



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

Departamento de Suelos

**Maestría en Ciencias en Agroforestería para el
Desarrollo Sostenible**

**ESTADO NUTRIMENTAL DE LA VAINILLA EN
DIFERENTES SISTEMAS AGROFORESTALES Y
AISLAMIENTO DE SUS HONGOS
ENDORIZOSFERICOS**

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS EN AGROFORESTERÍA
PARA EL DESARROLLO SOSTENIBLE**

PRESENTA:

JORGE ROMERO RODRÍGUEZ

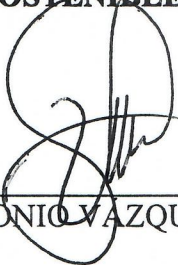
Chapingo, México, diciembre del 2008.

**ESTADO NUTRIMENTAL DE VAINILLA EN DIFERENTES SISTEMAS
AGROFORESTALES Y AISLAMIENTO DE SUS HONGOS
ENDORIZOSFERICOS.**

Tesis realizada por **Jorge Romero Rodríguez**, bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS EN AGROFORESTERÍA PARA EL DESARROLLO
SOSTENIBLE**

DIRECTOR:



DR. ANTONIO VAZQUEZ ALARCÓN

ASESOR:



M.C. SINECIO LÓPEZ MÉNDEZ

ASESOR:



DR. ALEJANDRO ALARCON

ASESOR:



DR. MIGUEL ANGEL VERGARA SÁNCHEZ

ASESOR:



DR. MUHAMMAD EHSAN

**ESTADO NUTRIMENTAL DE VAINILLA EN DIFERENTES SISTEMAS
AGROFORESTALES, Y AISLAMIENTO DE SUS HONGOS
ENDORIZOSFERICOS.**

Tesis realizada por **Jorge Romero Rodríguez**, bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS EN AGROFORESTERÍA PARA EL DESARROLLO
SOSTENIBLE**

DIRECTOR: _____
DR. ANTONIO VÁZQUEZ ALARCÓN

ASESOR: _____
M.C. SINECIO LÓPEZ MÉNDEZ

ASESOR: _____
DR. ALEJANDRO ALARCON

ASESOR: _____
M.C. MIGUEL ANGEL VERGARA SÁNCHEZ

ASESOR: _____
DR. MUHAMMAD EHSAN

DEDICATORIA

A Dios.

A mi madre, hermanos, a cada uno de mis familiares por estar apoyándome en cada decisión que he tomado en mi vida y por su cariño y amor incondicional.

A mis amigos Ameyali, Felipe, Calvo, Huicho, José Luis, Milton, Moisés, Vicenta, Adolfo, Julio, Víctor, Mine, Lizandro, Flavio, Mony, Magnealy, Elena y demás colegas, gracias por brindarme su amistad en todo momento.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACYT por su apoyo, para que realizará mis estudios de maestría.

A la Universidad Autónoma Chapingo y al Programa de Maestría en Agroforestería para el desarrollo sostenible por darme la oportunidad alcanzar una meta profesional en mi vida.

Al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología COMECYT, por el apoyo brindado para la culminación de esta investigación

Al Dr. Antonio Vázquez Alarcón por el apoyo y dirección de esta tesis, así como también por su disposición en todo momento para enriquecer con sus observaciones y aportaciones esta investigación.

Al M.C. Sinecio López Méndez por su apoyo y consejos para la realización de esta trabajo, al igual que un reconocimiento a su labor altruista hacia los productores de vainilla del pueblo totonaco.

Al Dr. Alejandro Alarcón por su guía, paciencia y acertadas sugerencias en atención a este trabajo.

Al Dr. Vergara y Dr Edsan por sus contribuciones y dedicar su valioso tiempo en la corrección y afinación del presente trabajo.

Al maestro Noriega, Vidal, Uribe y Khisnamurty por su apoyo moral para la culminación de la presente investigación.

A lolita y Roció por todo el apoyo durante mi estancia en la maestría y la realización de este trabajo.

Al ejido primero de Mayo, al Sr. Vallejo y Don Macario por permitimos compartir con nosotros sus conocimientos sobre la vainilla, por todas las facilidades prestadas para la realización de esta tesis, y a todas aquellas personas que de una u otra forma contribuyeron para la obtención de esta tesis, mil gracias.

DATOS BIOGRÁFICOS

Jorge Romero Rodríguez nació el 2 de diciembre de 1982 en el municipio de Venustiano Carranza, Puebla, México. Sus estudios de nivel básico los realizó en la comunidad de Villa Lázaro Cárdenas, Puebla y su educación media superior la realiza en el municipio de Ciudad Surdan, Puebla.

En el años 2000 ingresa a la Universidad Autónoma Chapingo, donde Curso la carrera de Ingeniero En Recursos Naturales Renovables, de la cual egresa en el año 2005.

Persona entusiasta y dispuesta a prender, le ha gustado combinar la ciencia y con su realidad, teniendo el firme compromiso de contribuir en el fortalecimiento del desarrollo comunitario.

Colaborador en numerosos estudios con profesores de esta universidad, ha incursionado en el área de la percepción remota y sistemas de información geográfica, edafología y microbiología recientemente, tratando de integrar sus conocimientos bajo un enfoque que permita proponer soluciones a los problemas referentes con la producción de agrícola de este país..

ESTADO NUTRIMENTAL DE VAINILLA EN DIFERENTES SISTEMAS AGROFORESTALES Y AISLAMIENTO DE SUS HONGOS ENDORIZOSFERICOS

NUTRIMENTAL STATUS OF VANILLA IN DIFFERENT AGROFORESTRY SYSTEMS AND ISOLATION OF ITS ENDO RHIZOSPHERIC FUNGI

Jorge Romero Rodríguez¹; Antonio Vázquez Alarcon²

RESUMEN

El estudio se realizó en la región del totonacapan, del Estado, de Veracruz, el objetivo fue diagnosticar tres sistemas agroforestales (1).- *Erythrina americana-Vanilla planifolia*, (2).- *Erythrina americana-V. planifolia-malla sombra* y (3).- *Citrus sinensis-V. planifolia*, con un enfoque integral, tomando como base la oferta nutrimental de los sustratos empleados por los vainilleros. Así también determinó la demanda nutrimental en la etapa fenológica de crecimiento de fruto empleando técnicas de análisis foliar, así mismo, se determinó el porcentaje de colonización de hongos endorizosféricos asociados con la vainilla llevándose a cabo la caracterización taxonómica a nivel género de dichas entidades bióticas de la clase Hyphomycetes.

La metodología para el diagnóstico de sustratos y tejido vegetal corresponde a la NOM-021-SEMARNAT-2000. El método de conteo para la colonización micorrizica es de Phillips y Hayman, (1970), Kormanik, (1980). Kormanik y McGraw; (1982). La caracterización taxonómica de los géneros de hongos endorizosféricos se realizó con las tablas dicotómicas del sistema de clasificación Saccardo y la clave alternativa de series y géneros del sistema de clasificación de Hughes-Tubaki-Barron.

Los resultados revelan que la calidad de los sustratos en el aporte de nutrientes son bajos para los tres sistemas agroforestales; el sistema agroforestal (1), presenta los mayores problemas de inmovilización de micronutrientes debido a su alcalinidad pH (7.7) y al alto contenido de materia orgánica (9 %), que no está mineralizada.

El contenido medio de nutrientes en hojas jóvenes de N total, P, K, Ca y Mg fue de 2.44, 0.7, 2.33, 7.0 y 0.7 % respectivamente; Zn, Fe, Cu y Mn en mg kg⁻¹ fue 104.09, 126.9, 21.24, 25.4 respectivamente. Para los folíolos maduros el contenido de N Total, P, K, Ca y Mg fueron 1.58, 0.5, 1.79, 11.7, 1.1 % respectivamente; Zn, Fe, Cu y Mn en mgkg⁻¹ fue 77.12, 164.0, 16.72 y 39.2, respectivamente.

El análisis estadístico indica que en el porcentaje de colonización no hay diferencias significativas entre los 3 sistemas agroforestales, los resultados de la prueba de f son inferiores a 0.0001, para hifas, pelotones y segmentos sin colonizar. El sistema agroforestal 3 presentó mayor porcentaje de hifas 95.5 y pelotones 37.2

Se identificaron 8 géneros de hongos rizosféricos: *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Gliocladium*, *Paecilomyces*, *Rhizoctonia*, *Treatracladium* y *Trichoderma*, el más común en los tres sistemas agroforestal es *Fusarium* y el que presenta mayor frecuencia es *Trichoderma* con 45.5 % en el sistema agroforestal (2)

La trascendencia de los resultados radica en la generación de una base científica que puede posibilitar el desarrollo de técnicas aplicadas al mejoramiento de los sistemas agroforestales de la vainilla.

Palabras clave: vainilla, agroforestería, hongos endorizosféricos, nutrición.

ABSTRACT

This study was conducted in the Totonacapan region in the state of Veracruz; the goal was to diagnose three agroforestry systems (1).- *Erythrina americana-Vanilla planifolia*, (2).- *Erythrina americana-V. Planifolia-mesh shade* and (3).- *Citrus sinensis-V. planifolia*, using an approach based on the nutrient supply of substrates used by vanilla producers. In addition, the nutrient demand in the phenological growth phase of the fruit was determined using analytical leaf techniques; moreover, the percentage of endorhizospheric fungal colonization associated with the vanilla was determined, with the taxonomic characterization being carried out at the genus level of these biotic entities of the Hyphomycetes class.

The methodology for the diagnosis of substrates and plant tissue was based on NOM-021-SEMARNAT-2000. Counting mycorrhizal colonization was carried out with the method established by Phillips and Hayman, (1970), Kormanik, (1980), and Kormanik and McGraw, (1982). Taxonomic characterization of the genera of endo rhizospheric fungi was conducted with the dichotomous tables of the Saccardo classification system and the alternative series and genera key of the Hughes-Tubaki-Barron classification system.

The results show that the quality of substrates in the provision of nutrients is low for the three agroforestry systems. However, agroforestry system (1) presents the greatest problems with regard to micronutrient immobilization due to its pH alkalinity (7.7) and high content of non-mineralized organic matter (9%).

The average nutrient content in young leaves of total N, P, K, Ca and Mg was 2.44, 0.7, 2.33, 7.0 and 0.7% respectively; and Zn, Fe, Cu and Mn in mg kg⁻¹ were 104.09, 126.9, 21.24, 25.4 respectively. For the content of mature leaflets of total N, P, K, Ca and Mg were 1.58, 0.5, 1.79, 11.7, and 1.1% respectively; and Zn, Fe, Cu and Mn in mg kg⁻¹ were 77.12, 164.0, 16.72 and 39.2 respectively.

The results of statistical analysis show that in terms of the percentage of colonization there are no significant differences among the 3 agroforestry systems, since the results of the f test are less than 0.0001, for hyphae, platoons and segments without colonizing. The third agroforestry system shows the highest percentage of 95.5 hyphae and platoon 37.2

Eight rhizospheric genera of fungi were identified: *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Gliocladium*, *Paecilomyces*, *Rhizoctonia*, *Treatracladium* and *Trichoderma*; the most common in the three agroforestry systems is *Fusarium* and the one that presents the greatest frequency is *Trichoderma*, with 45.5% in agroforestry system (2).

The significance of the results lies in the generation of a scientific base that can enable the development of techniques applied to the improvement of vanilla agroforestry systems.

Key words: vanilla, agroforestry, endorizospheric fungi, nutrition.

¹Tesista

²Director de Tesis

ÍNDICE	
RESUMEN-----	
ABSTRACT-----	
ÍNDICE-----	
ÍNDICE DE CUADROS-----	
ÍNDICE DE FIGURAS-----	
1. INTRODUCCIÓN-----	1
2. OBJETIVOS-----	3
3. HIPÓTESIS-----	4
4. REVISIÓN DE LITERATURA -----	5
4.1. Antecedentes históricos del cultivo de la vainilla-----	5
4.1.1. El origen de los totonacos-----	8
4.1.2. La economía totonaca y la explotación de diversos pisos ecológicos---	9
4.1.3. Organización social y política del Totonacapan-----	10
4.2. Descripción general de la vainilla-----	13
4.2.1. Clasificación botánica de la Vainilla-----	13
4.2.2 Descripción morfológica-----	14
4.2.2.1. Raíz-----	14
4.2.2.2. Tallo-----	15
4.2.2.3. Hoja-----	15
4.2.2.4. Inflorescencia-----	15
4.2.2.5. Flor-----	16
4.2.2.6. Frutos-----	16
4.2.2.7. Semillas-----	17
4.3 Descripción fenológica-----	18

4.3.1. Crecimiento vegetativo-----	18
4.3.2. Período reproductivo-----	19
4.3.3. Brotación floral-----	19
4.3.4. Floración-----	19
4.3.4.1. Polinización-----	20
4.3.5. Período de crecimiento del fruto-----	21
4.3.6. Período de maduración del fruto-----	21
4.3.7 Período de cosecha-----	21
4.4. La importancia de la relación hongos del suelo-plantas-----	22
4.4.1. Sistemas micobiontes: estructura y función-----	22
4.4.2. Las micorrizas-----	24
4.4.2.1.Importancia de las micorrizas-----	25
4.4.2.2. Dependencia micorrízica-----	27
4.4.2.2.1. Plantas que obligadamente se micorrizan-----	28
4.4.2.2.2. Plantas con micorrización facultativa-----	28
4.4.2.2.3. Plantas que no presentan micorrización-----	28
4.4.2.3. Función de las hifas-----	29
5.4.2.4. Papel del sistema radical-----	29
4.4.2.5. Factores que influyen en la simbiosis micorrízica-----	31
4.4.2.6.El potencial de las micorrizas en la agricultura-----	33
4.5. Las orquídeas y su relación con los hongos micorrízicos-----	35
4.5.1. Micorrizas de las orquídeas-----	35
4.5.2. Colonización-----	36
4.5.3. Hongos asociados a las orquídeas-----	38
4.6. La importancia del sustrato en la nutrición de la vainilla-----	40
4.6.1. Sustratos-----	40
4.6.2. Nutrición de la vainilla-----	42

4.6.2.1. Nutrientes primarios de las plantas-----	42
4.6.2.2. Micronutrientes	45
4.7. Sistemas agroforestales más importantes asociados al cultivo de la vainilla en el Totonacapan-----	46
4.7.1. Generalidades de los sistemas agroforestales-----	46
4.7.2. Descripción de los sistemas agroforestales estudiados-----	48
4.7.2.1. Sistema agroforestal Pichoco (Eritrina sp.) – vainilla (Vanilla planifolia Andrews L.)-----	48
4.7.2.2. Sistema agroforestal cítrico (Citrus sinensis L.) – vainilla (Vanilla planifolia Andrews L.)-----	50
4.7.2.3. Sistema agroforestal Pichoco (Eritrina sp.) – vainilla (Vanilla planifolia Andrews L.) – malla de sombra 50% de luminosidad-----	52
5. METODOLOGÍA-----	55
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN-----	63
7. CONCLUSIONES-----	87
8. RECOMENDACIONES-----	88
9. LITERATURA CITADA-----	90
10 APENDICE-----	97

ÍNDICE DE CUADROS	
Cuadro 1. Clasificación botánica de la vainilla.	14
Cuadro 2. Trascendencia del establecimiento de la simbiosis micorrízica.	34
Cuadro3. Especies de orquídeas y hongos con los que puede interaccionar.	37
Cuadro 4. Géneros de hongos que micorrizan a las raíces de orquídeas.	38
Cuadro 5. Concentración aproximada de micronutrientes en varias especies de plantas.	45
Cuadro 6. Propiedades físicas y químicas.de los sustratos empleados en los sistemas agroforestales.	63
Cuadro 7. Interpretación de los valores de las propiedades físicas y químicas de los sustratos empleados en los sistemas agroforestales.	64
Cuadro 8. Valores de las relaciones catiónicas Ca/K y Mg/K para los tres sistemas agroforestales.	67
Cuadro 8. Valores de las relaciones catiónicas Ca/K y Mg/K para los tres sistemas agroforestales.	68
Cuadro 10. Contenido de nitrógeno total, fosforo y potasio en hojas jóvenes de vainilla de cada sistema agroforestal.	68
Cuadro 11. Contenido de calcio y magnesio en hojas jóvenes de vainilla de cada sistema agroforestal.	69
Cuadro12. Contenido de cobre y zinc en hojas jóvenes de vainilla de cada sistema agroforestal.	69
Cuadro 13. Contenido de hierro y manganeso en hojas jóvenes de vainilla de cada sistema agroforestal.	69
Cuadro 14. Contenido de nitrógeno total, fosforo y potasio en hojas madura de vainilla de cada sistema agroforestal.	69
Cuadro 15. Contenido de calcio y magnesio en hojas madura de vainilla de cada sistema agroforestal.	70
Cuadro 16. Contenido de cobre y zinc en hojas jóvenes de vainilla de cada sistema agroforestal.	70
Cuadro 17. Contenido de hierro y manganeso en hojas madura de vainilla de cada sistema agroforestal	70
Cuadro 18. Valores medios del contenido nutrimental en hoja joven de los tres sistemas agroforestales.	71
Cuadro 19. Valores medios del contenido nutrimental en hoja joven de los tres sistemas agroforestales.	72
Cuadro 20. Comparación de contenido de cada nutriente al interior de hoja joven VS hoja madura en los tres sistemas agroforestales.	72
Cuadro 21. Género de hongo endorizosferico de vainilla presentes por sistemas agroforestales.	85
Cuadro 22. Porcentaje de cada género de hongo endorizosferico de vainilla en los tres sistemas agroforestales.	85

ÍNDICE DE FIGURAS	
Fig. 1. Relación entre pH y la relación C/N según Hardon.	41
Fig. 2. Sistema agroforestal Eritryna americana-Vanilla planifolia, ubicado en el ejido primero de Mayo, Poza Rica, Veracruz.	49
Fig. 3. Sistema agroforestal Citrus Sinensis-Vanilla planifolia, ubicado en la comunidad de calle grande, San Rafael, Veracruz.	51
Fig. 4. Sistema agroforestal Erytrina americana-Vanilla planifolia-malla sombra, ubicado en la comunidad de Taracuan, Papantla de Olarte, Veracruz.	53
Fig. 5. Localización geográfica de los municipios donde se realizó el estudio.	55
Fig. 6. Comparación de medias del porcentaje de colonización de raíz de vanilla planifolia en los sistemas agroforestales	73
Fig. 7. Género Aspergillus niger encontrado en el sistema agroforestal.	76
Fig. 8. Género Cladosporium Herbarumr encontrado en el sistema agroforestal.	77
Fig. 9. Género Tricoderma encontrado en el sistema agroforestal.	78
Fig.10. Género Tretracladium encontrado en el sistema agroforestal.	79
Fig.11.Género Gliocladium encontrado en el sistema agroforestal	80
Fig.12.Género Fusarium encontrado en el sistema agroforestal	81
Fig.13. Género Paecilomyces encontrado en el sistema agroforestal.	82
Fig.14.Género Aspergillus wentii encontrado en el sistema agroforestal.	83
Fig. 15. Género Rhizoctonia encontrado los sistemas agroforestales.	84

1. INTRODUCCIÓN

La zona vainillera del Golfo de México, es una porción tropical donde se encuentran establecidas comunidades indígenas. Los sistemas de producción son tradicionales y eminentemente agroforestales ya que esta orquídea necesita de un árbol que brinde sombra y anclaje para poder desarrollarse, no se utilizan agroquímicos y es vulnerable a eventos climatológicos adversos (sequías en el primer semestre del año y huracanes en el segundo semestre), también se encuentran en tierras marginales, el productor no cuenta con capital económico suficiente para hacer enmiendas del manejo del sistema agroforestal, en contra parte cuenta con gran cantidad de mano de obra familiar.

Actualmente existen estudios referentes a la evaluación económica (costo/beneficio) de vainilla, estudios botánicos, estudios de caracterizaciones de los distintos sistemas asociados a vainilla, y poca investigación practica en el aspecto microbiológico y de nutrición vegetal de este cultivo, que nos permita concebir que está ocurriendo en las plantaciones y permita plantear estrategias integrales para afinar las prácticas productivas que el campesino realiza, por tal razón, la presente investigación resulta de una gran importancia, ya que este es uno de los primeros estudios en su clase para la región del totonacapan, que sentara bases con el objetivo de generar información científica con aplicación real, esto en un futuro detonará en un proceso de fortalecimiento de la cadena productiva agroforestal de la vainilla.

Esta investigación tiene como objetivos el diagnosticar la calidad nutrimental de los sustratos vainilleros que el campesino actualmente emplea, determinar las necesidades nutrimentales de la vainilla en los sistemas agroforestales (Cítrico- vainilla, Pichoco - vainilla y Pichoco - vainilla - malla sombra) y determinar el porcentaje de colonización de hongos filamentosos y caracterizar los principales géneros de estos que se asocia a la rizosfera de la vainilla en tres sistemas agroforestales dominantes (cítricos-vainilla, colorín-vainilla y cocuite-vainilla) de manera *in situ*.

Los resultados de esta investigación buscan brindar información básica y de referencia a los productores de la región que les permita tomar decisiones en el manejo nutrimental del cultivo de la vainilla.

El disponer de conocimiento de la calidad nutrimental de los sustratos vainilleros permitirá a las instituciones involucradas en el sistema producto vainilla y productores vainilleros diseñar estrategias de innovación tecnológica en estos sistemas agroforestales asociados e incidir de manera positiva en la producción, que por ende se traducirá en beneficios que ayuden a fortalecer la actividad vainillera en la región.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

- Generar conocimientos útiles sobre la interacción micorriza raíz en el cultivo de vainilla en la región de Totonacapan, así como aspectos relacionados con la nutrición de la misma que sirvan para mejorar el manejo agronomico de los sistemas agroforestales asociadas a esta orquídea.
-

2.2. Objetivos particulares

- Realizar un diagnóstico de fertilidad de los sustratos de los sistemas agroforestales (Cítrico-vainilla, Pichoco-vainilla y Pichoco-vainilla-malla sombra).
- Realizar un diagnóstico nutrimental del tejido vegetal en los sistemas agroforestales (Cítrico-vainilla, Pichoco-vainilla y Pichoco-vainilla-malla sombra).
- Determinar el porcentaje de colonización micorrízica por sistema agroforestal.
- Caracterizar los géneros de hongos filamentosos asociados a *Vanilla planifolia* en los tres sistemas agroforestales.

3. HIPÓTESIS

- La variabilidad en la diversidad de hongos filamentosos y el porcentaje de colonización es causada por la composición de los sustratos utilizados en los distintos sistemas agroforestales.
- La diferencia en el contenido de nutrientes en tejido vegetal se debe a la calidad nutrimental de los sustratos empleados.
- La actividad de los hongos en la rizosfera de la vainilla tiene un efecto sobre la absorción de algunos nutrientes y algunos son causante de enfermedades en esta orquídea.
- La información paramétrica de la demanda nutrimental de la vainilla permitirán hacer mejores recomendaciones nutrimentales en sus distintas etapas fenológicas.

4. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. Antecedentes históricos del cultivo de la vainilla

La vainilla es originaria de México y centro América, en la época prehispánica era utilizada por los aztecas como aromatizantes de bebidas y como moneda de pago, posteriormente los españoles propagaron su cultivos por las regiones tropicales, dándola a conocer después en Europa hacia finales del siglo XVI, sin embargo fue hasta mediados del siglo XIX cuando se inicio su cultivo.

En México la región original del cultivo está ubicada en el Totonacapán, que hasta la fecha es la zona más importante en producción nacional.

De acuerdo con López y Mata (2006), a principios del siglo pasado, comenzó la era de la internacionalización de la agricultura indígena en la costa norte de Veracruz, lo que parece una paradoja, porque fue la puerta de entrada de la cultura europea con Cristóbal Colón en 1492. En efecto, el café, el tabaco, la azúcar, el algodón, las fibras, las maderas y los tintes vegetales, después de la colonia constituyeron la fortaleza agrícola de México. El café adquirió una identidad propia de las regiones que comenzaron a generar excedentes para la exportación. Sin embargo, la vainilla desde tiempos remotos es símbolo distintivo de los pueblos de la región del Totonacapán, hacia la Zona Norte de Veracruz y la Sierra Norte de Puebla.

De acuerdo con Nelly y Palerm, en 1804, Alejandro Humbolt, quien indagó sobre esta especie en Xalapa y Veracruz sostuvo que toda la vainilla mexicana de exportación a Europa se concentraba en las intendencias de Veracruz y de Oaxaca la vainilla del Totonacapán es la especie conocida como *vanilla planifolia* que es objeto de comercialización. La cosecha del fruto en sazón se realizaba todos los años durante los meses que señalaban las autoridades para evitar su corte en estado verde, ya que cuando esto ocurría el producto resultaba de baja calidad.

El comercio de la vainilla representó uno de los mecanismos de explotación de mano de obra indígena con la fijación del precio del producto que imponían los comerciantes y beneficiadores. Humbolt describió el proceso; en el que los “habilitadores” adelantaban dinero a los “cosecheros”, quienes así comprometían su cosecha. Esto motivó quejas de los indios por los bajos precios del producto. La injusticia generó descontento y cuando las leyes se quebrantaron por la corrupción, los más débiles tomaron acciones por su propia cuenta, aunque eso tuvo efecto desfavorable para su misma clase. Proliferó el robo del producto en el campo y el asalto con violencia para despojar del dinero a los campesinos que alcanzaban a vender.

Desde hace dos siglos, los indígenas del Totonacapán son la base social de la producción de vainilla, porque el cultivo identificó la cultura totonaca con la permanencia de áreas cubiertas de monte que a los colonizadores europeos nunca les atrajeron. Por eso, la vainilla se producía en un medio ambiente limpio, saludable, sin aceleradores químicos y a los comerciantes se les entregaba en verde para el beneficiado que es un cuidadoso tratamiento a base de calor, exposición al sol, arropamiento y aireación en seco por espacio de cuarenta días aproximadamente, para evitar pudriciones, asegurar la conservación por largo tiempo y garantizar el procesamiento industrial. Por estas maniobras, el fruto de la vainilla se aleja de sus dueños originales y en manos del empresario adquiere hasta diez veces más valor, ya que son los acaparadores quienes dominan la técnica del beneficiado y las relaciones internacionales para la exportación.

La vainilla hasta mediados del siglo pasado, ocupaba un espacio de vegetación natural denominado acahual, que es un ecosistema de transición hacia el monte alto. El cultivo de la vainilla compartía un medio ampliamente diversificado, de donde el campesino derivaba una gran cantidad de productos alimentarios, materiales para la construcción de viviendas, plantas medicinales para su sanación y recursos monetarios por la venta de vainilla, de pimienta y madera.

Esta forma de aprovechar el espacio físico y temporal, junto con la combinación de varias especies vegetales, son reflejo de un respeto a la tierra, los ciclos biológicos, que en la actualidad la agroforestería promueve.

Sin embargo, en la segunda mitad del siglo pasado, extensas áreas de monte y de acahual, dieron paso a la agricultura y a la ganadería y el poder del capital agrícola e industrial se impuso a la forma de vida campesina. El mercado de la vainilla entró en crisis después de que la región de Papantla alcanzó el máximo en 1956 y 1958, con 2 mil toneladas del producto verde y exportó 300 toneladas de vainilla beneficiada. Posteriormente los países consumidores encontraron sustitutos sintéticos, y los precios se comportaron a la baja, disminuyeron al grado de que no compensaban los costos de producción, sobre todo con respecto al sostén de las familias que se ocupaban en la polinización de las flores durante un mes. La crisis dañó severamente la economía de la población que dependía de la vainilla. Resultó difícil la conservación de las áreas forestales que cumplían una función biológica muy importante para el hombre, la de ser fuente de oxigenación, de control de caudales y del lavado del suelo en las zonas altas de esta región.

A finales de la década pasada, los productores percibieron nuevos horizontes por la demanda no satisfecha con las cosechas obtenidas en pequeñas parcelas y reducidos acahuales que aún permanecían en las áreas montañosas. La vainilla se abrió nuevamente al mercado mundial. Como el abandono en que se mantuvo la actividad vainillera en la zona norte de Veracruz no favoreció el desarrollo tecnológico, los rendimientos continuaban bajos. Hasta el año 2000, las estadísticas reportaron rendimientos inferiores a 200 kg ha^{-1} para los estados de Veracruz y Oaxaca. En el 2000, Veracruz reportó una superficie de 1253 ha con un rendimiento de 102 kg ha^{-1} y Oaxaca 640 ha con 142 kg ha^{-1} de vainilla verde.

Mientras esa realidad prevalecía en México, otros países del sur de África y Oceanía, mostraban mayores ventajas tecnológicas y cubrían en gran parte la demanda de Europa, Asia y Estados Unidos. En este escenario, los productores buscaron reactivar las áreas

que antaño habían logrado fama internacional, pero a diferencia de aquellos tiempos, ahora tienen que enfrentar el poder de la globalización (López y Mata, 2006)

4.1.1. El origen de los totonacos

Alrededor del cultivo de la vainilla se desarrolló una cultura, la cual es pionera en la generación de conocimiento sobre cómo aprovechar esta orquídea y que en la actualidad es utilizada por otros países y agroindustriales con miras de lucrar económicamente, desvirtuando la filosofía de este pueblo, para entender un poco más sobre esta manera de producción agroforestal, es importante tener el antecedente de quien fue esta cultura que acuñó el conocimiento agronómico de cómo cultivar y aprovechar esta orquídea y que finalmente la aportó al mundo.

Las versiones sobre el origen de los totonacos, son contradictorias; Torquemada planteó en su Monarquía Indiana que salieron de Chicomoztoc o Siete Cuevas, pasaron por Teotihuacan y luego se dirigieron hacia Atenamitit, actual Zacatlán, para luego extenderse por toda la serranía, llegando a los llanos de Cempoala, junto al actual Veracruz. El autor no aclara el origen de esta versión, aunque es muy probable que la haya recogido en Zacatlán durante el periodo (1600) en que fue guardián de dicho convento. Las versiones de las Relaciones geográficas son opuestas: en Tlacolula los informantes dicen "aver salido de la mar, que fueron quatro, de los cuales salieron muchos Indios desta lengua totonaque y poblaron treze pueblos". En San Esteban, sujeto de Tetela, los informantes nahuas explican que la nación totonaca tiene este nombre "porque vinieron de hacia donde sale el sol". (Masferrer, 2006)

4.1.2. La economía totonaca y la explotación de diversos pisos ecológicos

Las preguntas dedicadas a los recursos naturales, el clima, principales accidentes geográficos, flora y fauna están bien detalladas. Gracias a ellas se concluye que el Totonacapan comprende distintos ambientes naturales, por eso sus habitantes acceden a productos de distintos pisos ecológicos.

Aparentemente la sal es el único producto de importación. Se obtenía por intercambio de Tepeaca, de Tehuacán o de Campeche; en este último caso, la transacción se hacía a través del actual Puerto de Veracruz, el punto central de confluencia de una antigua ruta prehispánica de sal (Mendizábal, 1944).

Asociarse a pisos ecológicos diferentes permitió a los totonacos resistir ciertas contingencias climáticas, aunque también por esa causa se facilitó la conquista mexicana. El Valle de México era, como lo prueba la gran hambruna de principios del siglo XVI, antes de la llegada de Cortés (Mendieta, 1945), hondamente sensible a los cambios climáticos y el control del Totonacapan aseguraba una fuente permanente de abastecimientos alimenticios al Imperio.

La antigua organización política totonaca comprendía dentro de cada unidad, poblaciones con distintos "temples" que toleraban complementar sus recursos: "Chiconquiyauco estaba "ubicada en un alto cerca de una serranya, es tierra templada y húmeda, tiene una aldea en tierra caliente a una legua". De igual modo, Xilotepec -tiene un barrio que llaman Chepultepec, fundado en un valle hondo muy apacible [...] mucho más templado que el pueblo de Xilotepec su conjunto y así se dan en el: plátanos, chile, naranjas, lima y gran suma de arboleda silvestre y frutas y flores da tierra caliente" (Mota y Escobar 1609).

La importancia de la multiplicidad de pisos ecológicos fue destacada también en la relación de Xalapa cuando se describe Yzguacán- el cual es "de tierra fría, sana y muy húmeda".

Todavía en la actualidad, particularmente en la Sierra norte de Puebla, se aprovecha el factor de los pisos ecológicos variados. Ante los cambios de altura y por consiguiente de temperatura y humedad, los campesinos totonacos tienden a cultivar parcelas ubicadas en pisos ecológicos heterogéneos para así diversificar su producción y obtener la mayor cantidad de productos; cubren al máximo sus necesidades de autoconsumo, al tiempo que disminuyen el impacto de las contingencias climáticas y fortalecen su economía doméstica, garantizando los alimentos fuera de los circuitos comerciales. La memoria de los distintos pisos ecológicos se mantiene entre Jonotla y la comunidad de Tecpancingo, ubicada en otro municipio. Sus habitantes aseguran ser de Jonotla e incluso inscriben a sus hijos en las escuelas del lugar (Ortiz, 1995).

Algo semejante sucede con el municipio de Zihuateutla, que desde una posición muy cercana a Huauchinango se extiende hasta la frontera con Veracruz, lo que implica trasladarse de una cota de 1,500 m a otra de 150 m. Los campesinos poseen tierras y cultivos en varios niveles y deben caminar 14 hectáreas para llegar a la frontera veracruzana, el punto más lejano, donde cultivan productos de "tierra caliente. Los casos no son excepcionales, sino demuestran que todavía, a pesar de la estrategia de "pueblos de indios", implementada por los españoles, se requiere el acceso a distintos pisos ecológicos como un recurso productivo contemporáneo. (García Martínez, 1987)

4.1.3. Organización social y política del Totonacapan

La información disponible sobre la organización política de los totonacos es fragmentaria y todavía incompleta.

Evidentemente se trataba de una sociedad estratificada, con diferenciación social y relaciones políticas basadas en el parentesco. Prueba de esto fue que el "cacique gordo" de Cempoala ofreció a Cortés su sobrina como medio para ratificar la alianza política establecida, y el cacique de Matlatlán fue acusado de estar casado con sus "primas o parientas" (Olmos, 1972). El hecho de que el "cacique gordo" y sus principales ofrecieran a Cortés y a sus oficiales sus sobrinas nos hace pensar hipotéticamente .en

una sociedad matrilateral, pues en ningún caso Bernal menciona que se ofreciera a las hijas.

La Conquista trajo consigo la eliminación de las capas más altas dentro de la sociedad totonaca, a pesar de lo cual hacia 1610 persistían los jefes étnicos de segundo nivel. En 1581, al realizarse la descripción del pueblo de Xonotla, se señala que es gobernador de éste y sus sujetos don Antonio Luna, cuya "gobernación es perpetua a este y sus descendientes por ser señor natural", los mecanismos de legitimidad de los jefes étnicos eran la descendencia y el cumplimiento de ciertos roles políticos, sociales y religiosos.

Los jefes étnicos y sacerdotes totonacos recibían tributos de sus subordinados. Sin embargo, de acuerdo con la información de las Relaciones Geográficas había una diferencia cualitativa entre lo que se entregaba a Moctezuma, lo que luego era entregado a los españoles y recibido por los jefes étnicos locales. Moctezuma y los españoles recibían cantidades establecidas de determinados productos "en tiempo de su gentilidad eran del Rey de México Moctezuma. Tributándole cada un año, cuarenta cargas de liquidámbar para sahumerios.

De igual manera, los tributos fijados por los españoles eran en especie (media fanegada de maíz) y en dinero (un peso). Empero, los tributos a los jefes étnicos o sacerdotes totonacos equivalían a trabajo o energía humana, no a productos: "fueron vasallos y sujetos al señor de la cabecera y a éste le tributaban hacer sementeras de maíz y de otras legumbres para su sustento". Igual obligación tenían para el mantenimiento del culto totonaca: 'Juntábanse todo el pueblo y hacían una gran sementera para el Señor del Maíz' (Masferrer, 2006)

La recepción del tributo en cantidades fijas de bienes implica una relación social y política basada en la entrega de los bienes requeridos. Consiste en un sistema en donde lo que se entrega no son bienes materiales sino energía humana para la realización de sementeras, en un proceso de trabajo comunal.

El poder regional de los jefes étnicos totonacos entró en una crisis aguda durante el siglo XVIII. En este periodo, como lo demostrará Bernardo (García, 1987) en su excelente tesis *Indians, Conquest and Political Desintegration (1519-1700)*, las distintas comunidades se independizaron de sus cabeceras y se convirtieron en pueblos con un gobierno propio: así eliminaron los aspectos más significativos de un poder regional totonaco de origen prehispánico.

El Totonacapan no era un gran productor de minerales, particularmente de oro o plata. Su especialización eran los alimentos y consecuentemente los conquistadores mantuvieron los tributos en alimentos a los que agregaron tributos en dinero. Para obtener este dinero, los indígenas se vieron obligados a vender a precio injusto sus productos o a prestar servicios personales en el puerto de Veracruz o en las explotaciones organizadas por los españoles.(Mendieta,1945)

Con esto se puede decir que el pueblo totonaca y la región han sido siempre de vocación agrícola, y dadas las diferentes condiciones orográficas y climáticas, existe una gran diversidad de especies frutales, ornamentales, vegetales y aromáticas que el imperio mexica y los invasores españoles reconocieron y explotaron, obligando a estos pueblos a dedicarse a las actividades productivas, mismas que antes de ser sometidos realizaban, lo cual les permitió desarrollar habilidades agronómicas, que plasmaron y perfeccionaron en la forma de producir, donde se respetaba la naturaleza, es decir; ellos observaron y mediante esto reprodujeron los ambientes para cultivar varias especies vegetales de la región, logrando entender procesos naturales que ayudaban a domesticar estos recursos, tal fue su sabiduría que nos obsequiaron la manera de cultivar el fruto de la vainilla.

Han pasado más de 500 años desde la persecución de este pueblo en la región, y esta situación no permitió que se siguiera generando más conocimiento sobre el cultivo de la vainilla por parte de los totonacas, actualmente no se ha vislumbrado la importancia del cultivo de la vainilla como polo de desarrollo de las comunidades rurales del totonacapan y la oportunidad de reapropiación de nuestros símbolos biológicos que nos dan identidad, los esfuerzos de unos cuantos actores como don Macario de compartir su

conocimiento de esta maravillosa orquídea, son solos casos aislados que deben ser escuchados y reproducidos por la gente que nos ha tocado escucharlo y aprender de él .

El vacío histórico que generó la conquista en la generación de más conocimiento sobre el cultivo de la vainilla debe ser superado, actualmente existen técnicas científicas y metodológicas que los actuales profesionistas del campo debemos emplear para ayudar a seguir aportando información que ayuden a los actuales campesinos de la región del totonacapan que se dedican al cultivo de la vainilla, para fortalecerlos, es claro que falta mucho que aportar, pero los cimientos ya los han aportado los totonacas.

4.2. Descripción general de la vainilla

4.2.1. Clasificación botánica de la vainilla

Para entender la manera de producir vainilla, es necesario apoyarse de herramientas de diagnóstico que nos permitan diseñar una nutrición ideal con base a un rendimiento meta y de integrar una estrategia para garantizar el suministro de ella, el saber las relaciones simbióticas con microorganismos también es importante ya que hay microorganismos que ayudan a la absorción de nutrientes, como es el caso de las micorrizas, pero igual de importante también lo es el conocimiento de la taxonomía, la morfología y la fenología del recurso fitogénético que ocupa a esta investigación, recurso se intenta comprender en miras de proponer estrategias de innovación que den pauta a mejorar los sistemas de producción actual relacionados con esta orquídea.

En el Cuadro 1, se muestra la clasificación botánica de esta especie de acuerdo a (Marie-Pierre y Frascois, 2007)

Cuadro 1. Clasificación botánica de la vainilla.

Reino	Vegetal	
Subreino	Spermatofitas	
Tipo	Fanerogamas	
Clase	Monocotiledóneas	
Orden	Microesperma o Gimnadales	
Familia	Orquidácea	
Subfamilia	Epidendroideae Lindley	
Tribu	Vanilleae Blume	
Subtribu	Vanillinae Lindley	
Genero	<i>Vanilla</i> Swartz	
Especie	<i>V. Planifolia</i> (L.) Andrews	
Sinonimia	<i>V. fragans</i> (Salisb.) Ames	
	<i>Epidendrum vanilla</i> L.	
	<i>Mybroma fragans</i> (Salisb.)	

4.2.2 Descripción morfológica

La vainilla es una planta herbácea carnosa perenne que necesita para su desarrollo de un árbol, que le brinde protección y soporte, por tal razón esta orquídea forma parte de un componente agroforestal, se sujeta al árbol por medio de raíces adventicias, llegando tener una altura de 10 a 15 m.

El conocer como es la planta físicamente es un criterio que ayuda a proponer y elegir el mejor arreglo agroforestal en la parcela, al igual que el tutor que se va a emplear para calcular el número de árboles que se debe acondicionar para que den cobijo a la vainilla.

5.2.2.1. Raíz

Las raíces son de origen adventicio, presentan dos variaciones: a) la que se origina cuando se plantan los esquejes de la vainilla, las raíces emergen de los nudos que están en contacto con el suelo, se distribuyen superficialmente entre el sustrato, se ramifica y desarrollan pelos absorbentes, b) raíces que se originan en la parte aérea. De cada nudo comúnmente brota una o dos raíces aéreas, la emisión de dos o más raíces es más frecuente cuando el tallo esta enfermo, y en este caso, el par de raíces difiere de geotropismo esto de acuerdo a su función: una sirve para sujetarse al tutor y tiene un

crecimiento más o menos horizontal y mide entre 5 y 15 cm.; la otra raíz tiene un marcado geotropismo positivo, puede tener más de 2 m de longitud y cuando alcanza el suelo desarrolla pelos absorbentes (Castillo, 1989).

Las raíces adventicias son de color blanquecino, de aproximadamente 2 mm de diámetro, se generan en los nudos por lo general individualmente en posición opuesta con las hojas (Purseglove, 1972).

4.2.2.2. Tallo

Este es largo cilíndrico, monopódico, simple o ramificado, succulento, flexible y frágil, con un diámetro que va de 1 a 2 cm, en color verde oscuro, fotosintéticamente activo con presencia de estomas, entrenudos de 10 a 15 cm de longitud.

5.2.2.3. Hoja

Las hojas de la vainilla son enteras, planas, ovales, oblongas terminadas en punta, son alternas y nacen en oposición con las raíces aéreas modificadas, de cada uno de los nudos de la planta, son subsesiles provistas de un pecíolo corto en forma de canal.

Generalmente están dirigidas hacia abajo, exceptuando la que se encuentra en el ápice y son paralelinerves. Su tamaño se encuentra entre los 10 y 25 cm, dependiendo de la variedad (Castillo, 1989).

5.2.2.4. Inflorescencia

Son racimos axilares con raquis cilíndrico, grueso, verdaderamente ramificado. En la base de la inflorescencia hay de 4 a 5 brácteas. En posición dística y son cóncavas, con 0.5-1.5 de cm de longitud y lo mismo de ancho en la base.

En *Vanilla planifolia* cada inflorescencia contiene de 15 a 20 flores, y su tamaño en estado maduro disminuye ligeramente de la inflorescencia al ápice (Castillo, 1989), regionalmente se le conoce a esta estructura como maceta.

4.2.2.5. Flor

Las flores son perfectas, de simetría bilateral, algo característico en las orquídeas. El ovario es infero, verde, cilíndrico y tricarpelar de 4 a 8 cm. de longitud y de 3 a 5 mm de diámetro. La flor presenta tres sépalos, tres pétalos de color verde amarillento, y una estructura central conocida como columna o ginostemo, donde están fusionados los órganos masculinos y femeninos, los sépalos son oblongos-laciolados, ligeramente cóncavos y de apariencia cerosa, el sépalo superior es un poco más largo y estrecho de los dos inferiores. Los dos pétalos superiores son poco diferenciables de los sépalos. El pétalo inferior está sumamente modificado y es denominado labio o labelo. Este pétalo es más corto y mucho más ancho que los dos pétalos superiores; está adherido a la columna casi hasta el ápice. El labelo y la columna forman una estructura semejante a una trompeta (Marie-Pierre y Francois, 2007).

El margen libre del labelo es resuelto, dentado y ligeramente trilobado. El labelo tiene en la superficie interna un disco con hileras longitudinales de papilas verrugosas, y en el centro tiene un haz de membrana con márgenes fibrosas. La columna ocupa el centro de la flor; está casi completamente envuelta por el labelo. La superficie de la columna que está orientada hacia el labelo, es densamente pilosa. Tienen una antena apical que contiene los granos de polen agrupados en dos polinios. En la zona ventral, debajo de la antera, está el estigma cóncavo y pegajoso. Una membrana denominada rostelo se interpone entre la antera y el estigma (Marie-Pierre y Francois, 2007).

4.2.2.6. Frutos

El fruto es una cápsula silicuiforme, larga, verde, carnosa, succulenta, ligeramente triangular y dehiscente. En su interior contiene una gran cantidad de semillas negras y

subglobosas. Las semillas del ápice del fruto maduran primero, y la dehiscencia también se realiza paulatinamente del ápice hacia la base. La testa es sólida de olor suave y balsámica, de sabor ocre picante y aromática (Parra, 1984).

4.2.2.7. Semillas

Las semillas de las orquídeas son pequeñas y se estima que en un fruto pueden tener hasta 100,000 semillas, el tamaño de la semilla de vainilla va de 0.312 mm a 0.26 mm (Parra, 1984).

Como se ha mencionado, la vainilla es una orquídea semiterrestre, ya que se adapta a condiciones de humedad en el sustrato y a diferencia de otras orquídeas, no posee pseudobulbos en los cuales pueda almacenar agua, por tal razón necesita de ambientes con humedades relativas altas, no resiste sequías prolongadas y su disposición alterna de las hojas permite que crezca en condiciones donde la luz solar es escasa. Sus raíces se caracterizan por tener pelos absorbentes muy pequeños y una rizósfera grande. A medida que crece el bejuco y es reencausado nuevamente al sustrato que lo alberga, una de sus yemas que nuevamente se entierra tiene la capacidad fisiológica de generar nuevas raíces, lo cual funciona como un sistema de rebombeo de nutrimentos y agua que revitaliza el crecimiento vegetativo del nuevo tramo de bejuco, que en el siguiente ciclo dará soporte a las nuevas estructuras florales.

Finalmente, la estructura o la parte aprovechable de esta planta, es la vaina en cuyo interior se encuentran almacenados los compuestos químicos como la glucovainilla que después de la cosecha y un proceso de secado causarán una reacción hidrotérmica, la cual formará los compuestos fenólicos que le confieren ese aroma y propiedades medicinales.

Además de la morfología es importante observar las etapas de desarrollo o cambios que se dan en respuesta a cambios ambientales, lo cual en un futuro permitirá hacer la planeación precisa de las labores culturales del sistema agroforestal, es necesario que

cualquier persona relacionada con el cultivo de esta especie, conozca su funcionamiento fisiológico, el cual se menciona en el siguiente apartado.

4.3 Descripción fenológica

La fenología obtenida es una herramienta de gran valor para el cultivo de esta orquídea, ya que se puede realizar una programación de las actividades necesarias para prevenir problemas (como plagas y enfermedades) y de esta manera, crear estrategias para que el cultivo se logre satisfactoriamente (Solórzano, 2000).

Tomando como base el estudio realizado por Castillo (1989), en el que se describen las etapas fenológicas del cultivo de la vainilla presentes en un ciclo anual, se puede mencionar la siguiente información.

4.3.1. Crecimiento vegetativo

El inicio de la actividad fenológica del cultivo de la orquídea empieza después del enraizamiento del esqueje, con el periodo del crecimiento vegetativo, el cual comprende la fase de brotación vegetativa de las yemas laterales, por lo que el crecimiento de la vainilla es de tipo simpodial. Durante los dos primeros años, el vigor de crecimiento es menor que cuando la planta es madura, esta fase es importante pues repercute directamente sobre la producción en los próximos años.

El crecimiento vegetativo comprende dos épocas de crecimiento durante el año, la primera inicia a mediados de marzo hasta mediados de mayo, los datos obtenidos en campo por Castillo (1989) sobre el número de brotes en el mes de abril de 1987 fue de 0.3 a 0.5 por planta, pero este detuvo su crecimiento entre mediados de mayo y mediados de junio la reanudación de crecimiento vegetativo se inició a mediados de junio y disminuye hasta mediados de agosto, sin embargo la brotación ocurre entre los meses de julio y mediados de agosto, en este segundo flujo a diferencia del primero, el

número de brotes registrados fue de 1 a 2 por planta, además estos crecieron más en longitud, empezando a disminuir su crecimiento después de la segunda quincena del mes de agosto hasta mitad de marzo (Castillo, 1989).

La investigación de Castillo determinó que la tasa de crecimiento de la *Vanilla planifolia* por día es del orden de 2.3 cm. a 3.5 cm., en los periodos favorables.

4.3.2. Período reproductivo

Esta inicia cuando la planta ha alcanzado un tamaño considerable después de los dos primeros años de crecimiento, lo cual da lugar a la madurez sexual de esta, aquí se comprenden dos fases la brotación foral y la floración (Castillo, 1989).

4.3.3. Brotación floral

Esta relacionada directamente con el vigor de la planta y el crecimiento vegetativo que haya acumulado hasta la fecha, el número de inflorescencia que puede producir una planta es muy variable, pero el promedio fluctúa entre 2 y 10 por planta (Montero, 1996).

El inicio más probable de la aparición o diferenciación de las yemas florales se da a mediados de febrero y concluye a aproximadamente a mediados de marzo.

Esta brotación no es simultánea en la misma planta o en el mismo tallo, el lapso desde la brotación de las inflorescencias individuales hasta la antesis de su primera flor es variable (70-75 días) y (40-45 días) (Montero, 1996).

4.3.4. Floración

Este periodo comprende solo la apertura de los capullos florales de cada inflorescencia, la cual empieza de la base de la inflorescencia hacia el ápice, una inflorescencia

frecuentemente abre una flor por día, pero pueden abrir dos y raramente tres, o no abrir ninguna durante uno o dos días.

La apertura de las flores se inicia cuando oscurece, y entre las 22:00 y 23:00 horas es posible ver el tubo del labelo. La apertura continúa paulatinamente durante toda la noche y entre las 4:00 y 6:00 horas las flores están en su apertura máxima (Castillo, 1989).

La floración intensa del vainal se inicia aproximadamente del 23 al 24 de marzo y concluye aproximadamente del 22 al 23 de mayo.

Una parte importante dentro de este periodo es el subperíodo conocido como polinización.

4.3.4.1. Polinización

Esta puede ser realizada de manera natural por un cierto tipo de abeja conocida como Melipona, la cual ha coexistido y evolucionado paralelamente a este tipo de orquídea, realizando un tipo de polinización cruzada, que es la mas recomendable pues induce un tipo de selección natural dentro de la misma especie, y genera organismos más resistentes a la condiciones externas del entorno, de manera silvestre (Castillo, 1989).

Dentro del manejo agronómico, la utilización de la polinización natural no es muy frecuente, pues no garantiza la fecundación de un porcentaje considerable de flores y por tal razón provoca producciones de frutos muy bajas y heterogéneas, pero si puede ser empleada como método complementario dentro del vainal (Castillo, 1989).

El otro tipo es la polinización asistida manualmente, donde se levanta el rostelo y se oprime ligeramente la antera contra el estigma. Si la polinización se realizó correctamente, un día después los sépalos y pétalos están marchitos, mientras que el ginostemo y el ovario permanecen turgentes, en el caso contrario, un día después todas

las flores están flácidas, y a los 2 o 3 días se desprenden del ginostemo y a los 9 o 10 días el ovario de la inflorescencia se desprende (Castillo, 1989).

La duración de este proceso es muy variable pues hay productores quienes polinizan de 6 a 8 flores y algunos otros mas, pero si consideramos que cada una de la inflorescencia tiene de 15 a 20 flores, este proceso del cultivo puede durar hasta un mes empleando jornales, pues no todas las flores en cada una de la inflorescencia abren al mismo tiempo (Castillo, 1989).

4.3.5. Período de crecimiento del fruto

Esta ocurre en los 50 días después de la polinización, el cambio morfológico del ovario es evidente, ya que este crece en longitud y después en diámetro, por tanto la fecha aproximada de esta fase comprende los meses de junio y julio.

4.3.6. Período de maduración del fruto

Es la última fase del cultivo antes de su cosecha, el indicador de madurez se observa por un cambio de color, de verde brillante a verde amarillo en la parte inferior del fruto (la parte opuesta a donde esta prendido en la inflorescencia), que es un signo del inicio de la dehiscencia (Parra, 1984).

La maduración prematura de los frutos de acuerdo con Marie-Pierre y Francois, (2007), puede deberse a un menor contenido de semillas normales en el fruto partenocárpico a los siete meses, mientras que, de los frutos con semilla normales se inicia a los 9 meses después de la polinización.

4.3.7 Período de cosecha

El periodo de cosecha es variado, la planta fisiológicamente esta lista de finales de septiembre hasta diciembre.

4.4. La importancia de la relación hongos del suelo-plantas

4.4.1. Sistemas micobiontes: estructura y función

La historia de la micorriza arbuscular (MA) se remonta hasta unos 400 millones de años, en el período Devónico. Evidencias fósiles y moleculares (Simon, 1993) apuntan a esta época como el principio de la asociación entre antecesores de las actuales plantas terrestres y de los actuales hongos formadores de micorrizas arbusculares (hongos MA) (Zigomicota, orden Gomales) (Morton y Benny, 1990). Desde entonces, hongos MA y plantas han evolucionado conjuntamente hasta hoy en día. El hecho de que, en la actualidad, más de 80% de las plantas terrestres formen MA en condiciones naturales (Smith y Read, 1997) da una idea del éxito de la asociación, de la que ambos organismos se benefician. En una MA funcional, la planta cede al hongo heterótrofo productos carbonados derivados de la fotosíntesis. En contrapartida, el micosimbionte aporta a la planta nutrientes minerales y agua obtenidos como consecuencia de su mayor accesibilidad a recursos distantes del sistema radical. Aunque la base de la simbiosis MA es nutricional, también existen otros beneficios derivados de la asociación, como son una mayor resistencia de la planta micorrizada al ataque de patógenos que afectan al sistema radical a la presencia de metales pesados en el suelo o al estrés hídrico (Sánchez, 1994). Por su parte, dada su condición de simbiote obligado, al hongo MA le es fundamental encontrar y colonizar una raíz hospedadora, ya que en su ausencia, y por motivos aún desconocidos, su crecimiento cesa, no llegándose a completar su ciclo de vida (Ames *et al*, 1984).

Esta simbiosis se caracteriza por ser la parte más activa de los órganos de absorción de la planta, y es altamente efectiva en la captación de nutrientes y agua del suelo (Barea y Jeffries, 1995).

La colonización biotrófica de la raíz por los hongos MA provoca un desarrollo extensivo de micelio que interactúa con los microhábitats del suelo y grupos microbianos rizosféricos, dentro de la raíz. Este micelio conecta con la célula vegetal a través del

arbusculo (estructura fúngica responsable del intercambio nutricional entre ambas partes asociadas).

Al producirse la entrada del hongo en la célula vegetal, ésta sintetiza la membrana perisimbiótica que posee fosfatasa neutra y ATP-asa, implicadas en la degradación de gránulos de fosfato y su transferencia activa al vegetal, respectivamente, y dicha membrana continúa con la membrana plasmática que es la que rodea a la hifa del hongo (Perotto, 1994). Como consecuencia del establecimiento de las interfases simbióticas, se provoca un aumento de las superficies de contacto y se facilita el intercambio de nutrientes entre las partes asociadas (células del hongo y la planta). La vida media del arbusculo es de 9 a 15 días, para después terminar convertidos en esporas. Como esporas pueden permanecer por mucho tiempo, mientras que las hifas si encuentran una raíz hospedadora en un tiempo de 2 a 4 semanas se colapsan (Bansal y Makerji, 1994).

La simbiosis de los hongos contribuye al crecimiento de las plantas, incrementa la productividad de plantaciones forestales y favorece el establecimiento de las plantas en ecosistemas con disturbios severos. Además representa un potencial muy grande en la agricultura, Sin embargo, aun no se conoce suficientemente el papel de esta simbiosis en la naturaleza o su potencial en el manejo de ecosistemas para su aplicación, lo cual ha originado, que en estas dos últimas décadas se incremente la investigación.

En el escenario actual, donde los insumos están aumentando de precio, el uso de hongos micorrizicos y entomopatogenos son una alternativa real para hacer frente al escenario incierto que plantea el mercado global, abaratando costos de producción y promover una agricultura más sostenible.

Las epifitas como la vainilla, al igual que el resto de las plantas terrestres crean interacciones con otros organismos de suelo, de acuerdo con (Ferrera, 1995), menciona que la raíz realiza importantes procesos que definen el desarrollo y la producción de las plantas. Existe flujo de compuestos producto de la fotosíntesis que son exudados por la raíz, en forma de carbohidratos, aminoácidos, vitaminas, enzimas, nucleótidos, etc. Lo

cual hace de este sitio, una zona ideal para el crecimiento de una gran variedad de microorganismos que al establecerse, tienen diferentes funciones relacionadas con las plantas. Gracias a estos organismos existe la disponibilidad de nutrientes a través de la liberación del P, K, la fijación biológica de N₂, la producción de hormonas, la simbiosis con los hongos formadores de la micorriza y el control biológico natural.

Por la secreción de estos exudados muchísimos microorganismos del suelo (bacterias, hongos, actinomicetos, algas) crean relaciones con las plantas, ya sea positiva o negativamente.

4.4.2. Las micorrizas

La palabra **micorriza**, de origen griego, define la simbiosis entre un hongo (*mycos*) y las raíces (*rhizos*) de una planta. Como en toda relación simbiótica, los participantes obtienen beneficio. En este caso la planta recibe del hongo principalmente nutrientes minerales y agua, y el hongo obtiene de la planta **hidratos de carbono y vitaminas** que él por sí mismo es incapaz de sintetizar mientras que ella lo puede hacer gracias a la fotosíntesis y otras reacciones internas (Brundret, 1991).

Muchas plantas presentan micorrizas para aumentar la absorción de agua y sales minerales del suelo. Las micorrizas son la asociación entre raíces de una planta y el micelio de un hongo, de forma que toda la extensión del micelio participa en la absorción de nutrientes para la planta.

En la Naturaleza esta simbiosis se produce espontáneamente. Se estima que entre el 90 y el 95% de las plantas superiores presentan micorrizas de forma habitual y es posible que un mismo hongo forme la micorriza con más de una planta a la vez, estableciéndose de este modo una conexión entre plantas distintas; esto facilita la existencia de plantas parásitas (algunas de las cuales ni siquiera realizan la fotosíntesis, como las del género *Monotropa*), que extraen todo lo que necesitan del hongo micobionte y las otras plantas con las que éste también establece simbiosis. Así mismo, varios hongos (en ocasiones de especies diferentes) pueden micorrizar una planta al mismo tiempo (Brundret, 1991).

4.4.2.1. Importancia de las micorrizas

La importancia de la simbiosis micorrízica es que actúa en una función primaria de la fisiología vegetal, ya que ayuda a las plantas en la asimilación de algunos nutrimentos del suelo como fósforo, nitrógeno, calcio, magnesio, zinc, etc.; pero no es la única, ya que se puede mencionar otras funciones sobresalientes en las que participan, como las siguientes:

a) Beneficios para la planta

- Incrementan el suministro de nutrimentos porque la raíz micorrizada tiene un área de exploración mayor.
- Adquiere nutrimentos en forma química que la planta normalmente no absorbe.
- Algunas micorrizas ericoides y ectomicorrizas, son capaces de romper moléculas fenólicas en el suelo que interfieren con el suministro de nutrimentos (Bending y Read, 1997).
- La colonización de la raíz tanto por hongos ectomicorrízicos como por micorrizas arbusculares pueden proveer de protección a la planta de parásitos, hongos patógenos y nematodos (Duchesne *et al.*, 1989); Grandmaison *et al.*, 1993; Little y Maun, 1996; Cordier *et al.*, 1998; Morin *et al.*, 1999).
- Se tienen beneficios en las plantas con efectos que no se relacionan con la nutrición vegetal, como cambios en las relaciones hídricas en los niveles hormonales y en la asimilación del carbono. entre otros, pero estos beneficios son difíciles de interpretar.
- Promueven incrementos en la producción la acumulación de nutrimentos, y/o sucesos reproductivos (Lewis y Koide 1990, Stanley *et al.*, 1993).
- Las micorrizas pueden originar un crecimiento y cambio en la arquitectura de la raíz y en el tejido vascular (Hetrick, 1988; Miller *et al.*, 1997).
- Se ha observado la supresión por competencia de las plantas no micorrizadas por las micorrizadas (Allen, 1989).

- Se ha medido la transferencia significativa del carbono a diferentes plantas, a través de las conexiones del micelio de los hongos ectomicorrízicos (Simard, 1997). Esto reduce la competencia entre plantas y contribuye a la estabilidad y diversidad del ecosistema.
- La red de hifas que se desarrolla en árboles dominantes o grandes, puede ayudar a la germinación de semillas, al establecimiento o crecimiento de las plantas bajo su dosel (Hogberg *et al.*, 1999; Horton *et al.*, 1999).
- Puede ocurrir la transferencia de nutrimentos de una planta muerta a otra que está creciendo (Eason *et al.*, 1991).

b) Beneficios en el ecosistema

- Las hifas dentro del suelo probablemente juegan un papel importante en el ciclo de los nutrimentos, porque ayudan a impedir la pérdida de estos en el medio, especialmente cuando las raíces están inactivas (Lindahl, 1999)..
- Los exudados que son vertidos a la micorizosfera tienen influencia en la abundancia y diversidad de las poblaciones microbianas del suelo (Ames *et al.*, 1984; Bansal y Mukerji, 1996; Andrade, 1998).
- Las hifas de MA contribuyen en la estructura del suelo favoreciendo la agregación de las partículas minerales, en especial con la secreción de la sustancia llamada glomalina (Wright y Upadhyaya, 1998). También las hifas de los ECM pueden alterar la estructura del suelo.
- Los hongos micorrízicos contribuyen al almacenaje del carbono en el suelo alterando la cantidad y características de la materia orgánica

c) Valor socioeconómico

- La diversidad de las micorrizas es un indicador de la calidad del medio.
- Las micorrizas que se adaptan a diferentes condiciones del suelo, son utilizadas en agricultura, horticultura y actividades forestales.
- La demanda de un nutrimento en particular depende de las necesidades internas de la planta, y el suministro depende de su disponibilidad y movilidad en el suelo (Russell,

1997; Marschner, 1995). Nutrientes como el fósforo son poco móviles en el suelo y es común observar zonas de la rizósfera donde toda la disponibilidad de este nutriente está agotado (Russell, 1977; Marschner, 1995; Sánchez-Colín, 2000). Las plantas micorrizadas obtienen más fósforo al explorar un área mayor a la que las raíces sin micorriza no llegan. El papel más importante de las hifas de los hongos micorrízicos es que cubren un área superficial mayor.

-

4.4.2.2. Dependencia micorrízica

Las plantas presentan una dependencia variable a la simbiosis micorrízica (Marschner, 1986; Brundrett, 1991). Observaciones detalladas en las plantas en ecosistemas muestran diferencias entre especies de plantas hospedadoras, en la intensidad y consistencia de la formación de la micorriza; estas observaciones muestran que las plantas pueden presentar los siguientes casos:

Presentan constantemente una alta micorrización (grupo de micorrización obligada).

Niveles intermedios o variables de micorrización (grupo de micorrización facultativa).

Falta de micorrización (grupo no micorrizable), (Janos, 1980; Brundrett y Kendrick, 1988).

En ecosistemas naturales las plantas con micorrización facultativa o no micorrizable son muy comunes en condiciones extremadamente secas, húmedas o frías, donde la productividad de las plantas es limitada por el tipo de suelo, por condiciones ambientales, por disturbios y la inoculación con micorrizas es limitada (Brundrett, 1991).

Los árboles no micorrizables son muy raros (algunas especies de la Familia Proteaceae) y algunos de géneros de las siguientes familias que son importantes en agricultura y horticultura, no desarrollan micorrizas, como: Chenopodiaceae, Amaranthaceae, Caryophyllaceae, Polygonaceae, Brassicaceae, Scrophulariaceae, Commelinaceae, Juncaceae y Cyperaceae (Brundrett, 1991).

La dependencia micorrízica a menudo es cuantificada y calculada en proporción a la producción entre plantas inoculadas y plantas control en un suelo particular y en un solo nivel de fósforo (Koidee *t al.*, 1988; Manjunath y Habte,1991; Hetrick *et al.*,1992).

4.4.2.2.1. Plantas que obligadamente se micorrizan

Son aquellas plantas que no llegan a la madurez reproductora por no estar asociadas a los hongos micorrízicos del suelo en su hábitat natural, como las orquídeas. Estas especies consistentemente permiten colonización micorrízica de todas sus raíces jóvenes (Si el inóculo es suficiente).

4.4.2.2.2. Plantas con micorrización facultativa

Plantas que se benefician con la asociación micorrízica se encuentran principalmente en suelos de baja fertilidad, en ecosistemas donde se presenta inconsistencia en la micorrización o bajos niveles de colonización (menores a 25%) tiene que usarse especies de plantas facultativas o cuando el nivel de fertilidad del suelo no se puede manipular (Trappe, 1987).

4.4.2.2.3. Plantas que no presentan micorrización

Son plantas con raíces que se resisten de manera continua a la colonización micorrízica o presentan una mínima colonización cuando son jóvenes y sanas. Condiciones como nivel de nutrimentos, propiedades del suelo y dinámica de los propágulos de las micorrizas pueden reducir la formación de la micorriza, pero generalmente no lo impiden totalmente.

4.4.2.3. Función de las hifas

Las hifas de las micorrizas realizan una función primordial al incrementar su volumen en el suelo y dejar disponible diferentes compuestos de fósforo, el cual es absorbido y se deja a disposición de las raíces. Las hifas de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) *localizan más rápidamente los nutrientes en el suelo*, que las raíces (St. John *et al.*, 1983; Warner, 1984) y se ramifican en abundantes hifas muy finas de absorción al degradar sustratos orgánicos. Las hifas de las ectomicorrizas (ECM) también se ramifican en la descomposición de la materia orgánica del suelo. Se consideró que las hifas de las MA utilizan las mismas formas de nutrientes que las raíces (Harley y smith, 1983).

Es evidente que *esta simbiosis proporciona un gran beneficio cuando la disponibilidad y solubilidad del fósforo es baja*. Las hifas de las ECM pueden utilizar fuentes inorgánicas y orgánicas de fósforo y algunos de estos hongos pueden crecer en suelos ricos en amonio. También algunas ECM crecen dentro de las rocas contribuyendo a la mineralización de estas. Además las micorrizas tienen acceso a formas de nutrientes que no son disponibles para las plantas, como aquellos que presentan una separación espacial y cronológica de la raíz (Marschner, 1995).

4.4.2.4. Papel del sistema radical

El principal papel de la asociación micorrízica es la adquisición de nutrientes, debido al aumento del área de exploración de la raíz por alcanzar los sitios a los que normalmente no llegan estas. Sin embargo, las raíces de algunas especies de plantas son capaces de explorar espacios grandes de suelo y responden temporalmente al recurso suelo. Estas especies pueden estar o no micorrizadas. La producción de raíces finas y la asociación micorrízica son dos estrategias que requieren las plantas para emplear su energía metabólica en su sistema radical.

Es probable que las hifas de los hongos micorrízicos (HM) tengan que ser más eficaces en la exploración de un área mayor de suelo, porque su diámetro es pequeño (Harley, 1989). Las plantas generalmente no soportan niveles altos de colonización micorrízica y sistemas de raíces activas finas, porque suele resultar un costo metabólico grande (Brundrett, 1991).

Variaciones en la extensión del sistema radical, geometría, distribución de su profundidad y plasticidad se presenta en las especies vegetales (Grime *et al.*, 1986, Fitter, 1987). En experimentos donde a menudo se utiliza la cuantificación biomasa total de la raíz, provee menos información que los datos de la longitud de la raíz (longitud/unidad de peso de raíz), (Fitter y Hay, 1987; Eissenstat, 1992). Parámetros que se deben usar en la predicción del área de absorción de nutrientes en orden creciente debe ser el siguiente:

Biomasa total de la raíz < biomasa de raíces finas < longitud de raíces < área superficial de la raíz < volumen de la rizósfera.

Cuando los parámetros de las raíces se comparan entre diferentes plantas, tienen una mayor correlación las raíces más ramificadas en la habilidad de absorción del fósforo en el suelo (Itoh y Barber, 1983). En experimentos con plantas de raíces muy ramificadas, largas y finas, se observan pocos beneficios de las micorrizas (Koide *et al.*, 1988; Manjunath y Habte, 1991; Hetrick *et al.*, 1992).

Algunas plantas pueden modificar condiciones de la rizósfera, como el pH, que influye sobre la disponibilidad de los nutrientes (Marschner, 1986). Las plantas Australianas no micorrizadas de la familia Proteaceae tienen raíces que probablemente promueven la elevación de nutrientes por su gran área superficial y producción de lixiviados que contienen ácidos orgánicos y otras sustancias que incrementan la solubilidad de los nutrientes (Lamont, 1993). La capacidad de las plantas para influenciar la disponibilidad de nutrientes en suelos depende de la extensión y actividad del sistema radical, ya que las raíces jóvenes son la fuente primaria de los exudados radicales

(Truelove, 1980). El hospedero y los factores del suelo pueden usarse para predecir el potencial benéfico de las micorrizas. Asumiendo que los niveles del suelo rara vez son altos y la inoculación de los hongos micorrízicos es la apropiada, así como tener el pleno conocimiento de las estrategias de la raíz y la magnitud de los beneficios de la asociación micorrízica (Marschner, 1995).

4.4.2.5. Factores que influyen en la simbiosis micorrízica

a) Inóculo

Las plantas que presentan asociaciones micorrizicas predominan en ecosistemas naturales, por lo tanto el inóculo de HM es mayor en estos suelos. La cantidad de inóculo que es compatible con la planta hospedera y en los diferentes tipos de suelos pueden ser evaluados en bioensayos. En estos experimentos las semillas crecen en suelos intactos o mezclados, durante un largo tiempo para que se forme la micorriza, luego estas raíces son muestreadas, procesadas y se valora la información de la micorriza (Brundrett, 1995).

b) Suelo

Los propágulos de los hongos micorrizicos pueden estar ausentes en el suelo con grandes disturbios, como los que presentan niveles altos de erosión o donde las plantas se limitan en su crecimiento por factores adversos en suelo como salinidad, acidez, o climas extremos (Brundrett, 1991). En estos hábitats alterados disminuyen los propágulos de micorrizas. Formas menos severas de disturbios en el suelo como la agricultura, actividad animal e incendios entre otros, también pueden reducir los propágulos de las micorrizas (Burdrett, 1991).

Las esporas y otros propágulos de las micorrizas pueden introducirse a nuevos sitios por el viento, los escurrimientos de agua o por los animales que se alimentan de los hongos.

El establecimiento de una colonización efectiva en sitios alterados no se sabe cuánto tiempo requiere para que se lleve a cabo.

c) Fertilidad del suelo

Un factor clave en los efectos benéficos de las micorrizas para las plantas es el suministro de fósforo y nitrógeno del suelo. El fósforo es considerado como el factor más importante que limita el crecimiento de las plantas, este puede ser suministrado por la asociación micorrízica, porque hay factores bióticos y abióticos que pueden restringir su movilidad en el suelo (Harley y Smith, 1989). Reducciones en los beneficios de la simbiosis es causada por el incremento del nivel de fósforo en el suelo (Jones, 1990).

d) Condiciones adversas en el suelo

La degradación del suelo debido a la salinidad, inundación, erosión, etc., son condiciones que afectan el crecimiento vegetal en muchos países. Niveles excesivos de Cloruro de Sodio en el suelo inhiben la formación micorrízica y retringe la actividad de más hongos micorrízicos, pero algunos toleran estas condiciones. Se ha observado que en ecosistemas naturales las plantas que están micorrizadas son a menudo menos comunes que las no micorrizadas, cuando el suelo está inundado o presenta una alta salinidad, pero aún así, algunas plantas están micorrizadas en condiciones más severas del suelo (Brundrett, 1991) y los HMA pueden ser menos sensibles a suelos inundados (Theodorou, 1978).

e) Aislamiento

Las poblaciones de hongos micorrízicos han ocupado el mismo hábitat en suelo por millones de años, adaptándose a los cambios. Algunos hongos micorrízicos se distribuyen en todo el mundo y se han adaptado en un amplio rango de hábitats, pero *factores edáficos como el pH restringen la distribución de muchas especies.*

Las características de las micorrizas son resultado de su adaptación, las cuales dependen de diversos factores del suelo y el clima, entre otros. También se deben considerar algunas propiedades de los hongos como: a) la cantidad de hifas producidas por la colonización de la raíz, b) la velocidad de colonización de la raíz y crecimiento de la hifa, c) las características fisiológicas que regulan la absorción y translocación de los nutrimentos por las hifas y el intercambio con el hospedero (Trappe, 1987).

f) Manipulación de las micorrizas

Es necesario desarrollar una metodología variada para la inoculación de las micorrizas. Se debe conocer la cantidad de inóculo presente en el suelo y los factores que influyen sobre su abundancia, mediante ensayos; especialmente la disponibilidad de nutrimentos para determinar la respuesta de las micorrizas a la aplicación de fertilizantes. Además se debe evaluar el efecto del inóculo aplicado sobre el crecimiento y supervivencia de la planta y así determinar su eficiencia, con la finalidad de utilizarlo en programas de inoculación.

4.4.2.6. El potencial de las micorrizas en la agricultura

El manejo apropiado de las micorrizas en la agricultura permite la reducción de agroquímicos, como fertilizantes y pesticidas, disminuyendo la contaminación, así como la reducción del trabajo, mantenimiento y costos de producción, que como consecuencia eleva la producción. Se debe mantener y desarrollar un banco de germoplasma de alta calidad para usar a las micorrizas como agentes biofertilizantes en la agricultura.

Cuadro 2. Trascendencia del establecimiento de la simbiosis micorrízica.

CARACTERÍSTICAS DISTINTIVAS	VENTAJAS	BENEFICIOS
Fisiología de la planta	Mejora su nutrición	Reduce el uso de fertilizantes (15 a 25%)
	Tolerancia al estrés de agua	Se pueden cultivar en suelos áridos e inadecuados
	Resistencia a temperaturas bajas	Diversidad de cosechas en áreas degradadas.
Morfología de la planta	Transformación de la arquitectura de la raíz	Adaptación al estrés e incremento en la resistencia a la erosión
		Mejora la producción de ciertas cosechas de raíz
Rizósfera de las plantas	Diversidad de microorganismos del subsuelo	Reestablecimiento de la microflora edáfica
		Mejora la calidad del suelo y composta
	Sobrevivencia de la simbiosis	Mejoras en la producción
		Mejora la aclimatación en el trasplante
Agricultura	Producción de la planta	Protección del cultivo
	Resistencia al estrés	Reduce el uso de pesticidas
	Resistencia a patógenos	Mejora la calidad de los productos
	Valor que se suma a los productos	Mejora la salud de los animales, plantas y humanos
		Cosechas tempranas
		Incremento en la síntesis de metabolitos primarios y secundarios

4.5. Las orquídeas y su relación con los hongos micorrízicos

Las orquídeas poseen las endomicorrizas orquidioides, llamadas de ovillo, y tal vez representan el tercer tipo más importante de micorrizas, ya que estas plantas son dependientes en estado juvenil, de protocomo de sus hongos simbios. Una vez que la planta crece y fotosintetiza, generalmente se independiza del hongo (Marie-Pierre y Francois, 2007).

4.5.1. Micorrizas de las orquídeas

Los hongos asociados a las células de las orquídeas fueron descritos y reconocidos como hongos por S. Reissek en 1847. Los hongos que forman micorrizas en las orquídeas pertenecen en su mayoría a la subdivisión Basidiomycotina, que desarrollan masas de hifas intercelularmente en la raíz o dentro del tejido cortical del rizoma de las orquídeas, llamadas pelotones. Varias especies de hongos de la subdivisión y de hongos imperfectos se asocian comúnmente a las raíces de las orquídeas y micorrizas, pero su función biológica es desconocida. Sin embargo los Ascomycotina y los hongos imperfectos y otros microorganismos se involucran en el papel de captación y búsqueda de nutrimentos, y pueden tener una influencia significativa sobre la habilidad competitiva del fitobionte (Read, 1991). Algunos descartan a los Ascomycetos y asociaciones de mohos como importantes para las orquídeas de la naturaleza, en comparación con los Basidiomycetes que forman singulares pelotones dentro de las células.

Estos hongos son septados y forman simbiosis con cerca de 12,000 a 30,000 especies de orquídeas. Las orquídeas tienen semillas muy pequeñas (14 µg de peso) y tanto las clorofílicas como aclorofílicas al germinar son incapaces de realizar fotosíntesis. Las semillas contienen pocas reservas, debido a su tamaño y cuando germina el embrión requiere un suplemento de carbohidratos o bien estar en simbiosis con los hongos micorrízicos, en caso contrario se puede desarrollar (micótrofos obligados). A medida que el embrión va creciendo empieza a producir su propio alimento a través del proceso

de fotosíntesis, la planta se puede considerar un micótrofo facultativo, ya que no depende de las micorrizas para su sobrevivencia, aunque si están presentes, continúa aprovechando el aporte de nutrimentos liberados por las hifas o por la digestión de los hongos (Tomita, 1988). Se asocian a Rhizoctonia, Marasmius, Armillaria y Fomes, estos hongos cuando no están micorrizando son patógenos muy destructivos.

Se piensa que las orquídeas digieren las hifas del hongo para obtener sustancias nutritivas, mientras que otros opinan que es con el fin de frenar la infección.

4.5.2. Colonización

La colonización en las orquídeas se extiende de célula a célula por medio de las hifas que forman espirales ocupando todo el volumen de la célula, sin romper su membrana plasmática hasta formar un pelotón. Las hifas que están intracelularmente degeneran a las 30 o 40 horas después de iniciada la infección, que se completa a los 11 días. Cuando las plantas son adultas y fotosintetizan transfieren carbono a través de la red de hifas hacia el hongo. Se tienen pocos estudios sobre la asociación micorrízica entre orquídeas adultas o con orquídeas verdes en bosques templados.(Marie-Pierre y Francois, 2007)

Las orquídeas epífitas de climas tropicales tienen hifas que se conectan y penetran al tejido de sostén de la planta, esto indica que el parasitismo puede ocurrir.

Los hongos del cuadro 3, se encontraron en las raíces de las orquídeas, en la micorriza y rizomas. El papel de muchos de estos hongos es desconocido, pero ninguno fue mencionado como un patógeno.

Cuadro3. Especies de orquídeas y hongos con los que puede interactuar.

Orquídea	Hongo
<i>Amerorchis rotundifolia</i>	<i>Ceratobasidium obscurum</i> <i>Epulorhiza calendulina</i> <i>Monilioosis sp.</i> <i>Phialocephala fortinii</i> <i>Favolaschia thwaitesii</i>
<i>Bletilla striata</i>	<i>Sebacina vermifera</i>
<i>Caladenia bicalliata</i> y otras especies de este género	<i>Tulasnella calospora</i> <i>Epulorhiza anaticula</i> <i>Leptodontidium orchidicola</i> <i>Phialocephala fortinii</i> <i>Thanatephorus pennatus</i>
<i>Calypso bulbosa</i>	<i>Rhizoctonia stahlia</i>
<i>Coeloglossum viride</i>	<i>Alternaria sp</i>
<i>Cypripedium calceolus</i> y otras especies de este género	<i>Ceratorhiza sp.</i> <i>Chatomium sp.</i> <i>Moniliopsis sp.</i> <i>Phoma sp.</i> <i>Rhizoctonia subtilis</i> <i>Acremomium kiliense</i> <i>Humicola sp.</i> <i>Rhizoctonia sclerotica</i>
<i>Epidendrum stangeanum</i> y otras especies	<i>Pithomyces maydicus</i> <i>Troposporella sp.</i> <i>Nectria ochroleuca</i> <i>Pestalotipsis papposa</i> <i>Fusariumoxysporum</i> <i>Humicola</i> <i>Fuscoatra</i> <i>Nectria haematococca</i>
<i>Habenaria leucophaea</i>	<i>Rhizoctonia lamuginosa</i> <i>R. gracilis</i> <i>R. robusta</i> <i>R. sclerotica</i> <i>R. stahlia</i>
<i>Maxilaria neglecta</i>	<i>Malbranchea sp.</i> <i>Drechsiera ellisii</i> <i>Pestalotipsis Papposa</i> <i>Chaetomusum subspirole</i> <i>Glomerella cingulata</i> <i>Humicola sp.</i> <i>Nectria haematococca</i> <i>Colietotrichum crassipes</i>

Sin embargo el hongo *Rhizoctonia* es un patógeno muy potente en maíz pero forma una micorriza estable con las orquídeas, generalmente los hongos micorrízicos se consideran que tienen una baja habilidad de competencia en la naturaleza, para obtener formas orgánicas de carbono en comparación con otros organismos degradadores que utilizan la materia orgánica como fuente de energía, de ahí su dependencia hacia el hospedero que le suministra el carbono. Contadas especies son capaces de formar micorrizas y no tener la capacidad de degradar la celulosa, por lo que un gran número de hongos ectomicorrízicos son capaces de degradar la lignina y la celulosa (Paul y Clark, 1989).

4.5.3. Hongos asociados a las orquídeas

El cuadro 4, muestra Los principales géneros de hongos que se asocian a las raíces y desarrollan micorrizas en las orquídeas son:

Cuadro 4. Géneros de hongos que micorrizan a las raíces de orquídeas.

Basidiomycotina	Ascomycotina y hongos imperfectos
<i>Armillaria</i>	<i>Acremonium</i>
<i>Ceratobasidium</i>	<i>Acrogenospora</i>
<i>Ceratorhiza</i>	<i>Alternaria</i>
<i>Epulorhiza</i>	<i>Arthrimum</i>
<i>Erythromyces</i>	<i>Colletotrichum</i>
<i>Favolaschia</i>	<i>Cylindrocarpon</i>
<i>Geotrichopsis</i>	<i>Epicoccum</i>
<i>Marasmius</i>	<i>Fusarium</i>
<i>Melanotus</i>	<i>Hypoxyton</i>
<i>Moniliopsis</i>	<i>Lasioidiplodia</i>
<i>Sebacina</i>	<i>Leptodontidium</i>
<i>Sistotrema</i>	<i>Nectria</i>
<i>Thanatephorus</i>	<i>Nodulisporium</i>
<i>Tulasnella</i>	<i>Oidiodendron</i>
<i>Xerotus</i>	<i>Penicillifer</i>
<i>Ypsilonidium</i>	<i>Pestalotiopsis</i>
	<i>Phialocephala</i>
	<i>Tetracladium</i>
	<i>Trichoderma</i>
	<i>Trichosporiella</i>

En particular los pelotones son dirigidos por varias enzimas en la región cortical del sistema radical y por ello se dice que las orquídeas son micotróficas y todas parecen depender de las micorrizas durante alguna fase de su ciclo de vida. Especies epífitas cuentan con una menor dependencia, porque su nicho (sustrato que está en la superficie) provee de gran cantidad de luz para realizar fotosíntesis. Por ello la simbiosis micorrízica debe ser un requerimiento necesario en las orquídeas terrestres, particularmente durante la germinación de las semillas y desarrollo del embrión, proceso que normalmente se lleva a cabo en la oscuridad dentro del suelo. Las hifas del hongo pueden ser digeridas en la edad adulta, suprimiendo la simbiosis micorrízica por la nutrición fotosintética (Currah, 1997).

La necesidad de la nutrición micotrófica de las orquídeas terrestres hace de este grupo uno de los mas vulnerables, ya que su cultivo por semillas es muy complicado y para algunas especies su desarrollo es muy lento, ya que se conoce poca información sobre su reproducción, siendo una opción en la germinación de la semilla el uso de la micorriza, aunque esta técnica no soluciona toda la problemática de propagación de las orquídeas terrestres, puede ser útil en la germinación de especies que tienen resistencia artificial a propagarse (Tomita, 1998).

La atención sobre la propagación de semillas de orquídeas terrestres nativas conservadas por un largo tiempo proviene de la variabilidad genética derivada de la actividad de los insectos polinizadores la cual no se logra por la clonación asexual, debido a la diversidad de hábitats de estos insectos. Los hongos parecen ser requeridos de manera fundamental por las orquídeas terrestres para completar su ciclo de vida y juegan un papel importante en la ecología de las orquídeas. Esto es una consideración que argumenta al preservar o conservar áreas donde crecen las orquídeas, sus hongos y sus insectos polinizadores.

Las técnicas asociadas con la germinación de semillas micorrizadas, y que son importantes en la conservación de las orquídeas terrestres, son:

- Aislamiento del hongo
- Identificación y almacenaje de semillas

La metodología general para llevar a cabo la germinación de semillas simbióticas in vitro permite la micorrización en condiciones artificiales. Esto se logra seleccionando el hongo apropiado y el pretratamiento adecuado para cada especie.

4.6. La importancia del sustrato en la nutrición de la vainilla

4.6.1. Sustratos

La vainilla es una especie que requiere de sustratos con un alto contenido de materia orgánica, de aquí que en la región del Totonacapán estos sean los más empleados dentro del vainillal, la composición vegetal con la que están elaborados es muy variada y se puede inferir que el aporte de nutrientes también lo es.

Por esta razón es sumamente importante elaborar un buen sustrato que garantice un suministro adecuado de nutrientes, humedad y aireación para la planta, esto propicia un buen desarrollo de la raíz y permite que los nutrientes estén disponibles por encontrarse en solución, los nutrientes son absorbidos a través de la pared celular de las raíces ya que posee una gran permeabilidad, y una vez en su interior son empelados por la planta para cumplir con sus actividades metabólicas, de no encontrar un suministro adecuado de nutrientes la planta puede colapsarse o morir en el peor de los casos.

Los elementos principales que componen la materia orgánica son el carbono (C), que esta en mayor cantidad, y el nitrógeno (N), además del oxígeno (O) y el hidrogeno (H).

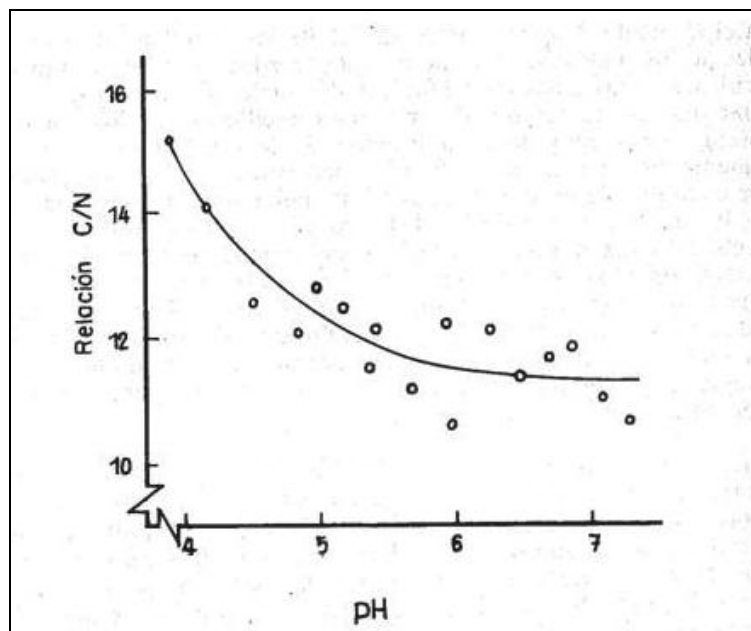
Mediante un análisis químico se obtiene la cantidad de carbono y nitrógeno, la relación C/N, aporta un dato importante sobre el sustrato pues los microorganismos necesitan principalmente Nitrógeno para empezar el proceso de descomposición de la materia orgánica, las pajas y otros residuos llegan a un C/N superior a 50, es decir por cada gramo de nitrógeno hay 50 g de carbono, las leguminosas llegan a un C/N promedio de 18, pues contienen una mayor cantidad de proteínas en sus tejidos, siendo esta la

macromolécula orgánica que tiene nitrógeno en su estructura química. (Rodríguez, 2005)

En los sustratos hay una determinada cantidad de nitrógeno utilizable, tanto para las plantas como para los microorganismos, por esta razón es necesario elaborar sustratos que tengan una baja relación C/N y el nitrógeno contenido en él no sea inmovilizado por los microorganismos, si la relación C/N es menor que 15, los microorganismos empiezan a liberar el nitrógeno soluble para las plantas, que extrajeron de los residuos vegetales (Rodríguez, 2005).

De acuerdo con Hardon citado por Fassbender (1986), existe una relación entre el pH y la relación C/N, ya que se ha encontrado que la C/N es mas baja en suelos neutros o ligeramente alcalinos, esta tendencia se explica con base de la consideración de los factores que influyen en la mineralización

Fig. 1. Relación entre pH y la relación C/N según Hardon.



4.6.2. Nutrición de la vainilla

La principal fuente de nutrientes para el vainillal, es la incorporación de materia orgánica, esta es elaborada con materiales vegetales locales, pueden ser residuos de cosechas, aserrín, hojarasca, ramas secas, estiércoles, desechos de café, cachaza y otros, de esta manera se constituye un abono orgánico para nutrir la vainilla.

La raíz de la vainilla es muy delicada y susceptible a quemaduras si es que se incorporan fertilizantes químicos en dosis mal calculadas, por lo tanto se recomienda aplicar abonos orgánicos (Curtis, 1989).

Actualmente no existen parámetros de demanda nutrimental para el cultivo de la vainilla, debido a esto, es difícil precisar los requerimientos del cultivo de la vainilla en cuanto a la cantidad de nitrógeno, fósforo, potasio y mucho mas difícil es establecer los requerimientos de micronutrientes, pero en términos cualitativos generales se abastece con los mismos elementos que cualquier otra planta terrestre, lo importante aquí es definir cuantitativamente en qué proporción requiere cada uno de estos nutrientes para mantenerse fisiológicamente y llegar a tener una producción que exprese el potencial genético de la especie.

Para ello hay que entender también la importancia de cada nutriente en el interior de la planta de vainilla y así dimensionar la importancia de este para la elaboración de una nutrición vegetal de la vainilla más equilibrada y acorde tanto con sus requerimientos intrínsecos de la planta sin dejar a un lado las interacciones ecológicas con su ambiente y microorganismos en el que se desarrolla.

4.6.2.1. Nutrientes primarios de las plantas

La deficiencia de los tres nutrientes primarios de las plantas, nitrógeno, fósforo y potasio, es la más común ya que las plantas consumen más de estos nutrientes que

cualquier otro. Si se elaboran sustratos ideales para el cultivo de la vainilla no se debe dejar aun lado esta consideración.

a) Nitrógeno

El nitrógeno constituye en la mayoría de los cultivos del 1.5 a 6 % del peso seco de las plantas, en frutales el valor se encuentra en el rango de 1.8 a 2.2 %, las leguminosas contienen de un 4.8 a 5.5 %, los valores críticos varían considerablemente, dependiendo de la especie del cultivo y en que lugar de la planta se encuentre, el contenido normal de N en las plantas tiende a decrecer con la edad de la planta. El N tiene una función estructural y metabólica, el nitrógeno que absorbe la planta es en forma de iones nitrato (NO_3^-) o amonio (NH_4^+), (Guzmán, 2004) y estos son transformados en aminoácidos que posteriormente se convierten en proteínas y ácidos nucleicos y forma parte de la estructura de la molécula de la clorofila (Jones, 1998).

Casi todo el nitrógeno que absorbe la planta se halla en forma de nitrato, por la razón de que este es muy móvil en el suelo y se desplaza en el agua hacia las raíces de las plantas, por otra parte el amonio se encuentra ligado a las partículas del suelo y no puede moverse hacia la raíz, en condiciones adecuadas de temperatura, aireación, humedad y pH del suelo, los organismos transforman todas las formas de nitrógeno de este en nitratos.

b) Fósforo

El fósforo se encuentra de 0.15 a 1 % en la planta, el valor óptimo se encuentra en el intervalo de 0.2 a 0.4 %, el valor crítico de fósforo normalmente es de 0.2 % y un valor de 1 % se considera que esta en exceso, al igual que el N, el contenido de este decrece con la edad, este es absorbido por la planta en forma de $\text{H}_2\text{PO}_4^{4-}$ o HPO_4^{2-} , la función del fósforo en las plantas es de formar centenares de enzimas y proteínas, como la trifosfato adenosina (ATP), el ácido ribonucleico (RNA), y el ácido desoxirribonucleico (ADN), el ATP se involucra en reacciones de transferencia de energía y el ARN Y ADN son

componentes de la información genética (Jones,1998). También tiene la función de acelerar la formación de raíces, aumentar la fructificación, acelerar la maduración de los frutos y ayudar a la fijación biológica del nitrógeno (Mengel y Kirby, 1987).

c) Potasio

La concentración del potasio en la planta es de 1 a 5 %, el valor óptimo se considera de 1.5 a 3 %, el potasio se considera deficiente en la planta cuando su valor es menor que 1.5 %, y alto cuando es superior a 5 %, en el tejido del tallo de algunos vegetales este se encuentra en niveles altos, cuando esta presente del 6 a 8 %, la concentración mas alta de potasio se encuentra en las hojas nuevas, los pecíolos y los tallos, la concentración del K también decrece con la edad.

La función del potasio es regular el agua en la planta y mantener la turgencia de las células, también esta involucrado en la apertura y cierre de estomas, además es requerido para la acumulación y translocación de carbohidratos recién formados, el potasio participa en los procesos fisiológicos activando mas de 80 enzimas que la planta necesita tanto en zonas meristimáticas y de crecimiento (Jones, 1998).

d) Calcio

El calcio representa en la planta entre 0.2 al 5 % del peso seco de la hoja, las concentraciones mas alta de este nutriente se encuentran en las hojas viejas y el contenido de este tiende a aumentar con la edad de la planta.

La función de este es mantener la integridad y permeabilidad de la célula, refuerza la germinación del polen y el crecimiento, activa un número de enzimas para la mitosis de la célula, división y enlogación de estas, tiene importancia en la síntesis de proteínas y transferencia de carbohidratos y su presencia ayuda a la desintoxicación de las plantas por metales pesados (Jones, 1998).

e) Magnesio

La concentración de magnesio en la planta se encuentra en el intervalo de 0.15 al 1 % en tejido seco de la planta, en la mayoría de los cultivos se encuentra en una proporción de 0.25 %, su valor crítico es muy variado, esto depende del tipo de especie vegetal, el contenido de este en la planta tiende a aumentar con la edad de la planta en las hojas más viejas, es un componente de la molécula de la clorofila y sirve como un cofactor en la activación de una enzima que se encarga de realizar la fotosíntesis y sirve de puente entre la estructura de pirofosfatos de ATP o ADP y las moléculas de enzimas, además de que estabiliza las partículas del ribosoma en la síntesis de las proteínas (Jones, 1998).

4.6.2.2. Micronutrientes

El boro, el cobre, el hierro, manganeso, molibdeno, zinc y cloro, son considerados elementos traza o menores.

Estos son requeridos en pequeñas concentraciones por la planta, su concentración se expresa en mg kg^{-1} . Las concentraciones aproximadas en tejido de hoja se muestran en el cuadro siguiente. (Jones, 1998).

Cuadro 5. Concentración aproximada de micronutrientes en varias especies de plantas.

Micronutriente	mgkg⁻¹		
	Deficiente	Normal	Tóxico
Boro (B)	5 a 30	10 a 200	50 a 200
Cloro (Cl)	100	100 a 500	500 a 1000
Cobre (Cu)	2 a 5	5 a 30	20 a 100
Hierro (Fe)	menor de 50	100 a 500	mayor de 500
Manganeso (Mn)	15 a 25	20 a 300	300 a 500
Molibdeno (Mo)	0.03 a 0.15	0.1 a 2	mayor de 100
Zinc (Zn)	10 a 20	27 a 100	100 a 400

4.7. Sistemas agroforestales más importantes asociados al cultivo de la vainilla en el Totonacapan

4.7.1. Generalidades de los sistemas agroforestales

La agroforestería se refiere a una forma de manejo de los recursos, conocida y transmitida por generaciones de campesinos de diferentes partes del mundo. Por otra parte, como un nuevo campo del conocimiento, sus esfuerzos sistemáticos están encaminados a comprender y aplicar los principios científicos de dichas prácticas, a fin de contribuir al desarrollo de sistemas sostenibles que permitan cubrir las necesidades del presente, sin comprometer, los requerimientos del futuro (Krishnamurthy, 2003).

La agroforestería según P.K.R. Nair es un sistema de uso de la tierra que implica integración aceptada, en términos sociales y ecológicos, de árboles con cultivos y/o animales, simultáneamente o secuencialmente, de tal manera que se incrementa la productividad total de plantas y animales de una forma sustancial por unidad de producción, especialmente cuando no se cuentan con insumos tecnológicos y se trabaja en tierras marginales.

King y Chandler la definen como un manejo sostenible de la tierra que incrementa su rendimiento integral, combinada la producción de cultivos (incluidos árboles) y plantas y/o animales, simultáneamente o secuencialmente, en la misma unidad de tierra y aplica prácticas de manejo compatibles con las habituales de la población.

En el caso de la vainilla debido a que necesita crear asociaciones con otras especies arbóreas y/o herbáceas para expresar mejor su potencial, dicha condición le permite ubicarse dentro de los sistemas de producción agroforestal ya que en la naturaleza así se ve, el conocimiento ancestral que se tiene sobre el manejo de la vainilla, es resultado de la observación de los actores sociales con el fin de reproducir antropogénicamente las condiciones ecológicas para poder cultivarla.

El cultivo de la vainilla difiere del manejo de los cultivos convencionales, grandes extensiones de terreno, dependencia a insumos externos y paquetes tecnológicos especializados, en cambio la vainilla para su cultivo puede adaptarse a pequeñas unidades de producción, inclusive en huertos caseros, su nutrición es totalmente orgánica ya que por su origen epifito necesita de materia orgánica en descomposición y durante el desarrollo fenológico requiere de gran cantidad de mano de obra para la polinización y la cosecha, en estas labores culturales se emplea la mano de obra familiar.

Por lo descrito anteriormente, el cultivo de la vainilla necesita disponer de paquetes agrotecnológicos, que consideren una nutrición a partir de insumos de origen orgánico y permita recuperar el potencial biológico de los suelos de esta región, que actualmente se encuentran ocupados por grandes extensiones de plantaciones de cítricos y actividades pecuarias.

4.7.2. Descripción de los sistemas agroforestales estudiados

4.7.2.1. Sistema agroforestal Pichoco (*Erythrina americana*.) – vainilla (*Vanilla planifolia*.)

Se encuentra dentro del municipio de Poza Rica, Veracruz, su clima corresponde al tipo Aw₁ (x'), Calido subhúmedo, con una temperatura media anual mayor a 22°C y la temperatura del mes mas frío mayor de 18°C, una precipitación del mes mas seco menor de 60 mm; lluvias de verano y porcentaje de lluvia invernal mayor al 10.2% del total anual (INEGI, 2008).

Pertenece a una subprovincia fisiográfica de llanura y lomeríos, las llanuras características de la subprovincia se encuentran sepultadas bajo materiales basálticos que integran mesetas, las cuales alcanzan hasta los 500 m de altitud (INEGI, 2008).

Los componentes principales del sistema son *Erythrina americana* y *Vanilla planifolia*. La primera es una leguminosa conocida regionalmente como "pichoco", los productores del ejido primero de mayo la prefieren por la facilidad de enraizamiento, la rapidez con que se ramifica y la forma del follaje para sombrear la vainilla desde que emergen los primeros brotes, las estacas de pichoco pueden ser de 2 m de longitud y plantarse a 40 cm de profundidad en una cepa amplia que permita la suficiente emisión de raíces que den consistencia al árbol en poco tiempo, se adapta a suelos ácidos y alcalinos y su crecimiento también se limita cuando es baja la fertilidad del suelo

Este sistema agroforestal tiene una edad de 4 años aproximadamente, el cual nos dice que es una vainillal joven, pues esta orquídea entra en producción después del tercer año, el manejo agronómico es tradicional ya que solo se realizan deshierbes (chapeos manuales), depende totalmente del temporal para el abastecimiento de agua. El productor realiza podas en la temporada donde la radiación no es muy intensa, esto ocurre en la época de invierno, con la finalidad de controlar el crecimiento y rebrotes de follaje el cual brinda la cantidad adecuada de sombra a la orquídea y permitir un buen

manejo y encauzamiento de las nuevas guías, la altura del tutor no sobrepasa los 2 m de altura, esto en la época de polinización permite que dicha labor cultural sea realizada con menor dificultad.

No se realiza control de plagas y enfermedades, en caso de que alguna planta este enferma esta es retirada de la plantación e incinerada, actualmente existe problemas de pudrición de raíz y aborto de fruto.

La hojarasca y el producto de las podas por exceso de ramas, son colocadas al pie del tutor como fuente de abonadura, esto favorece el reciclamiento de nutrientes en el sistema y proporciona la nutrición orgánica que requiere la vainilla, también se hacen aplicaciones de composta.

Para identificar más adelante en el documento a este sistema agroforestal utilizaremos la nomenclatura E-V.

Fig. 2. Sistema agroforestal *Eritryna americana*-*Vanilla planifolia*, ubicado en el ejido primero de Mayo, Poza Rica, Veracruz.



4.7.2.2. Sistema agroforestal cítrico (*Citrus sinensis*) – vainilla (*Vanilla planifolia*)

Se ubica en la localidad Calle Grande, Municipio de San Rafael, Veracruz, el clima corresponde al tipo Am(f) ,Calido húmedo, temperatura media anual mayor de 22°C y temperatura del mes mas frío mayor de 18°C, precipitación del mes mas seco menor de 60 mm; lluvias de verano y porcentaje de lluvia invernal mayor al 10.2% del total anual (INEGI, 2008)

Pertenece a la subprovincia fisiográfica de llanura y lomeríos, el relieve es plano. Los componentes principales del sistema son *Citrus sinensis* y *Vanilla panifolia*.

Este vainillal tiene una edad aproximada de 10 años, y la superficie de esta no es mayor a 1.5 ha, la estructura del árbol formada por su extenso follaje garantiza un potencial de primera clase para el soporte mecánico de la vainilla, la copa alcanza a cubrir hasta 4 m de diámetro y una altura superior a 5 m, esta características cumple con las necesidades ambientales de la vainilla, la zona de fructificación del naranjo se localiza en la parte externa del árbol, por tanto no interfiere con el área de fructificación de la vainilla ya que esta se encuentra en la parte interior del árbol, la corteza del naranjo no se desprende, aquí no existe una altura especifica para encausar los bejucos, cuando se alcanza la altura máxima se voltea la guía y el crecimiento continua hacia abajo, dependiendo de la estructura del tronco principal y del numero de ramas de los naranjos es como el productor decide cuantos esquejes sembrar alrededor del árbol.

Los árboles de naranja pueden tener dos ejes principales, de esta estructura dependerá la extensión horizontal y altura del sombreado

Para el abastecimiento de agua cuenta con un sistema de riego por microaspersión y además de la precipitación pluvial.

El arreglo vertical de este sistema es multiestrato en la parte mas cercana al suelo encontramos *palma camedor*, (*Chamaldorea spp*) en el segundo estrato se encuentra la

orquídea de la vainilla, el tercer estrato lo constituye el árbol de naranjo y en el ultimo estrato hay árboles de cedro.

La fertilización de la planta se hace con aplicaciones de compostas de estiércol borrego, aserrín de pino y cedro y arrimando la hojarasca del naranjo, mismo que son composteados en un lugar dentro del vainillal.

Para identificar más adelante en el documento a este sistema agroforestal se utilizará la nomenclatura C-V.

Fig. 3. Sistema agroforestal *Citrus Sinensis*-*Vanilla planifolia*, ubicado en la comunidad de calle grande, San Rafael, Veracruz.



4.7.2.3. Sistema agroforestal Pichoco (*Erythrina americana*.) – vainilla (*Vainilla planifolia*) – malla de sombra 50% de luminosidad

Se ubica geográficamente en el Municipio de Papantla, Veracruz, el tipo de clima es Aw₁ (x'), Calido subhúmedo, con una temperatura media anual mayor de 22°C y temperatura del mes mas frío mayor de 18°C, Precipitación del mes mas seco menor de 60 mm; lluvias de verano y porcentaje de lluvia invernal mayor al 10.2% del total anual

El relieve es accidentado, sus lomeríos ascienden de oriente a poniente, los suelos son calcáreos y pedregosos.

Este sistema es un modelo de tecnificación predominantemente intensivo, que reproduce las bondades de un sistema agroforestal, pero conjunta tecnología utilizada en viveros para proteger y garantizar el crecimiento de algunas especies forestales, *este sistema puede considerarse como una innovación tecnología agroforestal*, ya que conjunta el conocimiento tradicional campesino con el conocimiento científico-tecnológico validado.

El arreglo vertical está compuesto en el estrato medio por la vainilla y en el estrato superior los componentes son árbol de *Erythrina americana*. y sobre este existe un tendido de malla sombra que forma de casa.

Dada las condiciones controladas de intensidad de luz, se tiene mejor control sobre la fisiología de la planta, el suministro del agua es mediante aspersión nebulizada, el suministro de nutrientes a la planta se realiza mediante la incorporación de materia orgánica (composta o vermicomposta), el arreglo horizontal esta mediante camas de siembras bien delimitadas, la densidad de siembra es alta, el productor emplea un control oportuno de plagas y enfermedades, controla malezas, acomoda guías.

Fig. 4. Sistema agroforestal *Erythrina americana*-*Vanilla planifolia*-malla sombra, ubicado en la comunidad de Taracuan, Papantla de Olarte, Veracruz.



Los tres sistemas agroforestales, son muy heterogéneos entre si, tanto en condiciones fisiográficas, ambientales, manejo agronómico y tecnificación, dichas diferencias no permiten contrastarlo entre ellos, solo se pueden abordar en la discusión por separado. Por estas razones se abordan los aspectos de la fertilidad de sustratos en lo particular de cada sistema y se realiza una correlación de las necesidades nutrimentales de la planta, con el objetivo de realizar enmiendas agronómicas que ayuden a reorientar o fortalecer las prácticas agrícolas o vicios que se tienen en el manejo del vainillal, mediante el uso de una herramienta de diagnosis como lo es un análisis químico de sustratos y tejido vegetal.

Debe entenderse que una adecuada nutrición vegetal, solo es un factor de la producción ya que esta es multifactorial, pero su conocimiento oportuno garantiza una mejora al sistema de producción.

Para mejorar el manejo agronómico del vainillal en cualquier sistema agroforestal se debe de generar información confiable, que permita abordar el problema de la producción de una manera sostenible a lo largo del tiempo.

El generar herramientas que den sentido a las tomas de decisiones desde un punto de vista mas real y objetivo, permitirá planear mejor las actividades dentro del sistema agroforestal.

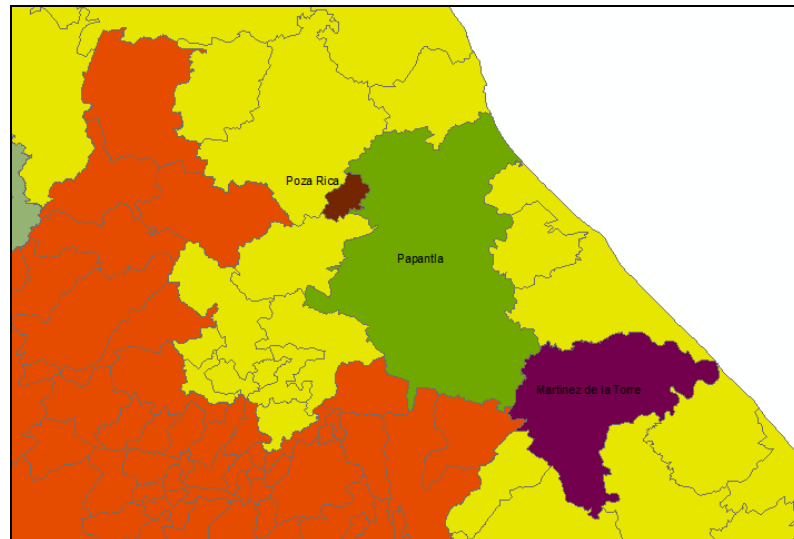
5. MATERIALES Y METODO

5.1. Fase de campo

5.1.1. Ubicación del área de estudio

Esta se encuentra en la región del Totonacapan, hacia la zona norte de Veracruz, conformada por las comunidades de Calle Grande, Municipio de San Rafael, Taracuan, Papantla de Olarte y Ejido Primero de mayo, Poza Rica, Veracruz.

Fig. 5. Localización geográfica de los municipios donde se realizó el estudio.



La elección de la zona se realizó debido a que esta región es el centro de origen de esta orquídea y además donde se encuentra la mayor superficie sembrada de vainilla en la actualidad a nivel nacional.

5.1.2. Diseño de los muestreos

El tipo de muestreo utilizado, fue un DCA (diseño completamente al azar) (Infante, 2005). Atendiendo al objetivo principal de esta investigación, el cual es el de conocer la calidad nutrimental de los sustratos, cuantificar la cantidad de nutrientes en el tejido de la vainilla, en sus etapas de crecimiento vegetativo y en la etapa de crecimiento de fruto,

paralelo a esto evaluar el porcentaje de colonización en la rizosfera de la vainilla por hongos filamentosos y de identificar los géneros de estos en los tres sistemas agroforestales evaluados en este estudio.

Fue necesario efectuar un recorrido de campo *in situ* en las parcelas donde estuvieran presentes dichos sistemas agroforestales debido a que las condiciones tanto biofísicas como de manejo y de superficie son heterogéneas, se optó por elegir una parcela considerada como de alto nivel productivo, la cual se asoció al sistema *Citrus sinensis-Vanilla* en la comunidad de Calle Grande, Martínez de la Torre.

Una considerada intermedia, la cual corresponde al sistema *Erythrina americana*.-Malla sombra-vainilla en la comunidad al Taracuan, Papantla Veracruz y finalmente un tercero con manejo tecnológico bajo la cual se asocia con el sistema (*Erythrina americana – Vinilla*) que se encuentra en el ejido Primero de Mayo en el Municipio de Poza Rica, Veracruz.

5.1.3. Muestreo de sustratos

Se siguió el procedimiento convencional de levantamiento de muestras en cada sistema agroforestal, los cuales fueron divididos en zonas homogéneas dependiendo de las características del terreno. La profundidad de muestreo corresponde a los primeros diez centímetros, ya que las raíces de vainilla son muy superficiales y no exploran mas allá de esta profundidad.

En total fueron seis muestras compuestas por sistema agroforestal, cada muestra compuesta se obtuvo a partir de doce submuestras, el procedimiento de muestreo correspondió al de zig-zag sobre el terreno, extrayendo el sustrato área circundante al árbol tutor, que es donde el productor coloca éste y es donde se encuentra la zona radical de la vainilla. El total de muestras compuestas obtenidas fue de 18.

5.1.4. Muestreo de tejido vegetal

Las muestras fueron tomadas aleatoriamente dentro del sistema agroforestal, se eligieron 6 individuos de cada sistema agroforestal, seleccionando plantas vigorosas, es decir sin problemas de plagas, enfermedades y deficiencias nutrimentales aparentes y de la misma edad (Rodríguez, 2002).

La planta de vainilla se dividió en dos porciones, se tomaron una muestra de hojas maduras y una de hojas jóvenes, de cada sistema agroforestal se obtienen 12 muestras (seis de hojas jóvenes y seis de hojas maduras).

5.1.5. Muestreo de raíz

De acuerdo con sieverding (1985) citado por Ferrera-Cerrato, 1993, S, la colonización endomicorrízica en campo es variable pero es aceptable si se toma al azar.

En tres sistemas agroforestales se recolectó raíz de 24 plantas y se transportó al laboratorio, de esta se destinó una porción para realizar la determinación del porcentaje de colonización y la otra porción para el aislamiento e identificación de los hongos de raíz.

5.1.6. Transporte de las muestras

Todas las muestras de tejido vegetal (hoja y raíz), fueron etiquetadas y numeradas para su manejo en laboratorio, se transportaron en condiciones de frío con la finalidad de mantener una temperatura aproximada de 4 °C para detener los procesos metabólicos que ocurren en hoja y raíz y las de sustratos en bolsa de plástico debidamente identificadas (Rodríguez, 2002).

5.2. Fase de laboratorio

5.2.1. Preparación de las muestras

5.2.1.1. Muestras de los sustratos

Secado: Fueron secadas al sol por un período de 3 días hasta eliminar la humedad del sustrato. **Molido:** Se realizó utilizando un mortero hasta eliminar los terrones y mezclar completamente la muestra. **Tamizado:** Para realizar el análisis de fertilidad la muestra se pasa por un tamiz 2 mm y esta a su vez muestra se pasa por un tamiz de 0.5 mm separando aproximadamente 5 g para el análisis de materia orgánica. **Almacenamiento:** Todas las muestra fueron etiquetadas y guardadas por tratamiento para su posterior análisis de fertilidad (Rodríguez, 2002).

5.2.1.2. Muestras de tejido vegetal (hoja)

Las muestras en laboratorio fueron refrigeradas hasta su utilización para realizar el análisis de diagnóstico nutrimental.

El procedimiento que se realizó para llevar a cabo el análisis de tejido vegetal se describe a continuación: **Lavado:** Se realiza tallando suavemente el haz y el envez con agua destilada y después de esto se elimina el exceso de humedad con papel secante. **Secado:** La muestra fresca debe secarse en estufa durante un período de cinco días a una temperatura de 65 °C hasta llevarla a peso constante. Debido a que las hoja de vainilla son suculentas, se recomienda cortadas en trozos más pequeños con el objetivo de evitar reacción hidrotérmica que active algún metabolismo en ella; con esto se garantiza eliminar solo el agua intracelular. **Molido:** Las muestras secas son molidas en un molino wiley que utiliza un tamiz de 20 mesh. **Almacenamiento:** Esto se hizo en bolsa de plástico, debidamente identificada hasta su utilización para su análisis químico. (Rodríguez, 2002)

5.2.1.3. Preparación de las muestras de raíz (conteo de porcentaje de colonización)

El procedimiento de tinción usado corresponde al propuesto por Phillips y Hayma, 1970, Kormanik, 1980 y Kormanik y Mc Graw; 1982; citado por Ferrera-Cerrato-(1993), el cual se describe en el apéndice A de este documento

Lavado: La raíz es lavada en agua corriente para eliminar el suelo adherido.

5.2.1.4. Preparación de los microcultivos (prueba de rider) para el estudio e identificación de hongos

El procedimiento de acuerdo con Ramírez-Gana, *et al* (1998), el cual se detalla con presición en el apéndice C.

La finalidad es de obtener estructuras microscópicas que permiten la identificación de los géneros de los hongos filamentosos que se encuentran colonizando la rizosfera de la vainilla únicamente.

5.2.2. Determinaciones químicas y físicas de los sustratos y tejido vegetal

Las siguientes determinaciones se realizaron usando como referencia la norma oficial mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000, que describe la metodología de laboratorio para efectuar los análisis químicos y físicos de sustratos y tejido vegetal.

El tejido vegetal fue digerido, utilizando una mezcla diácida de relación 4:1 (cuatro partes de ácido sulfúrico por una de ácido perclórico, calentado en estufa a una temperatura de 250 °C durante 24 hrs, agregando un ml de agua oxigenada para blanquear el tejido vegetal).

5.2.2.1 Análisis de fertilidad de sustratos y tejidos vegetales

A) Determinación de propiedades químicas.

En los sustratos se analizó:

pH: Potenciometrico, **CE:** Puente de conductividad, **MO:** Walkley y Black, **N inorgánico:** Digestión con mezcla diácida y determinado por el método de Kjeldahl (para suelo extracción con KCl 2N y para tejido vegetal Na OH al 40%), **P asimilable :** fotocalorimetría por reducción con molibdo-vanadato, **K y Na intercambiable:** Espectrofotometría de emisión de flama, **Ca y Mg:** titulación: con el método de Versanato, **Micronutrientes:** Extracción con DTPA 0.001 M ph 7.3 y determinación mediante espectrometrías de absorción atómica.

B) Determinación física: Densidad aparente.

5.2.3. Determinación de porcentaje de colonización de raíz

Se colocan raíces clareadas y teñidas con suficiente lactoglicerol en un portaobjeto y con agujas de disección, se colocan 10 segmentos de aproximadamente 1 cm, paralelamente uno de otro. Sobre las raíces se adicionan gotas de lactoglicerol colocando los cubreobjetos, se eliminan las burbujas y cada laminilla se sella con esmalte. Para realizar la evaluación se observa en microscopio con el aumento de 100x; se efectúan tres pasajes equidistantes por la laminilla. (Ferrera-Cerrato, 1993)

Al revisar el campo óptico donde se encuentra un segmento que contiene hifas, vesículas y/o arbúsculo, independientemente de la intensidad de micorrización se da el valor de uno para la evaluación total y por estructura. (Ferrera-Cerrato, 1993)

El porcentaje de colonización endomicorrízica por estructura y total, se obtiene mediante la fórmula siguiente.

$$\% \text{ de segmentos sin colonizar} = \frac{\text{núm. de segmentos sin colonizar}}{\text{núm. de segmentos totales}} \times 100$$

$$\% \text{ de colonización por hifas} = \frac{\text{núm. de segmentos con hifas}}{\text{núm. de segmentos totales}} \times 100$$

$$\% \text{ de colonización de pelotones} = \frac{\text{núm. de segmentos con pelotones}}{\text{núm. de segmentos totales}} \times 100$$

5.2.4. Procedimiento para la identificación taxonómica de los hongos

Con las laminillas permanentes que se obtuvieron de los microcultivos se efectúa La identificación de los distintos géneros basada en la caracterización morfológica del hongo, en donde se realiza una descripción macroscópica y microscópica del mismo, En esta investigación solo se utilizó la descripción microscópica, (Ramírez-Gana, 1998).

Para lograrla, se hace las siguientes observaciones:

5.2.4.1. Caracterización microscópica: Tipo de hifas, Tipo de cuerpo fructífero, Tipo de esporas, Característica de la espora (Color, Morfología, Aspecto externo, Tamaño).

La metodología para la preparación de los microcultivos se encuentra descrita a detalle en el apéndice D en este documento

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se reportan los resultados de las variables medidas de los sistemas agroforestales analizados: análisis de sustratos, análisis de tejido vegetal, análisis del porcentaje de colonización e identificación de hongos asociados a la raíz de vainilla.

6.1. Análisis químicos de sustratos

Las unidades de los resultados de materia orgánica se encuentran expresados en % , las de la conductividad eléctrica en dsm^{-1} , los macronutrientes y micronutrientes están en mgkg^{-1} , todas las determinaciones son referidas a un Kg. de sustrato en peso seco. En el siguiente cuadro se muestran estos datos.

Cuadro 6. Propiedades físicas y químicas de los sustratos empleados en los sistemas agroforestales.

SUSTRATOS (mgkg^{-1} sustrato seco)			
Determinación	E-V	E-V-M	C-V
propiedades física			
Densidad aparente (gcm^{-3})	1.2	1.1	0.8
propiedades químicas			
Materia Orgánica (%)	9.7	13.1	15.1
Ph	7.7	7.3	7.4
Conductividad Eléctrica(dsm^{-1})	1.0	0.9	0.9
Nitrógeno Inorgánico (mgkg^{-1})	99.9	74.9	87.4
Fosforo (mgkg^{-1})	91.8	97.9	57.0
Potasio (mgkg^{-1})	3760.8	6348.4	7981.6
Calcio (mgkg^{-1})	10866.4	10172.8	10336.0
Magnesio (mgkg^{-1})	632.3	859.3	1451.1
Cobre (mgkg^{-1})	5.5	3.3	1.9
Zinc (mgkg^{-1})	10.0	8.9	5.3
Hierro (mgkg^{-1})	1.1	13.6	13.0
Manganeso (mgkg^{-1})	3.0	13.6	14.8

E-V: Sistema agroforestal *Eritryna americana-vanilla*.

E-V-M: Sistema agroforestal *Eritryna americana-vanilla*-Malla sombra.

C-V: Sistema agroforestal *Citrus sinensis-vanilla*.

Los resultados obtenidos de los análisis del contenido nutrimental de los sustratos fueron comparados con los valores propuestos por la norma oficial mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000, en el cuadro siguiente se muestran la interpretación correspondiente para cada sustrato analizado en los sistemas agroforestales

Cuadro 7. Interpretación de los valores de las propiedades físicas y químicas de los sustratos empleados en los sistemas agroforestales.

Sustratos de los sistemas agroforestales			
Determinación	Pichoco-vainilla	Pichoco-vainilla- malla sombra	Cítrico-vainilla
propiedades física			
Densidad aparente	Mediano	Mediano	ligero
Propiedades químicas			
Materia Orgánica	Extremadamente rico	extremadamente rico	extremadamente rico
pH	Moderadamente alcalino	Neutro	neutro
Conductividad Eléctrica	efecto de la salinidad casi nulo	efecto de la salinidad casi nulo	efecto de la salinidad casi nulo
Nitrógeno Inorgánico	muy alto	muy alto	muy alto
Fósforo	muy alto	muy alto	muy alto
Potasio	muy alto	muy alto	muy alto
Calcio	muy alto	muy alto	muy alto
Magnesio	moderadamente alto	moderadamente alto	muy alto
Cobre	muy alto	muy alto	muy alto
Zinc	muy alto	muy alto	muy alto
Hierro	muy bajo	Mediano	mediano
Manganeso	Moderadamente bajo	Mediano	mediano

En general los sustratos analizados según la norma oficial mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000, se consideran excelentes fuentes de abonadura para los sistemas agroforestales bajo estudio, ya que la cantidad de nutrientes que suministran es muy alta, esta afirmación es muy generalizada, por tal razón se debe interpretar más concretamente.

Tomando como referencia a Gandoy, 1982, respecto al espacio poroso de los sustratos en los sistemas agroforestales pichoco-vainilla y pichoco-vainilla-malla sombra, se puede inferir que estos tienen menor cantidad de espacio poroso respecto con el sistema agroforestal cítrico-vainilla. Estos valores aunque son aceptables influyen en un menor crecimiento radicular de la vainilla, ya que existe menor espacio entre las partículas del sustrato y dificultan la exploración de la raíz en el sustrato, lo que incide directamente en la cantidad de nutrientes interceptados. Las variaciones del espacio poroso están directamente afectadas por el contenido de materia orgánica de cada sustrato la cual la está determinando los materiales orgánicos empleados en su elaboración.

El valor del pH es alcalino para el sistema agroforestal pichoco-vainilla, lo cual causa problemas en la disponibilidad de micronutrientes como el Zn, Fe, Cu y Mn (Alcantar, 2008), los otros dos tienen valores cercanos a la neutralidad. El valor de pH está directamente influenciado, por la naturaleza del material parental de los suelos, ya que este es de origen calcáreo.

El aporte de Zn es alto para los tres sustratos, pero su disponibilidad es afectado por el valor del pH, (Rodríguez, 2005) en el caso del sistema pichoco-vainilla el pH es 7.7, lo cual implica que este nutriente está formando compuestos insolubles de carbonatos, la deficiencia en su absorción llega a causar un crecimiento retardado y el acortamiento de los entrenudos en la planta de vainilla, pues el Zn es precursor de las auxinas con base en el valor de pH (Alcantar, 2008) los otros dos sistemas no presentan problemas con la disponibilidad de este nutriente pues sus valores de pH se encuentran alrededor del rango de la neutralidad.

El pH es el factor que más afecta la disponibilidad de Fe. La oferta de Fe por parte del sustrato en el sistema pichoco-vainilla es baja y además tiene problemas con la alcalinidad, lo que nos podría estar generando inmovilidad de Fe, por la formación de compuestos como hidróxidos y carbonatos férricos (Alcantar, 2008), los otros dos sustratos no tendrían problema con la asimilación de este nutriente, pues su oferta es

mayor, sin embargo; no están exentos de presentar en un futuro este problema al aumentar el valor de pH.

La oferta de Cu por parte de los sustratos es alta para los tres sistemas agroforestales, pero el alto contenido de materia orgánica en los tres sustratos favorece su inmovilidad. Los valores altos de pH ocasionan el mismo problema (Alcantar, 2008), al respecto se puede decir que el sistema agroforestal pichoco-vainilla presenta mayores problemas con la asimilación de este micronutriente. La función del cobre es participar en la fotosíntesis ya que este forma parte de los cloroplastos, además de que forma complejos con grupos péptidicos, sulfhídricos, carboxilos y fenoles (Alcantar, 2008), este último es de gran importancia pues la *vainillina* sustancia esencial en el aroma de la vainilla es un fenol. Además el cobre no puede ser reemplazado por otro ion metálico ya que también está implicado en la formación de la pared celular, por lo que su deficiencia en el tejido vegetal afecta la lignificación (Castellanos, 2002) lo que ocasiona enfermedades tales como necrosis en raíz o otra parte de la planta.

Respecto al Mn, el aporte en los tres sustratos es bajo, el pH al igual que los demás micronutrientes es el factor que más limita para su disponibilidad, ya que afecta su solubilidad, es decir; valores altos de pH favorece su oxidación química (Castellanos, 2002), nuevamente el sistema agroforestal más afectado es el de pichoco-vainilla ya que su oferta es menor de 3 mgkg^{-1} y su contenido de materia orgánica es alto. Los otros dos sustratos de los sistemas agroforestales también tienen problemas con la disponibilidad de Mn, esto se debe a los altos contenidos de materia orgánica que contienen (Alcantar, 2008).

Los sustratos analizados son extremadamente ricos en materia orgánica lo que hace pensar que esto es algo positivo para la vainilla, realmente al existir estas cantidades tan altas de materia orgánica potencializa el problema de disponibilidad de micronutrientes como el Cu y Mn (Alcantar, 2008) ,ya que causa que estos elementos empiecen a formar compuestos más estables, por tal razón los resultados del análisis a pesar de que

indican que se encuentran presentes en altas concentraciones, estos no puedan ser absorbidos con eficiencia por la planta de vainilla.

La oferta de nitrógeno inorgánico se considera alto para los tres sustratos analizados, debido a que las fuentes de suministro de nitrógeno de estos provienen básicamente de estiércoles, esta forma aprovechable de macronutriente corresponde a las formas del anion de NO_3^- y cation del NH_4^+ , el suministro de fosforo es alto y no tiene problemas.

El alto contenido de materia orgánica de estos sustratos es una excelente fuente de suministro de este nutriente a los tres sistema y aumenta su aprovechabilidad, el fósforo expuesto a un pH arriba de 7, ocasionan problemas con su fijación mediante la precipitación de fosforo por carbonatos (Alcantar, 2008), por tanto el sistema agroforestal pichoco-vainilla presenta este problema en mayor medida que la los otros dos sistemas agroforestales.

Respecto a la oferta de K es excelente, lo cual en los sistemas agroforestales bajo estudio traen beneficios importantes, ya que este es un nutriente cuando es absorbido es un transportador de otros iones, las densidades aparentes bajas ayudan a una mejor aeración de la raíz, el suministro de oxígeno es fundamental (Castellanos, 2002), una buena aeración de los sustratos garantiza una mejor asimilación del K. De los tres sustratos analizados el perteneciente al sistema agroforestal cítrico-vainilla presenta mejores ventajas para la asimilación de K, pero en general los tres sistemas no presenta problemas con la asimilación de K.

Relaciones catiónicas, se explican a partir de los trabajos realizados por Castellanos, (2002), para los resultados de potasio tenemos los siguientes valores

Cuadro 8. Valores de las relaciones catiónicas Ca/K y Mg/K para los tres sistemas agroforestales.

	Pichoco-vainilla	Pichoco-vainilla-malla sombra	Citrico-vainilla
Ca/K	5.6	3.1	2.5
Mg/K	0.54	0.44	0.59

La oferta de calcio es alta, no existe ningún problema de asimilación con este nutrientes, por el contrario ya que su aporte es de aproximadamente 10 gramos por cada kilogramo de sustrato aplicado, puede que este provocando ligero incremento en el pH en el sistema pichoco-vainilla principalmente y causando la inmovilidad de algunos otros nutrientes.

Magnesio relaciones catiónicas

Cuadro 9.-valores de las relaciones catiónicas Ca/Mg y K/Mg para los tres sistemas agroforestales.

	Pichoco-vainilla	Pichoco-vainilla-malla sombra	Citrico-vainilla
Ca/Mg	10.4	7.2	4.3
K/Mg	1.8	2.3	1.7

Este cuadro de acuerdo con (Castellanos, 2000) sugiere que una relación 2:1 de la relación K/Mg garantiza un buen suministro de Magnesio del suelo, entonces tenemos que el potasio esta interfiriendo con la absorción de magnesio c

6.2. Análisis químicos de tejido vegetal

Los resultados mostrados en este apartado corresponden a los valores máximo, medio y minino de cada sistema agroforestal y para cada nutriente analizado, la edad de las plantas es de 3 a 4 años y corresponden a la fase de crecimiento del fruto.

6.2.1. Hojas jóvenes

Cuadro 10. Contenido de nitrógeno total, fosforo y potasio en hojas jóvenes de vainilla de cada sistema agroforestal.

Sistema agroforestal	N total %			P %			K %		
	Min	Med	Max	Min	Med	Max	Min	Med	Max
Pichoco-vainilla	2.10	2.60	3.97	0.10	0.12	0.15	0.40	1.18	2.11
Pichoco-vainilla-malla sombra	1.50	1.92	2.40	0.40	0.50	0.60	2.08	3.04	4.34
Cítrico-vainilla	2.25	2.80	3.22	0.40	0.50	0.60	2.17	2.77	3.65
media	1.95	2.44	3.20	0.60	0.70	0.90	1.55	2.33	3.37

Cuadro 11. Contenido de calcio y magnesio en hojas jóvenes de vainilla de cada sistema agroforestal.

Sistema agroforestal	Ca %			Mg %		
	Min	Med	Max	Min	Med	Max
Pichoco-vainilla	7.6	10.9	14.1	0.4	0.9	1.4
Pichoco-vainilla-malla sombra	4.7	5.3	7.3	0.5	0.5	0.8
Cítrico-vainilla	3.9	4.7	5.4	0.3	0.5	0.7
media	5.4	7.0	8.9	0.4	0.7	1.0

Cuadro12. Contenido de cobre y zinc en hojas jóvenes de vainilla de cada sistema agroforestal.

Sistema agroforestal	Cu mgkg ⁻¹			Zn mgkg ⁻¹		
	Min	Med	Max	Min	Med	Max
Pichoco-vainilla	5.50	7.83	9.20	58.80	91.40	242.80
Pichoco-vainilla-malla sombra	10.40	36.1	86.8	79.70	92.9	137.1
Cítrico-vainilla	16.20	19.8	27.1	94.80	128.0	194.9
media	10.70	21.24	41.03	77.77	104.09	191.60

Cuadro 13. Contenido de hierro y manganeso en hojas jóvenes de vainilla de cada sistema agroforestal.

Sistema agroforestal	Fe mgkg ⁻¹			Mn mgkg ⁻¹		
	Min	Med	Max	Min	Med	Max
Pichoco-vainilla	35.5	123.4	256.0	6.6	12.0	23.6
Pichoco-vainilla-malla sombra	32.1	173.8	807.2	17.5	22.8	34.6
Cítrico-vainilla	45.1	83.5	117.2	34.0	41.6	50.6
media	37.6	126.9	393.5	19.4	25.4	36.3

6.2.2. Hojas maduras

Cuadro 14. Contenido de nitrógeno total, fosforo y potasio en hojas madura de vainilla de cada sistema agroforestal.

Sistema agroforestal	N total %			P %			K %		
	Min	Med	Max	Min	Med	Max	Min	Med	Max
Pichoco-vainilla	1.20	1.80	2.32	0.48	0.65	0.79	0.07	0.52	1.37
Pichoco-vainilla-malla sombra	1.05	1.22	1.42	0.37	0.44	0.56	1.76	2.39	3.03
Cítrico-vainilla	1.20	1.71	2.47	0.23	0.36	0.62	1.78	2.48	2.90
media	1.15	1.58	2.07	0.36	0.48	0.66	1.20	1.79	2.44

Cuadro 15. Contenido de calcio y magnesio en hojas maduras de vainilla de cada sistema agroforestal.

Sistema agroforestal	Ca %			Mg %		
	Min	Med	Max	Min	Med	Max
Pichoco-vainilla	12.3	14.7	17.1	0.9	1.1	1.4
Pichoco-vainilla-malla sombra	10.1	10.7	11.2	0.6	0.9	1.1
Cítrico-vainilla	9.0	9.9	10.6	0.9	1.4	2.0
media	10.5	11.7	12.9	0.8	1.1	1.5

Cuadro 16. Contenido de cobre y zinc en hojas jóvenes de vainilla de cada sistema agroforestal.

Sistema agroforestal	Cu mgkg⁻¹			Zn mgkg⁻¹		
	Min	Med	Max	Min	Med	Max
Pichoco-vainilla	4.50	6.73	10.30	25.50	44.43	73.10
Pichoco-vainilla-malla sombra	13.90	29.35	53.70	80.70	93.27	121.10
Cítrico-vainilla	8.30	14.08	21.60	57.21	93.65	128.70
media	8.90	16.72	28.53	54.47	77.12	107.63

Cuadro 17. Contenido de hierro y manganeso en hojas maduras de vainilla de cada sistema agroforestal.

Sistema agroforestal	Fe mgkg⁻¹			Mn mgkg⁻¹		
	Min	Med	Max	Min	Med	Max
Pichoco-vainilla	11.3	232.9	117.0	0.9	29.0	4.1
Pichoco-vainilla-malla sombra	8.4	173.0	694.6	21.2	38.1	34.7
Cítrico-vainilla	55.2	86.0	193.2	111.3	50.4	100.6
media	25.0	164.0	334.9	44.5	39.2	46.5

Los análisis de hoja de vainilla se presentan en los siguientes cuadros, el haber muestreado por separado las hojas en estadio juveniles que corresponden a los nuevos brotes del crecimiento vegetativo y las hojas maduras corresponden a la parte de la planta que dio origen al nuevo brote vegetativo donde se desarrollaran las nuevas inflorescencias que darán los frutos de la vainilla, responde a la necesidad de conocer por separado el contenido de cada nutriente tanto en la parte que es de soporte de la planta como en la nueva estructura que originara los frutos ,esto nos permitirá en un futuro poder proponer una estrategia de nutrición en base a un muestreo que nos aporte

información mas precisa de la demanda de nutrientes de la vainilla en los sistemas agroforestales

En este estudio para la discusión se tomo como referencia los valores medios del total de las muestras analizadas y además están referidos a un kg de en peso seco, para los macronutrientes la unidades son gkg^{-1} y para los micronutrientes ppm, para su mejor comprensión

6.2.3. Demanda hoja joven

Cuadro 18. Valores medios del contenido nutrimental en hoja joven de los tres sistemas agroforestales.

	sistema agroforestal		
	Pichoco-vainilla (gkg^{-1})	Pichoco-vainilla-malla sombra (gkg^{-1})	Citrico-vainilla (gkg^{-1})
Nitrógeno			
Inorgánico	26.0	19.2	28.0
Fosforo	1.2	5.2	4.8
Potasio	11.8	30.4	27.7
Ca	108.9	53.0	46.6
Mg	9.5	5.4	5.0
	Pichoco-vainilla (mgkg^{-1})	Pichoco-vainilla-malla sombra (mgkg^{-1})	Cítrico-vainilla (mgkg^{-1})
Cobre	7.8	36.1	19.8
Zinc	91.4	92.9	128.0
Fierro	123.4	173.8	83.5
Manganeso	12.0	22.8	41.6

6.2.4. Demanda hoja madura

Cuadro 19. Valores medios del contenido nutrimental en hoja joven de los tres sistemas agroforestales.

	sistema agroforestal		
	Pichoco-vainilla (gkg ⁻¹)	Pichoco-vainilla-malla sombra (gkg ⁻¹)	Cítrico-vainilla (gkg ⁻¹)
Nitrógeno			
Inorgánico	18.0	12.2	17.1
Fosforo	6.5	4.4	3.6
Potasio	5.2	23.9	24.8
Ca	146.9	106.6	98.9
Mg	10.5	8.9	13.7
	Pichoco-vainilla (mgkg ⁻¹)	Pichoco-vainilla-malla sombra (mgkg ⁻¹)	Cítrico-vainilla (mgkg ⁻¹)
Cobre	6.7	29.4	14.1
Zinc	44.4	93.3	93.7
Fierro	232.9	173.0	86.0
Manganeso	21.2	38.1	34.7

El cuadro siguiente muestra la comparación del contenido de nutrientes de las hojas jóvenes vs hojas maduras, los valores positivos indican una mayor concentración de nutrientes y en contraparte, valores negativos menor concentración de los mismo.

Cuadro 20. Comparación de contenido de cada nutriente al interior de hoja joven VS hoja madura en los tres sistemas agroforestales.

	sistema agroforestal		
	Pichoco-vainilla (gkg ⁻¹)	Pichoco-vainilla-malla sombra (gkg ⁻¹)	Cítrico-vainilla (gkg ⁻¹)
Nitrógeno			
Inorgánico	8.0	7.0	10.9
Fosforo	-5.3	0.7	1.2
Potasio	6.6	6.5	2.9
Ca	-37.9	-53.5	-52.3
Mg	-1.0	-3.5	-8.7
	Pichoco-vainilla (mgkg ⁻¹)	Pichoco-vainilla-malla sombra (mgkg ⁻¹)	Cítrico-vainilla (mgkg ⁻¹)
Cobre	1.1	6.7	5.7
Zinc	47.0	-0.4	34.4
Fierro	-109.5	0.8	-2.5
Manganeso	-9.3	-15.3	6.9

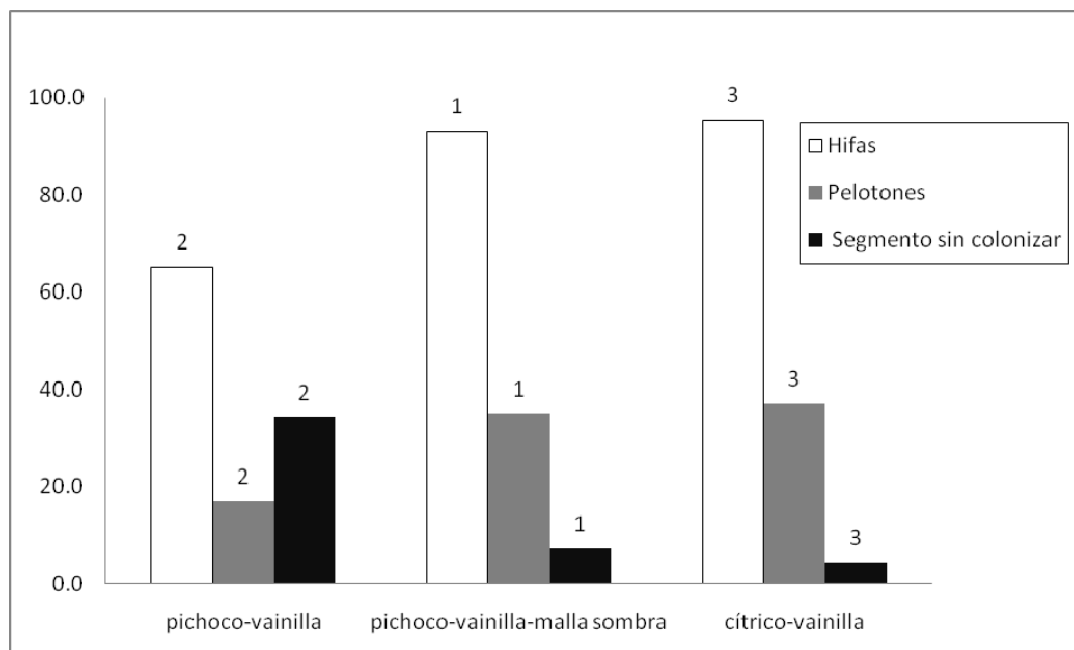
Al contrastar los datos obtenidos del análisis químico foliar del tejido joven vs tejido maduro, el primero contienen más cantidad N. P K, Cu Zn y en el segundo las concentración de Ca, Mg, Fe y Mn es mayor, por tanto podemos inferir que esta epífita desde el punto de vista agronómico se comporta de manera similar que el resto de los cultivos de interés económicos (cultivos básicos, hortalizas)

6.3. Análisis de porcentaje de colonización de raíz.

El análisis de varianza corresponde al tipo completamente alzar y el modelo estadístico considero tres tratamientos (1.- pichoco - vainilla – malla sombra, 2.- pichoco – vainilla, y 3 - cítrico – vainilla) en cada uno se evaluó el porcentaje de hifas, pelotones y segmentos sin colonizar, cada uno de ellos tuvo 24 repeticiones o laminillas contadas, también se realizó una prueba de medias empleando el método de Tukey.

Para consultar los resultados del ANOVA y la prueba de Tukey ir al apéndice A, de este documento.

Fig. 6. Comparación de medias del porcentaje de colonización de raíz de *vanilla planifolia* en los sistemas agroforestales



(1) corresponde al sistema agroforestal pichoco-vainilla-malla sombra, (2) corresponde al sistema agroforestal pichoco-vainilla, (3) corresponde al sistema agroforestal cítrico-vainilla

En base al análisis estadístico realizados con los datos del conteo de colonización de raíz, indica que no hay diferencias significativas entre los tres sistemas agroforestales muestreados ya que estos valores de prueba de F para el caso de hifas es menor de 0.0001, para el análisis de la presencia de los pelotones el resultado de esta prueba es menor de 0.0002 y finalmente para los segmentos sin colonizar es menor de 0.0001.

En la prueba de Tukey, los valores más alto de la media para pelotones la tiene el sistema agroforestal cítrico-vainilla (3) con 95.5 %, seguido del sistema pichoco-vainilla-malla sombra (1) con 93.2 / y el sistema pichoco-vainilla (2) tiene un 65.3 /.

Las medias para pelotones, el valor más alto lo reporta el sistema cítrico-vainilla (3) 37.2%, el intermedio pichoco-vainilla-malla sombra (1) con 35.1% y el más bajo es de 34.5 para el sistema pichoco-vainilla (2), en general se puede considerar que la presencia de esta estructura es similar para los tres sistemas.

La media más alta para los segmentos que no presentaron colonización por ningún tipo de estas estructuras lo reporta el sistema pichoco-vainilla (2) con un 17 %, el sistema pichoco-vainilla-malla sombra (1) tiene un valor medio de 7.4 %, y el cítrico-vainilla (3) es de solo el 4.5 /.

Dejando a un lado la comparación estadística entre los sistemas agroforestales estudiados, podemos decir que la vainilla es una planta que permitiendo la colonización de sus raíces por hongos en un alto porcentaje

6.4. Identificación de hongos asociadas a la raíz de vainilla

De los microcultivos obtenidos se reportan los siguientes géneros y su tabla comparativa de los géneros y porcentaje de ocurrencia en cada sistema agroforestal

Para describir los géneros se recurrió a las guías dicotómicas para la identificación de hongos de Barner, (1972), que emplea el sistema de clasificación saccardo y Dungan, (2006), así como también se procedió a comparar las con microfotografías de estos géneros que existen.

6.4.1 Caracterizaciones taxonómicas microscópicas

1. Taxonomía

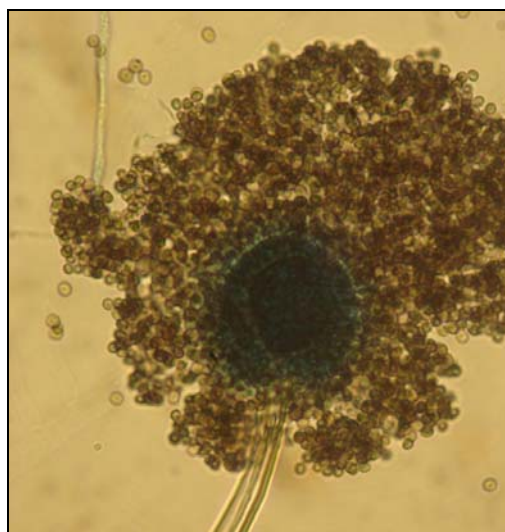
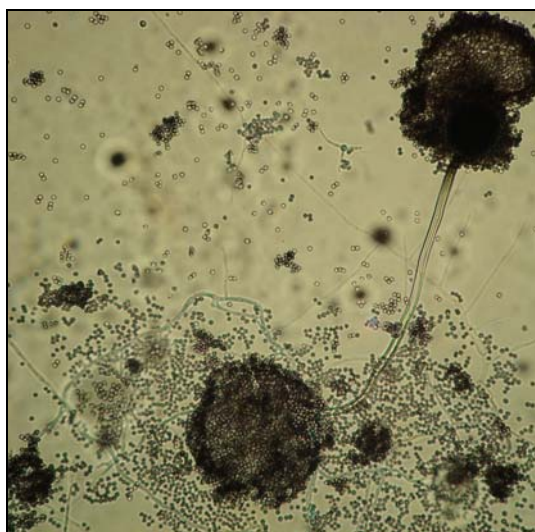
División : Myxomycota
Subdivisión : Deuteromycotina
Clase: Hyphomycetes
Orden: Moniliales
Familia: Moniliaceae
Género: *Aspergillus*
Especie: *niger*

Descripción microscópica

Tipo de hifa	Septada uninucleada
Tipo de cuerpo fructífero	Conidióforo
Tipo de esporas	Conidio
Característica de la espora	
• Color	Café oscuro
• Morfología	Esféricas
• Aspecto externo	Liso

La imagen de este género de se muestra en la figura siguiente

Fig. 7. Género *Aspergillus niger* encontrado en el sistema agroforestal.



2. Taxonomía

División : Myxomycota
Subdivisión : Deuteromycotina
Clase: Hyphomycetes
Orden: Moniliales
Familia: Dematiaceae
Género: *Cladosporium*
Especie: *Herbarum*

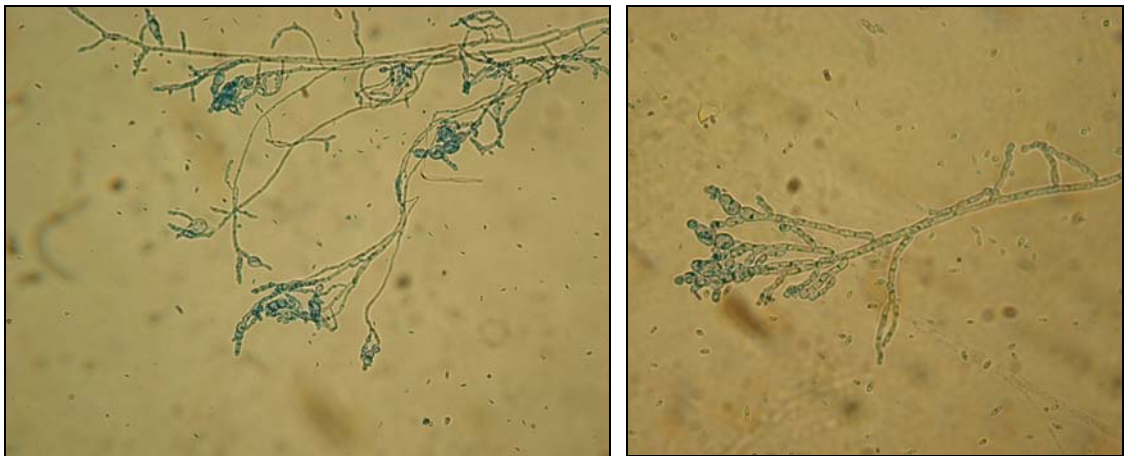
Descripción microscópica

Tipo de hifa	Septada uninucleada
Tipo de cuerpo fructífero	Cadena ramificada Conidióforos elipsoide o cilíndricos (parecida a la de un limón)
Tipo de esporas	Conidio
Característica de la spora	
• Color	Verde olivo
• Morfología	Elipsoide u ovoide
• Aspecto externo	Liso

La imagen de este género de se muestra en la figura siguiente

-

Fig. 8. Género *Cladosporium Herbarum* encontrado en el sistema agroforestal.



3. Taxonomía

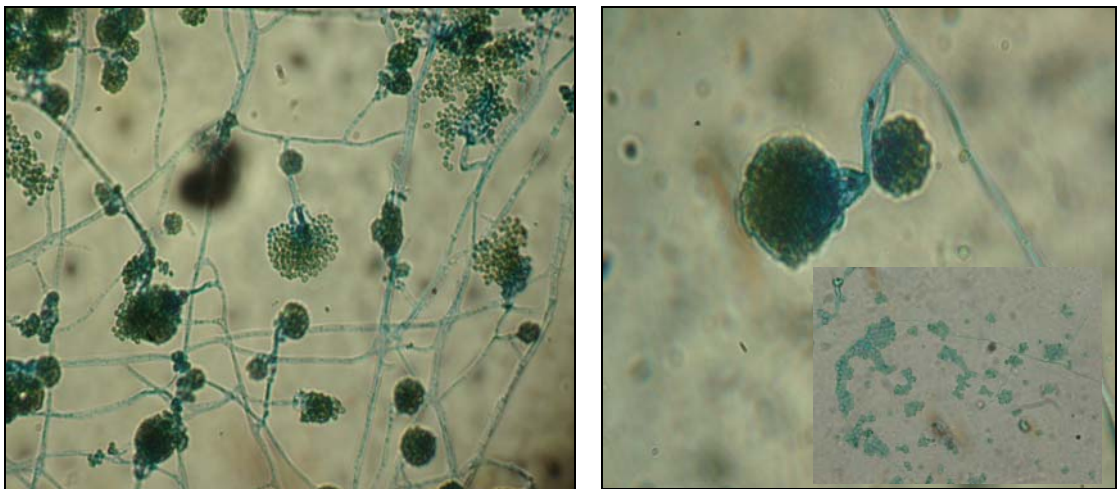
División : Myxomycota
Subdivisión : Deuteromycotina
Clase: Hyphomycetes
Orden: Moniliales
Familia: Moniliaceae
Género: *Tricoderma*
Especie: *spp*

Descripción microscópica

Tipo de hifa	Septada uninucleada
Tipo de cuerpo fructífero	Conidioforo, sus colonias forman círculos concéntricos muy conspicuos
Tipo de esporas	Conidias
Característica de la espora	
• Color	verde amarillento y azul
• Morfología	Esférico:
• Aspecto externo	Granuloso

La imagen de este género de se muestra en la figura siguiente

Fig. 9. Género *Tricoderma* encontrado en el sistema agroforestal.



Este género fue identificado usando la clave alternativa de series y géneros del sistema de clasificación de Hughes-Tubaki-Barron

4. Taxonomía

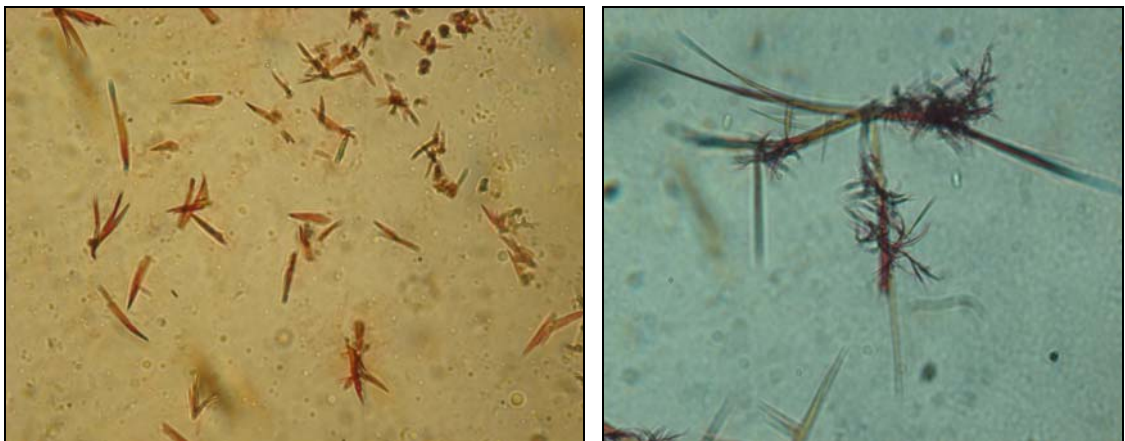
División : Myxomycota
 Subdivisión : Deuteromycotina
 Clase: Hyphomycetes
 Orden: Moniliales
 Familia: Moniliaceae
 Serie: Aleuriosporae
 Género: *Tetracladium*
 Especie: spp

Descripción microscópica

Tipo de hifa	Septada uninucleada
Tipo de cuerpo fructífero	Conidioforo,, forma de “X”
Tipo de esporas	Conidias
Característica de la espora	
• Color	Roja o purpura
• Morfología	estrella
• Aspecto externo	punteada

La imagen de este género de se muestra en la figura siguiente

Fig.10. Género *Tetracladium* encontrado en el sistema agroforestal.



5. Taxonomía

División : Myxomycota
Subdivisión : Deuteromycotina
Clase: Hyphomycetes
Orden: Moniliales
Familia: Moniliaceae
Género: *Gliocladium*
Especie: *spp*

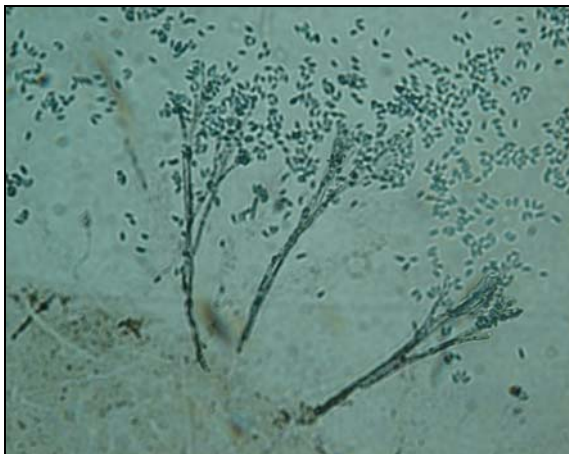
Descripción microscópica

Tipo de hifa	Septada uninucleada
Tipo de cuerpo fructífero	Conidioforo
Tipo de esporas	Conidias
Característica de la espora	
• Color	café
• Morfología	oval
• Aspecto externo	lisa

La imagen de este género de se muestra en la figura siguiente

-

Fig.11.Género *Gliocladium* encontrado en el sistema agroforestal.



6. Taxonomía

División : Myxomycota
Subdivisión : Deuteromycotina
Clase: Hyphomycetes
Orden: Moniliales
Familia: Tuberculariaceae
Género: *Fusarium*
Especie: *spp*

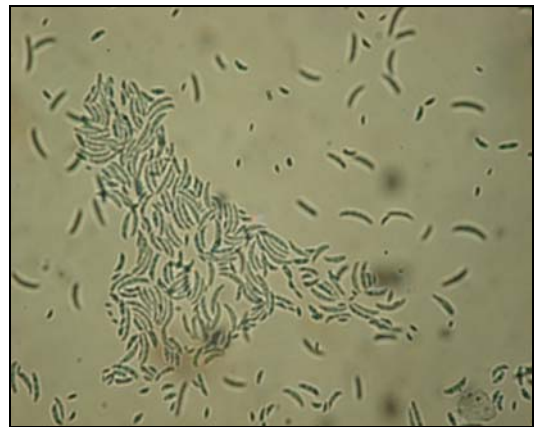
Descripción microscópica

Tipo de hifa	Septada uninucleada
Tipo de cuerpo fructífero	Conidioforo
Tipo de esporas	Macroconidias
Característica de la espora	
• Color	pardo
• Morfología	Curvado o media luna
• Aspecto externo	aspero

La imagen de este género de se muestra en la figura siguiente

-

Fig.12.Género *Fusarium* encontrado en el sistema agroforestal.



7. Taxonomía

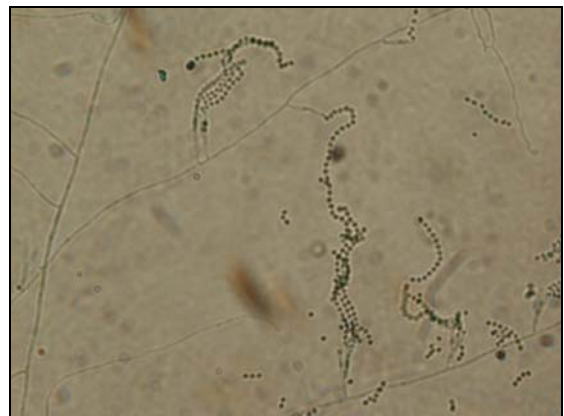
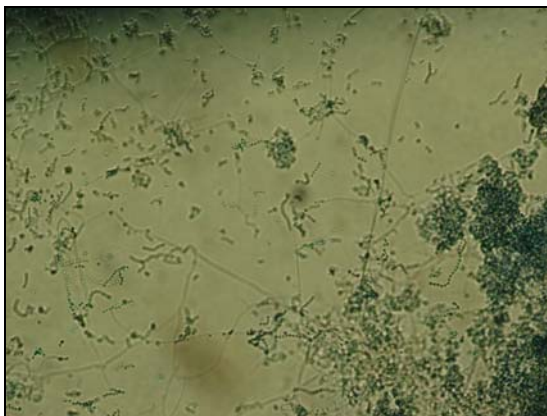
División : Myxomycota
Subdivisión : Deuteromycotina
Clase: Hyphomycetes
Orden: Moniliales
Familia: Moniliaceae
Género: *Paecilomyces*
Especie: *spp*

Descripción microscópica

Tipo de hifa	Septada uninucleada
Tipo de cuerpo fructífero	Conidioforo
Tipo de esporas	Conidias
Característica de la espora	
• Color	verde
• Morfología	esférica
• Aspecto externo	lisa

La imagen de este género de se muestra en la figura siguiente

Fig.13. Género *Paecilomyces* encontrado en el sistema agroforestal.



8. Taxonomía

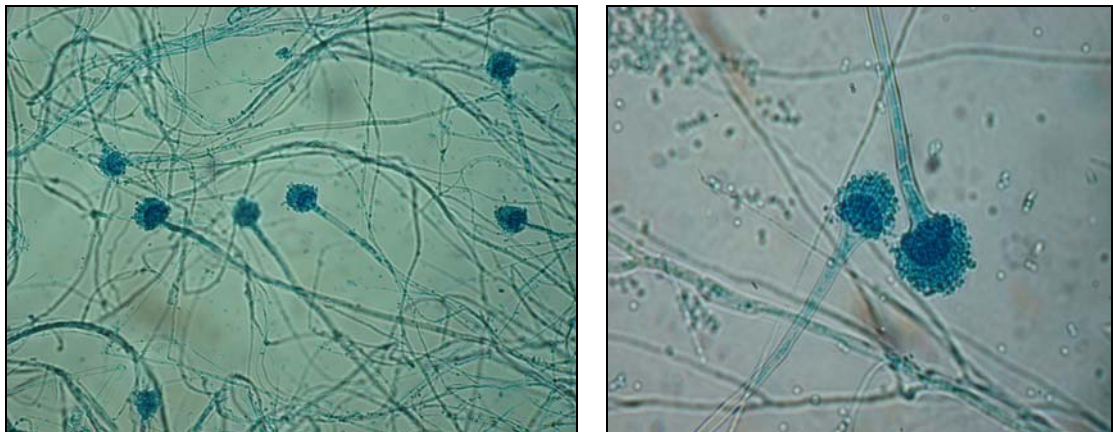
División : Myxomycota
Subdivisión : Deuteromycotina
Clase: Hyphomycetes
Orden: Moniliales
Familia: Moniliaceae
Género: *Aspergillus*
Especie: *wentii*

Descripción microscópica

Tipo de hifa	Septada uninucleada
Tipo de cuerpo fructífero	Conidióforo
Tipo de esporas	Conidio
Característica de la spora	
• Color	azul
• Morfología	Esféricas
• Aspecto externo	Liso

La imagen de este género de se muestra en la figura siguiente

Fig.14.Género *Aspergillus wentii* encontrado en el sistema agroforestal.



9. Taxonomía

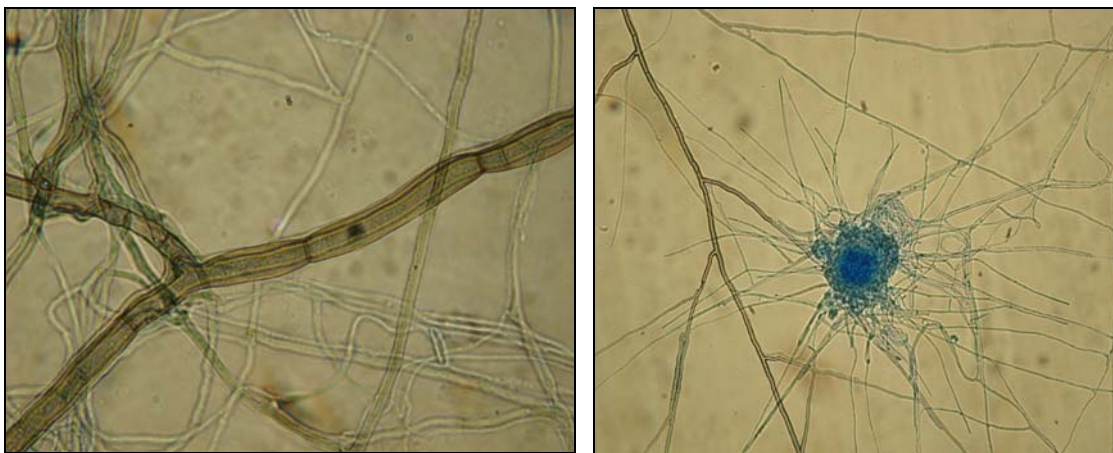
División : Myxomycota
Subdivisión : Deuteromycotina
Clase: Hyphomycetes
Orden: Moniliales
Familia: Mycelia Sterilia
Género: *Rhizoctonia*
Especie: *spp*

Descripción microscópica

Tipo de hifa	Septada uninucleada
Tipo de cuerpo fructífero	esclerotio
Tipo de esporas	
Característica de la espora	
• Color	Café oscuro
• Morfología	
• Aspecto externo	

La imagen de este género de se muestra en la figura siguiente

Fig. 15. Género *Rhizoctonia* encontrado los sistemas agroforestales.



6.4.2. Caracterización de los hongos filamentosos en las raíces de la vainilla por sistema agroforestal.

Este cuadro nos muestra la presencia de los hongos encontrados por sistemas agroforestal

Cuadro 21. Género de hongo endorizosferico de vainilla presentes por sistemas agroforestales.

Sistema Agroforestal			
Genero del hongo	Pichoco-vainilla	Pichoco-vainilla-malla sombra	Cítrico-vainilla
<i>Aspergillus niger</i>			X
<i>Aspergillus Wentii</i>		X	
<i>Cladosporium Herbarum</i>		X	X
<i>Fusarium</i>	X	X	X
<i>Gliocladium</i>			X
<i>Paecilomyces</i>			X
<i>Rhizoctonia</i>	X	X	
<i>Tretracladium</i>		X	X
<i>Tricoderma</i>		X	X

Este cuadro nos muestra el porcentaje ocurrencia de cada hongo reportado por sistemas agroforestal

Cuadro 22. Porcentaje de cada género de hongo endorizosferico de vainilla en los tres sistemas agroforestales.

Sistema Agroforestal (porcentaje)			
Genero del hongo	Pichoco-vainilla	Pichoco-vainilla-malla sombra	Cítrico-vainilla
<i>Aspergillus niger</i>			10.3
<i>Aspergillus wentii</i>		9.1	
<i>Cladosporium herbarum</i>		13.6	20.5
<i>Fusarium</i>	50	18.2	5.1
<i>Gliocladium</i>			10.3
<i>Paecilomyces</i>			7.7
<i>Rhizoctonia</i>	50	9.1	
<i>Tretracladium</i>		4.5	5.1
<i>Tricoderma</i>		45.5	41.0

En total se pudieron identificar ocho géneros de hongos endofíticos, que se encuentran colonizando la raíz de vainilla, el sistema agroforestal que presenta menor número de géneros identificados el pichoco-vainilla con solo dos, el sistema pichoco-vainilla-malla sombra se identificaron seis géneros y para el sistema agroforestal cítrico-vainilla se identificaron siete géneros.

El género en común para los tres sistemas es el *Fusarium*, el cual de acuerdo a la literatura se considera un patógeno, y el que se presentó con mayor frecuencia fue *Tricoderma*, el cual es un hongo antagonico del genero anteriormente mencionado

Basados en la revisión de literatura el género *Rhizoctonia*, forma una micorriza muy estable con las orquídeas, este se hayo en los sistemas agroforestales pichoco-vainilla y pichoco-vainilla-malla sombra.

Ahora bien la diversidad de géneros entres los sistemas agroforestales y los resultados obtenidos de pH, nos hacen suponer que esta se ve afecta entre alcalino son los sutratos, es decir, la interacción hongo-vainilla a pH alcalino se limita.

Al existir más géneros presentes dentro de los sistemas agroforestales, sugiere un equilibrio biológico entre poblaciones, sin embargo, el efecto de los géneros de los hongos encontrados en los sistemas no puede explicarse con sustento científico, pues no han sido evaluados.

7. CONCLUSIONES

Los objetivos planteados de esta investigación, se cumplieron ya que se:

- Se determino diagnosticar la calidad de los sustratos empleados en los tres sistemas agroforestales.
- Se determino establecer los niveles de concentración de de nueve nutrientes en el tejido foliar de vainilla en los tres sistemas agroforestales.
- Se determino el porcentaje de micorrización (hifas y pelotones) para cada sistema agroforestal.
- Se caracterizaron por géneros los hongos filamentosos encontrados en cada sistema agroforestal.

8. RECOMENDACIONES

Para los productores

- Es necesario hacer una práctica de corrección pH para el caso del sistema agroforestal pichoco-vainilla, se recomienda llevarlo alrededor del rango de la neutralidad, esto es de 6.5 a 7.4, utilizando azufre agrícola
- Para los tres sistemas se recomienda incorporar más materia verde o estiércoles con la finalidad de incrementar la cantidad de nitrógeno en los sustratos o compostas que se elaboran
- Se recomienda la incorporación de hongos solubilizadores fosforo
- Se debe realizar un buen proceso de compostaje de la materia orgánica, esto con la finalidad de que las bacterias termófilas mineralicen eficientemente los nutrientes contenidos en ella,
- Se recomienda aplicaciones foliares de micronutrientes en la vainilla, esto puede hacerse utilizando ácidos húmicos, ya que estos presentan altas concentraciones de iones metálicos necesarios para el desarrollo óptimo de la vainilla.

-

Para las futuras investigaciones sobre vainilla.

- Debido a que la orquídea aromática de estudio presenta tallos fotosintéticamente activos, en el análisis de tejido vegetal debe incluirse dicha estructura anatómica, para tener un mejor diagnóstico nutricional.
- Para realizar recomendaciones más precisas orientadas al incremento de la producción es necesario edificar una curva de demanda tomando en cuenta las etapas fenológicas de la vainilla.
- De los géneros de hongos caracterizados en este estudio, deben realizarse investigaciones encaminadas a escudriñar la influencia en la cinética de estos microorganismos en la bioquímica vegetal de la especie explorada.

LITERATURA CITADA

- Alcantár. G. 2008. Nutrición de cultivos. Grupo Mundi-Prensa. p 7-269. México.
- Allen M.F., Allen B.E. y Friese C.F. 1989. Responses of the non-mycotrophic plant *Sa/sola ka/í* to invasion by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 111:p 45-49.
- Ames R.N., Reid C.P.P. y Ingham E.R. 1984. Rhizosphere bacterial population responses to root colonization by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus. *New Phytologist*. 96. p 555-563.
- Andrade G., Linderman R.G. y Bethlenfalvay G.J. 1998. Bacterial associations with the mycorrhizosphere and hyphosphere of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *Plant and Soil* 1202. p 79-87.
- .Barnett. L. Hunter. B. 1972. Illustrated genera of imperfect fungi. Burgess Publishing Company. p 241. California, Pennsylvania U.S.A.
- Bansal M. y Mukerji K.G. 1994. Positive correlation between VAM-induced changes in root exudations and mycorrhizosphere mycoflora. *Mycorrhiza*. p 5: 39-44.
- Bending G.D. y Read D.J. 1997. Lignin and soluble phenolic degradation by ectomycorrhizal and ericoid mycorrhizal fungi. *Mycological Research* . p 101: 1348 -1354.
- Brundrett M.C. 1991. Mycorrhizas in natural ecosystems. In: Macfayden A, Begon M y Fitter A.H. Eds. *Advances in Ecological Research*, Vol. 21. Academic Press, London. p. 171-313.
- Castellanos. J. Uvalle-Bueno. J. Aguilar-Santelises. A. 2002. Manual de interpretación de análisis de suelos y aguas. Universidad Autónoma Chapingo. p 226. México.
- Castillo R. 1989. Morfología y fenología de la *vanilla planifolia* en Papantla, Veracruz. Colegio de posgraduados. México. p 14 -22.
- Cordier C., Pozo M.J., Barea J.M, Gianinazzi S. y Gianinazzi-Pearson y. 1998. Celi defence responses associated with localized and systematic resistance to *Phytophthora parasitica* induced by an arbuscular mycorrhizal fungus. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 11. p 1017-1028.

- Currah, R.S., Zelmer, C.D. Hambleton, S. y Richardson, K.A. 1997. Fungi from orchid mycorrhizas. J. Arditi and A.M. Pridgeon (eds.). Orchid Biology. Reviews and Perspectives. Vol. 11. p 117- 170.
- Daniels-Hetrick B.A., Leslie J.F., Thompson-Wilson G y Gerscheffs-Kitt G.D.1988. Physical and topological assessment of effects of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus on root architecture of big bluestem. New Phytologist. 110:p 85-96.
- Duchesne L.C., Peterson R.L. y Ellis B.E. 1989. The future of ectomycorrhizal fungi as biological control agents. Phytoprotection. 70:p 51-57.
- Dugan. F. 2006. The identification of fungi an illustrated introduction with keys. Glossary, and guide to literature. The American Phytopathological Society St. Paul Minnesota U.S.A. p 176.
- Durán D. 1867. Historia de las indias de la nueva España e islas de tierra firme. Imprenta de J.M. Andrade y F. Escalante. México
- Eason W.R., Newman E.J. y Chuba P.N. 1991. Specificity of interplant cycling of phosphorus: the role of mycorrhizas. Plant and Soil 137:p 267-274.
- Eissenstat D.M. 1992. Costs and benefits of constructing roots of a small diameter. Journal of Plant Nutrition 15:p 763-782.
- Fassberder H. 1986. Química de suelos: con énfasis en América latina.. Editorial IICA. p 88-96. Costa Rica.
- Ferrera. R. 1993. Manual de agromicrobiología. Editorial Trillas. p 59-92. México.
- Ferrera R. y Pérez J.1995. agromicrobiología. Elemento útil en el desarrollo sustentable. Colegio de posgraduados. p 36-53. México.
- Fitter A.H. y Hay R.K.M. 1987. Environmental Physiology of Plants. Academic Press, London.
- Gandoy. W. 1982. Curso práctico de física de suelos. Universidad Autónoma Chapingo. p 60-73. México.
- García B.1987. Los pueblos de la Sierra. El poder y el espacio entre los indios del Norte de Puebla hacia 1700. Colegio de México. México
- Grandnais J, Oiah G.M, Van Calsteren M.R. y Furian V. 1993. Characterisation and localisation of plant phenolics likely involved in the

- pathogen resistance expressed by endomycorrhizal roots. *Mycorrhiza* 3: p 155-164.
- Grime JP, Crick JC y Ricon JE. 1986. The ecological significance of plasticity. In: Jennings DH y Trewavas AJ (eds) *Plasticity in Plants*. The Company of Biologists Limited, Cambridge. p 5-29
- Harley, J.L. y Smith, S.E. 1989. *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic. Press, New. York.
- Harvey A.E., Larsen M.J. y Jurgensen M.F. 1976. Distribution of ectomycorrhizae in a mature douglas-fir/larch soil in western Montana. *Forest Science* 22: p 393-633.
- Hetrick B.A.D, Wilson G.W.T. y Todd T.C. 1992. Relationship of mycorrhizal symbiosis, rooting strategy, and phenology among tallgrass prairie forbs. *Canadian Journal of Botany*. p 1521-1428.
- Hogberg P., Ptamboeck A.H., Taylor A.F.S. y Fransson P.M.A. 1999. Natural C13 abundance reveals trophic status of fungi and host-origin of carbon in mycorrhizal fungi in mixed forests. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 96: p 534-539.USA.
- Horton T.R., Bruns T.D. y Parker V.T. 1999. Ectomycorrhizal fungi associated with *Arctostaphylos* contribute to *Pseudotsuga menziesii* establishment. *Canadian Journal of Botany*. 77: p 93-102.
- INEGI, 2008. Síntesis cartográfica del Estado de Puebla y Veracruz.
- Infante S. 2005. Métodos estadísticos. Un enfoque interdisciplinario. Editorial Trillas. p 237-264. México.
- Itoh S. y Barber S.A. 1983. Phosphorus uptake by six plant species as related to root hairs. *Agronomy Journal* 75. p 457-461.
- Jones J. 1998. *Plant nutrition manual*. editorial CRC Press. p 33-94.USA.
- Jones M.D., Durali D.M. y Tinker P.B. 1990. Phosphorus relationships and production of extramatrical hyphae by two types of willow ectomycorrhizas at different soil phosphorus levels. *New Phytologist*. p115: 259-267.

- Koide R., Li M., Lewis J. y Irby C. 1988. Role of mycorrhizal infection in the growth and reproduction of wild vs. cultivated plants. 1. Wild vs. cultivated oats. *ecologia*. p77: 537-543.
- Krishnamurthy, L., R. Indumathy y A. Arroyo. 2003. Alternativas productivas: Introducción a la agroforestería para el desarrollo rural. Centro de Educación y Capacitación para el Desarrollo Sustentable. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. México, D.F. p. 92, 94
- Lewis, D.H. 1991. Mutualistic symbioses in the origin and evolution of land plants, In: *Symbiosis as a Source of Evolutionary Innovation*. L.Margulis, and R. Fester, Eds. MIT. Press. Cambridge, Massachusetts.p 288-300.
- Lindahi B., Stenhid J., Olsson S. y Finlay R. 1999. Translocation of ^{32}P between interacting mycelia of a wood-decomposing fungus and ectomycorrhizal fungi in microcosm systems. *New Phytologist* 144: p 183-193.
- López S. y Mata B. 2006. La vainilla en el totonacapan, símbolo de la sustentabilidad. Extensión al campo. Universidad Autónoma Chapingo, año 1.núm 02: p 21-53. México.
- Little L.R. y Maun MA. 1996. The *Ammophila* problem revisited: a role for mycorrhizal fungi. *Journal of Ecology*. 84. p 1-7.
- Manjunath A. y Habte M. 1991. Root morphological characteristics of host species having distinct mycorrhizal dependency. *Canadian Journal of Botany*. 69 p 671 -676.
- Marie-Pierre A. y Francois G. 2007. Especies, Aromatizantes y condimentos. Ediciones Mundi Prensa. 241-246. España.
- Marschner, H. 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Academic Press, London.
- Masferrer. E. 2006.Cambio y continuidad. Los totonacos de la sierra norte de Puebla. Editora de gobierno del Estado de Veracruz. p 109-140. México.
- Mendieta. G. 1945. Historia eclesiástica indiana. Editorial salvador Chávez hayhoe. p 11-16. México.
- Mendizabal. M. 1944. Influencia de la sal en la distribución geográfica de los grupos indígenas de México. Talleres gráficos de la nación. México.

- Mengel, K y Kirkby E.A. 1987. Principles of plant nutrition. Fourth edition. International Potash Institute. Berne. Switzerland.
- Miller, R.M. Hetrick B.A.D. y Wilson G.W.T. 1997. Mycorrhizal fungi affect root stele tissue in grasses. *Canadian Journal of Botany* 75:p 1778-1784.
- Montero G. 1996. El cultivo de la vainilla. Universidad Autónoma Chapingo México
- Morin, C., Samson J. y Dessureault M. 1999. Protection of black spruce seedlings against *Cylindrocladium* root rot with ectomycorrhizal fungi. *Canadian Journal of Botany* 77:p 169-174.
- Mota y escobar A. 1939. Memorias del obispo de Tlaxcala, Fray Alonso de Mota y Escobar. (1609-1621) *Anales del instituto Nacional de Antropología e Historia*. Vol. 1. p 10. México.
- Morton, J.B. y Benny, G.L. 1990. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): a new order, Glomales, two new suborders, Glomineae and Gigasporineae, and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae with an emendation of Glomaceae. *Mycotaxon* p 37: 471-491.
- Mosse, B. 1959. Observations on the extra-matrical mycelium of a vesiculararbuscular endophyte. *Transactions of the British Mycological Society* p 439-448.
- Mukerji, K.G. 1996. Taxonomy of endomycorrhizal fungi, In: *Advances in Botany*, K.G. Mukerji, B. Mathur, A.B.P. Chamola and P. Chitralkha. Eds. A.P.H. Publishing Corporation, New Delhi. p 212-219.
- Nicolson T.H. 1959. Mycorrhiza in the Gramineae. 1. Vesicular-arbuscular endophytes. with special reference to the external phase. *Transactions of the British Mycological Society* 42: p 421-438.
- Olmos A. 1912. Proceso de indios idolatras y hechiceros. *Publicaciones del archivo general de la nación*. p 212. México.
- Ortiz B. 1995. La cultura asediada: espacio e historia en el trópico veracruzano (El caso del totonacapan). *Instituto de ecología A.C.* p 18-23. 39-95. México.

- Palerm A. 1961. Historia de la etnología. Los precursores. Secretaria de Educación Pública e Instituto Nacional de Antropología e Historia. p 234-236. México.
- Parra R. 1984. El cultivo de la vainilla (*Vanilla planifolia*) en la zona de Papantla, Veracruz. Universidad Autónoma de Chapingo. México.
- Purseglove J. 1972. Tropical Crops: Monocotyledons. Editorial Academic Press. p 46. USA.
- Ramírez-Gama R.M. B. Luna Millán A. Mejía Chávez O. Velázquez Madrazo Tsuzuki Reyes L. Vierna García. Luciano Hernández Gómez. e I. Müggengburg. 1998. Facultad de Química. Editor R.M. Ramírez Gama. p 93-103. México.
- Read, D.J. 1991. Mycorrhizal in ecosystems-natures response to the law of the minimum, in: Frontiers in Mycology, D.L. Hawksworth, Ed. Cab International, Wallingfort, U.K. p 101-130.
- Rodríguez F. 2005. Fertilizantes nutrición vegetal. AGT Editor S. A. p 35-46. México.
- Rodríguez H. y Rodríguez J. 2002. Métodos de análisis de suelos y plantas. Criterios de interpretación. Editorial Trillas. p 145-185. México.
- Paul, E.A. y Clark, F.E. 1989. Soil Microbiology and Biochemistry. Academia Press. Inc. California, USA.
- Russell R.S. 1977. Plant Root Systems: Their Function and Interaction with the Soil. McGraw-Hill Book Co. Ltd., London.
- Sánchez-Colín, M.J., Ramírez, B.P.J. y Torrescano, V.N. 2000. Micorriza arbuscular y *Rhizobium* presentes en leguminosas establecidas en suelo Andosol. In: Alarcón A. y A. Ferrera-Cerrato (eds.). 2000. ecología, fisiología y biotecnología de la micorriza arbuscular. Colegio de Postgraduados. Montecillos. Mundi Prensa. México p. 251.
- Sieverding, E., Manual de métodos para la investigación de la micorriza vesículo-arbuscular en el laboratorio, CIAT, Colombia, 1985.
- Simon L. 1993. Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular land plants. Nature. p 67-69. USA.

- Smith, S.E. y Read, D.J. 1997. Mycorrhizal Symbiosis. Second Edition. Academic Press. USA.
- Solórzano. E. 2000. Compendio de guías fenológicas. Universidad Autónoma Chapingo. p 4-12. México.
- Stanley M.R., Koide R.T. y Shumway D.L. 1993. Mycorrhizal symbiosis increases growth, reproduction and recruitment of *Abutilon theophrasti* Medic. in the field. *Ecologia* p 94: 30-35.USA
- St John T.V., Coleman D.C. y Reid C.P.P. 1983. Growth and spatial distribution of nutrient-absorbing organs: selective exploitation of soil heterogeneity. *Plant and Soil* 71. p 487-493.USA
- Theodorou, O. y Bowen G. D.. 1978. The influence of pH and nitrate on mycorrhizal associations of *Pinus radiata*. D. Don. *Aust. J. Bot.* p 17 59-67.
- Tomita, M. y S. Konns. 1998. Preliminary report Qn the symbiotic germination of fine japanese terrestrial orchids. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 67 (5): p 696-698 .USA..
- Trappe J.M. 1987. Phylogenetic and ecologic aspects of mycotrophy in the angiosperms from an evolutionary standpoint. In: Safir GR (ed) *Ecophysiology of VA Mycorrhizal Plants*. CRO Press, Boca Raton, Florida. p. 5-25 USA
- Warner A. 1984. Colonization of organic matter by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Transactions of the British Mycological Society* 82. p 352-354.USA.
- Wright S.F y Upadhyaya A. 1998. A survey of soils for aggregate stability and giomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungí. *Plant and Soil* 198. p 97-107.

APENDICE

APÉNDICE A

Anova para segmentos colonizados con hifas

Sistema SAS					
23:06 Friday, May 28, 2008					
Procedimiento ANOVA					
Variable dependiente: HIF					
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	7	13918.34830	1988.33547	28.06	<.0001
Error	64	4534.56533	70.85258		
Total correcto	71	18452.91363			
R-cuadrado					
0.754263					
Coef Var					
9.944174					
Raiz MSE					
8.417398					
HIF Media					
84.64653					
Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
SISTEMA	2	13598.81741	6799.40871	95.97	<.0001
REP	5	319.53089	63.90618	0.90	0.4854

Anova para segmentos colonizados por pelotones

Sistema SAS					
23:06 Friday, May 28, 2008					
Procedimiento ANOVA					
Variable dependiente: PEL					
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	7	9015.20973	1287.88710	4.13	0.0008
Error	64	19979.89701	312.18589		
Total correcto	71	28995.10673			
R-cuadrado					
0.310922					
Coef Var					
59.37895					
Raiz MSE					
17.66878					
PEL Media					
29.75597					
Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
SISTEMA	2	5922.964336	2961.482168	9.49	0.0002
REP	5	3092.245390	618.449078	1.98	0.0934

Nota: el sistema 1 corresponde al sistema agroforestal pichoco-vainilla-malla sombra
el sistema 2 corresponde al sistema agroforestal pichoco-vainilla
el sistema 3 corresponde al sistema agroforestal citrico-vainilla

Anova para segmentos sin colonizados

Sistema SAS					
23:06 Friday, May 28, 2008					
Procedimiento ANOVA					
Variable dependiente: SC					
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	7	13395.57613	1913.65373	26.32	<.0001
Error	64	4653.70646	72.71416		
Total correcto	71	18049.28260			
	R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	SC Media	
	0.742167	55.35435	8.527260	15.40486	
Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
SISTEMA	2	12981.19324	6490.59662	89.26	<.0001
REP	5	414.38289	82.87658	1.14	0.3487

Comparación de medias o prueba de tukey.

Sistema SAS

23:06 Friday, May 28, 2008

5

Procedimiento ANOVA

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para HIF

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGMQL.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	64
Error de cuadrado medio	70.85258
Valor crítico del rango estudentizado	3.39331
Diferencia significativa mínima	5.8304

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	SISTEMA
A	95.491	24	3
A	93.192	24	1
B	65.256	24	2

Nota: el sistema 1 corresponde al sistema agroforestal pichoco-vainilla-malla sombra
el sistema 2 corresponde al sistema agroforestal pichoco-vainilla
el sistema 3 corresponde al sistema agroforestal citrico-vainilla

Sistema SAS

23:06 Friday, May 28, 2008

6

Procedimiento ANOVA

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para PEL

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	64
Error de cuadrado medio	312.1859
Valor crítico del rango estudentizado	3.39331
Diferencia significativa mínima	12.238

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	SISTEMA
A	37.213	24	3
A			
A	35.066	24	1
B	16.989	24	2

Sistema SAS

23:06 Friday, May 28, 2008

7

Procedimiento ANOVA

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para SC

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alfa0.05

Error de grados de libertad64

Error de cuadrado medio72.71416

Valor crítico del rango estudentizado3.39331

Diferencia significativa mínima5.9065

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey AgrupamientoMediaN

SISTEMA

A34.320242

B7.394241

B4.500243

Nota: el sistema 1 corresponde al sistema agroforestal pichoco-vainilla-malla sombra
el sistema 2 corresponde al sistema agroforestal pichoco-vainilla
el sistema 3 corresponde al sistema agroforestal citrico-vainilla

APÉNDICE B

Tinción de las raíces

- a) Las raíces libres de suelo se colocan en cápsulas esterilizables
- b) Colocar los segmentos de raíz en tubos de ensayo de 24 mL de capacidad.
- c) Agregar 10 mL de hidróxido de potasio al 10% y se calientan durante 10 minutos a 10 libras de presión (Clareo).
- d) Decantar el hidróxido de potasio.
- e) Enjuagar con agua destilada
- f) Agregar peróxido de hidrógeno al 10% por 15 minutos.
- g) Decantar el peróxido de hidrógeno y enjuagar con agua destilada (blanqueo)
- h) Sumergirlas en ácido clorhídrico por 5 minutos (Acidificación).
- i) No lavar.
- j) Agregar azul tripano (tinción).
- k) Calentar con la solución colorante por 10 minutos a diez libras de presión
- l) Eliminar el exceso de colorante (decoloración).
- m) Montar en portaobjetos 10 segmentos por lámina y agregar una gota de lactoglicerol. (Ferrera-Cerrato, 1993)

APÉNDICE C

Procesamiento de las muestras de raíz (Identificación de hongos micorrízicos)

Con el fin de reproducir las especies de hongos que están colonizando a la raíz de la vainilla, se siguió el procedimiento a continuación descrito:

- Se prepara un medio de cultivo utilizando 9.75 g de agar-patata-dextrosa en 250 mL de agua destilada.
- Se efectúa un lavado previo de las raíces seleccionadas las cuales deben ser rectas y no presentar necrosis, posteriormente un secado con papel absorbente.
- Con las raíces lavadas se procede a acondicionar un medio estéril con dos mecheros Bunsen en cada extremos de la caja de pretri que contiene el alcohol al 70 % donde se lavan con esta solución las raíces, se efectúan dos lavados con agua estéril y posteriormente se sumergen en una solución de hipoclorito de sodio al 10% y finalmente se realizan 6 lavados con agua estéril.
- Se realizan siembras de segmentos de raíz de aproximadamente un cm en el medio nutritivo, formando un 5 de oros.
- Se incuban las cajas sembradas por un periodo de tres días a una temperatura de 27 °C. De los resultados de la siembra se eliminaron aquellas cajas que resultaron contaminadas con bacterias del medio exterior, se usan solo aquellas donde se desarrolló estructura de hongos a partir de la raíz de vainilla.
- Posterior a la selección de las cajas que contenían los hongos, se repite el procedimiento anteriormente descrito hasta que se obtenga hongos o cepas con un cien por ciento de pureza (Ferrera-Cerrato, 1993).

APÉNDICE D

Preparación de los microcultivos (prueba de rider) para el estudio e identificación de hongos

- 1) En una zona aséptica, con el sacabocados estéril se corta el PDA (agar-patata-dextrosa)
- 2) Se coloca en el centro de uno de los portaobjetos contenidos en la caja de petri, una rodaja del medio de cultivo.
- 3) Con el asa microbiológica, se inocula cada uno de los lados del círculo del PDA.
- 4) Con ayuda de unas pinzas flameadas, se coloca sobre esta preparación el segundo portaobjetos estéril.
- 5) Para mantener la humedad, se agrega 2 mL de lactoglicerol al 10 % de concentración, teniendo cuidado de evitar mojar la inoculación con esta solución.
- 6) Incubar por 7 días.
- 7) En condiciones de asepsia, sacar los portaobjetos de la caja y drenar el agua glicerada, posterior a esto agregue 2 ml. de Natftaleno para matar el hongo.
- 8) Tiña el portaobjetos con una gota de azul de algodón y coloque un cubreobjetos.
- 9) Deje secar a temperatura ambiente y selle los bordes con esmalte.
- 10) Observe al microscopio con los objetivos de 20x y 40x, consulte la guía de observación, haga un esquema y descripción correspondiente.