

6. PEREIRA, J.L. 1987. Cocoa and its pathogens in the region of origin: a continued risk. In Workshop on assessment of plant protection risks for cocoa. Lembang, (Indonesia).
7. STAHEL, G. 1915. *Marasmius perniciosus* nov spec. Bull. Dep. Landb. Suriname 33:1-26.
8. Went, F.A.F.C. 1904. Krulloten en versteende vruchten van de cacao in Suriname. Verhandelingen der K. akademie van wetenschappen Amsterdam. p. 1-40.

Metodología para Evaluar la Susceptibilidad a Moniliasis en Cultivares de Cacao (*Theobroma cacao*)¹

J.A. Sánchez*, L.C. González**

ABSTRACT

Methodology is described for use in evaluation of susceptibility to moniliasis in cacao (*Theobroma cacao* L.), in Turrialba (22.5°C–87% RH), Costa Rica, with investigators using fruits representative of varieties R-2, R-8, ISH-792, Diamante-800, UF-701 and CATIE-1000 that ranged in age from two to three months. Inoculum solution in concentrations of 0, 10⁴, 10⁵, and 10⁶ spores/ml (spores with age of 9 to 15 days) was applied to fruits using a DeVilbiss Sprayer Model No. 15, as well as with cotton swabtype applicators. Subsequent to inoculation, cacao fruits were protected in clear plastic bags perforated for respiration. Data collection began after 24 days, with readings taken on a weekly basis thereafter until fruits reached maturity or until onset of sporulation. External damage was rated on a scale of 1 to 10, while a scale of 0 to 5 was employed to rate the percentage of internal tissue damage. It was determined that a critical point in damage to the fruit occurs between weeks eight and nine, allowing determination ($r = 0.96$) of possible susceptibility to moniliasis in a single reading. Best results were obtained using those fruits inoculated at 60 days using a spray-applied inoculum in concentration of 10⁵ spores/ml.

INTRODUCCION

La moniliasis del cacao causada por el hongo *Moniliophthora roreri* (Cif. y Par.) Evans hizo su aparición en Ecuador en 1916; posteriormente se extendió a Colombia donde causa pérdidas hasta el 40% en promedio (2). También, se encuentra

COMPENDIO

En Turrialba (22.5°C – 87% RH), Costa Rica, se desarrolló una metodología para evaluar la susceptibilidad de cultivares de cacao a la moniliasis (*Moniliophthora roreri*). En el estudio, se emplearon frutos de dos a tres meses de edad, de los cultivares R-2, R-8, TSH-792, Diamante-800, UF-701, y CATIE-1000. Se evaluaron las concentraciones de 0, 10⁴, 10⁵ y 10⁶ conidios/ml, los cuales tenían de nueve a 15 días de edad. Se aplicó el inóculo por medio de un atomizador DeVilbiss No. 15 y también, por medio de un pedazo de algodón que se sumergió en la suspensión. Los frutos se cubrieron con una bolsa plástica transparente y perforada en su base. Se inició la toma de los datos a los 24 días y se continuaron las lecturas, una vez por semana, hasta la cosecha o esporulación. Para calificar la severidad externa se empleó una escala de 0 a 10, según fue el tipo de síntoma; para la interna, según el porcentaje de tejido interno dañado; para este caso, se empleó una escala de 0 a 5. Con base en los resultados obtenidos, la concentración de 10⁵, cuando se utilizó el método de la aspersión sobre frutos de 60 días, permitió detectar diferencias de susceptibilidad entre los cultivares. Se estableció que las severidades registradas entre la 8 y 9a semanas produjeron un 'punto crítico' suficiente para estimar, como única lectura, los posibles resultados ($r = 0.96$).

en parte de Venezuela y Panamá (1, 2). A fines de 1978, la enfermedad se encontró en Costa Rica y en menos de dos años se extendió a todas las plantaciones de la Costa Atlántica y actualmente se encuentra en plantaciones del Pacífico Sur y del Norte, en límites con Nicaragua. Para el año 1980, la enfermedad causó bajas en la producción de Costa Rica aproximadamente en un 60%. Así, la moniliasis se ha constituido en una seria amenaza para América Central en donde existen cerca de 32 430 hectáreas de cacao(8)

La enfermedad puede atacar en cualquier estado del desarrollo del fruto pero éstos son más susceptibles en los primeros estados (1, 14). La sintomatología

¹ Recibido para publicación el 20 de diciembre de 1988

* Programa de Plantas Perennes, CATIE, Turrialba, Costa Rica Dirección Actual: Fundación Hondureña de Investigación Agrícola, FHIA, Apartado Postal 2067, San Pedro Sula, Honduras, C.A.

** Laboratorio de Fitopatología, Facultad de Agronomía, UCR, San Pedro de Montes de Oca, Costa Rica.

gia varía con la edad y así, en frutos hasta de tres meses, se presentan deformaciones o especies de "jibas" acompañadas de una decoloración de aspecto brillante. Estos frutos no llegan a su completo desarrollo y al momificarse permanecen adheridos al árbol (2) y algunos llegan a desarrollar estromas y esporulación abundante. En frutos "adultos" (más de tres meses), aparecen especies de "puntos aceitosos" o hidrosos que coalescen con mayor o menor rapidez dependiendo de la concentración de los mismos y de la susceptibilidad del cultivar. Al coalescer, estos puntos originan manchas pardas o de color chocolate, de borde difuso al principio pero cuando la mancha envejece, aparecen los bordes bien definidos. Más tarde, se observa sobre esta mancha un estroma blanco que pronto se torna color crema cuando empiezan a formarse los conidios (2). A veces, aparecen frutos que aparentemente están sanos y muestran sólo madurez desuniforme contrastando áreas verdes con otras maduras; al cosechar estos frutos sólo pueden distinguirse de los sanos porque generalmente son más pesados que los normales; al partirlos puede verse la infección interna y casi siempre presentan una consistencia acuosa o hidrosa, con almendras no bien formadas o si se han formado, serán inservibles por la infección (2).

El combate de la enfermedad ha sido más eficiente y económico por remoción de frutos enfermos y otras prácticas culturales (7, 9); en cambio, los resultados con productos químicos no han sido consistentes y la mayoría de las veces resultan antieconómicos (4, 11). La posibilidad de encontrar resistencia, como otra medida de combate, ha sido poco estudiada aunque ya desde 1918 Rorer (12), sugería esta posibilidad al observar que el cacao Nacional era menos susceptible que la variedad Venezuela. Sin embargo, no se adelantaron trabajos al respecto hasta la década del 60, cuando en Ecuador empezaron a llevar registros de producción y de infección natural, para determinar si algunos materiales eran menos infectados que otros (3). Se encontraron algunos cultivares promisorios pero su comportamiento no fue el mismo cuando se les plantaba en otras áreas en donde las condiciones ambientales eran más favorables al desarrollo de la enfermedad y la presión del inóculo era mayor (3). Aunque los resultados no fueron consistentes, sí sugerían posibles diferencias en la susceptibilidad de algunos cultivares. En 1965, Sotomayor (13) realizó en Ecuador un estudio con inoculación artificial tratando de encontrar alguna resistencia en varios cultivares. Para ello, inoculó por aspersión frutos de 80 días con una suspensión de conidios a 7 a 12 días de edad y a una concentración de 35×10^6 conidios/ml, aproximadamente. Teniendo en cuenta sólo el porcentaje de frutos enfermos (incidencia), no encontró diferencias y lo atribuyó a la alta concentración del inóculo.

También, con la metodología utilizada por Sotomayor (13) pero con una concentración de 25×10^4 conidios/ml, Rodríguez y Suárez (11) probaron cultivares en Pichilingue, Ecuador. Tampoco encontraron diferencias en los materiales inoculados pues el parámetro medido fue la incidencia (%) y éste fue alto en la mayoría de los casos. Estos autores (11) consideraron que la concentración utilizada aún podía ser alta y que a esto se debió los altos porcentajes de infección. Sin embargo, anotan que, en varios cultivares, más del 30% de los frutos inoculados no se infectaron y destacan el 'EET-233' con sólo 16% de frutos enfermos, los que no se descompusieron como en otros cultivares.

En sus estudios para la calibración de un método de inoculación con *Monilia*, Merchán y Restrepo (10) 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 (10), estas longitudes llevan adheridos aproximadamente 546×10^3 , 273×10^3 , 103×10^3 y 36×10^3 conidios, respectivamente. Este inóculo lo aplicaron liberándolo sobre un surco del fruto mediante aspersión de agua destilada con un atomizador manual DeVilbiss y redistribuyendo, a lo largo del surco, las gotas que se forman en el ápice del fruto. En todos los casos, obtuvieron altos porcentajes de infección y las dosis más altas llevaron a una pérdida total de las almendras.

Evans (6), para probar la viabilidad de esporas de *Monilia*, inoculó frutos de 30 a 40 días de edad utilizando una mota de algodón sumergida en una suspensión de esporas y obtuvo un 92% de incidencia. Según Cronshaw, citado por Evans (6), concentraciones de inóculo (muy bajas: 10 conidios/mazorca) producían sólo una infección leve; 100 conidios/mazorca infectaban hasta un 60% y concentraciones mayores (> 100) afectaban todas las mazorcas con presencia de deformación en las mismas. Resalta este autor la necesidad de realizar más estudios para establecer si la expresión de síntomas y la invasión del tejido por el hongo (severidad) están relacionados con la concentración de inóculo y que este factor es más importante si se quiere probar resistencia al patógeno.

Enríquez, Salazar y Paredes (5), en Costa Rica, al tratar de reproducir los síntomas de la enfermedad, inocularon frutos de distinta edad inyectando una suspensión de conidios de concentración no determinada. A los 16 días después de la inoculación, algunos frutos presentaban signos de la enfermedad.

Como se observa, en los pocos trabajos que se han realizado con infección natural y artificial, se ha tenido en cuenta sólo la incidencia de frutos infectados.

Aunque todos los cultivares pueden presentar altos porcentajes de infección, el grado de descomposición de los frutos y la rapidez en el desarrollo de la enfermedad son parámetros muy importantes cuando se quieren evaluar diferencias de susceptibilidad entre materiales. Este factor no se ha considerado en los trabajos realizados hasta ahora, aunque Rodríguez y Suárez (11) sí observaron que la descomposición de los frutos infectados era menor en algunos cultivares.

No existe en la literatura referencia a una metodología claramente establecida que permita cuantificar diferencias de susceptibilidad a moniliasis. Esto llevó a la realización del presente estudio, con el objetivo principal de establecer una metodología que, teniendo en cuenta severidad e incidencia, permita detectar diferencias de susceptibilidad a la moniliasis entre cultivares de cacao inoculados artificialmente.

MATERIALES Y METODOS

Localización del área de estudio

El estudio se realizó en la colección de cacao del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, CATIE, en Turrialba, Costa Rica. Turrialba está a 600 msnm; tiene una temperatura promedio anual de 22.5°C, una precipitación promedio anual de 2 600 mm y la humedad relativa promedio es de 87%. (Datos de la Estación Meteorológica del CATIE. La zona corresponde a un bosque muy húmedo tropical pre-montano).

Prueba de métodos de inoculación y concentración del inóculo

Esta prueba se realizó en frutos de dos a tres meses de edad aproximadamente, en los cultivares 'R-2', 'R-8', 'TSH-792', Diamante-800', 'UF-701' y 'CATIE-1000'. La mitad del número de frutos disponibles en cada cultivar se dividió en cuatro grupos que fueron asperjados, cada uno, con las siguientes concentraciones de inóculo: 0, 10^4 , 10^5 y 10^6 conidios/ml por medio de un atomizador DeVilbiss No. 15. Las aspersiones se hicieron una vez cubiertos los frutos con bolsa plástica. Esta bolsa fue perforada en sus esquinas inferiores por donde se introdujo el conducto de salida del atomizador. Luego, se bombeó el sifón en forma manual por cinco veces, tratando que la suspensión llegara lo más uniformemente posible a toda la superficie del fruto. La otra mitad de frutos de cada cultivar fue repartida también en cuatro grupos que recibieron las mismas cuatro concentraciones de inóculo (0, 10^3 , 10^4 y 10^6 conidios/ml). Esta vez, la inoculación se hizo por medio de un pedazo de algodón sumergido en la suspensión y aplicado con ayuda

de pinzas sobre uno de los surcos en la parte media superior del fruto donde quedó adherido. Luego, se colocó a cada fruto una bolsa plástica protectora perforada en las esquinas.

Para la suspensión, se utilizaron conidios de 9 a 15 días de edad en agua destilada más Tween-80 al 0.01% como dispersante para evitar formación de grumos o grupos de conidios. El inóculo se tomó de aislamiento puro en ADA (agar 1.5%, dextrosa 2.0% y hojuelas de avena 5%). Se comenzó a tomar información a los 24 días y se continuaron las lecturas una vez por semana. Los frutos se cosecharon cuando presentaron esporulación o mostraron madurez normal o prematura, debido a la enfermedad.

Calificación de severidad externa e interna para medir diferencias de susceptibilidad

Al evaluar susceptibilidad es muy importante conocer, además de la incidencia, el grado de severidad con que se presenta la enfermedad. Teniendo en cuenta este factor, se procedió a inocular distintos cultivares de la colección. La inoculación se hizo por aspersión con el DeVilbiss, como se indicó en la prueba de métodos de inoculación. Se usó una concentración de 10^5 conidios/ml. Los frutos eran de 60 días y provenían de polinización manual; éstos se dividieron en cuatro grupos o repeticiones que se inocularon entre las 7:30 y 10:30 am y 1:00 y 3:00 pm en dos días consecutivos (2 repeticiones por día). La suspensión se preparó momentos antes de iniciar las inoculaciones y se utilizaron conidios que tenían entre 9 y 15 días de edad y agua destilada más Tween-80 al 0.01%. Los cultivares en estudio se dividieron en tres etapas debido a la falta de floración uniforme entre los mismos, que permitiera hacer las polinizaciones para todos dentro de una misma época. (Con cada etapa, se inoculó también el cultivar 'Catongo' para tomarlo como testigo entre las mismas).

A las cinco semanas después de la inoculación, se iniciaron lecturas sobre el desarrollo externo de la enfermedad (severidad) y se continuaron una vez por semana hasta la 15ava. Para estas lecturas se usó una escala de valores de 0 a 10 que calificó las distintas combinaciones de síntomas que suelen presentarse y el avance semanal de la enfermedad en cada fruto infectado.

El grado de severidad externo, correspondiente a cada valor de la escala, se detalla a continuación:

- 0: Ningún síntoma aparente
- 1: Pequeños y pocos puntos aceitosos o ligera deformación (PPA, d)

- 2: Puntos aceitosos bien definidos y abundantes, deformación pronunciada, madurez irregular debida a la enfermedad (PA, D M)
- 3: Puntos aceitosos bien definidos y abundantes, más deformación pronunciada, madurez irregular, ligero agrietamiento (Síntoma hasta ahora no registrado en la literatura) a lo largo de uno de los surcos del fruto (PA + M.R.).
- 4: Mancha hasta de 3 cm de diámetro, sola o acompañada de madurez irregular o deformación pronunciada, agrietamiento pronunciado a lo largo del fruto (Mn^- , mn^- , $mn^- + M$, $mn^- + D$, R).
- 5: Mancha de más de 3 cm de diámetro pero sin cubrir más de 2/3 del fruto y acompañada o no de madurez debido a la enfermedad (mn^+ , $mn^+ + M$)
- 6: Mancha hasta cubrir 2/3 del fruto, con presencia de micelo (estroma) o también la sola mancha o necrosis desde 2/3 del fruto hasta cubrir toda la superficie del mismo ($mn^+ + mi$, $mn^+ + T$).
- 7: Mancha desde 2/3 del fruto hasta cubrirlo totalmente más micelio; mancha hasta 3 cm de diámetro más esporulación en la misma, pero, en poco grado ($mn^+ + mi$, $mn^+ + E^-$)
- 8: Mancha desde 2/3 hasta cubrir toda la superficie del fruto más esporulación en poco grado; mancha desde 2 cm de diámetro hasta aproximadamente la mitad del fruto con esporulación más bien abundante hasta la mitad de la misma ($mn^+ + E^-$, $mn^+ + E$)
- 9: Mancha desde 2/3 hasta cubrir todo el fruto más esporulación hasta la mitad de la mancha o también mancha hasta 2/3 del fruto más esporulación.
- 10: Mancha total más esporulación abundante que cubre toda el área necrosada, además de madurez pronunciada por la enfermedad ($mn^+ + E^+$, $mn^+ + M$).

En la Fig. 1 se ilustran gráficamente los valores de la escala utilizada

Los frutos se cosecharon cuando presentaban esporulación, avanzado estado de descomposición o cuando mostraban madurez debido o no a la enfermedad. Inmediatamente, se partían para calificar el grado de necrosis interna con base en una escala de 0 a 5. Así, se obtuvo una calificación interna promedio para cada cultivar. Para esto, se tuvo en cuenta sólo los frutos que presentaban también síntomas externos (hubo frutos con síntomas externos y sin síntomas internos pero lo inverso no ocurrió).

El desarrollo de la enfermedad puede variar de una etapa a otra como consecuencia de variaciones en las condiciones ambientales y posiblemente, del mismo inóculo. Para poder hacer comparaciones entre los cultivares inoculados en las distintas etapas, se corrigieron, una a una, todas las repeticiones en cada cultivar. Para esto, los valores promedios semanales en cada repetición se multiplicaron por un factor de

corrección obtenido con base en el promedio de las dos etapas más severas del cultivar 'Catongo'. Ello se hizo con las etapas más severas, por considerar que éstas representan mejor lo que sucede en áreas tradicionalmente cacaoteras en donde la enfermedad no tenga limitaciones de tipo ambiental para su normal desarrollo.

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

$$Fc_i = \frac{PCes}{PCr_i}$$

Donde Fc_i : Factor de corrección para la repetición i

PCes: Promedio del control en las etapas más severas

PCr_i : Promedio del control en la respectiva repetición

Análisis estadístico

Para la calificación obtenida por cultivar (promedio de 11 lecturas por fruto, obtenido entre la 5a y la 15a, después de inocular), se hizo un análisis de variancia y la prueba de Duncan.

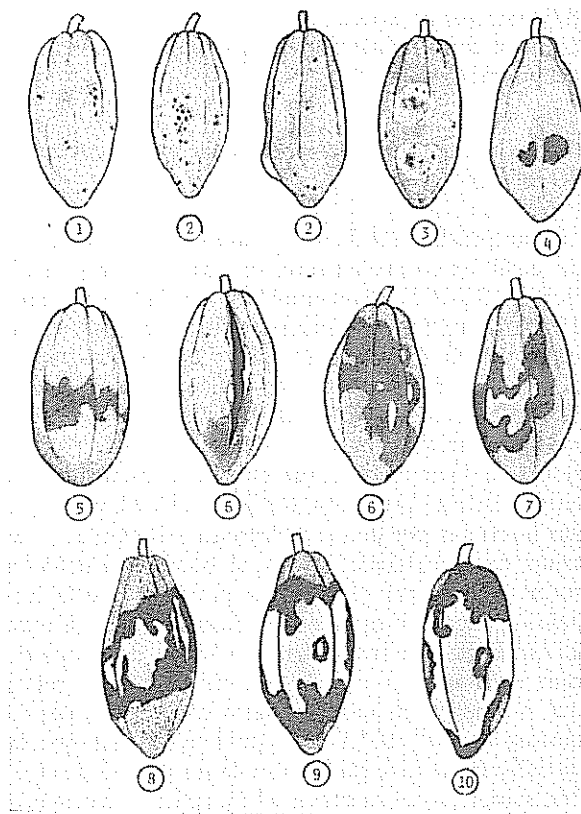


Fig 1 Escala de severidad externa utilizada

Por último, se buscó la posible correlación entre cada una de las lecturas semanales por cultivar, con la calificación definitiva promedio de las 11 lecturas semanales.

RESULTADOS Y DISCUSION

Concentración del inóculo y método de aplicación

Los resultados obtenidos, tanto en la prueba de método de inoculación como en los cultivares inoculados posteriormente, muestran que 10^5 conidios/ml aplicados por aspersión alrededor del fruto permiten detectar diferencias de susceptibilidad a *M. royeri*. Sin embargo, para trabajos con cultivares muy susceptibles esta concentración podría resultar alta, en especial, si las condiciones ambientales favorecen el desarrollo óptimo de la enfermedad. Concentraciones como la de 10^4 conidios/ml mostraron ser insuficientes para infectar aún los cultivares medianamente susceptibles.

Concentraciones tan altas como la de 10^6 conidios/ml parecieron enmascarar o vencer alguna resistencia cuando ésta existe.

La aspersión con el atomizador DeVilbiss produjo una infección más natural, por similar más las condiciones de campo en donde el fruto normalmente no recibe concentraciones tan altas de inóculo, en una área reducida, como sucede con el pedazo de algodón. Esto podría llevar a la manifestación de una mayor severidad de la enfermedad debido a la alta presión de inóculo en un sólo sitio. En el Cuadro 1 se incluyen los resultados de los frutos infectados de los inocula-

dos por cultivar y el porcentaje de incidencia por cada concentración y el método de aplicación del inóculo.

Se considera que la aspersión alrededor del fruto permite un desarrollo más normal de la enfermedad por no concentrar el inóculo en un sólo sitio. Sin embargo, esta forma de inocular podría tener algunas limitaciones cuando se está tomando el avance de la necrosis y el área cubierta por estroma como una medida de susceptibilidad. Esto sucede porque, al penetrar la infección en varios sitios del fruto, las necrosis producidas en ellos se extienden y al unirse dan la impresión de una mayor velocidad en el avance. Esta situación conduciría a determinar un valor más alto en la escala utilizada y sobre todo en los casos en que se hagan varias lecturas por fruto. Si la infección se desarrolla a partir de un sólo sitio donde se coloque el inóculo, la medición del avance de la necrosis será más real. Además, al colocar el inóculo solamente en una pequeña área lleva a una mayor presión del mismo y esto puede afectar también el porcentaje de área necrótica. Merchán y Restrepo (10) destacan que las altas concentraciones de inóculo, generalmente llevan a mayores porcentajes de área necrótica.

La aplicación del inóculo por inyección con jeringa o depositándolo sobre un pequeño recipiente de plástica tiene también sus limitaciones. El primero de estos casos lleva a la manifestación de una alta severidad en un tiempo muy corto y esto no ocurre cuando la inoculación se hace por aspersión. Al respecto, Enriquez, Salazar y Paredes (5) obtuvieron esporulación a los 16 días en aquellos frutos en donde se había inyectado el inóculo mientras que con otros métodos

Cuadro 1. Efecto de la dilución del inóculo y la manera 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*	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**	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

* Frutos infectados (numerador) del total inoculado (denominador)

** Se descartan del total inoculado los perdidos por otras causas.

de inoculación, sin herir el fruto, a los 28 días aún no se habían obtenido síntomas. Con el depósito de plasticina, además de quedar los conidios concentrados en una área muy pequeña, tiene el agravante de quedar los conidios sumergidos o irse a la superficie formando grupos o grumos. Además, según Rodríguez y Suárez (11), los conidios de *M. rozeri* sólo germinan cuando están cubiertos únicamente con una película de agua; la formación de esta película está favorecida con el atomizador que permite la formación de gotas pequeñas y la evaporación más rápida de excesos de agua, quedando pronto los conidios en contacto con las paredes del fruto.

Uso de la bolsa

El uso de la bolsa permite un microambiente más estable alrededor del fruto y esto es muy importante, sobre todo, durante el tiempo de penetración del inóculo. Una vez que han germinado los conidios y han penetrado, la función de la bolsa es impedir una posible infección natural, daño de insectos u otros animales o evitar la diseminación del inóculo cuando aparezcan los signos de la enfermedad. Además, en regiones de baja humedad relativa, la bolsa puede mantener un ambiente favorable al desarrollo de la enfermedad. Pero, en regiones de alta humedad con lluvias frecuentes, como Turrialba, pudo observarse que la presencia de la bolsa influyó negativamente en la formación de estroma y esporulación. Esto se atribuye a que esas condiciones de alta humedad se hacen más críticas dentro de la bolsa, manteniéndose el fruto mojado todo el tiempo. La presencia constante de una película de agua sobre el fruto y el agua detenida en rugosidades de la bolsa, hace que ésta se adhiera al fruto. En estas áreas de contacto no hay formación de estroma y por ende de esporulación. Esto puede afectar también la calificación en la escala utilizada. También, el ambiente demasiado húmedo dentro de la bolsa favorece la presencia y desarrollo de otros hongos donde la *Phytophthora* causó las mayores pérdidas. Por lo anterior, se considera que, de no haber limitaciones por diseminación del inóculo, se debe retirar la bolsa máximo a los 15 días después de la inoculación para permitir así un desarrollo más natural de la enfermedad.

Escala utilizada para la cuantificación de la severidad externa e interna

En la literatura consultada, no se menciona una escala de valores que cuantifique distintas combinaciones de síntomas y el avance de los mismos en frutos inoculados con *M. rozeri*. En este estudio, el uso de una escala de valores facilitó la toma de información y también permitió cuantificar el avance semanal de la enfermedad y la severidad con que se presentaron

los distintos síntomas. La escala para severidad externa (0-10) abarcó prácticamente todas las situaciones que pueden presentarse en el fruto infectado con este hongo. Sin embargo, se considera que, para futuros trabajos, podría reducirse a seis categorías, 0 a 5, que corresponderían a:

- 0: Ausencia de cualquier sintoma externamente visible
- 1: Puntos aceitosos y, o, deformaciones ligeras
- 2: Madurez irregular y, o, deformaciones pronunciadas
- 3: Aparición de necrosis
- 4: Aparición de estroma
- 5: Presencia de esporulación.

El uso de una escala como ésta permitiría establecer más rápidamente las diferencias entre un grado y otro, lo cual no es fácil en la escala de 0 a 10, donde las diferencias en dos valores consecutivos después de siete quedan parcialmente a juicio del observador y requieren cierto detenimiento.

La calificación de severidad interna, en una escala de 0 a 5, facilitó también la cuantificación rápida del grado de descomposición que presentaron las almendras lo cual es muy importante cuando se está evaluando susceptibilidad, ya que algunos frutos pueden presentar externamente síntomas de la enfermedad pero internamente la descomposición no es total, permitiendo aprovechar parte de las almendras.

El análisis de variancia mostró que habían diferencias altamente significativas entre cultivares, tanto en severidad externa como interna. Por lo tanto, se considera que estas dos variables deben tomarse por separado cuando se desea evaluar diferencias de susceptibilidad a la moniliasis entre distintos cultivares.

La severidad a la octava semana como punto crítico

Se encontró una alta correlación entre la calificación a partir de la 8a. semana con la calificación promedio de 11 lecturas semanales tomadas a partir de la 5a. después de la inoculación. El valor del coeficiente de correlación (r) para la 8a. y 9a. semanas fue de 0.96. Esto es muy importante porque permite detectar diferencias de susceptibilidad con una sola lectura y ello implica economía en tiempo y recursos; a su vez, para futuros trabajos, ofrece la posibilidad de incluir dentro de una misma época de inoculación, gran cantidad de materiales. Otra ventaja de tomar la 8a. ó 9a. semana como punto crítico para lecturas únicas es que permite aprovechar en el análisis todos aquellos frutos atacados por otros patógenos en las últimas semanas donde *Phytophthora* sp. es la causa de las mayores pérdidas; estos frutos no podrían incluirse en el análisis si se tomaran las lecturas hasta la semana 15.

De acuerdo con lo observado en el campo, se considera que las lecturas entre la 8a y 9a semanas son las que aportan mayor información, ya que durante éstas, fue cuando se cosechó el mayor número de frutos por presentar esporulación, madurez prematura o un avanzado estado de descomposición aunque no siempre hubiera aparecido estroma. Rodríguez y Suárez (11) asignan dos meses aproximadamente para el proceso completo de desarrollo de síntomas en frutos de 60 a 100 días de edad, inoculados artificialmente; esto concuerda con la 8a ó 9a semanas tomadas como punto crítico y en donde se cosechó el mayor número de frutos, como se anotó antes. Por último, se considera que si la lectura única se realizara semanas más tarde, no mostrarían las diferencias que pueden observarse a la 8a ó 9a, pues todos los frutos infectados tienden a uniformizarse en cuanto al estado que presentan, debido a la descomposición del tejido; además, porque pueden aparecer otros microorganismos saprófitos que aceleran la descomposición e incluso dificultan la correcta evaluación de la severidad interna.

Otros aspectos aclarados en la metodología, serán muy importantes para probar la susceptibilidad a moniliasis de otros materiales de la colección donde se realizó el estudio.

CONCLUSIONES

Con el desarrollo del presente estudio se concluye lo siguiente:

1. 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 poco a aquéllos con alguna resistencia

2. 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
3. La cuantificación del grado de descomposición interna que presenten los frutos infectados en cada cultivar, es importante cuando se quieren caracterizar diferencias de susceptibilidad a *Moniliophthora roreri* porque puede haber susceptibilidad externa y resistencia interna o viceversa
4. 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. o 9a semanas permite detectar diferencias esencialmente definitivas entre distintos materiales inoculados, al correlacionar estrechamente esta lectura con el promedio de 11 lecturas semanales.
5. En zonas húmedas, el uso de la bolsa plástica en frutos infectados con *M. roreri* limita el normal desarrollo de la enfermedad y favorece la presencia de otros patógenos. como *Phytophthora*

LITERATURA CITADA

1. AMPUERO, E. 1967. Monilia pod rot of cocoa. Cocoa Growers' Bulletin 9:15-18
2. BARROS N., O. 1977. 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
3. DELGADO A., J.C.; AMPUERO, E.; DOAK, K.D. 1960. Posible evidencia de resistencia a la *Monilia roreri* Cif. Par., en algunos clones de la Estación Experimental Tropical de Pichilingue. In Inter-American Cacao Conference (8., 1960, Trinidad and Tobago) Proceedings Trinidad and Tobago, Trinidad Government Press. p 184-192.
4. DESROSIERS, R.; DIAZ M., J. 1965. Efecto de diversos fungicidas en el combate de la podredumbre de las mazorcas causada por *Monilia*. Agricultura Tropical (Col.) 11(9):759-764
5. ENRIQUEZ, G.A.; SALAZAR G.; PAREDES, L.A. 1979. Monilia, una nueva enfermedad que afecta el cacao de Costa Rica en la zona de Cahuita. Turrialba, C.R., Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Programa de Plantas Perennes. 9 p. Mimeografiado
6. EVANS, H.C. 1981. Pod rot of cacao caused by *Moniliophthora (Monilia) roreri*. Commonwealth Mycol Inst., Kew, Surrey, England 44 p (Phytopathological Papers no. 24)

7. GREEN, M.J. 1977. Estudios sobre *Monilia roleri* adelantados en Caldas, Colombia. 9 p. (mecanografiado). Presentado en la reunión del 18 al 23 de abril de 1977 en Pichilingue, Ecuador
8. JIMENEZ, I. 1982. Estudio sobre la situación actual y las perspectivas del cultivo e industrialización del cacao en América Central. Turrialba, C.R., Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Programa de Plantas Perennes. 29 p.
9. MERCHAN, V.M. 1981. Avances en la investigación de la Moniliasis del cacao en Colombia. El Cacacero Colombiano no. 16:26-41
10. MERCHAN, V.; RESTREPO, A. 1980. Calibración de un método de inoculación con *Moniliophthora roleri*. Informe anual de actividades 1979B-1980A. Bogotá, Instituto Colombiano Agrícola. 37 p.
11. RODRIGUEZ, M.; SUAREZ, C. 1973. Avances en la investigación sobre *Monilia roleri* del cacao en Ecuador. Guayaquil. 18 p.
12. RORER, J.B. 1918. Enfermedades y plagas del cacao en el Ecuador y métodos modernos apropiados al cultivo del cacao. Trad. por A. Pachano. Guayaquil, Ec., Asociación de Agricultores. p. 17-40.
13. SOTOMAYOR, F. 1965. Estudios preliminares sobre la resistencia de algunos clones de cacao a la Moniliasis provocada por la inoculación artificial. Tesis Ing. Agr. Guayaquil, Ec., Universidad de Guayaquil. 56 p.
14. SUAREZ, C. 1971. Estudio del mecanismo de penetración y del proceso de infección de *Monilia roleri* Cit and Par, en frutos de cacao (*Theobroma cacao* L.). Tesis Ing., Agr. Guayaquil, Ec., Universidad de Guayaquil. 54 p.

Thermal Characteristics and Composition of Fats from *Theobroma* Species¹

S. Chaiseri*, D.H. Arruda*, P.S. Dimick*, G.A. Enriquez**

ABSTRACT

Thermal behaviors and compositions of fats from *T. angustifolia*, *T. bicolor* (from Costa Rica and Brazil), *T. gileri*, *T. grandiflora* and *T. mammosa* were evaluated in comparison to cocoa butter. *Theobroma* fats, except for that from Costa Rican *T. bicolor*, exhibited lower solid fat contents (SFC) than that of cocoa butter at room temperature (20-25°C). This is the result of the high oleic and linoleic acid contents which made up more than 50% of their total fatty acid composition. Cocoa butter (*T. cacao*) and Costa Rican *T. bicolor* contained 37.8% and 47.7% of both oleic and linoleic acid, respectively. The melting behavior of the Costa Rican *T. bicolor* fat was similar to that of cocoa butter, but its high S00 (S = stearic acid, O = oleic acid) content (22%) would be incompatible with cocoa butter. However, both Costa Rican and Brazilian *T. bicolor* fats contained high SOS. An SOS fraction could be used to improve the inferior quality cocoa butter.

COMPENDIO

La evaluación del comportamiento térmico y la composición fueron utilizados para comparar las grasas de *T. angustifolia*, *T. bicolor* (de Costa Rica y Brasil), *T. gileri*, *T. grandiflora* and *T. mammosa* con la manteca de cacao (*T. cacao*). Al ser comparadas a temperatura ambiente (20-25°C), las grasas de las especies *Theobroma*, con excepción de la grasa de la especie *T. bicolor* de Costa Rica, presentaron contenidos más bajos de grasas sólidas (SFC) que la manteca de cacao. Esto fue debido al alto contenido de ácidos oléico y linoléico, los cuales representaron más del 50% del total de ácidos grasos. El contenido de los ácidos oléico y linoléico fue 37.8% en la manteca de cacao (*T. cacao*) y 47.7% en las grasas de la especie *T. bicolor* de Costa Rica. La forma en que la grasa de la especie costarricense *T. Theobroma* se derrite, fue, similar al comportamiento térmico de la manteca de cacao, pero la alta concentración (22%) de triglicéridos de la forma S00 (S = ácido esteárico, O = ácido oléico) es diferente a la concentración observada en la manteca de cacao. Sin embargo, ambas especies de *T. bicolor*, costarricense y brasileña, tuvieron un alto contenido de SOS. Una fracción de SOS podría ser utilizada para mejorar la manteca de cacao de baja calidad.

INTRODUCTION

Cocoa butter is a major ingredient in chocolate and comprises 30-40% of its weight. The melting characteristics of cocoa butter are unique, in having a high solid fat content at room temperature

¹ Received for publication 10 October 1989

This is paper No. 8281 of the journal series of the Pennsylvania Experiment Station, University Park, PA 16802, USA

* Department of Food Science, The Pennsylvania State University, University Park, PA 16802, USA.

** Current address: El Universo 455 y Los Shyris, Quito, Ecuador.