

ESTADO LIBRE ASOCIADO DE HONDURAS
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE HONDURAS

ZAMORANO
CARRERA DE DESARROLLO SOCIO ECONÓMICO Y AMBIENTE

**BÚSQUEDA Y EVALUACIÓN DE LA
ENFERMEDAD DE LA HOJA PEQUEÑA
EN POBLACIONES NATURALES DE
Gliricidia sepium EN EL LITORAL
PACIFICO DE HONDURAS, EL
SALVADOR Y NICARAGUA**

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniero
Agrónomo en el Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Pablo Washington Ramírez Mejía

300920

MICROISIS:	_____
FECHA:	_____
ENCARGADO:	_____

Honduras: Abril, 2000

#1144

**El autor concede a Zamorano permiso
para reproducir y distribuir copias de este
trabajo para fines educativos. Para otras personas
físicas o jurídicas se reservan los derechos de autor.**



Pablo Washington Ramírez Mejía

Zamorano, Honduras

DEDICATORIA

A mis padres queridos por todo su apoyo y paciencia, gracias a su amor y sacrificio e podido llegar a este importante punto en mi vida.

A mis hermanos por todos los momentos buenos y malos que vivimos juntos, por los momentos felices y las peleas que hemos tenido, por la unión que tenemos, los amo.

A mi abuelita por ser una de las personas más importantes de mi vida por su cariño, por su alegría, por su mal humor.

A esos amigos allá en la distancia porque de una u otra forma han influido en lo que soy ahora. Suerte y que Dios los bendiga.

A mi Patria querida tan golpeada en los últimos años, que estos problemas pasen y nos ayuden a ser mejores que antes, que el granito de arena que pueda aportar con mi educación te ayude a salir adelante.

A Dios por ser la razón de todo lo que soy y lo que me rodea, por guiarme por la vida, por darme más de lo que yo te pido.

AGRADECIMIENTOS

Al personal docente y administrativo que a lo largo de estos cuatro años han enriquecido mi conocimiento y mi experiencia.

A la Doctora Sally Gladstone y su familia, gracias por el apoyo brindado estos meses y por acogerme en su casa con los brazos abiertos.

A la Doctora Ma. Mercedes Doyle por las facilidades prestadas para realizar las pruebas de laboratorio.

Al Doctor George Pilz por su experiencia y consejos, por la ayuda prestada para realizar los viajes que tuve que hacer y los inconvenientes que esto pudo causarle.

Al personal encargado de la Estación Experimental Santa Rosa parte de CONSEFORH, sin su ayuda no hubiera podido ser posible la visita de otros sitios de mucha importancia.

Al SITU (Instituto Salvadoreño de Turismo) el cual nos facilito el permiso y el personal para realizar las observaciones en el Parque Nacional Walter Deininger.

A MARENA () y a la Lic. Nydia de Gutiérrez directora del Parque Nacional Volcán Masaya que nos ayudaron en nuestra visita al parque.

A los amigos que gane durante todos estos años dentro y fuera de Zamorano.

A Brigitte por ser la persona con la cual siempre puedo contar en cualquier momento, gracias por ser mi luz y mi alegría en su sitio que puede ser a veces muy indiferente.

AGRADECIMIENTOS A PATROCINADORES

Al IECE (Instituto Ecuatoriano de Crédito Educativo y Becas) por la ayuda prestada para empezar mis estudios en Zamorano.

A la Carrera de Desarrollo Socioeconómico y Ambiente por ayudarme económicamente el último trimestre de mi carrera. A su personal humano el mejor con el que pude haber contado y a las facilidades que me brindó a lo largo de este cuarto año sin las cuales no hubiera podido realizar este trabajo.

AGRADECIMIENTOS A PATROCINADORES

Al IECE (Instituto Ecuatoriano de Crédito Educativo y Becas) por la ayuda prestada para empezar mis estudios en Zamorano.

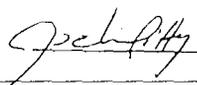
A la Carrera de Desarrollo Socioeconómico y Ambiente por ayudarme económicamente el último trimestre de mi carrera. A su personal humano el mejor con el que pude haber contado y a las facilidades que me brindó a lo largo de este cuarto año sin las cuales no hubiera podido realizar este trabajo.

RESUMEN

Ramírez, Pablo. 2000. Búsqueda y evaluación de la enfermedad de la hoja pequeña en poblaciones naturales de *Gliricidia sepium* en el litoral Pacífico de Honduras, El Salvador y Nicaragua. Proyecto Especial del Programa de Ingeniero Agrónomo. El Zamorano, Honduras. 37 p.

Gliricidia sepium (madreado, mata ratón, madre cacao, madero negro) es una especie promisoriosa de usos múltiples en Centroamérica. En la actualidad la Enfermedad de la Hoja Pequeña (EHP) que afecta a esta especie, producida por un fitoplasma, es muy estudiada debido a las posibles consecuencias graves que podría traer por muerte masiva de árboles. A fin de tener una idea más clara del origen de la enfermedad y su impacto actual en la comunidad, se buscó en diferentes áreas del Litoral Pacífico de Centroamérica la presencia de la enfermedad y su impacto en las poblaciones naturales de *G. sepium*, para entender mejor la epidemiología y buscar soluciones al manejo de la enfermedad. Los sitios visitados en Honduras fueron los rodales naturales de la Estación Experimental Santa Rosa, La Garita, Guayabillas y Zacate Grande, en El Salvador el Parque Nacional Walter Deininger y en Nicaragua el Parque Nacional Volcán Masaya y el Refugio de Vida Silvestre Chacocente. En cada sitio se ubicaron síntomas visuales y se tomaron muestras para realizar PCR (Reacción en cadena de la Polimeraza, por sus siglas en inglés). Sólo la estación Santa Rosa, el Parque Walter Deininger y la reserva Chacocente tuvieron pruebas de PCR negativas. El resto de sitios presentaban la enfermedad, aunque el nivel de severidad por árbol que se muestreó fue moderado. La gente entrevistada describió muchos usos de esta especie, algunos poco conocidos, pero desconocían la enfermedad, o la conocían pero no la asociaban con la muerte de los árboles de madreado y apenas dos de 20 personas entrevistadas notaron problemas con el madreado. La enfermedad en los sitios visitados no es percibida como un problema a corto ni a mediano plazo; en estos sitios hay ecotipos de buenas características y tolerantes a la enfermedad como en Guayabillas (de características buenas ya estudiadas para la EHP), La Garita y Zacate Grande que podrían ser con un estudio de resistencia más detallado, una buena alternativa en el futuro. De las áreas en Honduras que se encontraban cercanas a focos de agricultura, sólo la estación Santa Rosa no presentó la enfermedad, posiblemente por las labores culturales que se realizan en el sitio. En las áreas naturales, sólo en el Parque Volcán Masaya se encontró la enfermedad; esto muestra la posible relación entre el apareamiento de la enfermedad en un sitio, con la cercanía de la agricultura.

Palabras claves: EHP, fitoplasma, madreado, mata ratón, PCR, usos múltiples.



Dr. Abelino Pitty

NOTA DE PRENSA

EL MADREADO, ¿AMENAZADO POR LA ENFERMEDAD DE LA HOJA PEQUEÑA?

El Madreado (*Gliricidia sepium*) es una especie muy conocida y apreciada por la gente que vive en el campo, no sólo en Honduras sino en toda Centroamérica.

El árbol es muy bien conocido por los múltiples usos que brinda. Entre los principales se encuentran:

- Combustible como leña y carbón
- Madera para construcción, muebles artículos pequeños, implementos agrícolas y mangos de herramientas.
- Cercas vivas, por su fácil propagación y establecimiento.
- Sombra y soporte de otros cultivos, como café, cacao, pimienta negra.
- Alimento para el ganado en especial rumiantes pequeños como cabras y ovejas.
- Medicina para aliviar fiebres o problemas de hongos en la piel.
- Veneno para ratas cualidad por el se conoce también a esta especie como mata ratón

Aunque este árbol crece sin ningún problema, está acostumbrado a sobrevivir en condiciones muy rústicas, recientemente a principios de los noventas se detectó una enfermedad causada por un organismo poco conocido en nuestro medio en esos momentos. Esta enfermedad producida por un fitoplasma, conocida como la enfermedad de la hoja pequeña (EHP) de *G. sepium*, causa amarillamiento, reducción del tamaño de las hojas, muerte progresiva de las ramas y finalmente la muerte.

Los fitoplasmas son los procaríotas más pequeños capaces de replicación autónoma. Muy parecidos a bacterias no poseen pared celular y no pueden ser reproducidos en medios de cultivo. Por mucho tiempo los síntomas que estos producían eran confundidos con los producidos por los virus, pero en la actualidad se conocen más de 600 enfermedades producidas por estos organismos.

Zamorano es uno de los líderes en las Américas en el estudio de la enfermedad de la hoja pequeña. Cuenta con plantaciones que han sido monitoriadas por 10 años. T. Jordán (1997) evaluó diez procedencias de *Gliricidia sepium*, encontrando tres procedencias de esta especie tolerantes a la enfermedad adecuados para sitios de elevación moderada (800 msnm) y precipitaciones entre 900 a 1100 mm de lluvia.

Saballos (1999) optimizó el método desarrollado el Dr. N. Harrison de la Universidad de Florida para diagnóstico molecular de *Candidatus Phytoplasma gliricidiora*, (fitoplasma causante de la enfermedad) haciéndolo más confiable y sensible para detectarlo.

Campaña (2000) a encontrado que la enfermedad puede ser transmitida tanto por estacas como por semilla y flores, en tanto que el insecto *Empoasca hastosa* fue identificada como un vector de la enfermedad. *Ollarianos sp.* es también un posible vector.

Para conocer el impacto que esta enfermedad a causado a poblaciones naturales de madreño, se busco lugares identificados como rodales naturales y en zonas identificadas como parques o reservas protegidas.

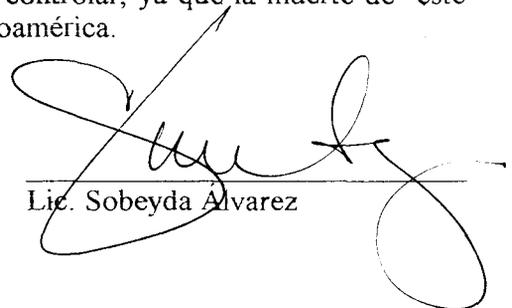
Los sitios visitados en Honduras fueron la Estación Experimental “Santa Rosa”, La Garita, Guayabillas y Zacate Grande, en El Salvador el Parque Nacional Walter Deinger y en Nicaragua el Parque Nacional Volcán Masaya y el Refugio de Vida Silvestre “Chacocente”.

En cada sitio se ubicaron síntomas visuales y se tomaron muestras para un análisis molecular en el laboratorio. Sólo Santa Rosa, Deinger y Chacocente salieron con resultados negativos. El resto de sitios presentaban la enfermedad aunque el nivel de severidad por árbol que se muestreo fue moderado.

La gente entrevistada describió muchos usos de esta especie, algunos poco conocidos, pero desconocían la enfermedad, o la conocían pero no la asociaban con la muerte de los árboles y apenas dos de 20 personas notaron algún tipo de problema con el madreño. La enfermedad en los sitios visitados no es percibida como un problema a corto ni a mediano plazo, en estos sitios hay procedencias de buenas características tolerantes a la enfermedad como Guayabillas (de características buenas ya estudiadas para la EHP), La Garita y Zacate Grande que podrían ser con un estudio de resistencia más detallado, una buena alternativa en el futuro.

La enfermedad no puede ser un problema ahora pero esa no es razón para que la enfermedad en el futuro no sea un problema. Esta enfermedad mata a los árboles muy lentamente por lo que sus consecuencias no pueden ser vistas por el momento.

Zamorano sigue investigando esta enfermedad y esta buscando soluciones para su manejo, antes que se convierta en un problema más difícil de controlar, ya que la muerte de este árbol sería un duro golpe al sector rural de toda Centroamérica.



Lic. Sobeyda Alvarez

CONTENIDO

	Portadilla.....	I
	Autoría.....	ii
	Página de firmas.....	Iii
	Dedicatoria.....	iv
	Agradecimientos.....	V
	Agradecimientos a patrocinadores.....	vi
	Resumen.....	vii
	Nota de prensa.....	viii
	Contenido.....	x
	Índice de Cuadros.....	xiii
	Índice de Figuras.....	xiv
	Índice de Anexos.....	xv
1.	INTRODUCCIÓN.....	1
1.1	LIMITES DEL ESTUDIO.....	2
1.2	OBJETIVOS.....	2
1.2.1	Objetivo general.....	2
1.2.2	Objetivos específicos.....	2
2.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1	<i>Gliricidia sepium</i>	3
2.1.1	Botánica.....	3
2.1.2	Ecología y distribución.....	4
2.1.3	Usos comunes.....	5
2.1.3.1	Producción de leña.....	5
2.1.3.2	Madera.....	5
2.1.3.3	Cercas vivas.....	6
2.1.3.4	Forraje.....	6
2.1.3.5	Abono verde.....	7
2.1.3.6	Sombra y soporte para otros cultivos.....	8
2.1.3.7	Otros usos.....	8
2.1.4	Formas de propagación.....	8
2.1.5	Plagas y enfermedades.....	9
2.2	FITOPLASMAS.....	10
2.2.1	Características generales.....	10
2.2.2	Síntomas y formas de transmisión.....	11
2.2.3	Control.....	12
2.3	ENFERMEDAD DE LA HOJA PEQUEÑA.....	12

2.3.2	Síntomas de la enfermedad.....	13
2.4	REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERAZA.....	13
2.4.1	Generalidades.....	13
2.4.2	PCR para el diagnóstico la enfermedad de la hoja pequeña de <i>Gliricidia sepium</i>	15
3.	MATERIALES Y MÉTODOS	16
3.1	SITIOS DEL ESTUDIO.....	16
3.2	ÁREAS DE RODALES NATURALES.....	16
3.2.1	Estación experimental “Santa Rosa” CONSEFORH.....	16
3.2.2	La Garita, Guayabillas, Zacate Grande.....	17
3.3	ÁREAS PROTEGIDAS.....	18
3.3.1	Parque Nacional Walter Deinger.....	18
3.3.2	Refugio Vida Silvestre Chacocente.....	19
3.3.3	Parque Nacional Volcán Masaya.....	19
3.4	RECOLECCIÓN DE MUESTRAS.....	20
3.5	DATOS TOMADOS POR ÁRBOL.....	21
3.5.1	Características del árbol.....	21
3.5.2	Características de la enfermedad.....	21
3.5.3	Severidad.....	22
3.6	MUESTRAS ANALIZADAS CON PCR.....	22
3.7	Percepción de los pobladores sobre la enfermedad de la hoja pequeña.....	23
4.	RESULTADOS	24
4.1	PRESENCIA DE SÍNTOMAS DE LA EHP EN LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL SANTA ROSA Y RODALES NATURALES.....	24
4.1.1	Estación experimental Santa Rosa CONSEFORH.....	24
4.1.2	La Garita.....	24
4.1.3	Guayabillas.....	24
4.1.4	Zacate Grande.....	25
4.2	RESULTADOS DE LAS PRUEBAS PCR EN LAS ÁREAS DE RODALES NATURALES.....	25
4.3	PRESENCIA DE SÍNTOMAS DE LA EHP EN LAS ÁREAS PROTEGIDAS.....	25
4.3.1	Parque Nacional Walter Deinger.....	25
4.3.2	Refugio de Vida Silvestre Chacocente.....	25
4.3.3	Parque Nacional Volcán Masaya.....	25
4.4	RESULTADOS DE LAS PRUEBAS PCR.....	26
4.5	HISTORIA DE LA EHP.....	26
4.5.1	Historia de la enfermedad en los sitios visitados de El Salvador, Honduras y Nicaragua.....	27
5.	DISCUSIÓN	30
6.	CONCLUSIONES	31

7.	RECOMENDACIONES.....	32
8.	BIBLIOGRAFÍA.....	33
9.	ANEXOS.....	35

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro

1.	Composición química, digestibilidad <i>in Vitro</i> de materia seca DIVMS y consumo voluntario de <i>Leucaena leucocephala</i> , <i>Gliricidia sepium</i> y <i>Guazuma ulmifolia</i>	7
2.	Valores medios de elementos del suelo en parcelas de 3 eco tipos de “Mata ratón” (<i>Gliricidia sepium</i>) sembrados con 10,000 plantas/ha en el periodo de un año.....	7
3A.	Plagas insectiles de <i>Gliricidia sepium</i>	9
3B.	Enfermedades de <i>Gliricidia sepium</i>	10
4.	Sitios de muestreo en el Litoral Pacífico.....	16
5.	Resultados de las pruebas PCR para EHP en <i>G. sepium</i> presente en la Estación Experimental Santa Rosa y los rodales naturales en Honduras	25
6.	Resultado de las pruebas PCR para EHP en <i>G. sepium</i> presente en áreas protegidas de El Salvador y Nicaragua.....	26

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		
1.	Caracterización de las hojas, flores y frutos de <i>Gliricidia sepium</i>	4
2.	Distribución natural y naturalizada de <i>Gliricidia sepium</i> en América.....	5
3.	Cerca viva de <i>Gliricidia sepium</i>	6
4.	Fotografía electrónica de cuerpos de fitoplasma en una sección de floema de <i>gladiulos</i>	11
5.	Esquema del proceso de reacción en cadena de la Polimeraza.....	15
6.	Sitios visitados en los departamentos de Valle y Choluteca, Honduras.....	17
7.	Áreas protegidas en El Salvador.....	18
8.	Áreas protegidas en Nicaragua.....	20
9.	Usos de <i>Gliricidia sepium</i> en los sitios visitado.....	26
10.	Rangos de tiempo en los que se ha visto los síntomas de EHP en árboles de <i>G. sepium</i>	28
11.	Rangos de tiempo en los que se ha los síntomas de EHP en árboles de <i>G. sepium</i> en cada sitio visitado de Honduras, El Salvador y Nicaragua.....	28
12.	Respuestas de las personas en cada sitio sobre la posible muerte de árboles a causa de la enfermedad.....	29

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexos

1.	Resultados de la encuesta realizada en cada uno de los sitios visitados.....	35
2.	Gel de electroforesis usado para diagnosticar ausencia o presencia del fitoplasmas de la EHP en muestras amplificadas por PCR.....	36
3.	Resultados del diagnostico de las pruebas de PCR.....	37

1.1 LIMITES DEL ESTUDIO

- La distancia a los sitios de observación desde Zamorano limitaron el tiempo y el número de visitas y datos que se pudieron obtener.
- La cantidad de pruebas PCR que se podían procesar estuvo limitada por el personal, el tiempo de procesamiento de las muestras y su costo.
- El no conocer bien y con suficiente tiempo las localidades donde se iba a trabajar disminuyó el tiempo disponible para el resto de actividades.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 General:

Buscar en diferentes puntos del Litoral Pacífico de Centroamérica la presencia de la enfermedad de la hoja pequeña y su impacto en las poblaciones naturales de *G. sepium* dentro y fuera de áreas protegidas, a fin de tener una idea más clara del origen de la enfermedad y su impacto actual en las comunidades visitadas con el fin de entender mejor la epidemiología y a su vez buscar soluciones en el manejo de la enfermedad.

1.2.2 Específicos:

- Evaluar la presencia o ausencia de la enfermedad y el nivel de severidad en los árboles que se pudieran encontrar afectados en cada uno de los tres sitios naturales que se visitaron.
- Evaluar el grado de severidad de árboles enfermos en lugares donde se han identificado rodales naturales de *G. Sepium* que están en contacto constante con la gente y la agricultura.
- Conocer cuales son las ideas y percepciones de la gente que vive en las zonas visitadas acerca de la enfermedad de la hoja pequeña y estimar las pérdidas que ha ocasionado desde su punto de vista.
- Dejar una base establecida para que futuros estudios puedan seguir buscando y analizando la forma en la que la enfermedad se está desarrollando en Centroamérica.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 *Gliricidia sepium*

2.1.1 Botánica

Gliricidia sepium (Jacquin) Kunth es una leguminosa de la familia Fabaceae. Es árbol de tamaño pequeño a mediano sin espinas que alcanza de 10 a 15 metros de altura. Puede ser un árbol ya sea de tallo sencillo o tallos múltiples con troncos de diámetros de 30 cm. La corteza es entre gris-café y blanquecina y puede ser profundamente corrugada en los árboles viejos de grandes diámetros. Las hojas son opuestas en su composición y alternas en su arreglo y de 20 a 30 cm de largo. Las hojitas tiernas son generalmente opuestas en su arreglo. En algunos especímenes las hojitas pueden ser elípticas con puntas redondeadas (Lavin, 1996). Sus hojas compuestas, imparipinadas, alternas y deciduas, tienen siete a 17 hojuelas ovadas a elípticas u oblongolanceoladas, de 3 a 7 cm de largo, opuestas en el raquis y de color gris claro en el envés (Holdridge y Poveda, 1975) (Figura 1).

El sistema radicular de las plantas provenientes de semillas es profundo con una raíz pivotante y raíces laterales en ángulos agudos respecto a la raíz principal, mientras que en plantas provenientes de estacas son superficiales (CATIE, 1991). Sus raíces se encuentran asociadas simbióticamente a un tipo de *Rhizobium*, lo que le da la capacidad como a toda leguminosa de fijar el nitrógeno atmosférico al suelo.

Las flores son zigomorfas, papilionadas, en forma de guisantes, de 2 a 2.5 cm de largo, con tallos delgados en racimos densos de 5 a 10 cm de largo, de color rosado blanzuzco o matizados de púrpura (CATIE, 1991) (Figura 1).

La floración comienza con la época seca. En sitios donde esta época es muy pronunciada los árboles pierden casi todas sus hojas. En su medio natural la floración ocurre de noviembre a marzo. En áreas sin una estación seca pronunciada, la floración puede ocurrir todo el año pero se forman pocas vainas (Lavin, 1996).

El fruto son vainas dehiscentes, succulentas cuando inmaduras. De verdes se vuelven como de madera y amarillas con la maduración, la que requiere de 35 a 60 días. Las vainas contienen de 3 a 10 semillas y revientan con explosión. Pueden alcanzar un tamaño completo de 10 a 20 cm, dentro de tres semanas de la fertilización (Lavin, 1996; Simons, 1996) (Figura 1).



Figura 1. Caracterización de las hojas, flores y frutos de *Gliricidia sepium*.
Fuente: CATIE, 1991.

2.1.2 Ecología y distribución

Los requerimientos ecológicos de la especie, según el Centro Agronómico de Investigación y Enseñanza (CATIE, 1991) son:

- Temperatura de 22° a 30°.

- **Altitud.** En América Central se encuentra en las planicies y en las faldas de las montañas hasta los 1600 msnm, pero principalmente debajo de 500 m.
- **Precipitación.** De 1500 a 2500 mm pero ha sido plantada exitosamente en climas con precipitaciones de 785 y 3500 mm anuales, preferiblemente con una estación seca bien definida.
- **Suelos.** Crece bien en suelos húmedos o secos, incluso suelos que tienen gran concentración calcárea, pero no soporta aquellos de mal drenaje interno.

La especie tiene una distribución natural que va desde 7° 30' de latitud norte en Panamá, hasta 25° 30' latitud norte en México (CATIE, 1991) (Figura 2). Es propio de las tierras secas y sub húmedas de la Costa Pacífica, además de los valles interiores que poseen las mismas condiciones.

Gliricidia sepium fue distribuida a otras partes de América por las comunidades indígenas que radicaban en ella. Los españoles la introdujeron en el Caribe y en las Filipinas. En el último siglo la *G. sepium* se ha vuelto común en los trópicos.

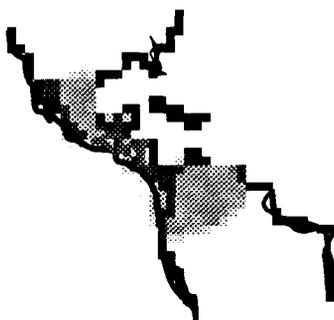


Figura 2. Distribución natural y naturalizada de *Gliricidia sepium* en América
Fuente: CATIE, 1991

2.1.3 Usos comunes

2.1.3.1 Producción de leña. Donde quiera que crece esta especie, su madera dura y pesada, que tiene un peso específico de 0.5 a 0.8, se usa como combustible. Aunque no es un árbol alto sus ramas producen mucha madera y rebrotan rápidamente. Su valor calorífico es 4900 kcal/kg (CATIE, 1984).

2.1.3.2 Madera. La madera tiene un acabado liso y es apropiada para muebles, artículos pequeños, implementos agrícolas y mangos de herramientas. Es altamente resistente a la pudrición y las termitas, por lo que se usa para postes y construcción pesada (CATIE, 1984).

2.1.3.3 Cercas vivas. *G. sepium* puede ser la especie para cerca viva más común en los trópicos (Figura 3). Los postes para cerca se establecen con estacas grandes. Pueden plantarse de 1 a 2 m de espaciado y unirse con alambre de púas o bambú. Alternativamente pueden plantarse de 10 a 20 cm de distancia como una empalizada y sus ramas entrelazadas (Stewart *et al*, 1996). De las cercas se cosecha leña, postes, forraje y abono verde.



Figura 3. Cerca viva de *Gliricidia sepium*
Fuente: CATIE, 1984

2.1.3.4 Forraje. Respondiendo bien a las podas frecuentes, *G. sepium* produce cantidades abundantes de forraje nutritivo que contiene de 18 a 30% de proteína cruda, superando otras especies en términos de digestibilidad, composición química y consumo (Cuadro 1). El ganado en especial rumiantes menores responde bien al forraje. Algunos animales se rehúsan a comer de ésta, pero el entrenamiento puede superar este problema. Una vez que la *G. sepium* es aceptada, las crías subsiguientes se aprestan a consumirla (sin embargo son tóxicas para la mayoría de los otros animales de crianza, incluyendo los caballos). Podar los árboles antes de la estación seca permite que el rebrote crezca para ser guardado para uso como alimento en la estación seca. Las plantaciones para forraje varían desde filas para linderos con 10 a 50 cm de espacio en la fila y 1 a 4 m en espaciado entre filas, hasta plantaciones en bloques de 50 x 50 cm a 1 x 3 m. La producción varía de 2 a 20 t/ha (Stewart *et al*, 1996). Las cáscaras de la vaina son comidas por el ganado en Bali como forraje en la estación seca.

Cuadro 1. Composición química, digestibilidad *in Vitro* de materia seca DIVMS y consumo voluntario de *Leucaena leucocephala*, *Gliricidia sepium* y *Guazuma ulmifolia*.

	Leucaena	Gliricidia	Guazuma
PC (%)	25.0	25.8	14.7
CPC (%)	47.8	43.5	49.5
FDA (%)	28.2	26.2	31.4
NIDA (% del N total)	7.4	10.7	24.2
DIVMS (%)	47.8	50.4	43.0
MS consumo (% peso vivo)	0.512c	0.868 ^a	0.709b

PC= proteína cruda

CPC= constituyentes de la pared celular

FDA= fibra detergente ácido

NIDA= nitrógeno soluble en detergente ácido

MS= materia seca

Medidas con la misma letra no son diferentes estadísticamente ($P \leq 0.05$).

Fuente: Vargas y Elvina, 1987, citados por CATIE, 1991.

2.1.3.5 Abono verde. Cuando se usa como lecho o abono verde, el follaje rico en nitrógeno mejora la producción de la siembra mediante la adición de nutrientes al suelo (Cuadro 2), control de malezas, conservación de la humedad y reducción de la temperatura del suelo. La biomasa de hoja es normalmente obtenida de las filas de lindero o de las cercas de alrededor o dentro del área de cultivo. Las filas para linderos se usan en los terrenos agrícolas en declive para controlar la erosión y la formación pasiva de terrazas.

Cuadro 2. Valores medios de elementos del suelo en parcelas de 3 eco tipos de “Mata ratón” (*Gliricidia sepium*) sembrados con 10,000 plantas/ha en el periodo de un año.

Eco tipos	pH	MO(%)	P (mg/kg)	K (mg/kg)	Ca (meq/100g)	Mg (meq/100g)
Monterrico (1)	6.6	3.17	136.7	1.02	11.8	4.87
Monterrico (2)	7.1	3.63	148.5	0.77	10.4	5.31
Bolívar (1)	6.5	2.36	120.4	1.40	8.8	3.99
Bolívar (2)	7	3.65	149.7	1.42	9	4.42
Cuyotenango(1)	6.4	2.50	125.8	1.06	10.2	3.85
Cuyotenango (2)	6.8	4.78	157.3	1.68	9.43	4.36

(1) Análisis inicial

(2) Análisis final

Fuente: María Elena Gómez y T R Preston, 1996. Fundación CIPAV (Centro para la Investigación en Sistemas Sostenibles de Producción Agropecuaria).
<http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd8/1/gomez.htm>.

2.1.3.6. Sombra y soporte para otros cultivos. *G. sepium*, además de conservar y mejorar el suelo, pese una copa ancha de follaje fino, lo cual permite que la luz se filtre, por lo tanto puede ser usada como sombra transitoria o permanente en cacaotales, cafetales y té, o como soporte vivo para vainilla, pimienta negra y ñame (CATIE, 1991).

2.1.3.7. Otros usos. Esta especie tiene otros múltiples usos en los que podemos citar los siguientes:

- Ornamentación. El árbol produce masas de bellas flores de rosadas a blancas que recuerdan a orquídeas.
- Miel. Sus flores son una fuente de alimentos para las abejas productoras de miel. Está plenamente reconocida como una planta melífera por las asociaciones de apicultores de varios países (<http://www.netcall.com.mx/abejas/alianza.html>).
- Alimentación humana. En varias partes de Centro América se acostumbra a consumir las flores en sopas y con huevos revueltos, aunque estas partes son venenosas. Posiblemente el proceso de cocción anula la toxicidad (CATIE, 1984).
- Con esta especie se fabrica venenos para matar roedores, e insecticidas (standard fruit lo usa en sus cultivos de piña) y se reportado que sus semillas son utilizadas para elaborar herbicidas.
- Medicina. Se usa como medicina tradicional para tratar problemas de infecciones fungosas, entre otros. A continuación se presenta una lista de algunos de los elementos encontrados en esta especie:
 - ◆ Afrormosin (isoflavan) – reportado como una agente antitumorigeno
 - ◆ Formononetin (isoflavan)
 - ◆ Gliricidin-6a -- madera
 - ◆ Gliricidol-9A -- madera
 - ◆ Medicarpin (a pterocarpan) – reportado como antifungoso
 - ◆ 7,4'-dihydroxy-3'-Methoxyisoflavin
 - ◆ 2'-O-Methylsepiol
 - ◆ Taninos – Tiene potencial antidiareico, antidisenterico, antimutagenico, antinephritico, antioxidante, antiradicular, antiviral, bactericida, preventivo contra el cáncer, hepatoprotectante, plaguicida, psychotropico.
 - ◆ 7, 3', 4'-Trihydroxyflavanone

(Fuente: <http://www.ansci.cornell.edu/plants/medicinal/gliricid.html>).

2.1.4 Formas de propagación

Esta especie es fácil de propagar por medio cortes o por semillas. Los cortes grandes, de 1 a 2.5 m de longitud y 6 cm de diámetro, se hacen de ramas de 1.5 a 2.5 años de edad. Los cortes pequeños de 30 a 50 cm de largo se hacen de ramas de 6 a 12 meses de edad. Las

ramas usadas para los cortes deben ser rectas y saludables, y sin cortes de ramas laterales. La parte de arriba del corte debe ser en sesgo para prevenir que colecte agua y que se pudra. La cáscara en la porción de abajo del corte debe ser raspada hasta en donde comienza a crecer, con un cuchillo afilado para estimular la formación de raíces. Un tercio de los cortes pequeños puede ser quemada. Para los cortes grandes, 50 cm es suficiente. El establecimiento de árboles por cortes tendrá un sistema de raíces poco profundo y un tronco corto. Son susceptibles de ser desraizados por los vientos fuertes.

La semilla es de color amarillo a café con 4,500 a 11,000/kg. Bajo condiciones óptimas de almacenaje, 6 a 10% del contenido de humedad a 4°C, la semilla permanece buena durante más de 10 años. A un contenido de 50% de humedad y 17°C la semilla puede ser almacenada durante un año. La semilla se planta sin tratamiento previo directamente en contenedores de invernadero. Se recomiendan prácticas normales de manejo de invernadero. Las plántulas están listas para trasplantar después de 2 a 3 meses en el invernadero, a una altura de 30 cm. La siembra directa es posible de 2 a 3 semillas en cada puesto de siembra a una profundidad de 1 a 2 cm. Se requiere la preparación del sitio para reducir la competencia. La siembra directa y las operaciones de trasplante deben coincidir con la estación lluviosa. Las plántulas son sensibles a la competencia. El control regular de maleza debe practicarse hasta que los árboles se hayan establecido bien.

2.1.5 Plagas y enfermedades

En el Cuadro 3A y 3B se listan las principales plagas y enfermedades conocidas en *Gliricidia sepium*, así como el nombre científico provisional del fitoplasma de la hoja pequeña.

Cuadro 3A. Plagas insectiles de *Gliricidia sepium*

Agente causal	Parte atacada	Daño
Plagas insectiles		
<i>Azeta versicolor</i> (Lepidoptera, noctuidae)	Follaje Desarrollado	Defoliador
<i>Omiodes martynatis</i> (Lepidoptera, pyralidae)	Follaje Desarrollado	Defoliador
<i>Phyllonorictor sp.</i> (Lepidoptera, grascilaridae)	Follaje Desarrollado	Minador
<i>Aphis spp.</i>	Brotes jóvenes	Chupador
<i>Spodoptera spp.</i>	Plántula	Cortador
<i>Empoasca hastosa</i> (Homoptera, cicadellidae)	Follaje	Chupador
<i>Agrotis spp.</i>	Plántula	Cortador

Cuadro 3B. Enfermedades de *Gliricidia sepium*

Agente causal	Parte atacada	Daño
Enfermedades fungosas		
<i>Cercosporium gliricidiasis</i>	Follaje maduro	Manchas redondas café claro, defoliación
<i>Colletotrichum gloesporoides</i>	Follaje	Manchas redondas café oscuro, defoliación
<i>Sirosporium gliricidiae</i>	Follaje	Manchas irregulares, amarillas en el haz, café en el envés
<i>Cladosporium sp.</i>	Follaje	Defoliación
<i>Sphaceloma sp.</i>	Follaje, peciolo y tallos	Lesiones color café
<i>Colletotrichum truncatum</i>	Follaje y tallos jóvenes	Parches necróticos y marchites de hojas
<i>Bothyosphaeria sp.</i> <i>Nectria sp.</i> <i>Phomopsis spp.</i>	Tallos y ramas	Muerte regresiva
<i>Armillaria mellea</i>	Cuello	Pudrición
<i>Rosellinia pepo</i>	Raíces	Pudrición
<i>Botrydiplodia theobromae</i>	Raíz	Pudrición
<i>Sphaerostilbe repens</i>	Raíz	Pudrición maloliente
<i>Merimbla sp.</i> <i>Fusarium pallidroseum</i>	Toda la planta	Muerte regresiva, amarillamiento y marchites
Otras enfermedades		
Infecciones virales	Enfermedad sistémica	Enrollamiento de hojas, amarillamiento, mosaico, distorsión foliar
Fitoplasma (<i>Candidatus Phytoplasma gliricidiora</i>)	Enfermedad sistémica	Reducción del tamaño de los folios, amarillamiento, distorsión foliar, proliferación de brotes, muerte regresiva

Fuente: Saballos, 1999

2.2 FITOPLASMAS

2.2.1 Características generales

En 1967, un grupo de investigadores japoneses integrado por Doi, Teranaka, Yora y Asuyama observaron por primera vez en el microscopio electrónico, organismos similares a micoplasmas en el floema de plantas con síntomas de virosis (Castaño, 1994).

Este grupo demostró la presencia de estos organismos tipo micoplasmas en el floema de plantas infectadas con el enanismo del "mulberry", escoba de brujas de la papa,

amarillamiento del aster o escoba de brujas de "Paulownia". Estos organismos se hallan en las células cribosas del floema (Figura 5) y aparentemente en raras ocasiones en células del parénquima floemático de las plantas infectadas (Salazar, 1998) (<http://www.condesan.org/infoandina/Foros/InfoPapa/papa27.htm>).

Los fitoplasmas son organismos pleomórficos, sin pared celular, y están rodeados de una membrana. Su diámetro varía mucho; cuerpos que miden 50 a más de 1,000 nm se han hallado en la mayoría de las enfermedades de este tipo. Los cuerpos de los fitoplasmas contienen un enrejado fibrilar de hebras, que se supone son ADN, y áreas con gránulos semejantes a ribosomas. Estos organismos aparentemente se propagan por fisión binaria, gemación o fragmentación. Los fitoplasmas son los procariontes más pequeños capaces de replicación autónoma (Salazar, 1998).

(<http://www.condesan.org/infoandina/Foros/InfoPapa/papa27.htm>)

Los fitoplasmas son reconocidos en la actualidad como agentes causales de enfermedades en más de 600 especies vegetales; algunas de ellas, de gran importancia económica como por ejemplo: Olmo (*Ulmus* sp.); palmera (*Coco nucifera*); tomate (*Lycopersicum esculentum*); paraíso (*Melia azedarch*); batata (*Ipomoea batatas*); ajo (*Allium sativum*), duraznero (*Prunus persicae*); maíz (*Zea mays*); cebolla (*Allium cepa*) y otras (<http://www.inta.gov.ar/iffive/espanol/acti03.html>).

En la actualidad la enfermedad del amarillamiento letal del cocotero es de las más importantes reportadas en Honduras producida por este tipo de organismo, por la severidad con que afecta y la rápida muerte que produce al cocotero.

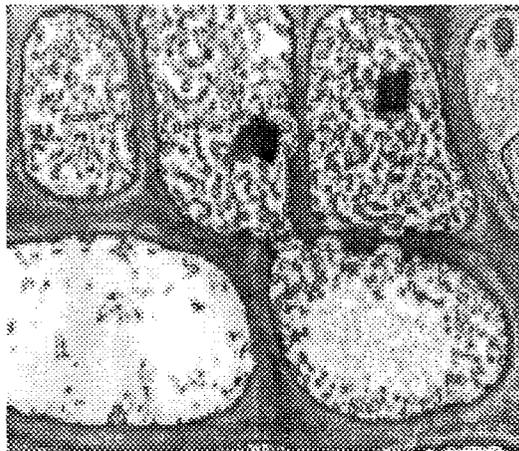


Figura 4. Fotografía electrónica de cuerpos de fitoplasma en una sección de floema de *gladiolos*. Fuente: <http://www.scisoc.org/feature/poinsettia/images/fig9.htm>.

2.2.2 Síntomas y formas de transmisión

Los síntomas más comunes asociados a este tipo de organismos, aparte de clorosis o amarillamiento, son: Reducción en el crecimiento, tal como la producción de hojas

pequeñas y/o distorsionadas; acortamiento de entrenudos, excesiva proliferación de retoños y muerte descendente más o menos rápida. Este tipo de síntomas también puede ser provocados por otros patógenos como virus, por lo que la sintomatología es generalmente considerada como una característica de diagnóstico no confiable (Castaño, 1994).

La dispersión natural de los fitoplasmas es principalmente mediante insectos. Todos los insectos vectores conocidos se alimentan en el floema o xilema y la mayoría son saltahojas (Cicadellidae), saltapuntas (Fulgoridae), cercopidos o chinches de saliva (Cercopidae) o psilidos (Psyllidae). Además de los insectos, los fitoplasmas se pueden transmitir mediante cúscura (*Cuscuta* spp.), injerto y propagación de partes afectadas (Castaño, 1994). También, A. Campaña (2000) dio el primer reporte de la transmisión por semilla del fitoplasma causante de la hoja pequeña en *G. sepium*.

2.2.3 Control

Se dispone de pocas medidas prácticas para el control de las enfermedades causadas por fitoplasmas, como las siguientes:

- La selección de material libre de enfermedades.
- Limpiar los alrededores de un campo de cultivo de hospederos alternos para disminuir la tasa de dispersión de la enfermedad.
- Control químico de las poblaciones de insectos vectores.
- Tratamiento de la enfermedad con antibióticos como tetraciclina, pero su costo es prohibitivo.
- Búsqueda de material tolerante o resistente a la enfermedad.

2.3 ENFERMEDAD DE LA HOJA PEQUEÑA

2.3.1 ANTECEDENTES

La enfermedad de la hoja pequeña fue reconocida por primera vez en Honduras, en unos ensayos en la Soledad, Departamento de Choluteca, a mediados de 1992. Posteriormente fue observada en otros sitios en Honduras, Guatemala, El Salvador, Nicaragua y México. La mayoría de observaciones han tenido lugar en Honduras y Guatemala (Kenyon *et al.*, 1997).

Varios estudios se han llevado a cabo acerca del agente causal de la enfermedad, sus síntomas y el impacto de la enfermedad.

Kenyon *et al.* (1997) determinaron por tres métodos indirectos a un fitoplasma como el posible agente causal. Los tres métodos utilizados fueron los siguientes: (1) observación de fitoplasmas en el floema de plantas sintomáticas usando microscopía fluorescente, (2) remisión de síntomas en árboles sintomáticos utilizando inyecciones de oxitetraciclina y (3) detección de ADN del genoma del fitoplasma a través de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (siglas en inglés PCR) (Saballos, 1999).

Estudios hechos en el Instituto Forestal de Oxford (OFI) determinaron que este fitoplasma es muy parecido al que causa la enfermedad de la “escoba de bruja” presente en *Cajanus cajan* (Jordán, 1997). El Fitoplasma del madreaje (descrito por L. Kenyon) aun no ha sido reconocido como una especie propia, por lo que hasta la realización de las pruebas necesarias se le denomina *candidatus Phytoplasma gliricidiora* (Saballos, 1999).

Zamorano es uno de los líderes en las Américas en el estudio de esta enfermedad. Cuenta con plantaciones que han sido monitorizadas por 10 años. T. Jordán (1997) evaluó diez procedencias de *Gliricidia sepium*, encontrando árboles tolerantes a la enfermedad adecuados para sitios de elevación moderada (800 msnm) y precipitaciones entre 900 a 1100 mm de lluvia. A. Saballos (1999) optimizó el método desarrollado el Dr. N. Harrison de la Universidad de Florida para diagnóstico molecular de *Candidatus Phytoplasma gliricidiora*, haciéndolo más seguro y sensible para detectarlo. A. Campaña (2000) a encontrado que la enfermedad puede ser transmitida tanto por estacas como por semilla y flores, en tanto que *Empoasca hastosa* fue identificada como un vector de la enfermedad no muy eficiente de la enfermedad.

2.3.2 Síntomas de la enfermedad

Los síntomas de la enfermedad más comunes son: amarillamiento de las hojas, reducción de la distancia de los entrenudos, proliferación de ramas, caída de hojas, ramas muertas, distorsión y deformación de las hojas formando pequeños ramilletes. La intensidad y la distribución de estas características están asociadas al grado de infestación del árbol.

2.4 REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA

2.4.1 Generalidades

La reacción en cadena de la polimerasa, cuyas iniciales en inglés son PCR ("polymerase chain reaction"), es una metodología que permite producir en el laboratorio múltiples copias de un fragmento de ADN específico, incluso en presencia de millones de otras moléculas de ADN.

Esta técnica fue desarrollada por Karl Mullis a mediados de los años 80. Como su nombre indica, se basa en la actividad de la enzima ADN polimerasa que es capaz de fabricar una cadena de ADN complementaria a otra ya existente. Sus únicos requerimientos son que existan nucleótidos en el medio que es la materia base para fabricar el ADN (los

nucleótidos de adenina (A), timina (T), citosina (C) y guanina (G), y una pequeña cadena de ADN que pueda unirse a la molécula que queremos copiar para que sirva como cebadora (cebador, en inglés "primer").

La reacción en cadena de la polimerasa se desarrolla en tres pasos (Figura 6). El primero es la separación de las dos cadenas que forman la molécula de ADN que se quiere amplificar, para lo cual se debe calentar el ADN a temperaturas que pueden ser próximas a la ebullición. Cada una de estas cadenas actuará como molde para fabricar su complementaria. A continuación se baja la temperatura para conseguir que cada cadena de ADN se una a su molécula cebadora. El último paso consiste en la fabricación de la cadena de ADN complementaria por acción de la ADN polimerasa (Rosas, 1999).

El problema con el que se encontraron los científicos que idearon esta técnica, es que es preciso aumentar la temperatura de la mezcla de reacción hasta valores por encima de los 70°C para que las dos cadenas de ADN se separen. A estas temperaturas tan elevadas la ADN polimerasa se inactiva y era preciso añadirla de nuevo en cada ciclo. Esto fue así hasta que se descubrió la bacteria *Thermus aquaticus* que vive en aguas termales y cuya ADN polimerasa es capaz de trabajar a temperaturas superiores a los 70°C. De esta manera sólo hay que añadir la enzima al inicio del proceso de reacción y llevar a cabo tantos ciclos como sea necesario (Rosas, 1999).

Cada una de las moléculas de ADN hijas pueden volver a entrar en el proceso y servir como molde para fabricar más copias. Tras 20 ciclos de reacción se puede obtener hasta 1 millón de copias de una molécula de ADN.

Actualmente hay versiones comerciales de pruebas de PCR para detectar agentes infecciosos tanto en plantas como animales; por ejemplo *Chlamydia trachomatis*, el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) que causa el SIDA, *Mycobacterium tuberculosis*, y el virus que causa la hepatitis C. El desarrollo de esta tecnología está siendo aplicado también en la exploración de enfermedades genéticas (ej. La anemia de células falciformes o la fibrosis quística), en pruebas para el cáncer (ej. Para detectar recaídas tempranas), y para determinar si dos individuos son compatibles genéticamente de cara a un trasplante.

Por lo menos 20 variaciones en los temas de amplificación de PCR están actualmente en desarrollo. No todas estas técnicas llegarán a estar disponibles comercialmente, pero parece seguro que los métodos de amplificación serán un arma importante para los laboratorios en las próximas décadas. Además de su papel en mejorar los diagnósticos de enfermedades de plantas y animales, la tecnología de PCR está siendo aplicada cada vez más en áreas como el proyecto genoma humano, en "arqueología molecular", en estudios del medio ambiente, en seguimiento y análisis epidemiológicos, y en descubrimiento de nuevos fármacos (AMGEN, 1999).

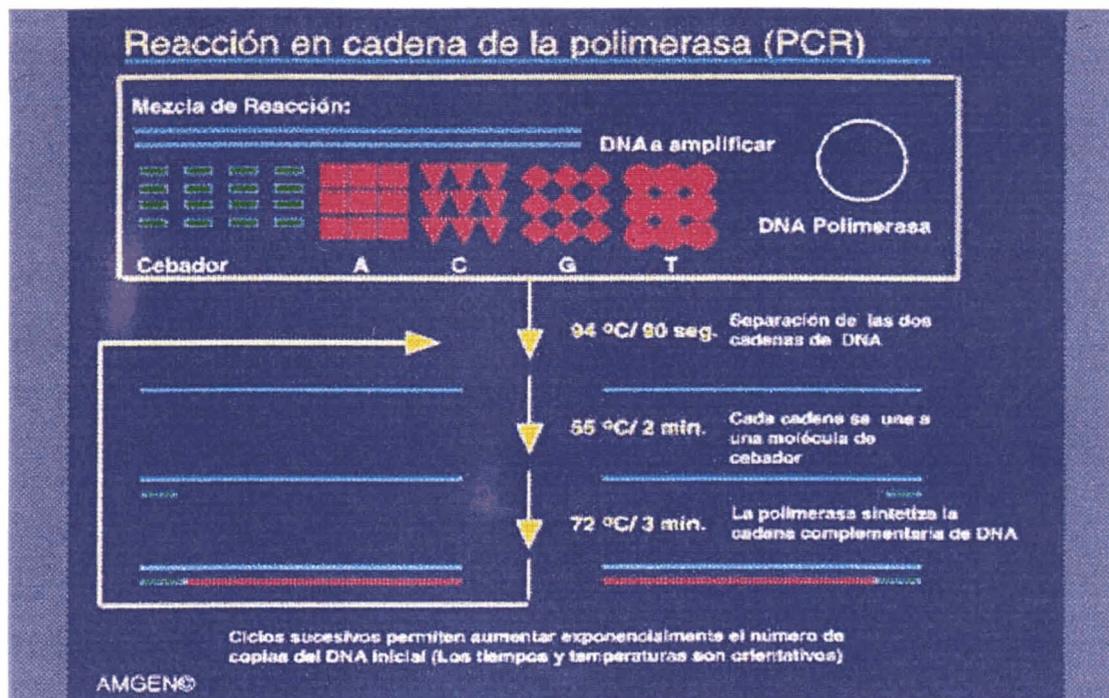


Figura 5. Esquema del proceso de reacción en cadena de la polimerasa. Fuente: AMGEN, España.

2.4.2 PCR para el diagnóstico la enfermedad de la hoja pequeña de *Gliricidia sepium*

La técnica de PCR es la forma más confiable para detectar la presencia del fitoplasma causante de la enfermedad en un árbol, aun cuando este no presente síntomas visibles de la infección.

El método de PCR utilizando cebadores (“primer” en inglés) específicos de los genes rRNA 16S y 23S de fitoplasma (diseñado por el Dr. Nigel Harrison en la Universidad de Florida) fue posible detectar la presencia de ADN de fitoplasma en tejido de hojas y brotes de madreado. También se utilizó PCR anidado usando los iniciadores PPWB-WX para incrementar la sensibilidad de la prueba (Saballos, 1999).

A. Saballos en su proyecto especial de tesis (1999) optimizó este procedimiento que sea más y confiable en la detección del ADN fitoplasmático.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 SITIOS DEL ESTUDIO

Los sitios visitados (Cuadro 4) son de dos tipos, los no intervenidos por la agricultura como es el caso de las reservas y parques naturales. Los otros sitios poseían grandes poblaciones naturales de *G. sepium* por lo eran considerados como rodales naturales pero están en contacto continuo con la gente e intervenidos por la agricultura.

Cuadro 4. Sitios de muestreo en el Litoral Pacífico

	Sitio	Departamento	País
Rodales naturales			
1	Estación "Santa Rosa"	Choluteca	Honduras
2	Zacate Grande	Valle	Honduras
3	La Garita	Choluteca	Honduras
4	Guayabillas	Choluteca	Honduras
Áreas protegidas			
5	Refugio Vida Silvestre Chacocente	Carazo	Nicaragua
6	Parque nacional Volcán Masaya	Masaya	Nicaragua
7	Parque Nacional Walter Deininger	La Libertad	El Salvador

3.2. ÁREAS DE RODALES NATURALES

3.2.1 Estación experimental "Santa Rosa" CONSEFORH

La Estación Experimental "Santa Rosa", inició sus actividades en 1990, localizada a un km al este de la aldea Tablones Abajo en el municipio de Santa Ana de Yusguare, 11 km. Sur-este de la ciudad de Choluteca, Departamento de Choluteca (Figura 7). Esta estación (con una extensión de 83 has), es ampliamente visitada por grupos campesinos, estudiantes, maestros, ONG's y empresas privadas.

Se ubica a 100 msnm, con una época seca de 6 meses y precipitación entre 1500 y 2000 milímetros anuales. Existen 106 especies de aves, 35 de mamíferos y 20 de reptiles reportados dentro y cerca de la estación (CONSEFORH, 1990).

Existen varios ensayos de especies útiles y de alto valor económico en la estación como: caoba del Pacífico (*Swietenia humilis*), cedro espinoso (*Bombacopsis quinata*), teca (*Tectona grandis*), madreao (*Gliricidia sepium*), entre otras.

Este sitios fue visitado dos veces, a mediados diciembre y a finales de enero, en un periodo en el cual el madreao está floreciendo y fructificando.

3.2.2 La Garita, Guayabillas, Zacate Grande

Estos tres sitios respectivamente de se encuentran a dos, 2.5 y 1.5 horas de distancia de la ciudad de Chuloteca, en los Departamentos de Chuloteca y Valle en (Figura 6).

Como se dijo antes estos sitios no se encuentran dentro de un área protegida como tal, pero en estos tres sitios *G. sepium* crece en forma natural y abundante con poca intervención de la gente que vive en estos sitios, por lo que son considerados por CONSEFORH como rodales naturales en donde recogen semilla para sus ensayos.

La altura sobre el nivel del mar de estos sitios aproximadamente es: La Garita a 400 msnm, Guayabillas 350 msnm y Zacate Grande a una altura de 80msnm. Poseen una temperatura en promedio superior a los 25° centígrados con, una época seca pronunciada de seis meses con precipitaciones entre 800 y 2500 milímetros anuales.

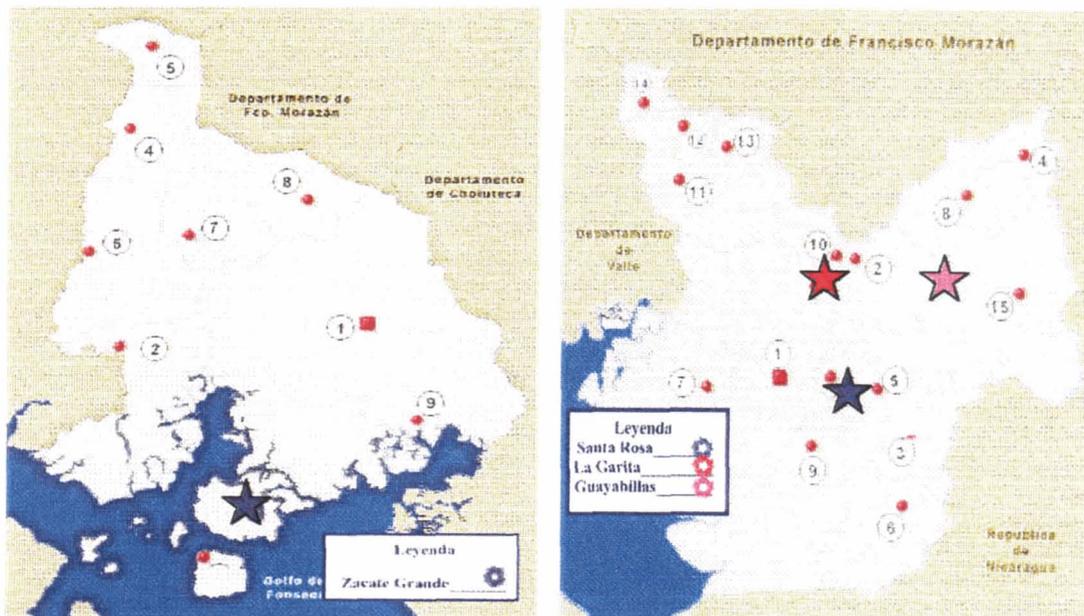


Figura 6. Sitios visitados en los departamentos de Valle y Chuloteca, Honduras

La Garita fue visitado a mediados de diciembre siguiendo un camino bastante accidentado rodeado de caseríos y potreros en los cuales se pueden observar numerosos árboles de madreao usados como cerca viva. En el sitio se tomaron cinco muestras, desde el camino hasta la parte media de la loma.

Guayabillas es una de las mejores procedencias que se evaluaron en Zamorano, fue visitada a finales enero, está próxima a la frontera con Nicaragua y es muy similar a lo que es La Garita. El camino en algunos tramos está bastante dañado debido al paso del huracán Mitch en 1998 lo cual hace más difícil y la llegada y salida de las personas del sitio. Aquí se tomaron tres muestras de árboles enfermos.

En Zacate Grande se recogieron las muestras de tres árboles sintomáticos en esta finca donde la gente de CONSEFORH recoge semilla para sus ensayos. La finca es bastante grande y posee gran cantidad madreño, sus actividades principales son la ganadería y camaronicultura.

3.3. ÁREAS PROTEGIDAS

3.3.1 Parque Nacional Walter Deininger

Creado hace un poco más de 35 años, el Parque Nacional Walter T. Deininger es una de las pocas áreas protegidas que se conservan en El Salvador (Figura 8).

Este Parque se encuentra a dos horas de San Salvador y a 15 minutos del Puerto de La Libertad, en el kilómetro 55 carretera del Litoral, Departamento de La Libertad.

Como Las anteriores zonas del Litoral Pacífico, está posee una estación seca bien pronunciada. La altura sobre el nivel del mar varía de 8 a 280 metros.

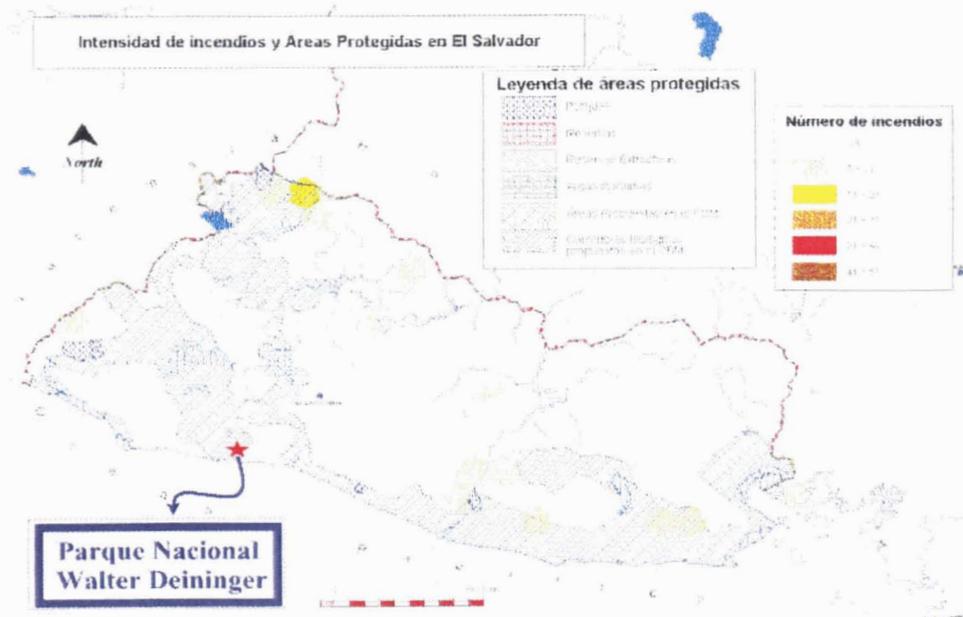


Figura 7. Áreas protegidas en El Salvador. Fuente: PFA, 1998

Para poder ingresar al parque se debe obtener una autorización del SITU (Instituto Salvadoreño de Turismo), el cual facilitó toda la ayuda para realizar estas observaciones.

En la parte baja del parque existe un bosque de galería en el que fue difícil encontrar madreado, en el parque sólo se encontraba en las partes más secas subiendo la montaña por el camino “madre cacao”.

Ya en el sitio lo que domina el paisaje son masas de árboles de *G. sepium* de más de 10 metros de alto y diámetros en algunos casos superiores a los 20 cm.

El sitio es visitado por la gente de los caseríos vecinos con el fin de sacar madera, por eso que este rodal tiene bastantes árboles trozados a machetazos, aun así los guardias no recuerdan haber visto síntomas de la enfermedad antes.

3.3.2 Refugio Vida Silvestre “Chacocente”

El Refugio de Vida Silvestre Chacocente se encuentra en departamento de Carazo como a dos horas de la ciudad de Managua (Figura 9). Este refugio tiene un área aproximada de 4800 ha y es conocido sobretodo por la cantidad de tortugas marinas que llegan a desovar en sus playas por, lo que es muy visitada por turistas e investigadores.

El refugio está a pocos metros sobre el nivel del mar, por lo que cuenta con un clima cálido y seco, característico del litoral Pacífico centroamericano. Los focos de agricultura más cercanos a la zona en donde se tomaron las muestras se encuentran a 3 km de distancia en el interior del parque.

Las condiciones son muy parecidas a las encontradas en el Parque Deininger. Cuenta con bosque de galería en donde el madreado es escaso, los sitios secos y de poca cobertura son los preferidos por *G. sepium*.

Parque Nacional Volcán Masaya

El Parque Nacional Volcán Masaya se encuentra a 20 minutos de la ciudad de Managua en la carretera hacia Masaya. Posee un área de 54 km² de tierra de origen volcánico, en el que crecen y se desarrollan varios tipos de plantas y animales característicos de la región.

Por su cercanía con la ciudad de Managua es un área muy visitada por los turistas, además, la gente que vive cerca de la zona puede llegar a sitios de madreado en especial para aprovechar la leña que este produce.

La mayoría de los árboles muestreados (seis dentro del parque y uno en las afueras) tenía una clase diamétrica de uno (10-20 cm) con alturas que no pasaban los 10 metros.

Es posible que los análisis en este sitio estén sujetos a algún tipo de estrés, debido a la deficiencia de nutrimentos que puede haber en un suelo de tipo volcánico como el del

parque, lo que a su vez permite que se expresen mejor los síntomas de la enfermedad o puede tratarse de una deficiencia.

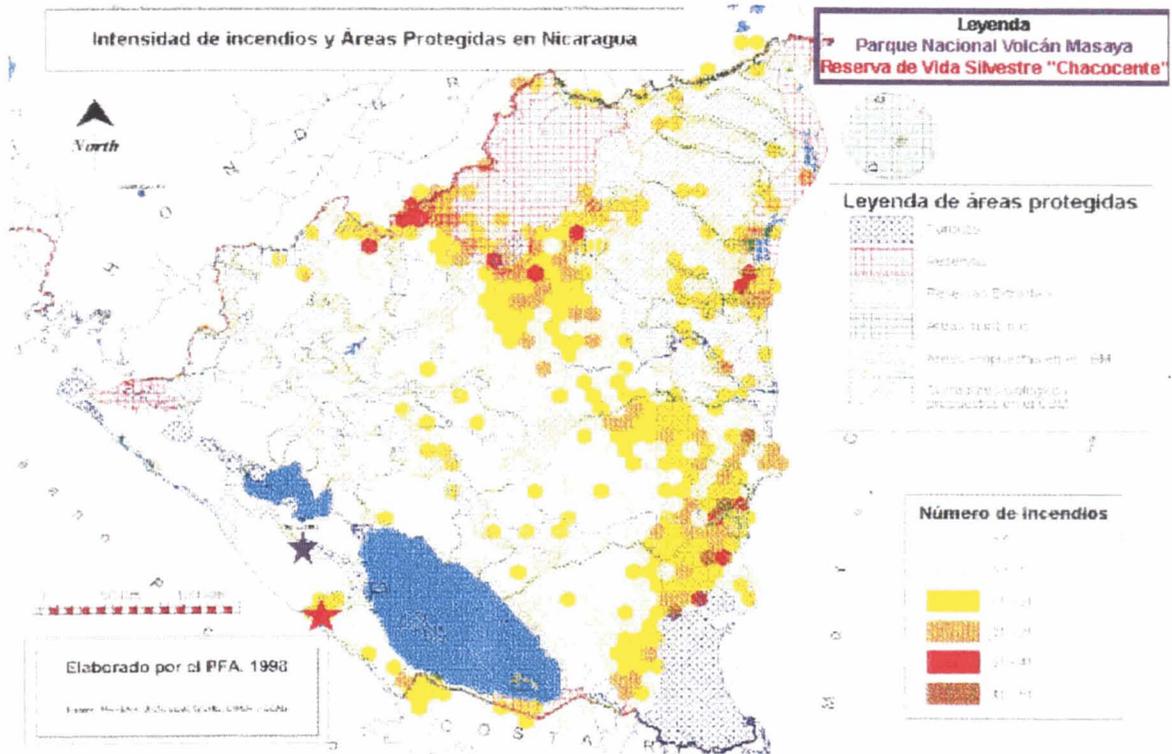


Figura 8. Áreas protegidas en Nicaragua
Fuente: PFA, 1998

3.4 RECOLECCIÓN DE MUESTRAS

Los árboles seleccionados en cada sitio, para la categorización de la enfermedad y la toma de muestras, presentaban uno o varios de los síntomas visibles del problema, o en el caso de Chacocente fueron los únicos encontrados

La forma en la que se buscaron árboles afectados fue desde el centro del área que era visitada, hasta encontrar árboles sintomáticos. En sitios como Deininger y Chacocente no se pudieron apreciar síntomas visibles de la enfermedad, pero se recogieron tres muestras por cada sitio algunas para referenciar esto con PCR.

Las 24 muestras recolectadas, fueron recogidas en bolsas de plástico resistentes, de fácil apertura y cierre las cuales eran etiquetadas y refrigeradas para garantizar la integridad de las muestras. Se prefieren folios jóvenes y material no lignificado como flores y vainas tiernas para ser sujetos a análisis. No hay un número determinado de hojas por muestra

3.5 DATOS TOMADOS POR ÁRBOL

En cada sitio visitado, a los árboles que mostraban síntomas visibles de la enfermedad se les tomaban los siguientes datos: Las características del sitio y del árbol, las características de la enfermedad y la intensidad. Usando para este efecto el formato desarrollado por E. Boa (Anexo 1), para tomar datos de árboles en el campo.

3.5.1 Características del árbol

- Para cada sitio en general. Se tomo información básica como altitud sobre el nivel del mar, latitud y longitud.
- Altura del árbol. Esta fue medida de acuerdo a tres categorías como 1 menor de cinco metros, 2 entre cinco a diez metros y 3 mayor de diez metros.
- Ramas. Se tomo el número de ramas principales que se encontraban debajo de los 30 cm desde el nivel del suelo.
- DAP. El diámetro a la altura del pecho de cada árbol muestreado se toma en el fuste principal, tomando dos categorías 1 de 10 a 20 cm y 2 mayor de los 20 cm.
- Cobertura. Existen dos categorías para medir cobertura, 1 cobertura completa y 2 cobertura deforme. Por la época de los muestreos esto no se podía determinar.
- Ubicación. En donde esta localizado el árbol (cerca, barrera, etc.)
- Manejo. En esta categoría se trata de determinar de manera aproximada el manejo que a recibido el árbol muestreado. Las Categorías usadas son 1) Ramas jóvenes recientemente cortadas, 2) Ramas grandes recientemente cortadas, 3) Árbol podado en los últimos 2 años, aunque esta última categoría es difícil de medir.

3.5.2 Características de la enfermedad

En un árbol afectado se pueden apreciar varios síntomas de la enfermedad, por eso esta categoría representa los diferentes tipos de síntomas que se pueden presentar en tiempo y espacio.

- Amarillamiento. Esta dividido en 1) distintas áreas de la corona, 2) generalizado en toda la corona y 3) solamente presente en pequeños ramilletes de hojas. Por la época del año esta debía diferenciarse del amarillamiento por senescencia.

- Formación de hoja pequeña. 1) sólo formándose en pequeños parches a lo largo de las ramas, 2) en distintas áreas de la corona y 3) generalizado en toda la corona.
- Reducción de la hoja. 1) el follaje enfermo pero más del 50% es normal, 2) follaje enfermo pero menos del 50% es normal.
- Proliferación de Brotes. 1) no presente, 2) presente sólo en pocas ramas enfermas, 3) Presente en varias ramas enfermas.
- Distorsión de la hoja. 1) no presente, 2) presente en pequeños ramilletes de hojas.
- Reducción de Entrenudos. 1) en Follaje enfermo más del 50% es normal, 2) menos del 50% es normal.
- Caída de las hojas. 1) no presente, 2) poca y generalmente de ramas jóvenes en ramilletes de hojas pequeñas, 3) muy generalizado en toda la corona.

3.5.3 Severidad

El registro de la intensidad de los síntomas más comunes de la enfermedad, está medido en una escala general de cero a tres de la siguiente forma:

(0) no presente, (1) menor $< \frac{1}{4}$, (2) moderado $\frac{1}{4}$ -, (3) severo $>$.

- Amarillamiento. Estima la proporción de follaje afectado. Igualmente que una categoría anterior esta debía de separarse de la senescencia natural de las hojas por la época del año.
- Muerte de ramas. Estima el porcentaje de ramas muertas en toda la corona.
- Hoja pequeña. Estima la proporción de follaje afectado.

3.6 MUESTRAS ANALIZADAS CON PCR

- Santa Rosa _____ 1
- La Garita _____ 5
- Guayabillas _____ 3
- Zacate Grande _____ 3
- Deininger _____ 3

300920

- Chacocente_____ 3
- Volcán Masaya_____ 6

Las pruebas se realizaron en el laboratorio molecular de Zamorano siguiendo las técnicas para la identificación del fitoplasma causante de la enfermedad de la hoja pequeña, desarrollado N. Harrison de la Universidad de Florida y optimizada por el equipo de Zamorano.

3.7 Percepción de los pobladores sobre la enfermedad de la hoja pequeña

En cada uno de los sitios visitados, dentro de las áreas de rodales naturales y en los alrededores de las reservas, se entrevisto a gente de edad y que a vivido en o cerca del lugar, para tratar de reconstruir la historia de la presencia de la enfermedad.

Se les hicieron siete preguntas. Las dos primeras son preguntas introductorias de tipo secundario, las restantes están orientadas ha hablar en sí de la enfermedad. Las preguntas planteadas a las personas entrevistadas en cada sitio tenían la finalidad de que cada una nos contara de acuerdo a su experiencia y al tiempo vivido en aquellos lugares, como y desde cuando han observado síntomas parecidos a los de la EHP y si les esta afectando de alguna forma.

- ¿Cuáles son los usos más comunes que tiene el Madreado en la zona?.
- ¿Qué beneficios adicionales obtienen de este árbol?.
- ¿Han notado algún tipo de problema últimamente en este árbol?.

Para hablar de la enfermedad de una forma en la que ellos pudieran entender fácilmente, se les presento algunas partes afectadas de madreado y se les pregunto lo siguiente:

- ¿Desde cuando han visto estos síntomas?.
- ¿Qué tan fuertes son estos síntomas?. ¿Creen que ha habido muerte de árboles por está causa?.
- ¿Realizan algún tipo de manejo cuando miran este problema?.
- ¿Conocen de algún otro sitio que tenga problemas similares o peores con esta enfermedad?.

La encuesta se hizo a 20 personas de edades mayores a los 30 años, hombres en su totalidad.

4. RESULTADOS

4.1 PRESENCIA DE SÍNTOMAS DE LA EHP EN LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL SANTA ROSA Y RODALES NATURALES

4.1.1 Estación experimental Santa Rosa CONSEFORH

No se vio síntomas visibles de la enfermedad a pesar de que en las afueras de la estación se pudo ver árboles sintomáticos. Esto también fue observado por E. Boa del IMI (International Mycological Institute) en una de sus visitas a esta estación y anotado en un registro en los archivos de la estación de 1995.

La razón para que se de esta diferencia dentro y afuera de la estación puede deberse, al manejo recibido por el ensayo, ya que en este se realizaron limpieza de malezas y se suprimieron los individuos suprimidos y enfermos, se dejaron en el sitio los individuos más saludables y eliminaron posibles fuentes de inóculo. Además La Garita procedencia con la que se levantaron estas parcelas tiene buenas características ante la presencia de la enfermedad que por lo visto en el sitio de donde proviene, puede ser una alternativa real a ser evaluada para resistencia o tolerancia a la enfermedad.

4.1.2 La Garita

De los cinco árboles sintomáticos a los que se tomaron muestras en el sitio sólo uno presentaba un grado de severidad alta tipo tres, los restantes entre uno y dos (menor y moderada).

4.1.3 Guayabillas

De los tres árboles sintomáticos de los que se tomaron muestras, uno tenía un grado de severidad tipo dos (moderada), los otros dos una severidad tipo uno (menor).

Los pobladores reportaron que había estacionalidad en los síntomas de la EHP, siendo más visibles en la época seca de febrero a marzo pero que al empezar las lluvias los árboles que mostraban los síntomas se recuperaban.

4.4 RESULTADOS DE LAS PRUEBAS PCR

El siguiente cuadro muestra los resultados de PCR de la muestras recogidas dentro de las áreas protegidas.

Cuadro 6. Resultado de las pruebas PCR para EHP en *G. sepium* presente en áreas protegidas de El Salvador y Nicaragua.

Lugares Visitados	Numero de árboles	Síntomas	% muestras positivas
Refugio Vida Silvestre Chacocente	1	No	---
Parque Nacional Volcán Masaya	6	Si	33
Parque Nacional Walter Deininger	3	No	---

Adicionalmente se tomaron dos muestras de las afueras de Chacocente que resultaron negativas y una de las del Volcán Masaya que resulto positiva.

4.5. HISTORIA DE LA EHP

Los resultados de las primeras dos preguntas de carácter introductorio fueron las siguientes:

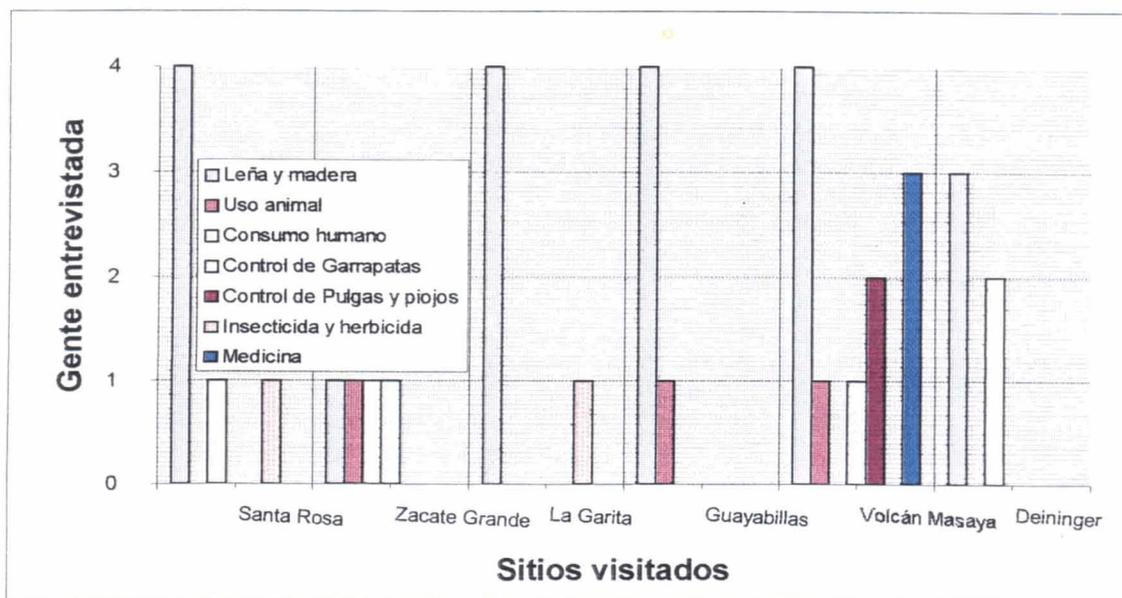


Figura 9. Usos de *Gliricidia sepium* en los sitios visitado.

4.1.4 Zacate Grande

Los tres los árboles sintomáticos de los que se tomaron muestras tenían un grado de severidad tipo dos (moderado).

4.2 RESULTADOS DE LAS PRUEBAS PCR EN LAS ÁREAS DE RODALES NATURALES

Los resultados de las pruebas de PCR de la Estación Experimental y rodales visitadas y el número de pruebas que resultaron positivas es descrito en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Resultados de las pruebas PCR para EHP en *G. sepium* presente en la Estación Experimental Santa Rosa y los rodales naturales en Honduras

Sitios	Árboles muestreados	Síntomas	% de muestras positivas
Estación Experimental Santa Rosa	1	No	---
Rodales naturales			
La Garita	5	Si	80
Guayabillas	3	Si	33
Zacate Grande	3	Si	33

4.3 PRESENCIA DE SÍNTOMAS DE LA EHP EN LAS ÁREAS PROTEGIDAS

4.3.1 Parque Nacional Walter Deininger

No se encontraron árboles sintomáticos dentro del parque ni tampoco en los alrededores.

4.3.2 Refugio de Vida Silvestre Chacocente

No se observaron síntomas visuales de la enfermedad en los árboles.

4.3.3 Parque Nacional Volcán Masaya

Dentro del parque fue fácil identificar árboles que presentaron síntomas de la enfermedad. Los focos de agricultura más cercanos del sitio donde se tomaron las muestras estaban aproximadamente a 2 km.

4.4 RESULTADOS DE LAS PRUEBAS PCR

El siguiente cuadro muestra los resultados de PCR de las muestras recogidas dentro de las áreas protegidas.

Cuadro 6. Resultado de las pruebas PCR para EHP en *G. sepium* presente en áreas protegidas de El Salvador y Nicaragua.

Lugares Visitados	Numero de árboles	Síntomas	% muestras positivas
Refugio Vida Silvestre Chacocente	1	No	---
Parque Nacional Volcán Masaya	6	Si	33
Parque Nacional Walter Deininger	3	No	---

Adicionalmente se tomaron dos muestras de las afueras de Chacocente que resultaron negativas y una de las del Volcán Masaya que resulto positiva.

4.5. HISTORIA DE LA EHP

Los resultados de las primeras dos preguntas de carácter introductorio fueron las siguientes:

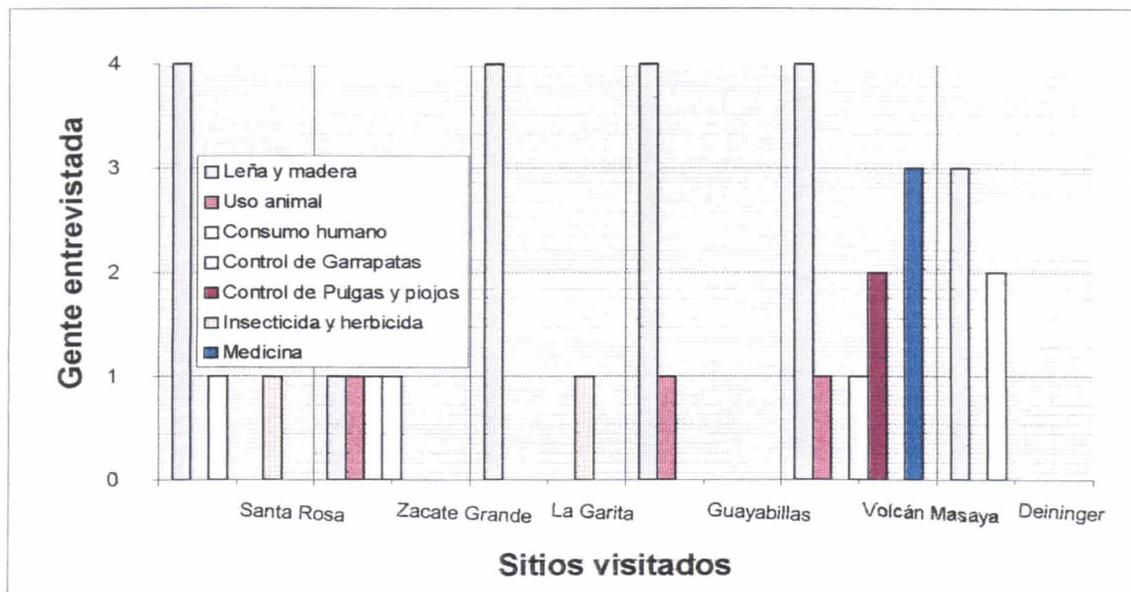


Figura 9. Usos de *Gliricidia sepium* en los sitios visitado.

El uso más común (Figura 9) es el de madera y leña. Con respecto al consumo humano aunque sólo cuatro respondieron que consumían las flores de *G. sepium*, el resto a excepción de las personas en Nicaragua no las consumían pero si conocían a gente que lo hacía. Los usos del madreado en El Salvador no son distintos a los descritos en Honduras o Nicaragua, pero el consumo estaba más difundido (uso conocido incluso por la gente de la ciudad).

En Santa Rosa los pobladores *G. sepium* como insecticida, mezclando una libra de hojas de madreado, una libra de hojas de nim (*Azadirachta indica*) en dos galones de agua, más una onza de chile. En La Garita el extracto de las semillas y la corteza era utilizado como herbicida.

La comercialización de semilla se limitaba a La Garita y Guayabillas. No se comercializa la leña por la abundancia y disponibilidad para todos en estos sitios. En los alrededores del Volcán Masaya la recolección de leña se hace con fines comerciales, por ser una de las mejores especies de la zona (a comparación de Honduras donde hay más variedad de especies utilizadas) comercializándose a 250 córdobas el metro cúbico.

4.5.1 Historia de la enfermedad en los sitios visitados de El Salvador, Honduras y Nicaragua

De las personas entrevistadas, sólo tres (15%) uno en Zacate Grande y los otros dos en las afueras del Volcán Masaya, habían notado problemas en el madreado.

Conversando con el dueño de la finca en Zacate Grande, una persona que ha vivido de niño en el lugar, él si había notado que algo le estaba pasando al madreado: “desde como hace dos años atrás en los que a tendido a amarillarse y a botar copos de hojas” nos dijo. Preguntándole a si estaban muriendo árboles después de mostrar síntomas, él nos dijo que por el momento no ha visto ninguno

A la mayoría de gente que respondió no a la pregunta sobre si habían notado problemas en *G. sepium*, se le mostraron partes enfermas o fotos (sitios donde no se encontraron síntomas) y se les pregunto desde cuando han visto esos síntomas, si es que los habían visto.

La mayoría de la gente (diez personas en Honduras) respondió que siempre habían visto esos síntomas. En el resto de sitios el rango es de dos a diez años.

Las personas que contestaron no haber visto los síntomas o que si los han visto pero no recuerdan desde cuando es el segundo grupo de importancia y corresponden a los sitios donde no se vieron síntomas (Deininger y Santa Rosa). Aquellas personas que respondieron que no habían visto síntomas de la enfermedad, al ver los síntomas en al muestra o foto después recordaron que si los habían visto pero no sabían decir desde cuando (dos personas de la visita a Nicaragua) (Figuras 10 y 11).

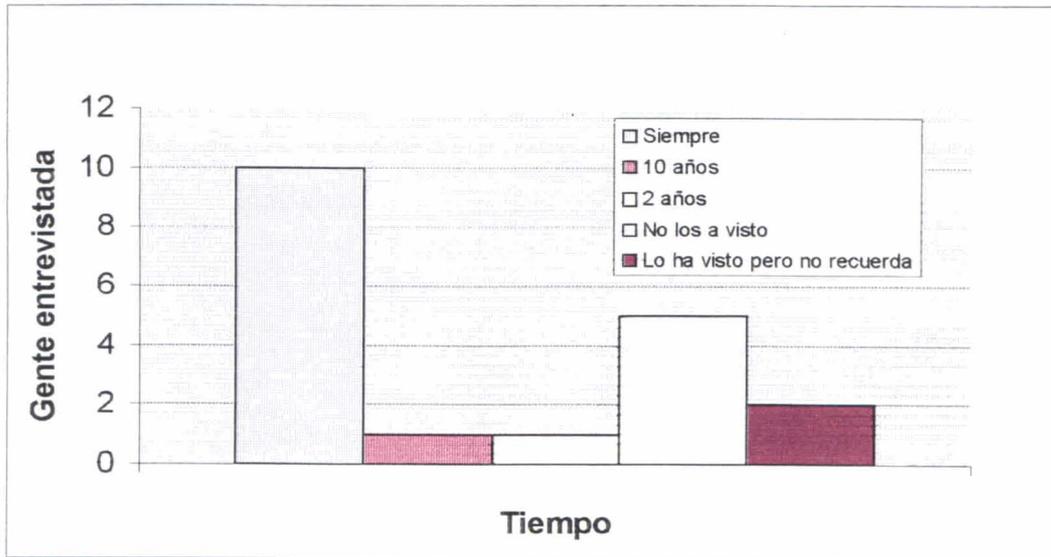


Figura 10. Rangos de tiempo en los que se ha visto los síntomas de EHP en árboles de *G. sepium*

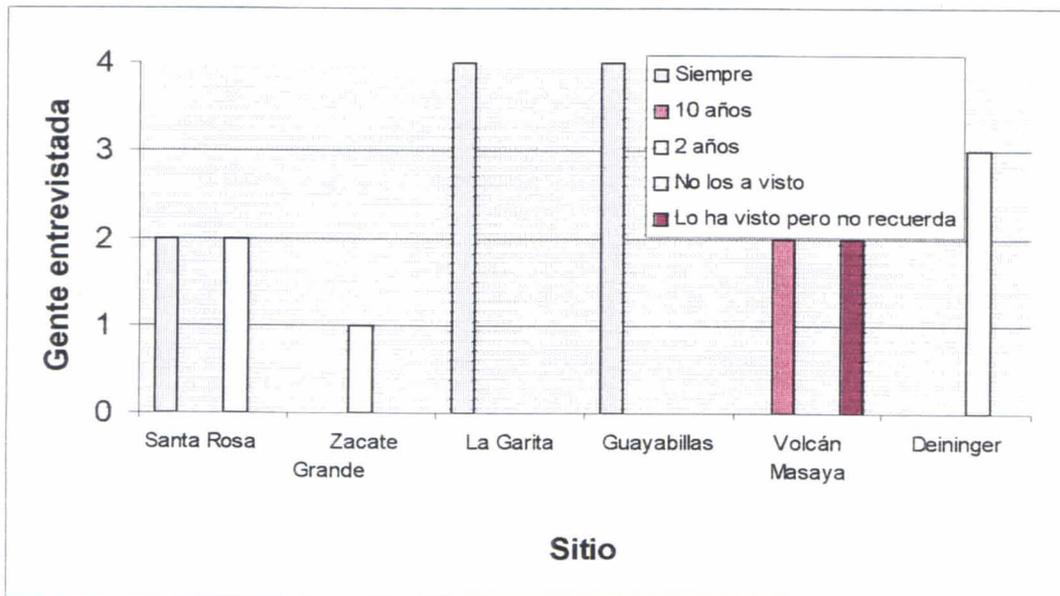


Figura 11. Rangos de tiempo en los que se ha los síntomas de EHP en árboles de *G. sepium* en cada sitio visitado de Honduras, El Salvador y Nicaragua.

La mayoría de los entrevistados dijo que esta enfermedad no mata al árbol y que sólo se presenta en forma estacional. Después el segundo grupo de importancia es el de la gente

que no sabía, que fue la misma gente que no vio o vio la enfermedad pero no recuerda desde cuando en la pregunta anterior (Figura 12).

De las cuatro personas con las que se habló en las afueras del parque Volcán Masaya sobre la enfermedad, dos estaban conscientes de esta. La habían visto en los alrededores aproximadamente durante 10 años, las otras dos no identificaban la enfermedad hasta no ver las muestras y no supieron responder desde cuando los habían visto.

Una persona reporto que los árboles que resultaban afectados (pequeños particularmente) se secaban en poco tiempo pero había algunos que rebrotaban y no volvían a mostrar síntomas.

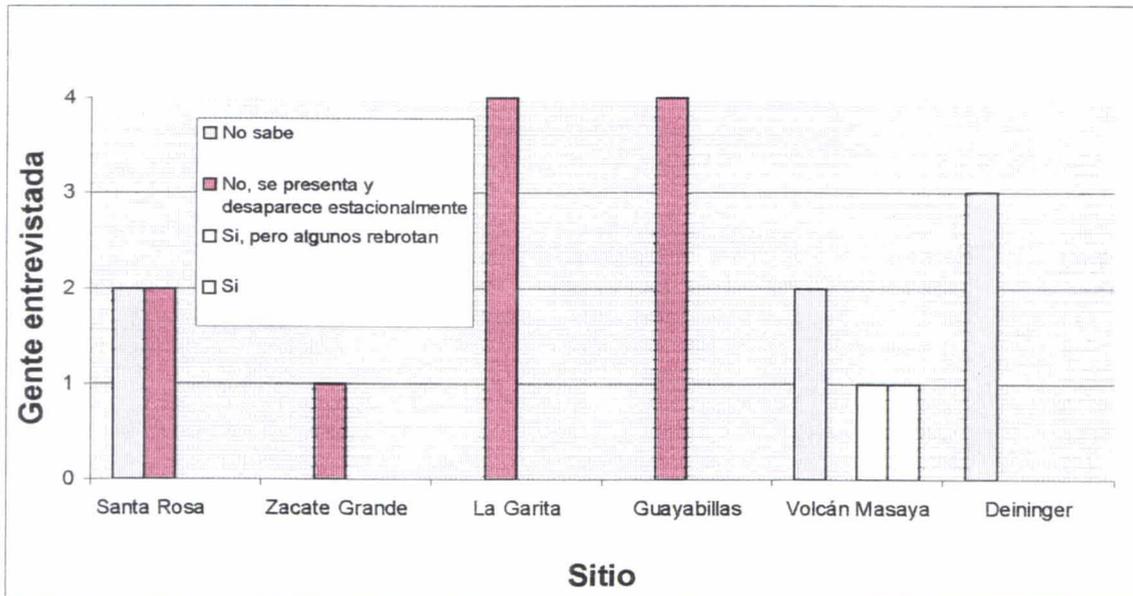


Figura 12. Respuestas de las personas en cada sitio sobre la posible muerte de árboles a causa de la enfermedad.

Al preguntarles que si realizaban alguna actividad cuando veían un árbol enfermo todos contestaron que no, esto se debe en parte a la abundancia del árbol y a que no se percibe por la gran mayoría un problema en el árbol.

Seis personas habían observado síntomas de la EHP en otros sitios,

5. DISCUSIÓN

El madreaje es una especie que vive agregada en rodales naturales prefiriendo sitios que tienen algún grado de perturbación o condiciones adversas de suelo y clima para otras especies como lo documenta el CATIE (1991). Es nativa de los ambientes secos por naturaleza por eso es difícil ver muchos individuos en sitios en donde existe buena cobertura y varios tipos de especies como era el caso de los bosques de galería dentro de las áreas protegidas.

Por los usos variados que tiene esta especie, la gente la aprecia en especial en aquellos sitios bastante secos en donde el número de especies que se puede utilizar es reducido. La llegada de productos industrializados como agroquímicos y medicinas ha hecho que estos usos disminuyan, pero el uso como leña y madera no ha cambiado mucho. Los usos menos conocidos del madreaje se conservan aun en aquellas personas de mucha experiencia y los lugares bastante alejados de centros poblacionales más grandes.

La Estación experimental y los rodales naturales visitados en Honduras, son sitios expuestos a la agricultura y a la ganadería. Presentaron todos síntomas de la EHP a excepción de Santa Rosa, por las condiciones especiales de manejo cultural que se llevan a cabo en ese sitio. De igual forma en las áreas naturales que son sitios cuidados y poco intervenidos, sólo uno presentó síntomas de la EHP. Esto nos muestra la posible relación que existe entre la cercanía de la agricultura con la presencia de síntomas de la EHP.

Las personas de los sitios visitados pueden ser una importante fuente de información en el futuro para seguir el monitoreo de esta enfermedad. Hay gente observadora y que le interesa mucho estos temas, por lo que si se les enseña y se les advierte las posibles consecuencias que puede traer esta enfermedad, podrán dar información más actualizada y confiable a futuros estudios.

6. CONCLUSIONES

1. La pregunta de sí se había notado algún tipo de problema con el árbol y desde cuando han visto los síntomas de estos problemas, refleja lo que la gente percibe en la actualidad de la enfermedad. Es común que la mayoría de la gente no note y haga algo hasta que el problema sea demasiado evidente, pero la abundancia del árbol y su fácil disponibilidad hace que la gente mire a los árboles de forma rutinaria.
2. Las áreas de rodales presentaron resultados positivos de la presencia del fitoplasma. El manejo cultural que recibió la plantación en la estación experimental puede haber eliminado la enfermedad.
3. El Parque Nacional Volcán Masaya fue el único en el que se encontró el fitoplasma de la EHP a pesar de que los focos de agricultura más cercanos se encuentran a 2 km de distancia. Condiciones internas del área pueden causar algún tipo de estrés en los árboles como desbalance de nutrimentos ya que el suelo en su mayoría es lava petrificada lo que hace más fácil la expresión de síntomas como los de la EHP. La propia gente que vive cerca del área puede entrar a la zona sin problemas para cortar *G. sepium*, estas intervenciones pueden ser una causa para que la enfermedad pudiera llegar dentro del parque o bien la enfermedad podría haber sido parte del sistema natural del parque.
4. Hay sitios en donde la enfermedad se ha visto años, otros en los que recién se está apreciando y otros a los que aun no a llegado todavía, incluso dentro de un mismo país o región
5. La enfermedad no es percibida como un problema en la actualidad ni a mediano plazo en los sitios del Litoral Pacífico visitados. El árbol está acostumbrado a crecer en condiciones bastante rústicas y por lo que dice la gente en su mayoría en sitios como La Garita y Guayabillas esta especie ha convivido con la enfermedad por bastante tiempo.

7. RECOMENDACIONES

Antes de llegar a un sitio se debería tener preparado un encuentro con la gente de la comunidad que se está visitando con el suficiente tiempo y conocimiento de la zona a la que se está llegando, para enseñarles los objetivos de la visita a su comunidad y en la forma en la que pueden ayudar a la investigación. Además, en grupo pueden salir a relucir cuestiones que se escapan a una persona en particular. Este fue una de las limitantes de este estudio ya que se invirtió bastante tiempo en conocer como se llegan a los diferentes sitios, no se podía preparar a la gente y sólo se las pudo abordar individualmente.

En el Volcán Masaya por ser el único lugar protegido, visitado por este estudio, en donde se encontró la enfermedad, debería estudiarse los factores interno y externo que pudieron favorecer el apareamiento del fitoplasma

El manejo adecuado de los árboles sembrados en cercas o plantaciones con actividades comunes como podas, limpiezas y raleos de individuos enfermos puede ser una forma para mantener árboles sanos y libres de mayores problemas como en la estación experimental de CONSEFORH.

Mucha gente habló de la estacionalidad de los síntomas de la enfermedad, presentándose más en la época seca que en la lluviosa por lo que se recomendaría visitar estos sitios en diferentes épocas del año para constatar lo observado.

Debería de estudiarse el parentesco que tiene el fitoplasma causante de la enfermedad de un sitio a otro no solamente en el Pacífico sino de los árboles reportados enfermos en el Atlántico, para saber si hay relación entre la presencia o ausencia de síntomas en un sitio por un patógeno más o menos virulento.

Se conocen de procedencias resistentes que responden bien en climas secos y altos como los de Zamorano pero no se ha evaluado resistencia en la Costa Atlántica por lo que montar un ensayo para evaluar resistencia sería de mucha importancia.

8. BIBLIOGRAFÍA

AMGEN. 1999. Reacción en cadena de la Polimeraza.
<http://www.amgen.es/amgen/biotecnologia/pcr.htm>.

Boa, E.; Lenne, J.M. 1996. Diseases and Insects pest. *Gliricidia sepium*; Genetic Resources

Campaña, A. 2000. Estudio epidemiológico a través de pruebas moleculares y bioensayos sobre las formas de transmisión del fitoplasma de la Enfermedad de la Hoja Pequeña de la *Gliricidia* Tesis Ing. Agr. Tegucigalpa, Honduras. Escuela Agrícola Panamericana. 37 p

Castaño Zapata, J. 1994. Principios Básicos de Fitopatología. 2da. Edición. Zamorano, Honduras. Zamorano Academic Press. 538 p.

CATIE. 1984. Especies para leña: arbustos y árboles para la producción de energía. Traducido de la edición inglesa por Vera Arguello de Fernández y TRADINSA. Editor Miguel Ángel Sagone. Turrialba, Costa Rica. CATIE Proyecto Leña y Fuentes Alternas de Energía. 344 p.

CATIE. 1986. Silvicultura de Especies Promisorias Para la Producción de Leña en América Central: Resultado de cinco años de investigación. Serie técnica. Informe técnico no. 86. Turrialba, Costa Rica. CATIE. 227 p.

CATIE. 1991. Madero Negro; *Gliricidia sepium* (Jacquin) Kunth (ex Walpers) árbol de uso múltiples en América Central. Turrialba, Costa Rica. Editorial El País. 150 p.

Holdrige, L.R. ; Poveda A. , L.J. 1975. Árboles de Costa Rica. Volumen 1. San José, Costa Rica. CCT. 546 p.

Gómez, M.; Preston, T. 1996. Fundación CIPAV (Centro para la Investigación en Sistemas Sostenibles de Producción Agropecuaria).
<http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd8/1/gomez.htm>.

Jordán, T. 1997. Resistencia genética en *Gliricidia sepium* (Kunth) a la enfermedad de la hoja pequeña, su desarrollo y transmisión. Tesis Ing. Agr. Tegucigalpa, Honduras. Escuela Agrícola Panamericana. 52 p.

- Kenyon, L.; Black, R.; Doyle, P.; 1997.** Diseases of *Gliricidia sepium* in Latin America. R6293(C0762). Chatham, UK. 150 p.
- Lavin, M. 1996.** Taxonomy. *Gliricidia sepium* genetic resources for farmers. (England) Avance Técnico del Instituto Forestal de Oxford. No. 33: 3-17.
- Mackenzie, C. 1995.** “El Palo más útil aquí”: Local perceptions of the uses and diseases of *Gliricidia sepium* (Honduras). NRI. No CO762. Chatham, UK. 15 p.
- Rosas, J.C. 1999.** Conceptos Básicos de Genética y Biología Molecular de Plantas (Notas curso del de biotecnología). Zamorano, Honduras. Zamorano Academic Press. 29 p.
- Saballos, A. 1999.** Diagnostico molecular y estudio de la epidemiología del fitoplasma de la hoja pequeña de *Gliricidia*(*Gliricidia sepium*). Tesis Ing. Agr. Tegucigalpa, Honduras. Escuela Agrícola Panamericana. 72 p.
- Salazar, L. 1998.** InfoPapa_2: FITOPLASMAS: Un factor negativo para la producción de semilla de papa. <http://www.condesan.org/infoandina/Foros/InfoPapa/papa27.htm>.
- Simons, A.J. 1996.** Ecology and reproductive Biology. (England) Avance Técnico del Instituto Forestal de Oxford. No. 33: 19-31.
- Steward, J.; Allison, G.; Simons, A. 1996.** *Gliricidia sepium* genetic resources for farmers. Reino Unido. Oxford Forestry Institute. 125 p.

ANEXOS

Resultados de la encuesta realizada en cada uno de los sitios visitados

Preguntas	# Personas que contestaron	# Personas por sitio					
		1	2	3	4	5	6
1. Usos comunes							
Leña y madera	20	4	1	4	4	4	3
Uso animal	2		1			1	
Consumo humano	4	1	1				2
Control de Garrapatas	2		1			1	
Control de Pulgas y piojos	2					2	
Insecticida y herbicida	2	1		1			
Medicina	3						3
2. Beneficios adicionales							
Venta de semillas	4			2	2		
Venta de madera	1					1	
3. Percepción de algún tipo de problema con el árbol							
Si	3		1			2	
No	17						
4. Desde cuando han visto los síntomas							
Siempre	10	2		4	4		
10 años	1					2	
2 años	1		1				
No los a visto	5	2					3
Lo ha visto pero no recuerda	2					2	
5. Hay muerte de árboles por esta causa							
No sabe	7*	2				2	3
No, se presenta y desaparece estacionalmente	11	2	1	4	4		
Si, pero algunos rebrotan	1					1	
Si	1					1	
6. Realizan algún manejo							
Si							
No	20	4	1	4	4	4	3
7. Conocen otros sitios con las mismas características							
Si	6**	1	1	2	1	1	
No sabia o no se acordaba	14	3		2	3	3	3

1. Estación "Santa Rosa"

2. Zacate Grande

3. La Garita

4. Guayabillas

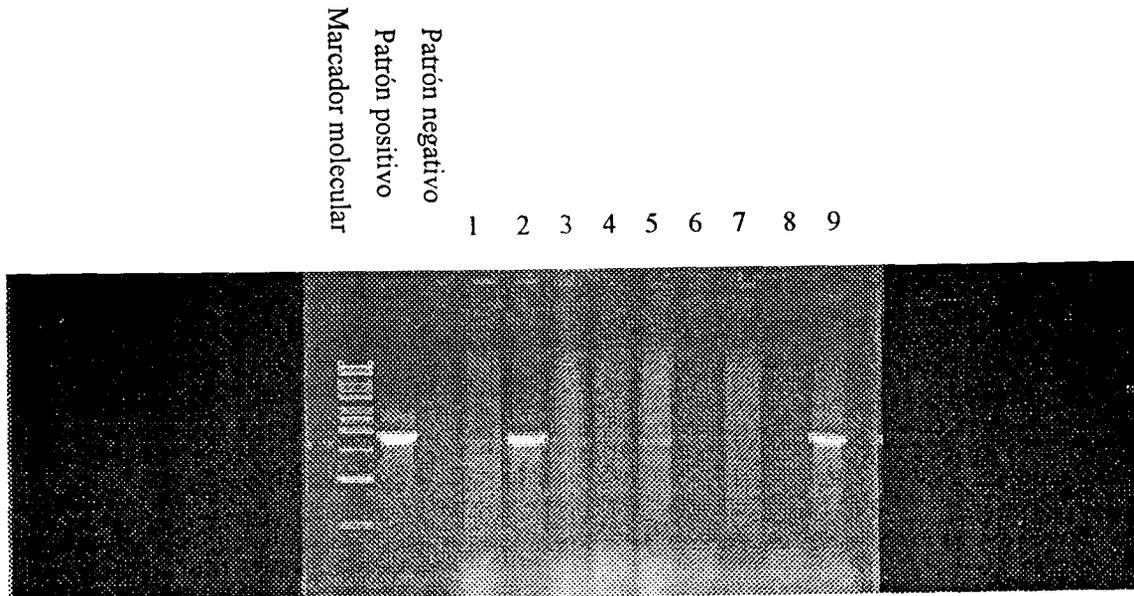
5. Refugio Vida Silvestre Chacocente y Parque nacional Volcán Masaya

6. Parque Nacional Walter Deininger

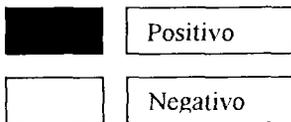
*La gente de las ultimas dos características en P. 4

**Respuestas como el barrio o aldea vecina

Anexo 2. Gel de electroforesis usado para diagnosticar ausencia o presencia del fitoplasmas de la EHP en muestras amplificadas por PCR.



1 2 3 4 5 6 7 8 9



1. La Garita
2-5. Guayabillas
5-9. Zacate grande

Anexo 3. Resultados del diagnostico de las pruebas de PCR

ESCUELA AGRICOLA PANAMERICANA
DEPARTAMENTO DE PROTECCION VEGETAL
TEL. 776-6140, 776-6150 Ext. 2354776-6242

**CENTRO DE INVENTARIO AGROECOLOGICO Y
DIAGNOSTICO**

FECHA: 21 de marzo 2000

DESTINATARIO :
Agr. Pablo Ramírez Mejía

Estimado Señor:

ÉL DIAGNOSTICO Y LA INFORMACION QUE ABAJO SE PRESENTA ES EL INFORME DE LOS PROBLEMAS IDENTIFICADOS EN LA MUESTRA ENVIADA.

CULTIVO: *Gliricidia sepium*

TIPO DE DIAGNOSTICO:

MOLECULAR.

DIAGNOSTICO:

Se realizo extracción de ADN de las muestras que se recibieron en el laboratorio; posteriormente con el material obtenido se llevó acabo la técnica de PCR utilizando imprimidores P1 Y P7 que son especificos para la detección de fitoplasma.

RESULTADOS:

- | | |
|---|---|
| 1. Muestra Parque Volcán Masaya | + |
| 2. Muestra Parque Volcán Masaya | - |
| 3. Muestra Parque Volcán Masaya | - |
| 4. Muestra Refugio de Vida Silvestre Chococente | - |
| 5. Muestra Refugio de Vida Silvestre Chococente | - |
| 6. Muestra Parque Volcán Masaya | + |
| 7. Muestra Parque Volcán Masaya | - |
| 8. Muestra Parque Volcán Masaya | - |
| 9. Muestra Parque Chococente | - |
| 10. Muestra Parque Volcán Masaya | + |