

**CURSO-TALLER INTERNACIONAL SOBRE
DETECCION, DIAGNOSTICO Y CONTROL DEL
AMARILLAMIENTO LETAL DEL COCOTERO**



CICV



SARH

**OCTUBRE 22 - 26
1991**



MEMORIAS

CURSO-TALLER INTERNACIONAL SOBRE DETECCION, DIAGNOSTICO Y CONTROL DEL AMARILLAMIENTO LETAL DEL COCOTERO

EDICION

José Armando Escamilla Bencomo

José Arellano Morín

Victor Manuel Loyola Vargas

INSTITUCIONES ORGANIZADORAS

Centro de Investigación Científica de Yucatán

Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos

Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria

COORDINACION

José A. Escamilla Bencomo

José Arellano Morín

SEDE

Centro de Investigación Científica de Yucatán A.C

DIRECTORIO

M.C. RAUL DIAZ PLAZA
 INIFAP-CEZOHE-Yucatán
 Calle 673 No. 243-A Fracc. del Sur
 Apdo. Postal 38 Admón. de Correos No. 5
 Mérida, Yuc.
 México.

ING. RAFAEL AVILA NAJERA
 Ministerio de Recursos Naturales.
 Frente a la Fuerza Aérea
 Departamento de Sanidad Vegetal
 La Ceiba Depto. de Atlántida
 Honduras, C.A.

ING. PABLO RUIZ BELTRÁN
 INIFAP-Tabasco
 Campamento del SARH, Cárdenas, Tab.
 C.P. 86500
 México

ING. JOSE LUIS MEDINA MONTAÑO
 SARH (Secretaría de Recursos Hidráulicos)
 José Martí 104 3er. piso
 Fracc. Lidia Esther
 Villahermosa, Tabasco,
 México.

ING. HERNAN NUÑEZ GUTIERREZ
 SARH
 Av. López Mateos Esq. con Chacab
 Campeche, Camp.
 México.

ING. NORBERTO URRINA . . .
 OIRSA
 Apartado Postal (01)61
 San Salvador, El Salvador

ING. VICTOR H. MAIRENA C.
 Ministerio de Agricultura y Ganadería
 Km. 8 Carretera a Managua, Nicaragua.

ING. AUDINO ALBERTO CAJALLERO BARRIOS
 OIRSA
 Apdo. 5390
 Ministerio de Desarrollo Agropecuario Sanidad Vegetal
 Panamá Rep. de Panamá.

ING. CARLOS A. PADILLA BONILLA
 OIRSA
 Ministerio de Agricultura y Ganadería
 Sanidad Vegetal
 Apartado 10094
 San José-Costa Rica.

ING. ONESIMO T. MOOT MARTINEZ
 OIRSA
 Roma 581 Fracc. Fraternidad
 Chetumal, Q. Roo
 México.

ING. AGUSTIN ARENAS CASTILLO
 OIRSA
 2a. Ave. Sur No. 5-I
 Tapachula, Chiapas
 México.

M.C. GUADALUPE SALCEDO GOMEZ
 Centro Regional Universitario
 Sureste
 Universidad Autónoma de Chapingo
 Apdo. Postal 29 86800
 Teapa, Tabasco
 México.

ING. JOSE LUIS MANRIQUE BALAM
 Unión Regional de Productores de Coco
 Acero No. 103
 Cd. Industrial
 Villahermosa, Tabasco
 México.

ING. HECTOR MORGÁ OLMO
 Sanidad Vegetal-SARH
 Avellano No. 25 Fracc. Los Laureles
 Tapachula, Chiapas
 C.P. 30700
 México.

ING. RICARDO NOVELO PERAZA
 Sanidad Vegetal
 Calle 2 X 3
 Col. Felipe Carrillo Puerto s/n.
 Mérida, Yuc.
 México.

ING. LUIS SANDOVAL MENESES
 SARH
 Av. López Mateos Esq. con Chacab
 Campeche, Camp.

ING. AUGUSTO GORDILLO ROJAS
 Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos
 Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario
 Calle 2 X 3
 Col. Felipe Carrillo Puerto
 Mérida, Yuc.
 México.

ING. MURIEL DELMY ALAS DE VELIS
 CENTA
 Km 331/2 Carretera a Santa Ana
 El Salvador.

ING. ARIEL MALDONADO CALDERON
 Sanidad Vegetal
 7 Av. 3-67 Zona 13
 Guatemala.

M.C. MARIA DEL CARMEN POTISEK TALAVERA
INIFAP-Campeche
Calle 8 No. 231 Depto. 201
Apdo. Postal 341
Campeche, Camp.
México.

ING. MANUEL ZETINA LANZ
SARH
José Martí 104 3er. piso
Fracc. Lidia Esther
Villahermosa, Tabasco
C.P. 8600
México.

DR. LUIS FELIPE PEREZ FERNANDEZ
OIRSA
Organismo Internacional Regional de Sanidad
Agropecuaria
Eugenia No. 304
Col. del Valle 03100
México, D.F.

ING. JAIME PIÑA RAZO
CIRS-Península
Taboada No. 95
Chetumal, Q. Roo.
México.

ING. HUMBERTO CARRILLO RAMIREZ
CIRS-Q. Roo.
Apdo. postal 250
Chetumal, Q. Roo.
México.

DR. JUAN VILLANUEVA BARRADAS
INIFAP-Veracruz-OIRSA
Mar Caribe No. 11
Fracc. Costa Verde
Veracruz, Ver.
C.P. 94294
México.

ING. IGNACIO COLLI FERNANDEZ
Dirección General de Sanidad Vegetal-SARH
Guillermo Pérez Valenzuela No. 127
Col. Del Carmen Coyoacán
México, D.F.

ING. JORGE BASILIO QUISONES
Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos
Calle 3 X 4 Va
Col. Carrillo Puerto
Mérida, Yuc.
México.

M.C. JOSE ARMANDO ESCAMILLA BENCOM
C.I.C.Y.
Apdo. Postal 87, Cordemex
Mérida, Yuc.
C.P. 97310
México.

DR. VICTOR M. LOYOLA VARGAS
C.I.C.Y.

M.C. DANIEL ZIZUMBO VILLARREAL
C.I.C.Y.

BIOL. JOSE ARELLANO MORIN
C.I.C.Y.

M.C. ROLANDO CARDEÑA
C.I.C.Y.

DR. ROGER ORELLANA LANZA
C.I.C.Y.

Q.F.B. LUCELY ALPIZAR CARRILLO
C.I.C.Y.

DR. CUAUTHEMOC NAVARRO
C.I.C.Y.

Q.F.B. BLONDY CANTO CANCHIE
C.I.C.Y.

ING. JOSE LUIS CHAN
C.I.C.Y.

ING. CARLOS TALAVERA
C.I.C.Y.

BR. RUBY DEL C. RICALDE M.
C.I.C.Y.

BR. LILIA LORENA CANITZA
C.I.C.Y.

BR. OSWALDO FCO. PECH CAUICH
C.I.C.Y.

BR. GILBERTO R. XIX AKE
C.I.C.Y.

BR. PATRICIA E. PIÑA QUIJANO
C.I.C.Y.

BR. JOSE DEL CARMEN LIRA VELUETA
C.I.C.Y.

INDICE

EL AMARILLAMIENTO LETAL DEL COCOTERO Y SU SITUACION ACTUAL EN MEXICO. HUMBERO CARRILLO RAMIREZ.....	1
DIAGNOSTICO DEL AMARILLAMIENTO LETAL POR SINTOMAS VISUALES. JOSE ARMANDO ESCAMILLA BENCOMO.....	1
FISIOLOGIA Y BIOQUIMICA DEL AMARILLAMIENTO LETAL DEL COCOTERO. VICTOR M. LOYOLA VARGAS Y LIZBETH CASTRO CONCHA.....	5
DESCRIPCION BIOLOGIA Y METODOS DE CAPTURA DE <i>Myndus crudus</i> VAN DUZEE; Homóptera: CIXIIDAE. JUAN VILLANUEVA BARRADAS.....	32
CAMPAÑA FITOSANITARIA CONTRA EL AMARILLAMIENTO LETAL DEL COCOTERO. IGNACIO COLLI FERNANDEZ.....	43
DIAGNOSTICO DEL AMARILLAMIENTO LETAL DEL COCOTERO POR METODOS DE MICROSCOPIA. ROLANDO CARDEÑA.....	49
EL USO DE SONDAS DE ADN PARA LA DETECCION DE ORGANISMOS TIPO MICOPLASMA CAUSANTES DEL AMARILLAMIENTO LETAL DEL COCOTERO. JOSE ARMANDO ESCAMILLA BENCOMO Y LUCELY ALPIZAR CARRILO.....	55
METODO DE DIAGNOSTICO Y CONTROL DEL AMARILLAMIENTO LETAL POR APLICACION DE ANTIBIOTICOS. CARLOS OROPEZA SALIN.....	63
METODO DE DETECCION DE AMARILLAMIENTOS CAUSADOS POR ORGANISMOS TIPO MICOPLASMA MEDIANTE EL MONITOREO DEL COMPORTAMIENTO DE ESTOMAS. JORGE SANTAMARIA Y CARLOS OROPEZA.....	70
VARIEDADES DE COCOTERO Y DISPONIBILIDAD DE GERMOPLASMA EN MEXICO. DANIEL ZIZUMBO VILLARREAL.....	78
PALMAS SILVESTRES Y CULTIVADAS SUSCEPTIBLES AL AMARILLAMIENTO LETAL. ROGER ORELLANA.....	88
ESTUDIOS PRELIMINARES SOBRE EL CULTIVO DE TEJIDOS PARA PROPAGACION VEGETATIVA DE <i>Cocos nucifera</i> EN CICY. LUIS CUAUHTEMOC NAVARRO-MASTACHE, CARLOS TALAVERA Y JOSE LUIS CHAN.....	99

GUIA PARA EL RECORRIDO POR LAS PLANTACIONES DE COCOTERO DE LA COSTA NORTE DE LA PENINSULA DE YUCATAN. JOSE ARELLANO MORIN.....	103
--	-----

Humberto Carrillo Ramírez

La zona norte de Quintana Roo, México, tuvo el dudoso honor de ser declarada oficialmente como área afectada por amarillamiento letal del cocotero en 1982; esto la ubicó automáticamente como la puerta de entrada al país de la devastadora enfermedad.

Esta epifitía es causada por un organismo tipo micoplasma (OTM), y transmitida por el insecto vector conocido comúnmente como chicharrita pálida (*Myndus crudus* Van Duzee); se caracteriza por la severidad de su ataque que culmina con la muerte de las palmas al cabo de los 4 a 6 meses posteriores a la aparición de los primeros síntomas.

No se desconoce que la mayoría de las plantaciones comerciales de México son susceptibles a esta enfermedad, ni que México ha perdido casi 400 mil palmas a causa de su ataque.

Todo lo anterior, e información adicional igualmente importante que se escapa en este momento, ha sido constantemente recibida por quien ha tenido oportunidad de asistir a los numerosos eventos científicos, técnicos, divulgativos, e incluso políticos que se han realizado como tema central al amarillamiento.

A partir de su detección en Quintana Roo, la enfermedad paulatinamente ha infectado a los estados vecinos de Yucatán y Campeche; las acciones que se ha tomado no siempre han estado acordes a la realidad ejemplificándose esto con el raquítico apoyo prestado a la fuente generadora de estrategias: la investigación. Cualquiera que sea la institución, este importante renglón debe ser fortalecido, sobre todo ahora que la entidad líder coprera de Tabasco se encuentra seriamente amenazada.

DIAGNOSTICO DEL AMARILLAMIENTO LETAL POR SINTOMAS VISUALES

José Armando Escamilla Bencomo

Centro de Investigación Científica de Yucatán, Apdo. Postal 87. Cordemex 97310
Yucatán, MEXICO.

INTRODUCCION

En fitopatología existe un procedimiento básico que debe cumplirse para establecer el diagnóstico correcto de una enfermedad. A este procedimiento básico se le conoce como los postulados de "Koch" los cuales se enumeran a continuación:

1. El microorganismo debe encontrarse asociado con la enfermedad, en todas las plantas enfermas que se examinen.
2. El microorganismo debe desarrollarse en un cultivo puro, en medios nutritivos sin células vivas y describirse sus caracteres específicos.
3. Cuando en un hospedante sano de la misma especie y edad, se inocula el cultivo puro bajo condiciones favorables, deben de producirse los mismos síntomas que aparecen en el campo.
4. El microorganismo debe aislarse nuevamente del hospedante inoculado y mostrar las mismas características anotadas en el segundo postulado.

A partir de que fueron publicados los postulados del Dr. Koch en 1881 se ha permitido establecer con precisión la patogenicidad de muchas especies de hongos y bacterias causantes de enfermedades en plantas.

En este curso taller nuestro principal objetivo es proporcionar la información técnica necesaria para el reconocimiento y diagnóstico de la

enfermedad del "amarillamiento letal del cocotero". Como los métodos de diagnóstico del amarillamiento letal están en función del organismo causal entonces comenzaremos por conocer algo del organismo tipo micoplasma (OTM).

Los micoplasmas pertenecen a la clase biológica Mollicutes separado de las bacterias y virus. Son mucho más pequeños que una bacteria y su forma es variable ya que va desde redonda hasta en forma de filamentos. Los micoplasmas son los organismos celulares más pequeños conocidos hasta la fecha. No tienen pared celular, ni núcleo ni otra estructura interna aunque poseen ADN y ribosoma. Para que un microorganismo pueda ser clasificado como un "micoplasma verdadero" debe de ser aislado, crecer en un medio de cultivo y pasar una serie de pruebas. Como la mayoría de los "micoplasmas" que causan severas enfermedades en plantas no pueden cultivarse en medios de cultivos, incluyendo el micoplasma causante del amarillamiento letal, entonces los conocemos como "organismos tipo micoplasma" (OTM).

De aquí se deduce que el postulado No. 2 de Koch no es aplicable para hacer el diagnóstico tradicional. Por ello y aunque parezca inverosímil científicamente es aceptado el diagnóstico de micoplasmosis en plantas mediante síntomas visuales. De todas maneras es necesario comprobar el diagnóstico de micoplasmosis por otros métodos. En general el diagnóstico de enfermedades causadas por OTMs en plantas se basa en: a) Síntomas visuales. b) Tratamiento selectivo con antibióticos, c) Microscopia electrónica y de fluorescencia y d) Sondas moleculares de ADN o pruebas inmunológicas.

Estos métodos serán cubiertos en detalle para amarillamiento letal del cocotero (AL). Se hará énfasis en las ventajas y desventajas

de cada uno de estos métodos de diagnóstico tanto desde el punto de vista técnico como práctico.

SINTOMAS VISUALES DE PALMAS AFECTADAS POR AMARILLAMIENTO LETAL

La sintomatología descrita por McCoy (1983) es útil para diagnosticar amarillamiento letal (AL) de palmas en el campo. El necrosamiento de inflorescencias es el síntoma más característico de la presencia de AL. La desventaja es que en palmas jóvenes el único síntoma visual es el del amarillamiento de las hojas. Por otra parte el amarillamiento de hojas es una sintomatología intrínseca de muchos problemas del cultivo del cocotero por lo que el seguimiento detallado de un cuadro minucioso de desarrollo de síntomas es necesario. Para ello se ha establecido una tabla con síntomas cronológicos característicos. Ello nos permite referirnos al mismo estado de desarrollo de la enfermedad.

ESCALA PARA EVALUAR LA SEVERIDAD DE ATAQUE DEL AMARILLAMIENTO LETAL EN *Cocos nucifera* L. (McCoy, 1983)

Etapa	Rango Numérico	Síntomas
PRIMARIA	0	- Palma sana o incubando
	I	- Caída de frutos únicamente
	II	- Una inflorescencia necrótica
	III	- Dos o más inflorescencias necróticas
	IV	- Únicamente las hojas inferiores
amarillas		
AMARILLAMIENTO	V	- Amarillamiento de las hojas inferiores y medias
	VI	- Todas las hojas amarillas, hoja espada sana
	VII	- Hoja espada muerta, permanecen
algunas		hojas verdes
FINAL	VIII	- Hoja espada muerta, todas las hojas
amarillas		
	IX	- Palma muerta (Poste telefónico).

El primer síntoma de amarillamiento letal en palmas maduras es la caída prematura de los frutos independientemente de el tamaño. La mayoría de los coco que caen tienen una coloración café debajo del calix en la terminación del tallo. Como la caída de frutos de 3 a 4 cm de diámetro es normal no se debe considerar este como un síntoma inequívoco de AL. De hecho la caída de cocos es el síntoma menos confiable de diagnóstico de AL.

El siguiente síntoma es el necrosamiento de las inflorescencias nuevas, el cual se observará cuando la inflorescencia sale a través de la espádice. Este es el síntoma más característico del AL. Posteriormente las hojas se tornan amarillas comenzando por las hojas inferiores para luego pasar por las hojas intermedias y terminar en las superiores. Durante el amarillamiento las hojas siguen turgentes y no son flácidas como cuando ocurre por marchitez de falta de agua. Después del amarillamiento ocurre el secado gradual de las hojas quedando de un color café. Las hojas pueden ser fácilmente desprendibles y se caen. En ciertos casos la penúltima hoja distal (hoja bandera) es la que primeramente se amarilla. La muerte del cogollo ocurre a mitad del amarillamiento total de la palma.

La hoja nueva (hoja espada) se colapsa y cuelga. Finalmente, todo el follaje cae dejando el tronco desnudo y con la apariencia de un poste telefónico.

Esta sintomatología es característica de la palma del cocotero *Cocos nucifera* L. y otras palmas susceptibles como la *Pritchardia* spp. La única diferencia es que con la palma *Pritchardia* el necrosamiento de la hoja espada es el primer síntoma visible.

Otro tipo de sintomatología de amarillamiento letal en palmas es el cuadro que desarrolla la palma *Veitchia merillii*. Los primeros síntomas son similares que en el caso de cocotero, pero la caída de frutos y el necrosamiento de inflorescencias es errático. El amarillamiento de las hojas no es fácilmente detectable en la etapa temprana. La evidencia es una mancha café a lo largo de las hojas o pinas. El necrosamiento se extiende a todas las hojas en un período de días dándole una apariencia de marchitez por falta de agua. La palma ornamental cola de pescado (*Chrysalidocarpus cabadae*) presenta similar sintomatología.

El diagnóstico de amarillamiento letal basado en síntomas visuales es práctico ya que solo se necesita capacidad de observación sin embargo debe de ser utilizado con cautela. Un diagnóstico positivo de amarillamiento letal en cocotero basado en síntomas visuales debe de ser comprobado por medio de otras técnicas de diagnóstico.

REFERENCIAS

- McCoy, R.E. 1983. Lethal yellowing of palms. Bull 834. Agricultural Experimental stations. Institute of food and agricultural sciences. University of Florida.

FISIOLOGIA Y BIOQUIMICA DEL AMARILLAMIENTO LETAL DEL COCOTERO

Víctor M. Loyola Vargas y Lizbeth Castro Concha

Departamento de Bioquímica, División de Biología Vegetal, Centro de Investigación Científica de Yucatán, Apdo. Postal 87, 97310 Cordemex, Yucatán, México

INTRODUCCION

La palma de coco es uno de los árboles más bellos y útiles de los trópicos, en donde crece óptimamente con 120 horas/mes de luz (Murray, 1977), temperatura media anual de 27°C y precipitación pluvial de 1,300 a 2,500 mm/año. La falta de lluvia por 4 ó 5 meses afecta, tanto el crecimiento, como el rendimiento de la palma (Ramadasan y Rajagopal, 1987). La temperatura óptima para la germinación del coco es de entre 32 y 35°C (Sento, 1975).

El desarrollo de la plántula de coco es mantenido por el endospermo hasta alrededor del cuarto mes después de la germinación (Foale, 1986). La dependencia total de la plántula de su propia fotosíntesis sólo se completa hasta 17 meses después de la emergencia de la misma (Ramadasan y Rajagopal, 1987). La hoja más joven, aún totalmente enrollada, posee los valores de liberación de oxígeno más elevados (Mathew y Ramadasan, 1974). Este hecho hace del cocotero una planta con una fisiología y una bioquímica muy especiales.

Las características fotosintéticas de las plantas de coco están relacionadas estrechamente con el genotipo, siendo independiente de la frecuencia en el número de estomas y fuertemente dependiente del genotipo.

Respecto a su metabolismo básico, se sabe que existe una cierta correlación positiva entre la actividad de la nitrato reductasa y el rendimiento anual de cocos (Shivashankar and Ramadasan, 1983) y también que esta enzima presenta fluctuaciones diurnas, como en otras especies (Shivashankar and Rajagopal, 1983). No obstante, en general se desconoce el metabolismo nitrogenado básico de esta planta.

EL AMARILLAMIENTO LETAL

Desde su descubrimiento en el siglo pasado, la enfermedad del amarillamiento letal del cocotero ha producido la muerte de millones de plantas en Jamaica (Romney, 1972), La Florida (Fisher, 1975), la zona del Caribe, Tanzania (Schuiling and Mpunami, 1990) y más recientemente en la Península de Yucatán en México (McCoy *et al.*, 1983; Villanueva *et al.*, 1985; 1987). Esta enfermedad, producida por un organismo tipo micoplasma (Beakbane *et al.*, 1972; Plavsic-Banjac *et al.*, 1972), aún no se puede diagnosticar en forma temprana, y una vez que infecta a una palmera, ésta morirá irremediablemente en poco tiempo, a menos de que sea tratada con oxitetraciclina (Harries, 1974; Hunt *et al.*, 1974; McCoy, 1975; McCoy *et al.*, 1976).

El vector de la enfermedad, por lo menos en el área del Caribe, incluyendo la Península de Yucatán, es un insecto de la familia Cixiidae, denominado *Myndus crudus* Van Duzee (Ferrales, 1987, Howard *et al.*, 1983, 1984) y al cual se le conoce en esta región con el nombre de "chicharrita".

ALTERACIONES FISIOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS PRODUCIDAS POR LA ENFERMEDAD DEL AMARILLAMIENTO LETAL

Se han reportado una serie de alteraciones fisiológicas y bioquímicas en plantas enfermas de amarillamiento letal. Se han observado alteraciones en los flujos del xilema y del floema, en las relaciones hídricas, en el comportamiento estomatal, en los niveles de algunas enzimas, en los patrones electroforéticos y probablemente en los niveles de reguladores del crecimiento.

Floema

Se han encontrado organismos tipo micoplasma (OTM) confinados a los tubos cribosos del floema de las plantas enfermas (Howard *et al.*, 1983, 1984; Parthasarathy, 1974; Thomas, 1979). La presencia de este tipo de organismos se ha asociado con alteraciones en el funcionamiento del floema.

El potencial osmótico del exudado del floema de tallos de palmas de la variedad Alto Jamaicano es mayor, en alrededor del 20%, en palmas enfermas (grado 6 a 7 de acuerdo a McCoy, 1983), cuando se compara con palmas sanas. Este fenómeno es consistente con el hecho de que el contenido de sólidos del exudado del floema de plantas enfermas es 53% más elevado que el de las palmas sanas (Eden-Green and Waters, 1982). La velocidad de exudación también se ve afectada, de 13 ml/h en palmas en el estado 2, el cual es muy similar al de las palmas sanas, a solo 1 a 2 ml/h en palmas en el estado 6 a 7 (Eden-Green and Waters, 1982). Estas alteraciones son consistentes con la posibilidad de que los OTM produzcan un daño en los vasos conductores, alterando así las funciones del floema en las palmas enfermas, tales como el bloqueo de las placas cribosas. En otras especies, como la pera, como respuesta

al ataque por micoplasmas se ha observado deposición de callosa en las placas cribosas ocasionando un bloqueo en el flujo del floema (Schneider, 1962). En *C. nucifera* se ha reportado deposición de callosa en tubos cribosos como respuesta al amarillamiento letal (Nienhaus *et al.*, 1982). Sin embargo, hasta el momento aún está por definirse si ocurre bloqueo en los tubos cribosos en plantas con amarillamiento letal.

Xilema

Existe evidencia de que el transporte en el xilema se encuentra disminuído en palmas con amarillamiento letal (Eskafi *et al.*, 1986). Sin embargo, no se ha detectado ninguna obstrucción en las traqueidas, excepto en hojas de plantas severamente enfermas (Eden-Green, 1976; 1982).

McDonough y Zimmermman (1979) determinaron que los cocoteros afectados por amarillamiento letal no mostraban la variación diurna típica de la presión del xilema, de aproximadamente -1 bar por la noche y de aproximadamente -10 bar al mediodía. Las plantas enfermas mantienen la presión del xilema en alrededor de -4 bar, independientemente de la hora del día, sugiriendo que los estomas se encuentran cerrados. Esta observación sugiere que el amarillamiento letal produce, fisiológicamente, síntomas opuestos a la enfermedad del marchitamiento de la raíz (Rajagopal *et al.*, 1986).

Cierre estomatal

Se ha sugerido que el cierre estomatal es el responsable de la disminución en la presión del xilema (McDonough and Zimmermman, 1979). Eskafi *et al.*, (1986) y Loyola-Vargas *et al.*, (1991) determinaron que las plantas enfermas de amarillamiento letal presentaron tasas elevadas de resistencia a la difusión del vapor de agua, confirmando que los estomas se encuentran cerrados. El cierre de los estomas también se ha asociado con otras enfermedades causadas por OTM en otras especies tales como *Catharanthus roseus*, *Fraxinus americana*, *Prunus virginiana*, *Ulmus americana* y *Ulmus rubra* (Matteoni and Sinclair, 1983). Este hecho sugiere que el cierre estomatal puede ser una respuesta típica en plantas infectadas por OTM. El cierre de los estomas en plantas de *C. nucifera* afectadas por amarillamiento letal se ha observado dos semanas antes de la aparición de los síntomas visuales (Eskafi *et al.*, 1986; McDough and Zimmermman, 1979; Loyola-Vargas *et al.*, 1991). Por lo cual se ha sugerido que el cierre estomatal es un parámetro que puede ser útil en la detección temprana de la enfermedad.

Nutrientes

Dabek y Hunt (1976) reportaron el efecto de la aplicación exógena de diferentes sustancias en la senescencia de pínulas aisladas de hojas sanas y enfermas de *C. nucifera*. El resultado más importante fue el re-enverdecimiento

que se produjo en las áreas originalmente amarillas de las hojas enfermas. El efecto del re- enverdecimiento fue muy pronunciado con la adición del ácido giberélico, cobre o zinc. El hecho de que la adición de cobre o zinc produzca un re-enverdecimiento sugiere que las palmas infectadas pudieran presentar una deficiencia de micronutrientes, lo cual podría ser el resultado de la disminución en el flujo del xilema que se ha observado (McDough and Zimmermann, 1979). Sin embargo, el análisis del exudado del floema, tanto de palmas sanas como de palmas enfermas, no muestra diferencias en los contenidos de cobre y zinc (Stemmer *et al.*, 1982). La mayor diferencia entre hojas de palmas sanas y palmas enfermas fue una disminución en el contenido de potasio (Stemmer *et al.*, 1982).

Fitorreguladores

El re-enverdecimiento provocado por el ácido giberélico en hojas afectadas por amarillamiento letal ha hecho sugerir a Dabek y Hunt (1976) que la planta sufre un déficit de compuestos del tipo esteroide. Este déficit puede ser provocado por el requerimiento de esteroides que tienen tanto los organismos del tipo *Mycoplasma*, como los del género *Spiroplasma* (Tully, 1983). Desafortunadamente no existen medidas de los niveles de giberelinas en *C. nucifera*.

Adicionalmente, Dabek y Hunt (1976) estudiaron los niveles de etileno y el efecto de la adición exógena de citocininas (Loyola- Vargas *et al.*, 1991) y auxinas. Sus resultados muestran que la adición de auxinas no promovió ningún re-enverdecimiento. Por otro lado, la adición de citocininas causó un re-enverdecimiento en forma restringida en la cercanía del raquis, probablemente debido a su poca movilidad (Thimann, 1963), mientras que la combinación de auxinas y citocininas fue más efectiva causando un re-enverdecimiento más efectivo. Los autores sugieren que este fenómeno es consistente con el efecto de las auxinas, previamente reportado, en la movilidad de las citocininas (Serh *et al.*, 1966).

Los resultados anteriores sugieren que, en una palma afectada por amarillamiento letal, ocurren cambios en los niveles de reguladores del crecimiento. Sin embargo, para confirmar dichos resultados será necesario medir las concentraciones endógenas de dichos fitorreguladores. Por otro lado, no se sabe si el ácido abscísico (ABA) está involucrado en el amarillamiento letal. Dado que existe suficiente evidencia que apoya la participación de este fitorregulador en el control de cierre estomatal (Zhang *et al.*, 1987), podría esperarse que el cierre estomatal en el amarillamiento letal estuviera mediado por ABA.

Niveles de arginina

Las especies del género *Mycoplasma* pueden ser divididos en dos grupos basados en su habilidad para fermentar glucosa. Las especies no fermentativas, y unas pocas de las fermentativas, hidrolizan arginina a través de una vía de tres enzimas, la arginina desiminasa (EC 3.5.3.6), la ornitina carbamoil transferasa

(EC 2.1.3.3) y la carbamato cinasa (EC 2.7.2.2). Los productos finales de esta vía son amonio, bióxido de carbono y ATP (Barile, 1983).

Si el amarillamiento letal es producido por alguna especie del género *Mycoplasma* debería esperarse que bajos niveles de arginina produjeran una resistencia a la infección por este tipo de organismos y por el contrario, niveles elevados de arginina haría a las palmas susceptibles. Los experimentos encaminados a probar esta hipótesis se llevaron a cabo hace algunos años. En efecto, hace algunos años el grupo del Dr. McCoy demostró que hay una relación directa entre el grado de susceptibilidad al amarillamiento letal y el contenido de arginina (Barcelón *et al.*, 1983). En el caso específico de *C. nucifera* las variedades Enano Malayo y Maypan, con bajos contenidos de arginina en su folaje, son pocos susceptibles al amarillamiento letal, en tanto que los Altos Jamaíquinos, con niveles de arginina elevados, son altamente susceptibles a la enfermedad. Sin embargo, estos resultados no han podido ser repetidos. Datos de nuestro laboratorio sugieren que esta relación no existe (Oropeza *et al.*, datos no publicados).

Por otro lado, el contenido de arginina en el exudado del floema es 66% más elevado en las palmas enfermas que en las palmas sanas. Sin embargo, la variabilidad existente entre palma y palma hace que esta diferencia no sea significativa (Stemmer *et al.*, 1982).

ACTIVIDADES ENZIMATICAS

Cuando un patógeno ataca a una planta, ésta responde de múltiples maneras. Entre las respuestas más comunes de las plantas al ataque por patógenos se encuentran los cambios en los niveles de enzimas tales como las peroxidasas (Agrios, 1969; Kanazawa *et al.*, 1965; Solymosy *et al.*, 1967). Estudios llevados a cabo por Dabek (1974) mostraron que la actividad de algunas peroxidasas fue independiente de si la palma estaba sana o afectada por amarillamiento letal. Sin embargo, determinó que existía una correlación negativa entre la reacción para detectar polifenoles y la actividad de las peroxidasas. Esta correlación no existe en palmas sanas, por lo que es posible que esta correlación pudiera ser utilizada, una vez mejorada, en el desarrollo de un método de diagnóstico temprano de la enfermedad del amarillamiento letal, ya que este fenómeno se presentó antes de que aparecieran los síntomas visuales de la enfermedad.

Por otro lado, la actividad enzimática de la catalasa, una enzima involucrada en el metabolismo de los polifenoles, aumenta en la etapa presintomática (Dabek, 1974). Conforme avanza la enfermedad la actividad de esta enzima disminuye, llegando a ser solo el 50% de la actividad de las plantas sanas 130 días después de la aparición de los primeros síntomas (Dabek and Hunt, 1976). Los autores sugieren que éste es un síntoma del daño al mecanismo de síntesis de proteínas y por lo tanto puede no ser un síntoma específico producido por el Amarillamiento Letal.

Otras enzimas que han sido estudiadas en relación al amarillamiento letal, mediante patrones isoenzimáticos, han sido una fosfatasa alcalina, tres peroxidases, cinco estearasas y una ribonucleasa. Sin embargo, no se encontraron diferencias consistentes entre plantas sanas y enfermas (McCoy, 1983).

TRABAJO EXPERIMENTAL

Hace 3 años la División de Biología Vegetal del Centro de Investigación Científica de Yucatán abordó el problema del amarillamiento letal a través del proyecto Aspectos Bioquímicos, Fisiológicos e Inmunológicos en Plantas de *C. nucifera* L. Afectadas por amarillamiento letal.

Dicho proyecto tuvo como principal objetivo el desarrollar un estudio sistemático e integral de algunos aspectos de la fisiología y bioquímica de la enfermedad encaminados a definir los parámetros de detección temprana. En otras secciones de este manual se reportan los resultados sobre los aspectos fisiológicos, por lo que en este capítulo solo se mencionan los resultados bioquímicos.

ESTUDIOS BIOQUIMICOS

MATERIAL BIOLÓGICO.

Para los estudios bioquímicos se muestrearon plantas con grados de avance de la enfermedad 0, 1, 4 y 6-7, de acuerdo a la clasificación hecha por McCoy (1983). De estas plantas se seccionaron las pínulas 20 y 40 de la hoja bandera (hoja joven que está completamente expuesta) y la pínula 20 de la hoja espada, la hoja más joven, así como inflorescencias provenientes, tanto de palmas sanas como de palmas enfermas. Inmediatamente después de cosechado el material, se congelaba por inmersión en nitrógeno líquido y se mantenían así hasta el momento de su utilización. Se llevaron a cabo numerosos muestreos independientes, durante el tiempo de duración de este proyecto.

OBTENCION DEL EXTRACTO CRUDO.

Las pínulas o las inflorescencias se maceraron en un mortero hasta polvo fino; posteriormente se homogenizaron en un politrón por 3 min con el amortiguador de extracción (Tris-HCl 100 mM, 2 mM CaCl₂, 10 mM β-mercaptoetanol, 400 mM ácido transcinámico y 30% PVP), en una relación 3.5/1 v/p, se filtró a través de 4 capas de gasa y se centrifugó a 18,000 x g durante 30 minutos. Todas las manipulaciones fueron hechas a 4°C. Finalmente, se utilizó

La actividad de esta enzima se definió como μ moles de L-ornitina formada por minuto. Para poder cuantificar la actividad de esta enzima se llevó a cabo una activación de la misma (Hashimoto et al., 1989), sometiendo al extracto crudo a una temperatura de 55°C durante 20 minutos en presencia de MnCl_2 10 mM. Posterior a esta activación, se llevó a cabo la reacción durante 60 minutos y finalmente se cuantificó la cantidad de L-ornitina formada.

La actividad de la argininosuccinasa se determinó según el método propuesto por Ratner (1970). Esta reacción es seguida por el aumento en la absorbancia a 240 nm debido a la formación de fumarato. La mezcla de reacción contiene: amortiguador de fosfatos de potasio 0.10 M, pH = 7.5, extracto enzimático y argininosuccinato de potasio 0.01 M; este último se forma con 50 mg de la sal de bario (100 moles) del ácido succínico, disuelta en 9.85 ml de agua, más 0.15 ml de K_2SO_4 0.1 M, esta solución se clarifica por centrifugación. La mezcla de reacción conteniendo al amortiguador y a la enzima se preincuba durante 2 minutos a 38°C, posteriormente la reacción se inicia por la adición del argininosuccinato, el volumen total de la reacción es de 3 ml. El aumento en la absorbancia se lee contra un blanco que contiene todos los componentes de la mezcla de reacción excepto el sustrato. Las lecturas se toman cada medio minuto durante diez minutos. Una unidad específica se define como la cantidad de enzima que es capaz de catalizar la formación de un mol de fumarato por hora a 38°C por mg de proteína.

La actividad de la arginina desiminasa se determinó según el método propuesto por Schimke (1970), el cual se basa en la cuantificación de la citrulina formada a partir de la arginina, la cual es posteriormente cuantificada por el método colorimétrico de Archibald (1944). La mezcla de reacción contiene amortiguador de fosfato de potasio 0.1 M, pH 6.5, extracto enzimático y L-arginina 0.05 M, ajustada a pH 6.5 con HCl. La mezcla de reacción, conteniendo al amortiguador y al extracto enzimático, se preincuba a 37°C durante 2 minutos, al final de los cuales se activa la reacción por la adición de la L-arginina. La reacción se detiene por la adición de 0.2 ml de ácido perclórico al 70% a diferentes intervalos de tiempo. Posteriormente los tubos se centrifugan a 3,000 rpm durante 10 minutos y del sobrenadante se toman partes alícuotas para la cuantificación de la citrulina formada. Esta cuantificación está basada en la formación de un producto de reacción coloreado con la acetil monoxima en solución ácida (H_2SO_4 concentrado y H_3PO_4 en relación 1:3). El cambio en la absorbancia se lee a 490 nm.

DETERMINACION DE LAS POZAS METABOLICAS.

Los aminoácidos fueron determinados utilizando el método de Cocking (1954), utilizando ácido glutámico como estándar. La poza de amonio fue medida a través del método de Nessler, descrito por Steli y Averell (1970). La determinación de las proteínas se efectuó por el método de Peterson (1977), utilizando albúmina sérica bovina como estándar.

Todos los experimentos fueron hechos por triplicado para cada uno de los muestreos.

RESULTADOS Y DISCUSION.

Uno de los primeros problemas que hubo necesidad de resolver fue la gran cantidad de fenoles que produce el tejido una vez colectado y sometido a extracción y los cuales interfieren en la determinación de varios de los parámetros por evaluar; para ello se utilizó al ácido transcinámico, inhibidor de la enzima fenil amonio liasa (PAL), como una posible alternativa para evitar la formación de estos compuestos. Por otro lado, también se utilizó una mayor concentración de polivinilpirrolidona (PVP), la cual es un compuesto ampliamente utilizado como acomplejante de fenoles (Cuadro 1). De todas las concentraciones probadas, se decidió utilizar una concentración de 400 mM de ácido transcinámico y PVP al 30%, ya que dicha combinación era la que mejor restringía la producción de fenoles y no interfería con las actividades enzimáticas determinadas (Cuadro 2).

El amarillamiento letal es una enfermedad que lleva a la muerte a la palma 3 ó 4 meses después de presentados los primeros síntomas, por lo que pudiera pensarse que este proceso fuera un fenómeno de senescencia acelerada. Debido a que durante el proceso de senescencia existe una gran degradación de aminoácidos y proteínas y con esto una gran producción de amonio, la actividad de la GDH aumenta, preferencialmente en el sentido aminativo (Laurière y Daussant, 1983). Para ello se midió la actividad de esta enzima en diferentes frondas de palmas con diferentes grados de avance de la enfermedad.

Los resultados obtenidos no apoyaron la hipótesis planteada, ya que conforme aumenta el grado de avance de la enfermedad, la actividad de la GDH-NADH se abate, independientemente de la pínula estudiada (Figura 1), probablemente esto se deba a muerte celular en los tejidos estudiados. La actividad de la GDH-NAD⁺ solo se encuentra presente en palmas sanas y no en palmas enfermas.

La GOGAT-NADH (Figura 2), se comporta de una manera muy semejante al de la GDH-NADH, ya que su actividad disminuye conforme aumenta el grado de avance de la enfermedad de las palmas, independientemente de la pínula en cuestión, a la vez que la actividad más baja se observó en el estado uno de la enfermedad.

El comportamiento que presentó la GS (Figura 3) fue opuesto al que presentaron la GDH y la GOGAT, ya que la actividad de esta enzima aumentó hasta 350% en plantas enfermas, independientemente de la pínula estudiada. Esto podría explicar en parte, por qué a pesar de estarse formando grandes cantidades de amonio, durante la hidrólisis de la arginina, la cual es mucho mayor en palmas enfermas, la poza total de amonio no se ve modificada (Figura 4).

Como se acaba de mencionar, la poza de amonio en las diferentes muestras ensayadas no parece verse afectada (Figura 4). Las pozas de aminoácidos (Figura 5) y de proteínas (Figura 6) aumentan conforme el grado de avance de la enfermedad aumenta en estas palmas. El caso más marcado es el de la poza de aminoácidos de la hoja espada, en la que esta poza aumenta hasta en un 100%.

En base a todos los resultados obtenidos con relación a las enzimas de asimilación del amonio en plantas de *Cocos nucifera* L. y a los experimentos realizados, se puede sugerir, que en este sistema las dos vías de asimilación de amonio parecen estar funcionando.

Por otro lado, tratando de esclarecer la posible relación existente entre el contenido de arginina en las palmas y su susceptibilidad a infectarse con el micoplasma, se cuantificaron las actividades enzimáticas de dos de las enzimas involucradas en el metabolismo de la arginina, la arginasa y la ureasa.

No se logró detectar actividad de ureasa en las muestras, con los procedimientos empleados y con los cuales normalmente se puede medir esta enzima en plantas superiores.

El comportamiento general de la arginasa fue el de aumentar conforme aumenta el grado de avance de la enfermedad. Este aumento es mucho más marcado en la pínula 20 de la hoja bandera (Figura 7). Falta esclarecer, sin embargo, si este aumento es debido a que hay un mayor contenido de arginina en las palmas, ya que es una enzima inducible por su sustrato (Thompson, 1980), provocado por el micoplasma, ya que lo utiliza como su mayor fuente en la producción de ATP (Razin y Tully, 1983), o si es resultado del proceso de infección.

Para poder esclarecer este hecho, se montó la metodología necesaria para poder cuantificar a la arginina desiminasa, una enzima que es propia de los micoplasmas y que degrada a la arginina hasta citrulina y amonio, (Razin y Tully, 1983; Schimke, 1970), así como a la argininosuccinasa, la cual es la enzima responsable del último paso en la síntesis de la arginina en las plantas. Todo esto con el fin de poder distinguir claramente entre el metabolismo de la arginina en la planta y el metabolismo de este compuesto por el micoplasma.

La actividad de la argininosuccinasa, en las muestras provenientes de hojas de palmas con diferentes grados de avance de la enfermedad, aumentó con el grado de avance de la enfermedad (Cuadro 3), lo cual sugiere una síntesis aumentada de arginina muy probablemente debida a la infección por el micoplasma. Hasta la fecha no se ha podido detectar actividad de arginina desiminasa en las frondas de las plantas estudiadas.

Dado que los primeros tejidos de la palma que se ven afectados por la infección del micoplasma son las inflorescencias, también se decidió incluirlos en el estudio.

La actividad de las enzimas de asimilación del amonio fueron estudiadas tanto en inflorescencias de palmas sanas como en inflorescencias de palmas enfermas grado 3. Puesto que durante el desarrollo de la enfermedad las inflorescencias mueren, se podría esperar que hubiera una gran degradación de aminoácidos y de proteínas y con esto gran producción de amonio, el cual podría modificar la actividad de alguna de las enzimas involucradas en su asimilación.

La actividad que presentó la GDH-NADH en las inflorescencias de palmas enfermas fue menor que la presente en las inflorescencias de palmas sanas

(Figura 8), contrariamente a lo esperado para un tejido en el cual se está liberando gran cantidad de amonio (Laurière y Daussant, 1983). Estos resultados son similares a los obtenidos con hojas de palmas enfermas.

La actividad desaminativa de la GDH solo se encontró en las inflorescencias provenientes de palmas enfermas (Figura 8), a diferencia de las hojas, en las cuales solo se encontró esta actividad en las palmas sanas.

En cuanto a la actividad de la GS presente en las inflorescencias del cocotero, su comportamiento fue similar al presentado en las hojas, ya que su actividad aumentó en inflorescencias provenientes de palmas enfermas, este aumento fue de aproximadamente un 80% con respecto a la actividad determinada en las palmas sanas (Figura 9).

La GOGAT-NADH, bajo las condiciones ensayadas, no pudo ser cuantificada ni en las inflorescencias provenientes de palmas sanas ni en las provenientes de palmas enfermas.

En lo que concierne a las actividades de las enzimas del ciclo de la arginina, la arginasa presentó una mayor actividad en aquellas muestras provenientes de palmas enfermas, al comparar con las inflorescencias de palmas sanas (Figura 10). Este aumento en la actividad, de aproximadamente el 40%, confirma los resultados obtenidos previamente en hojas de *Cocos nucifera* y concuerdan con los reportes existentes, ya que a mayor grado de infección, mayor contenido de arginina y como consecuencia mayor actividad de la arginasa (Thompson, 1980).

La urea producida en las plantas es degradada por acción de la ureasa hasta CO_2 y amonio. Como ya se mencionó esta actividad no estuvo presente, ni en hojas de palmas sanas, ni en hojas de palmas enfermas. Sin embargo, esta actividad si se detectó en inflorescencias, presentando mayor actividad en aquellas provenientes de palmas enfermas (Figura 10). Dado que la degradación de la urea produce amonio, y puesto que este fenómeno es más abundante en las inflorescencias enfermas, esto podría explicar el hecho de que la poza de amonio es mayor en las inflorescencias de palmas enfermas (Figura 11).

La actividad de argininosuccinasa no fue detectada ni en inflorescencias de palmas sanas, ni en inflorescencia de palmas enfermas.

Tanto las pozas de amonio como de aminoácidos fueron mayores en las muestras de inflorescencias de palmas enfermas (Figura 11). Esto probablemente se deba al proceso de degradación producido por el amarillamiento letal.

Dado que es en las inflorescencias del cocotero en donde se ha reportado la presencia del micoplasma, podría ser que el micoplasma indujera un aumento en la síntesis de la arginina en las hojas de palmas enfermas, la cual pudiera ser posteriormente transportada a las inflorescencias, donde sería degradada por acción de la arginasa y de la ureasa.

Sin embargo, aún no se puede distinguir claramente entre el metabolismo de la arginina por la planta y el metabolismo de este compuesto por el

micoplasma, ya que en ninguna de las muestras provenientes de hojas o inflorescencias, tanto de palmas sanas como de palmas enfermas, logró detectarse actividad de la arginina desiminasa, que es la enzima que degrada la arginina hasta citrulina y amonio y es una enzima clave del micoplasma.

Como continuación de este trabajo, nos proponemos realizar estudios más concretos con algunas de las enzimas, que se ven modificadas por el amarillamiento letal y generar así conocimiento básico acerca de su comportamiento en los distintos tejidos del coco; previo al establecimiento, así como a lo largo de toda la enfermedad, con el fin de determinar si alguna de las actividades enzimáticas ensayadas pudiera ser utilizadas como marcador temprano de la enfermedad.

Agradecimientos

El trabajo de los autores ha sido patrocinado parcialmente por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. El campo experimental, en el puerto de Telchac, Yucatán, en el cual se están llevando a cabo los estudios mencionados es propiedad del Sr. Santiago Tamayo. Los autores también agradecen la ayuda prestada por el Ing. Roger Vázquez y el Sr. Manuel Crespo.

REFERENCIAS

- Agrios, G.N., 1969. Plant Pathology, Academic Press, New York.
- Barcelón, M.A., R.E. McCoy and H.M. Donselman, 1983. New liquid chromatographic approaches for free amino acid analysis in plants and insects. II. Thin-layer chromatographic analysis for eighteen varieties of palm trees. J. Chromatogr., 260:147-155.
- Barile, M.F., 1983. Arginine hydrolysis. In: Razin, S. and J.G. Tully (Eds.) Methods in Mycoplasma. Mycoplasma Characterization. Vol. I., Academic Press, New York, pp. 345-349.
- Beakbane A.B., C.H. Slater and A.F. Posnette, 1972. Mycoplasmas in the phloem of coconut, *C. nucifera* L., with lethal yellowing disease. J. Hort. Sci., 47:265.
- Dabek, A.J. and P. Hunt, 1976. Biochemistry of leaf senescence in coconut lethal yellowing, a disease associated with mycoplasma-like organism. Trop. Agric., 53:115-123.
- Dabek, A.J., 1974. Biochemistry of coconut palms affected with the lethal yellowing disease in Jamaica. Phytopath. Z., 81:346-353.
- Eden-Green, S.J., 1976. Root symptoms in coconut affected by lethal yellowing disease in Jamaica. FAO Plant Protection Bull., 24:119-122.
- Eden-Green, S.J., 1982. Further studies on root symptoms in coconut palms affected by lethal yellowing disease in Jamaica. Plant Pathol., 31:215-219.
- Eden-Green, S.J. and H. Walters, 1982. Collection and properties of phloem sap from healthy and lethal yellowing-diseased coconut palms in Jamaica. Phytopathol., 72:667-672.
- Eskafi, F.M., H.G. Basham and R.E. McCoy, 1986. Decreased water transport in lethal yellowing-diseased coconut palms. Trop. Agric., 63:225-228.

- Ferrales, E.S., 1987. Evaluación de trampas para la captura de *Myndus crudus* Van Duzee (Homoptera: Cixiidae) vector del amarillamiento letal y su dinámica poblacional en Q. Roo. Tesis Ing. Agrónomo, Instituto Tecnológico Agropecuario No. 16, J. Sarabia, Quintana Roo.
- Foale, M. A., 1968. The growth of coconut seedlings. The role of the seed and of photosynthesis in seedling growth up to 17 months of age. *Aust. J. Agric. Res.*, 19:781-789.
- Harries, H.C., 1974. Natural symptom remission of lethal yellowing disease of coconut. *Trop. Agric.*, 51:575-576.
- Howard, F.W., R. C. Norris and D.L. Thomas, 1983. Evidence of transmission of palm lethal yellowing agent by a planthopper, *Myndus crudus* Homoptera; Cixiidae. *Trop. Agric.*, 60:168-171.
- Howard, F.W., D.S. Williams and R.C. Norris, 1984. Insect transmission of lethal yellowing to young palms. *Int. J. Entomol.*, 26:331-338.
- Hunt, P., A.J. Dabek and M. Schuiling, 1974. Remission of symptoms following infected coconut palms. *Phytopathol.*, 64:307-312.
- Kanazawa, Y., H. Shichi and J. Uritani, 1965. Biosynthesis of peroxidase in slices of black rot-infected sweet potato roots. *Agric. Biol. Chem.*, 29:840-847.
- Mathew, C. and A. Ramadasan, 1974. Studies on photosynthesis in coconut. Rate of apparent photosynthesis. *India J. Exp. Biol.*, 12:589-590.
- Matteoni, J.A. and W.A. Sinclair, 1983. Stomatal closure in plants infected with mycoplasma-like organisms. *Phytopathol.*, 73:398-402.
- Mc Coy R.E., 1975. Effect of oxytetracycline dose and stage of disease development on remission of lethal yellowing in coconut palm. *Plant Disease Rep.*, 59:717-720.
- Mc Coy, R.E., V.J. Carroll, C.P. Pucher and G.H. Gwin, 1976. Field control of coconut lethal yellowing with oxytetracycline hydrochloride. *Phytopathol.*, 66:1148-1150.
- Mc Coy R.E., 1983. Lethal yellowing of palms. *Boll. 834 Agricultural Experimental Stations, Institute of Food and Agricultural Sciences. University of Florida.*
- McDonough, J. and M.H. Zimmermann, 1979. Effect of lethal yellowing on xylem pressure in coconut palms. *Principles*, 23:132-137.
- Murray, D.B., 1977. Coconut palm. In: Alvin, P. de T. and T. T. Koslowski (Eds.) *Ecophysiology of Tropical crops*. Academic Press, New York, pp. 383-407.
- Nienhaus, F., M. Schuiling, G. Glem, U. Schinzer and A. Spittel, 1982. Investigations on the etiology of the lethal disease of coconut palm in Tanzania. *Z. Pflanzenkrankh. Pflanzensch.*, 89:185-193.
- Plavsic-Banjac, B., P. Hunt and K. Maramorosch, 1972. Mycoplasma-like bodies associated with lethal yellowing disease of coconut palms. *Phytopathol.*, 62:298-299.
- Parthasarathy, M.V., 1974. Mycoplasma-like organisms associated with lethal-yellowing disease of palms. *Phytopathol.*, 64:667-674.
- Thomas, D.L., 1979. Mycoplasma-like bodies associated with lethal declines of palms in Florida. *Phytopathol.*, 69:928-934.
- Ramadasan, A. and V. Rajagopal, 1987. Coconut. In: Sethuray, M. R. and A.S. Raghavendra (Eds.) *Tree Crop Physiology*. Elsevier, Amsterdam., 169-192.
- Rajagopal, V., K. D. Patil and B. sumathykuttiyamma, 1986. Abnormal stomatal opening in coconut palms affected with root (wilt) disease. *J. Exp. Bot.*, 37:1398-1405.
- Romney, D.H., 1972. Past studies on, and present status of lethal yellowing disease of coconut. *Pest Articles and News Summaries (Centre of Overseas Pest Research, London)*, 18:386-395.
- Sento, T., 1975. Studies on the seed nut germination of palms of *Cocos nucifera*, Phoenix and P.J. *Jap. Soc. Hort. Sci. (Hort. Abstr.)* 45:393.
- Serth, A.K., C.R. Davies and P.F. Wareing. 1966. Auxin effects on the mobility of kinetin in the plant. *Science*, 151:587-588.
- Schneider, H., 1962. Bud union anatomy of pear (*Pyrus*) decline tree. *Phytopathol.*, 52:751.

- Schuiling, M. and A. Mpunami, 1990. The lethal disease of coconut palm in Tanzania: Review of research up to date and preliminary results of resistance trials. En: M.L. Robert y D. Zizumbo V. (comp.) La problemática del Amarillamiento Letal del cocotero en México. CICY. Mérida, Yucatán. México. Pp. 169-182.
- Shivashankar, S. and A. Ramadasan, 1983a. Nitrate reductase in coconut leaves. J. Sci. Food Agric., 34:1179-1184.
- Shivashankar, S. and K. Rajagopal, 1983b. Diurnal rhythm in nitrate reductase activity of *C. nucifera* L. leaves, Z. Pflanzenphysiol., 112:181-185.
- Solymosy, F., J. Szirmaj, L. Beezner and L. Farkas, 1967. Changes in peroxidase isoenzyme patterns induced by virus infection. Virology, 32:117-121.
- Stemmer, W.P. C., D.B. Archer, M.J. Daniels, A.M.C. Davies and S. J. Eden-Green, 1982. Effects of lethal yellowing on the composition of the phloem sap from coconut palms in Jamaica. Phytopathol., 72:672-675.
- Thimann, K., 1963. Plant growth substances: past, present and future. Ann. Rev. Plant Physiol., 14:1-18.
- Tully, J.C., 1983. Test for digitonin sensitivity and sterol requirement. In: Razin, S. and J.G. Tully (Eds.). Methods in Mycoplasma characterization. Vol. I., Academic Press, New York, 355-362.
- Villanueva, J.B., J. Piña y H. Carrillo, 1985. Amarillamiento Letal del cocotero. Secretaría Agricultura y Recursos Hidráulicos. Folleto Técnico No. 84. pp. 10.
- Villanueva, J.B., J. Piña y H. Carrillo, 1987. Avances sobre el control y la investigación del Amarillamiento Letal del cocotero en México. Secretaría Agricultura y Recursos Hidráulicos, Folleto Técnico No. 1. pp. 19.
- Zhang, J.U. Schurr, and W.J. Davies, 1987. Control of stomatal behaviour by abscisic acid which apparently originates in the roots. J. Exp. Bot., 38:1174-1181.

CUADRO 4. Efecto del ácido transcinámico y el PVP sobre el contenido de fenoles en hojas de *C. nucifera* L.

Acido transcinámico (mM)	Contenido de fenoles
34	+ + + +
68	+ + +
102	+ +
400	+
PVP (%)Contenido de fenoles	
10	+ + + +
20	+ + +
30	+ +
Acido transcinámico (mM)Contenido de fenoles	

Cuadro 5. Actividad de las enzimas de asimilación del amonio en presencia de PVP y ácido transcinámico en extractos de *C. roseus*.

Control		PVP 30% + TC 400 mM
GDH-NADH	23.33	27.38
GDH-NAD	38.84	43.61
GOGAT	4.44	3.30
GS	8.94	10.77

Cuadro 6. Actividad específica de la argininosuccinasa en plantas de *Cocos nucifera* L. afectadas por el amarillamiento letal.

TEJIDO	ACTIVIDADESPECIFICA (moles fum/h/mg pro)
NFLORESCENCIA SANA	-
INFLORESCENCIA ENFERMA	-
HOJA GRADO	00.66
HOJA GRADO	11.38
HOJA GRADO	41.14
- = NO DETECTABLE	

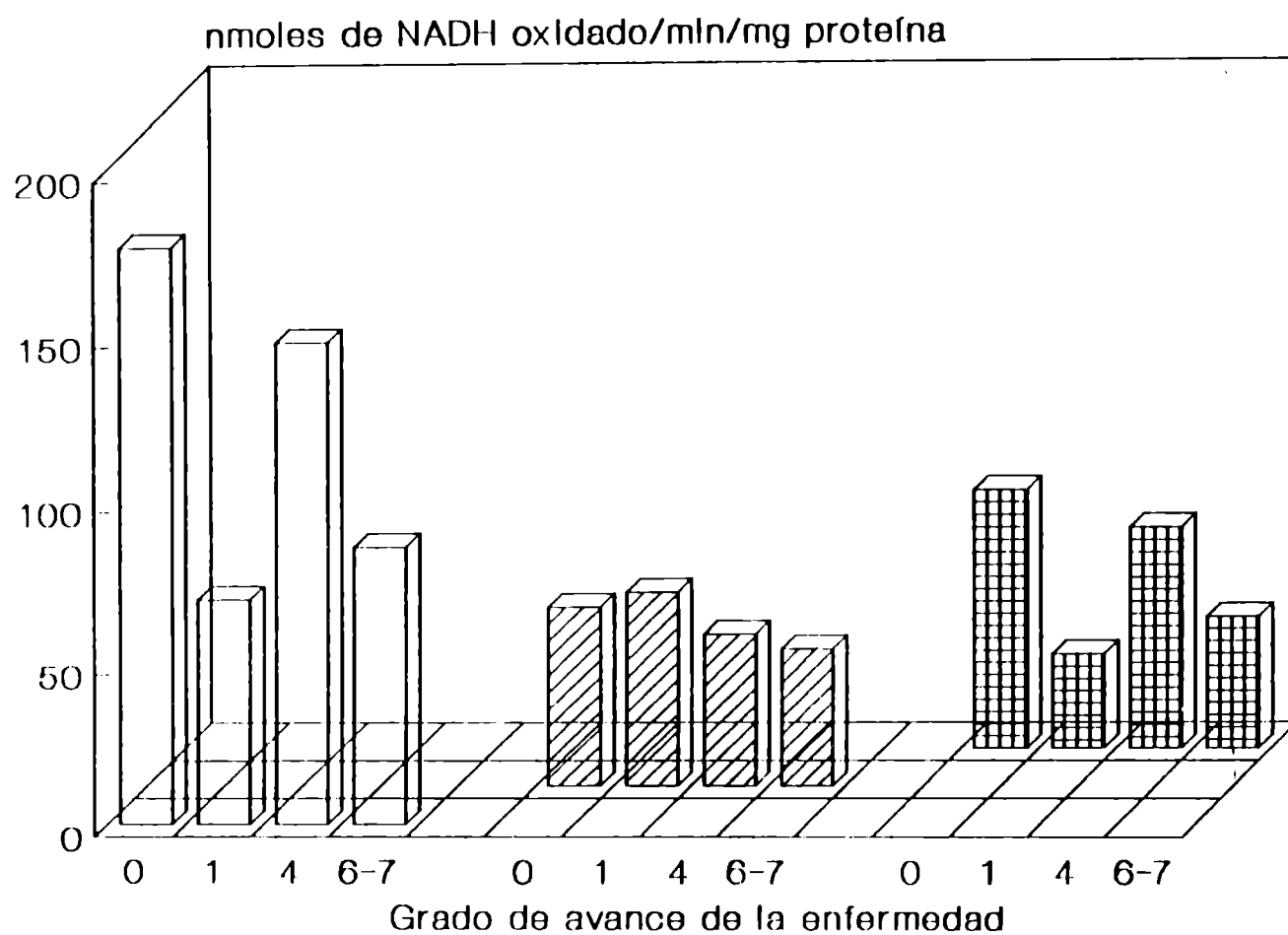


Figura 1. Actividad específica de la GDH-NADH en extractos crudos de hoja espada (), hoja bandera pina 20 () y hoja bandera pina 40 () de *Cocos nucifera* con diferentes grados de avance del amarillamiento letal.

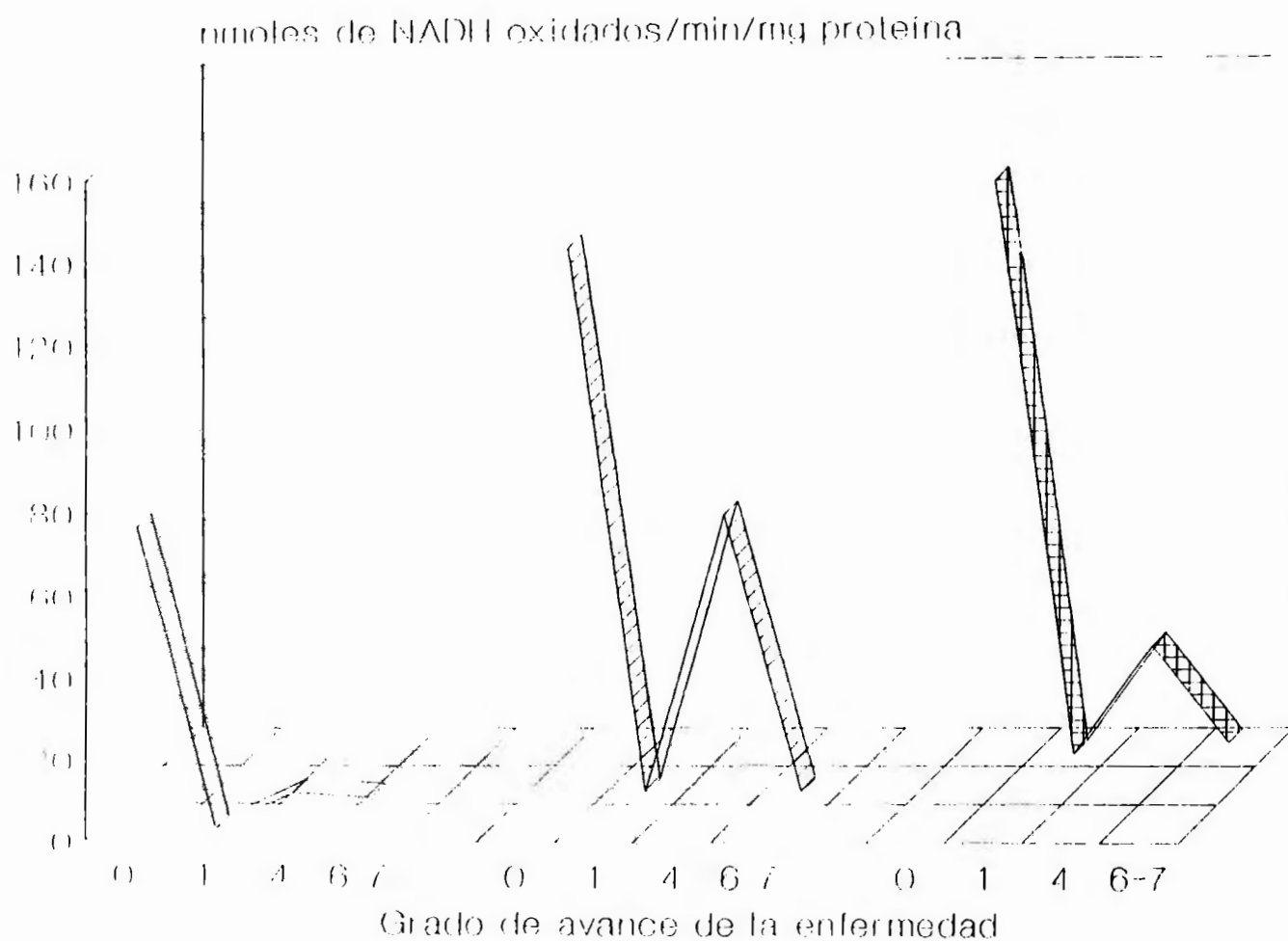


Figura 2. Actividad específica de la GOGAT-NADH en extractos crudos de hoja espada (), hoja bandera pina 20 (.) y pina 40 (x) de *Cocos nucifera* con diferentes grados de avance del amarillamiento letal.

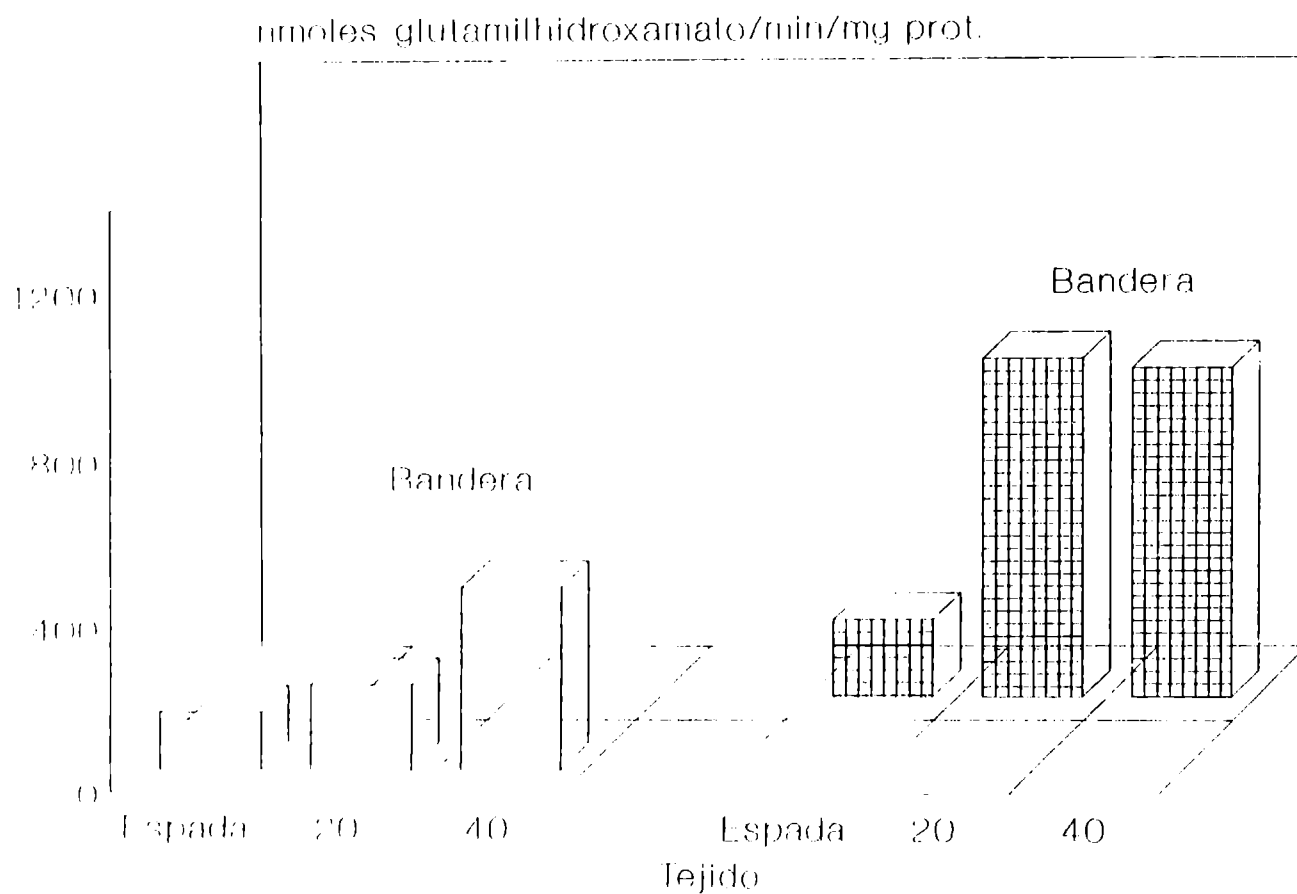


Figura 3. Actividad específica de GS en extractos crudos de hojas de plantas sanas () y enfermas () de *COCOS nucifera*.

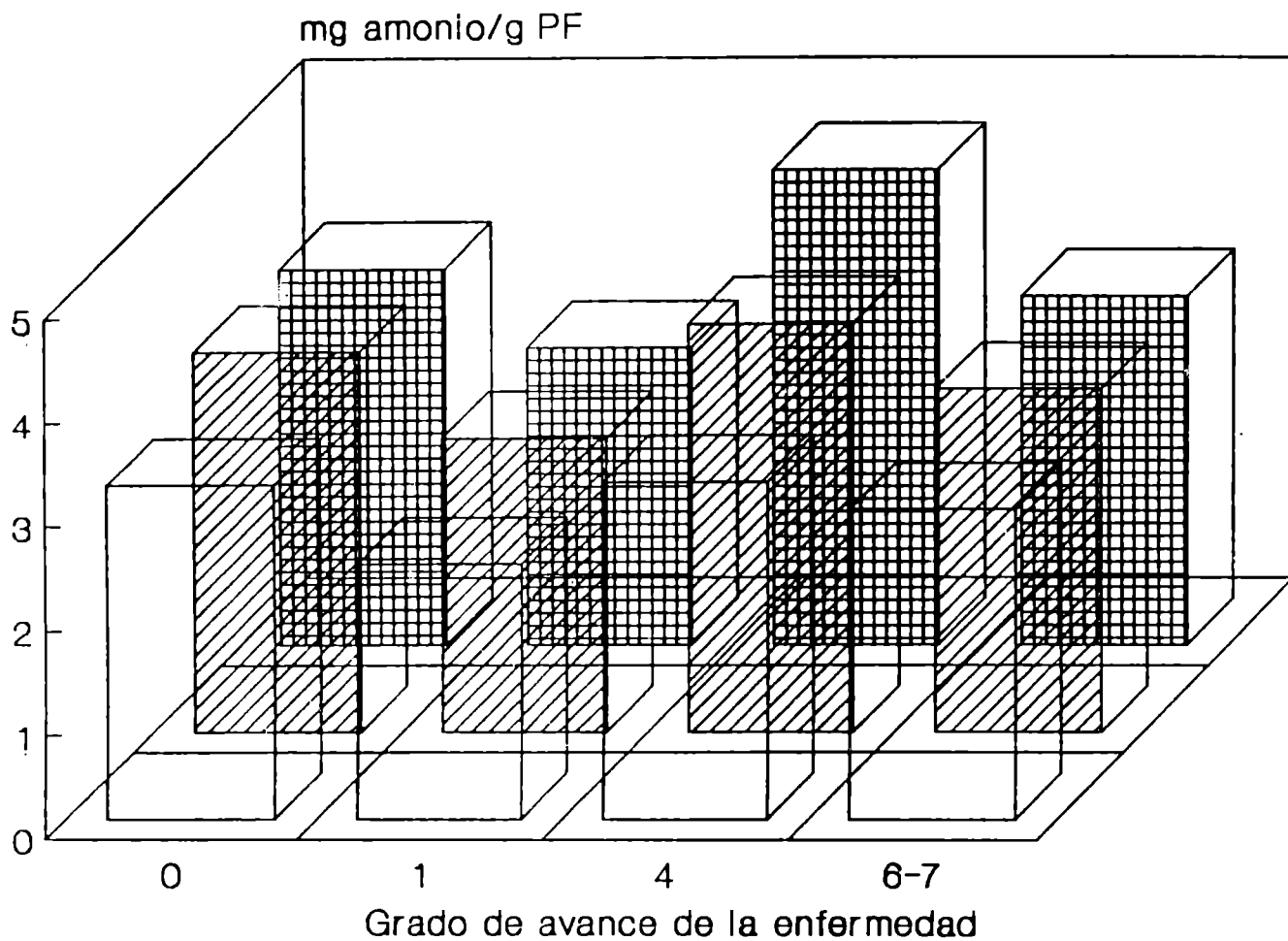


Figura 4. Poza total de amonio en extractos crudos de hoja espada (), hoja bandera pina 20 () y hoja bandera pina 40 () de *Cocos nucifera* con diferentes grados de avance del amarillamiento letal.

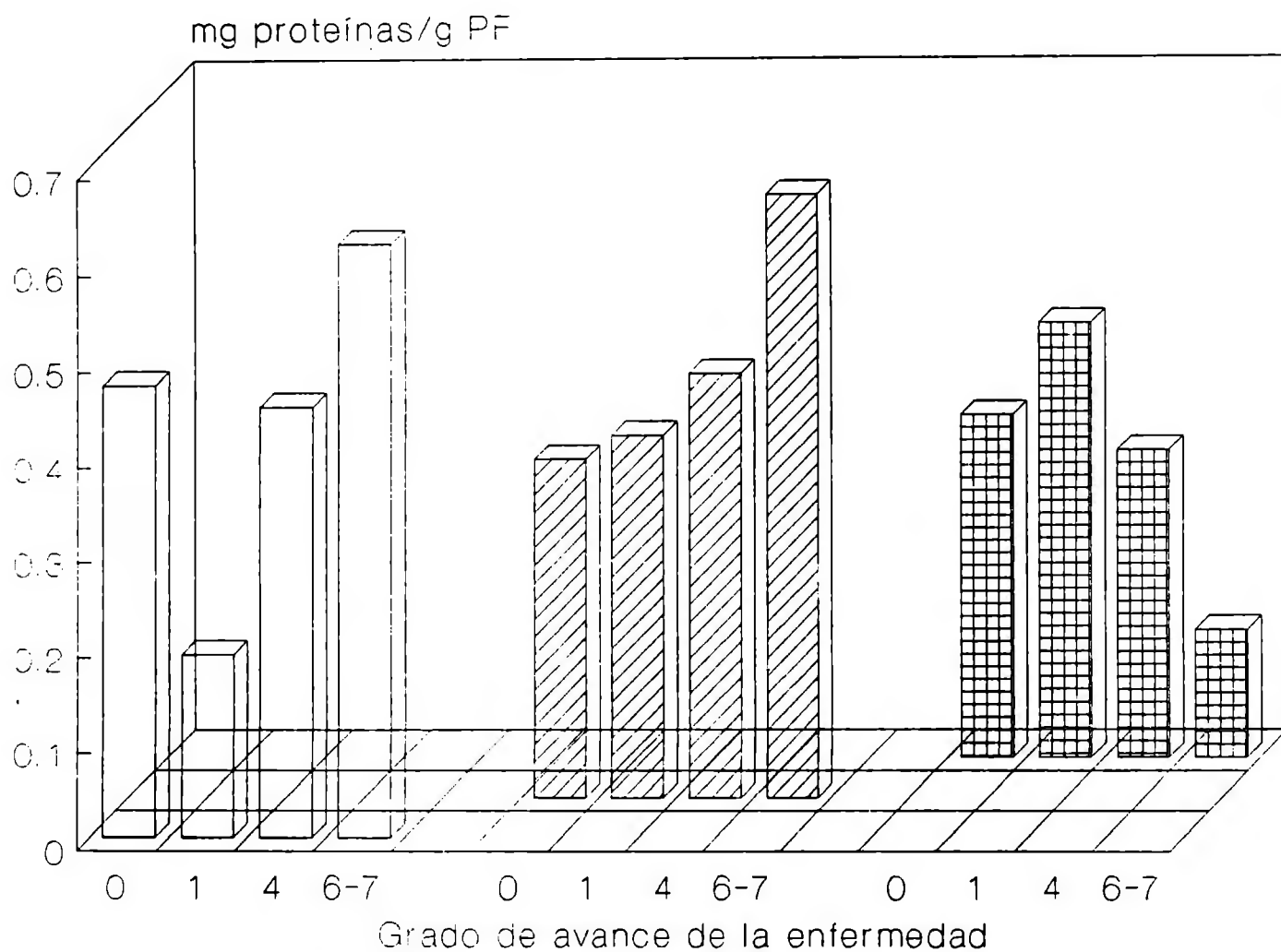


Figura 6. Poza de proteínas solubles en extractos crudos de hoja espada (), hoja bandera pina 20 () y hoja bandera pina 40 () de *Cocos nucifera* con diferentes grados de avance de la enfermedad.

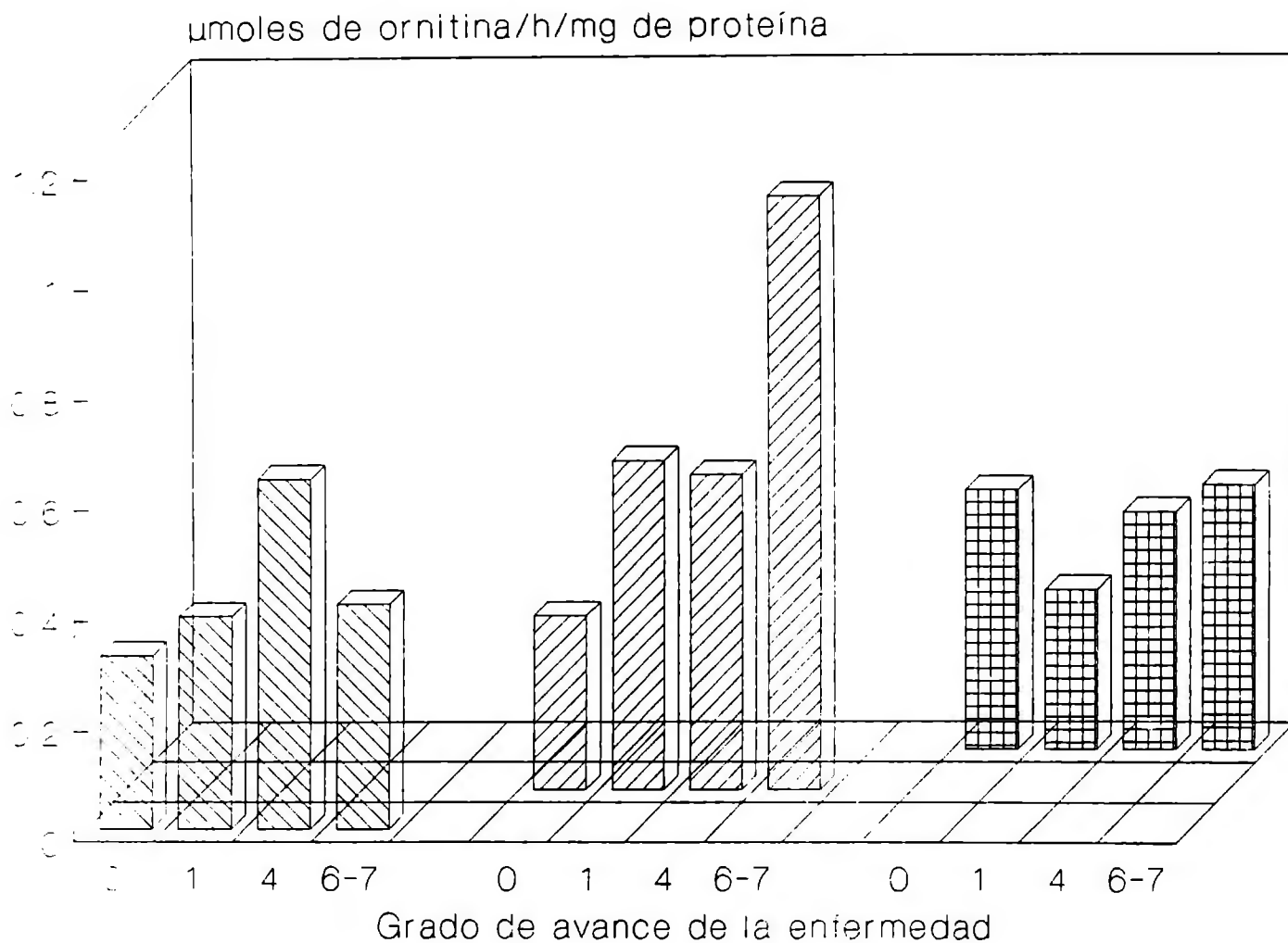


Figura 7. Actividad específica de la arginasa en extractos crudos de hoja espada (), hoja bandera pina 20 () y hoja bandera pina 40 () de *Cocos nucifera* con diferentes grados de avance del amarillamiento letal.

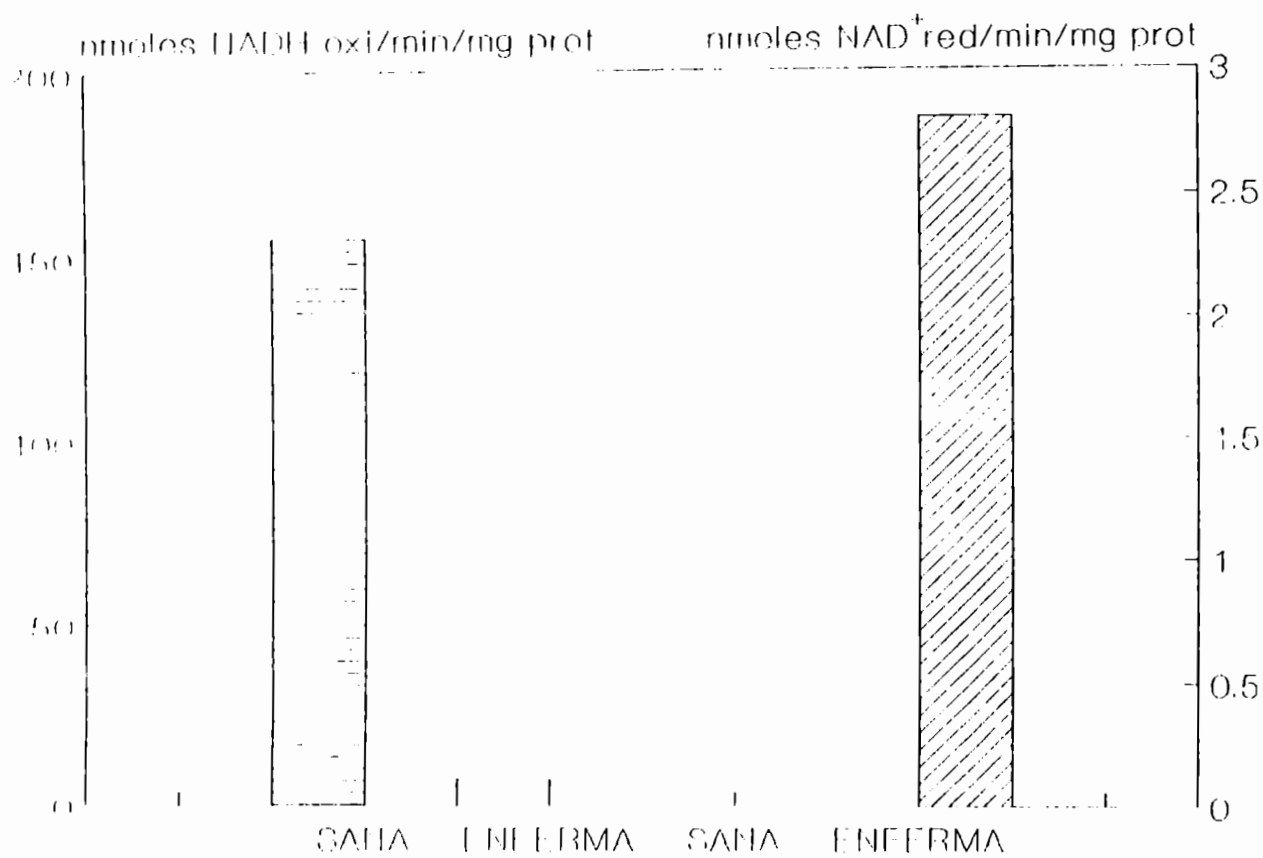


Figura 8. Actividad específica de la GDH-NADH () y de la GDH-NAD⁺ () en inflorescencias de palmas sanas y enfermas por amarillamiento letal.

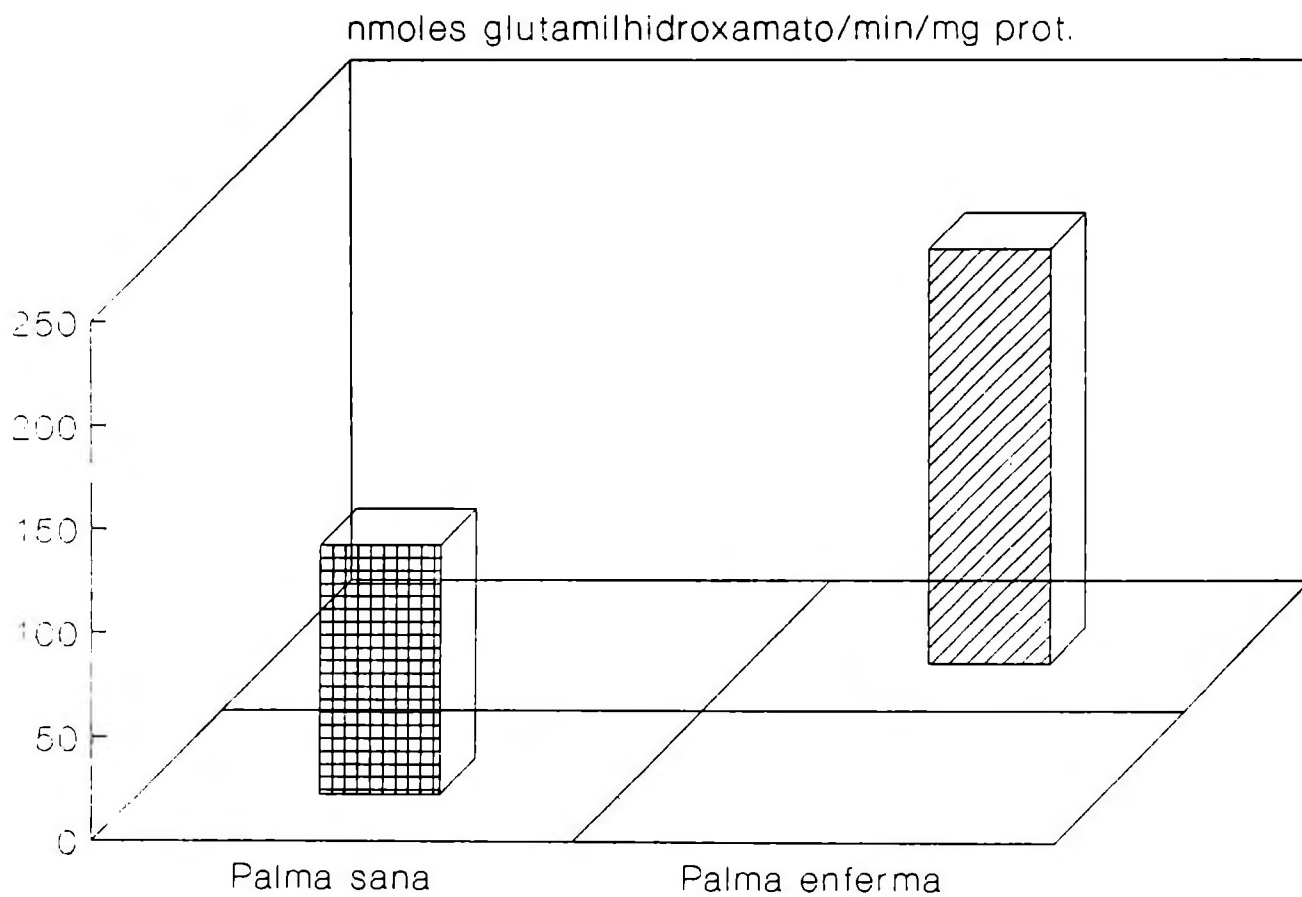


Figura 9. Actividad específica de la GS en inflorescencias de palmas sanas y enfermas por amarillamiento letal.

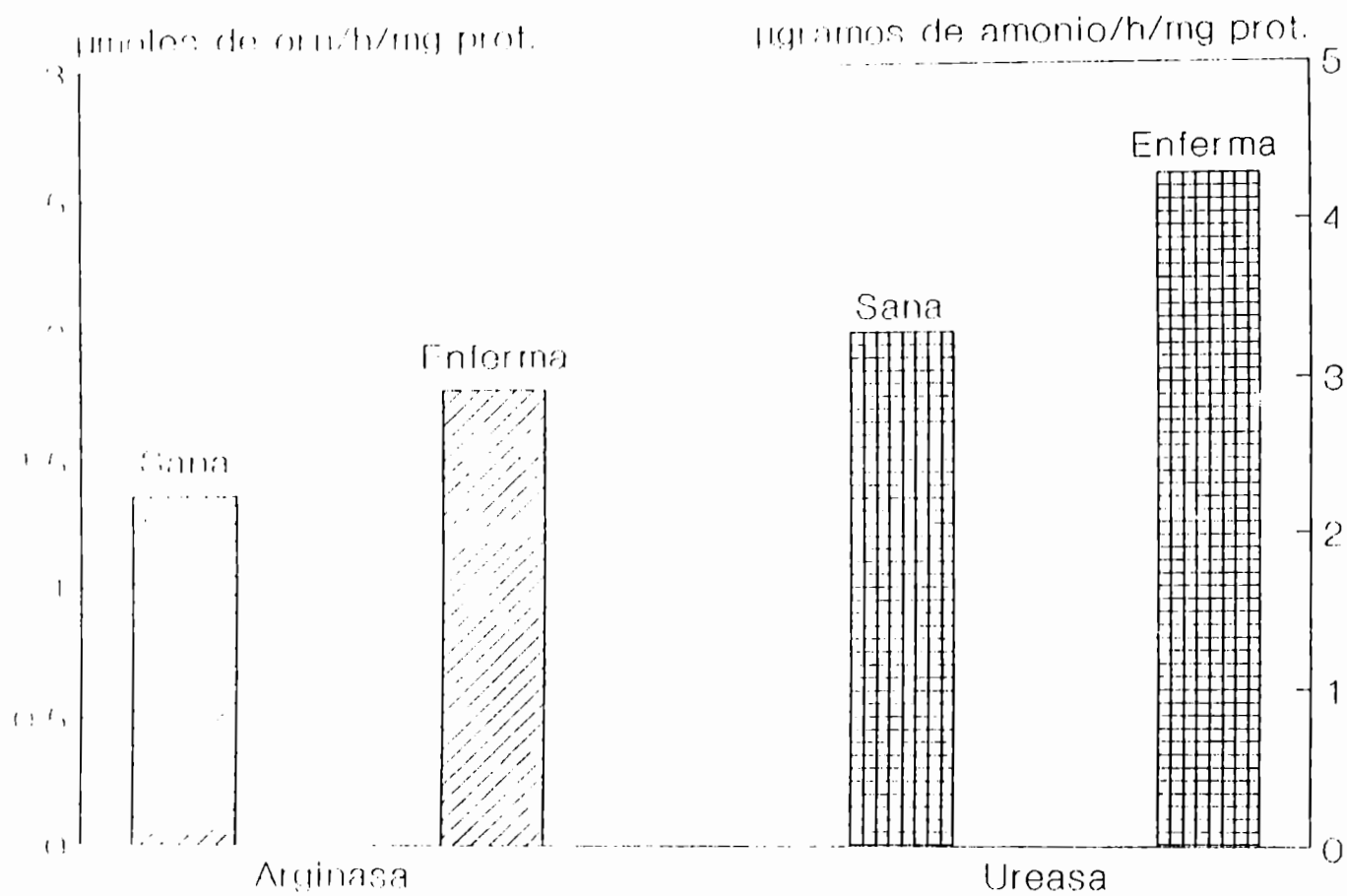


Figura 10. Actividad específica de la arginasa y de la ureasa en inflorescencias de palmas sanas y enfermas.

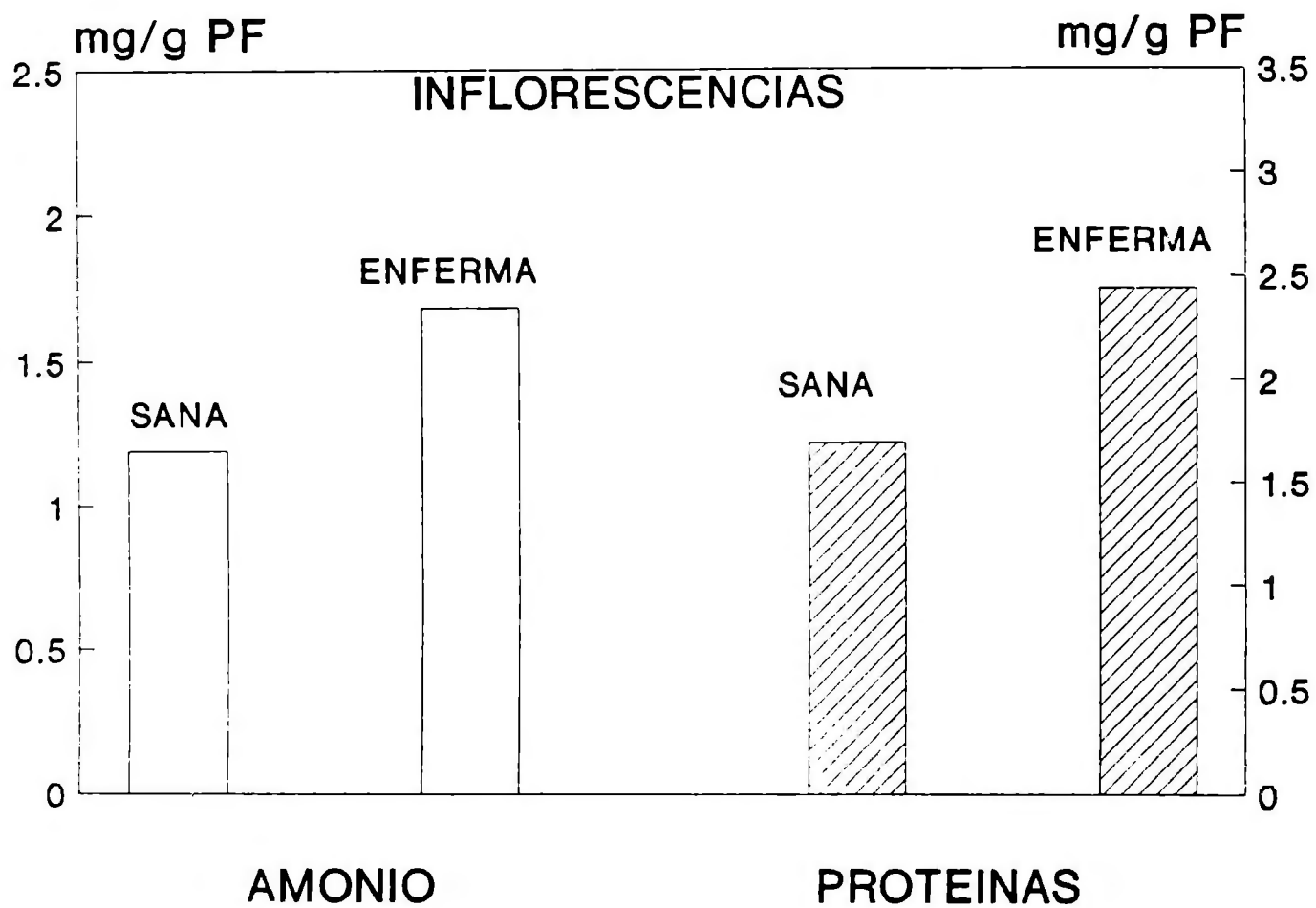


Figura 11. Poza de amonio y proteínas solubles en inflorescencias de palmas sanas y enfermas.

DESCRIPCION BIOLOGICA Y METODOS DE CAPTURA DE *Myndus crudus* VAN DUZEE; Homóptera: CIXIIDAE

Juan Villanueva Barradas

INIFAP-Veracruz, Apdo. Postal 429 Veracruz, Ver. MEXICO y OIRSA

INTRODUCCION

La chicharrita pálida, *Myndus crudus*, llamada también cixido americano de las palmas ha sido señalado por Howard y sus colaboradores (1983) como el vector del amarillamiento letal del cocotero, enfermedad que ha causado verdaderos estragos en algunas zonas productoras de coco y áreas turísticas de varios países de América durante los últimos 20 años, incluyendo México donde se calcula en más de 400,000 palmas muertas por dicha enfermedad en la península de Yucatán.

En virtud de la importancia de este insecto en su relación con el amarillamiento letal, se ha considerado conveniente dar a conocer en este taller, la información existente sobre: Las características sobresalientes para su identificación y clasificación taxonómica, su distribución en América, su descripción, biología, hábitos y formas de dispersión así como los métodos de captura y muestreo.

SINONIMIA

Kramer en 1979, en sus trabajos de revisión del género *Myndus crudus* VAN DUZEE, es sinónimo de *Haplaxius crudus* (SIC) (VAN DUZEE), Caldwell; *Paramyndus cocois* Fennah; y *Haplaxius pallidus*, lo que indica que estudios previos que citen estos nombres probablemente se refieran a *Myndus crudus*.

TAXONOMIA

La información que se presenta a continuación es la señalada por Kramer (1979) para identificar a *Myndus crudus*.

Características sobresalientes. Longitud de macho 4.2-5.1 mm hembra 4.3-5.1. Cabeza y torax de color pajizo a café claro, sin ningún diseño distintivo; abdomen a veces verduzco en las formas más claras; alas interiores hialinas con venas claras o café claro, cada estigma claro.

Genitalia del macho. El lóbulo del pigofer en vista central producido ovalmente con base angosta; ápices del estilo redondeados; cápsula genital en vista lateral con la mitad inferior del margen posterior del pigofer fuertemente excavada; estilo capitado y aleta simple con un par de proyecciones subtriangulares en la parte medio basal. Aedeago en vista lateral izquierda con procesos largos que se originan en la mitad distal y dirigidos cefaloventralmente. Figura 1.

DESCRIPCION Y BIOLOGIA

La hembra deposita sus huevecillos blanquecinos en las nervaduras de las hojas cercanas al suelo aislados o en hileras; es posible que ovipositen en desechos vegetales en el suelo. Los huevecillos son muy pequeños, en forma de huso, miden aproximadamente 0.56 mm de largo y 0.18 mm en su parte ancha (Zener de Polonia y López, 1979). En la hoja se puede observar con una lupa un extremo del huevecillo que sobresale del sitio donde está insertado.

La incubación del huevecillo dura de 2 a 3 semanas dependiendo de la temperatura ambiental. Al nacer las ninfas del primer instar se movilizan hacia las raíces de la planta, para alimentarse. Pasan por cinco instares ninfales y durante su desarrollo se protegen en una especie de nidos formados por una secreción sedosa de color blanco que esconde a varias ninfas. Dicha secreción se puede observar a simple vista con las ninfas de último instar, las cuales parecen llevar una brochita blanca en la región anal. Los nidos se encuentran generalmente a unos 3 a 5 centímetros de la superficie del suelo, pero se han encontrado algunos a profundidades mayores.

Los adultos son de color pajizo y alas transparentes, miden 3.5 a 4.5 cm de longitud. Las hembras son más grandes que el macho y de color más oscuro. Se pueden distinguir los sexos a simple vista. Al transformarse en adultos vuelan hacia las hojas de las palmas donde se alimentan; se localizan principalmente en el envés de los folíolos. Los adultos pueden vivir aproximadamente 50 días; sin embargo, en condiciones de laboratorio en pequeñas jaulas viven menos tiempo.

HOSPEDERAS

La chicharrita pálida tiene hospederas alternantes. Las ninfas se alimentan de gramíneas y ciperáceas principalmente mientras que los adultos lo hacen en palmáceas y algunas otras especies vegetales. En el cuadro 1 se presentan diversas especies de gramíneas y ciperáceas en cuyas raíces se han encontrado ninfas de *Myndus crudus* y entre las cuales destacan algunos pastos utilizados en ganadería tropical como son: Pangola, estrella africana, Pará y otros, se observan también algunas gramíneas ornamentales como zacate San Agustín y una verbenacea *Verbena scabra*.

En relación a las hospederas de ninfas de *Myndus crudus*, es conveniente señalar que actualmente se estudia la posibilidad de encontrar algunas gramíneas que no favorezcan el desarrollo de *Myndus* de tal modo que se pudieran emplear en las plantaciones en que actualmente se tiene como "piso" gramíneas hospederas favoritas del insecto. A este respecto Howard en 1990 determinó que el número de adultos capturados en *Brachiaria brizantha*, *Chloris gayana* y una selección de *Hemarthria altissima* fue menor que en *Stenotaphrum secundatum* (pasto San Agustín).

El adulto se alimenta de la savia de diversas especies de palmas (Cuadro 2), pero ha sido colectado en otras plantas como: maíz, caña de azúcar, pandanus y carludovica.

El caso de pandanus es interesante por ser la única especie no palmácea en la que se han observado síntomas similares al amarillamiento letal y por medio de microscopía electrónica se han detectado organismos tipo micoplasma en tejido enfermo de *Pandanus utilis* (Thomas y Dunselman, 1979).

DISTRIBUCION

Myndus crudus se encuentra ampliamente distribuido en las regiones tropicales y subtropicales del continente americano.

Su presencia ha sido confirmada en Estados Unidos de Norte América; (Howard, 1983) (Florida, Texas), Cuba, Isla del Gran Caimán, Jamaica, Trinidad Venezuela, Colombia, Méx.co (todas zonas copreras del país. Baja California Sur y Morelos). Belice, Panamá, Costa Rica, El Salvador, Honduras, Nicaragua y Guatemala. Figura 2.

Es necesario señalar que durante los estudios de distribución de *Myndus crudus* efectuados por el autor, se ha observado que en la mayoría de los casos las altas o medianas poblaciones del insecto corresponden a sitios donde el "piso" de la plantación está conformado por gramíneas y/o ciperáceas; en cambio en plantaciones de palmas a orillas de playa donde no hay vegetación en el piso, en lugares donde la vegetación se conforma de dicotiledóneas, prácticamente no se encuentran adultos en las palmas (Villanueva, 1991). Estas observaciones merecen ser tomadas en cuenta al formular algunas estrategias de control integrado.

DISPERSION

Las chicharritas vuelan y saltan de las gramíneas a las palmas y de palma a palma. Aunque por sí solas no vuelan grandes distancias, un largo desplazamiento es posible por medio de vientos y vehículos. Algunos investigadores han encontrado chicharritas en el interior de las cabinas de su vehículo después de haber recorrido zonas donde hay pastos y palmas. Estas dos formas de desplazamiento del insecto son muy peligrosas ya que pueden "acarrear" chicharritas infectivas de zonas infectadas de amarillamiento letal a zonas libres.

Las ninfas y huevecillos pueden ser dispersados por medio del movimiento de pastos sobre todo de plantas de jardinería con cepellón y aunque no existe información sobre la posibilidad de transmisión transovárica del patógeno es conveniente que el movimiento de dichos materiales sea controlado por medio del ordenamiento cuarentenario correspondiente.

METODOS DE CAPTURA Y MUESTREO

Los métodos de captura de *Myndus crudus*, dependen del objetivo principal del trabajo, el cual puede ser por ejemplo: Clasificación; estudio poblacional; determinación de parasitismo; estudios de hospederas; etc. Para lo anterior se puede utilizar los siguiente métodos:

- 1.- Trampas adhesivas
- 2.- Red de golpeo
- 3.- Visor
- 4.- Captura directa (con tubo o aspirador)
- 5.- Trampas rotatorias
- 6.- Extracción de cepas de gramíneas.

TRAMPAS ADHESIVAS. Estas trampas consisten en platos de plásticos de fondo plano de color amarillo, azul o verde. (1), (6). De aproximadamente 18 cms de diámetro. Es conveniente que se adopte el uso de un solo color de plato que puede ser el amarillo con el fin de que los diversos trabajos que realicen puedan ser comparables. A dichos platos se les cubre con una capa ligera de un adhesivo para atrapar insectos que puede ser *TACK-TRAP, o un equivalente; el adhesivo se puede disolver con petróleo o gasolina, para facilitar el cubrimiento del plato y también para limpiarlos y volverlos a usar. Los platos se colocan en las hojas (frondas) de la parte media hacia arriba de la palma, cerca del tronco y se revisan y cambian de acuerdo a lo programado. No es conveniente dejarlas más de 12 días porque los primeros insectos capturados se descomponen y el exceso de polvo atrapado puede impedir reconocer las especies capturadas. El conteo u observación se puede hacer directamente sobre el plato, en caso de

encontrar especímenes dudosos, se les aplica un poco de petróleo para despegarlos del plato, se pasan a alcohol y se llevan al laboratorio para el diagnóstico correspondiente. Este tipo de captura se utiliza en estudios poblacionales y de determinación de proporción sexual.

RED DE GOLPEO. La red de golpeo se puede utilizar para estudios poblacionales, determinaciones de sexo y porcentajes de parasitismo; en pastos, el número de redadas se determina de acuerdo a la superficie por muestrear.

VISOR. El visor consiste en un cilindro de cartón de 50 cms de altura y de + - 45 cms de diámetro (La altura puede variar, dependiendo de la altura del pasto que se muestrea). El *TACK- TRAP Animal repellent Inc. Griffin, Georgia, E.U.A. cilindro lleva un vidrio de plástico duro y transparente en un extremo y el otro es abierto. En la pared del cilindro se hace una ventana de + - 15 cms de diámetro en la cual se pega una manga de tela. El visor se coloca sobre una cepa de pasto, se introduce el brazo por la manga y se sacuden las plantas para que los adultos vuelen hacia el vidrio donde se les puede contar y sexar a simple vista.

CAPTURA DIRECTA. La captura directa se hace con frascos de vidrio pequeños de boca ancha de + - 1 cm de diámetro y 10 cm de largo o con tubos de ensayo, a los cuales se les impregnan las paredes ligeramente con alcohol 70%. Estos tubos se colocan enfrente y muy cerca de las chicharritas tapándoles la salida y con un ligero movimiento hacia ellas caen atrapadas en el frasco y quedan pegadas a la pared con el alcohol. El uso de aspiradores es menos práctico, sin embargo son útiles cuando se requieren capturar especímenes vivos o parasitados.

Para la captura directa es conveniente buscar palmas de baja altura y hojas accesibles; si la población del insecto es baja, buscar de preferencia en las hojas paradas más tiernas pero abiertas. Cuando hay muy alta infestación de chicharritas en las palmas se puede coleccionar indistintamente en cualquier hoja.

TRAMPAS ROTATORIAS. Cuando se desea llevar a cabo estudios de frecuencia de visitas de adultos de *Myndus crudus*, a la palma, y determinar la altura y horas en un eje vertical giratorio cuya base esté conectada a un motor que puede ser movido por un acumulador y un eje horizontal en cuyos extremos se coloca una red en C/U, este eje horizontal se puede mover hacia arriba o hacia abajo, de acuerdo a la altura de captura programada. La red se pone a girar por el tiempo que se requiera y al final se coleccionan los adultos atrapados, para contar, sexar e identificar.

EXTRACCION DE CEPAS DE GRAMINEAS. Para la determinación de hospedadoras o estudios poblacionales de estados inmaduros, se deben extraer cepas de gramíneas o ciperáceas, de aproximadamente 15 X 15 cms de superficie y 20 cm de profundidad. Se deposita el material extraído sobre un cartón negro y se desmenuza la tierra y raíces con una espátula o navaja. El hallazgo de un nido fresco indica la presencia cercana de ninfas. Una vez coleccionadas las ninfas y si se desea confirmar la especie, se pasan las ninfas más grandes a pequeños frascos de vidrio de + - 10 cms de largo y 3 cm de ancho; se coloca un algodón húmedo en el fondo de los frascos, e introduce una planta de pasto con raíz desnuda, se tapa la boca del tubo con una tela de organdí

ajustada a la planta, para no permitir que se escapen los insectos; entre la planta y la tela se coloca un algodón el cual se quita para introducir las ninfas colectadas. Los frascos se mantienen en el laboratorio durante varios días (dependiendo la edad de las ninfas) hasta que las ninfas se transformen en adultos y se les puede identificar.

REFERENCIAS

Cherry, H.R. and F.W. Howard. 1984. Sampling for adults of the planthopper *Myndus crudus*, a vector of lethal yellowing of palms tropical. Pest management 30 (1):22-25.

Howard, F.W. 1990. Evaluation of grasses for cultural control of *Myndus crudus*, a vector of lethal yellowing of palms Entomol. Exp.- Appl. 56:131-137.

Howard, F.W. 1983. World distribution and possible geographic origin of palm lethal yellowing disease and its vector. FAO Plant Prot. Bull. Vol. 31, No. 3, 101-112.

Howard, F.W. Norris, R.C. and Thomas, D.L. 1983. Evidence of transmission of palm lethal yellowing agent by a planthopper, *Myndus crudus* (Homoptera: Cixiidae). Trop. Agric. (Trinidad) 60:168-171.

Kramer, J.P. 1979. Taxonomic study of the planthopper Genus *Myndus* in the Américas. (Homoptera: Fulgoroidea: Cixiidae) Transactions of the American Entomol. Soc. Vol. 105:305-389.

Ramirez, C. H. y Pina Razo, J. 1986. Atracción por color en la captura de *Myndus crudus* VAN DUZEE (Homoptera: Cixiidae) vector del amarillamiento letal del cocotero y su dinámica poblacional. In: Resúmenes del XXI Congreso Nacional de Entomología. Monterrey, N.L. 16-19 marzo de 1986. Soc. Mex. de Entom. 65-66.

Thomas, D.L., and H.M. Dunselman. 1979. Mycoplasma like bodies and photoem degeneration associated with declining pandanus in Florida. Plant Dis. Repr. 63: 911-916.

Villanueva, B.J. 1991. Ocurrencia y distribución en Centro América de *Myndus crudus* Van Duzee. (Homóptera: Cixiidae) In: XXVI Congreso Nacional de Entomología. 19-22 de marzo de 1991, Veracruz, Ver. Soc. Mex. de Entomol. 95-96.

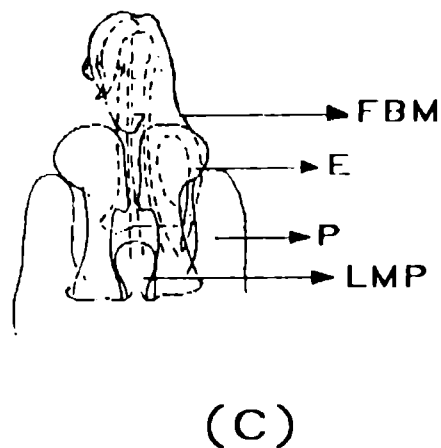
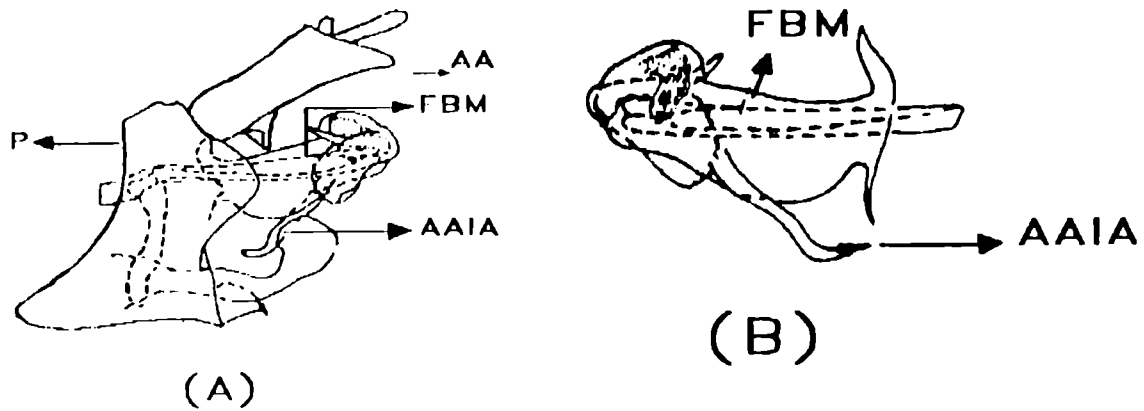
Zener de Polonia, I. y López, A. 1977. Apuntes sobre la biología y hábito de *Haplaxius pallidus*, transmisor de la "marchitez sorpresiva" en palma africana. Rev. Colombiana La Entomología 3, 49-62.

Tabla 1. Especies en cuyas raíces se han encontrado ninfas de *Myndus crudus*

NOMBRE COMUN	NOMBRE CIENTIFICO
Cola de zorraGramínea	<i>Andropogon bicornis</i>
Pasto de alfombra	<i>Axonopus compresus</i>
Pasto pará	<i>Brachiaria mutica</i>
Cadillo tigre	<i>Cenchrus echinatus</i>
Pasto bermuda	<i>Cynodon dactilon</i>
Pasto estrella de Africa	<i>Cynodon pleystostachyus</i>
Pasto angola	<i>Digitaria decumbens</i>
Pasto de cuaresma	<i>Echinochloa colonum</i>
Paja de burro	<i>Leptochloa filiformis</i>
Pasto granadilla	<i>Panicum fasciculatum</i>
Pasto Guínea	<i>Panixum maximum</i>
Pasto Bahía	<i>Paspalum notatum</i>
Paja brava	<i>Paspalum paniculatum</i>
Setaria	<i>Setaria geniculata</i>
Pasto San Agustín	<i>Stenotaphrum secundatum</i>
Barba de judío	<i>Chloris inflata</i>
	<i>Chloris petraeae</i>
CoquilloCiperacea	<i>Cyperus rotundus</i>
Junquillo	<i>Fimbristylis spathaceae</i>
VerbenaVerbenacea	<i>Verbena scabra</i>

Tabla 2. Palmas de coco y otras especies en las que se han colectado adultos de *Myndus crudus*.

NOMBRE COMUN	NOMBRE CIENTIFICO
Palma Canaria	<i>Phoenix canariensis</i> Hort. Chabaud ex <i>Archontophoenix alexandrae</i> Wendl.and Drude
Palma Saribus	<i>Livistona saribus</i> R. Br.
Palma cola de Pescado	<i>Caryota mitis</i> Lour
Palma Pritchardia	<i>Pritchardia</i> spp. Seem. et Wendl
Palma Washingtonia	<i>Washingtonia</i> spp. Wendl
Palma Manila	<i>Veitchia merillii</i> (Becc.) H.E. Moore.
Palma Chit	<i>Thrinax</i> spp. Lg.
Pejibaye	<i>Bactris gasipaes</i> H.B.K.
Palma de Coco	<i>Cocos nucifera</i> L.
Palma Africana	<i>Elaeis quineensis</i>
Palma Areca	<i>Chrysalidocarpus lutescens</i>
Palma Sabal	<i>Sabal</i> spp.
Palma Reyna	<i>Arecastrum romanzoffianum</i>
Palma Latania	<i>Latania</i> spp.
Palma Paurotis	<i>Acoelorrhaphe wrightii</i>
Maíz	<i>Zea Mays</i> L.
Caña de Azúcar	<i>Pandanus utilis</i>
Pandañus	<i>Heliconia bihai</i>
Heliconia	<i>Carludovica palmata</i>



Genitalia del macho de *Myndus crudus*. A) Vista lateral completa; B) Aedeago en vista lateral derecha; C) Apice del pigofer, estilos y aedeago en vista ventral. AA = Aleta anal; AAIA = apéndice apical izquierdo del aedeago; LMP = lóbulo medio del pigofer; FBM = fuste del bastón medio; E = estilo; P = pigofer. Tomado de Kramer (1979).



DIAGNOSTICO DEL AMARILLAMIENTO LETAL DEL COCOTERO POR METODOS DE MICROSCOPIA

Rolando Cardeña

Centro de Investigación Científica de Yucatán, Km. 7 antigua carretera a Progreso, AP
87, Cordemex 97310, Yucatán, MEXICO

INTRODUCCION.

El empleo del microscopio, tanto óptico como electrónico, es una de las herramientas más ampliamente utilizadas en el diagnóstico de enfermedades vegetales causadas por organismos tipo micoplasma (OTMs). La microscopía óptica se ha valido de métodos histoquímicos que detectan en el floema de plantas afectadas: 1) cambios inducidos en los tejidos del huésped por la presencia de los OTMs, o 2) el ADN de los mismos. El empleo de ambas aproximaciones en el diagnóstico de distintas enfermedades micoplásmicas de plantas ha sido revisado por Németh (1986). Es importante hacer notar que ninguna de estas estrategias de detección nos permite asegurar que una observación positiva se deba a la presencia de OTMs. En el primer caso, la explicación se encuentra en el hecho de que los cambios histológicos producidos por su presencia son respuestas muy inespecíficas hacia una variedad de agentes infecciosos (Ayers et al., 1985). La ambigüedad de resultados de la segunda estrategia se debe a que, al ser el ADN una molécula común a cualquier patógeno, la detección de acumulaciones anormales del mismo no puede atribuirse inequívocamente a la presencia de OTMs. El único caso en que la microscopía óptica ofrece una alternativa segura de diagnóstico se presenta cuando se dispone de anticuerpos específicos que permiten la aplicación de métodos de inmunofluorescencia. Estos métodos han sido aplicados en algunos de los pocos casos en que se dispone de anticuerpos contra OTMs (Lin and Chen, 1986). A pesar de su inespecificidad, la histoquímica ha demostrado ser de gran utilidad por una serie de razones. En primer lugar, la validez de las observaciones positivas se refuerza por el hecho de que éstas se detectan solamente en plantas que presentan síntomas de la enfermedad que se desea

diagnosticar, los cuales en muchas ocasiones, como en el caso del amarillamiento letal (AL), son muy característicos. En segundo lugar, la relativa facilidad y rapidez de estos métodos permiten la evaluación de un gran número de plantas. Si a esto aunamos que en un gran número de enfermedades los resultados de estos métodos han sido validados por medios más confiables como la microscopía electrónica (Deeley et al., 1979), se comprende la gran utilidad que como herramienta de diagnóstico han proporcionado al fitopatólogo.

No obstante la amplia aplicación de los métodos histoquímicos, el microscopio electrónico sigue siendo la herramienta más aceptada para establecer la etiología micoplásmica de enfermedades vegetales. Su principal desventaja es que, dado que sólo permite analizar muestras muy pequeñas, la distribución irregular del patógeno en la planta puede dar lugar a falsos negativos. Además, las técnicas de preparación de la muestra son más elaboradas y tardadas.

Refiriéndonos ahora al caso específico del AL, los primeros reportes sobre la observación de OTMs en palmas enfermas datan de 1972 (Beakbane et al., 1972; Heinze et al., 1972; Plavsic-Banjac et al., 1972). En estos estudios se observaron OTMs típicamente pleomórficos: ovoideos, elongados y filamentosos, de tamaños similares a los que frecuentemente presentan organismos de este tipo en otras enfermedades de plantas. La mayor concentración de OTMs estuvo asociada a tejidos en crecimiento activo con una alta demanda de nutrientes como meristemo apical, inflorescencia, raíz y bases de pecíolo de hojas en expansión. Su presencia fue detectada en palmas en diferentes estados de la enfermedad, aún antes de que se presentara daño tisular o de que ocurriera un marchitamiento secundario de origen bacteriano, y fue nula en tejidos equivalentes de palmas asintomáticas. Desde entonces, esta técnica se ha empleado para detectar OTMs en una gran variedad de especies de palmas susceptibles al AL (Parthasarathy, 1973; Thomas, 1979). Thomas y Norris (1980) discuten las ventajas y desventajas de la microscopía electrónica en el diagnóstico del AL. El empleo de métodos histoquímicos con la misma finalidad ha sido reportado con posterioridad (Schuiling et al., 1981), y ha involucrado el uso de colorantes fluorescentes como el 4'-6'-diamidino-2-fenilindol (DAPI), que es un agente intercalante específico para pares de bases A-T. En estos estudios se analizaron tejidos de inflorescencia, raíz, hoja espada, pecíolos de hojas juveniles y tejido próximo al meristemo apical, y se encontró una estrecha relación entre presencia de acumulaciones de ADN y formación de callosa, también en floema, detectada mediante tinción con el fluorocromo azul de anilina. La confirmación de la presencia de OTMs se efectuó mediante la observación al microscopio electrónico de tejidos cuya reacción al DAPI fue positiva (Nienhaus et al., 1982).

La intención de este trabajo es presentar en forma de manual la experiencia desarrollada en el CICY durante el diagnóstico del AL mediante microscopía de fluorescencia. El diagnóstico mediante microscopía electrónica es un proceso que requiere de mucho más tiempo y de equipo más especializado, y no será detallado en esta obra. El lector interesado en los procedimientos generales para el análisis de muestras vegetales mediante microscopía electrónica puede acudir a Hall (1978).

MATERIALES Y METODOS.

A. Material biológico.

Como se estableció en la Introducción, la mayor concentración de OTMs se localiza en tejidos en crecimiento activo con una alta demanda de nutrientes como meristemo apical, pecíolos de hojas en expansión, raíz e inflorescencias. El muestreo de meristemo apical y pecíolos de hojas jóvenes, además de difícil por implicar cortar el tronco de la palma y podar hoja por hoja de la corona, es un método destructivo que impide efectuar estudios de seguimiento a las plantas afectadas. De tal manera, quedan como opciones raíz e inflorescencia. Ambos tejidos presentan la ventaja de que su muestreo no mata a la palma, y permite de esta manera el seguimiento posterior de la enfermedad.

Así, los tejidos más comúnmente empleados en nuestros estudios de diagnóstico mediante microscopía de fluorescencia consistieron de raíces e inflorescencias de plantas aparentemente sanas o con síntomas visuales de AL, colectadas en el campo y transportadas al laboratorio para su análisis. Basándonos en observaciones previas (Nienhaus et al., 1982), siempre que fue posible se seleccionaron inflorescencias que mostraron el necrosamiento café característico del AL.

B. Material y equipo de laboratorio.

1. Porta y cubreobjetos.
2. Navaja de rasurar delgada.
3. Pinzas de disección.
4. Microscopio de epifluorescencia.

C. Reactivos y soluciones.

Solución 1.- Buffer salino de Tris (TBS): 10 mM Tris-HCl, 0.15 M NaCl, pH 7.5

Solución 2.- 1 mg de 4'-6'-diamidino-2-fenilindol (DAPI) por ml de TBS.

Solución 3.- 87 % (p/v) glicerol.

Nota: Alternativamente al TBS, pueden emplearse otros buffers como por ejemplo de fosfatos.

C. Protocolo.

1. Efectuar cortes longitudinales, lo más delgados posible, a ramas de inflorescencia o raíces jóvenes. Si se trabaja con raíces muy gruesas, el cilindro vascular puede separarse de la corteza previamente. Las flores masculinas deben de eliminarse para facilitar el corte de las ramas.
2. Cubrir los cortes con una gota de la solución 2 y dejarlos incubando al menos 15 min.
3. Retirar la solución 2 con papel absorbente y lavar el exceso de DAPI mediante dos incubaciones de 5 min en la solución 1.
4. Después de eliminar el exceso de solución 1, montar los cortes en la solución 3 y taparlos con cubreobjetos.
5. Observar los cortes en un microscopio de epifluorescencia bajo luz ultravioleta, con un filtro de excitación de 365 nm en combinación con uno de barrera de 475 nm. La amplificación mínima para la observación adecuada de las acumulaciones de ADN en los vasos cribosos del floema es de unas 250X. Los cortes pueden almacenarse en refrigeración, resguardados de la luz, si la observación no se efectúa de inmediato.

RESULTADOS Y DISCUSION.

Quando se aplica el protocolo anterior a cortes longitudinales de inflorescencias de palmas con síntomas de AL se observa la presencia de filamentos fluorescentes a lo largo de los tubos cribosos del floema (fig. 1B, flecha), los cuales se encuentran a menudo dispuestos en línea a lo largo de una fila de vasos cribosos. Los controles hechos con inflorescencia de palma sana no mostraron éstos filamentos (fig. 1A). Cuando se efectúan observaciones a un mayor aumento (figs. 1C-D) se detecta que estos filamentos constituyen oclusiones de un material fluorescente de apariencia granulada (fig. 1C), a veces muy densamente empacado. Estas oclusiones abarcan a menudo toda la extensión de un vaso criboso. En ocasiones es posible discernir numerosos puntos fluorescentes tapizando las paredes del vaso criboso, los cuales están asociados a acumulaciones más densas de material fluorescente en la cercanía inmediata (fig. 1D).

Los resultados de la tinción con DAPI muestran diferencias consistentes entre tejidos provenientes de palmas sanas y con síntomas de AL, y concuerdan con las observaciones hechas por Deutsch y Nienhaus (1983) en palmas de *C. nucifera* afectadas por esta enfermedad en Tanzania. Además, hemos mostrado mediante el microscopio electrónico la presencia de OTMs en tejidos de palma enferma similares a los tratados con DAPI, así como su ausencia en los de palma sana (datos no mostrados). En conjunto, nuestros resultados han demostrado la utilidad de la microscopía de fluorescencia como un método preliminar para el diagnóstico rápido del AL.

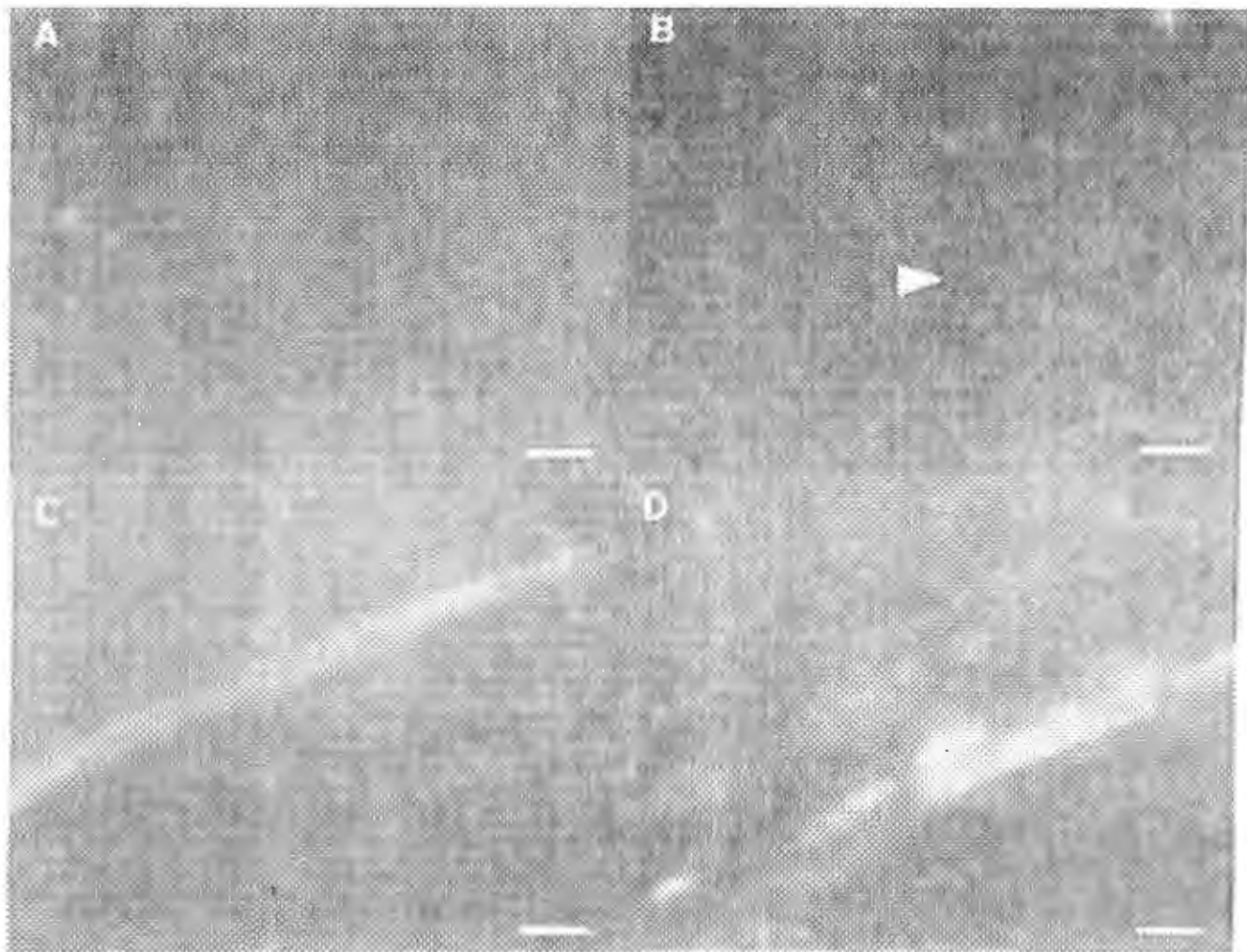


Fig. 1. Secciones longitudinales de tejido vascular de inflorescencia (A, B, y D) y raíz (C) de palmas de *Cocos nucifera*, después de 15 min de incubación en $1 \mu\text{g/ml}$ de DAPI en TBS. La única fluorescencia detectada en tejido de palma sana (A) es debida al fondo y a núcleos fuera de foco. En palma enferma se observan filamentos fluorescentes a lo largo de los vasos de floema (B, triángulo). A mayor aumento la fluorescencia pareció estar densamente empacada (C) o en forma de gránulos (D) tapizando las paredes de los vasos cribosos. La barra en A y B equivale a $11.50 \mu\text{m}$; en C y D, $2.95 \mu\text{m}$.

BIBLIOGRAFIA.

- Ayers, et al. (1985) Plant detection of pathogens, in Cooper- Driver et al. (eds.) Chemically mediated Interactions between plants and other organisms. Plenum press, New York
- Beakbane, B. et al. (1972) Mycoplasmas in the phloem of coconut, *Cocos nucifera* L., with lethal yellowing disease. J. Hort. Sci. 47:265
- Deeley, J. et al. (1979) Use of Diene's stain to detect plant diseases induced by mycoplasma-like organisms. Phytopathology 69:1169-1171
- Deutsch, E. and Nienhaus, F. (1983) Further studies on the distribution of mycoplasma-like organisms in different tissues of lethal diseased coconut palms in Tanzania. J. Plant Dis. Prot. 90:278-284
- Hall, J.L. (ed.) Electron microscopy and cytochemistry of plant cells, Elsevier, North Holland, 1978
- Németh, M. Virus, mycoplasma and rickettsia diseases of fruit trees, Martinus Nijhoff, Dordrecht, Netherlands, 1986
- Nienhaus, F. et al. (1982) Investigations on the etiology of the lethal disease of coconut palm in Tanzania. J. Plant Dis. Prot. 89:185-193
- Lin, C.P. and Chen, T.A. (1986) Comparison of monoclonal antibodies and polyclonal antibodies in detection of the aster yellows mycoplasma-like organism. Phytopathology 76:45-50
- Parthasarathy, M.V. (1973) Mycoplasma-like organisms in the phloem of palms in Florida affected by lethal yellowing. Plant Dis. Repr. 57:861-862
- Plavsic-Banjac, B. et al. (1972) Mycoplasma-like bodies associated with lethal yellowing disease of coconut palms. Phytopathology 62:298-299
- Schuiling, M. et al. (1981) The syndrome in coconut palms affected by a lethal disease in Tanzania. J. Plant Dis. Prot. 88:665-667
- Thomas, D.L. (1979) Mycoplasma-like bodies associated with lethal declines of palms in Florida. Phytopathology 69:928-934
- Thomas, D.L. and Norris, R.C. The use of electron microscopy for lethal yellowing diagnosis. Proc. Fla. State Hort. Soc. 93:196-199

EL USO DE SONDAS DE ADN PARA LA DETECCION DE ORGANISMOS TIPO MICOPLASMA CAUSANTES DEL AMARILLAMIENTO LETAL DEL COCOTERO

**José Armando Escamilla Bencomo y Lucely
Alpízar Carrillo**

Centro de Investigación Científica de Yucatán, Apdo. Postal 87. Cordemex 97310,
Yucatán, MEXICO.

INTRODUCCION

Hasta ahora el mayor inconveniente para obtener información etiológica y epidemiológica concerniente al amarillamiento letal ha sido la carencia de una técnica rápida, sensible y específica para la detección del patógeno y el diagnóstico de la enfermedad. Por ello a nivel mundial se conoce poco acerca de la ecología y distribución de los OTMs asociados con el amarillamiento letal.

La detección del organismo tipo micoplasma (OTM) causante del amarillamiento letal del cocotero se ha hecho indirectamente por tratamiento con antibióticos (McCoy, 1972, León, et al 1991) y microscopía de transmisión electrónica (TEM) (Parthasarathy, 1973; Cardaña et al., 1991). Aunque la microscopía de transmisión electrónica ha sido usada para confirmar la presencia de el organismo tipo micoplasma causante del amarillamiento letal del cocotero en el área del Caribe, dicha técnica no es un procedimiento rápido y específico ya que los OTMs son demasiado pequeños para ser resueltos por microscopía de luz (McCoy, 1979).

La aparición de la tecnología del ADN recombinante ha dado como resultado el estudio del comportamiento de los OTMs mediante el uso de sondas de ADN (Kirkpatrick et al, 1987). Fragmentos clonados del ADN de los OTMs usados como un 'sonda' han permitido:

a) Detectar varios OTMs en la planta y en el insecto hospedero (Kirkpatrick et al, 1987),

b) Distinguir diferentes tipos de OTMs.

c) proporcionar información concerniente a la interrelación entre los OTMs de varios hospederos y las regiones geográficas (Lee and Davis, 1988).

Recientemente se desarrollaron las sondas de ADN para la detección de OTMs asociado con la enfermedad de amarillamiento letal de palmas de Florida (Harrison et al., 1991a).

De manera general la tecnología de las sondas de ADN para detectar OTMs se basa en lo siguiente. El ADN de los OTMs tiene secuencias específicas y desconocidas de pares de bases nitrogenadas. Un fragmento del ADN de los OTM se corta y se le inserta al plásmido de la bacteria *Escherichia coli* (un plásmido es una molécula de ADN que infecta a las bacterias, y que una vez dentro de ella utilizan su metabolismo para reproducirse). Por tanto la bacteria al reproducirse multiplica la porción del ADN proveniente del OTM. Luego al extraer los plásmidos de la bacteria y marcar el ADN se obtiene una sonda de ADN enriquecida con fragmentos de ADN provenientes del OTM. A esto se le llama una sonda de ADN. Esta sonda debe de ser capaz de "hibridizar" o reconocer fragmentos de ADN de un OTM similar. De manera general una cadena abierta de ADN espontáneamente formará una cadena doble de ADN si la otra cadena que se le une o hibridiza es idéntica en su secuencia de bases nitrogenadas. De aquí que al unir la sonda de ADN y el extracto de ADN de la palma enferma estos hibridizarán siempre y cuando la muestra contenga ADN proveniente del OTM específico de donde se originó la sonda.

Esta técnica fue implementada en el CICY. Los OTMs causantes del amarillamiento letal fueron detectados en palmas de cocotero *Cocos nucifera* L. de la costa de la Península de Yucatán usando las sondas "LY143" y "LYD9" desarrolladas por el Dr. Harrison de la Universidad de Florida (Escamilla et. al, 1991). El objetivo de este trabajo es resumir los logros obtenidos en la detección y diagnóstico de OTMs del AL en Yucatán.

MATERIALES Y METODOS

Material Biológico

Se colectó tejido apical (cogollo) de seis palmas de *Coco Nucifera* L. variedad del Atlántico infectadas con amarillamiento letal. El grado de la enfermedad y los datos de las palmas se encuentran resumidos en la Tabla 1.

Extracciones de ADN

El tejido colectado se mantuvo congelado en nitrógeno líquido; 3 g de cada muestra se pulverizó con nitrógeno líquido y se le añadió 15 ml de buffer de extracción de DNA (Harrisson et al., 1991b) (100 mM TRIS, 50 mM EDTA, y 500 mM NaCl pH-8). Seguidamente se transfirió la muestra a un tubo de polipropileno de 40 ml y se incubó en un baño de agua a 68°C durante 10 min. Se le adicionó 35 μ l de β --mercaptoetanol, 100 μ l de SDS al 20% y 6 ml de acetato de sodio 3.0 M para lisar las células seguido de un baño en hielo durante 30 min. Después de ese tiempo se centrifugó a 15,000 x g por 20 minutos a 4°C para separar precipitado insoluble. El sobrenadante se transfirió a un tubo limpio de 40 ml. filtrando con papel toalla y se le añadió 10 ml de isopropanol, incubándose a 0°C durante toda la noche. Después se centrifugó a 15,000 x g durante 15 min. para obtener una pastilla con los ácidos nucleicos.

A continuación la pastilla se lavó con 500 μ l de etanol al 100% y se transfirió a un tubo ependorf y se centrifugó a 140,000 x g durante 5 min. Los pellets conteniendo los ácidos nucleicos se secaron y se guardaron a 4°C.

Hibridización del ADN

El pellet con los ácidos nucleicos de cada muestra se resuspendió en 100 μ l de buffer TE. 10 μ l de cada muestra (aprox. 2 μ g de ADN) se aplicó sobre una membrana de nitrocelulosa. Las membranas se calentaron previamente en una estufa con vacío y a 80°C durante 1 h. Las muestras se desnaturalizaron según el proceso reportado en Maniatis (1982). Esencialmente los blots se humedecieron con 6x SSC colocando la membrana dentro de un papel filtro humedecido con este buffer durante 5 min. Las membranas se transfirieron a un segundo filtro humedecido con una solución de 0.5 N NaOH, 1.5 M NaCl durante 5 min (paso de desnaturalización), luego se transfirió a un tercer filtro humedecido con una solución de 1.5 M de NaCl, 0.5 M Tris pH 7.4 durante 5 min. Las membranas fueron transferidas a un cuarto filtro con 2x SSC durante 2 min y luego secadas a 80°C 1 h. Comparativamente se aplicaron muestras de otras fuentes de OTMs proporcionadas por el Dr. Harrison.

La prehibridización de las membranas se hizo durante toda la noche a 68°C según las instrucciones de Maniatis (1982) utilizando DNA de timo de carnero para el bloqueo.

Para la hibridización esta solución se reemplazó por una similar pero que contenía las sondas "LY143" y "LYD9". La hibridización se llevó a cabo incubando con sondas marcadas radiactivamente durante 16 h. a 68°C. después de los cuales las membranas se lavaron dos veces con 2X SSC + 0.1% SDS a 25°C (30 min cada lavado) se lavó una vez 0.2x SSC, + 0.1% SDS a 25 C (30 min). Por último la membrana se selló en una bolsa de plástico y se expuso a X-Omat AR (Eastman Kodak, Rochester, NY) con un protector (Lightning Plus, Dupont, Newark, DE). La autorradiografía se realizó a -75°C durante 60 h.

RESULTADOS

Los resultados de hibridización tanto con la sonda LY143 como con la LYD9 fueron similares. Los resultados con la sonda LY143 se muestran en la tabla 2.

Para simplificar la interpretación se usó una escala numérica para indicar el orden de las muestras en relación a su grado de hibridización; por ejemplo una muestra de ADN obtenido a partir de palma de Florida infectada con amarillamiento letal la cual tuvo una grado fuerte de hibridización, se le dió el valor de 1. en cambio a la muestra No.2 de ADN de palma de Yucatán la cual tuvo un baja grado de hibridización se le dió el valor de 5. Todos las muestras de ADN de palmas de Yucatán tuvieron una hibridización positiva excepto el control sano.

Cuando se comparan con las palmas de Florida, solamente la *Veitchia* y coco tuvieron una hibridización positiva.

Las muestras de ADN obtenidas de dos especies de palmas sanas de Florida y una de la leguminosa *Cajanus cajan* infectada con el OTM de escoba de brujas tuvieron una hibridización negativa.

Cuando comparamos grados de intensidad entre las regiones geográficas, cuatro palmas de coco enfermas de Yucatán tuvieron un grado similar o mayor que las palmas de coco enfermas de amarillamiento letal de Florida.

DISCUSION

Todos los extractos de ADN obtenidos de palmas de Yucatán enfermas con amarillamiento letal dieron resultados positivos con alto grado de hibridización con ambas sondas.

El hecho de que las sondas LY143 y LYD9 fueron clonados e identificados con fragmentos de ADN cromosomal de OTM asociado con AL de palmas de *Veitchia merilli* en Florida explica que el grado de hibridización con la muestra de *Veitchia merilli* fue el mas fuerte.

Los grados de hibridización positiva de todas las palmas de Yucatán enfermas sugieren que los OTMs asociado con el amarillamiento letal de las palmas de coco de Yucatán son genéticamente similares o tal vez idénticos a los OTMs asociados con el amarillamiento letal de las palmas de Florida. Sin embargo se requieren estudios mas detallados para determinar el grado de esta similitud.

La hibridización negativa del ADN cromosomal del OTM asociado con la "enfermedad de la escoba de brujas" determinó que el ADN de la sonda fue específico para el ADN cromosomal del OTM asociado con amarillamiento letal de las palmas. Nuestros resultados demuestra la utilidad de las sondas de ADN

del Dr. Harrison como una herramienta de diagnóstico específica para la detección de OTMs asociados con amarillamiento letal de palmas de coco de México.

PERSPECTIVAS

El uso de las sondas de ADN para la detección de OTMs asociados con AL abre nuevas perspectivas en el campo de la investigación de AL. A diferencia de otros métodos de diagnóstico empleados, es específica para el OTM. Datos preliminares sugieren que es el único método capaz de detectar OTMs de AL cuando la palma está en el período de incubación (Harrison y Escamilla, comunicación personal). Esta técnica también está siendo empleada para la detección de OTMs de AL en *Myndus crudus*. Ofrece también la posibilidad de hacer monitoreo de malezas o palmas hospederas que son portadores asintomáticos de la enfermedad. Por último puede emplearse como herramienta de diagnóstico para investigar si el OTM causante del AL en el área de Caribe es el mismo que el OTM causante del AL en África, ya que la enfermedad se desarrolla de manera diferente en dichas regiones geográficas.

REFERENCIAS

- Cardena R., Villanueva, M. Santamaría J. and C. Oropeza. 1991. Presence of mycoplasma-like organisms in *Cocos nucifera* palms showing lethal yellowing disease symptoms in Yucatán. *Can. J. of Plant Pathology*. (En prensa).
- Davies, R.E., Lee, I-M., Douglas, S.M., and Dally, E.L. 1990. Molecular cloning and detection of chromosomal and extrachromosomal DNA of the mycoplasma-like organism associated with little leaf disease in periwinkle (*Catharanthus roseus*). *Phytopathology* 80: 789-793.
- Escamilla, J.A. Harrison, N.A. Alpizar L. and C. Oropeza. 1991. Detection of lethal yellowing mycoplasma-like organisms by DNA probes in palms of Yucatan, Mexico. In: *International Symposium on Coconut Research and Development*. Central Plant Crops Institute, Rasaragot, India (En prensa).
- Harrison, N.A., Bourne, C.M. Cox, R.L. Tsai J.H., and P.A. Richardson. 1991a. Molecular Plant Pathology DNA probes for detection of mycoplasma-like organisms associated with lethal yellowing disease of palms in Florida. *Phytopathology*. In press.
- Harrison, N.A., Tsai, J.H., Bourne, C.M., and Richardson, P.A. 1991b. Molecular cloning and detection of chromosomal and extrachromosomal DNA of mycoplasma-like organisms associated with witches'-broom disease of pigeon pea in Florida. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 4:300-307.
- Kirkpatrick, B.C., G.A. Fisher, J.D. Fraser, A.H. Purcell. 1990. Epidemiological and phylogenetic studies on western X disease Mycoplasma-like organisms. p 288-302 In *Recent Advances in Mycoplasma*, G. Stanek, G.H. Casell, J.G. Tully and R.F. Whitcomb eds. Gustav Fischer Verlag, NY 962 pp.
- Lee, I-M., and Davis, R.E. 1988. Detection and investigation of genetic relatedness among aster yellows and other mycoplasma-like organisms using cloned DNA and RNA probes. *Mol Plant-Microbe Interact.* 1:303-310.
- León R., Sánchez G., Alpizar L., Escamilla A., Santamaría J. y Oropeza C. 1991. Studies on the physiology of *Cocos nucifera* plants affected by lethal yellowing in Mexico. In: *International Symposium on Coconut Research and Development*. Central Plant Crops Institute, Rasaragot, India (En prensa).

- Maniatis, T. Fritsch, E.F., and Sambrook, J. 1982. Molecular cloning: A Laboratory Manual. Cold spring Harbor Laboratory. Cold Spring Harbor. NY. 545 pp.
- McCoy, R.E. 1983. Lethal yellowing of palms. Bull 834. Agricultural Experimental Stations. Institute of Food and agricultural sciences. University of Florida.
- Parthasarathy, M.V. 1973. Mycoplasma-like organisms in the phloem of palms in Florida affected by lethal yellowing. Plant Dis. Report. 57:861-862.

Tabla 1. Características de edad, variedad, grado de avance del AL así como fecha de colección y localidad de las palmas colectadas para la extracción del ADN.

	Fecha	Edad	Grado	Localidad	Variedad
ID	1991	(años)	AL(*)		
1	Junio 22	8	5	San Crisanto	Hibrido
2	Junio 22	12	5	San Crisanto	Hibrido
3	Junio 22	10	5	San Crisanto	A.Atl.
4	Junio 25	8	5	San Crisanto	A.Atl.
5	Junio 25	1	CONTROL	Campeche(**)	A.Atl.
6	Abril 30	12	4	San Bruno	A.Atl.
7	Mayo 20	8	4	Chicxulub	A.Atl.

* Segun la Tabla de McCoy (1983)

** Tomada de una área donde el AL no está presente presente (240 Km NO de Mérida, Yucatán).

A. Atl. := Alto del Atlántico

Hibrido = A. Atl. x [A. Atl. x enano)

Tabla 2. Respuestas e intensidad relativa de hibridización de muestras de palmas de Yucatán y Florida.

Muestra	Hibridización	Intensidad relativa
ID	Respuesta	de hibridización
<u>Muestras de Yucatán</u>		
1	+	2
2	(+) (débil)	5
3	+	3
4	+	4
5 (CONTROL)	-	-
6	+	2
7	+	3
<u>Muestras de Florida</u>		
<i>Cajanus cajan</i> OTM "EB"	-	-
<i>Veitchia</i> sana	-	-
<i>Veitchia</i> con AL	+	1
Cocotero sano	-	-
Cocotero con AL	+	3

"EB" = enfermedad de escoba de brujas

METODO DE DIAGNOSTICO Y CONTROL DEL AMARILLAMIENTO LETAL POR APLICACION DE ANTIBIOTICOS

Carlos Oropeza Salín

Presentada por:

José Armando Escamilla Bencomo

Centro de Investigación Científica de Yucatán, Aprdo. Postal 87 Cordemex, 97310 Yuc.
México.

ANTECEDENTES

(a) Agente causal del AL (propuestas iniciales: hongos, bacterias, virus, nemátodos, insectos y desórdenes nutricionales.

(b) Doi et al. (1967) usando microscopio electrónico observan por primera vez la presencia de organismos tipo micoplasma (OTM) en plantas enfermas.

(c) En 1972 tres diferentes laboratorios reportan la presencia de OTM en floema de palmas con AL (Beakbane et al. 1972; Heinze et al. 1972; Plavsic-Benjac et al. 1972).

(d) Nyland (1971) reporta que una aplicación de tetraciclina previene el desarrollo de síntomas de enfermedades producidas por micoplasmas en pera y durazno.

(e) McCoy (1972) reporta remisión de síntomas (partes nuevas crecen saludablemente) de AL en palmas de coco tratadas con tetraciclina. Por otro

lado, el tratamiento con penicilina no tuvo efecto (McCoy 1973). Este efecto diferencial es consistente con una etiología de OTM.

(f) Este tipo de estudios permitió ver el potencial del uso de antibióticos como herramientas para el diagnóstico y el control del AL.

DIAGNOSTICO

DEFINICIONES

Mycoplasma

Es un microorganismo delimitado por una membrana, que contiene ribosomas y DNA. A diferencia de las bacterias, carecen de pared celular, son mas pequeños y son insensibles a la penicilina.

OTM

Es un organismo que se sospecha es micoplasma pero que no ha podido ser aislado para confirmarlo y mientras esto no ocurra se le denominará "tipo micoplasma".

PRINCIPIO

Los micoplasmas son insensibles a la penicilina y son sensibles a antibióticos del tipo de las tetraciclinas.

Penicilinas:

Actúan a nivel de pared celular (ausente en micoplasmas).

Tetraciclinas:

Actúan a nivel de ribosomas (presentes en micoplasmas).

MONITOREO DEL TRATAMIENTO CON ANTIBIOTICOS

(a) Seleccionar palmas con AL en etapa temprana (2 ó 3 de acuerdo a McCoy (1983).

(b). Tratamientos y respuestas:

Testigo (sin tratamiento):

Continúa el progreso de la sintomatología.

Penicilinas:

Continúa el progreso de la sintomatología.

Tetraciclinas:

Se retarda el progreso de la sintomatología y puede presentarse remisión (desarrollo saludable de partes nuevas).

CONTROL CON ANTIBIOTICOS

VENTAJAS

(a) Se pueden extender la vida de palmas enfermas mediante aplicaciones periódicas.

DESVENTAJAS

(a) No elimina al agente causal.

(b) Costoso.

(c) Presencia de residuos en frutos.

APLICACIONES

Fines ornamentales (por ejemplo, en hoteles).

ASPECTOS PRACTICOS

TIPO DE ANTIBIOTICO (Adaptado de McCoy, 1973).

Tratamiento	No. palmas tratadas	No. de remisiones
1) Terramicina, 2g/L/palma (Oxitetraciclina) ácido cítrico*	5	0
2) Terramicina, 2g/L/palma ácido tartárico*	5	5
3) Terramicina, 2g/0.2L/palma ácido tartárico*	5	5
4) Griseofulvina, 2g pasta/palma (tetraciclina)	5	0
5) Acromicina, 3g/L/palma	5	3
6) Penicilina G, 2g/L/palma potasio	5	0
7) Estreptomicina, 2g/L/palma nitrato	5	0
8) Terramicina, 40g/22L/palma (suelo)	4	0
9) Control, sin tratamiento	8	0
(*) Agente estabilizante		

De acuerdo a estos resultados, de los antibióticos probados, la oxitetraciclina es el antibiótico mas efectivo.

DOSIS

Tratamiento	Referencia
Mínimo: 0.1g/L/tronco	McCoy, 1972
Máximo: 20.0g/L/tronco	Hunt et al. 1974

DURACION

Aplicar 1-2 g (oxitetraciclina) cada tres meses.

MOMENTO DE APLICACION

Mientras más avanzada esté la enfermedad, menos efectivo es el tratamiento. Aplicar de preferencia al notar caída de frutos o aparición de primera inflorescencia necrótica.

Grado de avance	Efecto		
	No	Retraso	Remisión
(a) Sin amarillamiento	-	-	5
(b) Amarillamiento intermedio	-	5	-
(c) Amarillamiento avanzado	2	-	-

Adaptado de Hunt et al. 1974

TIPO DE APLICACION

Si se trata de antibióticos del tipo de las tetraciclinas la penetración al tejido debe ser lo mas rápido posible, pues son compuestos inestables.

Forma de aplicación	Volumen	Tiempo aplicación
Botella de suero	1,000 ml	24 h
Dispositivo presurizado	200 - 500 ml	1 h
Jeringa	10 ml	10 min

LUGAR DE APLICACION

Aplicación	Comentarios
(a) Tronco	Causa daño, es fácilmente accesible.
(b) Base de la hoja	Reduce daño, es menos accesible.

PROCEDIMIENTO DE APLICACION DE ANTIBIOTICOS

PROTOCOLO (Figura 1)

(a) Hacer un orificio en el tronco a una altura de 1.5 a 2.0 m de altura, con un diámetro de 1.25 cm, 10 cm de profundidad y una inclinación de 20-30°.

(b) Cortar el extremo superior de una jeringa desechable de 5 ml.

(c) Introducir la jeringa en posición invertida en el orificio del tronco, empujando para que penetre (si es necesario usar herramientas).

(d) Cargar una jeringa de 10 ml con solución de antibiótico (por ejemplo: oxitetraciclina 1g/10 ml). Conectarla a la jeringa fijada al tronco (usando un tubo adaptador). Introducir la solución al tronco. Es necesario presionar el émbolo de la jeringa hasta que penetre la solución.

(e) Posteriormente introducir 10 ml de agua. Si es necesario empujar con aire hasta que penetre todo el líquido.

(f) Retirar la jeringa fijada al tronco y tapar el orificio con cera o con un tapón de corcho o madera.

BIBLIOGRAFIA

Beakbane A B, Slater C H W and Posnette A F (1972).

Mycoplasmas in the phloem of coconut, *Cocos nucifera* with lethal yellowing disease. J. Hort Sci 47, 265.

Doi Y, Teranaka M, Yora K and Asuyama H (1967). Mycoplasma or PLT group-like microorganisms found in the phloem elements of plants infected with mulberry dwarf, potato witches' broom, aster yellows or paulownia witches' broom. Ann Phytopathol Soc Jap 33, 259-266.

Heinze K, Petzold H and Marwitz R (1972). Beitrag zur Ätiologie der tödlichen Vergilbung der Kokospalme (lethal yellowing disease of coconut palm). Phytopathol Z 74, 230-237.

Hunt P, Dabek A J and Schuiling M (1974). Remission of symptoms following tetracycline treatment of lethal yellowing-infected coconut palms. Phytopathology 64, 307-312.

- McCoy R E (1972). Remission of lethal yellowing in coconut palm treated with tetracycline antibiotics. Plant Disease reprints. 56, 1019-1021.
- McCoy R E (1973). Lethal yellowing of palms. Ag Exp Stat, University of Florida. Bulletin 834.
- Nyland G (1971). Remission of symptoms of pear decline in pear and peach K-disease in peach after treatment with a tetracycline. Phytopathology 61, 904-905.
- Plavsic-Benjac B, Hunt P and Maramorosch K (1972). Mycoplasma-like bodies associated with lethal yellowing disease of coconut palms. Phytopathology 62, 298-299.

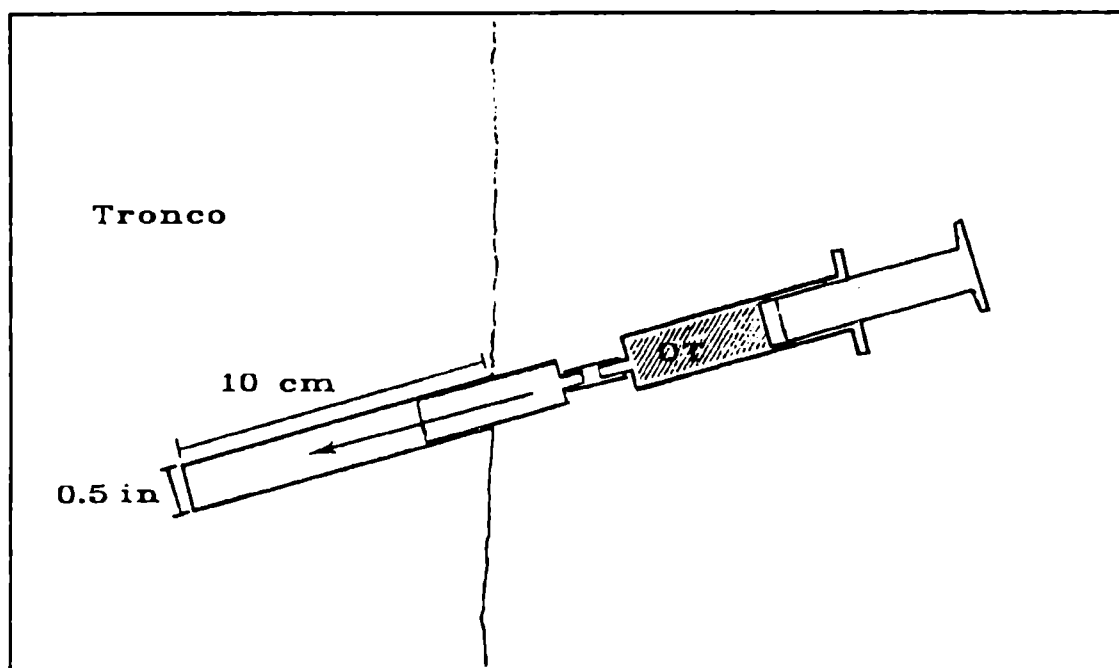


Figura 1. Diagrama de aplicación de antibióticos por jeringa en el tronco de la palma del cocotero.

METODO DE DETECCION DE AMARILLAMIENTOS CAUSADOS POR ORGANISMOS TIPO MICOPLASMA MEDIANTE EL MONITOREO DEL COMPORTAMIENTO DE ESTOMAS.

Jorge Santamaría y Carlos Oropeza

Presentada por:

José Armando Escamilla Bencomo

Centro de Investigación Científica de Yucatán. Apdo. Postal 87. Cordemex, 97310 Yuc.,
México.

INTRODUCCION

El amarillamiento letal así como otras enfermedades causadas por organismos tipo micoplasma (OTM) causan una serie de alteraciones fisiológicas en las plantas. Una de estas alteraciones es una reducción en la conductancia estomatal la cual es el resultado de cierto grado de cierre de los estomas.

Basham y Eskafi (1980) y Eskafi et al. (1986) detectaron una menor conductancia estomatal durante el mediodía en palmas de coco que presentaban amarillamiento letal que en palmas sanas. Otras enfermedades asociadas con infecciones por organismos tipo micoplasma y espiroplasmas, también causan cierre estomatal en otras especies. Por ejemplo en el amarillamiento del olmo, el amarillamiento del fresno, la enfermedad X de *Prunus virginiana*, el enanismo del maíz (Matteoni y Sinclair, 1983). Mas aún, los estomas de plantas de *Catharanthus roseus* inoculadas con los agentes que causan amarillamiento del

olmo y del fresno se cerraron como resultado de la inoculación. Por lo tanto se ha sugerido, que el cierre de estomas es un síntoma de patogénesis relacionada a organismos tipo micoplasma (Matteoni y Sinclair, 1983).

No es muy claro porqué se cierran los estomas como resultado de infecciones por OTM's, se puede pensar que se debe a desbalances hormonales (León et al., 1991) aunque no se puede descartar que se deba a la producción de toxinas por parte de los OTM's. Cualquiera que sea la causa, aparentemente el cierre de estomas ocurre antes de la aparición de síntomas visuales. En el amarillamiento del olmo, ocurre una reducción significativa de la conductancia estomatal 3.5 semanas antes de la aparición del primer síntoma, mientras que en el amarillamiento del fresno, la reducción de la conductancia precede la aparición de síntomas visuales hasta 2 meses (Fig. 1). Por lo que se ha sugerido que el monitoreo del grado de cierre estomatal, pueda ser una herramienta útil en la detección de enfermedades causadas por OTM's.

POROMETRIA

Uno de los métodos mas prácticos para monitorear el grado de apertura estomatal es el uso de porómetros de difusión los cuales estiman la resistencia estomatal (r_s) o su inverso, la conductancia estomatal (g_s). La porometría de difusión se basa en la medición de la tasa de pérdida de vapor de agua transpirada en una hoja confinada en una cámara hermética. Dicha tasa de pérdida se determina a partir de la tasa de incremento de humedad debida a transpiración, medida como tiempo de paso (como en el caso de porómetros del tipo Delta T MK III; Delta T Devices) o a partir de la tasa a la cual se tiene que adicionar aire seco para compensar dicho incremento en humedad (como en el caso de porómetros de balance nulo como el Li-Cor LI 1600) (ver Beadle et al. 1988). La conductancia del vapor de agua medida por porómetros de difusión es una estimación efectiva del grado de cierre de estomas, por lo que se puede extrapolar que el monitoreo de la conductancia estomatal por medio de porómetros puede ser útil en la detección temprana de enfermedades causadas por OTM's.

EL USO DE POROMETROS EN AMARILLAMIENTO LETAL

En el caso del amarillamiento letal (AL) del cocotero donde la enfermedad se desarrolla mas rápidamente, los cambios en el comportamiento estomatal deben ocurrir más cercanos a la caída generalizada de los cocos (primer síntoma visual de acuerdo a McCoy, 1983). Basham y Eskafi (1980), estimaron que en palmas de coco afectadas por AL en Jamaica, la reducción de la conductancia estomatal ocurre hasta 2 semanas antes de la caída de cocos. En Yucatán, México, nuestros resultados indican una disminución significativa en la conductancia estomatal de palmas que empiezan a tirar sus cocos (grado 1) y continúa disminuyendo conforme la enfermedad avanza (Fig. 2). En un continuo monitoreo de palmas asintomáticas localizadas en plantaciones con alta incidencia de la enfermedad, encontramos una disminución considerable en la

conductancia estomatal 1 semana antes de la caída de cocos (Fig. 3) (León, 1990, León et al. 1991). Sin embargo, es extremadamente difícil establecer a ciencia cierta cuanto tiempo antes de la aparición de síntomas visuales se detecta una disminución significativa en la conductancia estomatal en palmas con AL, ya que a diferencia de los estudios de Matteoni y Sinclair (1983), no es fácil la trasmisión artificial del AL del cocotero. De cualquier forma, el descenso de la conductancia estomatal 1 ó 2 semanas antes de la caída de los cocos, hace limitado el uso de porómetros como método de detección temprano de la enfermedad si lo que estamos buscando son marcadores que indiquen la presencia de la enfermedad meses antes de la aparición de los síntomas visuales. Sin embargo, el monitoreo de la conductancia estomatal por porometría es sin lugar a dudas útil en la confirmación del diagnóstico de AL ya que en muchas ocasiones los síntomas visuales pueden confundirse. El descenso en la conductancia estomatal es suficientemente dramático y rápido para detectar la presencia de AL en una plantación. El monitoreo por porometría es relativamente práctico porque los porómetros de difusión son relativamente prácticos y no demasiado caros.

Sin embargo y considerando que al estar los estomas cerrados, la temperatura foliar aumenta, debe evaluarse el uso de pistolas infrarrojas para la detección remota (sin subirse a la palma) del cierre estomatal. En otras palabras, si la temperatura de una palma (usando pistolas infrarrojas) o de una plantación (usando fotografía aérea infrarroja) se encuentra anormalmente aumentada, debe ser el resultado de cierre estomatal y esto puede indicar la presencia de AL en una área aparentemente no afectada y puede ayudar en el monitoreo del frente de la enfermedad. Obviamente, todo lo anterior depende de que el cierre de estomas sólo ocurra como resultado de infecciones por AL y se debe evaluar si no ocurre un cierre de estomas equivalente en otras enfermedades como anillo rojo. De igual forma, se debe tener cuidado de realizar las mediciones a la misma hora del día en días soleados y cuidando que no esté presente en la plantación una evidencia clara de déficit hídrico ya que tanto sequía, como bajos niveles de radiación pueden generar bajos valores de conductancia estomatal y altas temperaturas foliares.

CONCLUSIONES

En conclusión, los estomas de plantas que presentan enfermedades asociadas a organismo tipo micoplasma, tienden a cerrarse antes de la aparición de síntomas visuales. En algunas especies el cierre de estomas ocurre meses antes de la aparición de síntomas por lo que el monitoreo del comportamiento estomatal puede ser usado en el diagnóstico temprano de la enfermedad. En el caso del amarillamiento letal del cocotero su uso en este sentido es limitado porque este ocurre muy cercano a la aparición de síntomas. Sin embargo, el monitoreo del grado de cierre estomatal puede ser útil en la confirmación de la presencia de la enfermedad en una plantación. Se requieren estudios para determinar si el cierre estomatal es exclusivo de palmas que presentan AL o éste ocurre también en otras enfermedades. El monitoreo del grado de cierre estomatal puede efectuarse eficientemente y en forma relativamente práctica, pero tal vez, el monitoreo de la temperatura foliar resultante de dicho cierre

estomatal sea mas eficiente por las facilidades de detección remota como el uso de pistolas infrarrojas o de fotografía aérea infrarroja.

REFERENCIAS

- Basham H.G. and Eskafi F.M. (1980). Xylem transport in palms with lethal yellowing. In 4th meeting International council on lethal yellowing (Thomas, D. Howard F. and Donselman H. eds.) Agric. Res. Ctr. Ins. Food Agric. Sci. U. Florida, Lauderdale 22p.
- Beadle C. Ludlow M. y Honeysett J. (1988) En: Técnicas en Fotosíntesis y Bioproductividad. Eds. Coombs J. Hall D. Long S. Scurlock J. C.P. Chapingo Mex.
- Eskafi F. M. Basham H.G. and McCoy R.E. (1986). Decreased water transport in lethal yellowing diseased coconut palms. Trop. Agric. 63, 225-228.
- León R. Oropeza C. y Santamaría J. Comportamiento estomatal de palmas de coco enfermas de amarillamiento letal (1990). Reunión Nacional de Bioquímica, S.L. Potosí, Mex.
- León R., Sánchez G., Alpizar L., Escamilla A., Santamaría J. y Oropeza C. (1991). Studies on the physiology of *Cocos nucifera* plants affected by lethal yellowing in Mexico. In: International Symposium on Coconut Research and Development. Central Plant Crops Institute, Rasaragot, India (In press).
- Matteoni J.A. and Sinclair W.A. (1983). Stomatal closure in plants infected with mycoplasma-like organisms. Phytopathology, 73, 398-402.
- McCoy (1983). Lethal yellowing of palms. Bull. 834 Agr. Exp. Stations, Inst. of Food and Agricultural Sciences U. of Florida.

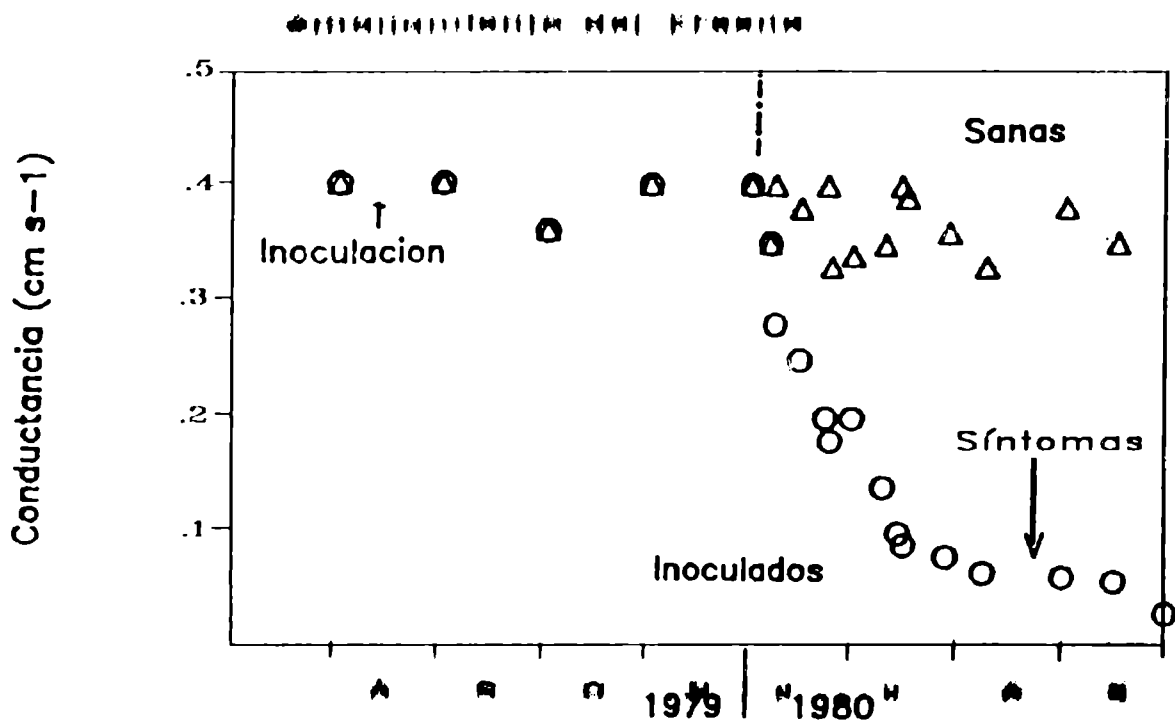


Figura. 1. Conductancia estomatal de plantas de fresno después de ser inoculadas con los respectivos agentes causantes de amarillamientos. La figura fue recalculada y modificada de Matteoni y Sinclair (1983).

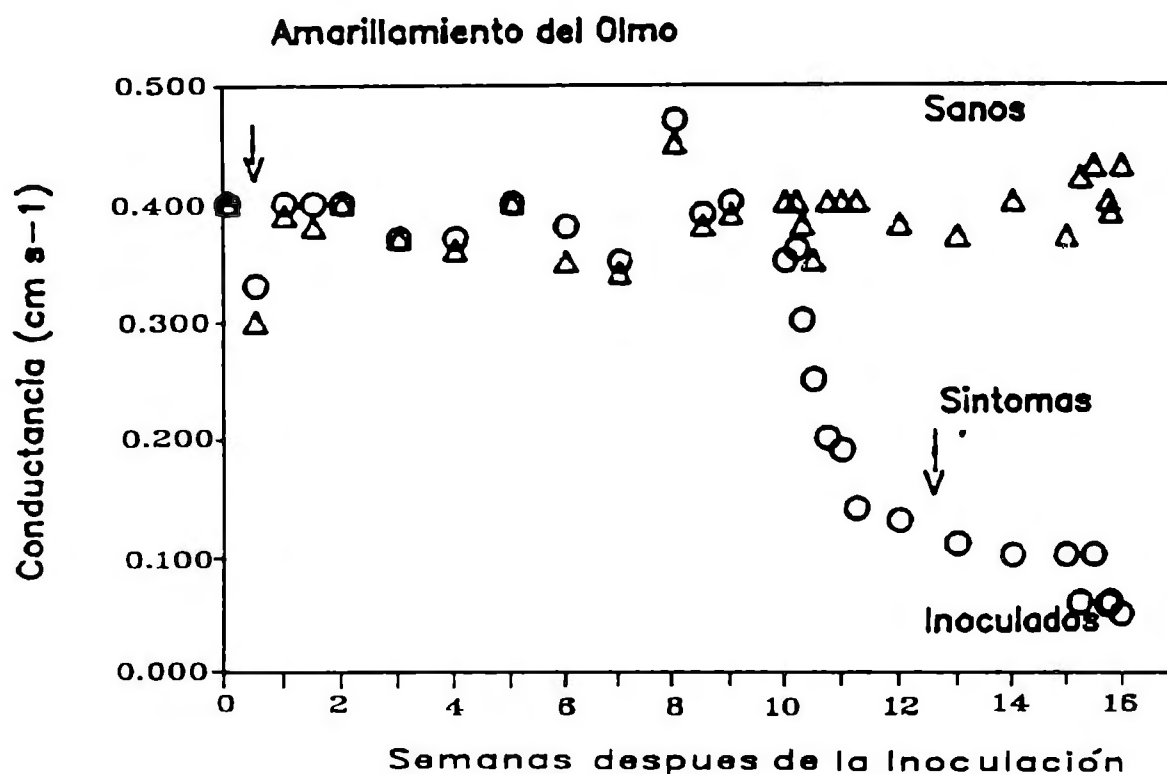


Figura 1A. Conductancia estomatal de plantas de olmo después de ser inoculadas con los respectivos agentes causales de amarillamientos. La figura fue recalculada y modificada de Matteoni y Sinclair (1983).

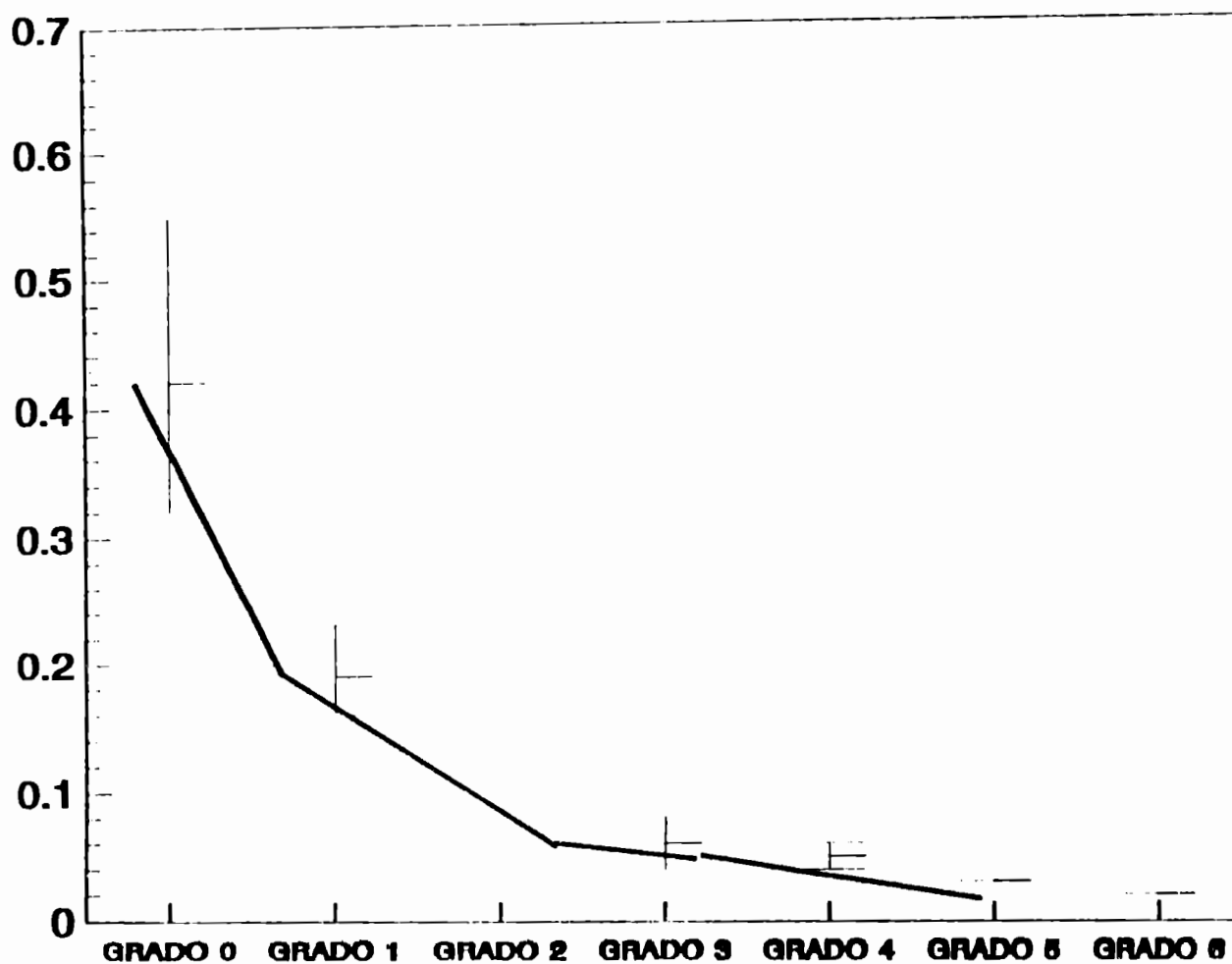


Figura 2. Conductancia estomatal de palmas de coco sanas (grado 0) y palmas enfermas con diferentes grados de avance de amarillamiento letal en Telcha, Yuc.

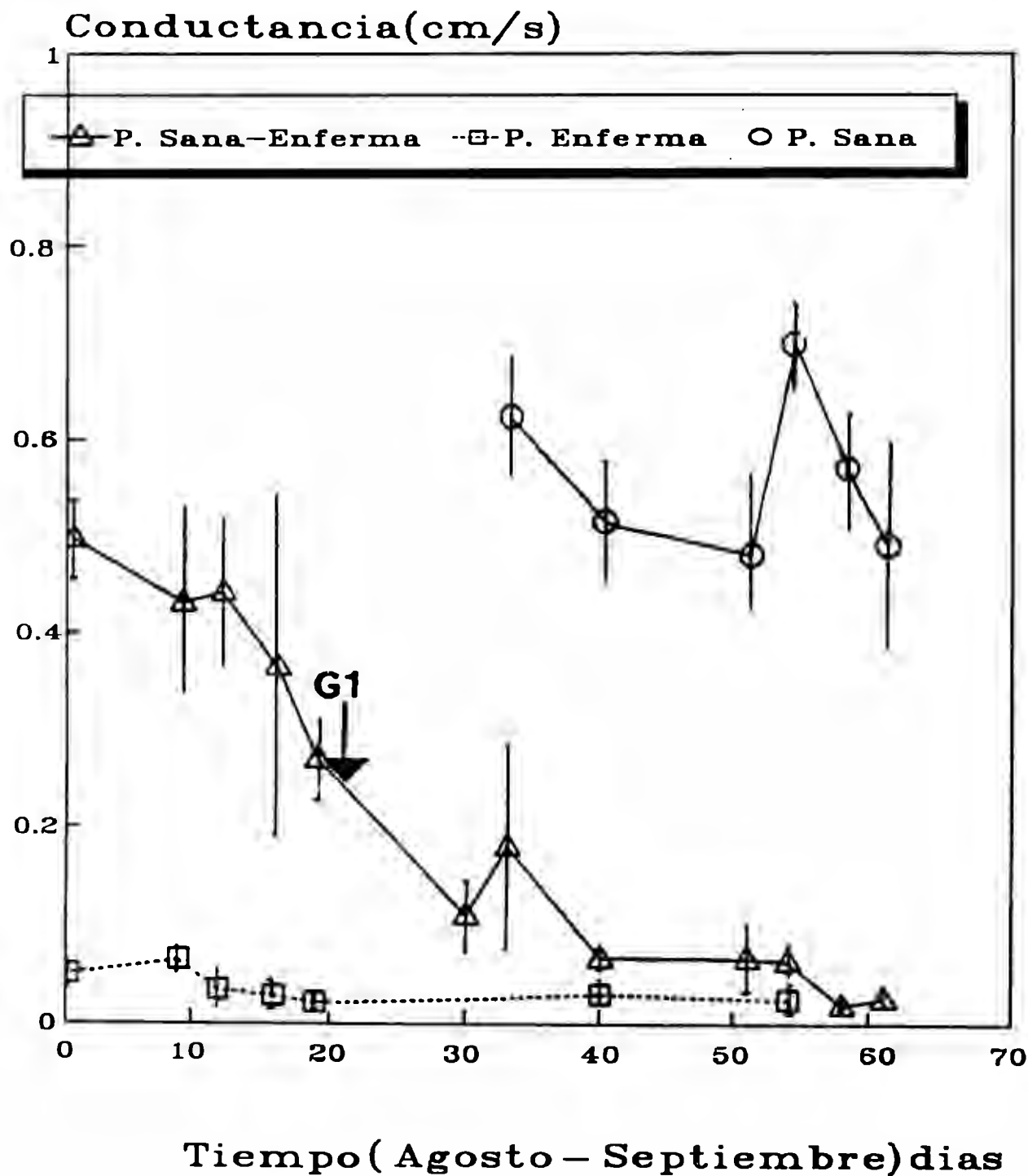


Figura 3. Monitoreo de la conductancia estomatal de una palma originalmente asintomática en un período de 60 días, período en el cual presentó varios grados de AL (sana-enferma). G1 indica el momento de la aparición del primer síntoma visual. La conductancia estomatal de 1 palma sana y una enferma con grado 6 durante el mismo período también se presenta.

VARIEDADES DE COCOTERO Y DISPONIBILIDAD DE GERMOPLASMA EN MEXICO

Daniel Zizumbo Villarreal

Departamento de Recursos Naturales, División de Biología Vegetal, Apdo. Postal 87,
97310 Cordemex, Yucatán, MEXICO

INTRODUCCION

El amarillamiento letal ha afectado diferencialmente a las poblaciones de cocotero con las cuales ha estado en contacto. Sin embargo se desconocen las bases genéticas que han permitido la sobrevivencia de poblaciones e individuos al ser infectadas. Por tanto el impacto del amarillamiento en una área dada esta en función de la suceptibilidad de las poblaciones e individuos que componen las plantaciones.

A nivel mundial se han descrito dos variedades de cocotero las cuales presentan características claramente diferenciales en cuanto a ciclo de vida, habito de desarrollo, germinación, biología floral, producción y resistencia a enfermedades. La variedad "*nana*" que corresponde a los cocoteros enanos y variedad "*typica*" que corresponde a los cocoteros altos. En relación a los cocoteros altos, se han descrito dos formas contrastadas: la forma "*niu kafa*" y la forma "*niu vai*", así como dos tipos con características intermedias que corresponden a poblaciones resultantes de la infiltración genética entre las formas contrastadas.

La evaluación sobre su comportamiento frente al ALC ha mostrado que las variedad "*nana*" presenta niveles muy altos de resistencia, mayores al 90 por ciento. En cuanto a la variedad "*typica*" se ha observado que el tipo "*niu kafa*" es altamente susceptible mientras que el tipo "*niu vai*" presenta niveles entre un 60 y un 80 por ciento de resistencia. Los tipos intermedios presentan tambien niveles intermedios.

ANTECEDENTES

El cocotero *Cocos nucifera* es una especie que evolucionó en habitats marinos, siendo uno de sus mecanismos de dispersión más importantes la flotación, por lo cual características de fruto tales como baja densidad (alto porcentaje de mesocarpo en fruto y baja cantidad de agua en endospermo) pudieron ser favorecidas por la selección natural. Así mismo germinación lenta pudo favorecer un mayor tiempo de flotación. Un fruto largo con costillas pronunciadas también pudo favorecer en primer instancia la navegación y su posterior establecimiento en la zona de oleaje al disminuir su rodaje (Harries 1978). Los cocoteros descritos del tipo "*niu kafa*", precisamente presentan estas características.

La selección por parte del hombre al parecer estuvo relacionada a su uso como provisión de agua en los viajes marítimos de las civilizaciones polinésicas y melanesicas. Así la mayor cantidad de agua pudo ser una característica seleccionada y bajo cultivo favorecer la rápida germinación y precosidad. Características que presentan los cocoteros descritos como el tipo "*niu vai*".

Los cocoteros enanos fueron seleccionados y mantenidos en cultivo y diseminados por el hombre presumiblemente a partir de una mutación relativamente reciente en cocoteros altos.

Los cocoteros altos de la forma "*niu kafa*" se distribuyen en la porción oriental y occidental de África y la India, mientras que los cocoteros altos de la forma *niu vai* en Malasia, Tailandia y Filipinas. Las formas intermedias en Polinesia y Melanesia.

La distribución original de los cocoteros enanos se localiza en Malasia y las costas de India.

COCOTEROS ALTOS

Se plantea en términos generales la existencia en el mundo de cuatro grupos básicos de cocotero alto: El grupo Africano que corresponde al tipo *niu kafa*; el grupo del Golfo de Siam o Malayo-Tailandés que corresponde al tipo *niu vai*; el grupo Melanésico (Islas Rusal), el grupo Polinésico (Islas Rennel y Tahití) que corresponden a tipos intermedios (Nucé de Lamothe y Wuidart, 1979; 1981).

GRUPO AFRICANO

El grupo Africano está conformado por poblaciones distribuidas en el occidente y oriente de África y Costas del Océano Índico, denominadas: Alto Oeste Africano y Alto Mozambiqueño. Se caracterizan por poseer una germinación lenta, emisión foliar lenta; relativamente precoces, pocos racimos, pero muchos frutos con relativamente menor copra, pero copra de la mejor

calidad en aceites y proteínas. Presenta mayor homogeneidad que los demás grupos.

En cuanto a la composición de su endospermo presenta relativamente menor cantidad de carne, entre 302 a 318 g. Presenta relativamente mayor contenido de materia seca (58%); mayor porcentaje de aceite (71%) y proteínas (22.8%).

Germina 134 días después de ser cosechado, con un rango de 107 a 156 días, siendo los cocoteros altos más tardíos. Cercano al descrito anteriormente para el tipo "niu kafa" de 140 días en Jamaica.

Su crecimiento vegetativo es menos vigoroso que el tipo *niu vai*, ya que incrementa en altitud durante los primeros doce años de vida 38 a 45 cm por año. A los doce años de edad presenta un perímetro en la base del tallo (20 cm) de 150 cm, el cual es menor al tipo "*niu vai*;" Así como un perímetro a la altura del pecho (150 cm) de 85 cm, también menor al tipo "*niu vai*".

Su producción foliar es de 13.3 hojas por año, midiendo el pecíolo una longitud de 120 cm, con una lámina de 397 cm, con 120 folíolos y una longitud del folíolo central de 128 cm y un ancho del folíolo 6.8 cm.

En cuanto a la inflorescencia, esta es de 93 cm en promedio de largo, con 35 espiguillas. Emite 13.3 inflorescencias al año en promedio.

La duración de la fase masculina es de 20.6 días y la fase femenina de 4.7 días. Presenta un intervalo entre fases de 2.1 días, y no presenta traslape entre inflorescencias sucesivas.

Así en términos de su biología floral, al parecer este grupo es estrictamente de polinización cruzada, debido a que no se traslapan los ciclos femeninos y masculinos en ninguna inflorescencia o entre el ciclo femenino de una inflorescencia y el ciclo masculino de la siguiente inflorescencia. Sin embargo la autopolinización no puede ser excluida, ya que el modo de reproducción puede variar con ciertos límites dependiendo de las condiciones ecológicas pudiendo sobrelaparse las fases. Por tanto un bajo grado de autopolinización puede ocurrir.

El cocotero es una especie considerada tardía en germinación, pudiendo tardar más de 10 años. Sin embargo la fertilización, control de arvenses y a menudo el riego acortan significativamente el período de germinación. El grupo Africano presenta una amplia variación en cuanto a germinación, siendo más lento que el tipo *niu vai*. Tarda de 52 a 66 semanas para que se presenten las primeras flores. Además presenta una lenta maduración del fruto (423 días).

El número de racimos esta directamente relacionado con la producción foliar. Aunque este grupo de cocoteros producen menos racimos al año (de 13.2 a 13.3), en ellos se presenta mayor cantidad de flores femeninas por racimo (28) produciendo un promedio de 91.1 a 94.6 frutos por año. Pudiendo producir hasta 28 kgrs por año de copra.

Presenta un fruto oblongo, más largo que ancho, las tres huellas carpelares prominentes a todo lo largo del fruto y con apariencia angular. Con un peso entre 1.2 y 1.6 kg. Alto porcentaje de mesocarpo (al 60%); alto porcentaje de endocarpo o hueso entre 30 y 35 %; alto porcentaje de carne 40 y 45 % y bajo porcentaje de agua (entre 20 y 25 %). La semilla también es más larga que ancha y con una punta terminal.

GRUPO DEL GOLFO DE SIAM O MALAYO-TAHLANDES.

Este grupo de cocoteros se presenta distribuido en las costas del Golfo de Siam, Costas de Tailandia, Malasia y Viet Nam. Así mismo en las Islas Filipinas. Sus características más notables son un número reducido de frutos, gordos, casi esféricos.

Presentan un crecimiento rápido, emiten muchas hojas y racimos, pero pocas flores femeninas y poca cantidad de frutos por racimo.

En su fruto presenta bajo porcentaje de mesocarpo ((%), alta proporción de agua en la nuez (entre 30 y 35%); Bajo porcentaje de endocarpo en la nuez (entre 20 y 25%). Todas ellas características como del tipo *Niu vai*.

En cuanto a la composición de su endospermo, es notable la mayor cantidad de endospermo sólido por fruto (486 g). Bajo contenido de materia seca (54%), pero bajo contenido de aceite (67%) y proteína (16%).

Presenta una germinación a los 76 días con un rango de 44 a 107 días. Es el más precoz, con un incremento en altura anual de 55 cm. mayor al tipo "*niu kafa*". Presenta un perímetro en la base del tallo (20 cm) de 177 cm. mayor al tipo "*niu kafa*" Así como un perímetro del contorno del tallo a la altura del pecho de 100 cm.

Presenta una mayor producción foliar, de 13.8 hojas al año. El largo de pecíolo de su hoja central de 150 cm, con una mayor longitud de lámina, de 461 cm y mayor número de folíolos, 121, con una longitud del folíolo central de 135 cm y ancho del folíolo de 6.3 cm.

Emite un promedio de 15.7 inflorescencias al año, de una longitud promedio de 100 cm de longitud con 43 espiguillas. Presenta una duración la fase masculina de 22.4 días, y la fase femenina de 6.8 días, con un intervalo entre fases de 0.8 días. Además presenta una sobreposición en el 72 % del tiempo en que dos inflorescencias sucesivas pueden hibridizarse. Por tanto, este grupo de cocoteros son indirectamente autopolinizados, ya que si bien no se traslapan los ciclos femeninos y masculinos de una inflorescencia, es significativo el traslape entre flores femeninas y masculinas entre dos inflorescencias continuas.

El tiempo a floración es de 52 a 54 semanas, y entre el quinto o sexto año inicia la fructificación. Es el más rápido en maduración de fruto. Incluso bajo condiciones húmedas puede germinar en la palma.

Este grupo presenta un mayor número de racimos por año (15.7), pero significativamente menor número de flores femeninas por racimo (19) y un menor promedio de frutos al año (88.6). Por lo cual produce menor cantidad de copra por año, que el grupo africano (entre 25 y 29 kg).

GRUPO POLINESICO

El grupo Polinesico (Alto Renell; Alto Tahiti). Presenta como características más importantes el ser el más precoz, con un número alto de frutos grandes y gordos, composición buena, exelente productor de copra y agua.

Presenta una emisión foliar rápida, asociada con crecimiento longitudinal relativamente escaso y la composición de su fruto que es exelente. Sin embargo es el más heterogeneo de los cuatro grupos.

Tienen la misma proporción de mesocarpo que el tipo "*Niu vai*", pero proporciones intermedias de los componentes de la nuez asemejándose más al tipo *niu kafa* en cuato a componentes de la nuez. Presenta un combinación de caracteres cruzados: menor mesocarpo pero mejores rendimientos de copra, lo cual es signo de introgresión. Al igual que al presentar mayor variación.

En cuanto a composición de endospermo presenta una cantidad de endospermo sólido (435 g). Alto porcentaje de materia seca (58%) y valores intermedios de contenido de aceite (69%) y de proteínas (18%).

Presenta una tasa de germinación media, de 102 días y un rango de 70 a 140 días en Jamaica y 100 días en pormedio con un rango de 65 a 135 días en Costa de Marfil. Con un incremento en altura de 45 cm por año.

Presenta un perímetro en la base del tallo a los doce años de edad de 137 cm, menor a dos tipos anteriores, al igual que su perímetro del tallo a la altura del pecho que fué de 92 cm.

Presentó una producción foliar de 25.5 hojas por año. significativamente mayor a los dos tipos enteriores. Hoja central con peciolo de 138 cm de longuitud, con una lámina de 406 cm, de longuitud y 118 foliolos. El foliolo central con una longitud de 131 cm y 6.1 cm de ancho.

En cuanto a su inflorescencia, esta presenta una longitud promedio de 100 cm. con 45 espiguillas, número mayor a los grupos anteriores y emite 16 inflorescencias al año.

Presenta una duración de la fase masculina floral de 20.6 días y la femenina de 6.7 días, con un intervalo entre fases floral de 0.7 días produciendo un 78 por ciento de traslape entre los ciclos femenino y masculino, existiendo una alta probabilidad de autofecundarse. Así, al igual que el tipo "*niu vai*", son indirectamente autopolinizados, ya que si bien no se traslapan los ciclos femeninos y masculinos de una inflorescencia, es significativo el traslape entre flores femeninas y masculinas entre dos inflorescencias continuas.

Su precocidad de floración es rápida. Sin embargo en cuanto a velocidad de maduración es similar al tipo *niu kafa*, de 429 días.

Producen un mayor número de racimos por año (15.7 a 16.5). Los cuales presentan un número significativamente mayor de flores femeninas por racimo (36) y un mayor promedio de frutos al año (113.2). Puede producir de 29 a 31 kg de copra por año.

GRUPO MELANESICO

El grupo Melanésico; Gran Salomón, Gran Nueva Hébrides. Presenta como características más notables frutos oblongos de gran desarrollo longitudinal, a diferencia del Africano costillas son poco angulosas. Produce un alto número de racimos y nueces, relativamente pequeñas (190 g de copra por nuez). Con alto porcentaje de carne.

COCOTEROS ENANOS

Se han descrito tres tipos básicos de cocotero enano. La variedad *nana* predominantemente de colores rojo y verde (Rojo de Papua Nueva Guinea; Rojos y verdes de la India y Rojo de Rangiroa); La variedad *javanica* o enano malayos predominantemente amarillos aunque también rojos y verdes y la variedad *niu lenka*, la cual es muy diferente a los otros dos ya que se parece a las variedades altas en cuanto a la producción de pocos frutos grandes pero con tallo corto.

Las características más notables de los cocoteros enanos son: ausencia de ensanchamiento en la base del suelo, un tronco erecto corto y esbelto, con las cicatrices de las hojas muy cercanas, hojas cortas con menos de 100 folíolos insertados en el raquis de la hoja de un solo lado, pecíolo de color brillante similar al fruto, precoces a la floración, de 4 a 5 años, flores femeninas receptivas mientras que muchas de las flores masculinas están aún presentes en la misma inflorescencia, fruto de tamaño pequeño cuya forma tiende a ser esférica, no angulosa y de colores brillantes, amarillo, rojo o verde.

INTRODUCCION DEL COCOTERO A AMERICA Y MEXICO

A la llegada de los españoles existen reportes de su ausencia en las costas Atlánticas de América (Oviedo, 1535-36). Se conoce que hacia finales del siglo XV no existía cocotero en las costas occidentales de África. Localizándose las poblaciones más cercanas en la costa oriental de África, en Mozambique, de donde fue llevado a las Islas de Cabo Verde por los navegantes portugueses en la primera mitad del siglo XVI, difundiéndose a las costas continentales de África occidental (Harries, 1977; Richardson et al, 1978).

Los cocoteros fueron introducidos a las costas del Atlántico americano por los españoles hacia 1649 a Puerto Rico, Campeche y Veracruz. Por los portugueses a Brasil en años posteriores. Todos ellos procedentes de Cabo Verde. En las costas del Golfo de México se difundió en el siglo XVI de Campeche hacia Yucatán y en Veracruz en las riveras del río Papaloapan (Zizumbo *et al*, 1991).

Oviedo registró la presencia del cocotero en las costas del Pacífico de Panamá y Costa Rica, en 1514, reportando su introducción a Nicaragua. Existe un primer reporte del envío de semillas de cocotero de Panamá a Colima hacia 1539 (Bruman, 1945 y 1947).

Existen reportes precisos de una introducción de cocotero por parte de Alvaro de mendaña procedente de las Islas Salomón a Colima hacia 1569, presumiblemente de cocoteros de las islas Santiago, Guadalcanal o Santa Isabel, por donde pasó su viaje (Zizumbo, 1991).

Germoplasma de las Islas Filipinas fue introducido a Colima y Acapulco junto con población filipina y otras plantas durante la fase inicial del período en que funcionó la ruta comercial entre Filipinas y México (1573-1630). Ruta que además unió Acapulco con Panamá y Perú (Hernández, 1990; Zizumbo y Harries, 1990).

Así los antecedentes históricos plantean la posibilidad de que en México arribaran durante el Período Colonial temprano, los cuatro tipos de cocoteros altos existentes a nivel mundial y la posibilidad de introducciones e intercambios entre Panamá, México y el Perú.

EXPLORACION RECIENTE DE GERMOPLASMA EN MEXICO Y SU ESTUDIO

La exploración emprendida a partir de 1989 a la par del estudio sobre los componentes de fruto (Zizumbo, Hernández y Harries, 1991) y desarrollo vegetativo (Zizumbo y Arellano, 1991) mostraron la amplia variabilidad de las plantaciones de cocotero en México.

En las costas del Pacífico el Análisis de Componentes de Fruto nos indicó la existencia de tres grupos básicos que al parecer corresponden a los grupos Malayo-Tailandés; Melanésico; y Polinésico.

Un primer grupo constituido por palmas que presentan pocos frutos por racimo, frutos muy grandes (entre 1800 y 2150 g); casi esféricos; con un porcentaje de 38 a 40% de mesocarpo; muy alto contenido de agua, 34 y 35% ; bajo de endocarpo entre 22.8 y 23.7%; y entre 41.5 y 44.6% de carne. Presentan alta similitud al grupo Malayo-Tailandés, presumiblemente introducidas por la vía de Filipinas. Se encontró distribuido principalmente en el área de L. Cárdenas e Ixtapa Zihuatanejo, pero también existen plantaciones en Colima entre Tecomán y Manzanillo, y en Costa Chica en el área de Marquelia.

Un segundo grupo constituido por palmas que presentan mayor número de frutos sensiblemente más pequeños, entre 1450 y 1650 g. Más precoces de 90 a 94.5 días a germinación. redondos pero con punta terminal; con alto contenido de carne (44 a 46%) y agua. Presentando características similares al grupo Melanesico; a cocoteros tipo Rennel en el área de Colima y Tahití en el área de Costa Chica en Guerrero.

Un tercer grupo constituido por plantas que presentan un gran número de frutos por racimo, frutos pequeños, de forma oblonga, mas largos que anchos, con alta proporción de endospermo sólido en la semilla (46 a 52%). Intermedios en cuanto a germinación entre 97.2 y 104 días. Se encuentra principalmente en las costas de Colima-Michoacán, Cerro de Ortega-Coahuallana y norte de Nayarit. Presenta características del Grupo Polinésico.

Finalmente un cuarto grupo distribuido en las costas del Golfo. Cocoteros medianamente grandes de forma oblonga, alto contenido de mesocarpo, alto porcentaje de endocarpo, bajo contenido de agua.

En cuanto a los cocoteros enanos, solo tenemos reportes de su introducción en este siglo, sin embargo se tenía conocimiento de su existencia desde principios del siglo XVII en las Filipinas, llamados por los españoles "cocos de la India" (Hernández, 1959).

El primer reporte que poseo es su introducción a Colima en la decada de los 1950's específicamente en el valle de Tecomán. Posteriormente en los 60's una introducción de Jamaica en el mismo Valle. Aunque la primer introducción se supone que pudo provenir de la India, los cocoteros parecen corresponder a los Enanos Malayos Amarillos y Rojos; La segunda introducción fué documentada por Smith en 1970, como cocoteros Enanos Malayos Amarillos, Rojos y Verdes. Los primeros fueron utilizados como base para mejoramiento por Impulsora Guerrerense del cocotero en los años 70,s y por INIFAP en los años 80's, en la generación de híbridos.

Introducciones en 1977 por Impulsora Guerrerense del cocotero introdujo Enanos Malayos Amarillos al Médano, San Marcos Gro. en Costa Chica, así como Rojo Camerún en Petatlán, Costa Grande. De los primeros se establecieron huertas madres en Colima; Tabasco y Yucatán. Los segundos se perdieron.

Nuevas introducciones de cocoteros Enanos Malayos Amarillos, Verdes y Rojos, procedentes de Belize procedentes a su vez de Jamaica se establecieron en Tabasco. Con base en la semilla generada, en los 80's se establecieron plantaciones comerciales de cocotero enano en Yucatán y Quintana Roo.

EL GERMOPLASMA EN RELACION AL AMARILLAMIENTO LETAL

Las evaluaciones conducidas en Jamaica, revelaron el comportamiento diferencial del cocotero ante la enfermedad (Beenn, 1981). Los cocoteros Enanos Malayos como Enanos de la India presentaron niveles altos de

resistencia, mayor al 90 por ciento. No así los cocoteros enanos de Ramingiroa que fueron susceptibles.

Los cocoteros altos del grupo Malayo-tailandés presentaron niveles altos de resistencia, entre 60 y 80 por ciento de sobrevivencia.

Los cocoteros del grupo Melanésico presentaron niveles medianamente resistentes entre 40 y 52 % de sobrevivencia.

Los cocoteros del grupo polinésico fueron susceptibles sobreviviendo entre 22 y 32%.

Los cocoteros del grupo Africano presentaron niveles de alta susceptibilidad, muriendo ceca de 100 por ciento.

DISCUSION

Los estudios realizados indican que México posee una amplia diversidad de germoplasma, producto de introducciones antiguas y la hibridización e infiltración genética de formas contrastadas. Los cocoteros en las costas del Golfo corresponden al grupo Africano. En el Pacífico encontramos un enjambre conformado presumiblemente por cocoteros emparentados con los grupos Malayo- Tailandés; Melanesico y Polinesico. Así se espera que el impacto del Amarillamiento letal será diferencial entre ambas costas. En las costas del Golfo severa y en el Pacífico menor. Es de primordial importancia caracterizar a detalle la variación y evaluarla ante el amarillamiento letal, con la finalidad de estimar el impacto. Así mismo para que el amarillamiento letal seleccione material útil a replantación y mejoramiento genético.

BIBLIOGRAFIA

- Benn B.O. 1981. Observations on field resistance to lethal yellowing in coconut varieties and hybrids in Jamaica. *Oleagineux* 36:9-12.
- Bruman, H.J. 1945. Early culture in western Mexico. *Hispanic American History Review* 25:301-314.
- Bruman, H.J. 1947. Notes and comment a further note on coconuts in Colima. *Hispanic American History Review* 27:212-223
- Harries H.C. 1971. Coconut varieties in America. *Oleagineux* 26:235- 242.
- Harries C., H. 1977. The cape verde region (1499-1549); The key to coconut culture in the western hemisphere? *Turrialba* 27:227/231.
- Harries, H.C. 1978. The evolution, dissemination and classification of *Cocos nucifera* L. *The Botanical Review*. 44(3): 265-320.
- Harries H.C. 1981. Practical identification of coconut varieties. *Oleagineux* 36 (2): 65-72.
- Hernández F. de (1559). Historia natural de Nueva España. Vol I. UNAM México.

- Hernández R., F. 1990. Variabilidad de la palma de coco, *Cocos nucifera* L. en: M.L. Robert y D. Zizumbo V. (comp). La problemática del Amarillamiento Letal del cocotero en México. CICY. Mérida, México. pp. 123-140.
- M. de Nuccé de L y W. Wuidart. 1979. Les cocotiers grands a Port- Bouet (Cote d' Ivoire). Grand Ouest African, Grand de Mozambique, Grand de Polynesie, Grand de Malaisie. *Oleagineux* 34(7): 309-319.
- M. de Nuccé de L y W. Wuidart. 1981. Les cocotiers grands a Port-Bouet (Cote- d Ivory): Grand Rennell ; Grand Solomon; Grand Tahiland; Grand Nouvelles-Hébrides. *Oleagineux* 36 (7): 353-365.
- Oviedo y Valdés, Gonzalo Fernández de 1535-547) Historia general y Natural de la Indias. 4 Vol. Madrid. Real Academia de la Historia (1851-55).
- Richason D. L., H. Harries H. y E. Balseviscus. 1978. Variedades de cocotero en Costa Rica Turrialba 28:87-90.
- Smith R. N. 1970. México y Venezuela. in FAO. Coconut breeding. FAO, Roma. pp. 20-21.
- Zizumbo V., D. 1991. El cultivo del cocotero (*Cocos nucifera* L.) en el occidente de México. siglos XVI-XVII. *Geografía Agrícola* (en prensa).
- Zizumbo V. D., J. Arellano M. 1990. Establecimiento de un vivero de germoplasma de cocotero mexicano en Temozón Norte, Yucatán. Informe Técnico. CICY-CONAFRUT. (mimeo).
- Zizumbo V., y H. C. 1990. Harries. Variedades y disponibilidad de germoplasma en México. en: M.L. Robert y D. Zizumbo V. (comp). La problemática del Amarillamiento Letal en México. CICY. Mérida, México. pp 103-122.
- Zizumbo V., D., F. Hernández R. y H. C. Harries 1991. Coconut varietles in Mexico. *Economic Botany* (en prensa).

PALMAS SILVESTRES Y CULTIVADAS SUSCEPTIBLES AL AMARILLAMIENTO LETAL

Roger Orellana

Departamento de Recursos Naturales, División de Biología Vegetal, Centro de Investigación Científica de Yucatán, Apdo. Postal 87, 97310, Cordemex, Yucatán, MEXICO

De acuerdo con Uhl y Dransfield (1987) y Dahlgren Clifford y Yeo (1985), las palmas constituyen una familia con cerca de 2800 especies, representadas en 15 alianzas y 212 géneros. La alianza Arecoideae es la que contiene la mayor cantidad de especies (ver tabla 1). En México, se han determinado a la fecha (Quero 1989), 81 especies (Tabla 2). Sin embargo, considerando que el género *Chamaedorea* posee una gran riqueza de especies, se ha calculado que esta familia tal vez representa 100 especies. Colombia es probablemente (Galeano, 1991), el país del mundo que tiene la mayor cantidad de especies.

La distribución de las palmas corresponde principalmente a las zona intertropical, aunque *Chamaerops humilis* se desarrolla en el matorral mediterráneo del sur de Europa y *Washingtonia robusta* crece a 33 grados de latitud en California. En el hemisferio sur, *Jubaea chilensis* (Endt, 1991) se desarrolla en territorio chileno. En términos generales, se puede afirmar (Orellana, 1991) que existen dos grandes grupos ecológicos de palmeras:

1. El primer grupo corresponde a aquellas palmeras que son poco resistentes a las perturbaciones, con habitat restringido y de crecimiento lento.
2. El segundo grupo es el de las palmas cuyo desarrollo y distribución se ve favorecido por perturbaciones como la apertura de claros, desmontes e incendios. Estas palmas, tienen una mayor plasticidad genética respecto a las anteriores por lo que obviamente, en la actualidad muestran una mayor expansión.
3. Entre ambos grupos, existen especies de palmas con hábitos de transición, que pueden ser medianamente resistentes a las perturbaciones o que

se desarrollan en algunas etapas de su ciclo de vida en condiciones de estabilidad ecológica y posteriormente ser capaces de soportar rigores ambientales.

Debido a la enorme variedad de formas de vida que presentan las palmas, no existe un carácter único de diagnóstico que las pueda agrupar. La tabla 3 presenta las principales características que guardan en común las palmas.

PALMAS CULTIVADAS EN EL MUNDO

Se puede afirmar que después de las gramíneas, las palmas es el siguiente grupo de monocotiledóneas en importancia económica. Los usos que se les dan a las palmas son muy variados, como pueden ser los siguientes:

Fibras textiles

Materiales de construcción y mobiliario

Alimentos y bebidas

Ornamentales

La tabla 3 presenta las especies de palmas utilizadas en México y la Tabla 4 algunos ejemplos de especies utilizadas en el mundo. En algunas regiones del mundo, las palmas constituyen la base de la economía, debido a que su cultivo está encaminado a la producción de algún recurso en particular.

Como fruto de la importancia económica de algunas especies de palmas, desde hace varios siglos, ciertas especies han sido exportadas y cultivadas de unas regiones a otras partes del mundo. Es así que gran cantidad de especies de palmas del Sureste asiático, África y Madagascar, han sido llevadas a Europa y América. Algunas palmas, aunque sean exóticas, representan una importantísima fuente de ingresos y de trabajo. Este es el caso del *Cocos nucifera* o *Elaeis guineensis*. También existen palmas que no han sido exportadas de sus sitios de origen, pero que allí son ampliamente manejadas y explotadas; tal es el caso del rattan *Calamus*.

En el grupo de las palmas que han sido exportadas de sus sitios de origen, hacia diversos puntos del planeta, están las ornamentales. Estas plantas han sido seleccionadas por su relativamente fácil propagación, su valor estético y muchas veces su amplia resistencia a otras condiciones ecológicas distintas a las de sus habitats. Para ejemplificar lo anterior, en la tabla 5 se presentan algunos géneros de palmas no nativas de México y que se tienen como cultivadas para fines comerciales. En la misma tabla, también se presentan algunas palmas nativas de México, que son cultivadas con fines ornamentales.

Una característica importante de considerar en las palmas cultivadas, es que muchas veces se obtienen nuevos individuos a partir de semillas de pocos ejemplares cultivados adultos. Esto, a la larga ha favorecido el que se cuente con

una restringida variabilidad genética, lo que ocasiona que se tengan en viveros colecciones relativamente homogéneas. Lo anterior ha traído como consecuencia negativa, que en el momento que aparezca alguna plaga que afecte a determinada especie, puede menoscabar considerablemente a los individuos. Aún más, algunas especies pueden funcionar como reservorios de algunas enfermedades. Este es el caso del amarillamiento letal, enfermedad ocasionada por un micoplasma.

ESPECIES DE PALMAS RESISTENTES Y SENSIBLES AL AMARILLAMIENTO LETAL

Ante la presencia del amarillamiento letal del cocotero en algunas zonas donde esta enfermedad ha hecho estragos, algunos estudiosos se han hecho las siguientes preguntas:

¿Cuáles son las palmas sensibles al amarillamiento letal?

¿Cuáles son las palmas que pueden servir como reservorios de la enfermedad?

¿Cuáles son las palmas resistentes al amarillamiento letal?

¿Cuáles son las palmas nativas en una zona, resistentes y sensibles ?

¿Cuáles son las palmas exóticas, introducidas sensibles y resistentes ?

Desafortunadamente, a la fecha, se ha realizado un pobre monitoreo sobre los grados de sensibilidad de esta enfermedad sobre las palmas. Howard y Mc Coy (1980), Mc Coy *et al* (1983) Mc Coy y Gwin (1977), han detectado en diversas especies de palmas la resistencia o sensibilidad al amarillamiento letal. La tabla 5 presenta las pocas especies estudiadas por dichos autores. En esta, se presentan los diversos grados de sensibilidad que oponen las especies analizadas. Estas han sido estudiadas casi exclusivamente en Miami, Florida; la mayor parte de las especies sensibles son las palmas de origen asiático. Esto no quiere decir que las especies americanas no sean sensibles, sino que estas aún no han sido analizadas. De la lista, la única especie americana que ha resultado sensible es *Gaussia attenuata*.

CONCLUSIONES

A partir de los datos analizados anteriormente, es importante mencionar que para prevenir o controlar el amarillamiento letal del cocotero deben tomarse las siguientes medidas:

1. Llevar un riguroso control de las palmas exóticas cultivadas que presenten sensibilidad al amarillamiento letal, ya que pueden funcionar como reservorios de la enfermedad.

2. Ampliar la lista de especies exóticas y nativas de cada región analizadas en cuanto a su grado de sensibilidad al amarillamiento letal.

3. Dar preferencia al conocimiento, manejo y uso de las especies nativas de cada región.

BIBLIOGRAFIA.

- Dahlgren R. M., H. T. Clifpord and P.F. Yoe, 1985. The families of the monocotyledons, Springer-Verlag, Berlin 520 p.
- Endt, D. 1991. The native palms of Chile: a rare opportunity to visit the private Hacienda, Las Palmas Cocalan. Principes 35 (1): 19-21.
- Galeano Gloria G. 1991. Patrones de distribución de las palmas de Colombia. Simposio Las palmeras en los Bosques tropicales. Iquitos, Perú. (en prensa)
- Howard, F.W., R. E. Mc Coy 1980. Reduction in spread of Mycoplasma like organism associated Lethal decline of the palm *Veitchia merrillii* by use of insecticides. J. Econ. Entomol. 73: 268- 270.
- Mc Coy, R. E., F.W. Howard, J.H. Tsai, H.M. Donselman, D.L. Thomas, H.G. Basham, R.A. Atilano, F. M. Escafi, L. Britt, M.E. Collins. 1983. Lethal yellowing of palms. Gainesville, Agricultural Experimental Station 100 p. Bulletin 834.
- Mc Coy, R. E., G.H. Gwin. 1977. Response of mycoplasma like organism infected *Pritchardia*, *Tracycarpus* and *Veitchia* palms to oxytetracycline. Plant. Dist. Repr. 61: 154- 158.
- Mc Currach, J. 1960. Palms of the World. Harper & Brothers, New York. 290 pp.
- Orellana R. 1991. Síndromes morfológicos y funcionales de palmas de la Península de Yucatán. Simposio Las Palmeras en los bosques tropicales. Iquitos, Perú. (en prensa)
- Quero, R. H.J. 1989. Flora genérica de arecáceas de México. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias, UNAM, México. 142 p.
- Uhl, N. y J. Dransfield. 1987. Genera Palmarum. Allen Press, Lawrence, Kansas. 610 pp.

Tabla 1. Reparto taxonómico de subfamilias, géneros y especies de la familia Arecaceae

GRUPO	Nº GENEROS	Nº ESPECIE
CORYPHOIDE	32	322
PHOENICOIDE	1	17
BORASSOIDE	6	56
LEPIDOCARYOIDE	22	644
NYPOIDE	1	1
CARYOTOIDE	3	35
PSEUDOPHOENICOIDE	1	4
CEROXYLOIDE	4	30
CHAMAEDOROIDE	6	146
IRIARTEOIDE	8	52
PODOCOCCHOIDE	1	2
ARECOIDE	88	760
COCOSOIDE	28	583
GEONOMOIDE	6	92
PHYTELEPHANTOIDE	4	15
TOTAL	212	2779

Tabla 2. Géneros y especies de palmas nativas de México.

GENERO	Nº especies
Acoelorrhaphe	1
Acrocomia	1
Astrocaryum	1
Bactris	5
Brahea	5
Chamaedorea	29
Coccothrinax	1
Cryosphila	2
Desmoncus	3
Erythea	8
Gaussia	2
Geonoma	1
Orbignya	2
Pseudophoenix	1
Reinhardtia	2
Roystonea	2
Sabal	8
Scheelea	3
Synecanthus	1
Thrinax	1
Washingtonia	2
TOTAL	81

Tabla 3. Principales características de diagnóstico de las palmas.

ESTRUCTURA		CARACTERISTICAS
TALLOS Y RAMIFICACION		MONOPODICO Y SOLITARIO
RAICES		FIBROSAS
HOJAS		PALMADAS, PINADAS
ARMADURA		INERMES O ESPINOSAS
INFLORESCENCIAS		
posición		intrafoliar, infrafoliar, suprafoliar
sexualidad		bisexuadas, dioicas y monoicas y hermafroditas
flor		bisexuadas, unisexuadas
FRUTOS		
dimensiones		5 - 300 mm, mg- 20 kg
pulpa		carnosa- fibrosa
coloración		vistosos (rojos) a pardos
SEMILLAS		
contenido		rico en aceites, almidones
embrión		cónico y pequeño.
NUMERO CROMOSOMICO		n = 13 - 18 + +
ANATOMIA		
tallo		sin crecimiento secundario, con epidermis y peridermis
raíz		corteza, estela poliarco
hoja		epidermis adaxial, cutícula gruesa, indumento, venación paralela

Tabla 4. Lista de géneros nativos e introducidos

NATIVAS CULTIVADAS	INTRODUCIDAS CULTIVADAS
Acoelorrhaphe	Aiphanes
Brahea	Archontophoenix
Coccothrinax	Areca
Chamaedorea	Arecastrum
Pseudophoenix	Asterogyne
Reinhardtia	Borassus
Roytonea	Caryota
Sabal	Copernicia
	Chrysalidocarpus
	Cocos
	Elaeis
	Hyophorbe
	Licuala
	Livistona
	Manicaria
	Mascarena
	Phoenix
	Pritchardia
	Rhapis
	Trachycarpus
	Veitchia

Tabla 5. Diversas especies de palmas con sus usos.

Acrocomia mexicana
Brahea dulcis
Chamaedorea tepejilote
Erythea edulis
Sabal mexicana
Sheelea liebmanii

ESPECIES DE PALMAS NATIVAS ALIMENTICIAS

Brahea dulcis
Brahea decumbens
Brahea nitida
Brahea moorei
Coccothrinax readii
Cryosphila argentea
Erythea pimo
Erythea salvadorensis
Sabal mexicana
Sabal yapa
Thrinax radiata
Washingtonia robusta

ESPECIES UTILIZADAS EN LA CONSTRUCCIÓN Y EXTRACCIÓN DE FIBRAS

Acrocomia mexicana
Orbignya cohune
Orbignya guacuyule
Sheelea liebmanii

PRODUCTORAS DE ACEITES

Acoelorrhaphe wrightii
Chamaedorea spp.
Coccothrinax readii
Geonoma oxycarpa
Orbignya cohune
Orbignya guacuyule
Pseudophoenix sargentii
Reinhardtia gracilis
Reinhardtia elegans
Roystonea dunlapiana
Roystonea regia
Sabal mexicana
Sabal yapa
Sheelea liebmanii
Synecanthus fibrosus
Thrinax radiata
Washingtonia filifera
Washingtonia robusta

Tabla 6. Grados de sensibilidad al amarillamiento letal, presentados por diversas especies de palmas.

*** muy sensible

Especies	cultivada en México
<i>Arenga engleri</i>	-
<i>Cocos nucifera</i>	+
<i>Corypha elata</i>	+
<i>Phoenix dactylifera</i>	+
<i>Pritchardia affinis</i>	+
<i>Pritchardia pacifica</i>	+
<i>Pritchardia thurstonii</i>	+

** moderadamente sensible

<i>Arikuryoba schizophylla</i>	-
<i>Borassus flabellifer</i>	-
<i>Caryota mitis</i>	+
<i>Dictyosperma album</i>	-
<i>Hyophorbe verschaffeltii</i>	+
(<i>Mascarena</i>)	
<i>Latania spp.</i>	-
<i>Phoenix canariensis</i>	+
<i>Veitchia merrillii</i>	+

* ligeramente sensible

<i>Chrisalydocarpus cabadae</i>	+
<i>Phoenix reclinata</i>	+
<i>Veitchia sp</i>	+

Especies de palmas sensibles al amarillamiento letal.

sensibles pero escasamente cultivadas

<i>Aiphanes lindeniana</i>	+
<i>Allagoptera arenaria</i>	-
<i>Gaussia attenuata</i>	-
<i>Howea belmoreana</i>	+
<i>Livistona chinensis</i>	+
<i>Nannorrhops ritchiana</i>	-
<i>Neodypsis decaryi</i>	-
<i>Ravenea hildebrandti</i>	-

letal

Tabla 7. Especies aparentemente no relacionadas con el amarillamiento

ESPECIE	NATIVA	INTRODUCIDA
<i>Acoelorrhaphe wrightii</i>	+	
<i>Arecastrum romanzoffianum</i>		+
<i>Chrysalidocarpus lutescens</i>		+
<i>Elaeis guineensis</i>		+
<i>Roystonea regia</i>	+	
<i>Thrinax radiata</i>	+	
<i>Washingtonia filifera</i>	+	
<i>Washingtonia robusta</i>	+	

ESTUDIOS PRELIMINARES SOBRE EL CULTIVO DE TEJIDOS PARA PROPAGACION VEGETATIVA DE *Cocos nucifera* EN CICY

Luis Cuauhtémoc Navarro-Mastache, Carlos Talavera y José Luis Chan

División de Biología Vegetal, Centro de Investigación Científica de Yucatán, Apdo Postal 87, 97310 Cordemex, Yucatán, MEXICO

Introducción

El cultivo de tejidos de *Cocos nucifera* fue iniciado hace mas de dos décadas (Blake, 1990), al comenzar la búsqueda de sistemas eficientes de propagación vegetativa de palmas de coco, que permitieran multiplicar rapidamente plantas "elite" seleccionadas por su superioridad agronómica. Hoy en día, los esfuerzos de los equipos pioneros en este trabajo (Wye College en Inglaterra por J. Blake e IRHO/CIRAD en Francia por Y. Duval y C. Pennetier principalmente) dejan ver que esta especie ofrece grandes problemas a la regeneración sostenida de plantas *in vitro*.

Entre otras causas, la dificultad que tienen los laboratorios europeos para abastecerse de material vegetal fresco en cantidades suficientes de las variedades requeridas es en parte responsable de la lentitud con la que han avanzado estas investigaciones. Por otro lado, el porte natural de las palmas y la localización en éstas de las partes vegetativas que serán cultivadas *in vitro*, hacen laboriosa y lenta la toma de muestras cuyo metabolismo cambia al ser extraídas por lo que no siempre mantienen características deseables después de un viaje trasatlántico.

En vista de este tipo de contratiempo y de la importancia de los estudios que sobre el amarillamiento letal se han venido realizando en CICY (Robert y Zizumbo, 1990), se ha establecido un estrecho vínculo de cooperación científica entre "Unit for Advanced Micropropagation Systems" en Wye Colege

(Universidad de Londres) y el Laboratorio de Propagación Clonal en CICY, cuyo objetivo es profundizar en los estudios sobre propagación clonal *in vitro* de palmas "elite" de *C. nucifera* resistentes a enfermedades.

Antecedentes

El estado del arte en la propagación clonal de palmas de coco en Wye College es el siguiente (Blake, 1991).

Los primeros trabajos en este laboratorio desembocaron en la formulación de un medio de cultivo utilizado ahora universalmente en el cultivo *in vitro* de *C. nucifera*, Y3 (Eeuwens, 1976), basado en el de Murashige y Skoog (1962) (MS), aunque con modificaciones en la composición de microelementos. El tejido o "explante" que se ha cultivado mas comunmente es tomado de las inflorescencias inmaduras de palmas de la var. Enano Malayo proveniente de Filipinas y México. Estas son inicialmente cultivadas con altos niveles de 2,4-D, sustancia reguladora del crecimiento o fitohormona que induce la desdiferenciación de los tejidos, los cuales producen mas tarde una masa vegetal con crecimiento desorganizado llamado "calloide". Al resembrar este tipo de tejido en medios de cultivo con niveles inferiores de auxina, han podido obtenerse algunos embriones somáticos que alcanzan en algunos casos el estado de plántula, pero cuya aclimatación ha resultado ser bastante infructuosa. A partir del calloide, otras estructuras han sido obtenidas; así, se ha encontrado raíces, hojas anormales e incluso tejido similar a aquel presente en el haustorio de los embriones cigóticos. Este calloide, al pasar por una secuencia de resiembras similar a la anterior aunque con concentraciones iniciales de 2,4-D mucho mayores, ha podido ser reorientado hacia la formación de embriones somáticos.

Actualmente, el trabajo en Wye College está dirigido hacia el mejor entendimiento de los factores que controlan el proceso de embriogénesis somática en *C. nucifera*.

Resultados preliminares en CICY

Desde el inicio de la colaboración con Wye College (Julio 1991), se ha emprendido en el Laboratorio de Propagación Clonal del CICY, una gran actividad de recolección en zonas no afectadas por amarillamiento letal de materiales vegetales para su introducción *in vitro*. Estos son: a) semillas para la extracción de **embriones cigóticos**, b) plantas jóvenes donadoras de **tejido meristemático** y c) semillas para siembra en vivero y obtención de plántulas.

Los **embriones cigóticos** son extraídos de las semillas y cultivados *in vitro* con dos fines principales: 1) la inducción de callos o calloides para la obtención de embriogénesis somática y 2) la obtención de plántulas. En el primer caso se está observando los efectos de la adición de diferentes auxinas (2,4-D, AIA, ANA) combinados a diferentes concentraciones de 6-BAP. Los rangos a los cuales se prueban estos reguladores del crecimiento van de 0 a 10 mg l⁻¹ para las auxinas y de 0 a 50 mg l⁻¹ para la citocinina. Se han obtenido diferentes patrones de germinación con 2,4-D y ANA al ser combinados con

concentraciones bajas de 6-BAP. En los diferentes tratamientos, se observa en ocasiones el desarrollo de abundantes raíces, haustorio, parte aérea e incluso embrioides. Hasta ahora, estos resultados son en CICY, los mas cercanos a la obtención de un método de propagación por embriogénesis, aunque su frecuencia es muy baja. En el segundo punto, se intenta el desarrollo de un método que permita la germinación *in vitro* de embriones cigóticos para su posterior adaptación en invernadero y vivero. El dominio de este tipo de tecnología, garantizaría a los programas internacionales de intercambio de germoplasma, que el material pueda ser trasladado en condiciones de asepsia (*in vitro*), para ser adaptado a otras localidades después de haber cumplido con los requisitos de cuarentena.

Las plantas jóvenes son utilizadas como fuente de **tejido meristemático** para su cultivo *in vitro* y regeneración de plantas via **organogénesis** y **embriogénesis**. El cultivo de ápices ha resultado tener grandes problemas por contaminaciones bacterianas, que han sido resueltos parcialmente a través de: a) la realización de antibiogramas que permitan identificar antibióticos eficaces y b) la revisión cuidadosa de los protocolos de esterilización. Los tejidos meristemáticos se han cultivado en presencia de 2,4-D (2 y 4 mg l⁻¹) y de 6-BAP (5 a 40 mg l⁻¹). Ciertas reacciones efímeras se han obtenido con estos tejidos, los cuales desarrollan inicialmente una masa de tejido organizado que evoluciona en un microcallo de aspecto blanco y compacto que se necrosa rápidamente. Estas observaciones sugieren que la frecuencia de resiembras debe ser cuidadosamente estudiada a fin de prolongar la reacción de crecimiento hasta el establecimiento de callos embriogénicos.

Conclusión

Aunque no se ha tratado con detalle, se ha dado un panorama de los resultados mas recientes en el cultivo de tejidos de *C. nucifera* en CICY. A pesar del poco tiempo que tiene de haberse iniciado este proyecto, los resultados son alentadores. No obstante una gran parte de tiempo y esfuerzos ha sido invertida en la localización y recolección de material vegetal.

La selección del material vegetal utilizado es de gran importancia pues de esto depende el éxito de la propagación clonal *in vitro*. En el supuesto de que se obtenga un método de propagación eficaz, debemos saber que éste producirá plantas clonales respecto al material "elite" seleccionado en campo solamente si el explante inicial proviene de un tejido del soma de la planta donadora. Desde este punto de vista los tejidos mas adecuados son del tipo de ápices, inflorescencias, etc. Los embriones cigóticos resultan de utilidad en este contexto, en el caso de variedades homocigas o de semillas híbridas obtenidas por polinización controlada. Por lo anterior, el trabajo de campo y el de laboratorio deben permanecer en constante retroalimentación.

Referencias

- Blake, J.1990. Plant tissue culture as an alternative technology in coconut propagation. In: (M.L. Robert y D. Zizumbo, comps.), la problemática del amarillamiento letal del cocotero en México. CICY, A.C. pp. 141-148. ISBN 968-6532-00-5.
- Blake, J.1991. Current status of coconut tissue culture in the United Kingdom. Prox. publ.
- Eeuwens, C.J.1967. Mineral requirements for growth and callus initiation of tissue explants excised from mature coconut palms (*Cocos nucifera*) and cultured *in vitro*. *Physiologia Plantarum* 36:23-28.
- Murashige, T. and F. Skoog.1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15:473-497.
- Pannetier, C. and J. Buffard-Morel.1986. Coconut palm (*Cocos nucifera* L.). In: (Y.P.S. Baja], ed.), *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, vol. 1, Trees. Springer-Verlag, Berlin, pp. 430-450.
- Robert, M.L. y D. Zizumbo.1990. La problemática del amarillamiento letal del cocotero en México. CICY, A.C. Mérida, Yuc. 197 p. ISBN 968-6532-00-5. Estudios preliminares sobre el cultivo de tejidos para propagación vegetativa de *Cocos nucifera* en CICY.

GUIA PARA EL RECORRIDO POR LAS PLANTACIONES DE COCOTERO DE LA COSTA NORTE DE LA PENINSULA DE YUCATAN

COORDINADOR: José Arellano Morín

GUIAS: ¹José Arellano, ¹Armando Escamilla, ¹Daniel Zizumbo, ¹Roger Orellana, ²Jaime Piña y ³Juan Villanueva.

¹Centro de Investigación Científica de Yucatán; ²CIFAP-Quintana Roo, ³INIFAP-Veracruz

INTRODUCCION

Hasta 1987, cuando se detectó la presencia del amarillamiento letal en la franja costera del norte del estado de Yucatán, había una zona que se extendía entre la población de El Cuyo por el oriente, hasta Progreso en el poniente, en la que se localizaban importantes plantaciones de cocotero (Carrillo y Piña, 1990). Cuatro años después de haberse efectuado el diagnóstico de esta enfermedad, los efectos del ataque del amarillamiento letal pueden ser evaluados.

El recorrido que se efectuará en el área afectada por la enfermedad del amarillamiento letal del cocotero, situada en la franja costera del norte de la Península de Yucatán, tiene los siguientes objetivos:

1) Identificar los síntomas que muestran las palmas atacadas por amarillamiento letal, para poder diferenciarla de otras enfermedades.

2) Aplicar distintas técnicas de diagnóstico para la detección de palmas enfermas.

3) Observar el comportamiento por saltos del avance de la enfermedad.

4) Mostrar los efectos diferenciales del ataque de esta enfermedad sobre distintas variantes de cocotero.

5) Visitar la colección de germoplasma de cocotero, así como las plantaciones experimentales que el CICY ha establecido para conocer el grado de resistencia de las distintas variantes disponibles en México.

6) Conocer otras especies de palmas susceptibles al amarillamiento letal.

7) Conocer las métodos empleados para la toma y la conservación de muestras de palmas.

8) Conocer las técnicas de estudio del vector que transmite el amarillamiento letal.

Para cumplir con estos propósitos se ha elaborado la guía para el recorrido de campo, que contiene la información geográfica, ecológica, agronómica y fitosanitaria de mayor relevancia para los propósitos de este curso-taller sobre amarillamiento letal.

DESCRIPCION GENERAL DEL AREA

La franja costera del norte de la península de Yucatán corresponde a una extensa y sólida masa de material calcáreo de origen orgánico, emergida sobre el nivel del mar (Zizumbo, 1991). Desde el punto de vista fisiográfico, esta región corresponde a una planicie, que se extiende con una pendiente suave de norte a sur, entre la sierrita de Ticul y el Golfo de México, elevándose unos cuantos metros del nivel del mar (López Ramos, 1983).

En esta porción de la península no existen ríos, dada la ausencia de un relieve contrastado y la presencia de agrietamientos en la corteza litificada, que contrastan con los muy voluminosos y frecuentes acuíferos subterráneos (Zizumbo, 1991). El manto freático oscila entre los 45 cm y 2 m de profundidad (Espejel, 1984).

En la costa norte de Yucatán existen una serie de penilagunas o esteros en cuyos márgenes se encuentran largos cordones de dunas hacia la costa y tierra adentro, extensos manglares. Las playas de la costa generalmente son largas, de arena fina y blanca; rara vez son rocosas y nunca forman bahías (Espejel, 1984).

En los sitios de dunas, se presentan suelos de tipo Regosol (de acuerdo con la clasificación de suelos de la FAO), que se caracterizan por no presentar

horizontes o capas bien definidas y a que su constitución es en su mayor parte de arena y pedacera de conchas, con muy poca materia orgánica. En las ciénegas se presentan suelos de tipo Solonchac, que presentan un horizonte sálico de más de 50 cms de profundidad y que se encuentran inundados la mayor parte del año. También pueden encontrarse algunas extensiones de histosoles, constituidos por una capa superficial de hojarasca y materia orgánica.

El clima de la franja costera es cálido seco, con temperaturas medias anuales de 24.5° C y con volúmenes de precipitación menores a los 600 mm (Zizumbo, 1991). Entre las localidades de Talchac Puerto y Progreso el clima corresponde al tipo BSo(h')w''(x')i, de Koeppen, modificado por García (Espejel, 1984).

La vegetación de la zona de dunas es muy variada. Está compuesta por aproximadamente 226 especies de angiospermas, 6 de hongos, 17 de líquenes y 1 de mixomicetos. Las especies más abundantes pertenecen a las familias de las gramíneas, compuestas, leguminosas, euforbiáceas y cactáceas. Se encuentra en buen estado de conservación en algunos sitios, pero en su mayor parte ha sido reemplazada por cocales, zonas urbanas y recreativas, explotaciones salineras y puertos de abrigo (Espejel, 1984).

INTINERARIO PARA EL RECORRIDO

Instalaciones del Centro de Investigación Científica de Yucatán.

ENTRONQUE CON LA CARRETERA A PROGRESO. Bodegas de la compañía Hilos y Fibras Vegetales de Yucatán. La explotación del henequén (*Agave fourcroides*) con fines de extracción de fibras vegetales se desarrolló durante el siglo pasado y tuvo su auge a principios del presente siglo, hasta que el descubrimiento de las fibras sintéticas desplazó a las fibras naturales. A los lados de la carretera se observan abundantes cultivos de henequén.

PERIFERICO. En este punto se deja la carretera a Progreso y se toma la desviación hacia Cancún.

ENTRONQUE A TEMOZON NORTE. Se observan algunos manchones de la selva baja caducifolia, que es el tipo de vegetación que se encontraba establecido en esta zona en la que se presenta un clima Awo, sobre suelos jóvenes con alta pedregosidad y con grandes afloramientos de roca caliza. Esta es una comunidad arbórea densa, de entre 8 y 12 m de altura, compuesta principalmente por *Jatropha gaumeri*, *Metopium brownei*, *Alvaradoa amorphoides*, *Bursera simaruba*, *Bumelia retusa*, *Mimosa bahamensis*, *Bahinia divaricata*, *Caesalpinia gaumeri*, *C. yucatanensis*, *Gymnopodium floribundum*, *Neomillspaughia emarginata*, *Guazuma ulmifolia*, *Pseudobombax ellipticum*, *Geiba aesculifolia*, *Dyospiros cuneata*, *Hampea trilobata* y *Plumeria obtusa*.

TEMOZON NORTE. Casco de una antigua hacienda henequenera, que actualmente alberga a las instalaciones del Centro Regional Península de Yucatán de la Universidad Autónoma de Chapingo (CRUPY). En este sitio se

encuentra depositada una parte de la colección de germoplasma de cocotero, que sirve de base para los estudios que se realizan en CICY, sobre caracterización y evaluación de resistencia de los distintos genotipos disponibles a México, con relación a la enfermedad del amarillamiento letal. Las plantas que conforman esta colección corresponden a 19 poblaciones que fueron colectadas en distintas localidades de los estados de Nayarit (2 colectas), Jalisco (2 colectas), Colima (6 colectas), Michoacán (3 colectas), Guerrero (4 colectas) y Campeche (2 colectas). Se efectuó un estudio del comportamiento germinativo de las 3200 nueces que se sembraron en los semilleros. Posteriormente se trasplantaron a bolsas de plástico, en donde se regaron y deshierbaron periódicamente. Se han efectuado también evaluaciones de su crecimiento, tomando en consideración los siguientes parámetros: altura total de la planta; edad de la planta; número de hojas desplegadas; diámetro de la base del tallo; y color del pecíolo. Para el registro de la información y su incorporación a la base de datos de la colección de germoplasma de cocotero se tomó como base el número de acceso de cada planta, que consta de una abreviación del estado del que procede, un número que indica la localidad y el número progresivo de acuerdo a la colecta.

PROGRESO. Importante población en la que se encuentra instalado el Puerto de Altura de Yucalpetén.

CHIXCHULUB. Se hará una parada para observar algunas palmas de cocotero que se encuentran sembradas en la plaza principal de la población, que ya han sido afectadas por el amarillamiento letal. En este sitio se han efectuado monitoreos de la enfermedad mediante la aplicación de antibióticos. También se observarán los efectos de esta enfermedad sobre otras especies de palmas, como en el caso de *Pritchardia maritima*, que se cultiva con fines ornamentales.

UAYMITUN. En esta localidad también se observan plantaciones severamente afectadas por el amarillamiento letal del cocotero. Se efectuará una parada para observar la vegetación de dunas costeras, dentro de la que destacan algunas de las especies de palmas que crecen silvestres en estas áreas, como son *Coccothrinax readdi* y *Thrinax radiata*.

SAN BENITO. Plantaciones de la variedad regional de cocotero 'Alto del Atlántico' atacadas severamente por amarillamiento letal. Se hará una demostración de la escala que se emplea para evaluar el grado de ataque de la enfermedad. Se hará una demostración del uso del porómetro como indicador de la presencia del amarillamiento letal y también se mostrará el procedimiento para la aplicación de antibióticos como método para el diagnóstico de la enfermedad. Finalmente se darán las instrucciones para la toma y conservación de muestras con fines de diagnóstico del amarillamiento letal. Sobre la costa se puede observar el desarrollo de las áreas urbanizadas, como apoyo al turismo.

XTAMP'J. Instalaciones turísticas del Hotel Paraíso Maya. En esta zona se desarrolla la vegetación de dunas costeras, en los terrenos que se ubican entre la ciénega y la costa. Esta es una comunidad herbácea o arbustiva, compuesta por especies de afinidad halófila, con capacidad para resistir las altas concentraciones de sales contenidas en el suelo. Este tipo de vegetación comúnmente se presenta en un patrón de dos zonas, una está constituida por las especies pioneras que se establecen en la playa y la otra por las especies de

los matorrales. Este tipo de vegetación está compuesto por hasta 238 especies, lo cual constituye un reflejo de las condiciones climáticas, la interacción con las comunidades del manglar y de las selvas adyacentes, así como por las relaciones fitogeográficas con las Antillas y Florida. Entre las especies pioneras que crecen sobre la arena móvil, la salinidad extrema, la fuerza del viento y el movimiento constante de la arena y del agua de mar por la marea, ejercen una fuerte presión de selección hacia la succulencia, follaje denso y el hábito prostrado. Algunas de las especies típicas de esta zona de dunas son: *Sesuvium portulacastrum*, *Suaeda linearis*, *Ageratum littorale*, *Portulacca oleracea*, *Lycium carolinianum*, *Tribulus cistoides*, *Canavalia rosea*, *Euphorbia buxifolia*, *Cakile lanceolata*, *Atriplex canescens*, *Ipomoea pes-caprae*, *Sporobolus virginicus*, *Distichlis spicata*, *Ambrosia hispida* y *Lipia reptans*. En los matorrales, las especies se distribuyen de acuerdo a las condiciones de humedad, desarrollo del suelo, disponibilidad de propágulos y exposición. De acuerdo con la estructura del matorral, pueden diferenciarse dos fases: la primera fase se establece al frente de la duna y constituye una barrera de arbustos que actúan como rompevientos, con plantas de tipo suculento y de follaje denso, como son *Suriana maritima*, *Tournefortia gnaphalodes* y *Scaevola plumeri*. La siguiente fase se presenta al interior de la duna, bajo condiciones ambientales más estables. Entre las especies de la vegetación de matorral se encuentran: *Bravaisia tubiflora*, *Thevetia gaumeri*, *Acanthocereus pentagonus*, *Thrinax radiata*, *Coccothrinax readdi*, *Coccoloba uvifera*, *Ernoea littoralis*, *Bumelia americana*, *Jaquinia aurantiaca*, *Krugiodendron ferreum*, *Caesalpinia vesicaria*, *Metopium brownei*, *Pithecellobium keyense*, *Lantana involucrata*, *Erithalis fruticosa*, *Cordia sebestana*, *Opuntia stricta* var. *dillenii*, *Gossypium hirsutum* y *Agave angustifolia*.

Antes de llegar a Telchac Puerto se observa la ciénega, que es característica de las áreas cercanas a la costa. En este sitio, caracterizado por estar permanentemente inundado con aguas salobres y salinas, se desarrolla un tipo de vegetación conocido como "manglar de franja", pues se desarrolla en el borde de la ciénega. Es una comunidad muy densa, con una altura promedio de 10 m en la que las especies más comunes son *Rhizophora mangle*, *Avicennia germinans* y *Conocarpus erectus*. A partir de este punto se empiezan a observar los restos de las plantaciones de coco que han sido atacadas por la enfermedad del amarillamiento letal. Las áreas devastadas por el ataque de esta enfermedad presentan un aspecto característico, por la permanencia de los troncos o estípites secos de las palmas muertas, que es un estado que se conoce como "poste telefónico", de acuerdo con la clasificación que se utiliza para evaluar el grado de ataque por amarillamiento letal.

TELCHAC PUERTO. En este sitio se han efectuado diversos estudios sobre el comportamiento fisiológico y bioquímico de los cocoteros que han sido atacados por el amarillamiento letal.

Desde este lugar se continuará el recorrido por la carretera costera en dirección hacia San Crisanto, para efectuar observaciones en la "Unidad Coprera No. 1 del ejido de San Crisanto", así como por las dos plantaciones experimentales que el CICY ha establecido en el área.

SAN CRISANTO. La Unidad Coprera de San Crisanto fue establecida en 1977 con el apoyo de un programa gubernamental para el desarrollo agrícola de esta región. La plantación de cocotero se inició con la introducción de semillas

de cocos enanos procedentes del estado de Tabasco, que se sembraron en un área de casi 100 hectáreas, correspondiente a la franja costera. Tiene una distribución de tresbolillo, con un distanciamiento de 9 m entre plantas. En algunos sitios, debido a la muerte de las plántulas introducidas, o bien por las preferencias de los agricultores, se sembraron cocos altos regionales (de la variedad 'Alto del Atlántico' o 'Alto de Jamaica'). Debido a la dificultad que representa la dotación de una infraestructura para el riego, en la región se acostumbra efectuar la siembra en pocetas, que son excavaciones con una profundidad variable, entre 50 cm y 2 m, con la que se busca dejar depositada la semilla muy cerca del manto freático, para que tenga el agua necesaria para su desarrollo. La plantación recibe uno o dos deshierbes al año, no se fertiliza con regularidad y muestra evidencias de la presencia de plagas y enfermedades tales como anillo rojo, ácaros, punta de lápiz, etc.

El estudio morfológico que se está desarrollando actualmente de los cocoteros que conforman esta plantación nos indica que en realidad existe una mezcla de genotipos, en la que se pueden identificar cocos enanos, cocos híbridos resultantes de la cruce enano X alto o alto X enano, así como cocos altos. Este estudio morfológico constituye la base para el monitoreo del amarillamiento letal. Se ha establecido un convenio con los ejidatarios para poder desarrollar distintos estudios en la plantación, que nos permitan contar con muestras de plantas enfermas, efectuar comparaciones con plantas sanas, marcar lotes experimentales y establecer parcelas experimentales con nuevos materiales.

Una parte importante de la colección de germoplasma de cocotero se ha establecido ya en condiciones de campo en el ejido de San Crisanto, con el objetivo de que los materiales sean expuestos al ataque del amarillamiento letal, para evaluar el grado de susceptibilidad de los distintos genotipos. La plantación de San Crisanto constituye actualmente un foco activo de la enfermedad. Las 1830 plántulas de cocotero se sembraron en 2 predios (Cova de Iría y Guadalupe), abarcando una superficie de 12 hectáreas. El diseño experimental para el estudio de resistencia se estableció con base en el establecimiento de parcelas, con 12 plantas de cocotero sujetas a evaluación, en una distribución de tresbolillo, con una separación de 9 m entre plantas. Los cocoteros susceptibles al amarillamiento letal fungirán como testigos para controlar las condiciones del experimento, además de que permitirán que el amarillamiento letal permanezca activo. Dada la existencia de un gradiente ambiental que se establece entre la línea de playa y la ciénega, el diseño experimental sigue una distribución de las parcelas en bloques, para probar también las posibles diferencias por efecto de las condiciones ecológicas.

Después de efectuar el recorrido por las plantaciones, se tomará la carretera en sentido inverso, para trasladarnos por la carretera costera hacia la población de Telchac Pueblo.

TELCHAC PUEBLO. Desde la costa, la carretera corre en dirección sur, hasta este poblado. Se atraviesan algunas áreas dedicadas a la ganadería extensiva, así como a plantaciones de henequén. De acuerdo con el gradiente climático, se observa un cambio gradual en la vegetación desde condiciones de mayor deficiencia de agua, que se manifiesta en un tipo de vegetación conocido como selva baja caducifolia espinosa. Esta es una variante más baja y de aspecto

más xerófilo que la selva baja caducifolia. Sus elementos más sobresalientes, que no sobrepasan los 8 m de altura, son las cactáceas. La dominancia es ejercida por distintas especies de leguminosas. Este tipo de vegetación se distribuye en una franja paralela a la costa, con una amplitud variable de unos cuantos kilómetros. Se desarrolla en terrenos planos, con rocas calizas aflorantes, sobre suelos muy escasos depositados en hondonadas y grietas. Los valores de la precipitación en su área de distribución son inferiores a los 500 mm como promedio anual. Las especies más frecuentes son *Acacia gaumeri*, *A. pennatula*, *A. collinsi*, *A. riparia*, *Mimosa bahamensis*, *Leucaena leucocephala*, *Pithecellobium albicans*, *P. unguis-cati*, *Gymnopodium floribundum*, *Plumeria obtusa*, *Jatropha gaumeri*, *Agave angustifolia*, *Morinda yucatanensis*, *Acanthocereus pentagonus*, *Cephalocereus gaumeri*, *Nopalea gaumeri* y *Beucarnea pliabilis*.

DZEMUL. Poblado. En el tramo comprendido entre los poblados de Dzemul y Baca se observan algunas áreas de riego dedicadas a la producción de hortalizas, así como de forrajes para la ganadería de bovinos. Es interesante anotar que estas actividades se desarrollan con base en el bagazo de henequén, que se emplea como sustrato para las actividades hortícolas, así como para propósitos de engorda de ganado. El bagazo se obtiene de una planta desfibadora de henequén de CORDEMEX.

BACA. Poblado. En este punto se torna la desviación hacia Mérida.

MOCOCHÁ. Poblado. Instalaciones del campo agrícola experimental de la zona henequenera "Mocochá" del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Pecuarias y Forestales (INIFAP). Se desarrollan estudios sobre henequén y forrajes tropicales.

CONKAL. En los alrededores de este poblado se encuentran las instalaciones del Instituto Tecnológico Agropecuario No. 2, así como un módulo del CBTA No. 13 de Xmatkuil. En ellos se ofrecen estudios técnicos de bachillerato y licenciatura en agronomía.

CHOLUL. Poblado.

Entrada a la ciudad de Mérida.

REFERENCIAS

- Campos-Ríos, G. Y R. Durán. 1991. Vegetación de la Península de Yucatán. En: Colunga, G.M., et al. (Eds.). El Jardín Botánico como Herramienta Didáctica. CICY, Yucatán. pp. 23-35.
- Carrillo, H. Y J. Piña. 1990. Situación actual del amarillamiento letal en el sureste de México. En: Robert, M. y D. Zizumbo (Eds.). La Problemática del Amarillamiento Letal del Cocotero en México. CICY, Yucatán. pp. 69-93.
- Espejel, I. 1984. La vegetación de las dunas costeras de la península de Yucatán. I. Análisis florístico del estado de Yucatán. BIOTICA 9(2): 183-210.
- López-ramos, E. 1983. Geología General y de México. Vol. III. México.

Zizumbo, D. 1991. Las condiciones físico-ambientales del estado de Yucatán. En: Colunga, G.M., et al. (Eds.) El Jardín Botánico como Herramienta Didáctica. CICY, Yucatán. pp. 14-22.

BIBLIOGRAFIA SOBRE *Cocos nucifera*

RECOPIADA POR VICTOR MANUEL LOYOLA VARGAS

- A. Kumar, K. S. and P. A. Wahid: Root activity pattern of coconut palm. *Oleagineux* 43, 337-340 (1988).
- Apriatjuti, P. and J. Blake: Tissue culture of stem explants of coconut (*Cocos nucifera* L.). *Oleagineux* 32, 267-271 (1977).
- Armstrong, S. W. and D. Francis: Cell and nuclear area, RNA and protein content and chromosome counts in meristematic cells of secondary roots and callus of *Cocos nucifera*. *Gen J Bot* 65, 547-552 (1986).
- B. Boed, B. and A. Barnadasant: Energy consumption and output of west coast tall coconut palm (*Cocos nucifera* L.). *J Plant Crops* 14, 49-51 (1986).
- Belaga, H. Y. and E. V. de Guzman: The growth and development of coconut "Makapuno" embryos in vitro. II. Increased root incidence and growth in response to media composition and to sequential cultural from liquid to solid medium. *Phil Agr* 53, 551-564 (1971).
- Berón, M. de los A.: New liquid chromatographic approaches for free amino acid analysis in plants and insects. *J Chromatogr* 238, 175-182 (1982).
- Berón, M. de los A., R. E. McCoy and H. M. Donselman: New liquid chromatographic approaches for free amino acid analysis in plant and insects. II. Thin-layer chromatographic analysis for eighteen varieties of palm trees. *J Chromatogr* 260, 147-155 (1983).
- Besham, H. G. and F. M. Eskafi: Xylem transport in palms with Lethal yellowing. In: Thomas, D. L., F. W. Howan and H. M. Donselman (eds.): 4th Meeting International Council on Lethal Yellowing, 1-22. Agric. Res. Ctr., Inst. Food Agric. Sci. Univ. Florida, Ft. Lauderdale, Florida (1980).
- Beakbane, A. B., C. H. W. Slater and A. F. Posnette: Mycoplasmas in the phloem of coconut, *Cocos nucifera* L., with lethal yellowing disease. *J Hort Sci* 47, 265 (1972).
- Beakbane, A. B., M. M. Fuller and C. H. W. Slater: Mycoplasma-like organisms traversing cell walls in *Cocos nucifera* L., with lethal yellowing disease. *J Gen Microbiol* 89, 203-204 (1975).
- Been, B. O.: Evaluation au champ de la résistance au jaunissement mortel de variétés de cocotiers (Assessing field resistance to LY in coconut varieties). *Oleagineux* 35, 302 (1980).
- Been, B. O.: Observations on field resistance to lethal yellowing in coconut varieties and hybrids in Jamaica. *Oleagineux* 36, 9-11 (1981).
- Berdeja, R. P.: Importancia del cultivo del cocotero. In: Berdeja, R. P. (ed.): Importancia del Cultivo del Cocotero, 10-21. Comisión Nacional de Fruticultura, Mexico, D.F. (1987).
- Bhalla-Sarin, N., S. Bagga, S. K. Sopory and S. Guha-Mukherjee: Induction and differentiation of callus embryos of *Cocos nucifera* L. by IAA-conjugates. *Plant Cell Rep* 5, 322-324 (1986).
- Blair, G. P.: Studies on red ring disease of the coconut palm. *Oleagineux* 25, 19-21 (1970).
- Blake, J.: Tissue culture propagation of coconut, date and oil palm. In: Dodds, J. H. (ed.): Tissue culture of trees, 29-50. Croom Helm, (1983).
- Blake, J.: Coconut (*Cocos nucifera* L.): micropropagation. In: Bajaj, Y. P. S. (ed.): Biotechnology in Agriculture and Forestry Vol. 10. Legumes and Oilseed Crops I, 538-554. Springer-Verlag, Berlin (1990).

- Blake, J. and C. J. Eeuwens: Culture of coconut palm tissues with a view to vegetative propagation. In: Rao, A. N. (ed.): Proc. COSTED Symp. on Tissue Culture of Economically Important Plants, 145-148. Singapore (1982).
- Bock, K. R., M. H. Ivory and B. R. Adams: Lethal bole rot disease of coconut in East Africa. *Ann Appl Biol* 66, 453-464 (1970).
- Bourdeix, R.: Effectiveness of mass selection based on yield components in coconut. *Oleagineux* 43, 291-295 (1988).
- Bourdeix, R., A. Sangaré, J. P. Le Saint and Y. P. N'cho: Effectiveness of individual combining ability tests on hybrid coconuts: initial results. *Oleagineux* 44, 213-214 (1989).
- Bourdeix, R., Y. P. N'cho, J. P. Lesaint and A. Sangare: Une stratégie de sélection du cocotier *Cocos nucifera* L. I. synthèse des acquis. *Oleagineux* 45, 359-371 (1990).
- Braconnier, S. and J. D'Auzac: Chloride and stomatal conductance in coconut. *Oleagineux* 45, 259-266 (1990).
- Branton, R. and J. Blake: A lovely clone of coconuts. *New Scientist* 554-557 (1983).
- Branton, R. L. and J. Blake: Development of organized structures in callus derived from explants of *Cocos nucifera* L. *Ann Bot* 52, 673-678 (1983).
- Cardena, R., L. López and M. A. Villanueva: Diagnóstico y estudio de proteínas características de la enfermedad de amarillamiento letal en *Cocos nucifera* L. IV Reunion Nacional de Bioquímica Vegetal 76 (1989). (Abstract)
- Cardena, R., M. A. Villanueva, J. Santamaría and C. Oropeza: Presence of mycoplasma-like organisms in *Cocos nucifera* palms showing lethal yellowing disease symptoms in Yucatán. *Can J Plant Pathol* (1991).
- Carter, W.: FAO Lethal Yellowing Disease Project: a Compilation of Data Derived During the FAO Mission from June 1962 to June 1965, Coconut Industry Board, Kingston, Jamaica (1965).
- Carter, W.: Lethal yellowing disease of coconut. *World Crops* 18, 64-69 (1966).
- Charudattan, R. and R. E. McCoy: Antigenic difference in phloem exudates of healthy and lethal yellowing-diseased coconut palms. *Proc Amer Phytopathol Soc* 2, 71 (1975). (Abstract)
- Chen, R. A.: Nutritional aspects of lethal yellowing in coconuts. *Trop Agric* 43, 211-218 (1966).
- Cherry, R. H. and F. W. Howard: Sampling for adults of the planthopper *Myndus crudus*, a vector of lethal yellowing of palms. *Tropical Pest Management* 30, 22-25 (1984).
- Cutter Jr., V. M. and K. S. Wilson: Effect of coconut endosperm and other growth stimulants upon the development *in vitro* of embryos of *Cocos nucifera*. *Bot Gaz* 234-240 (1954).
- D'Souza, L.: Organogenesis in coconut embryo callus. *Plant Tissue Culture* 179-180 (1982).
- Dabek, A. J.: Some Physical and Anatomical Aspects of the Lethal Yellowing Diseased Coconut Palms, Ph D. Thesis, Univ. West Indies, Kingston, Jamaica (1973).
- Dabek, A. J.: Biochemistry of coconut palms affected with the lethal yellowing disease in Jamaica. *Phytopath Z* 81, 346-353 (1974).
- Dabek, A. J.: Transmission experiments on coconut lethal yellowing disease with *Deltocephalus flavicostatus*, a leafhopper vector of periwinkle phyllody in Jamaica. *Phytopath Z* 103, 109-119 (1982).
- Dabek, A. J. and P. Hunt: Biochemistry of leaf senescence in coconut lethal yellowing, a disease associated with mycoplasma-like organisms. *Trop Agric* 53, 115-123 (1976).
- Daniel, C., I. Adje and F. Vihoundje: Dwarf X tall coconut hybrid performance in a dry climate with supplemental irrigation. *Oleagineux* 46, 13-22 (1991).
- Davis, T. A.: High root-pressures in palms. *Nature* 192, 277-278 (1961).
- de Guzman, E. V.: The growth and development of coconut 'Macapuno' embryo *in vitro*. I. The induction of rooting. *Phil Agr* 53, 65-78 (1969).
- de Guzman, E. V., A. G. del Rosario and E. C. Eusebio: The growth and development of coconut "Makapuno" embryo *in vitro*. III. Resumption of root growth in high sugar media. *Phil Agr* 53, 566-579 (1971).

- de Guzman, E. V., A. G. del Rosario and E. M. Ubalde: Proliferative growths and organogenesis in coconut embryo and tissue cultures. *Philip J Coconut Stud* 3, 1-10 (1978).
- de Guzman, E. V. and G. C. Manuel: Improved root growth in embryo and seedling cultures of coconut Makapuno by the incorporation of charcoal in the growth medium. *Philip J Coconut Stud* 2, 35-39 (1977).
- de Nuccé de Lamothe, M.: La recherche sur le cocotier: progrès réalisés et perspectives. *Oleagineux* 45, 119-129 (1990).
- del Rosario, A. G. and E. V. de Guzman: The growth of coconut "Makapuno" embryos in vitro as affected by mineral composition and sugar level of the medium during the liquid and solid cultures. *Philippine Journal of Science* 105, 215-222 (1976).
- DeMason, D. A. and K. N. Chandra Sekhar: Electrophoretic characterization and immunological localization of coconut (*Cocos nucifera* L.) endosperm storage proteins. *Bot Gaz* 151, 302-313 (1990).
- Dollet, M., J. Giannotti and Czarnecky: Maladie de Kaincopé: présence de mycoplasmes dans le phloème des cocotiers malades. *Oleagineux* 31, 169-171 (1976).
- Donselman, H. and R. McCoy: Lethal yellowing-recent development. *Fairchild Trop Garden Bull* 19-25 (1985).
- Dronne, Y. and J. L. Gurtler: Developments in the Market of Oleaginous Crops. *Oleagineux* 45, 519-521 (1990).
- Dronne, Y. and J. L. Gurtler: Developments in the market for oleaginous crops. *Oleagineux* 46, 39-42 (1991).
- Duval, Y., T. D. Gasselin, K. Konan and C. Pannetier: Multiplication végétative du palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.) par culture in vitro. Stratégie et résultats. *Oleagineux* 43, 39-47 (1988).
- Dwivedi, R. S., P. K. Ray and S. Ninan: Absorption, distribution and utilization of radioactive phosphorus in healthy and root (wilt) diseased coconut palms. *J Nuclear Agric Biol* 8, 33-35 (1979).
- Ebert, A. and H. F. Taylor: Assessment of the changes of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid concentrations in plant tissue culture media in the presence of activated charcoal. *Plant Cell Tiss Org Cult* 20, 165-172 (1990).
- Eden-Green, S. J.: Rearing and transmission techniques for *Haplaxius* sp. (Hom: Cixiidae), a suspected vector of lethal yellowing disease of coconuts. *Ann Appl Biol* 89, 173-176 (1978).
- Eden-Green, S. J.: Attempts to transmit lethal yellowing disease of coconuts in Jamaica by leafhoppers (Homoptera: Cicadelloidea). *Trop Agric* 56, 185-192 (1979).
- Eden-Green, S. J.: Further studies on root symptoms in coconut palms affected by lethal yellowing disease in Jamaica. *Plant Pathol* 31, 215-219 (1982).
- Eden-Green, S. J., D. B. Archer, J. G. Tully and H. Waters: Further studies on a spiroplasma isolated from coconut palms in Jamaica. *Ann Appl Biol* 102, 127-134 (1983).
- Eden-Green, S. J., P. G. Markham, R. Townsend, D. B. Archer, M. F. Clark and J. G. Tully: Plant pathogenicity and transmission tests with *Acholeplasma* spp. isolated from coconut palms in Jamaica. *Ann Appl Biol* 106, 439-449 (1985).
- Eden-Green, S. J. and M. Schuiling: "Root acquisition" transmission tests with *Haplaxius crudus* (Hom: Cixiidae) and *Proarna hilaris* (Hom: Cicadidae). *Principes* 20, 66 (1976).
- Eden-Green, S. J. and M. Schuiling: Root acquisition feeding transmission tests with *Haplaxius* spp. and *Proarna hilaris*, suspected vectors of lethal yellowing of coconut palm in Jamaica. *Plant Dis Rep* 62, 625-627 (1978).
- Eden-Green, S. J. and J. G. Tully: Isolation of *Acholeplasma* spp. from coconut palms affected by lethal yellowing disease in Jamaica. *Curr Microbiol* 2, 311-316 (1979).
- Eden-Green, S. J. and H. Waters: Isolation and preliminary characterization of a spiroplasma from coconut palms in Jamaica. *J Gen Microbiol* 124, 263-270 (1981).
- Eden-Green, S. J. and H. Waters: Collection and properties of phloem sap from healthy and lethal yellowing-diseased coconut palms in Jamaica. *Phytopathol* 72, 667-671 (1982).

- Eeuwens, C. J.: Mineral requirements for growth and callus initiation of tissue explants excised from mature coconut palms (*Cocos nucifera*) and cultured in vitro. *Physiol Plant* 36, 23-28 (1976).
- Eeuwens, C. J.: Effects of organic nutrients and hormones on growth and development of tissue explants from coconut (*Cocos nucifera*) and date (*Phoenix dactylifera*) palms cultured in vitro. *Physiol Plant* 42, 173-178 (1978).
- Eeuwens, C. J. and J. Blake: Culture of coconut and date palm tissue with a view to vegetative propagation. *Acta Horticulturae* 78, 277-286 (1977).
- Engelmann, F. and J. Dereuddre: Effects du milieu de culture sur la production d'embryoides destinés à la cryoconservation chez le palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.). *C. R Acad Sci (Paris) Ser III* 306, 515-520 (1988).
- Eschbach, J. M., D. Massimino and A. M. R. Mendoza: Effet d'une carence en chlore sur la germination, la croissance et la photosynthèse du cocotier. *Oleagineux* 37, 115-125 (1982).
- Eskafi, F. M., H. G. Basham and R. E. McCoy: Decreased water transport in lethal yellowing-diseased coconut palms. *Trop Agric* 63, 225-228 (1986).
- Ferrales, E. S.: Evaluación de trampas para la captura de *Mindus crudus* van Duzee (Homóptera: Cixiidae) vector del amarillamiento letal y su dinámica poblacional en Q. Roo, Instituto Tecnológico Agropecuario No. 16, Quintana Roo (1987).
- Fisher, J. B.: Lethal yellowing symposium at Fairchild Tropical Garden, Miami. *Principes* 17, 151-159 (1973).
- Fisher, J. B. and W. F. Theobald: Long term effects of gibberellin and cytokinin on coconut trees. *Principes* 33, 5-17 (1989).
- Fisher, J. B. and J. H. Tsai: In vitro growth of embryos and callus of coconut palm. *In vitro* 14, 307-311 (1978).
- Fisher, J. B. and J. H. Tsai: A branched coconut seedling in tissue culture. *Principes* 23, 128-131 (1979).
- Foale, M. A.: The growth of the young coconut palm (*Cocos nucifera* L.). I. The role of the seed and of photosynthesis in seedling growth up to 17 months of age. *Aust J Agric Res* 19, 781-789 (1968).
- Gascon, J. P. and M. de Nucé de Lamothe: Amélioration du cocotier. Méthode et suggestions pour une coopération internationale. *Oleagineux* 31, 479-482 (1976).
- Ghuri, M. S. K.: The identity of a suspected vector of coconut lethal yellowing disease in Jamaica and notes on *Caribovia intensa* (Walker) (Homoptera: Cicadelloidea). *Bull Ent Res* 70, 411-415 (1980).
- Giannotti, J., F. Arnaud, M. Dollet, R. Delattre, G. de Taffin and Czarnecky: Mise en culture de mycoplasmes à partir de racines et d'inflorescences de cocotiers atteints par la maladie de Kaincopé. *Oleagineux* 30, 13-18 (1975).
- Grylls, N. E. and P. Hunt: Studies on the aetiology of coconut lethal yellowing in Jamaica, by mechanical and bacteria inoculations and by insect vectors. *Oleagineux* 26, 543-549 (1971a).
- Grylls, N. E. and P. Hunt: A review of the study of the aetiology of coconut lethal yellowing disease. *Oleagineux* 26, 311-315 (1971b).
- Hagenmaier, R., C. M. Carter and K. F. Matil: Dehydrated coconut skim milk as a food product: composition and functionality. *J Food Sci* 39, 196 (1974).
- Hagenmaier, R., R. Luptakwong and S. A. Verasestakul: Nutritive value and food uses of coconut skim milk solids. *J Food Sci* 40, 1324 (1975).
- Hanold, D. and J. W. Randles: Detection of coconut cadang-cadang viroid-like sequences in oil and coconut palm and other monocotyledons in the South-West Pacific. *Ann Appl Biol* 118, 139-151 (1991).
- Harries, H. C.: The Malayan dwarf supersedes the Jamaica tall coconut. I. Reputation and performance. *Oleagineux* 25, 527-531 (1970).
- Harries, H. C.: Coconut varieties in America. *Oleagineux* 26, 235-242 (1971).
- Harries, H. C.: Selection and breeding of coconuts for resistance to diseases such as lethal yellowing. *Oleagineux* 28, 395-398 (1973).
- Harries, H. C.: Natural symptom remission of lethal yellowing disease of coconut. *Trop Agric* 51, 575-576 (1974).

- Harries, H. C.: The cape verde region (1499 to 1549); the key to coconut culture in the Western hemisphere? *Turrialba* 27, 227-231 (1977).
- Harries, H. C.: The evolution, dissemination and classification of *Cocos nucifera* L. *Bot Rev* 44, 265-319 (1978).
- Hernández, F.: Cocotero. In: Cervantes, T. (ed.): *Análisis de los recursos genéticos disponibles a México*, 235-238. Sociedad Mexicana de Fitogenética, A.C., Chapingo, Mexico (1978).
- Howard, F. W., D. L. Thomas, H. M. Donselman and M. E. Collins: Susceptibilities of palm species to mycoplasma-like organism-associated diseases in Florida. *FAO Plant Prot Bull* 27, 109-117 (1979).
- Howard, F. W., J. P. Kramer and M. Félix Peralta: Homópteros Auchenorrhyncha asociados a palmeras en un área de la República Dominicana afectada por el amarillamiento letal del cocotero. *Folia Entomologica Mexicana* 37-50 (1981).
- Howard, F. W.: World distribution and possible geographic origin of palm lethal yellowing disease and its vectors. *FAO Plant Prot Bull* 31, 101-112 (1983).
- Howard, F. W., R. C. Norris and D. L. Thomas: Evidence of transmission of palm lethal yellowing agent by a planthopper, *Myndus crudus* (Homoptera: Cixiidae). *Trop Agric* 60, 168-171 (1983).
- Howard, F. W., J. P. Kramer and M. Teliz-Ortiz: *Myndus crudus* (homoptera: cixiidae) in Cancun, México. *Florida Ent* 67, 577-579 (1984a).
- Howard, F. W., D. S. Williams and R. C. Norris: Insect transmission of lethal yellowing to young palms. *International Journal of Entomology* 26, 331-338 (1984b).
- Howard, F. W.: *Myndus crudus* (Homoptera: Cixiidae), a vector of lethal yellowing of palms. In: Wilson, M. R. and L. R. Nault (eds.): *Proceedings 2nd International Workshop on Leafhoppers and Planthoppers of Economic Importance*, 117-129. CIE, London (1987).
- Howard, F. W., R. A. Atilano, C. I. Barrant, N. A. Harrison, W. F. Theobald and D. S. Williams: Unusually high lethal yellowing disease incidence in malayan dwarf coconut palms on localized sites in Jamaica and Florida. *J Plant Crops* 15, 86-100 (1987).
- Howard, F. W.: Evaluation of grasses for cultural control of *Myndus crudus*, a vector of lethal yellowing of palms. *Entomol exp appl* 56, 131-137 (1990a).
- Howard, F. W.: Evaluation of Brachiaria and st. augustine grasses as breeding hosts of *Myndus crudus* van duzee (Homoptera: cixiidae), a vector of the lethal yellowing disease of palms. *Beitr trop Landwirtsch Vet med* 28, 425-430 (1990b).
- Howard, F. W. and C. I. Barrant: Questions and answers about lethal yellowing disease. *Principes* 33, 163-171 (1989).
- Howard, F. W. and G. B. Edwards: Web-building spiders on coconut palms and their prey (Arachnida: araneae). *Folia Entomologica Mexicana* 81-87 (1984).
- Howard, F. W. and R. E. McCoy: Reduction in spread of mycoplasma-like organism-associated lethal decline of the palm, *Veitchia merrillii*, by use of insecticides. *J Econ Entomol* 73, 268-270 (1980).
- Howard, F. W. and D. L. Thomas: Transmission of palm lethal decline to *Veitchia merrillii* by a planthopper *Myndus crudus*. *J Econ Entomol* 73, 715-717 (1980).
- Hunt, P., A. J. Dabek and M. Schuiling: Remission of symptoms following tetracycline treatment of lethal yellowing-infected coconut palms. *Phytopathol* 64, 307-312 (1974).
- Jagadeesan, M. and D. Padmanabhan: Induction of rooting in cotyledon callus of coconut. *Curr Sci* 51, 567 (1982).
- Janistyn, B.: cAMP promoted protein phosphorylation of dialysed coconut milk. *Phytochem* 28, 329-331 (1989).
- Jeganathan, M.: Studies on potassium-magnesium interaction in coconut (*Cocos nucifera*). In: Van Beusichem, M. L. (ed.): *Plant Nutrition. Physiology and Applications*, 611-617. Kluwer Academic Publishers, (1990).
- Johnson, C. G.: A review of the vector experiments in Jamaica from 1962 to 1971. *Principes* 20, 65 (1976).

- Johnson, C. G. and S. J. Eden Green: The search for a vector of lethal yellowing of coconuts in Jamaica: a reappraisal of the experiments from 1962 to 1971. *FAO Plant Prot Bull* 26, 137-149 (1978).
- Joseph, T. and K. Radha: Role of *Phytophthora palmivora* in bud rot of coconut. *Plant Dis Rep* 5, 1014-1017 (1975).
- Julia, J. F.: *Myndus taffini* (Homoptera Cixiidae), vector of foliar decay of coconuts in Vanuatu. *Oleagineux* 37, 413-414 (1982).
- Karunaratne, S. and K. Periyapperuma: Culture of immature embryos of coconut, *Cocos nucifera* L.: Callus proliferation and somatic embryogenesis. *Plant Sci* 62, 247-253 (1989).
- Kasturi Bai, K. V., A. Ramadasan and K. V. Satheesan: Diurnal changes in specific leaf weight and starch content in coconut leaf (*Cocos nucifera* L.). *J Indian bot Soc* 60, 352-354 (1981).
- Kasturi Bai, K. V. and A. Ramadasan: Changes in the carbohydrate fractions in relation to female flower production in coconut. *J Plant Crops* 10, 124-128 (1982).
- Kollar, A., E. Seemüller and G. Krczal: Impairment of the sieve tube sealing mechanism of trees infected by mycoplasma-like organisms. *J Phytopathol* 124, 7-12 (1989).
- Le Saint, J. P., G. de Taffin and G. Bénard: Conservation des semences de cocotier en emballage étanche. *Oleagineux* 44, 15-25 (1989).
- Leufstedt, G.: Opportunities for Future Diversification of the Coconut Industry. *Oleagineux* 45, 505-508 (1990).
- Mariau, D.: Studies on coconut lethal yellowing in Ganza, Tanzania and Mexico, (1988). (UnPub)
- Mathew, C.: Changes in carbohydrate content of coconut palm affected by root (wilt) disease. *J Plant Crops* 5, 84-88 (1977).
- Mathew, C. and A. Ramadasan: Studies on photosynthesis in the coconut palm: role of apparent photosynthesis. *Indian J Exp Biol* 12, 589-591 (1974).
- Mathew, Ch.: Water relations of coconut palm affected by root (wilt) disease. *J Plant Crops* 9, 51-55 (1981).
- Mathew, Ch. and A. Ramadasan: Photosynthetic efficiency in relation to annual yield and chlorophyll content in the coconut palm. *J Plant Crops* 3, 26-28 (1975).
- Matteoni, J. A. and W. A. Sinclair: Stomatal closure in plants infected with mycoplasma-like organisms. *Phytopathol* 73, 398-402 (1983).
- McCoy, R. E.: Remission of lethal yellowing in coconut palm treated with tetracycline antibiotics. *Plant Dis Rep* 56, 1019-1021 (1972).
- McCoy, R. E.: Effect of various antibiotics on development of lethal yellowing in coconut palm. *Proc Flo State Hort Soc* 86, 503-506 (1973).
- McCoy, R. E.: Effect of oxytetracycline dose and stage disease development on remission of lethal yellowing in coconut palm. *Plant Dis Rep* 59, 717-720 (1975).
- McCoy, R. E.: Comparative epidemiology of the lethal yellowing, kaincope, and cadang-cadang diseases of coconut palm. *Plant Dis Rep* 60, 498-502 (1976a).
- McCoy, R. E.: Accumulation of antibiotic residues in the fruit of coconut palms treated with oxytetracycline for the control of lethal yellowing. *Oleagineux* 31, 215-218 (1976b).
- McCoy, R. E.: Uptake, translocation, and persistence of oxytetracycline in coconut palm. *Phytopathol* 66, 1039-1042 (1976c).
- McCoy, R. E., V. J. Carroll, C. P. Poucher and G. H. Gwin: Field control of coconut lethal yellowing with oxytetracycline hydrochloride. *Phytopathol* 66, 1148-1150 (1976).
- McCoy, R. E.: Growth of mycoplasmas in phloem sap from lethal yellowing resistant Malayan dwarf palm. *Proc Amer Phytopathol Soc* 4, 108 (1977a).
- McCoy, R. E.: Petiole injection of coconut palm, a method to prevent permanent trunk injury during antibiotic treatment for lethal yellowing. *Proc Flo State Hort Soc* 90, 114-117 (1977b).

- McCoy, R. E., F. W. Howard, J. H. Tsai, H. M. Donselman, D. L. Thomas, H. G. Basham, R. A. Atilano, F. M. Eskafi, L. Britt and M. E. Collins: Lethal yellowing of palms. Bulletin 834, Agricultural Experimental Stations, Gainesville (1983).
- McCoy, R. E.: Presence of free arginine associated with susceptibility to lethal yellowing of palms. *Israel J Med Sci* 20, 1016-1018 (1984).
- McDonough, J. and M. H. Zimmermann: Effect of lethal yellowing on xylem pressure in coconut palms. *Principes* 23, 132-137 (1979).
- Michael, K. J.: Studies on the root system of coconut palm. *Ind Cocon J* 17, 85-92 (1964).
- Midcap, J. T., P. L. Neel and D. L. Hull: The 'Malayan dwarf' coconut palm a lethal yellowing resistant cultivar. *Proc Flo State Hort Soc* 88, 377-380 (1975).
- Milburn, J. A. and T. A. Davis: Role of pressure in xylem transport of coconut and other palms. *Physiol Plant* 29, 415-420 (1973).
- Milburn, J. A. and M. H. Zimmermann: Preliminary studies on sapflow in *Cocos nucifera* L. II Phloem transport. *New Phytol* 79, 543-558 (1977a).
- Milburn, J. A. and M. H. Zimmermann: Preliminary studies on sapflow in *Cocos nucifera* L. *New Phytol* 79, 535-541 (1977b).
- Miniano, A. P. and E. V. de Guzman: Responses of non-makapuno embryos in vitro to chloride supplementation. *Philip J Coconut Stud* 3, 27-44 (1978).
- N'cho, Y. P., J. P. Le Saint and A. Sangaré: Les cocotiers nains à port-bouët (côte d'Ivoire). III.- Nain brun nouvelle-guinée, nain vert thaïlande et nain rouge polynésie. *Oleagineux* 43, 55-66 (1988).
- Nienhaus, F., M. Schilling, G. Gliem, U. Schinzer and A. Spittel: Investigations on the etiology of the lethal disease of coconut palm in Tanzania. *Z Pflanzenk* 89, 185-193 (1982).
- Ochs, R. and X. Bonneau: Symptômes de carence en cuivre et en fer du cocotier sur tourbe en Indonésie. *Oleagineux* 43, 455-457 (1988).
- Oropeza, C., J. Santamaría, M. A. Villanueva and V. M. Loyola-Vargas: Physiology and biochemistry of lethal yellowing in *Cocos nucifera*. *Principes* (1991). (In Press)
- Ouvrier, M.: Evolution de la composition minérale du cocotier hybride PB 121 au jeune âge. *Oleagineux* 45, 69-80 (1990).
- Padmaja, G. and B. Sumathykutti Amma: Cellulase activity in the roots of coconut palms affected by root (wilt) disease. *J Plant Crops* 7, 101-104 (1979).
- Parthasarathy, M. V.: Mycoplasma-like organisms in the phloem of palms in Florida affected by lethal yellowing. *Plant Dis Rep* 57, 862-864 (1973a).
- Parthasarathy, M. V.: Mycoplasma-like organisms associated with lethal yellowing disease of palms. *Phytopathol* 64, 667-674 (1973b).
- Parthasarathy, M. V.: Ultrastructural studies on palms affected by the lethal yellowing disease. *Principes* 17, 154 (1973c).
- Parthasarathy, M. V. and J. B. Fisher: The menace of lethal yellowing to Florida palms. *Principes* 17, 39-45 (1973).
- Passos, E. E. M. and J. V. Da Silva: Fonctionnement des stomates de Cocotier (*Cocos nucifera*) au champ. *Can J Bot* 68, 458-460 (1990).
- Pillai, N. G. and P. Shanta: Free amino-acids in coconut palms affected by root (wilt) disease. *Curr Sci* 22, 636-637 (1965).
- Plavsic-Banjac, B., P. Hunt and K. Maramorosch: Mycoplasma-like bodies associated with lethal yellowing disease of coconut palms. *Phytopathol* 62, 298-299 (1972).
- Rajagopal, V., C. Mathew, K. D. Patil and J. M. Abraham: Studies on water uptake by root (wilt) diseased coconut palms. *J Plant Crops* 14, 19-24 (1986a).

- Rajagopal, V., K. D. Patil and B. Sumathykuttiyamma: Abnormal stomatal opening in coconut palms affected with root (wilt) disease. *J Exp Bot* 37, 1398-1405 (1986b).
- Rajagopal, V., K. V. Kasturibai and S. R. Voleti: Screening of coconut genotypes for drought tolerance. *Oleagineux* 45, 215-223 (1990).
- Ramadasan, A., K. V. Satheesan and R. Balakrishnan: Leaf area and shoot dry weight in coconut seedling selection. *Indian J Agric Sci* 50, 553-554 (1980).
- Ramadasan, A., C. Mathew, J. Mathew and K. V. Satheesan: Relative assimilation rate (RAR) in coconut palm. *J Plant Crops* 12, 186-188 (1984).
- Ramadasan, A. and K. V. Satheesan: Certain leaf anatomical characteristics of two coconut cultivars and hybrids. *J Plant Crops* 8, 55-57 (1980).
- Ramos de Siqueira, E. and M. F. Soter: Melhoramento genético do coqueiro (*Cocos nucifera* L.) no Brasil, Comitê de Publicações de CNPCO, Aracaju (1984).
- Randles, J. W., J. F. Julia, C. Calvez and M. Dollet: Association of single-stranded DNA with the foliar decay disease of coconut palm in Vanuatu. *Phytopathol* 76, 889-894 (1986).
- Reddy, G. N. and A. R. Kulkarni: Cases of polyembryony in cocosoid palms. *Curr Sci* 57, 733-734 (1988).
- Reddy, G. N. and A. R. Kulkarni: Megasporogenesis in *Cocos nucifera* L. a reinvestigation. *Curr Sci* 58, 156-157 (1989).
- Remison, S. U.: Effect of gibberellic acid, kinetin and naphthylacetic acid on the growth of coconut seedlings. *Ann Appl Biol* 105, 387-389 (1984).
- Richardson, D. L., H. C. Harries and E. Balsevicius: Variedades de cocoteros en Costa Rica. *Turrialba* 28, 87-90 (1978).
- Rillo, E. P. and M. B. F. Paloma: Comparison of three media formulations for in vitro culture of coconut embryos. *Oleagineux* 45, 319-323 (1990).
- Robert M. L. y D. Zizumbo, (Eds.). La Problemática del Amarillamiento Letal del Cocotero en México. CICY, (1990). pp. 197.
- Rohde, W., J. W. Randles, P. Langridge and D. Hanold: Nucleotide sequence of a circular single-stranded DNA associated with coconut foliar decay virus. *Virology* 176, 648-651 (1990).
- Romney, D. H.: The malayan dwarf supersedes the Jamaica tall coconut. 3. Costs and returns. *Oleagineux* 26, 25-32 (1971).
- Romney, D. H.: Past studies on, and present status of lethal yellowing disease of coconut. *Pest Articles & News Summ* 18, 386-395 (1972).
- Romney, D. H.: Seconde réunion du conseil international sur le jaunissement mortel du cocotier-I.C.L.Y. *Oleagineux* 31, 483-488 (1976).
- Romney, D. H.: Replanting with Malayan Dwarfs a case study in Jamaica. *Oleagineux* 32, 55-58 (1977).
- Sasikala, M., K. Mathen, M. P. Govindankutty, J. J. Solomon and L. Geetha: Transmission of a mycoplasma-like organism from *Cocos nucifera* with root (wilt) disease to *Catharanthus roseus* by *Cassytha filiformis*. *Neth J Pl Path* 94, 191-194 (1988).
- Sasson, A.: Biotechnologies and development, UNESCO, Paris (1988).
- Satheesan, K. V., G. Narasimhayya and A. Ramadasan: A rapid method for estimation of leaf area of one year old seedlings of tall variety of coconut palms. *J Plant Crops* 11, 47-49 (1983).
- Schuilting, M., C. G. Johnson, S. J. Eden-Green and H. Waters: Recent attempts to find a vector associated with lethal yellowing of coconut (*Cocos nucifera* L.). *Principes* 20, 65 (1976).
- Schwabe, W. W., J. Blake, C. J. Eeuwens, D. E. Campling and R. M. Fulford: Research on the vegetative propagation of coconut by tissue culture. Report on ten years research under ODA research schemes at East Malling Research Station and Wye College, (1980). (UnPub)
- Sen Gupta, D. N. and S. P. Sen: Phytochrome regulation of uptake of metabolites by coconut nuclei in vitro. *Plant Sci Lett* 24, 61-66 (1982a).

- Sen Gupta, D. N. and S. P. Sen: Phytochrome regulation of RNA synthesis in isolated coconut nuclei. *Plant Cell Physiol* 23, 1251-1258 (1982b).
- Shaw, F. D.: The malayan dwarf supersedes the Jamaica tall coconut. 4. Making the change. *Oleagineux* 26, 155-158 (1971).
- Shivashankar, S. and K. Rajgopal: Diurnal rhythm in nitrate reductase activity of *Cocos nucifera* L. leaves. *Z Pflanzenphysiol* 112, 181-185 (1983).
- Shivashankar, S. and A. Ramadasan: Nitrate reductase activity in coconut leaves. *J Sci Food Agric* 34, 1179-1184 (1983).
- Smith, R. W.: The Malayan dwarf supersedes the Jamaica tall coconut. 2. Changes in farming practice. *Oleagineux* 25, 593-593 (1970).
- Stammner, W. P. C., D. B. Archer, M. J. Daniels, A. M. C. Davies and S. J. Eden-Green: Effects of lethal yellowing on the composition of the phloem sap from coconut palms in Jamaica. *Phytopathol* 72, 672-675 (1982).
- Sugimura, Y. and M. J. Salvaña: Induction and growth of callus derived from rachilla explants of young inflorescences of coconut palm. *Can J Bot* 67, 272-274 (1989).
- Sumathykutty Amma, B.: Preliminary studies on the effect of micronutrients on the germination of coconut seednuts. *Curr Sci* 33, 49-50 (1964).
- Sumathykutty Amma, B. and K. D. Patil: Pectin lyase activity in the roots of root (wilt) disease affected coconut palm. *J Plant Crops* 12, 182-184 (1984).
- Thomas, D. L.: Mycoplasma-like bodies associated with lethal declines of palms in Florida. *Phytopathol* 69, 928-934 (1979).
- Thomas, D. L. and R. C. Norris: The use of electron microscopy for lethal yellowing diagnosis. *Proc Flo State Hort Soc* 93, 196-199 (1980).
- Varkey, T., K. J. Michael and A. Ramadasan: Note on the investigations on the nitrogen and phosphorus metabolism of coconut palm affected by root (wilt) disease. *Indian J Agric Sci* 39, 25-26 (1968).
- Verdeil, J. L. and C. Pannetier: Optimisation des conditions de germination in vitro du pollen de cocotier (*Cocos nucifera* L.) pour la mise au point d'un test de viabilité. *Oleagineux* 45, 175-181 (1990).
- Villanueva, J. B., J. R. Piña and H. R. Carrillo: Amarillamiento letal del cocotero. SARH, Folleto Técnico 84, 2-10 (1985).
- Villanueva, J. B., J. R. Piña and H. R. Carrillo: Avances sobre el control y la investigación del amarillamiento letal del cocotero en México. SARH, Folleto Técnico 1, 2-19 (1987).
- Waters, H.: Feeding behaviour of a putative vector of lethal yellowing, *Hapixius crudus* van duzee (Homoptera, Cixiidae). *Principes* 20, 65-66 (1976).
- Waters, H. and P. Hunt: The in vivo three-dimensional form of a plant mycoplasma-like organism by the analysis of serial ultrathin sections. *J Gen Microbiol* 116, 111-131 (1980).
- Wildman, R. B. and P. Hunt: Phytoferritin associated with yellowing in leaves of *Cocos nucifera* (Arecaceae). *Protoplasma* 87, 121-134 (1976).
- Wilson, M. R.: The auchenorrhyncha (Homoptera) associated with palms. In: Wilson, M. R. and L. R. Nault (eds.): *Proc. 2nd Int. Workshop on leafhoppers and planthoppers of economic importance*, 327-342. CIE, London (1987).
- Wilson, M. R.: Records of Homoptera Auchenorrhyncha from palms, and associations with disease in coconuts. *Oleagineux* 43, 247-251 (1988).

**Este volúmen fué editado en el
Centro de Investigación Científica de Yucatán.**

Los editores expresan su agradecimiento a Patricia Alonzo por la edición de las figuras, a Lucely Alpizar y Silvia Pasos por su invaluable apoyo logístico y a Cheritte González por la mecanografía de algunas ponencias

Noviembre de 1991