis fimbriata* Ellis y Halsted. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, 1964. 42 p.
11. _____ y AMPUERO, E. Investigaciones que se efectúan actualmente en la Estación Experimental Pichilingue en el combate de las principales enfermedades del cacao. In Reunión del Grupo Técnico de Trabajo de la FAO sobre Producción y Protección del Cacao, 2a., Roma; Italia, 1966. Documentos Presentados. Roma, 1966. 4 p. (Doc. CA 66/22).

12. DELGADO A., J. C. y ECHANDI, E. Evaluación de la resistencia de especies y clones de cacao al mal del machete provocado por Ceratocystis fimbriata. Turrialba 15(4):286-289. 1965.
13. _____, AMPUERO, E. y DOAK, K. D. Posible evidencia de resistencia a la Monilia roleri Cif. y Par. en algunos clones de la Estación Experimental Tropical de Pichilingue. In Inter-American Cocoa Conference, 8th., Trinidad and Tobago, 1960. Proceedings. Trinidad, Government Press, 1960. pp. 184-192.
14. DESROSIERS, R. y DIAZ M., J. Efecto de diversos fungicidas en el combate de la podredumbre de las mazorcas causada por Monilia. Agricultura Tropical (Colombia) 11(9):759-763. 1955.
15. _____ y SUAREZ, C. Monilia pod rot of Cacao. In Gregory, P. H. Phytophthora Disease of Cocoa. London, Longman Group, 1974. pp. 273-277.
16. DIAZ M., J. Observaciones sobre la incidencia de Monilia del cacao en Ecuador. Turrialba 7(4):95-99. 1957.
17. ENGELS, J. M. M. Genetic Resources of Cacao a Catalogue of the CATIE Collection. Tropical Agricultural Research and Training Center, CATIE, Plant Genetic Resources Unit. Technical Bulletin No. 7. 1981. 191 p.
18. ENRIQUEZ, G. A. Mejoramiento en cacao (Theobroma cacao L.). Turrialba, Costa Rica. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Programa de Plantas Perennes, 1980. 17 p.
19. _____. La moniliasis irrumpe en las zonas cacaoteras en Costa Rica. Actualidades en Turrialba 9:8-9. 1981.
20. _____, SALAZAR, G. y PAREDES, L. A. Monilia, una nueva enfermedad que afecta el cacao de Costa Rica en la zona de Cahuita. Turrialba, Costa Rica, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Programa de Plantas Perennes, 1979. 9 p.
21. _____ y SORIA V., J. Catálogo de cultivares de cacao. Turrialba, Costa Rica. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, 1967.
22. _____ y SUAREZ, C. Monilia disease of cacao in Costa Rica. Turrialba 28(4):339-340. 1978.
23. ESQUIVEL J., O. Estudios sobre la reacción de resistencia de algunos cultivares de cacao, Theobroma cacao L., a la pudrición de frutos causada por Phytophthora palmivora Butl. en la región Atlántica de Costa Rica. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, 1973. 106 p.

24. GARDELLA, D. S. Reaction of cocoa clones and hybrids to Ceratocystis fimbriata and inheritance of resistance. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, 1980, 55 p.
25. _____ y ENRIQUEZ, G. A. Implicaciones de las pruebas para detectar resistencia a Ceratocystis fimbriata en cacao. Turrialba, Costa Rica, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Programa de Plantas Perennes, 1981. 9 p.
26. _____, _____ y SAUNDERS, J. L. Inheritance of clonal resistance to Ceratocystis fimbriata in cacao hybrids. Turrialba, Costa Rica, Tropical Agricultural Research and Training Center, Perennial Plants Program, 1981. 13 p.
27. HANSEN, A. J. Resistencia y susceptibilidad de tipos de cacao a Phytophthora palmivora. Cacao (Costa Rica) 5(1) 13-14. 1960. 6(3):9-10. 1961.
28. LAWRENCE, J. S. Seleçao para resistencia a Phytophthora palmivora em cultivares de cacau da coleçao do CATIE, Costa Rica. Revista Theobroma 8(4):125-131. 1978.
29. MERCHAN, V. y RESTREPO, A. Calibración de un método de inoculación con Moniliophthora roreri. Informe anual de actividades 1979B 1980A. Bogotá, Instituto Colombiano Agrícola, ICA, 1980. 37 p.
30. ORELLANA, R. G. La moniliasis y otras enfermedades del cacao en el este de Panamá. Boletín Fitosanitario de la FAO 4(11):168-169. 1956.
31. QUITO. INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS. Informe 1964. Quito, Ecuador, 1964. pp. 118-122.
32. _____. Informe 1968. Quito, Ecuador, 1968. pp. 96-101.
33. _____. Informe Técnico 1972. Quito, Ecuador, 1972. pp. 106-109.
34. ROCHA, H. M. La importancia de las sustancias polifenólicas en el mecanismo fisiológico de la resistencia del cacao (Theobroma cacao L.) a Phytophthora palmivora (Butl.) Butl. Tesis Mag. Sc. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, Turrialba Costa Rica, 1966. 45 p.
35. RODRIGUEZ, M. y SUAREZ, C. Avances en la investigación sobre Monilia roreri del cacao en Ecuador. Guayaquil, Ecuador, 1973.
36. RORER, J. B. Ecuador cacao. Tropical Agriculture (Trinidad) 3(4):68-69 (Concl.). 1926.

37. RORER, J. B. Enfermedades y plagas del cacao en el Ecuador y métodos modernos apropiados al cultivo del cacao. Trad. por A. Pachano. Guayaquil, Ecuador, Asociación de Agricultores, 1918. pp. 17-40.
38. SEPULVEDA, R. Biología del Mecistorhinus tripterus F. (Hemíptero Pentatomidae) y su posible influencia en la transmisión de la moniliasis del cacao. Cacao en Colombia 4:15-42. 1955.
39. SORIA V., J. y ENRIQUEZ, G. A. ed. International Cacao Cultivar Catalogue. Tropical Agricultural Research and Training Center, CATIE, Perennial Plant Program. Technical Bulletin No. 6 1981. 156 p.
40. _____ y ESQUIVEL, O. Niveles de infección de Phytophthora palmivora sobre cultivares de cacao en condiciones de campo. Fitotecnia Latinoamericana 3(1, 2):119-124. 1966.
41. _____ y _____. Comparación de plantas de estacas, de injertos y de semillas de seis clones UF (Turrialba N°1). Cacao (Costa Rica) 9(3):5. 1964.
42. _____ y SALAZAR, G. Pruebas preliminares de resistencia a Ceratocystis fimbriata en clones e híbridos de cacao. Turrialba 15(4):290-295. 1965.
43. SOTOMAYOR, F. Estudios preliminares sobre la resistencia de algunos clones de cacao a la moniliasis provocada por la inoculación artificial. Tesis Ing. Agr. Guayaquil, Ecuador, Universidad de Guayaquil, 1965. 56 p.
44. SUAREZ, C. Estudio del mecanismo de penetración y del proceso de infección de Monilia roreri Cif. and Par. en frutos de cacao (Theobroma cacao L.). Tesis Ing. Agr. Guayaquil, Ecuador, Universidad de Guayaquil, 1971. 54 p.
45. TOSI, J. Capacidad de uso de la tierra determinada por las condiciones del clima, fisiografía y suelos en la parte noreste de la zona de Guanacaste, Costa Rica. San José, Instituto de Tierras y Colonización, 1967. 77 p.
46. TOXOPEUS, H. The second Nigeria Cacao Breeding Programme. In Conferencia Internacional de Pesquisas em Cacau, 2ª, Salvador e Itabuna, 1967. Memórias, Bahía, CEPLAC, 1969. pp. 129-132.