



Serie Materiales de Enseñanza No. 9

Mejoramiento genético para resistencia a cinco enfermedades del cacao

REVISION DE LITERATURA

Gustavo A. Enríquez
Jorge Soria A.

La publicación de este trabajo ha sido financiada con fondos de la Fundación W. K. Kellogg como parte del proyecto de Capacitación Agropecuaria para el Istmo Centroamericano



Contenido

Resumen	4
Summary	4
Introducción	5
Pudrición negra de la mazorca	7
Métodos de inoculación:	
–en mazorcas separadas de la planta	7
–en trozos de tejido de mazorcas	8
–en mazorcas en el árbol	8
–en ramas en el árbol, en plantitas provenientes de semilla o en ramillas enraizadas	9
–en las hojas	9
–en las raíces	9
–en las semillas	10
Escoba de bruja	13
Moniliasis	15
Mal del machete	16
Hinchazón de los brotes	18
Literatura consultada	21

RESUMEN

Este trabajo recoge los aspectos sobresalientes de las cinco enfermedades más importantes del cacao en el mundo; incluye los métodos de investigación para detectar resistencia o tolerancia, lo mismo que algunos aspectos generales relativos al uso de estos métodos y su aplicación. La información se recopiló de los cultivares resistentes o tolerantes encontrados en la literatura disponible.

Las enfermedades consideradas son las siguientes: pudrición negra, causada por el hongo *Phytophthora palmivora*; escoba de bruja, causada por el hongo *Crinipellis pernicioso*; moniliasis, causada por el hongo *Monilia roleri*; mal del machete, causada por el hongo *Ceratocystis fimbriata*; e hinchazón de los brotes causada por el virus CSSV.

SUMMARY

This paper summarizes pertinent aspects of the most important five cacao diseases in the world. It includes research methodologies for resistant screenings and lists the most important cacao cultivars available in the literature.

The diseases studied were: black pod, caused by *Phytophthora palmivora*; witches' broom, caused by *Crinipellis pernicioso*; moniliasis, caused by *Monilia roleri*; ceratocystis, caused by *Ceratocystis fimbriata* and swollen shoot, caused by CSSV.

Introducción

Se estima que la producción de cacao a nivel mundial sufre pérdidas del 10 al 25% por cada una de las siguientes enfermedades en orden relativo:

Pudrición negra, causada por el hongo *Phytophthora palmivora*, que ocurre a nivel mundial; escoba de bruja, causada por el hongo *Crinipellis perniciososa*, que ataca las regiones cacaoteras del norte y oeste de Sur América, incluyendo Trinidad y la Hoya Amazónica; moniliasis, causada por el hongo *Monilia roleri*, que ocurre en Ecuador, Colombia y el oeste de Venezuela; mal del machete, causada por *Ceratocystis fimbriata*, que ocurre en todas las áreas cacaoteras de América Tropical, con excepción de Brasil y República Dominicana; y la hinchazón de los brotes, causada por el virus CSSV, que afecta grandes áreas de Africa Occidental.

En los esfuerzos para reducir las pérdidas por estas enfermedades se han ensayado métodos químicos y profilácticos. Solamente ha sido posible reducir las pérdidas en el caso de *P. palmivora*; poco se ha logrado con las otras enfermedades que continúan limitando la producción.

En vista del poco éxito obtenido con el uso de productos químicos y el alto costo de los mismos para el combate, particularmente de *P. palmivora*, en varios centros experimentales se han hecho esfuerzos para seleccionar material resistente a estas enfermedades, con el fin de utilizarlo en programas de mejoramiento genético.

Para este propósito se han usado dos métodos principales:

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

En la presente revisión se presentan los avances logrados hasta la fecha en el mejoramiento genético para resistencia a las enfermedades mencionadas. No se incluyen trabajos sobre otras enfermedades que, en el contexto mundial, tienen menos importancia o sobre las cuales se dispone de menos información.

Para llegar a desarrollar un programa de mejoramiento, muchos programas de cacao han seguido uno o varios de los siguientes procedimientos (64):

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

Pudrición negra de la mazorca

La pudrición de la mazorca causada por *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. es una de las enfermedades que mayores pérdidas ocasiona a los cultivadores de cacao en todas las áreas de cultivo (53); sin embargo, es difícil encontrar mazorcas afectadas por el organismo en la parte del Amazonas donde se localiza su centro de origen. En otros lugares como la parte costanera del Pacífico en Ecuador, aunque la enfermedad está presente, su efecto no es importante desde el punto de vista de la economía; además, con las prácticas que se aplican para controlar otras enfermedades, el nivel de inóculo se mantiene lo suficientemente bajo como para ser peligroso. La razón, quizá, es el hecho de que las lluvias están presentes en la época caliente, mientras que la época seca es más fría (37, 85). Es muy posible entonces, que el origen y distribución de la enfermedad sea diferente al del cacao. Si éste es el caso, es lógico pensar que gran parte de la resistencia a la enfermedad se debe encontrar en lugares donde el patógeno y el huésped han convivido por largo tiempo (83).

Métodos para inocular el patógeno

Varios son los métodos para inocular el patógeno en diferentes órganos de la planta de cacao. En el presente trabajo se resumen siete de esos métodos (53):

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

Se toman del campo mazorcas sanas bien desarrolladas pero aún no maduras; se lavan con agua corriente y luego se colocan en cajones con una reserva de agua, pero teniendo cuidado de que las mazorcas no queden en contacto con el agua ni que se toquen entre ellas.

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

La infección se registra haciendo medidas diarias del diámetro promedio de la mancha en dos sentidos. En general, la caja debe permanecer con el mayor porcentaje de humedad relativa. Al momento de abrir

la caja para tomar los datos se debe asperjar agua sobre la mazorca para restituir el porcentaje de humedad relativa ambiental.

Inoculación de trozos de tejido de mazorcas. Este método desarrollado por Prendesgast en 1965, es citado por Lawrence (53).

Se toman mazorcas sanas, desarrolladas, pero no maduras y se esterilizan con una solución al 5 % de Hipoclorito de Sodio o un equivalente. Luego, sin dañar la epidermis, se obtienen trozos de 5 cm² de la parte central de las mazorcas. Dos trocitos de cada mazorca se inoculan poniendo 0.1 ml de una suspensión de zoosporas en la parte central de la epidermis y se pone a incubar en una caja con 100 % de humedad relativa. A los cuatro días se registra el número de trocitos infectados. Se deben usar por lo menos 10 mazorcas por cada cultivar, lo que daría un total de 20 trocitos tratados. El número de repeticiones puede ser aumentado a discreción del investigador.

Inoculaciones a las mazorcas directamente en el árbol. Muchos sistemas similares descritos en la literatura pueden resumirse en una sola metodología general como resumen de varios autores citados por Lawrence (53), y de Tarjot (90, 92) y Blaha (22, 24).

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

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

El método de inoculación en el árbol tiene la ventaja sobre el de mazorcas removidas, en que no se necesita ninguna cámara para las pruebas; además parece que las mazorcas pierden un poco de resistencia al ser separadas del árbol (74). Otra variación al método es la descrita por Sreenivasan (88), que consiste en hacer crecer una colonia en un medio puro de cultivo sobre granos de trigo esterilizados. Cada grano es

usado como fuente de inóculo, dándole un medio adecuado para que el organismo pueda seguir viviendo por un período largo hasta tener la oportunidad de infectar la mazorca. Esta, si es susceptible, mostrará síntomas a los dos días de inoculada, momento en que puede retirarse el medio en el cual se mantiene el grano infectado. Este método puede aplicarse con gran facilidad y en forma económica en grandes extensiones a campo abierto.

Inoculaciones a ramas en el árbol, a plantitas provenientes de semilla o a ramillas enraizadas. Este método, desarrollado por Zentmyer (100, 101, 102) y Zentmyer y colaboradores (99) se puede aplicar a varios tipos de rama o plantitas en desarrollo no menores de seis meses de edad. Se hace un corte vertical en la corteza con una cuchilla bien afilada, en el cual se incarta un disco de unos tres a cuatro milímetros con un cultivo del patógeno crecido en agar V-8, de tal suerte que el agar quede dentro de la herida. Luego esta se cubre con una bandita plástica a la cual se puede o no adicionar una motita de algodón humedecido con agua destilada para mantener las plantas inoculadas en el invernadero bajo buenas condiciones de humedad relativa y protegidas de la acción directa del sol. Entre los 18 y 25 días, dependiendo del material, la enfermedad se ha desarrollado y se pueden comenzar las evaluaciones.

Algunas variaciones a este método, como la de Amponsah y colaboradores (4), han servido para hacer estudios genéticos de la herencia a la resistencia.

Inoculaciones a las hojas. Desde que este método fue desarrollado por Siller y McLaughlin (79) en 1950 y por Hansen (43), en 1961, muchos cambios han sido introducidos, como los propuestos por Galindo y Salazar, citado por Lawrence (53) y el de este último investigador (53). Básicamente, el método consiste en asperjar las hojas con una suspensión de micelio y zoosporas o aplicar a las hojas, discos de agar con micelio o una suspensión de medio agar y zoosporas. Las hojas pueden ser de plántulas de semilla, de ramillas enraizadas o de árboles en el campo. Las hojas inoculadas, especialmente aquellas en el campo, deben ser cubiertas con una funda de polietileno que contenga 10 ml de agua destilada, para mantener alta la humedad relativa.

La funda debe ser perforada para facilitar el intercambio de gases. Se debe evitar la exposición directa al sol y la sequedad. Las lesiones y su desarrollo se deben medir diariamente.

Inoculaciones a las raíces. Este método, descrito por Turner y Asomaning (95), Asomaning en 1964 (11) y por Weststeijn en 1965 y 1966 citado por Lawrence (53), puede también tener algunas variaciones al ser aplicado en diferentes localidades. Consiste en aplicar al suelo una cantidad igual de una suspensión de zoosporas alrededor del tronco de la plantita, con tres o cuatro centímetros de separación. La cantidad

puede variar, dependiendo del tamaño de la planta y del recipiente. También se pueden sumergir en esta solución, las raíces de plantitas al momento de transplantar del semillero al vivero. El método de calificación o medida también puede variar; puede ser hecho por simple inspección del daño ocasionado a la raíz y a la planta, o por medio del peso seco de las plantas inoculadas, comparadas con un testigo apropiado. Cada método de evaluación, dependerá de los objetivos y de las condiciones de la investigación.

Inoculaciones a la semilla. Hay varias técnicas para inocular semillas; algunas de ellas usan un método similar al desarrollado por Holliday (46) para hacer pruebas de resistencia a escoba de bruja, ya utilizado por Amponsah y colaboradores (6) y Amponsah y Asare-Nyako (5).

En este método se ponen semillas a germinar entre papeles absorbentes húmedos, bajo condiciones de oscuridad, por cuatro días; estas semillas se introducen por tres minutos en una suspensión del patógeno, la cual se prepara de la siguiente manera: Se toma una cantidad adecuada de cultivo del patógeno que ha estado creciendo en agar de avena por seis días, en platos petri. El cultivo se mezcla con una cantidad adecuada de agua, en una licuadora a baja velocidad, para luego diluirlo en una proporción de 10 cajas petri por un litro de agua; esta será la solución madre. Luego se diluye en agua otra vez, en una proporción que puede variar alrededor de 1:15. Una vez sumergidas las semillas germinadas, se trasplantan a un semillero esterilizado por cualquier método. Más adelante se cuentan las semillas que emergen alrededor de los 10 días y luego se hace un chequeo final a las ocho semanas, cuando se pueden tomar datos del daño a la planta.

Lawrence (53) describe algunas variaciones al método; entre ellas las más importantes son: 1) La germinación de la semilla se hace en agua corriente por dos días; 2) La inoculación se hace goteando 0.1 ml de una suspensión de zoosporas a las semillas, que luego se siembran en suelo esterilizado.

La suspensión de zoosporas que Lawrence recomienda es equivalente a 1×10^5 /ml de concentración. Una concentración más alta no da buenos resultados. Las lecturas del daño se deben hacer un poco más tarde.

Hay varios intentos de estudios genéticos para determinar el sistema de herencia de la resistencia al hongo, pero debido a las diferentes variantes del patógeno o a variaciones del organismo, algunas contradicciones se han encontrado (3, 61). De acuerdo con Soria (85) y Rocha y Machado (76), se puede concluir que la resistencia es altamente transmisible a la descendencia, cuando se cruza entre cultivares resistentes. Al cruzar cultivares resistentes con susceptibles, se puede apreciar si hay dominancia o dominancia parcial en los genes.

Amponsah y colaboradores (3, 5, 6), notaron que algunos padres cuando cruzados con un cultivar, daban una respuesta, mientras que

cruzados con otros cultivares daban respuestas diferentes. Estos resultados hacen suponer que el número de factores y el tipo de complementación o epístasis es bastante complicado y que se necesita un estudio extenso para darle interpretación.

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

También es muy claro que hay poblaciones de cacao que presentan más resistencia que otras, lo cual hace más fácil la búsqueda de padres resistentes que den descendencias de buenas características agronómicas y de calidad superior, o ambas. Entre las poblaciones de cacao del Amazonas, que se hallan en Trinidad, la resistencia o alta tolerancia ha sido muy común, lo mismo que en algunas poblaciones de Brasil y Ecuador (85).

— El clon 'SCA-6' se comporta, prácticamente, como inmune a la mayoría de las 24 cepas que Rocha y Vello (75) probaron en Brasil, llegando a determinar que la resistencia está localizada en los tejidos superficiales del pericarpio, lo cual corrobora los resultados de otros autores (67, 87).

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

Blaha (23) pudo detectar que compuestos como la galactosa y la fructosa estaban presentes en mayor cantidad, en clones resistentes como el 'SNK-64' y el 'SNK-12', mientras que Turner (96) piensa que son los polifenoles los responsables de la resistencia.

La fuente primaria del patógeno puede ser muy variada y la importancia puede fluctuar mucho de lugar a lugar y de estación a estación (31). Para un mejor control habrá que hacer estudios locales más profundos para decidir una solución. Lo que está claramente determinado es que la humedad relativa, especialmente durante el día, es el factor crítico para el desarrollo de la enfermedad. Cuando en una área se mantiene por encima de 80 % la humedad relativa o hay intensa lluvia que hace que la temperatura caiga rápidamente, la enfermedad puede muy pronto adquirir características catastróficas (32).

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

Cultivar	Referencia
C-26 y 73, CF-176, ICS-6, Pa24	12
ACU-85	6, 9, 75, 83, 85
CAS-1	74, 85
CAS-2, PA-30, TSA-792, TSH: 516, 565 y 774	73
CATONGO	52, 53, 62, 73, 85, 99, 75, 86, 87, 102
C-34-P: 10, 25, 45, 50 y 176,	
CC-3, CC-38, IMC-67, K-6, Pa-35,	
Na-32, T60, T60/877, T65/7, T87,	
W ACRI-P4/9, 23 X, K-6, Chico, Común	85
CC-41	85, 86
CC-42	52, 53, 85, 86
D-70	6, 9, 10, 11, 75, 85, 99
EEG-8	74, 85
EET-59 y 376, Pound-7	52
GA-11, GS-50	5
ICS: 1	12, 24, 75, 78, 85
5, 51, 63, 81	79
43	23, 24
K = 5	4, 6, 8, 75, 85
51	75, 85
Lafi-7	4, 56, 28, 30, 75, 83, 89
Maracuja	75, 85, 86
MX: 68-24, 68-32, 69-21, 70-29	
73-38, 75-2, 75-12, 78-25	
79-2, 82-62, 97-3, 97-7,	
97-10 y 97-17	
P-7	71
P-30	28, 53, 75, 85, 86
Pa-7	5, 6, 85
S-27	4, 8
SCA-6	3, 6, 9, 10, 11, 75, 89, 95
	4, 8, 12, 28, 40, 52, 53,
	73, 74, 75, 76, 78, 85, 86
SCA-12	12, 28, 52, 53, 73, 85
SIC-28	6, 28, 38, 85
801	74, 85, 86
802, 806, 864	74, 85
823, 831	86
848	74, 75, 85
SNK-12	23, 24, 58
SNK-13, 16, 30, 416, ICS-46	24
SNK-64, ICS-43	23, 24
T: 9/15, 12/11, 24/12, 86/2	12, 65, 85
T: 19/9, 50/32	12, 85
T 60/88	9, 10, 11
T 60/1887	98
T 79/501	4, 5, 8, 9, 10, 11, 89
T 85/799	4, 9, 10, 85
U-6	4, 9, 11, 75, 68, 95
UF: 11 y 12	83, 85
29	75, 85, 86, 87, 99, 102
613	52, 53, 74, 75, 85, 86
	87, 99, 102
X	75
Y-44	3, 4, 5, 6, 8, 11, 85, 95
12-B	29, 30, 83, 85

En la página contigua se presenta una lista de los clones reportados como resistentes a *P. palmivora* en varias partes del mundo. No se pretende asegurar que todo el material citado sea resistente en otro lugar distinto del sitio y la sepa de estudio.

Escoba de bruja

La escoba de bruja es una enfermedad causada por el hongo *Crinipellis pernicioso* Stahel, que entre los años 1905 y 1925 devastó las plantaciones del norte de América del Sur, incluyendo Trinidad. Ocurre como enfermedad endémica en las poblaciones silvestres de cacao en la Hoya Amazónica. Su ataque destruye los brotes nuevos, los cojines florales y los frutos.

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

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

Aunque la familia SCA tenía semillas y frutos muy pequeños, también tenía un buen potencial de producción y una alta resistencia a la enfermedad. Por esta razón, con el fin de seleccionar árboles resistentes y con buenas características de semilla y fruto, se cruzaron clones SCA con muchos otros de características agronómicas buenas.

En Ecuador se comenzó un programa de selección de plantas de cacao basados en lo que se llamó *índice escoba edad*: el número de escobas que el árbol ha producido de acuerdo con su edad (36). Las descendencias de los cruces de los árboles seleccionados se hicieron crecer bajo una fuerte inoculación artificial y aquellas no afectadas fueron plantadas en el campo para futura selección por caracteres agronómicos.

En Trinidad se adoptó un nuevo método descrito por Holliday (46) y desarrollado en base a un procedimiento usado en Ecuador. Este consiste en sumergir semillas de cacao germinado en una suspensión de esporas (200 000 por milímetro cúbico) por un tiempo determinado y más tarde colocarlas en un semillero para ser calificadas según su suscep-

tibilidad, luego de unas pocas semanas de desarrollo. Esta técnica, modificada ligeramente, se sigue usando y constituye el mejor medio para evaluar la resistencia y hacer otros tipos de estudio (13).

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

De otros estudios genéticos (14, 17, 18, 19) se dedujo que los clones 'SCA-6' y 'SCA-12' eran heterocigotes para los genes que controlan la resistencia, pero que imprimían directamente resistencia a las descendencias; mientras que los clones 'SCA-3', 'SCA-5' y 'SCA-24' tienen genes para resistencia y lo demuestran solamente al ser cruzados con los clones 'SCA-12'.

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

Desde el año 1961, el autor observó en Ecuador que las matas del Clon 'SCA-6' que se habían comportado como inmunes hasta entonces, presentaban algunas escobas, especialmente la llamada 'Chirimoya'. Años más tarde la infección se extendió a las partes vegetativas. Para el año 1965, Trinidad (15, 16) reporta las primeras infecciones de las descendencias del Clon 'SCA-6' y 'SCA-12', que se habían considerado inmunes y habían sido seleccionados para progenitores.

Selecciones provenientes de otros lugares, como Venezuela, se comportan como susceptibles bajo las condiciones de Ecuador y Trinidad (16). Por lo tanto, la búsqueda de material resistente en los países afectados por la enfermedad aún es uno de los objetivos de primera prioridad para los programas de cacao.

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

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

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

La lista siguiente contiene los principales clones reportados como resistentes o tolerantes a *C. pernicioso* pero debido a la aparición del patógeno en Trinidad y Ecuador, es necesario hacer una revisión completa de la misma.

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

Moniliasis

La moniliasis, una enfermedad causada por el hongo *Monilia roleri* Cif. y Par., que provoca daños muy graves entre las plantaciones de cacao (49), apareció a comienzos de siglo en la parte norte de América del Sur. Fue descubierta en Surinam en 1915 y en Ecuador en 1916.

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

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

Se hacen polinizaciones manuales con la finalidad de conocer la edad de la mazorca al momento de la inoculación. Las mazorcas son

protegidas con fundas de polietileno para evitar infecciones naturales. Las mazorcas pueden ser inoculadas a cualquier edad, pero las tiernas son las más fáciles de infectar. Se prepara una suspensión con 1 gramo de esporas en 100 a 10 000 ml de agua destilada (la relación no es crítica). Entre más concentrada sea la suspensión, se obtiene un mayor porcentaje de mazorcas infectadas. Se asperjan las mazorcas, retirando las fundas y luego restituyéndolas tan pronto se inocule. No es necesario hacer ninguna lastimadura, ni usar insectos, para obtener un buen porcentaje de infección (89). Las mazorcas inoculadas se califican a los dos meses aproximadamente, tiempo en el cual se desarrolla la enfermedad. Las fundas de polietileno deben permanecer con agua en el interior, pero deben ser perforadas para que no se llenen y su nivel se mantenga a una altura conveniente.

No se ha descubierto aún material inmune a *Monilia*, pero como resultado de las pruebas de Ecuador (33, 48, 77, 86), se conoce que hay clones que consistentemente tienen menor número de mazorcas infectadas, entre los cuales figuran: 233, 296, 381, 382, 387, 406 de la serie EET y el clon 'SCA-12'. A pesar de que todos estos clones son citados como resistentes, en la práctica solamente el 'EET-233' y el 'SCA-12' parecen mostrar tolerancia (89).

Mal de machete

En 1964 se demostró experimentalmente que en las poblaciones de cacao había gran variabilidad en la resistencia a *Ceratocystis fimbriata* (34, 35), el hongo causante de la enfermedad conocida como mal del machete. Para esa época, muchos de los países afectados habían observado la existencia de poblaciones muy susceptibles a la enfermedad, como los cacaos de origen criollo y sus poblaciones derivadas, o como muchos de los Trinitarios. Dentro del Complejo Forastero, el cacao *Nacional* fue considerado susceptible (81).

Delgado en 1964 (34) y Delgado y Echandi en 1965 (35) describieron el método para evaluar la resistencia a *C. fimbriata* tanto en cultivares de cacao como en especies de *Theobroma*. Con esta metodología fue posible encontrar un buen número de árboles resistentes, aunque ya otros autores hacían intentos por desarrollar una técnica con este propósito.

La técnica de Delgado consiste en hacer crecer el hongo en trocitos de ramas maduras, divididas por la mitad en forma longitudinal, bajo condiciones controladas de temperatura y alta humedad ambiental. Soria y Esquivel (83) y Soria y Salazar (82) pronto detectaron que la prueba producía resultados algo diferentes cuando cambiaba la estación del año, aunque no cambió el rango o la posición de resistencia relativa de los cultivares probados.

Con la finalidad de resolver el problema de los pequeños cambios que puede ocasionar el ambiente, Small (80) propuso un Índice (Índice C), que consistía en inocular al mismo tiempo el material en prueba y uno o dos cultivares altamente susceptibles, para comparar luego con las lecturas del material en prueba. Small utilizó los cultivares 'ICS-1' y el 'ICS-95', dándoles el nombre de Índice C₁ y C₉₅ con la finalidad de compararlos y tener un punto de partida para clasificarlos en forma más estricta.

También, con la finalidad de buscar un Índice más exacto y cuantitativo, Ruiz y colaboradores (78) idearon un método colorimétrico, basado en la estimación del grado de clorosis inducida por el organismo hospedante. Este método parece tener la ventaja de basarse en una medida más exacta, pero también puede ser afectado por variaciones ambientales, cambiando la reacción de acuerdo con la fisiología de la planta. Quizás se podría obviar este problema trabajando con Índices indicadores de la susceptibilidad, lo cual daría más confianza al método. La ventaja que tendría este es que se puede usar solamente la toxina y no el patógeno, pudiéndose aplicar la metodología en áreas donde no exista la enfermedad sin peligro de transmitirla. Lamentablemente el método no se ha seguido perfeccionando.

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

A continuación se presentan los cultivares más importantes que han sido reportados como resistentes o tolerantes al mal del machete.

Cultivar	Referencia
ACT-1-5, ACT-1-9, AX-3-25, C87-P146, C87-P137, C88-P111, C90-P-62, C91-P64, C94-P25, C94-P35, C94-P48, DE 52-B, IMC-53, P-16A, P16B, P24B, PA-12	82
C83-P105, IMC = 11, 27, 31, 60, 11A, 12-A, 12-B, 14-A, 18-A, 18-B, 19-A, 19-B, 25-A y 30-B, PA-303, SCA-12	82, 86
C-91-P64, IMC-57 y 76, Monasterio: 5, 11, 44, 65 Pound-12, Panaquirito-87	86
EET: 46, 58, 61, 96, 272	26
EET: 121, 129, 400, 407, 409, ICS-6, UF-29, 221	97
EET: 399	82, 97
IMC-67	34, 67, 72, 80, 82, 86, 87, 97
OC: 61, 71	67, 72
P-12, SPA-9	34, 86, 87

Hinchazón de los brotes

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

La hinchazón de los brotes junto con la pudrición negra de la mazorca (*P. palmivora*) son las enfermedades más importantes en la zona cacaotera del Africa Occidental.

Posnette y colaboradores han trabajado desde los años 40 desarrollando métodos de inoculación del virus, a fin de encontrar material resistente en las poblaciones de cacao amelonado. Pronto fue evidente que había más tolerancia en las poblaciones de cruces con cacaos Amazónicos, por lo que la mayoría de los trabajos se están haciendo con esas poblaciones de materiales provenientes de Trinidad (2, 50, 51, 58, 54, 57, 59, 60, 94). En Africa Occidental el mejoramiento se hace por medio de cruces dialélicos con árboles sobresalientes o tolerantes, usando métodos de inoculación como semillas germinando, plantas adultas y plantitas (12).

Legg y Lockwood (58) diferencian la resistencia y la tolerancia así: resistencia se refiere al proceso de infección en sí, mientras que tolerancia se refiere a la reacción del huésped cuando es infectado.

La selección de árboles en las fincas donde ha habido un ataque fuerte del virus, ha permitido descubrir una clase menos virulenta del mismo, que cuando ataca previamente un árbol, lo protege del efecto de los más virulentos (2). Este mismo fenómeno se ha podido observar en pruebas de resistencia con esa metodología al hacer injertos de material infectado.

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

El método más antiguo para seleccionar material resistente fue el injerto del material infectado sobre las plantas que se deseaba probar.

Este método daba buenos resultados y generalmente, cuando los brotes se desarrollaban, tanto el patrón como el injerto tenían el mismo daño. En algunas ocasiones sin embargo, el daño era muy poco o el injerto no prendía; esto, se adujo, se debía a la protección causada por la presencia de una infección previa. Por este sistema se probó también la resistencia a otros virus. El método fue usado ampliamente en todas las Estaciones Experimentales, pero traía consigo otros problemas como la lentitud en la selección del material.

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

El insecto en estado de ninfa es el mejor para este tipo de trabajo, aunque en otros estados también pueden servir. Los insectos se deben mantener sin comer por algunas horas, luego ponerlos en hojas jóvenes que tengan síntomas de la enfermedad, durante cuatro horas por lo menos, para que pueda comer y al mismo tiempo adquirir el virus. Luego se colocan unas 30 ninfas sobre las plantas durante tres horas. El virus no es persistente en el insecto (69). Pasadas unas ocho semanas, se puede comenzar a observar y medir los síntomas y los daños (68, 70).

En el caso del insecto adulto se sigue la misma metodología descrita anteriormente. Los chinches harinosos que vienen de partes infectadas con virus, se colocan sobre semillas germinadas de dos o tres días o en embriones más frescos, removiendo una parte de un cotiledón.

Los métodos descritos anteriormente, son quizás, los más fáciles y los que más se usan en la actualidad, por ser los que mayor correlación presentan con los datos de campo y los que menos espacio ocupan en laboratorios e invernaderos. Por otra parte, los síntomas aparecen entre los 15 y 25 días lo que además acorta el tiempo de la prueba (68).

Legg y Kenten (56), encontraron que haciendo la inoculación a mano en las semillas de cacao, se obtenían los mismos resultados que cuando se hacía con el chinche harinoso, por lo cual propuso el método como un medio de acelerar las pruebas de descendencias. Una razón para usar este método es que la inoculación por el insecto no es altamente reproducible y por esto había que usar un número alto (30 chinches harinosos). Además la preparación que se usa para la inoculación mecánica, puede ser altamente purificada, lo que garantizaría aún más la infección.

Adomako y Owusu (1) discutieron las diferencias entre la inoculación mecánica y la inoculación por medio del chinche harinoso. Ellos encontraron que hay más ventajas en la inoculación con el insecto, debido a que sus hábitos de alimentación le permiten penetrar con la

prosbosis mucho más profundo que lo que se puede lograr mecánicamente; además el insecto puede llegar a tejidos de transporte de savia, lo cual aseguraría la inoculación, cosa que no siempre es posible con el método mecánico.

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

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

A continuación se presentan los principales cultivares reportados como resistentes o tolerantes al virus. La mayoría de ellos han sido usados como padres y no se recomiendan para plantaciones clonales.

Cultivar	Referencia
C-23, Na-32	12
C-77, T9/15	12, 65, 94
F-85, SCA-12, T61 y 62	55
Iquitos 85-D, INE 76/122, Standar 537, T61/1313, T62/958	51
IMC-76, T17/524, T62/977	50, 51, 52
Na-33 y 34,	51, 55
T2/21, T16/433, T62/891, T81/1792 T81/1880, W-41, T62/799	57
T9/21	50, 51
T12/26	51, 57
T12/1	51, 54
T12/150	54
T12/151	51, 54, 57
T17/359, T85/799	50 57
T17/521	2
T65/10, T73/55, T101/5, T101/42	65
T72/20	65, 94
T90/1345, T101/1950, T101/2540	50

Literatura citada

1. **ADOMAKO, D. y OWUSU, G. K.** Studies on the mechanical transmission of cocoa swollen shoot virus: Some factors affecting virus multiplication and symptom development in cacao. *Ghana Journal of Agricultural Science*. 7:7-15. 1974.
2. **AMPONSAH, J. D.** Cacao breeding progress at Tafo. *In Conferencia Internacional de Pesquisas em Cacao, 2a, Salvador e Itabuna, Novembre 19-26, 1967. Memorias. Bahía, CEPLAC, 1969. pp. 134-136.*
3. ——— y **DAKWA, J. T.** Preliminary genetic assessment of a black pod resistance trial in Ghana. *In Conferencia Nacional de Pesquisas em Cacao, 2a, Salvador e Itabuna, Novembre 19-26, 1967. Memorias. Bahía, CEPLAC, 1969. pp. 162-164.*
4. ———, **ASARE-NYAKO, A. y NUAMAH, G. E. A.** Laboratory method for screening cocoa seedling for black pod resistance. *In Cocoa Research Institute (Tafo, Ghana). Annual report 1969-70. Tafo, 1972. pp. 155-158.*
5. ——— y **ASARE-NYAKO, A.** Glass house method for screening seedlings of cocoa *Theobroma cacao* L. for resistance to black pod caused by *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. *Tropical Agriculture (Trinidad)* 50(2):143-152. 1973.
6. ———, **ASARE-NYAKO, A. y NUAMAH, G. E. A.** The black-pod resistance screening programme. *In Cocoa Research Institute (Tafo, Ghana). Annual Report 1970-71. Tafo, 1973. pp. 195-196.*
7. ———. *In International Cocoa Research Conference, 5th, Ibadan, Nigeria, 1975. Proceedings. Ibadan. Cocoa Research Institute, 1975. pp. 5-6.*
8. ——— y **ASARE-NYAKO, A.** Screening for resistance to black pod disease of cocoa field trials. *In Cocoa Research Institute (Tafo, Ghana). Annual report 1973-74, Tafo, 1976. pp. 159-163. (Sólo resumen).*
9. **ASOMANING, E. J. A. y WHARTON, A. L.** Black pod disease. Root infection by *Phytophthora palmivora* Butl. Studies on varietal resistance to root infection. *Annual Report, West African Cocoa Research Institute, 1961-1962. pp. 27-28. 1963.*
10. ———. Root infection of cocoa by *Phytophthora palmivora* Butl. Studies on varietal resistance. *In Cocoa Research Institute, Tafo, Ghana. Report for the period 1st April 1962. 30th September 1963. Tafo, Ghana, 1964. pp. 23-25.*
11. ———. Varietal resistance of young clones and seedlings of cocoa (*Theobroma cacao* L.) to root infection by *Phytophthora palmivora*. *Tropical Agriculture (Trinidad)* 41(3):251-256. 1964.
12. **ATANDA, O. A.** *In International Cocoa Research Conference, 5th. Ibadan, Nigeria, 1975. Proceedings. Ibadan. Cocoa Research Institute 1975. p. 14.*
13. **BARTLEY, B. G. D.** The efficiency of a test of the resistance of cacao seedlings to *Marasmius pernicius* Stahel. *In The Regional Research Centre of the British Caribbean. A report on cacao research, 1957-58. Trinidad, Imperial College of Tropical Agriculture, 1959. pp. 49-52.*
14. ———. Witches broom resistance. *In Imperial College of Tropical Agriculture. Annual report on cacao research 1963. St. Augustine, Trinidad. 1964. pp. 26-28.*
15. ———. Plant Breeding. *In Imperial College of Tropical Agriculture. Annual Report on Cacao Research 1964. St. Augustine, Trinidad, 1965. pp. 11-34.*
16. ———. Diseases resistance studies: *Marasmius pernicius* (Witches, broom). *In Imperial College of Tropical Agriculture, Annual Report on Cacao Research 1965. St. Augustine, 1966. pp. 21-22.*
17. ———. Progress in cacao breeding and genetics. *In Conference Internationale sur les Recherchers Agronomiques Cacaoyeres, Abidjan, Nov. 15-20, 1965. Paris, 1967. pp. 228-232.*

18. ——— . Witches' broom. *In* University of the West Indies (St. Augustine, Trinidad). Annual Report on Cacao Research 1967. St. Augustine, 1968. pp. 28-33.
19. ——— . Twenty years of cacao breeding at The Imperial College of Tropical Agriculture, Trinidad. *In* Conferencia Internacional de Pesquisas em Cacau, 2a., Salvador e Itabuna, Nov. 19-26. 1967. Memorias. Bahia, CEPLAC, 1969. pp. 29-33.
20. ——— y CHALMERS, W. S. Witches' broom. *In* Imperial College of Tropical Agriculture, Annual Report on Cacao Research 1970. St. Augustine, Trinidad. 1971. pp. 38-39.
21. BEJARANO, G. Métodos de inoculación artificial y factores favorables para la infección de *Monilia rozeri*. Tesis Ing. Agr. Quito, Universidad Central, 1961. 69 p.
22. BLAHA, G. Contribution a l'étude de la sensibilité du cacaoyer a *Phytophthora palmivora* au Cameroun. *In* International Cocoa Research Conference, 3rd, Accra, Ghana, 1969. Proceedings. Tafo, Ghana, Cocoa Research Institute, 1971. pp. 410-421.
23. ——— . Première approche au Cameroun de l'étude des facteurs de la sensibilité du cacaoyer a *Phytophthora palmivora* sur cabosser por l'analyse biochimique du cortex. *In* International Cocoa Research Conference, 4th, St. Augustine, Trinidad, 1972. Proceedings. St. Augustine, Cocoa Research Institute, 1972. pp. 429-434.
24. ——— . Recherche de cultivars résistants a *Phytophthora palmivora*. Etude comparative des réactions aux infections expérimentales effectuées sur cabasses. *In* International Cocoa Research Conference, 4th, St. Augustine, Trinidad, 1972. Proceedings. St. Augustine, Cocoa Research Institute, 1972. pp. 435-445.
25. BRUNT, A. A. The effects of cocoa swollen-shoot virus on the growth and yield of Amelonado and Amazon cocoa (*Theobroma cacao*) *In* Ghana Annals of Applied Biology 80:169-180. 1975.
26. CHALMERS, W. S. Trinidad-Ecuador Cooperative Programme. *In* University of the West Indies. (St. Augustine, Trinidad). Annual report on cacao research 1968. St. Augustine, 1969. pp. 23-26.
27. ——— . Witches' broom. *In* University of the West Indies. (St. Augustine, Trinidad). Annual report on cacao research 1971. St. Augustine, 1972. pp. 22-27.
28. ——— . Disease resistance. *In* University of the West Indies. (St. Augustine, Trinidad). Annual report on cacao research 1971. St. Augustine, 1972. pp. 22-27.
29. DAKWA, J. T. Black pod disease. *In* Cocoa Research Institute, Tafo (Ghana). Annual Report, 1965-1966. Tafo, 1968. pp. 31-33.
30. ——— . The yield and disease patterns in a black pod resistance trial in Ghana. Ghana Journal of Agricultural Science. 6:205-211. 1973.
31. ——— . *In* International Cocoa Research Conference, 5th, Ibadan, Nigeria, 1975. Proceedings. Ibadan, Cocoa Research Institute, 1975. p. 9.
32. ——— . *In* International Cocoa Research Conference, 5th, Ibadan, Nigeria, 1975. Proceedings. Ibadan, Cocoa Research Institute, 1975. p. 12.
33. DELGADO, J. C., AMPUERO, E. y DOAK, K. Posible evidencia de resistencia a *Monilia rozeri* Cif. y Par. en algunos clones de la Estación Experimental Tropical de Pichilingue. *In* Inter American Cacao Conference, 8th, Trinidad and Tobago, June 15-25, 1960. Proceedings. Trinidad, Government Press, 1960. pp. 184-192.
34. ——— . Estudio de la resistencia del cacao al mal del machete producido por *Ceratocystis fimbriata* Ellis & Halsted. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, IICA, 1964. 42 p.
35. ——— y ECHANDI, E. Evaluación de la resistencia de especies y clones de cacao al mal del machete producido por *Ceratocystis fimbriata*. Turrialba (Costa Rica) 15(4):286-289. 1965.

36. DESROSIERS, R., BOLAÑOS, C. W. y VARGAS, J. Evaluation of clones of cacao for resistance to witches broom. *In* Conferencia Interamericana de Cacao, 5a, Turrialba, Costa Rica, 1954. Trabajos presentados. Turrialba, Costa Rica, IICA, 1954. Vol. 1, Sección 'Fitopatología', Doc. 17. 9 p.
37. ——— y DIAZ, J. The world distribution of diseases of cacao. *In* Conferencia Interamericana de Cacao, 6a, Salvador, Bahía, Brasil, Instituto de Cacau de Bahía, 1957. pp. 331-341.
38. ENRIQUEZ C., G. y SORIA, J. Catálogo de cultivares de cacao. Turrialba, IICA, Centro de Enseñanza e Investigación. 1967. 547 p. (También en inglés).
39. ———. Avances en el mejoramiento genético del cacao en la Estación Experimental Tropical Pichilingue, Ecuador. *In* Conferencia Internacional de Pesquisas em Cacau, 2a., Salvador e Itabuna, Novembre 19-26, 1967. Memorias. Bahía, CEPLAC, 1969. pp. 76-79.
40. EVANS, H. C. Invertebrate vectors. *In* Cocoa Research Institute (Tafo, Ghana). Annual Report 1972-1973. Tafo 1975. pp. 52-56.
41. GREGORY, P. H. Black pod disease proyect reports. London, The Cocoa, Chocolate and Confectionery Alliance. pp. 36-43. 1969.
42. GRIFFIN, M. J., BRASIER, C. M. y MADDISON, A. C. *In* International Cocoa Research Conference, 5th, Ibadan, Nigeria, 1975. Proceedings. Ibadan, Cocoa Research Institute, 1975. p. 20.
43. HANSEN, A. J. Experimentos con aspersiones a bajo volumen y aceites agrícolas para control de *Phytophthora palmivora*. Cacao (Costa Rica) 6(3):9. 1961.
44. HOLLIDAY, P. C. y BAKER, R. E. D. The susceptibility of the ICS (Imperial College Selections) clones to witches' broom disease at River State, Trinidad. *In* Imperial College of Tropical Agriculture. A report on cacao research, 1945-1951. St. Augustine, Trinidad, 1953. pp. 119-121.
45. ———. The susceptibility of some Imperial College selections to witches' broom disease. *In* Imperial College of Tropical Agriculture. A report on cacao research, 1953. St. Augustine, Trinidad, 1954. pp. 58-63.
46. ———. A test for resistance to *Marasmius perniciosus* Stahel. *In* Imperial College of Tropical Agriculture. A report on Cacao Research; 1954. St. Augustine, Trinidad, 1955. pp. 50-55.
47. HUTCHEON, W. V. Studies on the physiology of plants infected with cocoa swollen shoot virus. *In* International Cocoa Research Conference, 4th, St. Augustine, Trinidad, 1972. Proceedings. St. Augustine, Cocoa Research Institute, 1972. pp. 493-502.
48. INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS. Ecuador. Fitopatología. *In* Informe 1968. Quito, Ecuador. sf. pp. 109-111.
49. JORGENSEN, H. Monilia pod rot of cacao in Ecuador. Cacao (Costa Rica). 15(1):4-13. 1970.
50. KENTEN, R. H., LEGG, J. T. y BONNEY, J. K. Virus Research. *In* Cocoa Research Institute (Tafo, Ghana). Annual Report 1966-67. Tafo, 1968. pp. 22-30.
51. ———. Virus Research. *In* Cocoa Research Institute (Tafo, Ghana). Annual Report 1967-68. Tafo, 1969. pp. 25-43.
52. LAWRENCE, J. S. Evaluation of methods for assessing resistance of cacao cultivars and hybrids to black pod. Informe CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1977. 50 p. (Mecanografiado).
53. ———. Evaluation of methods for assessing resistance of cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivars and hybrids to *Phytophthora palmivora* (Butler) Butler. Informe CATIE, Turrialba, Costa Rica. 44 p. (Mecanografiado).
54. LEGG, J. T. y LOVI, N. K. Field trials. *In* Cocoa Research Institute (Tafo, Ghana). Annual Report 1965-66. Tafo, 1968. pp. 25-28.

55. _____ y AGBODJAN, F. X. Field trials. Maintenance of virus experiments. *In* Cocoa Research Institute (Tafo, Ghana). Annual Report 1967-68. Tafo, 1969. pp. 35-43.
56. _____ y KENTEN, R. H. Selection of cocoa progenies resistant to and tolerant of cocoa swollen shoot virus. *In* International Cocoa Research Conference, 3rd, Accra, Ghana, 1969. Proceedings. Tafo, Ghana, Cocoa Research Institute, 1971. pp. 503-511.
57. _____, EDWARDS, D. F. y LOCKWOOD, G. The swollen shoot problem in Ghana. *In* International Cocoa Research Conference, 4th, St. Augustine, Trinidad, 1972. Proceedings. St. Augustine, Cocoa Research Institute, 1972. pp. 490-492.
58. _____ y LOCKWOOD, G. *In* International Cocoa Research Conference, 5th. Ibadan, Nigeria, 1975. Proceedings. Ibadan, Cocoa Research Institute, 1975. p. 63.
59. LOCKWOOD, G. *In* International Cocoa Research Conference, 5th, Ibadan, Nigeria, 1975. Proceedings. Ibadan, Cocoa Research Institute, 1975. pp. 29-30.
60. LONG WORTH, J. F. Virus tolerance. *In* West African Cocoa Research Institute. Annual Report. 1961-1962. 1963. pp. 82-87.
61. MATTA, E. A. F. da y PEREIRA, R. da P. Sobre a resistencia do cacau 'Catongo' (mutante de *Theobroma leiocarpa* var. comum) a podridao parda de *Phytophthora palmivora* (Butl.) Boletim do Instituto Biológico da Bahía (Brasil) 6(1):32-41. 1962-63.
62. MEDEIROS, A. G. Methodology of research to study resistance of cacao to *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. *In* Conference Internationale sur las Recherches Agromomiques Cacaoyeres, Abidjan, Nov. 15-20, 1965. Paris, 1967. pp. 205-211.
63. MONTSERIN, B. G. y DE VERTEUIL, L. L. Hybridization work of the Department of Agriculture (Trinidad and Tobago) for the control of witches' broom disease of cacao. *In* Conferencia Interamericana de Cacao, 6a, Salvador, Bahía, Brasil, 1956. Bahía, Brasil, Instituto de Cacao da Bahía, 1957. pp. 203-211.
64. MULLER, R. A. La double orientation necessaire des études concernant la lutte contre la pourriture brune des cabasses du cacaoyer (*Phytophthora palmivora*): quelques aspects de ces études. *In* International cocoa Research Conference, 3rd, Accra, Ghana, 1969. Proceedings. Tafo, Cocoa Research Institute, 1971. pp. 405-409.
65. OPEKE, L. K. Cacao breeding in Nigeria during the 1960-69 decade. *In* International Cocoa Research Conference, 4th, St. Augustine, Trinidad, 1972. Proceedings. St. Augustine, Cocoa Research Institute, 1972. pp. 25-31.
66. OWUSU, G. K. y ADOMAKO, D. Search for inhibitors of swollen shoot virus infections in cocoa. *In* Cocoa Research Institute (Tafo, Ghana). Annual Report 1970-71. Tafo 1973. pp. 48-49.
67. PEREZ Z., A., REYES, E., H. y REYES, L. de. Programa de mejoramiento genético de cacao en Venezuela. *In* International Cocoa Research Conference, 4th, St. Augustine, Trinidad, 1972. Proceedings. St. Augustine, Trinidad, 1972. Proceedings. St. Augustine, Cocoa Research Institute, 1972. pp. 57-68.
68. POSNETTE, A. F. y STRIGLAND, A. H. Virus diseases of cacao in West Africa. III. Technique of insect transmission. *Annals of Applied Biology* 35(1):56-63. Mar 1948.
69. _____. Virus research at the West African Cacao Research Institute, Tafo. *Tropical Agriculture (Trinidad)* 28:133-142. 1951.
70. _____ y TODD, J. M. Virus diseases of cacao in West Africa. VIII. The search for virus-resistant cacao. *Annals of Applied Biology* 38(4):785-800. 1951.
71. QUESNEL, V. C. e ITON, E. F. Pod phenols and resistance to *Phytophthora*. *In* University of the West Indies (St. Augustine, Trinidad). Annual Report on Cacao Research 1973. St. Augustine, 1974. pp. 31-32. (Sólo resumen).
72. REYES, L. C. de y REYES, H. Obtención de cultivares de cacao resistentes al hongo *Ceratocystis fimbriata* Ellis y Halsted. *In* International Cocoa Research Conference,

- 3rd, Accra, Ghana, 1969. Proceedings. Tafo, Ghana, Cocoa Research Institute, 1971. pp. 499-502.
73. ROCHA, H. M. y MEDEIROS, A. G. Bases para a selecao de cultivares resistentes a *Phytophthora palmivora* (Butl.). Butl. In Conferencia Internacional de Pesquisas em Cacau, 2a, Salvador e Itabuna, Novembro 19-26, 1967. Memórias. Bahía, CEPLAC, 1969. pp. 150-155.
 74. ——— y MARIANO, A. H. Seleccion de cultivares de cacao resistentes a *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. In Conferencia Internacional de Pesquisas em Cacau, 2a, Salvador e Itabuna, Novembro 19-26, 1967. Memórias. Bahía, CEPLAC, 1969. pp. 166-168.
 75. ——— y VELLO, F. Estudos sobre resistencia do cacao (*Theobroma cacao* L.) a *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. In International Cocoa Research Conference, 3rd, Accra, Ghana, 1969. Proceedings. Tafo, Ghana, Cocoa Research Institute, 1971. pp. 430-438.
 76. ——— y MACHADO, A. D. Pesquisas sobre podridao parda na Bahía, Brasil. In International Cocoa Research Conference, 4th, St. Augustine, Trinidad, 1972. Proceedings. St. Augustine, Cocoa Research Institute, 1972. pp. 360-378.
 77. RODRIGUEZ, M. y SUAREZ, C. Avances en la investigación sobre *Monilia roleri* de cacao en Ecuador. In Conferencia Regional sobre *Phytophthora palmivora* 2a, Guayaquil, Ecuador 1973. 18 p. (Mecanografiado).
 78. RUIZ Z. M., JIMENEZ SAENZ, E. y SORIA, J. Relaciones entre la destrucción de la clorofila y el grado de susceptibilidad del cacao al hongo *Ceratocystis fimbriata* (Ell. y Halst.) Hunt. In Conferencia Internacional de Pesquisas em Cacau, 2a, Salvador e Itabuna, 1967. Memoria, Bahía, CEPLAC, 1969. pp. 177-178.
 79. SILLER, L. R. y McLAUGHLIN, J. H. Un método para evaluar fungicidas en el control de *Phytophthora palmivora* Butl. en *Theobroma cacao* L. Cacao (Costa Rica) 2(10):1-3. 1950.
 80. SMALL, L. W. Pathology. In University of the West Indies (St. Augustine, Trinidad). Annual Report on Cacao Research 1966. St. Augustine, 1967. pp. 40-49.
 81. SORIA, J. Mejoramiento del cacao. In Hardy, F. ed. Manual de Cacao. Edición Española. Turrialba, Costa Rica, Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, 1961. 430 p.
 82. ——— y SALAZAR, G. Pruebas preliminares de resistencia a *Ceratocystis fimbriata* en clones e híbridos de cacao. Turrialba (Costa Rica) 15(4):290-295. 1965.
 83. ——— y ESQUIVEL, O. Observaciones sobre resistencia del cacao a *Phytophthora*, *Ceratocystis*, buba floral y 'dieback', en Costa Rica. In Conferencia Internacional de Pesquisas em Cacau, 2a, Salvador e Itabuna, Nov. 19-26, 1967. Memorias. Bahía, CEPLAC, 1969. pp. 174-175.
 84. ———. The latest cacao expedition to The Amazon Basin. Cacao (Costa Rica) 15(2):5-15. 1970.
 85. ———. Sources of resistance to *Phytophthora palmivora*. In Gregory, P.H., ed. *Phytophthora* disease of cocoa. London, Lungman. 1974. pp. 197-202.
 86. ———. Cocoa Research in Latin America. In Simmens, J. Ed. Cocoa Production, Economic and Botanic Perspectives. Proeger Publishers, New York, Washington, London, 1976. pp. 299-337.
 87. SREENIVASAN, T. N. A new method for screening cocoa for resistance to *Phytophthora palmivora* (Butler) Butler. In Internacional Cocoa Research Conference, 5th, Ibadan, Nigeria, 1975. Proceedings. Ibadan, Cocoa Research Institute of Nigeria, 1975. pp. 435-438.
 88. ———. Screening for blade pod disease. In University of the West Indies (St. Augustine, Trinidad). Annual Report on Cacao Research 1974-1975. St. Augustine 1977. pp. 19-20. (Solo resumen).

89. SUAREZ, C. Mecanismo de penetración y proceso de infección de *Monilia royeri* Ciferri y Parodi en frutos de cacao (*Theobroma cacao* L.). In International Cocoa Research Conference, 4th, St. Augustine, Trinidad, 1972. Proceedings. St. Augustine, Cocoa Research Institute, 1972. pp. 506-510
90. TARJOT, M. Etuds de la resistance des cacaoyers a la pourriture bruns des cabasses due au *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. en Cote de Ivoire. Inoculations experimentales par blessure et progment de culture. In Conference Internationale sur les Recherches Agronomiques cacaoyeres, Abidjan, Nov. 15-20, 1965. Paris, 1967. pp. 217-225.
91. ———. Etude de la resistance des cacao-years a la pourriture due au *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. en Cote de Ivoire. II. Inoculations experimentales au laboratoire par depot d'une goutte de suspension de zoospores sur la cabosse sons blessure. Café-Cacao-Thé 11:3-13. 1967.
92. ———. Etude de la resistance des eacaoyérs a la pourriture des cabosses due au *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. en Cote de Ivoire. III. Inoculations experimentales sur la terrain. Café, Cacao, Thé 13(4):297-309. 1969.
93. ———. Variations de sensibilité des cabosses de cacaoyer envers le *Phytophthora* suivant la periode de 2'anne. In Conferencia Internacional de pesquisas em Cacau, 2a, Salvador e Itabuna, Novembro 19-26, 1967. Memorias. Bahía, CEPLAC, 1969. pp. 213-217.
94. TOXOPEUS, H. The second Nigerian Cacao Breeding Programme. In Conferencia Internacional de Pesquisas em Cacau, 2a, Salvador e Itabuna, Novembro 19-26, 1967. Memorias. Bahía, CEPLAC, 1969. pp. 129-132.
95. TURNER, P. D. y ASOMANING, E. J. A. Root infection of *Theobroma cacao* by *Phytophthora palmivora*. Tropical Agriculture (Trinidad) 39(4):339-343. 1962.
96. ———. Black pod disease. Resistance and tolerance. Laboratory studies. In West African Cocoa Research Institute, Annual Report, 1961-62. 1963. pp. 21-25.
97. VITERI, M. y DELGADO, J. C. Determinación de niveles de resistencia a *Ceratocystis fimbriata* en la colección de clones de cacao de la Estación Experimental de Pichilingue. In Conferencia Internacional de Pesquisas em Cacau, 2a, Salvador e Itabuna, Novembro 19-26, 1967. Memorias. Bahía, CEPLAC, 1967. pp. 170-172.
98. WESTSTEIJN, G. Methods of screening *Theobroma cacao* L. for resistance to *Phytophthora* pod rot disease. In Conferencia Internacional de Pesquisas em Cacau, 2a, Salvador e Itabuna, Novembro 19-26, 1967. Memorias. Bahía, CEPLAC, 1969. pp. 157-160.
99. ZENTMYER, G. A., MIRCETICH, S. M. y MITCHELL, D. M. Tests for resistance of cacao to *Phytophthora palmivora*. Plant Disease Reporter 52(10):790-791. 1968.
100. ———. Resistance of cacao to *Phytophthora palmivora*. In Conferencia Internacional de Pesquisas em Cacau, 2a, Salvador e Itabuna, Novembro 19-26, 1967. Memorias, Bahía, CEPLAC, 1969. pp. 147-148.
101. ———. Resistance of cacao to *Phytophthora palmivora*. In International Cocoa Research Conference, 4th, St. Augustine, Trinidad, 1972. Proceedings. St. Augustine, Cocoa Research Institute, 1972. pp. 469-470.
102. ———. Report on Regional Conference on *Phytophthora palmivora* 2nd. 1973. 7 p.

