

Metodología adaptada para la formación de híbridos F1 de cacao (*Theobroma cacao L.*) en Tabasco*

Methodology adapted to the formation of F1 hybrids of cacao (*Theobroma cacao L.*) in Tabasco

Yaskara Paulina Barrón García¹, Alfonso Azpeitia Morales^{2§}, Procopio Alejandro López Andrade² y Felipe Mirafuentes-Hernández²

¹Universidad Autónoma de Guadalajara, Campus Villahermosa, Prol. Paseo Usumacinta km 3.5 Fracc. El Country, Villahermosa, Tabasco, México. Tel. 01 (993) 31 05 170.

²Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Huimanguillo, km 1 Carretera Huimanguillo-Cárdenas. Tel. 01 (917) 37 50 398. (yaskara_0212@hotmail.com.mx, lopez.procopio@inifap.gob.mx, Mirafuentes.felipe@inifap.gob.mx). § Autor para correspondencia: azpeitia.alfonso@inifap.gob.mx.

Resumen

En Tabasco, la enfermedad de la “moniliasis” afecta la producción de cacao cultivado reduciendo la producción de 30% a 100% en las plantaciones. El hongo *Moniliophthora roreri* afecta los frutos en cualquier etapa de desarrollo. En el año 2006 se incorporaron 6 clones resistentes a “moniliasis” al banco de germoplasma del INIFAP en el estado de Tabasco. Es necesario incorporar este carácter de resistencia a genotipos con alto rendimiento y adaptación regional a través de cruzamientos. El objetivo de este trabajo fue establecer un método para la formación de nuevos híbridos mexicanos altamente productivos por medio de polinizaciones controladas con genotipos resistentes. En este trabajo se presentan resultados de la influencia del volumen del recipiente y el tiempo de permanencia sobre la inflorescencia de cacao para su polinización manual y el porcentaje de prendimiento de flores después de la polinización, así como también la influencia del período de polinización manual, las diferencias genotípicas y la compatibilidad genética. Este trabajo ha permitido obtener 63 familias diferentes, descendientes de 23 cruzas diferentes.

Palabras clave: cacao, mejoramiento genético, moniliasis, polinización controlada.

Abstract

In Tabasco, the disease “moniliasis” affects the production of cocoa grown by reducing the production of 30% to 100% in plantations. The fungus affects *Moniliophthora roreri* fruit at any stage of development. In 2006 six resistant “moniliasis” clones joined the genebank in the State of Tabasco. It is necessary to incorporate these character resistance genotypes with high performance and regional adaptation through interbreeding. The aim of this study was to establish a method for the formation of new highly productive Mexican hybrids through controlled pollinations with resistant genotypes. Results of the influence of the container volume and residence time on the inflorescence cocoa for hand-pollination and the percentage of surviving flower after pollination, as well as the influence of hand pollination period are presented in this work, genotypic differences and genetic compatibility. This work has led to 63 different families, offspring of 23 different crosses.

Keywords: cocoa breeding, moniliasis, controlled pollination.

* Recibido: noviembre de 2013
Aceptado: marzo de 2014

Introducción

En México, el cacao (*Theobroma cacao* L.) se cultiva en 62 182 hectáreas, mientras que en el estado de Tabasco se cultivan 40 831 hectáreas, las 21 351 hectáreas restantes corresponden al estado de Chiapas (Barrón *et al.*, 2011). En el proceso productivo intervienen cerca de 50 mil familias de los estados de Tabasco y Chiapas. El cacao en el estado de Tabasco se distribuye en seis municipios, destacando por su superficie cultivada los municipios de Cárdenas, Comalcalco, Cunduacán y Huimanguillo. En el estado de Chiapas destacan por su producción los municipios de Tapachula, Pichucalco y Palenque.

Para la industria chocolatera nacional, el cacao representa la materia prima para la elaboración del chocolate, y su calidad ha sido preferida por esta industria (Barrón *et al.*, 2011). Sin embargo, desde la llegada de la “moniliasis” a México en el norte de Chiapas en febrero de 2005, ha provocado pérdidas en la producción de 40% (Phillips-Mora, *et al.*, 2006). Este problema ha generado desaliento entre los productores por el desconocimiento del manejo de la enfermedad y recientemente, cerca de 1 000 ha han sido derribadas en el estado de Tabasco debido a la afectación de la “moniliasis”.

Este problema podría incrementarse y ocasionar una disminución de las zonas cultivadas, lo que provocaría indirectamente un deterioro ambiental por la disminución en la captura de carbono que proporciona este agroecosistema. Los efectos devastadores de este patógeno en cacao han sido dramáticos y bien documentados en diferentes épocas y países (Phillips-Mora y Wilkinson, 2007). De acuerdo a los reportes, la “moniliasis” tiene su origen entre Colombia y Ecuador debido a que existen reportes de 1817 en Colombia, sobre la aparición de la enfermedad en el oriente y centro del país (Phillips-Mora *et al.*, 2007), para el año de 1895 se registra el primer indicio de la presencia de una enfermedad cuya descripción coincide con la “moniliasis” (Suárez, 1982). Además, de su dispersión en estos países, el hongo está presente en Venezuela, Perú, Panamá, Nicaragua, Costa Rica y Honduras, donde es uno de los principales factores que limitan el rendimiento de la producción de cacao en las áreas afectadas (Phillips-Mora, 2003).

Cifras de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) confirman que la producción de cacao en el estado de Tabasco registra una reducción de 43.2%. Lo anterior significa una pérdida del orden de los \$ 57 120 000 pesos (Azpeitia *et al.*, 2011).

Introduction

In Mexico, cocoa (*Theobroma cacao* L.) is grown on 62 182 hectares, while in the state of Tabasco 40 831 hectares are grown, the remaining 21 351 hectares correspond to the state of Chiapas (Barrón *et al.*, 2011). In the production process involved about 50 thousand families in the states of Tabasco and Chiapas. Cocoa in Tabasco is distributed in six municipalities, noted for its cultivated the municipalities of Cárdenas, Comalcalco, Cunduacán and Huimanguillo surface. In the state of Chiapas noted for its production of Tapachula municipalities, Pichucalco and Palenque.

For national chocolate industry, cocoa represents the raw material for the manufacture of chocolate, and its quality has been preferred by the industry (Barrón *et al.*, 2011). However, since the arrival of the “moniliasis” to Mexico in the north of Chiapas in February 2005, has caused production losses of 40% (Phillips-Mora *et al.*, 2006). This problem has created despair among farmers for the lack of disease management and recently, about 1 000 ha have been demolished in the state of Tabasco because of the involvement of the “moniliasis”.

This problem may increase and cause a decrease in cultivated areas, which indirectly cause environmental degradation by the decrease in carbon sequestration provided by this agro-ecosystem. The devastating effects of this pathogen in cacao have been dramatic and well documented in different ages and countries (Phillips-Mora and Wilkinson, 2007). According to reports, the “moniliasis” originates from Colombia and Ecuador because there are reports of 1817 in Colombia, on the occurrence of the disease in eastern and central China (Phillips-Mora *et al.*, 2007), 1895 for the first indication of the presence of a disease register whose description matches the “moniliasis” (Suárez, 1982). Furthermore, dispersion in these countries, the fungus is present in Venezuela, Perú, Panama, Nicaragua, Costa Rica and Honduras, where it is one of the main factors limiting the performance of cocoa production in the affected areas (Phillips- Mora, 2003).

Figures from the Ministry of Agriculture, Livestock, Rural Development, Fisheries and Food (SAGARPA) confirm that cocoa production in the state of Tabasco recorded a reduction of 43.2%. This means a loss of around \$ 57.12 million pesos (Azpeitia *et al.*, 2011).

Considering the high susceptibility of all commercial cacao genotypes, the aggressiveness of the pathogen, its unique ability to survive in different environmental conditions

Considerando la gran susceptibilidad de todos los genotipos comerciales de cacao, la agresividad de este patógeno, su excepcional capacidad de sobrevivir en diferentes condiciones ambientales y su rápida dispersión natural y mediada por el hombre, *M. roreri* representa una gran amenaza para los agricultores del mundo (Jaimes y Aranzazu, 2010). La generación de clones con alta resistencia permitiría producir cacao en ambientes infestados con “monilirosis”, en donde la única alternativa hasta hace poco era el abandono o cambio de actividad de las plantaciones (Phillips-Mora *et al.*, 2012); por ello es de su suma importancia incorporar caracteres de resistencia a la “monilirosis” a genotipos mexicanos altamente productivos.

El aprovechamiento del germoplasma valioso mediante la hibridación permite la obtención de genotipos superiores de alto valor agronómico (López-Baéz, 1995). Para Somarriba *et al.* (2010), al realizar polinizaciones manuales se tiene la ventaja de poder escoger los árboles que serán el padre y la madre de las semillas, del cual se obtienen semillas híbridas de calidad cruzando los mejores árboles padre y madre.

En los últimos 25 años de investigación, se han identificado clones resistentes a la “monilirosis” con distinto origen genético y/o geográfico. Estos clones están siendo cruzados progresivamente para obtener variedades con niveles crecientes de resistencia en Costa Rica, aprovechando de esta forma el carácter predominante aditivo que tiene esta característica del cacao, estos estudios han adquirido recientemente relevancia mundial por ser la “monilirosis” una de las amenazas más graves para la cacaocultura moderna (Phillips-Mora *et al.*, 2012).

De acuerdo con Arguello (1997), el comportamiento ante la “monilirosis” de los clones ICS-39, ICS-95, EET-400 fueron considerados como resistentes, CAP-34 e ICS-60 moderadamente resistentes, UF 613 e IMC-67 tolerantes, EET-62, ICS-60 e ICS-6 susceptibles y TSA-641, TSA-654, TSH-792, TSH-565 e ICS-1 como muy susceptibles.

Estudios preliminares en Colombia, manifestaron que es factible encontrar materiales resistentes o con tolerancia dilatoria, el clon IMC-67 y algunos híbridos donde este clon interviene, ofrecen comportamientos aceptables y promisorios ante la “monilirosis”, los genotipos E1, IMC-67 y P7 fueron calificados como tolerantes por su mediano daño interno y por presentar mayor tiempo de duración en la expresión de síntomas (Rodríguez y Medina, 2005).

and rapid natural dispersal and human-mediated, *M. roreri* represents a major threat to the world's farmers (Jaimes and Aranzazú, 2010). The generation of clones with high resistance would produce cocoa infested with “monilirosis” environments, where the only alternative until recently was the abandonment or change of plantations (Phillips-Mora *et al.*, 2012.) therefore it is important to incorporate their resistance characters “monilirosis” highly productive Mexican genotypes.

The use of valuable germplasm by hybridization allows obtaining superior genotypes high agronomic value (López-Baéz, 1995). For Somarriba *et al.* (2010), hand-pollinations has the advantage of choosing trees to be the father and mother of the seed, which hybrid quality across the best father and mother seed trees are obtained.

In the last 25 years of research, we have identified resistant clones “monilirosis” with different genetic and/or geographical origin. These clones are gradually being crossed to obtain varieties with increasing levels of resistance in Costa Rica, thus taking advantage of the prevailing character additive having this feature cocoa, these studies have recently acquired global significance for being the “monilirosis” one of the threats more severe for modern cocoa production (Phillips-Mora *et al.*, 2012).

According to Arguello (1997), the behavior in the “monilirosis” of ICS-39, ICS-95, EET-400 clones were considered resistant, CAP-34 and ICS-60 moderately resistant, UF 613 and BMI-67 tolerant, EET-62, ICS-60 and ICS-6 susceptible and TSA-641, TSA-654, TSH-792, TSH-565 and ICS-1 as very susceptible.

Preliminary studies in Colombia show that it is feasible to find resistant materials or delaying tolerance, BMI-67 clone and some hybrids where this clone intervenes, promising to offer acceptable and the “monilirosis” behaviors, genotypes E1, IMC-67 and P7 were rated as medium tolerant by its present internal damage and longer duration in symptom expression (Rodríguez and Medina, 2005).

Moreover Debouck *et al.* (2008) found in connection with the strength of “monilirosis”, only a third resistor of 1%; *i.e.* 0.3% of 600 accessions made in the breeding program of CATIE. In this study, after 15 years of evaluation Trinitarian six clones (CATIE-R1, R-4 CATIE, CATIE R-6, CC-137, ICS-95 and PMCT-58) in good yield and tolerance to monilirosis (Phillips-Mora *et al.*, 2012).

Por otra parte (Debouck *et al.*, 2008) encontraron en relación con la resistencia de la “monilirosis”, sólo una resistencia de un tercio de 1%; es decir, 0.3% de 600 accesiones realizadas en el programa de mejoramiento genético del CATIE. De este estudio, después de 15 años de evaluación se seleccionaron seis clones trinitarios (CATIE-R1, CATIE R-4, CATIE R-6, CC-137, ICS-95 y el PMCT-58) de buena producción y tolerancia a la monilirosis (Phillips-Mora *et al.*, 2012).

En México los estudios de mejoramiento genético han sido escasos, de acuerdo con López-Báez (1995) entre 1986 y 1987 se realizó una caracterización de 31 clones RIM seleccionados en el Campo Experimental “Rosario Izapa” perteneciente al INIFAP en el estado de Chiapas, en dicho estudio se encontró que los frutos van de tamaño mediano a grande con formas de angoleta (frutos con concreción basal intermedia) y cundeamor (fruto con concreción basal fuerte) y bajo número de semillas, en general, la población de clones RIM presenta poca variabilidad en cuanto características del fruto. Sin embargo, en esta época el mejoramiento genético fue dirigido a la búsqueda de genotipos para resistencia a la mancha negra.

En la actualidad existen genotipos reportados como resistentes a la “monilirosis” como: ICS 95 (Trinidad y Tobago), UF 273 (Costa Rica), PA 169 (Perú), EET 233 (Ecuador) y EET 183 (Ecuador) (Phillis-Mora *et al.*, 2009). Estos materiales fueron introducidos por el INIFAP en el año 2006 a México (Azpeitia *et al.*, 2008; Azpeitia *et al.* 2009) y han mostrado producción de 0.7 kg de grano seco por árbol para el clon PA 169, 1 Kg para el clon UF 273 y 1.5 Kg en el clon ICS 95. Sin embargo, los genotipos ICS 95 y UF 273 presentaron resistencia con cero frutos enfermos de “monilirosis” y el PA 169 mostró moderada resistencia (Ramírez-Guillermo *et al.*, 2012). Con base a esta fuente genética disponible, el objetivo del presente trabajo fue: establecer un método para la formación de nuevos híbridos mexicanos que sean altamente productivos por medio de polinizaciones controladas con genotipos resistentes para el estado de Tabasco.

Materiales y métodos

El presente trabajo se desarrolló desde noviembre de 2011 y finalizó en febrero de 2012 en el Campo Experimental Huimanguillo, perteneciente al INIFAP. Este campo experimental se localiza en el estado de Tabasco, en el km 1 de la carretera Huimanguillo-Cárdenas, sus coordenadas son 17° 51' 04.52" latitud norte 93° 23' 46.96" longitud

In Mexico breeding studies have been scarce, according to López-Báez(1995)between 1986 and 1987 a characterization of 31 clones selected in the Experimental Field “Rosario Izapa” belonging to INIFAP in the State of Chiapas RIM was performed, The study found that the fruits are medium to large with ways to angoleta (fruits with intermediate basal constriction) and cundeamor (fruit with strong basal constriction) and low number of seeds in general, the population of clones RIM has little variability in the characteristics of the fruit. However, at this time the breeding was aimed at finding genotypes for resistance to black spot.

There are currently reported as genotypes resistant to “monilirosis” as: ICS 95 (Trinidad and Tobago), UF 273 (Costa Rica), PA 169 (Peru), EET 233 (Ecuador) and EET 183 (Ecuador) (Phillis- Mora *et al.*, 2009). These materials were introduced by INIFAP in 2006 to Mexico (Azpeitia *et al.*, 2008; Azpeitia *et al.*, 2009) and have shown production of 0.7 kg of dry grain per tree for the PA 169 clone 1 Kg for clone UF 273 and 1.5 kg in the 95 ICS clone. However, ICS UF 95 and 273 genotypes showed zero resistance diseased fruits of “monilirosis” and the PA 169 showed moderate resistance (Ramírez-Guillermo *et al.*, 2012). Based on this genetic source available, the objective of this study was to: establish a method for the formation of new Mexican hybrids that are highly productive through controlled pollinations with resistant genotypes for the state of Tabasco.

Materials and methods

This work was conducted from November 2011 and ended in February, 2012 at the Experimental Field Huimanguillo belonging to INIFAP. The experimental field is located in the state of Tabasco, in the 1 km of road Huimanguillo-Cárdenas, its coordinates are 17° 51' 04.52" North latitude 93° 23' 46.96" W, at an elevation of 20 m. This area has a warm humid climate with annual temperature of 25 °C and rainfall of 2200 mm; soils are type Gleysols, Acrisols and Fluvisols. The work was performed within the screenhouse and genebank, for which the following studies were considered:

Influence of the volume of the container and the time spent on the inflorescence of cocoa for hand-pollination. Previously trees were selected INIFAP genotype 1, for which the inflorescences were covered with polypropylene containers of different volumes (Figure 1). The containers (treatments) to be used to cover the floral bud were: 1) 5 mL syringe half

oeste, a una elevación de 20 msnm. En esta zona se cuenta con clima cálido húmedo, con temperatura anual de 25 °C y con una precipitación pluvial de 2 200 mm; los suelos son tipo Gleysoles, Acrisoles y los Fluvisoles. Los trabajos se realizaron dentro de la casa de malla y banco de germoplasma, para lo cual se consideraron los siguientes estudios:

Influencia del volumen del recipiente y el tiempo de permanencia sobre la inflorescencia de cacao para su polinización manual. Previamente los árboles fueron seleccionados del genotipo INIFAP 1, para lo cual fueron cubiertas las inflorescencias con recipientes de polipropileno de diferentes volúmenes (Figura 1). Los recipientes (tratamientos) a utilizar para cubrir el botón floral fueron: 1) jeringa de 5 mL seccionada a la mitad, b) jeringa de 10 mL seccionada a la mitad y c) jeringa de 20 mL seccionada a la mitad. Éstos se utilizaron en tres tiempos diferentes: a) 24 h; b) 48 h; y c) 72 h. Este experimento se estableció en un diseño completamente al azar con arreglo factorial 3 x 3 con 20 repeticiones y la variable a medir fue: a) Porcentaje sin abscisión de flores de Cacao; y b) Porcentaje de abscisión. Los datos fueron sometidos a análisis de varianza y a prueba de comparación de medias de Tukey (0.05) por medio del software estadístico FAUANL versión 2.5 (Olivares-Sáenz, 1994).

Prendimiento de flores después de la polinización. Se realizaron emasculaciones en las flores de los órganos masculinos en el híbrido INIFAP 1 y fueron fecundadas las flores manualmente con polen procedente del genotipo UF 273, para lo cual se le eliminaron los pétalos para que permitiera descubrir las anteras. Después de doce horas de polinizada la flor, fue retirado el recipiente de polipropileno para permitir el crecimiento del fruto hasta su madurez. Este experimento fue establecido en un diseño completamente al azar con tres tratamientos y 20 repeticiones. Los tratamientos fueron constituidos por: 1) jeringa de 5 mL seccionada a la mitad; b) jeringa de 10 mL seccionada a la mitad; y c) jeringa de 20 mL seccionada a la mitad. Las variables evaluadas fueron: a) porcentaje de prendimiento de la flor después de 24 h de su polinización; y b) porcentaje de abscisión de flores después de 24 h de su polinización. Los resultados se sometieron a análisis de varianza y prueba de comparación de medias de Tukey (0.05) por medio del software estadístico FAUANL versión 2.5 (Olivares-Sáenz, 1994).

Influencia del periodo de polinización y cosecha del fruto, influencia del genotipo en el prendimiento del fruto y compatibilidad genotípica. Los árboles de cacao se seleccionaron con base a su producción y resistencia a la

sectioned; b) 10 mL syringe sectioned to; c) 20 mL syringe half sectioned in half. These were used at three different times: a) 24 h; b) 48 h; c) 72 h. This experiment was established in a completely randomized design with factorial arrangement 3x3 with 20 reps and the variable was measured: a) Percent without flower abscission Cocoa; b) Percentage of abscission. Data were subjected to analysis of variance and mean comparison test of Tukey (0.05) through FAUNAL version 2.5 (Olivares-Sáenz, 1994) statistical software.

Grip of flowers after pollination. Emasculations were conducted on flowers of the male organs in the hybrid INIFAP1 and were fertilized flowers by hand with pollen from genotype UF 273, to which he removed the petals to allow discover the anthers. After 12 h of pollinated flower was removed polypropylene container to allow fruit growth to maturity, this experiment was established in a completely randomized design with 3 treatments and 20 repetitions. Treatments were made by: 1) 5 mL syringe half sectioned; b) 10 mL syringe sectioned in half; c) 20 mL syringe half sectioned. The variables evaluated were: a) percentage of surviving flower after 24 h of pollination; b) percentage of flower abscission after 24 h of pollination. The results of analysis of variance and mean comparison test of Tukey (0.05) were subjected through FAUNAL version 2.5 (Olivares-Sáenz, 1994) statistical software.

Influence of the period of pollination and fruit harvest, influence of genotype on the grip of the fruit and genotypic compatibility. The cacao trees that were selected based on their production and resistance to “moniliosis” (Azpeitia, 2009) used as male parents: ICS 95, PA 169 and UF 273 and mothers INIFAP 1 INIFAP eight genotypes were used, and C. In turn reciprocal crosses were made, but only with the resistant genotypes to the “moniliosis” (ICS 95, PA UF 169 and 273).

Two trees were used for genotyping. Unopened buds were covered with polypropylene containers (Figure 1) consisting of vessel 3.5 cm long (hypodermic syringe) to a volume of 20 mL. Subsequently, at the time of flower opening (12 h later) the male organs were manually emasculated and fertilized with pollen from one parent, and were immediately covered again for a period of 12 h to avoid possible contamination with foreign pollen. After expiry of this period of 12 h the polypropylene container was removed to allow fruit growth to maturity. All pollinations were performed by one person. Treatments consisted of five consisting of the different seasons: a) winter 2011; b) spring 2011; c) summer 2011; d) autumn 2011; e) 2011-2012 winter. The experimental design was a completely randomized with different number

"moniliásis" (Azpeitia, 2009) usando como progenitores masculinos: ICS 95, PA 169 y UF 273, así como madres se usaron los genotipos INIFAP 1, INIFAP 8, e INIFAP C. A su vez se realizaron cruzas recíprocas, pero solo con los genotipos resistentes a la "moniliásis" (ICS 95, PA 169 y UF 273).

Un total de dos árboles por genotipo fue utilizado. Los botones florales cerrados fueron cubiertos con recipientes de polipropileno (Figura 1) constituido por recipiente de 3.5 cm de longitud (jeringa hipodérmica) de un volumen de 20 mL. Posteriormente, al momento de la apertura de la flor (12 h después) los órganos masculinos fueron emasculados y fecundados manualmente con polen procedente de un progenitor, e inmediatamente fueron cubiertas nuevamente durante un periodo de 12 h para evitar posible contaminación con polen extraño. Después de transcurrido este periodo de 12 h se retiró el recipiente de polipropileno para permitir el crecimiento del fruto hasta su madurez. Todas las polinizaciones fueron realizadas solamente por una persona. Los tratamientos evaluados fueron cinco, constituidos por las diferentes épocas del año: a) invierno 2011; b) primavera 2011; c) verano 2011; d) otoño 2011; y e) invierno 2011-2012. El diseño experimental utilizado fue un completamente al azar con diferente número de repeticiones y las variables a medir fueron: a) Influencia del periodo de polinización y cosecha de frutos, evaluado desde el mes de febrero de 2011 a febrero de 2012; b) Influencia del genotipo en el amarre del fruto; y c) Compatibilidad genotípica. Esta se evaluó al final de la cosecha de los frutos híbridos, considerándose la siguiente escala: alta (6-8 frutos), media (3-5 frutos), baja (1-2 frutos) y nula (0 frutos).

Los resultados se sometieron a análisis de varianza y prueba de comparación de medias de Tukey (0.05) por medio del software estadístico FAUANL versión 2.5 (Olivares-Sáenz, 1994), adicionalmente se realizó un análisis de correlación para determinar la influencia de la temperatura y el porcentaje de frutos con madurez fisiológica para su cosecha (de 4 a 5 meses después de la polinización).

Resultados

Influencia del volumen del recipiente y el tiempo de permanencia sobre la inflorescencia de cacao para su polinización manual. Los resultados mostraron que la jeringa de 20 mL fue superior estadísticamente a los demás tratamientos, el cual permitió mantener 95% de flores sin abscisión aptas para su polinización después de 24 h, mientras que en los demás tratamientos a 48 h y 72

of repeticiones y las variables medidas fueron: a) Influencia del periodo de polinización y cosecha de frutos, evaluado desde febrero de 2011 a febrero de 2012; b) Influencia del genotipo en el amarre del fruto; c) Compatibilidad genotípica. Esto se evaluó al final de la cosecha de los frutos híbridos, considerándose la siguiente escala: alta (6-8 frutos), media (3-5 frutos), baja (1-2 frutos) y nula (0 frutos).

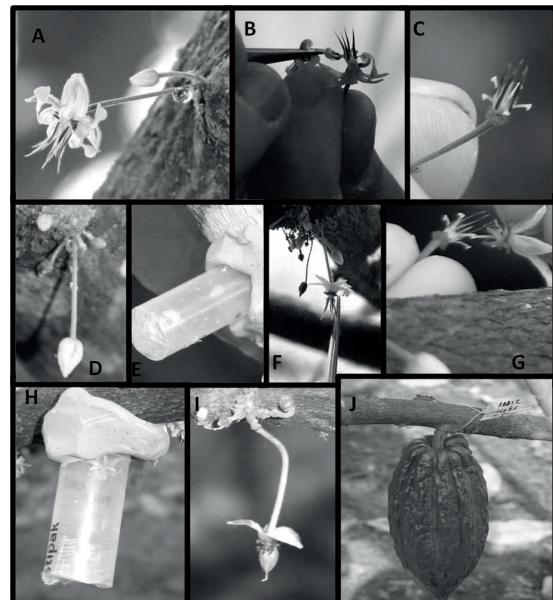


Figura 1. Proceso de polinización controlada en cacao. A) se observa la flor donadora de polen que fue seleccionada. A) la flor donadora se le cortan los pétalos; B) y se dejan descubiertas las anteras; C) se selecciona la inflorescencia que será el progenitor femenino; D) y se cubre con el tubo de polipropileno; E) la flor cubierta se retira el tubo de polipropileno y se eliminan los pétalos y las anteras; F) para proceder a polinizar mediante el frotamiento de las anteras del progenitor masculino con el estigma del progenitor femenino; G) una vez que se hizo el frotamiento la flor se vuelve a cubrir con el tubo de polipropileno; H) en I se aprecia un pequeño fruto después de 8 días de efectuada la polinización; y J) se observa un fruto a los 90 días después de la polinización.

Figure 1. Process controlled pollination in cacao. A) the donor flower pollen that was selected is observed. A) the donor flower petals are cut; B) and anthers are left bare; C) inflorescence that is the female parent is selected; D) and covered with the polypropylene tube; E) flower cover polypropylene tube is removed and the petals and anthers are removed; F) to proceed to pollinate by rubbing the anthers of the male parent to the stigma of the female parent; G) after rubbing the flower was covered again with the polypropylene tube; H) a small fruit after 8 days of pollination carried appreciated; and J) fruit is observed at 90 days after pollination.

h se presentó 100% de abscisión de flores por lo que no fueron apropiados para el desarrollo de este trabajo. Los recipientes de 10 y 5 mL presentaron valores de 50% y 30% respectivamente después de 24 h (Cuadro 1).

Cuadro 1. Influencia del volumen del recipiente y el tiempo de permanencia sobre la inflorescencia de cacao para su polinización manual. Los resultados corresponden solamente al genotipo INIFAP 1. Los valores con la misma letra son iguales estadísticamente, Tukey 0.05).

Table 1. Influence of the volume of the container and the time spent on the inflorescence of cocoa for hand-pollination. The results apply only to INIFAP genotype 1. Values with the same letter are statistically equal, Tukey 0.05).

Recipientе (mL)	Tiempo de permanencia del recipiente en la inflorescencia (h)					
	24	48	72	Porcentaje sin abscisión	Porcentaje de abscisión	Porcentaje sin abscisión
5	30 c	70 a	0 c	100 a	0	0
10	50 b	50 b	10 b	90 b	0	0
20	95 a	5 c	20 a	80 bc	0	0

Porcentaje de prendimiento de flores después de 24 h de su polinización. El prendimiento de flores después 24 h de la polinización fue superior estadísticamente en el tratamiento con recipientes de volumen de 20 mL, el cual presentó 48% de prendimiento contra 10% y 0% para los recipientes de 10 y 5 mL respectivamente (Cuadro 2).

Cuadro 2. Porcentaje de prendimiento de flores después de 24 h de la polinización. Los resultados corresponden solamente a la crusa UF 273 x INIFAP 1. Los valores con la misma letra son iguales estadísticamente, Tukey 0.05.

Table 2. Percent engraftment of flowers 24 h after pollination. Results are only 273 x UF crosses INIFAP1. Values with the same letter are statistically equal, Tukey 0.05.

Recipientе (mL)	Porcentaje de prendimiento de flores	Porcentaje de abscisión de flores
5	0 c	100 a
10	10 b	90 b
20	48 a	52 c

Influencia del periodo de polinización y cosecha de frutos. Del periodo analizado de febrero de 2011 a febrero de 2012 se encontró que la temperatura influye en el porcentaje de prendimiento de Flores (Cuadro 3), destacando un mayor porcentaje de frutos formados en las polinizaciones correspondientes al mes de febrero de 2011 con 30.16% donde se presentó una temperatura media mensual de 23.7 °C. El porcentaje fue disminuyendo conforme fue aumentando la temperatura.

The results of analysis of variance and mean comparison test of Tukey (0.05) through FAUNAL version 2.5 (Olivares-Sáenz, 1994) statistical software were subjected further correlation analysis was performed to determine

the influence of temperature and the percentage of fruits with physiological maturity for harvest (from 4-5 months after pollination).

Results

Influence of vessel volume and the residence time on the inflorescence cocoa for hand-pollination. Results showed that 20 mL syringe was statistically superior to the other treatments, which allowed to keep 95% of flowers without abscission suitable for 24 h after pollination, while in the other treatments at 48 h 72 h 100% flower abscission so were not suitable for the development of this paper was presented. The containers 10 and 5 ml had values of 50% and 30% respectively after 24 h (Table 1).

Percentage of engraftment of flowers after 24 h of pollination. The Taking of flowers after 24 h of pollination was statistically superior in the treatment containers of 20 mL volume, which provided 48% of arrest against 10% and 0% for vessels of 10 to 5 mL, respectively (Table 2).

Influence of the period of pollination and fruit crops. Analyzed from February 2011 to February 2012 period found that the temperature influences the percentage of surviving flowers (Table 3), highlighting a higher percentage of fruits formed in the corresponding pollinations to February 2011 with 30.16% where it provided an average monthly temperature of 23.7 °C. The percentage was decreasing as the temperature was increased.

Cuadro 3. Porcentaje de frutos formados de cacao por polinización manual, así como número de frutos cosechados durante el período febrero 2011-febrero 2012.

Table 3. Percentage of cocoa fruits formed by hand-pollination and number of fruits harvested during February 2011-February 2012 period.

Mes ^a	F P ¹	Flores abortadas a los 3 días de la polinización	Flores prendidas a los 15 días de la polinización	P ²	Nº de frutos cosechados	Temperatura media máxima (°C)	Temperatura media mínima (°C)	TM (°C)
F 2011	93	66	27	30.16	19	28.1	19.25	23.7
Mr 2011	173	69	135	9.52	6	33.9	22.0	28.0
A 2011	132	16	85	1.59	1	36.9	23.7	30.3
My 2011	76	8	68	3.17	2	36.2	24.6	30.4
Jn 2011	98	24	74	4.76	3	34.5	24.1	29.3
Jl 2011	125	36	89	3.17	2	32.6	24	28.3
A 2011	59	11	48	6.35	4	33.5	24.8	29.2
S 2011	0	0	0	0.00	0	30.7	23.4	27.1
O 2011	8	1	4	4.76	3	29.3	22.3	25.8
N 2011	0	0	0	0.00	0	29.1	20.7	24.9
D 2011	35	12	25	17.46	11	28.1	19.3	23.7
E 2012	27	9	18	6.35	4	28.8	19.1	24.0
F 2012	51	8	43	12.70	8	28.4	21.2	24.6

¹FP= flores polinizadas; ²P= porcentaje; TM= temperatura media. Mes^a: F= febrero; Mr= marzo; A= abril; My= mayo; Jn= junio; Jl= julio; A= agosto; S= septiembre; O= octubre; N= noviembre; D= diciembre

El mes de febrero de 2011 y el mes de diciembre de 2011 fueron los meses con mayor número de frutos cosechados con 19 y 11 frutos cosechados, respectivamente, con una temperatura media mensual de 23.7 °C. En el análisis del mejor periodo de polinización que favoreció la cosecha de frutos, se encontró que la polinización realizada durante la época de invierno 2011 fue superior estadísticamente en comparación con primavera, verano y otoño ya que permitió cosechar 25 frutos, seguido de la época invierno 2011-2012 con 17 frutos (Figura 2).

February 2011 and December 2011 were the months with the highest number of fruit with fruit harvested 19 and 11, respectively, with an average monthly temperature of 23.7 °C. In the analysis of better pollination period that favored the crop of fruit, it was found that pollination during the winter season 2011 was statistically superior compared to spring, summer and autumn harvest and allowed 25 fruits, followed by winter time 2011-2012 17 fruits (Figure 2).

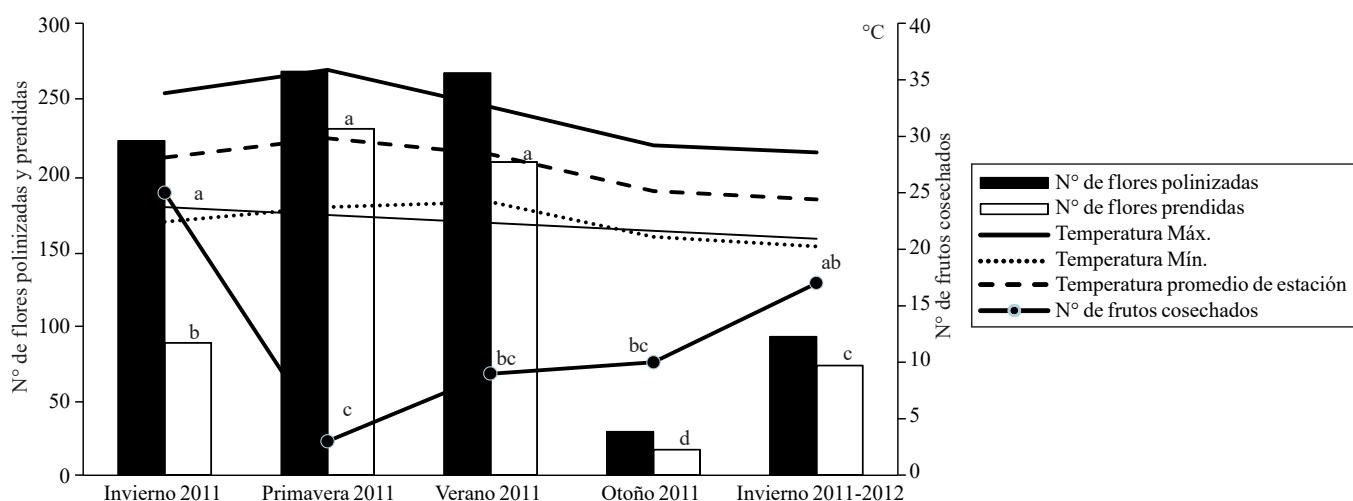


Figura 2. Número de flores polinizadas de forma manual y prendida de cacao, así como número de frutos cosechados durante las estaciones del año. (n= 4). Los valores con la misma letra son iguales estadísticamente.

Figure 2. Number of flowers hand and gripped pollinated in cocoa, as well as number of fruits harvested during the seasons. (N= 4). Values with the same letter are statistically equal.

En cuanto al análisis de correlación para determinar la influencia de la temperatura y el porcentaje de frutos con madurez fisiológica para su cosecha se encontró un coeficiente de determinación $R^2= 0.46$, el cual explica parcialmente que a menor temperatura mayor prendimiento de flores y frutos que alcanzan su madurez hasta la cosecha (Figura 3).

Influencia del genotipo en el amarre del fruto. Se obtuvieron 23 cruzas diferentes siendo el cruce de los genotipos INIFAP 1 x UF 273, el más sobresaliente con un mayor amarre de frutos ya que se formaron ocho frutos (cada fruto formó una familia), seguido de su cruce recíproca UF 273 x INIFAP 1 con siete frutos, seguido de la cruce INIFAP 8 x PA 169 con cinco frutos maduros, siendo las cruzas UF 273 X INIFAP, PA169 X INIFAP, ICS 95 X INIFAP C-2, INIFAP 8 X INIFAP C-2 y INIFAP 8 X ICS 95 las que menor número de frutos se obtuvieron con una sola mazorca cosechada; las cruzas que no se pudieron obtener fueron PA 169 X INIFAP, UF 273 X INIFAP 8, UF 273 X INIFAP C-2, INIFAP X PA 169, INIFAP C-2 X INIFAP 8, INIFAP 1 X INIFAP C-2 y UF 273 X PA 169 (Figura 4).

As for the correlation analysis to determine the influence of temperature and the percentage of fruit with ripeness for harvest, a determination coefficient $R^2= 0.46$ was found, which partially explains the lower the temperature increased engraftment of flowers and fruits was found that reach maturity until harvest (Figure 3).

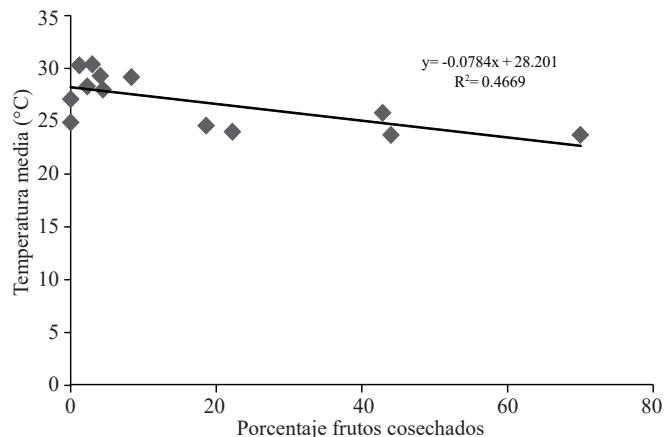


Figura 3. Relación entre la temperatura media y porcentaje de frutos con madurez fisiológica para su cosecha (<0.05).

Figure 3. Relation between average temperature and percentage offruits with physiological maturity for harvest (<0.05).

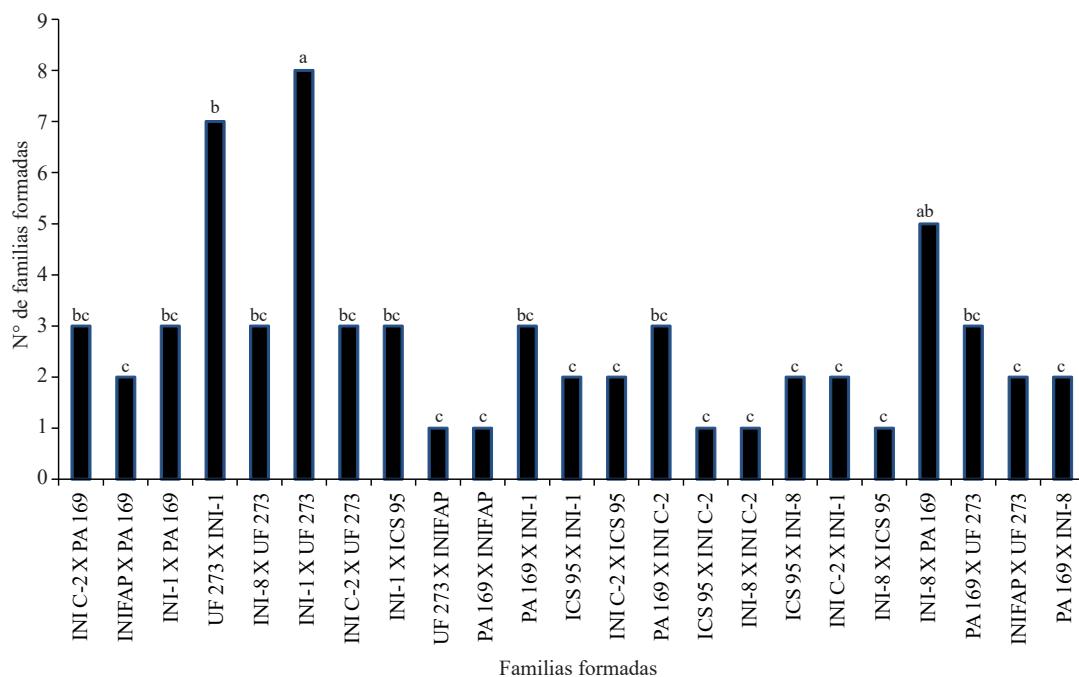


Figura 4. Número de familias totales formadas por medio de polinización manual de febrero de 2011 a febrero de 2012. Los valores con la misma letra son iguales estadísticamente, Tukey 0.05.

Figure 4. Total Number of families formed through hand-pollination February 2011 to February 2012. Values with the same letter are statistically equal, Tukey 0.05.

Compatibilidad genotípica. Con base a los resultados se consideró la siguiente clasificación de compatibilidad de las cruzas de acuerdo al número de familias (Cuadro 4). Los cruces INIFAP 1 x UF 273 y su crusa reciproca UF273 x INIFAP 1 fueron superiores estadísticamente al resto de cruces efectuados. Siete cruces realizados no formaron ninguna familia

Influence of genotype on the jetty of the fruit. 23 different crosses were obtained by being the intersection of INIFAP 1 x UF 273, the most prominent with increased fruit set and eight fruits were formed genotypes (each fruit started a family), followed their reciprocal crosses UF 273 x INIFAP-1 with seven fruits, followed by cross INIFAP 8 x PA 169 with

Cuadro 4. Clasificación de compatibilidad de las cruzas de acuerdo al número de familias formadas.

Table 4. Classification Compatibility crosses according to the number of families formed.

Compatibilidad (Núm. de familias formadas)	Núm. familias formadas	Genotipo
Alta (6-8)	8	INIFAP 1 X UF 273
	7	UF 273 X INIFAP 1
Media (3-5)	5	INIFAP 8 X PA 169
	3	INIFAP C-2 X PA 169
		UF 273 X INIFAP 1
		INIFAP 8 X UF 273
		INIFAP C-2 X UF 273
		INIFAP 1 X ICS 95
		PA 169 X INIFAP 1
		PA 169 X INIFAP C-2
Baja (1-2)	2	PA 169 X UF 273
		INIFAP X PA 169
		ICS 95 X INIFAP 1
		INIFAP C-2 X ICS 95
		ICS 95 X INIFAP 8
		INIFAP C-2 X INIFAP 1
		INIFAP X UF 273
		PA 169 X INIFAP 8
		UF 273 X INIFAP
		PA 169 X INIFAP
		ICS 95 X INIFAP C-2
		INIFAP 8 X INIFAP C-2
		INIFAP 8 X ICS 95
		PA 169 X INIFAP
		UF 273 X INIFAP 8
		UF 273 X INIFAP C-2
		INIFAP X PA 169
		INIFAP C-2 X INIFAP 8
		INIFAP 1 X INIFAP C-2
		UF 273 X PA 169
Nula (0)	0	

Discusión

El aprovechamiento del germoplasma valioso mediante la hibridación permite la obtención de genotipos superiores de alto valor agronómico (López-Báez, 1995). De acuerdo a Somarriba *et al.* (2010), al realizar polinizaciones manuales se

five ripe fruits, being crosses UF 273 X INIFAP, PA169 X INIFAP, ICS 95 X INIFAP C-2, INIFAP 8 X INIFAP C-2 and ICS INIFAP 8 X 95 which fewer fruits were obtained with a single cob harvested; crosses that could not be obtained were X INIFAP PA 169, UF 273 INIFAP X 8 X UF 273 INIFAP C-2, X INIFAP PA 169, INIFAP INIFAP C-2 X 8 1 X INIFAP INIFAP C-2 and UF 273 X PA 169 (Figure 4).

tiene la ventaja de poder escoger los árboles que serán el padre y la madre de las semillas, del cual se obtienen semillas híbridas de calidad cruzando los mejores árboles padre y madre.

El mejoramiento genético de cacao es una estrategia para obtener árboles más productivos (Ramírez, 1987) por medio de la hibridación sobre todo con resistencia a incorporar caracteres de resistencia a “moniliásis”; sin embargo, en el proceso de obtención de híbridos intervienen las condiciones climáticas y es variable de mes a mes como ha sido reportado previamente por Martins *et al.* (1998) además, los resultados obtenidos indican que existe una influencia en el tipo de recipiente y volumen que cubre la inflorescencia durante un periodo aproximado de 48 h.

Los resultados obtenidos, indican que existe una correlación entre temperatura, el prendimiento de frutos y frutos que llegan a la madurez fisiológica, ha sido reportado previamente que la temperatura en el prendimiento de frutos está asociado o a la temperatura, debido a que para un desarrollo óptimo del cultivo de cacao y que favorece su floración y fructificación, la temperatura ambiental debe ser de 23 a 26 °C (James *et al.*, 2008). En los resultados obtenidos en este trabajo en las polinizaciones controladas, la temperatura que se presentó durante los meses de invierno fueron de 19°C a 28°C con temperatura media de 23.5 °C, estas temperaturas bajas permitieron la obtención de mayor número de frutos que llegaron a su madurez fisiológica y fueron cosechados. Aunque no se analizaron algunos otros factores climáticos como incidencia de humedad relativa, precipitación pluvial e insolación así como días nublados, al parecer la temperatura influye en el prendimiento de la flor hasta la formación de frutos maduros tal como es explicado aunque de forma parcial por un análisis de correlación.

Según Cadavid-Vélez (2006) la productividad en las plantas de valor comercial por sus semillas, está asociada al potencial genético y al carácter de compatibilidad del material de siembra. La influencia del genotipo en el prendimiento del fruto y mayor cantidad de frutos que llegan a la cosecha está asociada a la autocompatibilidad o interincompatibilidad del polen, los árboles de cacao con compatibilidad permiten la mayor cantidad de frutos como ha sido indicado en esta especie (Aranzazu *et al.*, 2008; Lopes *et al.*, 2011), los cruces INIFAP 1 X UF 273 y UF 273 X INIFAP 1 fueron clasificados como altamente compatibles con ocho y siete familias, respectivamente, y el cruce e INIFAP 8 X PA 169 con una compatibilidad media con cinco familias.

Genotypic compatibility. Based on the results the following classification was considered compatibility of crosses according to the number of families (Table 4). The INIFAP 1 x UF crosses and reciprocal crosses 273 x INIFAPUF273 1 were statistically superior to the rest of crosses made. Seven crosses made not formed any family.

Discussion

The use of valuable germplasm by hybridization allows obtaining superior genotypes high agronomic value (López-Báez, 1995). According to Somarriba *et al.* (2010), in order to perform hand-pollinations has the advantage of choosing trees to be the father and mother of the seed, which hybrid quality seeds obtained by crossing the best trees father and mother.

The genetic improvement of cacao is a strategy for more productive trees (Ramírez, 1987) through hybridization especially resistant to incorporate resistance characteristics “moniliásis”; however, in the process of obtaining hybrid intervening weather conditions and varies from month to month as previously reported by Martins *et al.* (1998) In addition, the results indicate that there is an influence on the volume and type of container covering the inflorescence during a period of approximately 48 h.

The results indicate that a correlation exists between temperature, engraftment of fruit or arriving at physiological maturity, has previously been reported that the temperature in the ignition of fruits is associated or temperature because for optimum growth of cocoa and favors flowering and fruiting, the ambient temperature must be between 23 and 26 °C (James *et al.*, 2008). The results obtained in this work in controlled pollinations, the temperature that occurred during the winter months were 19 °C at 28 °C with a mean temperature of 23.5 °C, these low temperatures allowed obtaining higher number of fruits that reached physiological maturity and were harvested. Although, some other climatic factors such as incidence of relative humidity, rainfall and sunshine and cloudy days were not analyzed, it appears that the temperature influences the take of the flower to the formation of mature fruit as is explained even in part by a correlation analysis.

According with Cadavid-Vélez (2006), productivity in plants of commercial value for its seeds, is associated with the genetic potential and character of planting material compatibility.

Para Godoy *et al.* (2009) la incompatibilidad sexual es uno de los factores que contribuyen a la baja productividad del cacao, otros factores que pueden influir en el genotipo es la variabilidad en el rendimiento del polen, el número de óvulos, y la relación P: O (polen-óvulo). Esta condición fue observada en este trabajo, debido a que se encontraron genotipos con baja y nula compatibilidad, clasificándose dentro de los primeros los cruces INIFAP X PA 169, ICS 95 X INIFAP 1, INIFAP C-2 X ICS 95, ICS 95 X INIFAP 8, INIFAP C-2 X INIFAP 1, INIFAP X UF 273, PA 169 X INIFAP 8 (con 2 familias), UF 273 X INIFAP, PA 169 X INIFAP, ICS 95 X INIFAP C-2, INIFAP 8 X INIFAP C-2 e INIFAP 8 X ICS95 (con 1 familia); los cruces con nula compatibilidad fueron PA 169 X INIFAP, UF 273 X INIFAP 8, UF 273 X INIFAP C-2, INIFAP X PA 169, INIFAP C-2 X INIFAP 8, INIFAP 1 X INIFAP C-2 y UF 273 X PA 169.

Conclusiones

Los resultados mostraron que el recipiente de 20 mL permitió 95% de flores sin abscisión aptas para su polinización después de 24 h, mientras que en los demás tratamientos a 48 h y 72 h se presentó 100% de abscisión de flores, por lo que no son apropiados para la formación de híbridos. Adicionalmente, con el recipiente de 20 mL es posible obtener hasta 48% de prendimiento de las flores polinizadas de forma manual. Esta información es relevante debido a que permitirá la formación de híbridos intercloniales de cacao para resistencia a “moniliásis”.

Con base a las condiciones de trabajo y con la información analizada de febrero de 2011 a febrero de 2012 se concluye que durante los meses de febrero y diciembre se cuenta con las condiciones más apropiadas para realizar polinizaciones controladas ya que presenta temperaturas de 19 °C a 28 °C con temperatura media de 23.5 °C, favoreciendo el mayor prendimiento de flores y cosecha de frutos, condiciones que se dan en el invierno. Por el contrario, incrementos de temperatura que se registran durante los meses de marzo, abril y mayo están asociados a una baja en el prendimiento de frutos y cosecha de frutos. Además en este estudio fue posible observar genotipos compatibles que favorecen el prendimiento de flores, destacando el cruce de INIFAP 1 x UF 273 el cual permitió obtener 8 familias. Este trabajo ha permitido obtener por primera vez un total de 63 familias diferentes, descendientes de 23 cruzas diferentes.

The influence of genotype on the ignition of the fruit and larger amount of fruits that reach the crop is associated with the self-compatibility or inter-incompatibility pollen, cacao trees with compatibility allows the largest number of fruits as has been indicated in this species (Aranzazu *et al.*, 2008; López *et al.*, 2011), the INIFAP 1 X UF 273 and UF 273 X INIFAP 1 crosses were classified as highly compatible with eight seven families, respectively, and crossing and INIFAP 8 X PA 169 average support five families.

Godoy *et al.* (2009), sexual incompatibility is one of the factors contributing to low productivity of cocoa, other factors that may influence the genotype is the variability in performance of pollen, ovule number, and relationship P: O (pollen-ovule). This condition was observed in this work, because genotypes with low and no support is found, ranking within the first crossings INIFAP X PA 169, ICS 95 X INIFAP 1 INIFAP C-2 X ICS 95, ICS 95 X INIFAP 8 INIFAP INIFAP C-2 X 1 X UF 273 INIFAP, PA INIFAP 169 X 8 (with 2 families), UF INIFAP X 273, 169 X INIFAP PA, ICS 95 X INIFAP C-2, C INIFAP INIFAP 8 X-8 X 2 e INIFAP ICS95 (1 family); compatibility with zero crossings were PA 169 X INIFAP INIFAP X UF 273 8 273 X UF INIFAP C-2, X INIFAP PA 169, C-2 INIFAP INIFAP X 8 1 X INIFAP INIFAP C-2 and 273 X UF PA 169.

Conclusions

The results showed that the vessel 20 mL allowed 95% of flowers without suitable abscission pollination after 24 h, whereas in the other treatments at 48 h 72 h 100% abscission offlowers is presented, so that they are not suitable for hybrid formation. Additionally, 20 mL container is possible to obtain up to 48% engraftment pollinated flowers manually. This information is important because it would allow the formation of hybrids of cocoa resistant to “moniliásis”.

Based on the working conditions and the information analyzed from February 2011 to February 2012 concluded that during the months of February and December has the most appropriate for conditions and controlled pollinations having temperatures of 19 °C at 28 °C with a mean temperature of 23.5 °C, favoring greater engraftment of flowers and fruit crop, conditions that occur in the winter. By contrast, increases in temperature that occurs during the months of March, April and May are associated with a drop in take of fruits and fruit yield. Also in this study, it was observed compatible genotypes favoring the take offflowers,

Agradecimientos

Al CONACYT FOMIX- CCYETET y gobierno del estado de Tabasco a través del proyecto con clave TAB-2010-C20-144013.

Literatura citada

- Aranzazu, F.; Martínez, N. y Rincón-Guarín, D. A. 2008. Autocompatibilidad e intercompatibilidad sexual de materiales de cacao. Modelos para el empleo de los materiales de cacao más usados en Colombia utilizando los mejores porcentajes de intercompatibilidad. Libro técnico. Unión Temporal Cacao de Colombia. Bucaramanga, Colombia. 24 p.
- Arguello, C. O. 1997. Evaluación de materiales de cacao por resistencia a *Moniliophthora roreri* en Santander. In: Tercer Seminario Técnico de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. CORPOICA sede Colombia. 70 p.
- Azpeitia, M. A.; López, A. P. A.; Mirafuentes, H. F. 2008. Comportamiento de genotipos de cacao (*Theobroma cacao* L.) resistentes a “moniliasis” en el estado de Tabasco, México. In: Memoria de la 3^a. Reunión Nacional de Innovación Agrícola y Forestal. Mérida, Yucatán 2008. 182 p.
- Azpeitia, M. A.; Mirafuentes, H. F.; López, A. P. A. y Castillo, G. R. 2009. Evaluación de genotipos de cacao (*Theobroma cacao* L.) resistentes a “moniliasis” en el estado de Tabasco, México. In: Memoria del PCCMCA. Campeche, México. 128 p.
- Azpeitia, M. A.; Barrón, G. Y. P. Mirafuentes, H. A. P. A.; Castillo, G. R. y López Andrade F. 2011. Tecnología adaptada para la formación de híbridos intercloniales de cacao en Tabasco. In: XXII Reunión Científica-Tecnológica Forestal y Agropecuaria. Villahermosa, Tabasco. 266-270.
- Barrón, G. Y. P.; Azpeitia, M. A.; Mirafuentes, H. F.; Castillo, G. R. y López, A. P. A. 2011. Producción de híbridos intercloniales de cacao para resistencia a “moniliasis”. In: XXII Reunión Científica-Tecnológica Forestal y Agropecuaria. Villahermosa, Tabasco. 263- 266.
- Cadavid-Vélez, S. 2006. Características de compatibilidad sexual de algunos clones de cacao y su aplicación en siembras comerciales. Compañía Nacional de Chocolates. Colombia. 28 p.
- Debouck, D.; Ebert, A.; Peralta, B. E. M. A. y Ramírez, M. 2008. La importancia de la utilización de la diversidad genética vegetal en los programas de investigación agrícola en América Latina. Recursos Naturales y Ambiente. 53:46-53.
- Godoy, P. R.; Esteves, de S. M. M.; Amaral, R. F.; Lawinsky, P. R.; Araújo, I. S. and Ahnert, D. 2009. Performance polínica em cacaueiros (*Theobroma cacao* L.) autocompatíveis e autoincompatíveis. Revista Brasileira de Botânica. 32:617-620.
- Jaimes, Y. y Aranzazu, F. 2010. Manejo de las enfermedades del cacao (*Theobroma cacao* L.) en Colombia con énfasis en monilia (*Moniliophthora roreri*) Colombia: CORPOICA. 90 p.
- James, M. J.; Bonilla, C.; Agüero, C. J. y León, L. 2008. Manual de manejo y producción del Cacaotero. Nicaragua, 40 p.
- López-Báez, O. 1995. Características del fruto del germoplasma de cacao, *Theobroma cacao* L., seleccionado en Rosario Izapa, Chiapas. Agric. Téc. Méx. 21(2):127-137.
- Lopes, U. V.; Monteiro, W. R.; Pires, J. L.; Clement, D.; Yamada, M. M. and Gramacho, K. P. 2011. Cacao breeding in Bahia, Brazil-strategies and results. Crop Breed. Appl. Biotechnol. S1:73-81.
- Martins, P. L.; Yamada, M. M. y Ahner, D. 1998. Recomendações para determinação da incompatibilidade sexual no cacauzeiro. Livro técnico, Governo da Bahia, Brasil. 24 p.
- Olivares-Sáenz, E. 1994. Paquete de diseños experimentales FAUANL. Versión 2.5. México: Facultad de Agronomía Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Phillips-Mora, W. 2003. Origin, biogeography, genetic diversity and taxonomic affinities of the cacao (*Theobroma cacao* L.) fungus *Moniliophthora roreri* as determined using molecular, phytopathological and morpho-physiological evidence. Thesis (Ph.D.). The University of Reading. Reino Unido. 349 p.
- Phillips-Mora, W.; Coutiño, A.; Ortiz, G. F.; López, A. P.; Hernández, J. and Aime, M. C. 2006. First report of *Moniliophthora roreri* causing frosty pod rot (“moniliasis” disease) of cocoa in México. Plant Pathol. 55:584.
- Phillips-Mora, W.; Aime, M. C. and Wilkinson, M. J. 2007. Biodiversity and biogeography of the cacao (*Theobroma cacao*) pathogen *Moniliophthora roreri* in Tropical America. Plant Pathol. 56:911-922.
- Phillips-Mora, W. and Wilkinson, M. J. 2007. Frosty pod, a disease of limited geographic distribution but unlimited potential for damage. Phytopathology 97(12):1644-1647.
- Phillips-Mora, W. 2009. Overcoming the main limiting factors of cacao production in Central America through the use of improved clones developed at CATIE. COPAL meeting. Bali, Indonesia. 1-6 p.
- Phillips-Mora, W.; Arciniegas-Leal, y Mata-Quirós, A. 2012. Catálogo de clones de cacao seleccionados por el CATIE para siembras comerciales. Costa Rica: CATIE. 70 p.
- Ramírez-Guillermo, M. Á. y López-Andrade, P. A. 2012. Reacción de dos clones “CONADECA” de cacao (*Theobroma cacao* L.) inoculados artificialmente en *Moniliophthora roreri* causal de la moniliasis del cacao. In: I Simposium internacional en producción agroalimentaria y XXIV reunión científica-tecnológica forestal y agropecuaria Tabasco. Cárdenas, Tabasco.
- Ramírez, M. G. L. 1987. Herencia de ciertos caracteres la mazorca y del árbol de cacao (*Theobroma cacao* L.). Tesis de maestría en ciencias. Universidad de Costa Rica. Costa Rica. 97 p.
- Rodríguez, L. y Medina, J. 2005. Caracterización de clones de cacao por respuesta a monilia (*Moniliophthora roreri* (Cif & Par) Evans et al.) en Santander. Fitopatología Colombiana. 28(2):61-64.
- Somarriba, Ch. E.; Cerda, B. R.; Astorga, D. C.; Quesada, Ch. F. y Vásquez, M. N. 2010. Reproducción sexual del cacao. Costa Rica: CATIE. 48 p.
- Suárez, C. C. 1982. El problema de la moniliasis y su combate en el Ecuador. In: Enriquez, G. A. Ed. La moniliasis de cacao. CATIE. Serie técnica. 70-78 pp.

End of the English version

