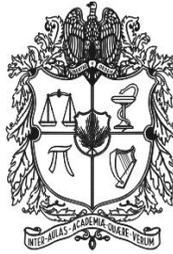


Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección
Armando Sterling Cuéllar



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

**EFFECTOS DEL MAL SURAMERICANO DE LA
HOJA (*Microcyclus ulei*) SOBRE LA
RESPUESTA FISIOLÓGICA Y ESPECTRAL
DEL CAUCHO (*Hevea brasiliensis*) SOMETIDO
A DIFERENTES CONDICIONES DE
INFECCIÓN**

ARMANDO STERLING CUÉLLAR

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias, Departamento de Biología
Bogotá D. C., Colombia
2015

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección
Armando Sterling Cuéllar

EFECTOS DEL MAL SURAMERICANO DE LA HOJA (*Microcyclus ulei*) SOBRE LA RESPUESTA FISIOLÓGICA Y ESPECTRAL DEL CAUCHO (*Hevea brasiliensis*) SOMETIDO A DIFERENTES CONDICIONES DE INFECCIÓN

ARMANDO STERLING CUÉLLAR

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de: **Doctor en Ciencias
Biología**

Directora:
PhD. LUZ MARINA MELGAREJO MUÑOZ

Línea de Investigación:
Biodiversidad y Conservación de recursos

Grupo de Investigación:
Fisiología de las adaptaciones y estrés en plantas y microorganismos

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias, Departamento de Biología
Bogotá D. C., Colombia
2015

Dedicatoria

A Dios por brindarme su sabiduría y apoyo espiritual en todo momento para hacer de éste desafío un logro de mi entera satisfacción.

A mis hijos Emanuel Armando y David Armando y a mi esposa Lyda Yasmin por su apoyo y comprensión en éste nuevo desafío académico

Agradecimientos

Al proyecto: Evaluación del asocio agrisilvícola: caucho (*Hevea brasiliensis*) – nuevos clones de copoazú (*Theobroma grandiflorum*) mediante el uso de indicadores agronómicos, ecofisiológicos, bioquímicos y epidemiológicos en el departamento del Caquetá. Contrato RC No.746 -2011- Fiduciara Bogotá – Colciencias – Sinchi – Universidad Nacional de Colombia - Asoheca por el soporte económico a la presente investigación.

A la doctora Luz Marina Mantilla Cárdenas, Directora General, a la doctora Rosario Piñeres Vergara, Ex - Subdirectora Administrativa y Financiera, al doctor Carlos Hernando Rodríguez, coordinador de la Sede Florencia, a la doctora Maria Soledad Hernández, Coordinadora del área de Sostenibilidad e Intervención y a todo el equipo administrativo, por todo el apoyo institucional brindado en el desarrollo de mi formación doctoral.

Al doctor Pablo Emilio Pineda González, director de la Asociación de Reforestadores y Cultivadores de Caucho del Caquetá por todo el apoyo institucional brindado en campo en el desarrollo de ésta investigación.

A la doctora Luz Marina Melgarejo del laboratorio de fisiología y bioquímica vegetal del departamento de biología de la Universidad Nacional de Colombia, por ser la directora de mi tesis de grado a quien agradezco muy especialmente su comprensión, orientación y apoyo brindado.

Al Doctor Jaime Alberto Barrera y al Magister Diego Caicedo, investigadores del Instituto SINCHI por el apoyo y colaboración en el desarrollo de la investigación.

A las biólogas Yasodhara Marieth Salas Tobón y Yenni Virguez por todo el apoyo brindado en la edición del documento final de mi tesis doctoral.

A los profesores de biometría: Fernando Casanoves y Sergio Vilchez del CATIE (Costa Rica), Julio Di Rienzo de la Universidad de Córdoba (Argentina) y Raúl Macchiavelli de la Universidad de Puerto Rico (Puerto Rico), por sus comentarios a los análisis estadísticos realizados en la presente investigación.

Resumen

Este estudio tuvo como objetivo evaluar la respuesta fisiológica y espectral de dos clones (FX 3864 y FX 4098) de caucho (*Hevea brasiliensis*) frente al mal suramericano de las hojas SALB (*Microcyclus ulei*) en condiciones de inoculación controlada y de infección natural en Caquetá (Colombia). En el laboratorio, las evaluaciones se realizaron en cámara húmeda a 23 °C, HR > 90% y un fotoperíodo de 12/12 h (PAR= 11.5 $\mu\text{mol fotones/m}^2.\text{s}^2$). Se analizaron cuatro variables asociadas a la enfermedad, cuatro variables de intercambio gaseoso y cinco de fluorescencia de la clorofila *a*. Se estudió el efecto del SALB sobre las propiedades de reflectancia espectral y se valoraron siete índices de vegetación. En jardín clonal, bajo condiciones ambientales, se clasificó la severidad del SALB de acuerdo con la fenología foliar del caucho y según el estadio de desarrollo del patógeno (anamorfos *F. hevae* y *A. ulei*, y teleomorfo *M. ulei*). Se analizaron los mismos parámetros fotosintéticos y espectrales estudiados en laboratorio. *M. ulei* generó síntomas en los dos clones a los 4 días después de la inoculación. Las tasas fotosintéticas en el clon FX 3864 (susceptible) fueron significativamente afectadas en respuesta a la infección por *M. ulei*, y en un mínimo grado en el clon FX 4098. La enfermedad influyó significativamente en las propiedades espectrales. El análisis de las firmas espectrales permitió obtener tres nuevos índices de vegetación para la detección e identificación del SALB de acuerdo con la fenología foliar. Se reportan los primeros modelos lineales basados en índices espectrales para la predicción de las clases de severidad del SALB.

Palabras clave: *Hevea brasiliensis*, *Microcyclus ulei*, fotosíntesis, reflectancia

Abstract

This study aimed to evaluate the physiological and spectral response of two rubber tree clones (FX 3864 and FX 4098) of *Hevea brasiliensis* to the South American Leaf Blight SALB (*Microcyclus ulei*) under controlled inoculation and natural infection in Caquetá (Colombia). In laboratory evaluations were performed in a moist chamber at 23 ° C, RH > 90% and a photoperiod of 12 h (PAR = 11.5 $\mu\text{mol photons/m}^2\cdot\text{s}^2$). Four variables associated with the disease, four variables of gas exchange and five for the fluorescence of chlorophyll *a* were analyzed. Effect of SALB on spectral reflectance properties was studied and seven vegetation indices were evaluated. In clonal garden, SALB severity was classified according to the foliar phenology rubber and according to the stage of development of the pathogen (anamorphic *F. macrosporum*, and *A. ulei*, and teleomorph *M. ulei*). The same photosynthetic and spectral parameters studied in laboratory were analyzed in clonal garden. *M. ulei* generated symptoms in both clones at 4 days after inoculation. Photosynthetic rates in clone FX 3864 (susceptible) were significantly affected in response to infection with *M. ulei*, and to a minor degree in clone FX 4098. The disease influenced significantly on the spectral properties. The analysis of the spectral signatures yielded three new vegetation indices for the detection and identification of SALB according to the foliar phenology. The first linear spectral models for predicting the severity classes of SALB were reported.

Key words: *Hevea brasiliensis*, *Microcyclus ulei*, photosynthesis, reflectance

Contenido

	Pág.
Resumen.....	V
Abstract.....	VI
Lista de tablas.....	X
Lista de figuras.....	XIII
Lista de símbolos y abreviaturas.....	XIX
1. Capítulo 1. Introducción General.....	21
1.1 Estado actual del problema.....	22
1.2 Hipótesis y objetivos.....	23
1.3 Marco teórico.....	24
1.3.1 Fisiología y ecofisiología vegetal.....	24
1.3.2 Respuesta espectral de la vegetación.....	24
1.3.3 Efectos de los patógenos sobre la fisiología y las propiedades espectrales de las plantas.....	25
1.3.4 El caucho natural (<i>Hevea</i> spp.).....	26
1.3.5 Mal suramericano de las hojas (SALB).....	26
1.3.6 Morfología y fisiología.....	26
1.3.7 Ciclo de vida y epidemiología.....	27
1.3.8 Factores que favorecen la enfermedad.....	29
1.4 Estado Actual.....	29
1.5 Referencias.....	30
2. Capítulo 2. Efectos del SALB (<i>Microcyclus ulei</i>) en la respuesta fisiológica y espectral de dos clones de <i>Hevea brasiliensis</i> con diferente reacción al patógeno en condiciones de inoculación.....	37
2.1 Resumen.....	37
2.2 Abstrat.....	37

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

2.3	Introducción.....	38
2.4	Materiales y métodos.....	41
2.4.1	Area de estudio y condiciones de inoculación.....	41
2.4.2	Fuente de inóculo	41
2.4.3	Material vegetal.....	41
2.4.4	Inoculaciones controladas y diseño experimental.....	42
2.4.5	Análisis de la variación temporal a <i>Microcyclus ulei</i> en los clones de caucho FX 3864 y FX 4098 en condiciones controladas.....	43
2.4.6	Evaluación del intercambio gaseoso y fluorescencia de la clorofila <i>a</i> en los clones de caucho FX 3864 y FX 4098 en respuesta a la infección por <i>Microcyclus ulei</i> en condiciones controladas.....	43
2.4.7	Determinación de la respuesta espectral en los clones de caucho FX 3864 y FX 4098 a la infección por <i>Microcyclus ulei</i> en condiciones controladas.....	45
2.4.8	Análisis estadísticos.....	46
2.5	Resultados y discusión.....	50
2.5.1	Variación temporal a <i>Microcyclus ulei</i> en los clones de caucho FX 3864 y FX 4098 en condiciones controladas.....	50
2.5.2	Intercambio gaseoso y fluorescencia de la clorofila <i>a</i> de los clones de caucho FX 3864 y FX 4098 en respuesta a la infección por <i>Microcyclus ulei</i> en condiciones controladas.....	57
2.5.3	Respuesta espectral de los clones de caucho FX 3864 y FX 4098 a la infección por <i>Microcyclus ulei</i> en condiciones controladas.....	67
2.6	Conclusiones.....	80
2.7	Agradecimientos.....	81
2.8	Referencias.....	81
3.	Capítulo 3. Efectos del SALB (<i>Microcyclus ulei</i>) en la respuesta fisiológica y espectral de dos clones de <i>Hevea brasiliensis</i> crecido bajo condiciones ambientales de Caquetá-Colombia.....	93
3.1	Resumen.....	93
3.2	Abstract.....	94
3.3	Introducción.....	94
3.4	Materiales y métodos.....	97
3.4.1	Área de estudio.....	97
3.4.2	Material vegetal.....	97
3.4.3	Condiciones de infección natural y manejo del experimento.....	97
3.4.4	Selección de las severidades del SALB según el estadio de desarrollo del patógeno.....	98
3.4.5	Medición en tiempo real de los principales parámetros climáticos inherentes a las evaluaciones fisiológicas.....	99
3.4.6	Evaluación del intercambio gaseoso y fluorescencia de la clorofila <i>a</i> en los clones de caucho FX 3864 y FX 4098 en respuesta a la infección por <i>Microcyclus ulei</i> en condiciones naturales.....	99
3.4.7	Determinación de la respuesta espectral en los clones de caucho FX 3864 y FX 4098 a la infección por <i>Microcyclus ulei</i> en condiciones naturales....	100
3.4.8	Análisis estadísticos.....	101

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

3.5	Resultados y discusión.....	104
3.5.1	Variación de los principales parámetros climáticos medidos en tiempo real durante las evaluaciones fisiológicas.....	104
3.5.2	Intercambio gaseoso y fluorescencia de la clorofila a de los clones de caucho FX 3864 y FX 4098 en respuesta a la infección por <i>Microcyclus ulei</i> en condiciones naturales.....	106
3.5.3	Respuesta espectral de los clones de caucho FX 3864 y FX 4098 a la infección por <i>Microcyclus ulei</i> en condiciones ambientales.....	117
3.6	Conclusiones.....	135
3.7	Agradecimientos.....	136
3.8	Referencias.....	136
4.	Capítulo 4. Consideraciones finales y conclusiones.....	148
A.	Anexo: Estadios foliares - Desarrollo fenológico de los folíolos de <i>Hevea</i> spp. tomada de Hallé et al.1978 y adaptada pictóricamente para mayor comprensión.....	150
B.	Anexo: Escala diagramática de severidad de <i>Microcyclus ulei</i> - Modificado de Gasparotto <i>et al.</i> (1989).....	151
C.	Anexo: Curva de respuesta a la luz de la fotosíntesis y parámetros calculados en dos clones de caucho FX 3864 y FX 4098 en condiciones de laboratorio.....	152
D.	Anexo: Localización geográfica del vivero de ASOHECA y los jardines clonales de ASOHECA y SINCHI, localidad de Itarca, municipio de la Montañita, Caquetá-Colombia.....	154
E.	Anexo: Curva de respuesta a la luz de la fotosíntesis y parámetros calculados en condiciones de jardín clonal.....	155

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 2-1. Descripción de los clones de caucho (<i>Hevea brasiliensis</i>) evaluados por la reacción a <i>Microcyclus ulei</i> en condiciones de inoculación controlada.....	42
Tabla 2-2. Índices de vegetación espectral y algoritmos utilizados para analizar la respuesta espectral de dos clones de caucho (<i>Hevea brasiliensis</i>) al mal suramericano de las hojas (<i>Microcyclus ulei</i>) en condiciones de inoculación controlada.....	48
Tabla 2-3. Criterios para la elección del modelo de análisis de datos longitudinales para la evaluación en el tiempo (días) del SALB (<i>Microcyclus ulei</i>) en los clones de caucho FX 3864 y FX 4098 en condiciones de inoculación controlada.....	50
Tabla 2-4. Análisis de la varianza basado en el modelo de simetría compuesta con varianzas uniformes (SC).....	51
Tabla 2-5. Medias para cuatro componentes fisiológicos asociados a la reacción a <i>Microcyclus ulei</i> de dos clones de caucho (<i>Hevea brasiliensis</i>) evaluados a través del tiempo en condiciones de inoculación controlada.....	51
Tabla 2-6. Análisis de varianza de los efectos clon (C), tratamiento (T), tiempo de muestreo (TM), y sus interacciones, para las variables severidad, área bajo la curva de progreso del SALB (AUSPC), tasa de asimilación neta de CO ₂ (A), conductancia estomática a vapor de agua (g_s), tasa de transpiración (E), eficiencia en el uso del agua (WUE), rendimiento cuántico máximo del fotosistema II (PSII) (F_v/F_m), eficiencia en la captura de la energía de excitación por los centros abiertos del PSII (F_v'/F_m'), coeficientes de los quenching fotoquímico (qP) y no fotoquímico (NPQ) y tasa de transporte de electrones (ETR).....	57
Tabla 2-7. Coeficientes de correlación de Pearson para el estadio foliar B (arriba de la diagonal) y el estadio foliar C (debajo de la diagonal), entre la severidad del SALB, A, g_s , E y WUE medidos en plantas de caucho (<i>Hevea brasiliensis</i>) del clon FX 3864 (altamente susceptible) inoculadas con <i>Microcyclus ulei</i> (Fase conidial: <i>Fusicladium macrosporum</i>).....	62

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

Tabla 2-8.	Coefficientes de correlación de Pearson para el estadio foliar B (arriba de la diagonal) y el estadio foliar C (debajo de la diagonal), entre la severidad del SALB, F_v/F_m , F_v'/F_m' , qP , NPQ y ETR medidos en plantas de caucho (<i>Hevea brasiliensis</i>) del clon FX 3864 (altamente susceptible) inoculadas con <i>Microcyclus ulei</i> (Fase conidial: <i>Fusicladium macrosporum</i>).....	62
Tabla 2-9.	Medias de siete índices de reflectancia espectral para folíolos no inoculados ('0') de dos clones de caucho (<i>Hevea brasiliensis</i>) y cada una de las clases de severidades generadas por el mal suramericano de las hojas SALB (fase conidial: <i>Fusicladium macrosporum</i>) en condiciones de inoculación controlada.....	66
Tabla 2-10.	Coefficientes de correlación de Pearson (r) entre siete índices de reflectancia espectral y (a) las clases de severidades generadas por el mal suramericano de las hojas SALB (fase conidial: <i>Fusicladium macrosporum</i>) de caucho (<i>Hevea brasiliensis</i>) y (b) la concentración relativa de clorofila en condiciones de inoculación controlada.....	77
Tabla 2-11.	Efecto del progreso del mal suramericano de las hojas SALB (fase conidial: <i>Fusicladium macrosporum</i>) sobre siete índices de reflectancia espectral calculados en dos clones de caucho (<i>Hevea brasiliensis</i>) en condiciones de inoculación controlada.....	78
Tabla 3-1	Clases de severidad del mal suramericano de las hojas (<i>Microcyclus ulei</i>) según la fenología foliar y el estadio de desarrollo del patógeno, presentes en dos clones de caucho (<i>Hevea brasiliensis</i>) en condiciones de jardín clonal en Caquetá (Colombia).....	98
Tabla 3-2.	Índices de vegetación espectral y algoritmos utilizados para analizar la respuesta espectral de dos clones de caucho (<i>Hevea brasiliensis</i>) al mal suramericano de las hojas (<i>Microcyclus ulei</i>) en condiciones de inoculación natural.....	103
Tabla 3-3.	Medias de los principales parámetros climáticos registrados durante las evaluaciones fisiológicas en dos clones de caucho (<i>Hevea brasiliensis</i>) sometidos a presión de inóculo natural de <i>Microcyclus ulei</i> en condiciones de jardín clonal en Caquetá (Colombia).....	104
Tabla 3-4.	Análisis de varianza de los efectos severidad del mal suramericano de las hojas (<i>Microcyclus ulei</i>) y clon de caucho (<i>Hevea brasiliensis</i>), para las variables fisiológicas tasa de asimilación neta de CO ₂ (A), conductancia estomática a vapor de agua (g_s), tasa de transpiración (E), eficiencia en el uso del agua (WUE), rendimiento cuántico máximo del fotosistema II (PSII) (F_v/F_m), eficiencia en la captura de la energía de excitación por los centros abiertos del PSII (F_v'/F_m'), coeficientes de los quenching fotoquímico (qP) y no fotoquímico (NPQ) y tasa de transporte de electrones (ETR).....	106

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

Tabla 3-5.	Coeficientes de correlación de Pearson entre la severidad del SALB (<i>Microcyclus ulei</i>), A , g_s , E y WUE medidos en plantas de caucho (<i>Hevea brasiliensis</i>) del clon FX 3864 (altamente susceptible) en condiciones de jardín clonal en Caquetá (Colombia).....	116
Tabla 3-6.	Coeficientes de correlación de Pearson entre la severidad del SALB (<i>Microcyclus ulei</i>), F_v/F_m , F_v'/F_m' , qP , NPQ y ETR medidos en plantas de caucho (<i>Hevea brasiliensis</i>) del clon FX 3864 (altamente susceptible) en condiciones de jardín clonal en Caquetá (Colombia).....	117
Tabla 3-7.	Medias de siete índices de reflectancia espectral para folíolos sanos ('0') de dos clones de caucho (<i>Hevea brasiliensis</i>) y cada una de las clases de severidad del mal suramericano de las hojas SALB producidas por diferentes estadios de desarrollo de <i>Microcyclus ulei</i> en condiciones de jardín clonal en Caquetá (Colombia).....	131
Tabla 3-8.	Coeficientes de correlación de Pearson (r) entre siete índices de reflectancia espectral y (a) las clases de severidad del mal suramericano de las hojas SALB producidas por diferentes estadios de desarrollo de <i>Microcyclus ulei</i> en dos clones de caucho (<i>Hevea brasiliensis</i>) y (b) la concentración relativa de clorofila en condiciones de inoculación natural.....	133

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1-1. Ciclo de vida de <i>Microcyclus ulei</i> agente causal del mal suramericano de la hoja de caucho (<i>Hevea</i> spp.). Adaptado de Gasparotto <i>et al.</i> (2012).....	27
Figura 2-1. Progreso del SALB (<i>Microcyclus ulei</i>) en dos clones de caucho (<i>Hevea brasiliensis</i>) en condiciones de inoculación controlada en Caquetá (Colombia). A. Severidad de ataque (SA) de 0 a 4 (0: nulo; 1: leve; 2: medio; 3: alto y 4: muy alto), modificada de la escala de Gasparotto <i>et al.</i> (1989). B. Tamaño de lesión (mm) (TL) (García <i>et al.</i> , 1999). C. Frecuencia de infección (Lesiones/8 cm ²) (FI) (García <i>et al.</i> , 1999). D. Intensidad de esporulación conidial (IE) de 1 a 6 (1 y 2: lesiones sin esporas; 3 y 4: lesiones con esporulación débil; 5 y 6: lesiones con esporulación fuerte y muy fuerte, respectivamente), según la escala de Mattos <i>et al.</i> (2003). Cada punto representa la media de cinco réplicas. Las barras representan el error estándar. Medias seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente (Prueba LSD; $p < 0,05$).....	53
Figura 2-2. Correlaciones entre las cuatro variables de reacción a <i>Microcyclus ulei</i> evaluadas en los clones de caucho (<i>Hevea brasiliensis</i>) FX 3864 y FX 4098 a través del tiempo (días después de la inoculación). Severidad de ataque (SA). Intensidad de esporulación conidial (IE). Tamaño de lesión (mm) (TL). Frecuencia de infección (Lesiones/8 cm ²) (FI). Los asteriscos indican correlaciones significativas en un punto del tiempo dado (Prueba Pearson; $p < 0,05$).....	56
Figura 2-3. Curva de progreso de la severidad del SALB (fase conidial: <i>Fusicladium macrosporum</i>) y B, área bajo la curva de progreso del SALB (AUSPC) para dos clones de caucho (<i>Hevea brasiliensis</i>) en condiciones de inoculación controlada. Fenología foliar (0 – 8 días, estadio B y > 12 días, estadio C). Medias para FX 3864 (altamente susceptible) y FX 4098 (moderadamente resistente) seguidas por letras distintas para cada evaluación en el tiempo (A) o por un asterisco (B), fueron significativamente diferentes (Prueba LSD, $p < 0.05$). Las barras representan el error estándar de la media; $n = 5$	58

- Figura 2-4. A y B, Tasa de asimilación neta de CO₂ (A); C y D, conductancia estomática a vapor de agua (g_s); E y F, tasa de transpiración (E); y G y H, eficiencia en el uso del agua (WUE) para folíolos de plantas de caucho (*Hevea brasiliensis*) de los clones FX 4098 (moderadamente resistente) (A, C, E y G) y FX 3864 (altamente susceptible) (B, D, F y H), inoculados (I) y no inoculados (NI) con *Microcyclus ulei* (fase conidial: *Fusicladium macrosporum*) en condiciones controladas. Fenología foliar (0 – 8 días, estadio B y > 12 días, estadio C). Medias para los clones FX 4098 y FX 3864 seguidos por un triángulo invertido y para los tratamientos I y NI seguidos por un asterisco (*) para cada evaluación en el tiempo fueron significativamente diferentes (Prueba LSD, $p < 0.05$). Las barras representan el error estándar de la media; $n = 5$ 60
- Figura 2-5. A y B, Rendimiento cuántico máximo del fotosistema II (PSII) (F_v/F_m); C y D, eficiencia en la captura de la energía de excitación para los centros de reacción abiertos del PSII (F_v'/F_m'); E y F, quenching fotoquímico (q_p); G y H, quenching no fotoquímico (NPQ); I y J, tasa de transporte de electrones (ETR) para folíolos de plantas de caucho (*Hevea brasiliensis*) de los clones FX 4098 (moderadamente resistente) (A, C, E, G y I) y FX 3864 (altamente susceptible) (B, D, F, H y J), inoculados (I) y no inoculados (NI) con *Microcyclus ulei* (Fase conidial: *Fusicladium macrosporum*) en condiciones controladas. Fenología foliar (0 – 8 días, estadio B y > 12 días, estadio C). Medias para los clones FX 4098 y FX 3864 seguidos por un triángulo invertido y para los tratamientos I y NI seguidos por un asterisco (*) para cada evaluación en el tiempo fueron significativamente diferentes (Prueba LSD, $p < 0.05$). Las barras representan el error estándar de la media; $n = 5$ 61
- Figura 2-6. Curvas con la media del espectro de reflectancia para folíolos no inoculados de caucho (*Hevea brasiliensis*) ('0') y cada una de las clases de severidades generadas por el mal suramericano de las hojas SALB (Fase conidial: *Fusicladium macrosporum*) (donde '4' representa más del 30% del área foliar lesionada) en condiciones de inoculación controlada. A y B, clon altamente susceptible FX 3864 en los estadios foliares B y C, respectivamente. C y D, clon moderadamente resistente FX 4098 en los estadios foliares B y C, respectivamente..... 68
- Figura 2-7. Curvas con la media de la diferencia de reflectancia para folíolos no inoculados de caucho (*Hevea brasiliensis*) ('0') y cada una de las clases de severidades generadas por el mal suramericano de las hojas SALB (Fase conidial: *Fusicladium macrosporum*) (donde '4' representa más del 30% del área foliar lesionada) en condiciones de inoculación controlada. A y B, clon altamente susceptible FX 3864 en los estadios foliares B y C, respectivamente. C y D, clon moderadamente resistente FX 4098 en los estadios foliares B y C, respectivamente. Las curvas de diferencia se calcularon restando las medias de reflectancia de folíolos sanos a las medias de folíolos infectados en cada longitud de onda..... 69

- Figura 2-8. Curvas con la media de la sensibilidad de la reflectancia para foliolos no inoculados de caucho (*Hevea brasiliensis*) ('0') y cada una de las clases de severidades generadas por el mal suramericano de las hojas SALB (Fase conidial: *Fusicladium macrosporum*) (donde '4' representa más del 30% del área foliar lesionada) en condiciones de inoculación controlada. A y B, clon altamente susceptible FX 3864 en los estadios foliares B y C, respectivamente. C y D, clon moderadamente resistente FX 4098 en los estadios foliares B y C, respectivamente. Las curvas de sensibilidad se calcularon por el cociente entre las medias de reflectancia de foliolos infectados y las medias de foliolos sanos en cada longitud de onda..... 70
- Figura 2-9. Correlograma basado en el coeficiente de correlación de Pearson entre la reflectancia espectral y las clases de severidad generadas por el mal suramericano de las hojas SALB (Fase conidial: *Fusicladium macrosporum*) en condiciones de inoculación controlada. A y B, clon altamente susceptible FX 3864 en los estadios foliares B y C, respectivamente. C y D, clon moderadamente resistente FX 4098 en los estadios foliares B y C, respectivamente..... 73
- Figura 2-10. Relación entre los valores observados y los valores predichos de las clases de severidad del SALB (fase conidial: *Fusicladium macrosporum*) en dos clones de caucho (*Hevea brasiliensis*), a partir de modelos de regresión lineal múltiple de la respuesta espectral en condiciones de inoculación controlada. A y B, clon altamente susceptible FX 3864 en los estadios foliares B y C, respectivamente. C y D, clon moderadamente resistente FX 4098 en los estadios foliares B y C, respectivamente. ECM, Error cuadrático medio..... 80
- Figura 3-1. A y B, Tasa de asimilación neta de CO₂ (A), C y D, tasa de transpiración (E), E y F, conductancia estomática a vapor de agua (g_s); y G y H, eficiencia en el uso del agua (WUE) para dos clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) en foliolos jóvenes sanos (0Q, con control químico y 0SQ, sin control químico) y con cada una de las clases de severidad del SALB producidas por diferentes estadios de desarrollo de *Microcyclus ulei* en condiciones de inoculación natural. A, C, E y G, foliolos en estadio B infectados con *Fusicladium macrosporum*; B, D, F y H, foliolos en estadio C infectados con *F. macrosporum*. Medias para los clones FX 3864 y FX 4098 sin asterisco (*) y para las clases de severidad en cada clon seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente (Prueba LSD, p < 0.05). Las barras representan el error estándar de la media; n = 5..... 107

- Figura 3-2. A y B, Tasa de asimilación neta de CO₂ (A), C y D, tasa de transpiración (E), E y F, conductancia estomática a vapor de agua (g_s); y G y H, eficiencia en el uso del agua (WUE) para dos clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) en foliolos con madurez fisiológica sanos (0Q, con control químico y 0SQ, sin control químico) y con cada una de las clases de severidad del SALB producidas por diferentes estadios de desarrollo de *Microcyclus ulei* en condiciones de inoculación natural. A, C, E y G, foliolos en estadio C/D infectados con *Aposphaeria ulei*; B, D, F y H, foliolos en estadio D infectados con *M. ulei*. Medias para los clones FX 3864 y FX 4098 sin asterisco (*) y para las clases de severidad en cada clon seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente (Prueba LSD, p < 0.05). Las barras representan el error estándar de la media; n = 5..... 108
- Figura 3-3. A y B, Rendimiento cuántico máximo del fotosistema II (PSII) (F_v/F_m); C y D, eficiencia en la captura de la energía de excitación para los centros de reacción abiertos del PSII (F_v'/F_m'^); E y F, quenching fotoquímico (q_p); G y H, quenching no fotoquímico (NPQ); I y J, tasa de transporte de electrones (ETR) para dos clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) en foliolos jóvenes sanos (0Q, con control químico y 0SQ, sin control químico) y con cada una de las clases de severidad del SALB producidas por diferentes estadios de desarrollo de *Microcyclus ulei* en condiciones de inoculación natural. A, C, E, G y I, foliolos en estadio B infectados con *Fusicladium macrosporum*; B, D, F, H y J, foliolos en estadio C infectados con *F. macrosporum*. Medias para los clones FX 3864 y FX 4098 sin asterisco (*) y para las clases de severidad en cada clon seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente (Prueba LSD, p < 0.05). Las barras representan el error estándar de la media; n = 5..... 114
- Figura 3-4. A y B, Rendimiento cuántico máximo del fotosistema II (PSII) (F_v/F_m); C y D, eficiencia en la captura de la energía de excitación para los centros de reacción abiertos del PSII (F_v'/F_m'^); E y F, quenching fotoquímico (q_p); G y H, quenching no fotoquímico (NPQ); I y J, tasa de transporte de electrones (ETR) para dos clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) en foliolos maduros sanos (0Q, con control químico y 0SQ, sin control químico) y con cada una de las clases de severidad del SALB producidas por diferentes estadios de desarrollo de *Microcyclus ulei* en condiciones de inoculación natural. A, C, E, G y I, foliolos en estadio C/D infectados con *Aposphaeria ulei*; B, D, F, H y J, foliolos en estadio D infectados con *M. ulei*. Medias para los clones FX 3864 y FX 4098 sin asterisco (*) y para las clases de severidad en cada clon seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente (Prueba LSD, p < 0.05). Las barras representan el error estándar de la media; n = 5..... 115
- Figura 3-5. Curvas con la media del espectro de reflectancia para foliolos sanos (0Q, con control químico y 0SQ, sin control químico) del clon FX 3864 de caucho (*Hevea brasiliensis*) y cada una de las clases de severidad del SALB producidas por diferentes estadios de desarrollo de *Microcyclus ulei* en condiciones de inoculación natural. A y B, foliolos jóvenes B y C,

	respectivamente, con lesiones producidas por <i>Fusicladium macrosporum</i> . C y D, foliolos con madurez fisiológica (C/D y D), con lesiones producidas por <i>Aposphaeria ulei</i> y <i>Microcyclus ulei</i> , respectivamente.....	121
Figura 3-6.	Curvas con la media de la diferencia de reflectancia para foliolos sanos (0Q, con control químico y 0SQ, sin control químico) del clon FX 3864 de caucho (<i>Hevea brasiliensis</i>) y cada una de las clases de severidad del SALB producidas por diferentes estadios de desarrollo de <i>Microcyclus ulei</i> en condiciones de inoculación natural. A y B, foliolos jóvenes B y C, respectivamente, con lesiones producidas por <i>Fusicladium macrosporum</i> . C y D, foliolos con madurez fisiológica (C/D y D), con lesiones producidas por <i>Aposphaeria ulei</i> y <i>Microcyclus ulei</i> , respectivamente. Las curvas de diferencia se calcularon restando las medias de reflectancia de foliolos sanos a las medias de foliolos infectados en cada longitud de onda.....	122
Figura 3-7.	Curvas con la media de la sensibilidad de la reflectancia para foliolos sanos (0Q, con control químico y 0SQ, sin control químico) del clon FX 3864 de caucho (<i>Hevea brasiliensis</i>) y cada una de las clases de severidad del SALB producidas por diferentes estadios de desarrollo de <i>Microcyclus ulei</i> en condiciones de inoculación natural. A y B, foliolos jóvenes B y C, respectivamente, con lesiones producidas por <i>Fusicladium macrosporum</i> . C y D, foliolos con madurez fisiológica (C/D y D), con lesiones producidas por <i>Aposphaeria ulei</i> y <i>Microcyclus ulei</i> , respectivamente. Las curvas de sensibilidad se calcularon por el cociente entre las medias de reflectancia de foliolos infectados y las medias de foliolos sanos en cada longitud de onda.....	123
Figura 3-8.	Curvas con la media del espectro de reflectancia para foliolos sanos (0Q, con control químico y 0SQ, sin control químico) del clon FX 4098 de caucho (<i>Hevea brasiliensis</i>) y cada una de las clases de severidad del SALB producidas por diferentes estadios de desarrollo de <i>Microcyclus ulei</i> en condiciones de inoculación natural. A y B, foliolos jóvenes B y C, respectivamente, con lesiones producidas por <i>Fusicladium macrosporum</i> . C y D, foliolos con madurez fisiológica (C/D y D), con lesiones producidas por <i>Aposphaeria ulei</i> y <i>Microcyclus ulei</i> , respectivamente.....	124
Figura 3-9.	Curvas con la media de la diferencia de reflectancia para foliolos sanos (0Q, con control químico y 0SQ, sin control químico) del clon FX 4098 de caucho (<i>Hevea brasiliensis</i>) y cada una de las clases de severidad del SALB producidas por diferentes estadios de desarrollo de <i>Microcyclus ulei</i> en condiciones de inoculación natural. A y B, foliolos jóvenes B y C, respectivamente, con lesiones producidas por <i>Fusicladium macrosporum</i> . C y D, foliolos con madurez fisiológica (C/D y D), con lesiones producidas por <i>Aposphaeria ulei</i> y <i>Microcyclus ulei</i> , respectivamente. Las curvas de diferencia se calcularon restando las medias de reflectancia de foliolos sanos a las medias de foliolos infectados en cada longitud de onda.....	125
Figura 3-10.	Curvas con la media de la sensibilidad de la reflectancia para foliolos sanos (0Q, con control químico y 0SQ, sin control químico) del clon FX 4098 de	

caucho (*Hevea brasiliensis*) y cada una de las clases de severidad del SALB producidas por diferentes estadios de desarrollo de *Microcyclus ulei* en condiciones de inoculación natural. A y B, foliolos jóvenes B y C, respectivamente, con lesiones producidas por *Fusicladium macrosporum*. C y D, foliolos con madurez fisiológica (C/D y D), con lesiones producidas por *Aposphaeria ulei* y *Microcyclus ulei*, respectivamente. Las curvas de sensibilidad se calcularon por el cociente entre las medias de reflectancia de foliolos infectados y las medias de foliolos sanos en cada longitud de onda.....

126

Figura 3-11. Correlograma basado en el coeficiente de correlación de Pearson entre la reflectancia espectral y las clases de severidad del SALB producidas por diferentes estadios de desarrollo de *Microcyclus ulei* en condiciones de inoculación natural. A, C, E y G, clon altamente susceptible FX 3864; B, D, F y H, clon moderadamente resistente FX 4098; A y B, foliolos B infectados con *Fusicladium macrosporum*; C y D, foliolos C infectados con *F. macrosporum*; E y F, foliolos C/D infectados con *Aposphaeria ulei*; G y H, foliolos D infectados con *M. ulei*.....

127

Figura 3-12. Relación entre los valores observados y los valores predichos de las clases de severidad del SALB para dos clones de caucho (*Hevea brasiliensis*), a partir de modelos de regresión lineal múltiple de la respuesta espectral en condiciones de inoculación natural. **A**, clon altamente susceptible FX 3864, Severidad = $7.52 - [20.94 \times (R800 - R680)/(R800 + R680)] + [16.88 \times (R570 - R531)/(R570 + R531)] + (5.67 \times R850/R710) - [0.22 \times (1/R550 - 1/R700)] + (6.08 \times R670/R569)$, $R^2 = 0.88$, ECM = 0.23, $p < 0.0001$. **C**, clon moderadamente resistente FX 4098, Severidad = $-19.57 - (86.62 \times R522) + (28.19 \times R850/R710) - [10.59 \times (R800 - R680)/(R800 + R680)] - [1.52 \times (1/R550 - 1/R700)] + (7.85 \times R670/R569)$, $R^2 = 0.89$, ECM = 0.08, $p < 0.0001$

134

Lista de Símbolos y abreviaturas

<i>A</i>	Tasa de asimilación neta de CO ₂ ($\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)
<i>Amax</i>	Tasa máxima diaria de asimilación neta de CO ₂ ($\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)
<i>E</i>	Tasa de transpiración ($\text{mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)
<i>gs</i>	Conductancia estomática al vapor de agua ($\text{mol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)
<i>WUE</i>	Eficiencia en el uso del agua
<i>T°</i>	Temperatura de la hoja (°C)
<i>DPV</i>	Déficit de presión de vapor, entre el mesófilo de la hoja y la atmósfera
<i>PAR</i>	Radiación fotosintéticamente activa ($\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)
<i>PCL</i>	Punto de compensación por luz ($\text{mmol foton} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)
<i>PSL</i>	Punto de saturación por luz ($\text{mmol foton} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)
<i>Aqe</i>	Rendimiento cuántico aparente
<i>PPFD</i>	Flujo fotónico de radiación fotosintética incidente ($\text{mmol foton} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)
<i>HR</i>	Humedad Relativa (%)
<i>Fv/Fm</i>	Rendimiento cuántico máximo del fotosistema II
<i>qP</i>	Quenching o apagamiento fotoquímico
<i>NPQ</i>	Quenching o apagamiento No fotoquímico
<i>ETR</i>	Tasa de Transferencia de Electrones
Φ_{psII}	Eficiencia cuántica del fotosistema II
<i>Ci</i>	Concentración interna de CO ₂
<i>Chla</i>	Clorofila a
<i>Rd</i>	Respiración en oscuridad
<i>Chlb</i>	Clorofila b
<i>Cars (c+d)</i>	Carotenoides
<i>Sc</i>	Modelo de simetría compuesta con varianzas uniformes
<i>AIC</i>	Criterio de información de Akaike
<i>BIC</i>	Criterio de información bayesiano
<i>LogLik</i>	Log de Likelihood
<i>SCH</i>	Simetría compuesta con varianzas heterogéneas
<i>AR1</i>	Modelo autoregresivo de orden 1 con varianzas uniformes
<i>AR1H</i>	Modelo autoregresivo de orden 1 con varianzas diferentes

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

SE	Modelo sin estructura
SA	Severidad de ataque
IE	Intensidad de esporulación conidial
TL	Tamaño de lesión (mm)
FI	Frecuencia de infección
PRI	Índice de reflectancia fotosintético
SIPI	Índice independiente de la estructura del pigmento
ARI	Índice de reflectancia de antocianina
I	Inoculado
NI	No inoculado
NDVI	Índice de vegetación de diferencia normalizada
Q	Plantas con control químico
SQ	Plantas sin control químico
BFm	Foliolos B infectados con <i>Fusicladium macrosporum</i>
CFm	Foliolos C infectados con <i>Fusicladium macrosporum</i>
C/DAu	Foliolos C/D infectados con <i>Aposphaeria ulei</i>
DMu	Foliolos D infectados con <i>Microcyclus ulei</i>

1. Capítulo 1. Introducción General

El caucho natural [*Hevea brasiliensis* (Willd. Ex Adr. de Juss.) Muell.-Arg.], es una especie forestal caducifolia cuya principal fuente de aprovechamiento es la producción de látex destinada principalmente a la industria llantera y automotriz (Compagnon, 1998). Según Gonçalves *et al.* (1997), los orígenes del caucho natural se remontan a las llanuras de la región Amazónica y a la Orinoquía en América del Sur, con una amplia distribución en países como Brasil, Bolivia, Colombia, Guyana Francesa, Perú, Surinam y Venezuela.

Según la Confederación Cauchera Colombiana - CCC (2011), en Colombia la explotación cauchera se concentra en plantaciones comerciales constituidas por clones introducidos principalmente de origen asiático, africano y americano, con una superficie total establecida de 29.346 ha a diciembre de 2010. El 80% del área total establecida se concentra en cuatro núcleos caucheros: Meta, Magdalena medio, Caquetá y Antioquia-Córdoba. De acuerdo con la Asociación de Reforestadores y Cultivadores de Caucho del Caquetá - Asoheca (2014), Caquetá es el departamento con mayor tradición cauchera de Colombia y el tercero en área sembrada con 6.017 ha de caucho, de las cuales 1.581 ha son plantaciones en etapa productiva con una producción de 1.89,4 toneladas de caucho seco por año.

Dada la importancia del caucho natural y su creciente demanda en el mercado internacional, en Colombia se han adelantado planes masivos para la expansión del cultivo, la mayoría de ellos apoyados en el establecimiento de nuevas áreas en pequeños y medianos cultivadores cuya estrategia busca en general, compensar primordialmente la demanda interna, ya que el país sólo cubre el 3% de la demanda nacional (Castellanos *et al.*, 2009).

No obstante, la mayoría de los cultivares establecidos en el país han perdido productividad y cada vez son más susceptibles al Mal Suramericano de las Hojas SALB (por sus siglas en inglés South American Leaf Blight) (Sterling *et al.*, 2009; Sterling *et al.*, 2010a, b, c). Esta enfermedad es causada por el hongo *Microcyclus ulei* (P. Henn.) v. Arx y representa la principal amenaza para el establecimiento de nuevas plantaciones de *H. brasiliensis* en Latinoamérica (Gasparotto *et al.*, 1997).

Esta situación ha impulsado en el ámbito nacional, la necesidad no sólo de ampliar la base genética de caucho natural en el país (Sterling y Rodríguez, 2011, 2012) sino además la necesidad de identificar el impacto real del SALB así como las estrategias de manejo

adecuadas que permitan realizar un control integrado de la enfermedad (Castellanos *et al.*, 2009).

Los principales estudios relacionados con el conocimiento y manejo del SALB se han concentrado principalmente en el mejoramiento genético para la resistencia a la enfermedad (Gonçalves *et al.*, 1997; Mattos, 2007; Sterling y Rodríguez, 2011, 2012; Rivano *et al.*, 2013; Cardoso *et al.*, 2014), el control biológico (Mello *et al.*, 2006), el control químico (Gasparotto *et al.*, 1997) y la influencia de los factores ambientales asociados a la aparición y diseminación de la misma (Furtado *et al.*, 2008). Los diversos estudios realizados sobre el efecto del SALB en *H. brasiliensis* han dilucidado en condiciones controladas varios de los mecanismos bioquímicos y moleculares relacionados con la resistencia parcial (Rivano *et al.*, 1989; García *et al.*, 1999), la variabilidad fisiológica de *M. ulei* (Junqueira *et al.*, 1986; Rivano, 1997; Mattos *et al.*, 2003; Sterling *et al.*, 2010a) y la influencia de las condiciones ambientales en la dinámica epidemiológica de la enfermedad (Gasparotto *et al.*, 1989; Furtado *et al.*, 2008; Silva *et al.*, 2009; Guyot *et al.*, 2010).

Sin embargo, son pocos los estudios donde se han analizado algunos de los aspectos fisiológicos de *H. brasiliensis* al SALB en condiciones controladas (Lieberei, 2007), y en condiciones naturales éste conocimiento no se encuentra documentado. En general, los estudios fisiológicos realizados en *H. brasiliensis* han sido abordados en plantas sanas y se ha analizado el efecto de diversos factores abióticos principalmente el agua, el clima, la luz y el sistema de cultivo sobre la respuesta de la planta al ambiente (Conforto *et al.*, 2005; Cavalcante y Conforto, 2006; Rodrigo, 2007; Sena *et al.*, 2007; Conforto, 2008; Righi y Bernardes, 2008). Los estudios sobre el efecto del estrés biótico en la respuesta fisiológica de *H. brasiliensis* aún son muy incipientes (Cataneo *et al.*, 2011).

Por otro lado, las enfermedades no sólo producen cambios en la fisiología de la planta sino que además alteran otras propiedades biofísicas, principalmente relacionadas con cambios en la respuesta espectral de la misma (Zhang *et al.*, 2002; Pietrzykowski *et al.*, 2006; Delalieux *et al.*, 2007; Delalieux *et al.*, 2009; Malhein *et al.*, 2010, 2013). En *H. brasiliensis*, no se ha documentado aún los efectos producidos por el SALB sobre las propiedades de reflectancia espectral de la planta, en cuyo caso dicho conocimiento representa una herramienta valiosa para la valoración no destructiva del estado fisiológico de la misma, el impacto del estrés ocasionado y la discriminación y detección temprana del SALB.

De acuerdo con lo anterior, este estudio buscará dilucidar los cambios fisiológicos y espectrales presentados en los clones de caucho FX 3864 y FX 4098 como respuesta a la infección producida por *M. ulei* en condiciones controladas de infección y en condiciones ambientales sobre materiales vegetales en etapa improductiva establecidos en jardín clonal en Caquetá-Colombia (Amazonia colombiana).

1.1 Estado actual del problema

Los estudios fisiológicos realizados en *H. brasiliensis* han abordado en plantas sanas, el efecto de diversos factores abióticos relacionados principalmente con estrés hídrico (Medri

y Lleras, 1983; Pita *et al.*, 1986; Correa *et al.*, 1987; Cavalcante y Conforto, 2006; Sena *et al.*, 2007; Conforto, 2008), estacionalidad climática (Conforto *et al.*, 2005; Nascimento *et al.*, 2006), disponibilidad lumínica (Cavalcante y Conforto, 2002; Righi y Bernardes, 2008) y el efecto del sistema de cultivo (monocultivo y consorcio) sobre el crecimiento y rendimiento productivo (Oliveira *et al.*, 2004; Oliveira *et al.*, 2006; Rodrigo, 2007). Se han analizado también en *H. brasiliensis*, otros factores como la edad de la planta (Cavalcante y Conforto, 2002), la ontogenia foliar (Miguel *et al.*, 2007) y el genotipo (Cavalcante y Conforto, 2002) sobre la respuesta fisiológica de la planta.

Sin embargo, se desconocen muchos aspectos relacionados con la respuesta fisiológica de *H. brasiliensis* al SALB en condiciones controladas de infección (Lieberei, 2007), y en condiciones naturales éste conocimiento no se encuentra documentado. En este sentido, se desconoce el efecto que tiene la severidad de la enfermedad sobre la fisiología de la planta y no se tiene claridad sobre la evolución de la respuesta fisiológica en relación con el progreso de la infección o el estadio de desarrollo del patógeno en la planta.

Del mismo modo, las enfermedades no sólo producen cambios en la fisiología de la planta sino que además pueden producir cambios en la respuesta espectral de la misma (Pietrzykowsk *et al.*, 2006; Malhein *et al.*, 2010, 2013). En *H. brasiliensis*, aún se desconocen los efectos que puede producir el SALB sobre las propiedades de reflectancia espectral y la relación de éstos cambios con el estado fisiológico de la planta en el desarrollo de la infección y en los estadios de desarrollo de la enfermedad, conocimiento que podría ser utilizado para determinar el impacto del estrés ocasionado y la discriminación y detección temprana de ésta enfermedad a diferente escala de estimación remota (Moran *et al.*, 1997).

De acuerdo con lo anterior, se observa que es necesario identificar cuál es la respuesta fisiológica y espectral de dos clones de *H. brasiliensis* (FX 3864 y FX 4098) con diferente resistencia al SALB, ante la infección producida por *M. ulei* en condiciones de inoculación controlada y de infección natural, que permita generar *a posteriori* bases científicas tendientes a desarrollar un sistema de diagnóstico fisiológico, monitoreo y manejo temprano de la enfermedad en viveros, jardines clonales y plantaciones en campo definitivo.

1.2 Hipótesis y Objetivos

Hipótesis

La respuesta fisiológica y espectral de los clones de *H. brasiliensis* FX 3864 y FX 4098 es influenciada por la severidad y por el tiempo de progreso del SALB (*M. ulei*) en condiciones de inoculación controlada.

La respuesta fisiológica y espectral de los clones de *H. brasiliensis* FX 3864 y FX 4098 es afectada por la severidad del SALB debida a cada uno de los estadios de desarrollo de *M. ulei* en condiciones de infección natural en jardín clonal.

Objetivo general

Evaluar la respuesta fisiológica y espectral de dos clones de *H. brasiliensis* (FX 3864 y FX 4098) al SALB (*M. ulei*) en condiciones de inoculación controlada y de infección natural sobre materiales vegetales en etapa improductiva en Caquetá-Colombia.

Objetivos específicos

Determinar el efecto de la severidad y del progreso del SALB (*M. ulei*) en la respuesta fisiológica y espectral de dos clones de *H. brasiliensis* (FX 3864 y FX 4098) en condiciones de inoculación controlada.

Evaluar el efecto de la severidad del SALB (*M. ulei*) asociada a los distintos estadios de desarrollo de *M. ulei* en la respuesta fisiológica y espectral de dos clones de *H. brasiliensis* (FX 3864 y FX 4098) en condiciones de infección natural en jardín clonal.

1.3 Marco teórico

1.3.1 Fisiología y ecofisiología vegetal

Según Azcón - Bieto y Talón (2000), la fisiología vegetal es la ciencia que estudia cómo funcionan las plantas. Explica a través de leyes físicas y químicas cómo las plantas son capaces de utilizar la energía de la luz para sintetizar moléculas orgánicas. Explica también cómo las plantas, siguiendo un programa de desarrollo endógeno, son capaces de reproducirse y cómo adaptan dicho programa al ambiente particular de cada momento.

Como una integración entre la fisiología vegetal y la ecología, surge una nueva disciplina experimental conocida como ecofisiología vegetal, que busca describir los mecanismos fisiológicos que subyacen en las observaciones ecológicas (Lamberts *et al.*, 2008). Según Reigosa *et al.* (2003) la ecofisiología en un sentido amplio estudia las adaptaciones fisiológicas de los organismos al hábitat o al medio ambiente. Larcher (2003) afirma que es la ciencia de la vida de la planta bajo la influencia de los factores bióticos y abióticos. Estos factores positiva o negativamente (estrés) afectan al crecimiento, productividad, supervivencia y reproducción de las plantas, que evolutivamente han desarrollado mecanismos para adaptarse y soportar dichos fenómenos (Lamberts *et al.*, 2008).

1.3.2 Respuesta espectral de la vegetación

Todos los objetos (independientemente de la radiación que emitan) van a recibir radiación emitida por otros cuerpos, fundamentalmente del sol, que, en función del tipo de objeto que se esté considerando puede seguir tres caminos: reflejarse, absorberse y transmitirse (CCRS, 2007).

Según Baret y Andrieu (1994) y Guzmán-Rey (2007), en el caso de la vegetación, las propiedades reflectivas de la misma dependen de tres tipos de factores: a) estructura de la cubierta vegetal, principalmente caracterizada por su índice foliar, por la orientación de las hojas y por su distribución y tamaño; b) propiedades ópticas de los elementos reflectantes (tallos, hojas, flores y frutos); y c) geometría de la observación, determinada por la orientación relativa entre el sol y la superficie y por la situación del sensor con respecto a esta última. Las medidas de reflectancia espectral son usadas para valorar el estado fisiológico de la vegetación y discriminar especies cultivables o detectar el impacto del estrés en las plantas debido a enfermedades, estrés por déficit hídrico o deficiencias nutricionales (Delalieux *et al.*, 2007; Delalieux *et al.*, 2009; Mahlein *et al.*, 2010).

1.3.3 Efectos de los patógenos sobre la fisiología y las propiedades espectrales de las plantas

Son evidentes los efectos fisiológicos que causan los patógenos en las plantas, pero muchos de los eventos que ocurren están poco documentados o entendidos (Rodríguez-Gaviria y Cayón, 2008).

Según Agrios (2005), los patógenos ocasionan principalmente las siguientes alteraciones fisiológicas: a) disminución notable de la fotosíntesis; b) interferencia sobre el movimiento ascendente del agua y de los nutrientes inorgánicos; c) incremento en la transpiración, debido a una disminución parcial de la protección cuticular, al aumento en la permeabilidad de sus células y a las alteraciones que presentan los estomas; d) interferencia de la translocación de los nutrientes orgánicos a través del floema; e) incremento de la tasa respiratoria debido a que los tejidos afectados utilizan con mayor rapidez su reserva de carbohidratos que los tejidos sanos; f) cambios en la permeabilidad de la membrana celular, lo que trae como consecuencia la pérdida incontrolable de sustancias útiles, así como también la posibilidad de inhibir la entrada en la célula de sustancias indeseables; g) alteración de los procesos de transcripción y traducción, lo que afecta la expresión de los genes y conlleva a cambios drásticos desfavorables en la estructura y función de las células afectadas.

Los síntomas de las enfermedades de origen patogénico a menudo generan alteraciones en sus propiedades espectrales (Pietrzykowski *et al.*, 2006). El impacto de las enfermedades sobre la fisiología y la fenología de las plantas, varía con la interacción hospedante-patógeno y puede causar modificaciones en los pigmentos (Pinter *et al.*, 2003), el contenido de agua, la funcionalidad del tejido ó la apariencia de las estructuras específicas del patógeno. En realidad estos aspectos individuales pueden alterar los patrones espectrales de la planta (Malhein *et al.*, 2010, 2013).

El conocimiento del efecto fisiológico de las enfermedades sobre el metabolismo y estructuras de las plantas son esenciales en la discriminación espectral de las hojas y elementos del dosel saludables y enfermos (Moran *et al.*, 1997). Los mejores resultados para identificar enfermedades han sido obtenidos en el rango del espectro visible (400-700 nm) y el rojo cercano (700-1000 nm) (Malhein *et al.*, 2010, 2013).

1.3.4 El caucho natural (*Hevea* spp.)

El caucho natural (*Hevea* spp.) es originario de la cuenca del río Amazonas, en los territorios de Brasil, Bolivia, Perú y Colombia, y su uso radica en la producción de látex destinado principalmente a la industria llantera. El caucho natural fue llevado a Asia en donde logró gran adaptación y mejor comportamiento que en su lugar de origen, debido principalmente a que esa región se encuentra libre del SALB, enfermedad endémica del área amazónica (Compagnon, 1998; Gasparotto *et al.*, 1997). *Hevea brasiliensis* (Willd. ex ADR. de Juss.) Muell.-Arg. (Euforbiaceae) es la única especie cultivada en el mundo con el propósito de obtener látex. Actualmente existen un poco más de 6 millones de hectáreas sembradas con este árbol para la producción de caucho (Castellanos *et al.*, 2009).

1.3.5 Mal suramericano de las hojas (SALB)

El SALB causado por el hongo *M. ulei* es la principal enfermedad del caucho natural y se encuentra distribuida en todas las zonas productoras de caucho natural (*Hevea* spp.) de América Central y del Sur, en donde representa el principal limitante para el establecimiento de nuevos cultivos en estas regiones (Gasparotto *et al.*, 1997, 2012). Este hongo, endémico de Centro y Sudamérica, fue inicialmente identificado en árboles de caucho del Brasil en 1904. La clasificación taxonómica del hongo se ha realizado con base en la forma perfecta o fase telomórfica que es la correspondiente a *Microcyclus ulei* (P. Henn) v. Arx, sin. *Dothidella ulei* P. Henn (Gasparotto *et al.*, 2012).

Según Ericsson y Hawksworth, (1993), el hongo pertenece a la clase Ascomycete, orden Mycosphaerellales y familia Mycosphaerellaceae. *M. ulei* posee dos estados asexuales: un estado conidial, *Fusicladium macrosporum* Kuyper 1912 y un estado picnidial, *Aposphaeria ulei* P. Henn. El género *Microcyclus* fue incluido en la familia Mycosphaerellaceae por quienes lo consideraron la contraparte estromática de la familia Mycosphaerellaceae (Dothideales). Sin embargo, Hora Júnior *et al.* (2014) a través de análisis de relaciones filogenéticas usando secuencias de ADN y ARNr, proponen una nueva nomenclatura para *M. ulei*: *Pseudocercospora ulei* (Henn.) Hora Junior & Mizubuti, perteneciente al Orden Capnodiales y conservando la familia Mycosphaerellaceae. En el mismo sentido, conservan la denominación del anamorfo conidial (*F. macrosporum* \equiv *F. heveae* K. Schub. & U. Braun 2003) y en el caso del anamorfo *A. ulei*, afirman que las estructuras picnidiales producidas por este estadio de desarrollo son en realidad espermogonios y estarían estrechamente relacionados con las etapas iniciales del ciclo sexual de *M. ulei*.

El SALB reviste gran importancia porque los daños se localizan en las hojas, lo cual disminuye la capacidad fotosintética de la planta, que repercute luego en el producto final (Gasparotto *et al.*, 1990); según Chee y Holliday (1986), la producción de látex disminuye entre 20 y 75%. El uso de genotipos resistentes y la ubicación de las plantaciones en las áreas de escape, definidas éstas como áreas cuyas condiciones climáticas son desfavorables a *M. ulei*, pero económicamente aptas para el crecimiento del cultivo de caucho, constituyen las mejores alternativas recomendadas para el control de la enfermedad (Leal, 1999).

1.3.6 Morfología y fisiología

Según Gasparotto *et al.* (2012), *M. ulei* es un hongo ascomicete, que presenta dos fases o estados anamórficos (Deuteromycota): En su estado conidial (*F. macrosporum*) el hongo presenta conidióforos simples, formados a partir de estromas (agrupamientos miceliales de apariencia carbonosa) subepidérmicos. En el otro estado asexual (*A. ulei*) presenta picnidios agrupados en forma circular sobre estromas que aparecen en el haz de los folíolos. Durante su fase sexual o teleomórfica se producen ascocarpos dentro de estromas superficiales de apariencia carbonosa y paredes rugosas, formando también círculos que sobresalen con más frecuencia en el haz de los folíolos. El hongo produce cantidades grandes de conidios los cuales son diseminados a través del agua lluvia o el viento siendo este último el responsable de la diseminación del inóculo (Gasparotto *et al.*, 1984). La fase picnidial no tiene importancia en la diseminación del patógeno.

1.3.7 Ciclo de vida y epidemiología

Según Gasparotto *et al.* (2012) el ciclo de vida de *M. ulei* ocurre sólo en *H. brasiliensis* de la siguiente manera: a partir de los cuatro a cinco años de edad, se presenta el fenómeno anual de caducifolismo. Los folíolos con madurez fisiológica (folíolos D) o folíolos senescentes (folíolos E) (Halle *et al.*, 1978) próximos a caer presentan los síntomas de lija (Figura 1-1-B), o sea agrupamientos de estromas negros que abrigan ascosporos de la reproducción sexual del hongo.

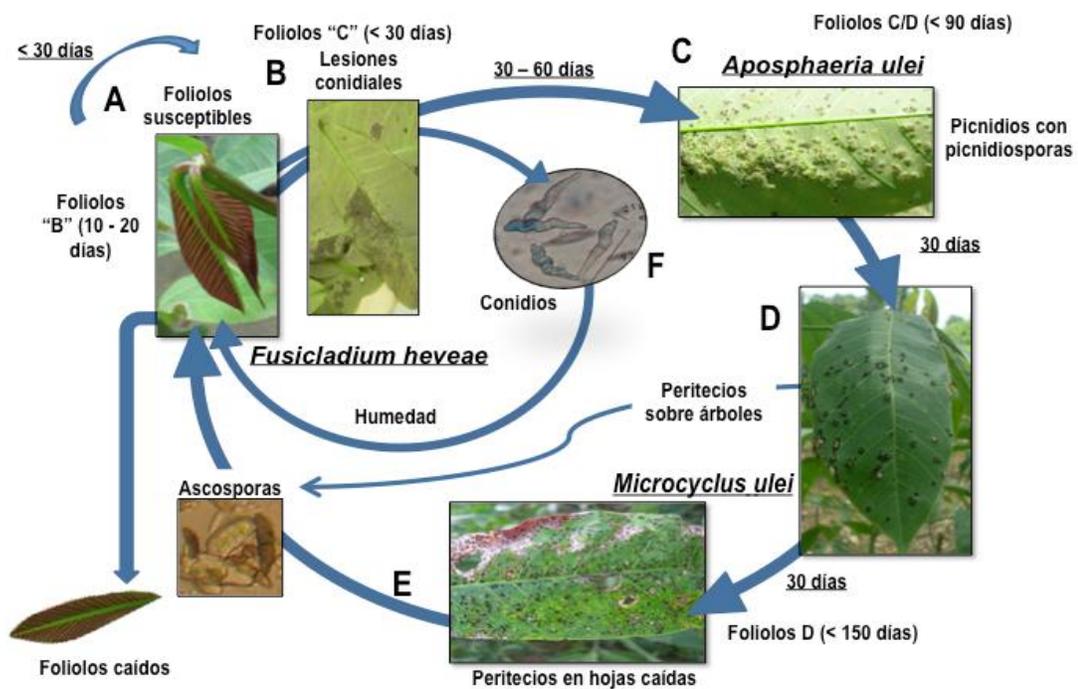


Figura 1-1. Ciclo de vida de *Microcyclus ulei* agente causal del mal suramericano de la hoja de caucho (*Hevea brasiliensis*). Adaptado de Gasparotto *et al.* (2012)

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

En los folíolos que caen al suelo y en aquellos que están en la planta (caducifolismo tardío), esos estromas son humedecidos por agua de lluvia que provocan el aumento de tensión interna de los ascostromas o pseudotecios que contienen ascas; de ahí son liberados los ascosporos que son diseminados por el viento afectando folíolos jóvenes, especialmente de otras plantas (Figuras 1-1A, B, C, D). Las hojas viejas y los ascosporos son los responsables de la infección primaria de los folíolos jóvenes.

En los folíolos jóvenes los ascosporos absorben humedad, germinan y producen tubos germinativos. Esos producen apresorios, a partir de los cuales primordios de hifas infectivas se desarrollan, penetran directamente y colonizan los folíolos. Bajo condiciones favorables a la enfermedad, cerca de cinco a seis días después, los folíolos infectados exhiben lesiones cubiertas de esporulación conidial de la primera fase anamórfica o asexual del patógeno (*F. macrosporum*; sin. *F. heveae*) la cual es más abundante en las superficies abaxiales (Figura 1-1D, E, F). De esos folíolos lesionados todavía presentes en ramas y peciolos, los conidios son diseminados por el viento o por la lluvia e infectan otros folíolos nuevos de la misma planta o de plantas diferentes, de la misma manera que los ascosporos (Figura 1-1E, F, D).

Siempre que las infecciones primarias por ascosporos, secundarias o recicladas por conidios infectaren folíolos nuevos con hasta doce días de edad, con numerosas lesiones en el limbo, éstos caerán precozmente. Las condiciones microclimáticas sobre los árboles permiten el aumento de la esporulación conidial sobre los folíolos caídos (Figura 1-G). Los vientos contribuyen para que los conidios presente en los folíolos caídos migren a folíolos no infectados presentes en árboles distantes de la plantación, diseminando el patógeno. La fase explosiva de la enfermedad surge cuando ocurren infecciones conidiales policíclicas, causando nuevos defoliamientos e incremento en el inóculo conidial (Figura 1-E, F, G, D). Es la fase más grave de la enfermedad, que trae como consecuencia el debilitamiento fisiológico de los árboles, sujetos a un prolongado período de déficit energético y alteración de mecanismos fisiológicos para atender la continua reposición de área foliar.

De acuerdo con Hashim & Pereira (1989), la infección conidial en hojas más viejas (amarillo-verdosas) desarrollará sólo pequeñas manchas pero no lesiones características de la enfermedad. Una vez las hojas son completamente verdes, la planta de caucho es inmune a la infección por *M. ulei*. De los doce días hasta la maduración completa, los folíolos infectados por ascosporos o por conidios no son susceptibles a la caída prematura por la enfermedad y permanecen en la planta. Estos folíolos pasarán al estadio C/D y cerca de 30 a 60 días se observarán estromas negros (síntoma de lija) que abrigan la segunda fase asexual o picnidial del patógeno (*A. ulei*), o espermogonios como lo señalan Hora Júnior *et al.* (2014) (Figura 1-H, I).

En los folíolos con madurez fisiológica, los síntomas tardío de lija (Figura 1- A, C), revelan algunas cavidades con conidios picnidiales, otras con ascas y ascosporos, en cuanto otras se encuentran vacías, donde presumiblemente hubo producción y liberación de ascosporos. Esos folíolos caerán durante el período de caducifolismo repitiendo el ciclo. La duración total del ciclo de vida del patógeno es de cuatro a cinco meses.

Dado que las plantas de caucho pasan por un período de latencia durante el cual se presenta la caída de sus hojas, es probable que las infecciones nuevas o primarias se produzcan a partir de los ascocarpos durante esta etapa del desarrollo de las plantas (Torres, 1999). Las infecciones se producen cuando la espora en presencia de agua o rocío produce un tubo germinativo que al entrar en contacto con los tejidos epidérmicos forma un apresorio que le permite adherirse a la superficie foliar y luego penetrar en forma directa para colonizar rápidamente los tejidos internos de la hoja. Bajo condiciones ambientales favorables, el período de incubación o aparición de los primeros síntomas ocurre antes de los 5 a 6 días de haber penetrado el microorganismo, y a partir de ese momento las lesiones aparecen con una esporulación abundante de conidias, especialmente sobre la cara superior del foliolo. Las conidias y ascosporas son diseminadas para infectar e iniciar ciclos primarios y secundarios de la enfermedad. La fase epidemiológica o explosiva de la enfermedad se produce cuando el hongo cumple varios ciclos continuos produciendo nuevas defoliaciones y mayor cantidad de inóculo (Garzón, 2000).

El ciclo completo de la enfermedad dura aproximadamente de los 4 a 5 meses (Gasparotto *et al.*, 1997) La sobrevivencia del microorganismo ocurre aparentemente cuando se produce la defoliación por la enfermedad o por su característica de ser un árbol caducifolio. Es posible que sobre las hojas caídas el microorganismo sobreviva, dado que el hongo en ausencia de los nutrientes requeridos pasa rápidamente a cumplir su estado telomorfo o sexual, que le permite tolerar condiciones adversas para su desarrollo.

1.3.8 Factores que favorecen la enfermedad

La enfermedad aparece cuando la humedad relativa es superior a 95% por lo menos 10 horas continuas, durante 12 noches en un mes. La temperatura que más favorece su incidencia es de 24°C, con un rango de 21 a 28°C, y se limita su desarrollo cuando es menor de 21°C y mayor de 30°C (Gasparotto *et al.*, 1991).

Se ha investigado que el ciclo de la enfermedad se interrumpe cuando el clima presenta ciertas características que afectan la viabilidad de las esporas, por tanto, su capacidad de esporulación; dentro de las más conocidas se tienen: humedad relativa inferior a 70%, temperatura media mensual de 20°C, evapotranspiración real superior a los 900 mm y precipitación anual entre 0 y 200 mm. Sin embargo, se considera que para el desarrollo de la enfermedad es de gran importancia el tiempo que permanece la hoja mojada, de manera que también se ha encontrado que en las zonas con vientos suaves las hojas se secan más rápidamente y la infección disminuye (Torres, 1999).

1.4 Estado actual

Los estudios fisiológicos en *H. brasiliensis* se han enfocado principalmente en la influencia de los factores ambientales abióticos (Rodrigo, 2007; Da Matta, 2008). En *H. brasiliensis* son apreciables los efectos fisiológicos que causa el SALB; sin embargo, muchos de los eventos relacionados con la respuesta fisiológica de la planta están poco

documentados o entendidos. Los estudios afines se han enfocado esencialmente en los aspectos fisiológicos de la resistencia a *M. ulei*, con el objetivo de identificar los procesos involucrados en la interacción-planta patógeno (Hashim *et al.*, 1980; Hashim y Pereira, 1989; García *et al.*, 1995, Rivano *et al.*, 2013) y finalmente el desarrollo de marcadores bioquímicos para asistir programas de mejoramiento (Lieberei, 2007).

Lieberei (1996) evaluó en condiciones controladas diferentes aspectos fisiológicos de la resistencia (contenido de clorofila, fotosíntesis, respiración, peso fresco y peso seco), asociados al estado fenológico de las hojas afectadas. Sin embargo, no está documentado el efecto que tiene la severidad de la enfermedad sobre la fisiología de la planta o en la respuesta espectral de la misma. Tampoco se tiene claridad sobre los cambios en las respuestas fisiológica y espectral en relación con el progreso de la infección o el ciclo de desarrollo del patógeno en la planta. En este contexto, es necesario identificar las variaciones fisiológicas y espectrales entre diferentes genotipos hospedantes de *H. brasiliensis* con distintos niveles de resistencia al SALB.

Como en muchos países de Latinoamérica, el cultivo del caucho natural en Colombia ha adquirido importancia en los últimos años debido a las iniciativas adelantadas por las entidades regionales que han encontrado en la actividad heveícola un apoyo fundamental para el desarrollo económico del sector agropecuario e industrial. Esta situación obliga al sector heveícola a ampliar las áreas de siembra mediante el establecimiento y selección de clones de alto desempeño, tolerantes a los principales limitantes fitosanitarios del cultivo, especialmente al SALB.

En Colombia, el gobierno nacional priorizó diversos núcleos de producción, teniendo en cuenta la tradición cauchera y la delimitación por zonas de escape y no escape al hongo *M. ulei* (STNCC, 2008). En esta priorización se incluyó la Amazonia colombiana especialmente los departamentos de Caquetá, Putumayo y Guaviare, los cuales se ubican principalmente en zona de no escape al SALB. En consideración de las potenciales limitaciones presentes en la zona antes referida, el conocimiento de la respuesta fisiológica y espectral de diferentes clones de caucho natural al SALB constituye un insumo clave para el diseño de una herramienta tecnológica de diagnóstico temprano para el manejo apropiado del SALB en combinación con las estrategias clásicas de manejo a través del uso de clones resistentes.

1.5 Referencias

Agrios, G. N. 2005. Fitopatología. Edit. LIMUSA S.A. México. 838 p.

Asoheca. Asociación de Reforestadores y Cultivadores de Caucho del Caquetá, CO. 2014. Información estadística de caucho en el Departamento del Caquetá (Colombia) a diciembre de 2013. Documento interno de agronegocios. Ed. I. Dussan. 2p.

Azcón-Bieto, J., Talón, M. 2000. Fundamentos de la fisiología vegetal. Madrid.

Baret, F., Andrieu, B. 1994. Interet du moyen infrarouge reflectif por caracteriser la vegetation. Bol. Societé Française pour la Photogrametrie et Teledetection. 136 p.

Cardoso, S. E. A., Freitas, T. A., Silva, D. da C., Gouvea, L. R. L., Goncalves, P., Mattos, C. R. R., García, D. 2014. Comparison of growth, yield and related traits of resistant *Hevea* genotypes under high South American leaf blight pressure. Brasil. Industrial Crops and Products (53): 337-349.

Castellanos, D. O., Fonseca, R. S., Barón, N. M. 2009. Agenda prospectiva de investigación y desarrollo tecnológico para la cadena productiva de caucho natural y su industria en Colombia. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá D.C. 209 p.

Cataneo, A. C., Fiori, M. S., Gonzalez, G. C., Silva, G. S., Seiffert-Sanine, M. S., Furtado, E. L. 2011. Atividade de enzimas antioxidantes em seringueira sob ataque de *Colletotrichum gloeosporoides*. En: Memórias XIII Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal. Brazilian Journal of Plant Physiology. Campos dos Goytacazes – RJ. 323 p.

Cavalcante, J. R., Conforto, E. De C. 2006. Fotossíntese e relações hídricas de duas cultivares jovens de seringueira. Revista Brasil. Bot. 29 (4): 701-708.

Cavalcante, J. R., Conforto, E. de C. 2002. Desempenho de cinco clones jovens de seringueira na região do planalto ocidental paulista. Bragantia, Campinas 61(3): 237-245.

Compagnon, P. 1998. El caucho natural, biología - cultivo - producción. Consejo Mexicano del Hule – CIRAD. México, D. F. 701 p.

Conforto, E. de C., Cavalcante, J. R., Pessoa, J. D. C., Moreno, J. M. B., Mattoso, L. H. C. 2005. Variação sazonal das trocas gasosas, turgescência relativa do tronco e produtividade em dois cultivares de seringueira em Votuporanga, SP, Brasil. Acta Bot. Bras. 19(4): 733-740.

Conforto, E. de C. 2008. Respostas fisiológicas ao déficit hídrico em duas cultivares enxertadas de seringueira (“RRIM 600” e “GT1”) crescidas em campo physiological responses to water deficit in two young field-grown scion rubber. Ciência Rural, Santa Maria 38 (3): 679-684.

Correa, F. A. F., Ranzani, G., Ferreira, L. G. R. 1987. Relações entre o déficit hídrico e alguns procesos fisiológicos e bioquímicos em quatro clones de seringueira. Acta Amazónica 16 (17): 3-12.

CCC. Confederación Cauchera Colombiana. 2011. Estado actual del gremio cauchero colombiano. En: Memórias Congreso Internacional Cauchero 2011. CCC/SENA/SAC/Gobernación del Meta/Cámara de Comercio de Villavicencio. Villavicencio-Meta. 15 p.

CCRS. Canada Centre Forremotesensing. 2007. Fundamentals of remotesensing. Digital edition. http://ccrs.nrcan.gc.ca/resource/tutor/fundam/index_e.php.

Chee, K. H., Holliday, P. 1986. South American Leaf Blight of *Hevea*. Rubber Monograph 13. Malaysian Rubber Research and Development Board. 50 p.

Da Matta, F. M. 2008. Ecophysiology of tropical tree crops: an introduction. Brazilian Journal. Plant Physiology 19 (4): 239-244.

Delalieux, S., Van Aardt, J., Keulemans, Van Aardt., Schrevers, E., Coppin, P. 2007. Detection of biotic stress (*Venturia inaequalis*) in apple trees using hyperspectral data: Non-parametric statistical approaches and physiological implications. European Journal of Agronomy 27: 130–143.

Delalieux, S., Somers, B., Verstaeten, W. W., Van Aardt, J. A. N., Keulemans, W., Coppin, P. 2009. Hyperspectral indices to diagnose leaf biotic stress of apple plants, considering leaf phenology. International Journal of Remote Sensing 30: 1887–1912.

Eriksson, O. E., Hawksworth, D. L. 1993. Outline of the Ascomycetes-1993. System Ascomycetum. 12: 51-257.

Furtado, E. L., Menten, J. O. M., Passos, J. R. 2008. Intensidade do Mal das Folhas em plantas jóvenes e adultas de seis clones de seringueira na região do Vale do Ribeira. Tropical Plant Pathology 33 (2): 130-137.

García, D., Cazaux, E., Rivano, F., D'auzac, J. 1995. Chemical and structural barriers to *Microcyclus ulei*, the agent of South American leaf blight, in *Hevea* spp. European Journal of Forest Pathology 25: 282–292.

Garcia, D., Troispoux, V., Grange, N., Rivano, F., D'auzac, J. 1999. Evaluation of the resistance of 36 *Hevea* clones to *Microcyclus ulei* and relation to their capacity to accumulate scopoletin and lignins. Eur. J. For. Path. 29: 323-338.

Garzón, C. F. 2000. Principales enfermedades y plagas en el cultivo de caucho (*Hevea brasiliensis*) con énfasis en la Amazonia Colombiana. Instituto Amazónico de Investigaciones científicas, SINCHI. Colombia.

Gasparotto, L., Lieberei, R., Trindade, D. 1984. *In vitro* conidia germination of *Microcyclus ulei* and its sensitivity to fungicides. Fitopatologia Brasileira 9: 505-511.

Gasparotto, L., Zambolim, L., Mafia, L. A., Ribeiro, D. V., Junqueira, N. T. V. 1989. Efeito da temperatura e umidade sobre infecção de seringueira (*Hevea* spp.) por *Microcyclus ulei*. Fitopatologia Brasileira 14 (1): 38-41.

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

Gasparotto, L., Zambolin, L., Junqueira, N. T. V., Mafia, L., Ribeiro, F. 1991. Epidemiology of South American leaf blight of rubber tree. Manaus, region. AM. *Fitopatologia Brasileira* 16 (1): 19-21.

Gasparotto, L., Santos, A. F., Pereira, J. C. R., Ferreira, F. A. 1997. Doenças da seringueira no Brasil. Embrapa-SPI. Brasília, BR. 168 p.

Gasparotto, L., Ferreira, F. A., dos Santo, A. F., Rezende, P. J. C., Furtado, E. L. 2012. Capítulo 3: Doenças das folhas. pp. 39-176. En: Gasparotto, L.; Pereira, R. J. C. (Eds.). Doenças da seringueira no Brasil. EMBRAPA Amazônia Occidental. Brasília, DF. 255 p.

Gonçalves, P., Ortolani, A. A., Cardoso, M. 1997. Melhoramento genético da seringueira: uma revisão. Campinas: Instituto Agrônômico, (Instituto Agrônômico. Documentos IAC, 54). 55p.

Guyot, J., Condina, V., Doaré, F., Cilas, C., Sache, I. 2010. Segmentation applied to weather-disease relationships in South American leaf blight of the rubber tree. *Eur. J. PlantPathol.* 126: 349–362.

Guzmán-Rey, O. F. 2007. Fundamentos físicos de teledetección. IGAC. Bogotá, D. C. Colombia. 85 p.

Hashim, I., Chee, K. H., Wilson, L. A. 1980. The relationship of phenols and oxidative enzymes with resistance of *Hevea* to South American leaf blight. *Phytopathologische Zeitschrift* 97: 332-345.

Hashim, I., Pereira, J. C. R. 1989. Lesion size, latent period and sporulation of leaf disc as indicators of resistance of *Hevea* to *Microcyclus ulei*. *Journal of Natural Rubber Research* 4: 56–65.

Hora Júnior, B.Td, de Macedo, D.M., Barreto, R.W., Evans, H.C., Mattos, C.R.R., *et al.* 2014. Erasing the Past: A New Identity for the Damoclean Pathogen Causing South American Leaf Blight of Rubber. *PLoS ONE* 9 (8): e104750. doi:10.1371/journal.pone.0104750

Junqueira, N. T. V. L., Zambolin, G. M., Chaves, Y., Gasparotto, L. 1986. Esporulação *in vitro*, viabilidade dos conídios e patogenicidade de *Microcyclus ulei*. *Fitopatologia Brasileira* 11 (2): 667-682.

Lambers, H., Pons, T. L., Chapin, F. S. 2008. *Plant physiological ecology*. 2nd ed. Springer. New York. 672 p.

Larcher, E. 2003. *Physiological Plant ecology. Ecophysiology and stress physiology of functional group*. 3rd edition, Springer, Berlin. 506 p.

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

Leal, F. 1999. Impactos actuales y potenciales de las Enfermedades de los cultivos perennes de la amazonia y posibilidades de control para el desarrollo sostenible de la región. Tratado de Cooperación Amazónica. Secretaría Pro Tempore. Venezuela. 178 p.

Lieberei, R., Fock, H. P., Biehl, B. 1996. Cyanogenesis inhibits active pathogen defense in plants: Inhibition by gaseous HCN of photosynthetic CO₂-fixation and respiration in intact leaves. *Angewandte Botanik* 70: 230–238.

Lieberei, R. 2007. South american leaf blight of the rubber tree (*Hevea* spp.): new steps in plant domestication using physiological features and molecular markers. Invited Review. *Annal of Botany* 100: 1125–1142.

Mahlein, A. K., Steiner, U., Dehne, H. W., Oerke, E. C. 2010. Spectral signatures of sugar beet leaves for the detection and differentiation of diseases. *Precision Agriculture* 11: 413-431.

Mahlein, A. K., Rumpf, T., Welke, P., Dehne, H. W., Plümer, L., Steiner, U., Oerke, E.C. 2013. Development of spectral indices for detecting and identifying plant diseases. *Remote Sensing of Environment* 128: 21-30.

Mattos, C. R. R., García, D., Pinard, F., Le Guen, V. 2003. Variabilidade de Isolados de *Microcyclus ulei* no Sudeste de Bahia. *Fitopatologia Brasileira* 28 (5): 502-507.

Mattos, C. R. R. 2007. Programa de melhoramento genético de clones de seringueira com resistencia ao fungo *Microcyclus ulei*. En: Memórias I Congresso Brasileiro de Heveicultura. Borracha Natural. INCAPER. Guarapari-Es, Brasil.

Medri, M. E., Lleras, E. 1983. Quantificação e uso de caracteres anatômicos e fisiológicos de folhas na determinação de eficiência hídrica em clones de *Hevea* spp. *Acta Amazônica* 3: 261-288.

Mello, S. C. M., Santos, M. F., Silva, J. B. T. 2006. Isolados de *Dicyma pulvinata* em estromas de *Microcyclus ulei* em seringueira. Brasília, DF. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 41: 359-363.

Miguel, A. A., De Oliveira, M. L. E., Ramos, A. P., Oliveira, D. M. 2007. Photosynthetic behaviour during the leaf ontogeny of rubber tree clones (*Hevea brasiliensis* (Wild. ex. Adr. de Juss.) Muell. Arg.), in Lavras, MG. *Ciênc. Agrotec.*, Lavras 31(1): 91-97.

Moran, M. S., Inoue, Y., Barnes, E. M. 1997. Opportunities and limitations for image-based remote sensing in precision crop management. *Remote Sensing of the Environment* 61: 319-346.

Nascimento, E. A., Oliveira, L. E., De Castro, E. M., Filho, N. D., Mesquita, A. C., Vieira, C. V. 2006. Alterações morfofisiológicas em folhas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) consorciado com seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.). *Ciência Rural*, Santa Maria 36 (3): 852-857.

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

Oliveira, C. R. M., Soares, A. M., Oliveira, L. E. M., De Castro, E. M., Barbosa, J. R. A. D. 2004. Crescimento e características anatômicas de cafeteiro (*coffea arabica* L.) e seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) em diferentes sistemas de cultivo: monocultivo e consorcio. *Ciênc. Agrotec.* 28(2): 350-357.

Oliveira, C. R. M., Barbosa, J. P. R. A. D., Soares, A. M., Oliveira, L. D. M., Macedo, L. R. G. 2006. Trocas gasosas de cafeeiros (*Coffea arabica* L.) e seringueiras (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) em diferentes sistemas de cultivo na região de lavras, MG. *Revista Árvores* 30: 197-206.

Pietrzykowski, E., Stone, C., Pinkard, E., Mohammed, C. 2006. Effects of *Mycosphaerella* leaf disease on the spectral reflectance properties of juvenile *Eucalyptus globulus* foliage. *For. Path* 36: 334-348.

Pinter, P. J., Hatfield, J. L., Schepers, J. S., Barnes, E. M., Moran, M. S., Daughtry, C. S. T. 2003. Remote sensing for crop management. *Photogrammetric Engineering and Remote Sensing* 69: 647-664.

Pita, O. F. A., Oliva, M. A., Monteiro, S. E. A. 1986. Desenvolvimento morfológico de folhas de *Hevea brasiliensis* Muell. Arg. e *H. pauciflora* Muell. Arg. submetidas a dois regimes hídricos. *Acta Amazônica* 16 (17): 175-188.

Reigosa, M., Pedrol, N. Sánchez, A. (Eds). 2003. La ecofisiología vegetal. Una ciencia de síntesis. Universidad de Vigo. Editorial Thomson. 1193 p.

Righi, C. A., Bernardes, S. M. 2008. Disponibilidade de energia radiante em um sistema agroflorestal com seringueiras: produtividade do feijoeiro. *Bragantia*, Campinas 67 (2): 533-540.

Rivano, F., Nicolas, D., Chevaugéon, J. 1989. Resistance de L'*Hevea* a La Maladie Sud-Americaine dès feuilles. *Perspectives de Lutte* 125: 199-206.

Rivano, F. 1997. La maladie Sud-Américaine des feuilles de L'*Hevea*. I. Variabilité du pouvoir pathogene de *Microcyclus ulei*. *Plantations, Recherche, Développement* 4: 104-110.

Rivano, F., Mattos, C. R. R., Cardoso, S. E.A., Martinez, M., Cevallos, V., Le Guen, V., Garcia, D. 2013. Breeding *Hevea brasiliensis* for yield, growth and SALB resistance for high disease environments. *Industrial Crops and Products* 44: 659-670.

Rodrigo, V. H. L. 2007. Ecophysiological factors underpinning productivity of *Hevea brasiliensis*. *Braz. J. PlantPhysiol* 19 (4): 245-255.

Rodríguez-Gaviria, P. A., Cayón, G. 2008. Efecto de *Mycosphaerella fijiensis* sobre la fisiología de la hoja de banano. *Agronomía Colombiana* 26(2): 256-265.

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

Sena, J. O. A De., Zaidan, H. A., De Camargo E Castro, P. R. 2007. Transpiration and stomatal resistance variations of perennial tropical crops under soil water availability conditions and water deficit. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 50 (2):225-230.

Silva, L. G. Da., Moraes, W. B., Moraes, W. B., Jesus- Junior, W., Souza, A. F. de. 2009. Efeito das condições climáticas no desenvolvimento do mal-das-folhas da seringueira na região sul do Espírito Santo. *Rev. Bras. de Agroecologia* 4 (2): 2034-2037.

Sterling, C. A., Rodríguez, O. L. Quintero, L., Correa, J. 2009. Evaluación fitosanitaria y resistencia en campo a *Microcyclus ulei* de *Hevea brasiliensis* en la Amazonia Colombiana. *Revista Colombia Amazónica* 2: 80-90.

Sterling, C. A., Rodríguez, O. L. Quintero, L. 2010a. Variabilidad fisiológica de aislamientos de *Microcyclus ulei* de la Amazonia colombiana. *Revista Momentos de Ciencia* 7 (1): 30-35.

Sterling, C. A., Calderón, A., Rodríguez, O. L. Quintero, L. 2010b. Caracterización morfológica y patogenicidad de *Microcyclus ulei* en la Amazonia colombiana. *Revista Colombia Amazónica* 3: 99-116.

Sterling, C. A., Galindo, L. C., Correa, J. 2010c. Incidencia y severidad de *Microcyclus ulei* en una colección de caucho en la Amazonia colombiana. *Ingenierías & Amazonía* 3 (2): 93-104.

Sterling, C. A., Rodríguez, L. C. H. 2011. Nuevos clones de caucho natural para la Amazonia Colombiana: Énfasis en la resistencia al mal suramericano de las hojas (*Microcyclus ulei*). Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas – SINCHI. Bogotá, Colombia. 195 p.

Sterling, C. A.; Rodríguez, L. C. H. 2012. Ampliación De La Base Genética De Caucho De Caucho Natural Con Proyección Para La Amazonia Colombiana: Fase De Evaluación En Periodo Improductivo A Gran Escala. Instituto Amazónico De Investigaciones Científicas - Sinchi. Colombia. 147 P.

STNCC. Secretaria Técnica Nacional De La Cadena De Caucho. 2008. Comportamiento del caucho natural en Colombia y el mundo 2002 – 2008. Ed. OE Santacruz. 26 p.

Torres, A. C. H. 1999. Manual para el cultivo del caucho en la Amazonia. Universidad de la Amazonia. 149 pp.

Zhang, M. Fvfv, Liu, X., O’neill, M. 2002. Spectral discrimination of *Phytophthora infestans* infections on tomatoes based on principal component and cluster analyses. *International Journal of Remote Sensing* 23: 1095–1107.

2. Capítulo 2. Efectos del SALB (*Microcyclus ulei*) en la respuesta fisiológica y espectral de dos clones de *Hevea brasiliensis* con diferente reacción al patógeno en condiciones de inoculación controlada

2.1 Resumen

Este estudio tuvo como objetivo evaluar la respuesta fisiológica y espectral de dos clones (FX 3864 y FX 4098) de caucho (*Hevea brasiliensis*) al mal suramericano de las hojas SALB (*Microcyclus ulei*) en condiciones de inoculación controlada en Caquetá (Colombia). Las evaluaciones se realizaron en cámara húmeda a 23 °C, HR > 90% y un fotoperíodo de 12/12 h (PAR= 11.5 $\mu\text{mol fotonos/m}^2.\text{s}^2$). Se analizaron cuatro variables asociadas a la enfermedad, cuatro variables de intercambio gaseoso y cinco para la fluorescencia de la clorofila *a*. Se estudió el efecto del SALB sobre las propiedades de reflectancia espectral y se valoraron siete índices de vegetación. *M. ulei* generó síntomas en los dos clones a los 4 días después de la inoculación. Las tasas fotosintéticas en el clon FX 3864 (susceptible) fueron significativamente afectadas por la infección de *M. ulei*, y en un mínimo grado en el clon FX 4098. La afectación de la fotosíntesis fue proporcional al progreso de la enfermedad y el fenómeno se intensificó en folíolos inoculados del estadio foliar B (18 – 20 días). La enfermedad influyó significativamente en las propiedades espectrales. Éste efecto se observó principalmente en el contenido relativo de clorofila, la fenología de los folíolos, la clase de severidad y el tiempo de inoculación del patógeno. El análisis de las firmas espectrales permitió obtener un nuevo índice de vegetación para la detección e identificación espectral del SALB de acuerdo con la fenología foliar. Se reportan los primeros modelos lineales basados en índices espectrales para la predicción de las clases de severidad del SALB.

Palabras clave: *Hevea brasiliensis*, *Microcyclus ulei*, fotosíntesis, reflectancia.

2.2 Abstract

This study aimed to evaluate the physiological and spectral response of two rubber tree clones (FX 3864 and FX 4098) of *Hevea brasiliensis* to the South American Leaf Blight SALB (*Microcyclus ulei*) under controlled inoculation in Caquetá (Colombia). Evaluations were performed in a moist chamber at 23 ° C, RH > 90% and a photoperiod of 12 h (PAR = 11.5 $\mu\text{mol fotones/m}^2\cdot\text{s}^2$). Four variables associated with the disease, four variables of gas exchange and five for the fluorescence of chlorophyll *a* were analyzed. Effect of SALB on spectral reflectance properties was studied and seven vegetation indices were evaluated. *M. ulei* generated symptoms in both clones at 4 days after inoculation. Photosynthetic rates in clone FX 3864 (susceptible) were significantly affected in response to infection with *M. ulei*, and to a minor degree in clone FX 4098. The involvement of photosynthesis was proportional to the progress of the disease and phenomenon intensified in leaflets inoculated leaf stage of B (18 – 20 days). Disease influenced significantly on the spectral properties. This effect was mainly based on the relative content of chlorophyll, the phenology of the leaflets, the kind of severity and time of inoculation of the pathogen. The analysis of the spectral signatures generated one new vegetation indice for the detection and identification of SALB according to the foliar phenology. The first linear spectral models for predicting the severity classes of SALB were reported.

Key words: *Hevea brasiliensis*, *Microcyclus ulei*, photosynthesis, reflectance

2.3 Introducción

El desarrollo del cultivo de caucho natural [*Hevea brasiliensis* (Willd. Ex Adr. de Juss.) Muell.-Arg.] en la Amazonia Colombiana ha favorecido el establecimiento de 29.917 ha aproximadamente, siendo el departamento del Caquetá quien presenta una de las mayores superficies sembradas con un 14,41% del total cultivado (CCC, 2011). A nivel mundial, el Sudeste Asiático produce el 93% del caucho natural, África el 4% y América Central y del Sur el 3%. Tailandia, Indonesia y Malasia concentran el 66.5% de la producción, siendo éstos los principales países productores (IRSG, 2013).

En Colombia, a diciembre de 2013 se reportó la existencia de 44.100 ha cultivadas de caucho (producción anual de 3.950 toneladas), constituidas principalmente por clones introducidos de origen asiático, africano y americano (STN, 2013).

Dada la importancia del caucho natural y su creciente demanda en el mercado nacional, situación que impone al sector heveícola colombiano el reto no sólo de incrementar las áreas de siembra sino además identificar para las diferentes regiones del país los clones apropiados con mejor desempeño y tolerancia a los principales limitantes del cultivo, especialmente al principal problema fitosanitario, el mal suramericano de las hojas, por sus siglas en inglés SALB (South American Leaf Blight) causada por el hongo ascomiceto *Microcyclus ulei* (P. Henn.) v. Arx (Gasparotto *et al.* 2012).

Esta enfermedad reviste gran importancia porque produce defoliaciones prematuras repetidas, reduce la actividad fotosintética de la planta, disminuye la producción de látex entre un 20% y 75% (Chee y Holliday, 1986) y puede ocasionar la muerte de la planta (Gasparotto *et al.*, 2012). Actualmente, el uso del mejoramiento genético para la generación de materiales con resistencia horizontal al SALB representa la principal estrategia para el manejo de la enfermedad (Gasparotto *et al.*, 2012).

Sin embargo, en Colombia y en zonas de no escape al SALB como la región amazónica, *M. ulei* constituye la principal amenaza para el establecimiento de nuevas plantaciones de *H. brasiliensis* a escala comercial (Castellanos *et al.*, 2009). En el Departamento del Caquetá (Amazonia colombiana) los cultivares de caucho natural: IAN 873, IAN 710 y FX 3864 han reducido el desempeño en etapa improductiva (Sterling y Correa, 2010) y se ha incrementado la susceptibilidad al SALB (Sterling *et al.*, 2009, 2010a, b). Esta situación pone en riesgo el desarrollo de nuevas plantaciones de caucho en la región amazónica colombiana, debido a la poca variabilidad en su base genética y a la pérdida de resistencia al hongo *M. ulei* (Sterling *et al.*, 2010a, b).

Lo anterior ha impulsado a nivel regional la búsqueda de nuevas fuentes de resistencia genética a *M. ulei*, dentro las cuales se ha destacado el clon FX 4098 como un material promisorio para la región amazónica colombiana (Sterling *et al.*, 2010a, 2011, 2012).

Sin embargo, son pocos los estudios que han contribuido con el conocimiento de la respuesta fisiológica de *H. brasiliensis* al SALB en condiciones controladas (Lieberei, 2007). Los estudios fisiológicos realizados en *H. brasiliensis* han sido abordados en plantas sanas y se ha analizado el efecto de diversos factores abióticos principalmente el agua, el clima, la luz y el sistema de cultivo (Conforto *et al.*, 2005; Cavalcante y Conforto, 2006; Rodrigo, 2007; Sena *et al.*, 2007; Conforto, 2008; Righi y Bernardes, 2008).

No obstante, Sobre una base fisiológica uno de los principales efectos de los patógenos foliares biotróficos es en el proceso fotosintético (Berger *et al.*, 2007; Domiciano *et al.*, 2009). Algunas de estas características tales como el intercambio de gases, la clorofila y la fluorescencia de la clorofila a han sido considerados como útiles indicadores no invasivos de la conducta del aparato fotosintético en condiciones de estrés, incluyendo ataque por patógenos (Baker y Rosenqvist, 2004; Berger *et al.*, 2007; Bonfig *et al.*, 2006; Domiciano *et al.*, 2009; Lichtenthaler y Miede' 1997).

Cuando las plantas son atacadas por patógenos, a menudo son alteradas propiedades fisiológicas y fotosintéticas (Guo *et al.*, 2005; Swiech *et al.*, 2001). Los estudios han demostrado que la infección por patógenos conduce a una disminución en las tasas de fotosíntesis (Berger *et al.*, 2007; Chou *et al.*, 2000; Domiciano *et al.*, 2009) y modificaciones del aparato fotosintético (Lichtenthaler y Miede 1997). Estas modificaciones pueden deberse a la regulación negativa o daños en el aparato fotosintético.

Las mediciones de fluorescencia de clorofila a, también han demostrado que la eficiencia fotoquímica del fotosistema II (PSII) se reduce por causa de la infección (Baker y Rosenqvist, 2004; Bassanezi *et al.*, 2003; Bonfig *et al.*, 2006). Al respecto, Pinkard y

Mohammed (2006) mostraron una relación lineal negativa entre la tasa de luz saturante de la fotosíntesis neta (Amax) y los daños a nivel de hoja de *Mycosphaerella* sp.

Por otro lado, las enfermedades no sólo producen cambios en la fisiología de la planta sino que además alteran otras propiedades biofísicas, principalmente relacionadas con cambios en la respuesta espectral de la misma (Zhang *et al.*, 2002; Pietrzykowski *et al.*, 2006; Delalieux *et al.*, 2007; Delalieux *et al.*, 2009; Malhein *et al.*, 2010). Las mediciones de reflectancia espectral se utilizan para la evaluación no destructiva del estado fisiológico de la vegetación (contenido de pigmento, área foliar), y para discriminar especies de cultivos o para detectar el impacto del estrés, tales como enfermedades de las plantas, el estrés por sequía o deficiencias nutricionales (Blackburn, 2007; Richardson *et al.*, 2001).

Varios estudios han demostrado que los patógenos también pueden causar daño en las hojas a nivel de cutícula y estomas, lo que puede conducir a cambios en la transpiración, el equilibrio hídrico de la planta, y, en última instancia, la temperatura de la cubierta vegetal (Aucique *et al.*, 2014).

La reflectancia de la luz solar sobre las hojas en el espectro visible (VIS, 400-700 nm) y de infrarrojo cercano (NIR, 700- 1000 nm) son impulsados por múltiples interacciones; la dispersión de la luz como resultado de la superficie de la hoja y las estructuras celulares internas, y la absorción de energía radiante inducida por la química de la hoja. La función descrita por la relación de la intensidad de la luz reflejada a la luz iluminada para cada longitud de onda forma la firma espectral de la hoja / dosel (Carter y Knapp, 2001; Jones *et al.*, 2003; West *et al.*, 2003).

En consecuencia, los atributos biofísicos y bioquímicos de la vegetación pueden ser derivados por espectros de reflectancia. Los métodos ópticos, tales como sensores de imagen y sin imágenes hiperespectrales han demostrado ser una herramienta útil para detectar cambios en la vitalidad de la planta (Hatfield *et al.*, 2008; West *et al.*, 2003).

Los índices de vegetación espectrales (SVIs) son ampliamente utilizados para seguimiento, análisis y cartografía de la variación temporal y espacial en la vegetación (Gitelson *et al.* 2002). En *H. brasiliensis*, no se ha documentado aún los efectos producidos por el SALB sobre las propiedades de reflectancia espectral de la planta, en cuyo caso dicho conocimiento representa una herramienta valiosa para la valoración no destructiva del estado fisiológico de la misma, el impacto del estrés ocasionado y la discriminación y detección temprana del SALB.

De acuerdo con lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar cuál es el comportamiento de los clones de caucho FX 3864 y FX 4098 en respuesta a la infección por *M. ulei*, en condiciones controladas, para lo cual se analizó (a) la variación temporal del SALB (b) el intercambio gaseoso y fluorescencia de la clorofila *a* (c) y la reflectancia espectral.

2.4 Materiales y métodos

2.4.1 Área de estudio y condiciones de inoculación

El estudio se realizó en el cuarto climatizado del Laboratorio de Fitopatología del Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas Sinchi en Florencia, Caquetá (Colombia), municipio localizado entre las coordenadas 1° 37' 03" de latitud Norte y 75° 37' 03" de longitud Oeste (IGAC, 2010). Al interior del cuarto climatizado se adecuaron 10 cubículos (cabinas para inoculación). Cada cubículo con dimensiones de 1.3 m x 1.2 m x 2.5 m, se construyó en plástico negro con armazón en madera y con dos aperturas (un tragaluz y una puerta) para el control de entrada del aire climatizado. La temperatura del aire se controló a 23 °C mediante el uso de dos aires acondicionados de 12000 Btu cada uno tipo mini split con filtro deshumificador. El control de la humedad relativa (> 90%) se manejó mediante un sistema de riego independiente por goteo. Finalmente dentro de cada cubículo se manejó un fotoperíodo de 12/12 h mediante la adecuación de un temporizador y cuatro lámparas fluorescentes de 40 W (PAR= 11.5 $\mu\text{mol fotones/m}^2.\text{s}^2$) (Mattos *et al.*, 2003; Sterling *et al.*, 2010 a, b).

2.4.2 Fuente de inóculo

Se empleó el aislamiento CVI2 de *M. ulei* perteneciente al banco de aislamientos del Laboratorio de Fitopatología del Instituto Sinchi. Este aislamiento se obtuvo *in vitro* a partir de lesiones conidiales presentes en folíolos infectados en campo (vivero del género *Hevea* del Instituto Sinchi, localizado entre las coordenadas 1° 32' 54" y 1° 32' 50" de latitud Norte y 75°28'47" y 75°28'44" de longitud Oeste en la vereda Itarca, inspección de Santuario en el municipio de La Montañita (Caquetá, Colombia)) y escogido por su virulencia (Sterling *et al.*, 2011). El aislamiento fue conservado en medio de crecimiento (MC) (adaptado de Junqueira *et al.*, 1984) en oscuridad a 24 °C y esporulado en medio M4 (papa dextrosa agar – PDA) (adaptado de Mattos, 1999) con un fotoperíodo de 12/12 h. El inóculo primario, consistió de conidios crecidos *in vitro* los cuales se depositaron con un pincel pelo de marta (No. 2) en el envés de folíolos en estadio B₂ (folíolos B de 10-12 días de edad caracterizados por ser pendulares y tener una coloración antociánica poco intensa) (Halle *et al.*, 1978) de plantas de un clon altamente susceptible (PB 260) (Sterling *et al.*, 2009). Las esporas se recolectaron a partir de folíolos lesionados 8 días después de la inoculación con un pincel pelo de marta estéril y humedecido con Tween 80 al 0.05%. Se preparó en agua destilada estéril una suspensión de inóculo de 2 x 10⁵ conidios/ml (Mattos *et al.*, 2003; Sterling *et al.*, 2010a, b).

2.4.3 Material vegetal

Se utilizaron los clones FX 4098 y FX 3864 (Tabla 2-1) procedentes del Jardín clonal del Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas Sinchi en Florencia, Caquetá (Colombia), los cuales se encuentran ampliamente difundidos a escala comercial en Caquetá y poseen diferente susceptibilidad a *M. ulei*. El clon FX 4098 en condiciones de

la Amazonia colombiana ha sido clasificado como moderadamente resistente (Sterling *et al.* 2012) [tipo de reacción TR (esporulación): 4 y 5 en la escala de Junqueira *et al.* (1986), y 3 y 4 en la escala de Mattos *et al.* (2003)]. En contraste el clon FX 3864, clasificado como altamente susceptible (Sterling *et al.* (2009) [TR: 8 a 10 en la escala de Junqueira *et al.* (1986), y 5 y 6 en la escala de Mattos *et al.* (2003)] (Tabla 2-1). La identidad varietal del clon FX 3864 fue confirmada por Fonseca y Aristizabal (2010) y la del clon FX 4098 por Quintero *et al.* (2012), mediante el uso de la técnica SSR usando cinco pares de cebadores microsátélites del genoma de *H. brasiliensis*: hmac4, hmac5, hmct1, hmct5 (Saha *et al.*, 2005), y M574 (Lespinasse *et al.*, 2000; Lekawipat *et al.*, 2003).

Por cada clon de *H. brasiliensis* se emplearon plántulas de 4 meses de edad (dos pisos foliares) crecidas en bolsa con suelo de 7 Kg dentro de cubetas plásticas de 20 cm x 30 cm y mantenidas en una casa de malla a un temperatura promedio de 29.7 °C, una humedad relativa media de 80.8% y una radiación PAR promedio de 275 μmol fotones/m².s. El material vegetal fue fertilizado periódicamente cada dos meses de acuerdo con sus requerimientos nutricionales (Viegas *et al.*, 1992) con aplicaciones edáficas de NPK [Triple 15® (5 g/plántula)] y elementos menores [Agriminis® (5 g/plántula)]. Para las inoculaciones se seleccionaron plántulas libres de síntomas por deficiencias nutricionales o por ataque de plagas o patógenos (Mattos *et al.*, 2003; Sterling *et al.* 2010a, b).

Tabla 2-1. Descripción de los clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) evaluados por la reacción a *Microcyclus ulei* en condiciones de inoculación controlada.

Clon	Progenitores	Especie de <i>Hevea</i>	Origen	Resistencia	Descripción general
FX 4098	PB 86 x B 110	<i>H. brasiliensis</i> x <i>H. brasiliensis</i>	Brasil	Moderadamente resistente	Clon producido por la compañía Ford en Brasil, con características de alta productividad (Mattos <i>et al.</i> , 2007), crecimiento vigoroso (Sterling y Correa, 2010; Sterling <i>et al.</i> , 2012) con susceptibilidad al secamiento del panel. Moderadamente resistente a <i>M. ulei</i> (Le Guen <i>et al.</i> , 2008, Sterling <i>et al.</i> 2009, 2010; Rivano <i>et al.</i> , 2010).
FX 3864	PB 86 x FB 38	<i>H. brasiliensis</i> x <i>H. brasiliensis</i>	Brasil	Altamente susceptible	Clon secundario desarrollado por la compañía Ford, en el Brasil, resultante del cruzamiento intra específicos de los clones primarios de <i>Hevea brasiliensis</i> . Altamente susceptible a <i>M. ulei</i> (Junqueira <i>et al.</i> , 1988; Mattos <i>et al.</i> , 2003; Sterling <i>et al.</i> , 2009)

2.4.4 Inoculaciones controladas y diseño experimental

Las inoculaciones se realizaron en cuarto climatizado a 23 °C y una humedad relativa superior al 90%. Se utilizó una concentración de inóculo de 2 x 10⁵ conidios/ml la cual se asperjó en el envés de 12 foliolos jóvenes (cuatro hojas trifoliadas) (12 días de edad) en estadio B₂ (Hallé *et al.*, 1978) (Anexo 1) pertenecientes al segundo piso foliar de cada planta con la ayuda de un aerógrafo acondicionado con un compresor eléctrico calibrado a 4.5 Pa de presión (Sterling *et al.*, 2010a, b). Luego de la inoculación, las plantas permanecieron 24 horas en oscuridad y a partir de ahí hasta el día 20 se sometieron a un

fotoperíodo de 12/12 h, radiación fotosintéticamente activa, PAR: 11.5 μmol fotones/ $\text{m}^2\cdot\text{s}$. Este grupo de plantas correspondió al tratamiento I (inoculadas). Como control se emplearon plantas saludables no inoculadas con el patógeno (NI).

El experimento consistió en un diseño completamente aleatorio con dos tratamientos (clon moderadamente resistente inoculado FX 4098 y clon altamente susceptible inoculado – FX 3864) con cinco repeticiones. La unidad experimental correspondió a cada una de las plantas utilizadas. El experimento se realizó por triplicado.

2.4.5 Análisis de la variación temporal a *Microcyclus ulei* en los clones de caucho FX 3864 y FX 4098 en condiciones controladas

La evaluación temporal de *M. ulei* (Fase conidial: *F. macrosporum*) se realizó a los 4, 8, 12, 16 y 20 días después de la inoculación (DDI) con el registro de las siguientes variables:

Severidad de ataque (SA), adaptada de la escala de Gasparotto *et al.* (1989): definida como el porcentaje de área foliar lesionada, valorada de 0 a 4: 0= nulo (0% de área foliar afectada); 1= bajo (0.2 - 5% del área foliar afectada); 2= medio (6 - 15% del área foliar afectada); 3= alto (18 - 30% del área foliar afectada); 4= muy alto (40 - 100% del área foliar afectada) (Anexo 2).

Intensidad de esporulación conidial (IE) de 1 a 6: 1= lesiones necróticas sin esporas; 2= lesiones cloróticas sin esporas; 3= esporulación muy baja y heterogénea sobre la cara inferior de los folíolos; 4= esporulación alta, heterogénea o parcial sobre la cara inferior de los folíolos; 5= esporulación muy alta y uniforme cubriendo la lesión entera sobre la cara inferior de los folíolos; y 6= esporulación muy alta cubriendo la lesión entera sobre ambas caras de los folíolos (Mattos *et al.*, 2003).

Tamaño de lesión (mm) (TL): el diámetro promedio de la lesión fue calculado a partir de la medición del diámetro de las lesiones observadas en cada folíolo con un pie de rey digital (adaptado de García *et al.*, 1999).

Frecuencia de infección (lesiones/8 cm^2) (FI): El número de lesiones observadas sobre un rectángulo de 8 cm^2 (García *et al.*, 1999). En ambos clones se determinaron también los períodos de incubación (número de días entre la inoculación y la aparición de los primeros síntomas cloróticos o necróticos) y de latencia (número de días entre la inoculación y la primera aparición macroscópica de los conidios) (Junqueira *et al.*, 1990).

2.4.6 Evaluación del intercambio gaseoso y fluorescencia de la clorofila *a* en los clones de caucho FX 3864 y FX 4098 en respuesta a la infección por *Microcyclus ulei* en condiciones controladas

- **Variables del SALB consideradas**

Para la evaluación de los parámetros de intercambio gaseoso y fluorescencia de la clorofila *a*, se consideró la evaluación de la severidad de ataque del SALB (Fase conidial: *F. macrosporum*) a los 0, 4, 8, 12, 16 y 20 DDI a partir de la escala adaptada de Gasparotto *et al.* (1989) como se definió en la sección: análisis de la variación temporal a *M. ulei* en condiciones controladas. Adicionalmente se calculó el área bajo la curva de progreso del SALB (AUSPC) a través de la integración trapezoidal de la curva de progreso de la severidad mediante la fórmula propuesta por Campbell y Madden (1990).

- **Intercambio gaseoso**

Se midieron la tasa de asimilación neta de CO₂ (*A*) (μmol CO₂ m⁻².s⁻¹), la tasa de transpiración (*E*) (mmol H₂O m⁻².s⁻¹) y la conductancia estomática (*g_s*) (mol H₂O m⁻².s⁻¹) por medio de un equipo portátil de intercambio de gases IRGA de tipo abierto (TPS 2, PP Systems, USA). Asimismo se calculó la eficiencia en el uso del agua, por su sigla en inglés *WUE* (water use efficiency) mediante la expresión $WUE = A/E$, que permite determinar el balance entre la pérdida de agua y la toma de CO₂ (Bacon, 2004). Las lecturas se tomaron después de la estabilización de los valores de *A* y *g_s*. El equipo se programó en condiciones de laboratorio a temperatura controlada (23 °C), humedad relativa saturante (>90%), concentraciones de CO₂ ambiente (~ 370 -380 ppm) y densidad de flujo fotónico fotosintético saturante, por su sigla en inglés PPF (photosynthetic photon flux density) (1547 μmol fotones m⁻².s⁻¹), el dato de PAR se determinó de acuerdo a curvas de luz. Durante las mediciones, la temperatura foliar osciló entre 23.2 y 27.5 °C. Las evaluaciones se realizaron en dos hojas trifoliadas (en el foliolo central de cada hoja) presentes en el segundo piso foliar de cada planta en cada tratamiento (I y NI) entre las 9:00 y las 11:00 am. Cada hoja fue etiquetada para realizar las medidas repetidas en el tiempo a los 0, 4, 8, 12, 16 y 20 DDI con el fin de cubrir el progreso de la fase infecciosa de la enfermedad. Las evaluaciones de intercambio gaseoso se realizaron por triplicado. Previo al inicio de las evaluaciones de intercambio gaseoso y con el fin de determinar el valor de referencia de *A* a luz saturante (*A_{max}*), en condiciones controladas, se realizaron con el IRGA entre las 9:00 y las 11:00 am curvas de saturación fotosintética por luz en cada clon (cinco plantas), en foliolos C (foliolos de 22 a 30 días de edad, pendientes, flácidos y de color verde claro) y en foliolos D (foliolos con madurez fisiológica de 40 - 50 días de edad y de color verde oscuro) (dos foliolos por estadio) y en las clases de severidad '0' y '2' para el clon FX 4098 y '0' y '4' para el FX 3864. A partir de las curvas de luz se calcularon los puntos de compensación lumínica, los puntos de saturación luminosa (fotosíntesis máxima a saturación por luz) y la eficiencia fotosintética (tasa de producción de CO₂ por energía lumínica captada) (Solarte *et al.*, 2010a) por medio del modelo estadístico de Mitscherlich (Aleric y Kirkman, 2005) (Anexos 3). Dadas las características del equipo, la determinación de la curva de luz se empezó con un PPF de 2023 μmol fotones/m².s y en adelante en forma descendente a 1547, 711, 418, 279, 205, 147, 66, 15 y 0 μmol fotones m⁻².s⁻¹ con temperatura (31.5 °C) y CO₂ constante (380 ppm). Estos dos procedimientos permitieron por tanto, determinar el nivel de saturación lumínica (PPF saturante) en el cual se realizaron los registros periódicos con el equipo IRGA sobre las plantas sanas e inoculadas en condiciones controladas.

- **Fluorescencia de la clorofila *a***

Los parámetros de fluorescencia de la clorofila *a* se estimaron inmediatamente después de las medidas de intercambio gaseoso mediante un fluorómetro portátil de pulso modulado (Hansatech, Hoddesdon, Inglaterra). Las evaluaciones se realizaron en los mismos folíolos que se utilizaron para las mediciones de intercambio gaseoso. Previo al registro de los parámetros de fluorescencia, el punto de medición de cada folíolo se adaptó a la oscuridad durante 30 min. Una vez realizado éste procedimiento, el tejido vegetal se expuso a un haz débil de luz modulada ($0.03 \mu\text{mol m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) para determinar la fluorescencia inicial (F_0). Luego un pulso de luz blanca saturante de $6000 \mu\text{mol m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ fue aplicado por 1 s para asegurar la máxima emisión de fluorescencia (F_m), a partir de la cual se calculó el parámetro $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$ (rendimiento cuántico máximo del fotosistema II, PSII). Se calcularon además bajo condiciones de luz actínica ($1000 \mu\text{mol m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) los siguientes parámetros: eficiencia en la captura de la energía de excitación para los centros de reacción abiertos del PSII (F_v'/F_m'), los coeficientes de los quenching (apagamientos) fotoquímico (qP) y no fotoquímico (NPQ) y la tasa de transporte de electrones, por su sigla en inglés ETR (electron transport rate). La ETR se calculó con la ecuación: $\text{ETR} = \Phi_{\text{PSII}} \times \text{PPFD} \times f \times \alpha$, donde Φ_{PSII} corresponde al rendimiento cuántico del PSII calculado con la fórmula: $(F_m' - F_s)/F_m'$; f es un factor que cuantifica la partición de energía entre PSII y PSI (fotosistema I) y se asume con un valor de 0.5, lo cual indica que la energía de excitación es distribuida equitativamente entre los dos fotosistemas; y α es la absorbancia del tejido fotosintético de una hoja, cuyo valor se asume en 0.84 (Aucique Pérez *et al.*, 2014). Las evaluaciones de fluorescencia de la clorofila *a* se realizaron por triplicado.

2.4.7 Determinación de la respuesta espectral en los clones de caucho FX 3864 y FX 4098 a la infección por *Microcyclus ulei* en condiciones controladas

- **Medición de la reflectancia a nivel foliar**

La reflectancia espectral se midió con un espectrorradiómetro portable, mediante el uso de un cable de fibra óptica de 2m apoyado por un brazo metálico extensible (Espectrorradiómetro Apogee PS-100, StellarNet, Inc, Tampa, USA), inmediatamente después de las medidas fisiológicas en las mismas plantas y hojas en donde se realizaron las mediciones de IRGA y fluorómetro. El rango espectral fue de 300 – 1000 nm. Dado que los datos de reflectancia espectral presentaron ruido en los extremos, se analizaron los valores entre 400 y 900 nm. El intervalo de escaneo espectral fue automáticamente interpolado a 1 nm mediante el software SpectraWiz de StellarNet. El espectrorradiómetro se calentó durante 60 min y se calibró previo a las mediciones espectrales, con el fin de incrementar la calidad y homogeneidad de los datos de reflectancia. El promedio de 30 mediciones en el negro se calibró en relación con el promedio de 30 mediciones realizadas sobre una superficie blanca de referencia (reflectancia estándar) (RS50, StellarNet, Inc Tampa, USA), iluminada con una lámpara de luz halógena de 100 Watt. Dada la fuente de luz disponible en laboratorio, se ajustó de manera constante el tiempo de integración a 19 ms por escaneo. Las lecturas espectrales se realizaron en una hoja trifoliada (en los tres folíolos de cada hoja) presentes en el segundo piso foliar de cada planta en cada tratamiento (I y NI) entre las 9:00 y las 11:00 am. Por cada folíolo se realizaron tres

escaneos (un registro en el ápice y dos registros, uno a cada lado de la mitad inferior de la vena central de la superficie adaxial). Cada escaneo representó el promedio de 30 espectros de reflectancia. El cable de fibra óptica se ubicó a una distancia de 2.5 cm de cada foliolo, con el fin de tener un diámetro de escaneo de 1.35 cm en cada lectura espectral. Por cada combinación factorial (clon x tratamiento) se analizó el espectro de 5 plantas y una hoja por planta (promedio de la reflectancia obtenida de la superficie adaxial de los tres foliolos). Cada hoja fue etiquetada para realizar las medidas repetidas en el tiempo a los 0, 4, 8, 12, 16 y 20 DDI con el fin de cubrir el progreso de la fase infecciosa de la enfermedad. Las evaluaciones espectrales se realizaron por triplicado.

- **Medición del Índice de Concentración de Clorofila (CCI)**

Un medidor portátil de clorofila CCM-200 plus (Opti-Sciences, Inc, USA) permitió medir el Índice de Concentración de Clorofila por sus siglas en inglés CCI (Chlorophyll Concentration Index). El CCI es proporcional a la cantidad de clorofila presente en el tejido vegetal, por lo que este valor es un valor relativo del contenido de clorofila (Richardson *et al.*, 2002; Atkinson *et al.*, 2006; Liberloo *et al.*, 2007). En cada medición, el CCI fue obtenido a partir de la absorbancia óptica a 653 y 931 nm sobre una superficie de tejido vegetal de 71 mm². La calibración se realizó luego de encenderse el equipo y una vez se accedió al panel de medición, manteniendo cerrada y libre la cámara de medición. Una respuesta acústica del equipo 2 – 3 segundos confirmó el proceso de calibración. Las mediciones del CCI (de 0 a 200) se realizaron a nivel de foliolo inmediatamente después de las lecturas espectrales y en los mismos puntos de muestreo donde se realizaron los escaneos espectrales (Richardson *et al.*, 2002; Pietrzykowski *et al.*, 2006). Los valores de CCI se registraron en foliolos inoculados (I) y no inoculados (NI) a los 0, 4, 8, 12, 16 y 20 DDI. Por cada combinación factorial (clon x tratamiento) se analizaron los valores de CCI de cinco plantas y una hoja por planta (promedio de las lecturas obtenidas de la superficie adaxial de los tres foliolos). Las evaluaciones de CCI se realizaron por triplicado.

2.4.8 Análisis estadísticos

- **Variación temporal a *Microcyclus ulei* en condiciones controladas**

Se ajustó un modelo lineal general con los factores: clon (FX 3864 y FX 4098), tiempo (4, 8, 12, 16 y 20 DDI) y su interacción, así:

$$Y_{ijk} = \mu + C_i + T_j + (CT)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

donde:

Y_{ijk}	variable respuesta (SA, IE, TL, FI)
μ	media general
C_i	efecto del clon i, con $i = 1, 2$
T_j	efecto del tiempo j, con $j = 1, 2, 3, 4, 5$
$(CT)_{ij}$	Interacción clon x tiempo
ε_{ijk}	error residual de la planta k perteneciente al clon i en el tiempo j

La varianza residual se modeló para contemplar varianzas diferentes (Heterocedasticidad, H) por clon, mientras que la correlación residual para las observaciones sucesivas realizadas sobre una misma planta se contempló mediante los modelos de simetría compuesta (SC), autorregresiva de orden 1 (AR1) y sin estructura (SE). Los criterios de Akaike (AIC), Bayesiano (BIC) y LogLik se utilizaron para la selección de la estructura de varianzas y correlaciones residuales (Di Rienzo *et al.*, 2011). Los menores valores para estos criterios indicaron el mejor modelo. El ajuste se realizó mediante la función lme de la librería nlme (Pinheiro *et al.*, 2013) de R (R Core Team, 2013), bajo la interfaz implementada en InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2013). El análisis de la interacción clon x tiempo para la comparación de medias se realizó mediante la prueba de comparaciones múltiples LSD de Fisher ($\alpha = 0.05$). Los coeficientes de correlación (Prueba de Pearson) entre las distintas variables se estimaron para cada tiempo con el fin de determinar la variación en el grado de inter-dependencia de los principales componentes de resistencia al SALB a lo largo del proceso infeccioso en laboratorio. Todas las pruebas estadísticas se corrieron en el programa InfoStat versión 2013 (Di Rienzo *et al.*, 2013).

- **Intercambio gaseoso y fluorescencia de la clorofila *a* en respuesta a la infección por *Microcyclus ulei***

Se ajustó un modelo lineal general con los factores: clon (FX 3864 y FX 4098), tratamiento (I y NI), tiempo de muestreo (0, 4, 8, 12, 16 y 20 DDI) y sus interacciones, así:

$$Y_{ijkl} = \mu + C_i + T_j + TM_k + (CxT)_{ij} + (CxTM)_{ik} + (TxTM)_{jk} + (CxTxTM)_{ijk} + \varepsilon_{ijkl}$$

donde:

Y_{ijkl}	variable respuesta (A, E, g_s , WUE, F_v/F_m , F'_v/F'_m , qP, NPQ, ETR)
μ	media general
C_i	efecto del clon i, con $i = 1, 2$
T_j	efecto del tratamiento j, con $j = 1, 2$
TM_k	efecto del tiempo de muestreo k, con $k = 1, 2, 3, 4, 5, 6$
$(CxT)_{ij}$	Interacción clon x tratamiento
$(CxTM)_{ik}$	Interacción clon x tiempo de muestreo
$(TxTM)_{jk}$	Interacción tratamiento x tiempo de muestreo
$(CxTxTM)_{ijk}$	Interacción clon x tratamiento x tiempo de muestreo
ε_{ijkl}	error residual de la planta l perteneciente al clon i, del tratamiento j en el tiempo k

La varianza residual se modeló para contemplar varianzas diferentes (Heterocedasticidad, H) por tiempo de muestreo, mientras que la correlación residual para las observaciones sucesivas realizadas sobre una misma planta se contempló mediante los modelos de simetría compuesta (SC), autorregresiva de orden 1 (AR1) y sin estructura (SE). Los criterios de Akaike (AIC), Bayesiano (BIC) y LogLik se utilizaron para la selección de la estructura de varianzas y correlaciones residuales (Di Rienzo *et al.*, 2011). Los menores valores para estos criterios indicaron el mejor modelo.

El ajuste se realizó mediante la función lme de la librería nlme (Pinheiro *et al.*, 2013) de R (R Core Team, 2013), bajo la interfaz implementada en InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2013). El análisis de los factores fijos y sus interacciones para la comparación de medias se realizó mediante la prueba de comparaciones múltiples LSD de Fisher ($\alpha = 0.05$). Los coeficientes de correlación (Prueba de Pearson) entre las distintas variables se estimaron para los estadios foliares B y C de las plantas inoculadas del clon susceptible (FX 3864), debido a que éste material presentó los mayores niveles de severidad de la enfermedad. Todas las pruebas estadísticas se corrieron en el programa InfoStat versión 2013 (Di Rienzo *et al.*, 2013).

- **Respuesta espectral a la infección por *Microcyclus ulei***

A partir de las lecturas de reflectancia se construyeron las firmas espectrales para cada clase de severidad del SALB, en cada uno de los estadios foliares [B (10 a 18 días de edad) y C (22 a 30 días de edad)] y en ambos clones de caucho. Un análisis de varianza permitió evaluar la significancia de la severidad sobre la reflectancia en el espectro visible (VIS, 400 - 700 nm) y en el infrarrojo cercano (NIR, 700 – 900 nm). En este mismo sentido, con el fin de detectar en qué longitudes de onda se presentaron las mayores diferencias, se calculó la diferencia de reflectancia, restando las medias de reflectancia de folíolos sanos a las medias de folíolos infectados en cada longitud de onda (Mahlein *et al.*, 2010). Adicionalmente, se calculó la sensibilidad de la reflectancia como el cociente entre las medias de reflectancia de folíolos infectados y las medias de folíolos sanos en cada longitud de onda (Delaliux *et al.*, 2009). Un análisis de correlación lineal simple de Pearson, permitió analizar la intensidad de la relación entre la firma espectral y la severidad en el VIS y en el NIR (Pietrzykowski *et al.*, 2006). Se utilizaron índices de vegetación espectral (IVEs) relacionados con diferentes parámetros fisiológicos con el fin de identificar y discriminar entre clones, tratamientos, estadios fenológicos y clases de severidad. Se emplearon IVEs obtenidos de las curvas de sensibilidad de la reflectancia (máximos y mínimos), e IVEs relevantes reportados en la literatura (Tabla 2-2).

Tabla 2-2. Índices de vegetación espectral y algoritmos utilizados para analizar la respuesta espectral de dos clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) al mal suramericano de las hojas (*Microcyclus ulei*) en condiciones de inoculación controlada.

Índice	Ecuación ^a	Relacionado con	Referencia
R674/R550	R674/R550	Clorofila	Autor
R678/R550	R678/R550	Clorofila	(Pietrzykowski <i>et al.</i> (2006)
Índice de vegetación de diferencia normalizada	NDVI = (R800 - R680)/(R800 + R680)	Biomasa/área de la hoja	Lichtenthaler <i>et al.</i> (1996)
Índice de reflectancia fotosintético	PRI = (R570 - R531)/(R570 + R571)	Xantófila	Gamón <i>et al.</i> (1990)
R850/R710	R850/R710	Clorofila	Datt (1999)
Índice independiente de la estructura del pigmento	SIPI = (R800 - R445)/(R800 + R680)	Carotenoides: clorofila a	Peñuelas <i>et al.</i> (1995)
Índice de reflectancia de antocianina	ARI = (1/R550) - (1/R700)	Antocianina	Gitelson <i>et al.</i> (2001)

^aReflectancia en longitudes de onda indicadas

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

Se realizó un análisis de varianza para determinar qué IVEs presentaron diferencias significativas entre las clases de severidad con un nivel de significancia del 5%. Luego una prueba de comparaciones múltiples LSD de Fisher ($\alpha = 0.05$) permitió identificar las diferencias entre las medias de los IVEs para las clases de severidad analizadas. A continuación se calcularon los coeficientes de correlación de Pearson entre las clases de severidad del SALB, el CCI medido con el CCM 200-Plus y los IVEs utilizados.

Con el fin de analizar el efecto del progreso temporal del SALB sobre los siete IVEs, se ajustó un modelo lineal general con los factores: clon (FX 3864 y FX 4098), tratamiento (I y NI), tiempo de muestreo (0, 4, 8, 12, 16 y 20 DDI) y sus interacciones, así:

$$Y_{ijkl} = \mu + C_i + T_j + TM_k + (CxT)_{ij} + (CxTM)_{ik} + (TxTM)_{jk} + (CxTxTM)_{ijk} + \varepsilon_{ijkl}$$

donde:

Y_{ijkl}	variable respuesta (<i>R674/R550, R678/R550, NDVI, PRI, R850/R710, SIPI, ARI</i>)
μ	media general
C_i	efecto del clon i, con $i = 1, 2$
T_j	efecto del tratamiento j, con $j = 1, 2$
TM_k	efecto del tiempo de muestreo k, con $k = 1, 2, 3, 4, 5, 6$
$(CxT)_{ij}$	Interacción clon x tratamiento
$(CxTM)_{ik}$	Interacción clon x tiempo de muestreo
$(TxTM)_{jk}$	Interacción tratamiento x tiempo de muestreo
$(CxTxTM)_{ijk}$	Interacción clon x tratamiento x tiempo de muestreo
ε_{ijkl}	error residual de la planta l perteneciente al clon i, del tratamiento j en el tiempo k

La varianza residual se modeló para contemplar varianzas diferentes (Heterocedasticidad, H) por tratamiento, mientras que la correlación residual para las observaciones sucesivas realizadas sobre una misma planta se contempló mediante los modelos de simetría compuesta (SC), autorregresiva de orden 1 (AR1) y sin estructura (SE). Los criterios de Akaike (AIC), Bayesiano (BIC) y LogLik se utilizaron para la selección de la estructura de varianzas y correlaciones residuales (Di Rienzo *et al.*, 2011). Los menores valores para estos criterios indicaron el mejor modelo. El ajuste se realizó mediante la función lme de la librería nlme (Pinheiro *et al.*, 2013) de R (R Core Team, 2013), bajo la interfaz implementada en InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2013). El análisis de los factores fijos y sus interacciones para la comparación de medias se realizó mediante la prueba de comparaciones múltiples LSD de Fisher ($\alpha = 0.05$).

Finalmente, se realizó una regresión lineal múltiple mediante el método stepwise (regresión por pasos) para identificar el mejor modelo para explicar la relación entre las clases de severidad y el espectro de reflectancia. Para el análisis de regresión se tuvieron en cuenta longitudes de onda sensibles a la severidad del SALB y los IVEs estudiados. Se probaron los supuestos de normalidad, no autocorrelación de Durbin-Watson y la multicolinealidad. El modelo con el menor número de variables significativas dados los

mejores coeficientes de determinación (R^2) y el error cuadrático medio (ECM) se utilizaron como criterios para la selección del mejor modelo predictivo de las clases de severidad del SALB. Se realizó un diagrama de dispersión entre los valores predichos contra los valores observados y se trazó la línea de ajuste de la regresión lineal entre estos valores. Se calcularon también los porcentajes de clases de severidad subestimada, sobrestimada y correctamente clasificada. Todas las pruebas estadísticas se corrieron en el programa InfoStat versión 2013 (Di Rienzo *et al.*, 2013).

2.5 Resultados y discusión

2.4.2 Variación temporal a *Microcyclus ulei* en los clones de caucho FX 3864 y FX 4098 en condiciones controladas

- Selección del modelo estadístico para el análisis de los datos

El análisis de las variables SA, IE, TL y FI se basó en un modelo de análisis de varianza de datos longitudinales (Tablas 2-3, 2-4 y 2-5). El mejor modelo fue el de simetría compuesta con varianzas homogéneas (SC) (Tabla 2-3). En general, para las variables evaluadas, los criterios (AIC y BIC) fueron mínimos para éste modelo, excepto para la variable TL en la cual el modelo SE presentó el menor valor para el criterio AIC (Tabla 2-3). El modelo SC se utilizó para la inferencia estadística principalmente para analizar la significancia de la interacción Clon x Tiempo (Tabla 2-4 y Figuras 2-1A-D).

Tabla 2-3. Criterios para la elección del modelo de análisis de datos longitudinales para la evaluación en el tiempo (días) del SALB (*Microcyclus ulei*) en los clones de caucho FX 3864 y FX 4098 en condiciones de inoculación controlada.

Variable	Severidad de ataque, SA			Intensidad de esporulación conidial, IE			Tamaño de lesión (mm), TL			Frecuencia de infección (lesiones/8cm ²), FI		
	AIC	BIC	LogLik	AIC	BIC	LogLik	AIC	BIC	LogLik	AIC	BIC	LogLik
Modelo	AIC	BIC	LogLik	AIC	BIC	LogLik	AIC	BIC	LogLik	AIC	BIC	LogLik
SC	53.10	73.37	-14.55	40.94	61.21	-8.47	-23.50	-3.23	23.75	135.48	155.75	-55.74
SCH	-	-	-	-	-	-	-24.13	-2.18	25.07	136.71	158.66	-55.35
AR1	65.32	85.59	-20.66	41.07	61.34	-8.54	-18.89	1.38	21.45	175.76	196.03	-75.88
AR1H	-	-	-	-	-	-	-20.73	1.23	23.36	157.93	179.89	-65.97
SE	-	-	-	58.72	94.19	-8.36	-28.56	6.91	35.28	143.28	178.75	-50.64

AIC: Criterio de información de Akaike; BIC: Criterio de información bayesiano; LogLik: Log de Likelihood (Di Rienzo *et al.*, 2011)
 SC: Modelo de simetría compuesta con varianzas uniformes; SCH: Modelo de simetría compuesta con varianzas heterogéneas; AR1: Modelo autorregresivo de orden 1 con varianzas uniformes; AR1H: Modelo autorregresivo de orden 1 con varianzas diferentes; SE: Modelo sin estructura. El mejor modelo es el de simetría compuesta con varianzas uniformes (SC).

El modelo seleccionado en éste estudio para analizar la variación temporal del SALB en condiciones de inoculación controlada difiere del utilizado por Rivano *et al.* (2010) quienes reportaron un modelo autorregresivo de primer orden con varianzas heterogéneas (AR1H) para la evaluación mensual de la susceptibilidad al SALB en condiciones de

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

campo en Ecuador. En ambos estudios, los criterios AIC y BIC fueron los más importantes en la elección del modelo.

Tabla 2-4. Análisis de la varianza basado en el modelo de simetría compuesta con varianzas uniformes (SC).

Efecto	gl	SA	IE	TL	FI
Clon	1	72.25 (<0.0001)	103.14 (<0.0001)	216.62 (<0.0001)	186.12 (<0.0001)
Tiempo	4	53.39 (<0.0001)	89.91 (<0.0001)	87.66 (<0.0001)	42.52 (<0.0001)
Clon x Tiempo	4	2.96 (0.0313)	4.70 (0.0033)	22.47 (<0.0001)	0.78 (0.5432)

SA, severidad de ataque; IE, intensidad de esporulación conidial, TL, tamaño de lesión (mm), FI, frecuencia de infección (lesiones/8 cm²)

• **Reacción del FX 3864 y FX 4098 a *Microcyclus ulei***

M. ulei generó síntomas cloróticos (SA, TL, FI) del SALB en ambos clones de caucho (FX 3864 y FX 4098) (Tabla 2-5), los cuales se observaron a los 4 días después de la inoculación (período de incubación) (Figuras 2-1A-C). Los signos de la enfermedad (IE= 3) se manifestaron a los 8 días en el clon FX 3864 y a los 12 días en el clon FX 4098 (período de latencia) (Figura 2-1D). El clon FX 3864 presentó la mayor susceptibilidad a *M. ulei* con las mayores notas de severidad de la enfermedad (Tabla 2-5) y una esporulación alta, heterogénea sobre la cara inferior de los folíolos (IE= 4) registrada a partir del día 16 después de la inoculación (Figura 2-1D). Luego del día 12 después de la inoculación, en general se observaron a través del tiempo mínimas diferencias en los valores medios de las cuatro variables analizadas (Tabla 2-5 y Figuras 2-1A-D).

Tabla 2-5. Medias para cuatro componentes fisiológicos asociados a la reacción a *Microcyclus ulei* de dos clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) evaluados a través del tiempo en condiciones de inoculación controlada.

Factor	Nivel	Variables de reacción a <i>M. ulei</i>			
		SA	TL	FI	IE
Clon	FX 3864	3.16 ± 0.11 ^{a,b}	1.83 ± 0.03a	16.84 ± 0.54a	3.20 ± 0.05a
	FX 4098	1.80 ± 0.11b	1.13 ± 0.03b	6.40 ± 0.54b	2.44 ± 0.05b
Tiempo (días después de la inoculación)	4	1.50 ± 0.10b	1.02 ± 0.04d	9.70 ± 0.42d	1.80 ± 0.08d
	8	2.60 ± 0.10a	1.38 ± 0.04c	11.30 ± 0.42c	2.50 ± 0.08c
	12	2.70 ± 0.10a	1.62 ± 0.04b	11.90 ± 0.42b	2.80 ± 0.08b
	16	2.80 ± 0.10a	1.63 ± 0.04b	12.40 ± 0.42ab	3.50 ± 0.08a
	20	2.80 ± 0.10a	1.75 ± 0.04a	12.80 ± 0.42a	3.50 ± 0.08a

^aError estándar

^bValores en cada columna seguidos por la misma letra no difieren estadísticamente (Prueba LSD, p < 0.05)

SA, severidad de ataque; IE, intensidad de esporulación conidial, TL, tamaño de lesión (mm), FI, frecuencia de infección (lesiones/8 cm²)

El período de incubación observado en este estudio para los clones FX 3864 y FX 4098 fue de 4 días, muy similar a los reportes de Chee (1976) (5 días), Junqueira *et al.* (1990) (2.6 a 5 días) y García *et al.* (1999) (4.5 días). Según Hashim *et al.* (1978) los folíolos con mayor edad (12 - 20 días) son menos receptivos a la infección por *M. ulei*, por lo que en materiales susceptibles como moderadamente resistentes, los síntomas se presentan en un mayor tiempo (10 – 25 días después de la inoculación). Lo anterior, podría explicar por qué clones que han demostrado resistencia parcial a *M. ulei* como el FX 4098 (Junqueira *et al.*, 1990, Mattos *et al.*, 2003, Sterling *et al.* 2010a, b) presentó en este estudio lesiones cloróticas antes de los 5 días, igual a lo observado en el clon más susceptible, el FX 3864.

En relación con el período de latencia, Junqueira *et al.* (1988) observaron signos de *M. ulei* en el clon FX 3864 con un rango de 6.5 a 11 días después de la inoculación, mientras que en el clon FX 4098 fue de 8 a 10 días. Hashim *et al.* (1978) observaron signos del patógeno a los 9 días. García *et al.* (1999), registraron un período de latencia de 7 días en el clon FX 4098. En el presente estudio el período de latencia para FX 4098 (12 días) fue superior a lo reportado por dichos autores, lo que indica una menor virulencia del aislamiento CVI2 en el clon FX 4098. Sin embargo, según Mattos *et al.* (2003), la reacción (resistente o susceptible) a *M. ulei* del clon FX 4098 puede variar según la virulencia del aislamiento probado.

Por otro lado, el período de latencia para el clon FX 3864 (8 días) estuvo dentro del rango observado por Hashim *et al.* (1978) lo que confirma la susceptibilidad de éste clon a *M. ulei*. García *et al.* (1999), afirman que la esporulación en folíolos jóvenes, susceptibles en general, se manifiesta entre los 5 y los 8 días posteriores a la inoculación, similar a lo observado en este estudio para el clon FX 3864 (8 días) (Figura 2-1D).

Según las tablas 2-4 y 2-5, se encontraron diferencias significativas entre los dos clones de caucho y entre los días después de la inoculación para las cuatro variables del SALB. La prueba de hipótesis con el modelo SC resultó significativa para la interacción Clon x Tiempo en las variables SA, IE y TL (Tabla 2-4). La significancia observada en este estudio por efecto del genotipo también ha sido reportada en condiciones de inoculación controlada por autores como Junqueira *et al.* (1990), García *et al.* (1999), Mattos *et al.* (2003), Le Guen *et al.* (2008) y Sterling *et al.* (2010b, 2011). En relación con el efecto del tiempo, la mayoría de estos estudios han analizado la reacción a *M. ulei* en lecturas iniciales (períodos de incubación y latencia) y finales de la enfermedad (severidad, esporulación conidial, diámetro de lesión, frecuencia de infección, entre otros) entre los 12 y 17 días después de la inoculación.

- **Análisis de la interacción Clon x Tiempo**

El análisis de la interacción Clon x Tiempo para las cuatro variables estudiadas se presenta en las figuras 2-1A-D. En este sentido, se encontró que el valor medio de SA (severidad de ataque) fue de 2.48 el cual osciló entre 1.00 (ataque bajo) para el clon FX 4098 en el día 4 después de la inoculación y 3.60 (ataque alto a muy alto) en el clon FX 3864 a partir del día 16 después de la inoculación (Figura 2-1A).

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección
Armando Sterling Cuéllar

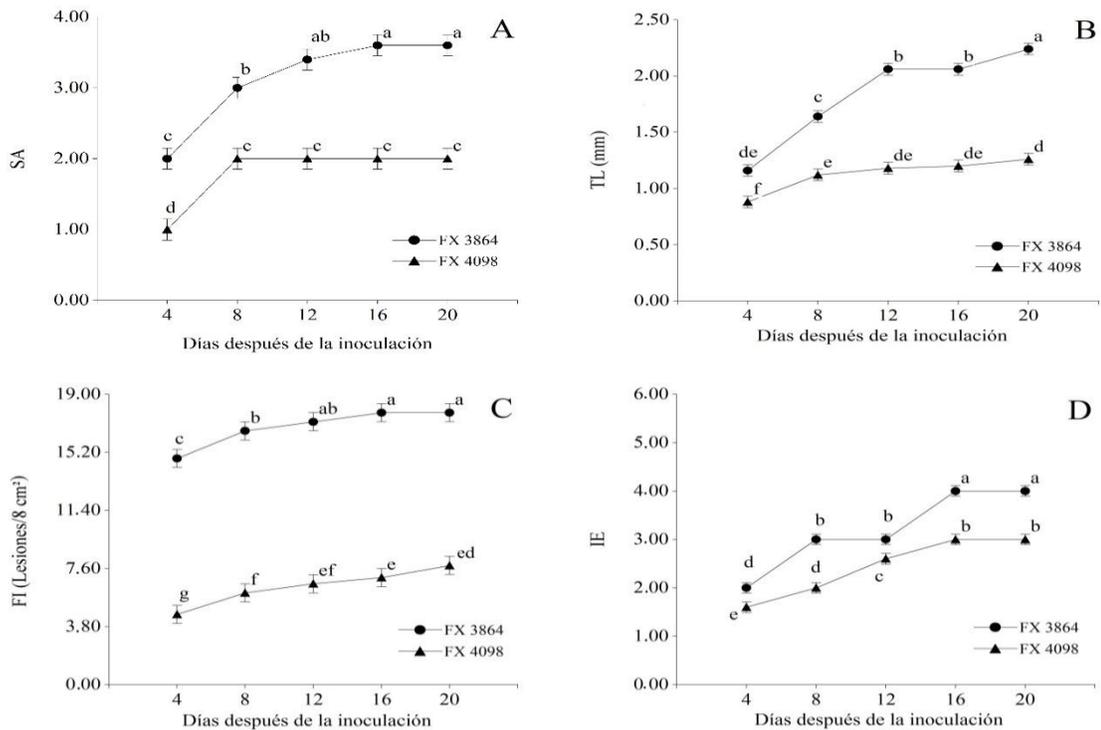


Figura 2-1. Progreso del SALB (*Microcyclus ulei*) en dos clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) en condiciones de inoculación controlada en Caquetá (Colombia). **A.** Severidad de ataque (SA) de 0 a 4 (0: nulo; 1: leve; 2: medio; 3: alto y 4: muy alto), modificada de la escala de Gasparotto *et al.* (1989). **B.** Tamaño de lesión (mm) (TL) (García *et al.*, 1999). **C.** Frecuencia de infección (Lesiones/8 cm²) (FI) (García *et al.*, 1999). **D.** Intensidad de esporulación conidial (IE) de 1 a 6 (1 y 2: lesiones sin esporas; 3 y 4: lesiones con esporulación débil; 5 y 6: lesiones con esporulación fuerte y muy fuerte, respectivamente), según la escala de Mattos *et al.* (2003). Cada punto representa la media de cinco réplicas. Las barras representan el error estándar. Medias seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente (Prueba LSD; $p < 0.05$).

A lo largo del tiempo, el valor medio de SA en el clon FX 3864 fue significativamente superior a lo observado en el clon FX 4098 ($p < 0.05$). La SA en el clon más susceptible (FX 3864) se estabilizó a partir del día 12 después de la inoculación, mientras que en el clon FX 4098 ocurrió a partir del día 8 en donde se observó una severidad media máxima constante (SA= 2.00) (Figura 2-1A). Los mayores tamaños de lesión (TL) se presentaron en el clon FX 3864, los cuales oscilaron entre 1.16 mm y 2.24 mm a los 4 y 20 días después de la inoculación, respectivamente (Figura 2-1B). Entre el día 16 y 20 se observó un incremento significativo ($p < 0.05$) de TL en el clon FX 3864 contrario a lo registrado en el clon FX 4098. El mayor tamaño de lesión (1.26 mm) en el clon FX 4098 se observó en el día 20 después de la inoculación.

En relación con la frecuencia de infección (FI), en ambos clones se observó un incremento significativo en el número de lesiones hasta el día 12 (6.6 lesiones/ 8 cm² en FX 4098 y 17.2 lesiones/ 8 cm² en FX 3864), en adelante FI no presentó variación significativa en el tiempo (Figura 2-1C), dado el desarrollo fenológico de los folíolos en estadio C impiden que el inóculo presente reinfecte (Lieberei, 2007). Aunque la interacción Clon x Tiempo no resultó significativa para FI (Tabla 2-4), la prueba LSD de Fisher mostró diferencias debido al efecto significativo exhibido por los efectos principales (Clon y Tiempo) (ambos, $p < 0.01$) (Tablas 2-3 y 2-4). Lo anterior significa que aunque la FI medio observado en cada clon no fue influenciado por el tiempo transcurrido entre la inoculación y el avance de la enfermedad (se observó el mismo patrón de incremento), si se evidenció a lo largo del tiempo una mayor susceptibilidad en el clon FX 3864 en relación con el clon FX 4098 (Figura 2-1C).

En relación con los signos del SALB, se observó una esporulación conidial débil ($IE > 2$) en el clon FX 4098 en el día 12 y en el clon FX 3864 en el día 8 posteriores a la inoculación. La máxima $IE (\geq 4)$ (esporulación alta) en el clon FX 3864 se presentó a partir del día 16 y hasta el día 20 después de la inoculación (Figura 2-1D). La mayor producción de esporas ($IE = 3$) en el clon FX 4098 se registró en los días 16 y 20 posteriores a la inoculación.

En general, se observó para este estudio que un aumento en TL conllevó a una mayor severidad (SA) y esporulación (IE) de la enfermedad, aunque la frecuencia de infección (FI) no fue importante en algunos días posteriores a la inoculación. Esta aseveración es similar a lo afirmado por Hashim y Pereira (1989) quienes reportaron mayores severidades del SALB en clones que habían desarrollado lesiones de mayores tamaños y menos abundantes por unidad de superficie foliar.

Los resultados de ésta investigación para SA y FI en ambos clones coincide con García *et al.* (1999); se observan mayores notas de éstas variables (mayor susceptibilidad) en el clon FX 3864 y por tanto una mayor resistencia en el clon FX 4098. Sin embargo, las notas medias máximas observadas por García *et al.* (1999) para ambos clones fueron inferiores ($SA = 0.8$ y $FI = 5$ para FX 4098 y $SA = 1.3$ y $FI = 15$ para FX 3864) a lo observado en este estudio. La mayor susceptibilidad observada en el clon FX 3864 también ha sido reportada en condiciones de campo por diferentes autores (Mattos *et al.*, 2005; Sterling *et al.*, 2009, 2010c; Rivano *et al.*, 2010; Cardoso *et al.*, 2014).

En este estudio, las variables IE y TL se observaron con medias significativamente diferentes en ambos clones (Tabla 2-4). Sin embargo, García *et al.* (1999) no evidenciaron diferencias para IE y TL entre los clones FX 3864 y FX 4098. Al respecto, Junqueira *et al.* (1988, 1990) afirman que la reacción a *M. ulei* del clon FX 4098 difiere de lo observado en el clon FX 3864, ya que el menor tamaño de lesiones (0.5 a 2.2 mm) y la menor esporulación se observaron en el clon FX 4098. Hashim y Pereira (1989), Mattos *et al.* (2003), Le Guen *et al.* (2008) y Sterling *et al.* (2010a, b) reportaron que el clon FX 4098 posee una menor esporulación conidial producida por *M. ulei* en condiciones de inoculación controlada, lo cual es similar a lo encontrado en el presente estudio (Figura 2-1D). García *et al.* (1999) reportaron que el clon FX 4098 y FX 3864 presentan para el aislamiento FTP25 de *M. ulei* los componentes más desfavorables para el desarrollo del

hongo. Lo anterior coincide para el clon FX 4098 pero difiere para el clon FX 3864 dado que éste material fue el más susceptible en la presente investigación.

En general, en el presente estudio la mayor resistencia al SALB en el clon FX 4098 también ha sido registrada en campo por García *et al.* (2004), Sterling *et al.* (2009, 2010c, 2012, 2013). No obstante, Rivano *et al.* (2010) en condiciones de campo, observaron en el clon FX 4098 una alta severidad de ataque en hojas jóvenes y maduras y una alta esporulación (mayor a 4) durante el período de mayor precipitación.

- **Variación de las correlaciones entre variables**

Se observaron bajas correlaciones, no significativas ($r \leq 0.45$; $gl=9$; $p > 0.05$), en el día 12 después de la inoculación entre IE y las tres variables restantes (Figura 2-2). Cabe mencionar además que las bajas correlaciones que se analizaron entre IE y las variables SA y FI en el día 12 también se evidenciaron en el día 4 después de la inoculación. La correlación más baja ($r = 0.44$) se presentó entre IE y FI en el día 4 después de la inoculación. Altas correlaciones significativas ($r \geq 0.84$; $gl=9$; $p < 0.01$) se encontraron entre SA y las variables TL y FI en todos los puntos del tiempo de progreso de la enfermedad. Lo mismo ocurrió entre TL y FI ($r \geq 0.81$). En general, los coeficientes de correlación se hicieron mayores con el tiempo, es decir, que a lo largo de todo el proceso infeccioso, aumentó la inter-dependencia entre las variables que explican la intensidad de los síntomas y signos del SALB.

El comportamiento atípico evidenciado entre IE y SA especialmente en el día 12 después de la inoculación (Figura 2-2) se puede atribuir al hecho que entre los días 8 y 12, la severidad y la esporulación fueron constantes en los clones FX 4098 y FX 3864, respectivamente (Figura 2-1A), contrario a lo observado en los demás intervalos de tiempo en los que ambas variables incrementaron significativamente. Por otro lado, la relación atípica entre la esporulación y las variables TL y FI en el día 12 después de la inoculación, podría explicarse en los valores constantes de IE en el clon FX 3864 entre los días 8 y 12, diferente a lo observado en las variables TL y FI, las cuales se incrementaron significativamente a través del tiempo (Figuras 2-1 B - D).

Las bajas correlaciones observadas en éste estudio en el día 12 entre IE y las variables SA y TL, difieren de Sterling *et al.* (2010b) quienes encontraron para el mismo período de evaluación una importante correlación entre la esporulación y la severidad del SALB ($r = 0.76$). Sterling *et al.* (2011) en condiciones de campo también reportaron una alta correlación entre el ataque y la esporulación ($r = 0.87$) de *M. ulei* en genotipos élite regionales de caucho en la Amazonia colombiana. Con excepción de las correlaciones observadas entre IE y SA en los días 4 y 12 (Figura 2-2), en los demás días del progreso del SALB, la severidad de ataque y la esporulación conidial de *M. ulei* se correlacionaron positivamente ($r \geq 0.90$), similar a los reportes de los autores antes mencionados.

Hashim y Almeida (1987), Hashim y Pereira (1989) y García *et al.* (1999) reportaron la mayor correlación entre el diámetro de lesión y la intensidad de esporulación, resultados que difieren de lo reportado en éste estudio para IE y TL en el día 12 después de la inoculación ($r = 0.47$). Sin embargo, los reportes de estos autores coinciden con el presente

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

estudio en los demás días del progreso del SALB, con coeficientes de correlación altos ($r \geq 0.81$).

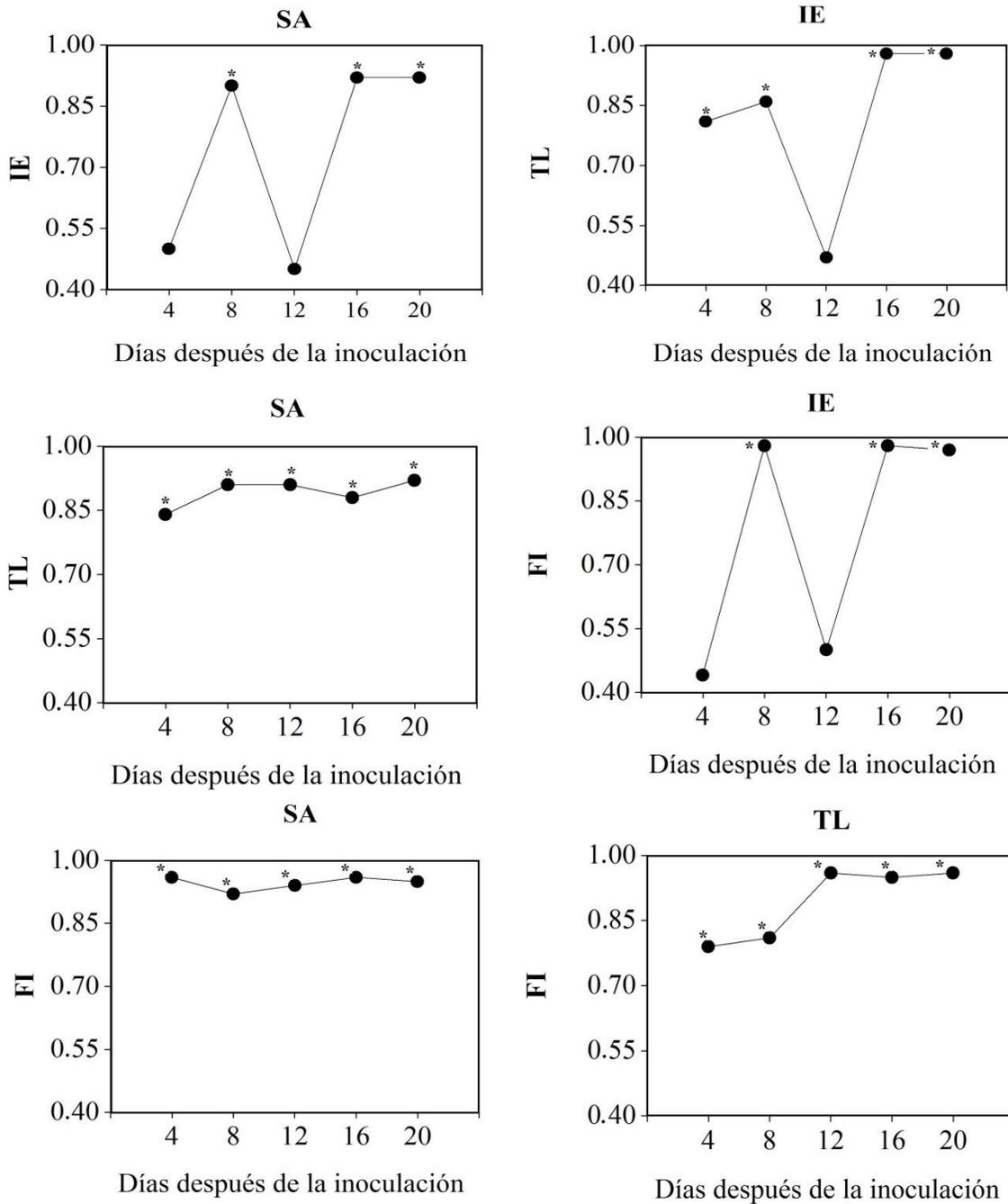


Figura 2-2. Correlaciones entre las cuatro variables de reacción a *Microcyclus ulei* evaluadas en los clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) FX 3864 y FX 4098 a través del tiempo (días después de la inoculación). Severidad de ataque (SA). Intensidad de esporulación conidial (IE). Tamaño de lesión (mm) (TL). Frecuencia de infección (Lesiones/8 cm²) (FI). Los asteriscos indican correlaciones significativas en un punto del tiempo dado (Prueba Pearson; $p < 0.05$).

En la presente investigación las altas correlaciones observadas a lo largo del tiempo entre TL y FI difieren de García *et al.* (1999) quienes no encontraron correlación entre el tamaño de lesión y la frecuencia de infección. Sin embargo, las correlaciones entre la severidad del SALB y la producción de esporas, y también entre producción de esporas y el tamaño de lesión, fueron similares a las observadas en éste estudio. Adicionalmente en ésta investigación entre los días 12 y 20 después de la inoculación se evidenciaron correlaciones altas y uniformes entre TL y FI. Lo anterior indicaría que el desarrollo de la enfermedad a partir del día 12 avanzó con tamaños y frecuencias de lesiones con un patrón de crecimiento uniforme hasta el final del seguimiento.

2.4.3 Intercambio gaseoso y fluorescencia de la clorofila *a* de los clones de caucho FX 3864 y FX 4098 en respuesta a la infección por *Microcyclus ulei* en condiciones controladas

- Severidad del SALB y AUSPC

Se encontraron diferencias significativas en la severidad y en el área bajo la curva del progreso del SALB (AUSPC) (ambas, $p < 0.05$) en los dos clones de caucho (Tabla 2-6).

Tabla 2-6. Análisis de varianza de los efectos clon (C), tratamiento (T), tiempo de muestreo (TM), y sus interacciones, para severidad, área bajo la curva de progreso del SALB (AUSPC), tasa de asimilación neta de CO₂ (A), conductancia estomática a vapor de agua (g_s), tasa de transpiración (E), eficiencia en el uso del agua (WUE), rendimiento cuántico máximo del fotosistema II (PSII) (F_v/F_m), eficiencia en la captura de la energía de excitación por los centros de reacción abiertos del PSII (F_v'/F_m'), coeficientes de los quenching fotoquímico (qP) y no fotoquímico (NPQ) y tasa de transporte de electrones (ETR).

Variables ^a	p - valores basados en el estadístico de Fisher (F)						
	C	T	TM	C x T	C x TM	T x TM	C x T x TM
Severidad	<0.001	-	<0.001	-	0.031	-	-
AUSPC	<0.001	-	<0.001	-	<0.001	-	-
A	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
g_s	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
E	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
WUE	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
F_v/F_m	0.021	<0.001	0.001	0.008	0.419	<0.001	0.005
F_v'/F_m'	0.535	0.004	<0.001	0.601	0.003	0.004	0.024
qP	0.003	0.191	<0.001	0.874	<0.001	0.031	0.007
NPQ	0.730	0.466	0.053	0.616	0.179	0.135	0.317
ETR	0.001	0.115	<0.001	0.946	<0.001	0.014	0.470

^aPara las variables de la enfermedad, el mejor modelo fue el de simetría compuesta con varianzas homogéneas (SC); para las variables fisiológicas el modelo seleccionado fue el de simetría compuesta con varianzas heterogéneas, SCH

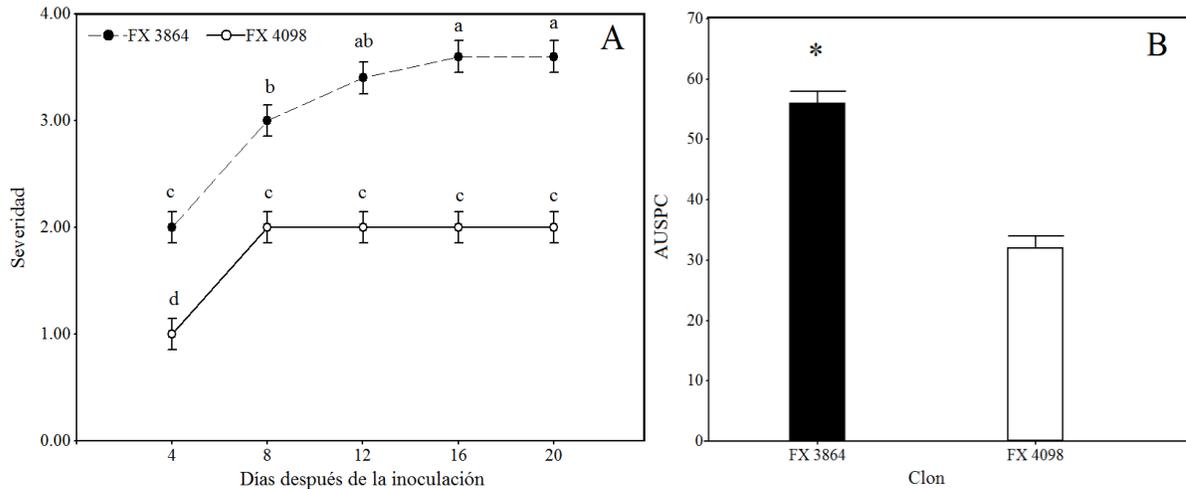


Figura 2-3. A, Curva de progreso de la severidad del SALB (fase conidial: *Fusicladium macrosporum*) y **B**, área bajo la curva de progreso del SALB (AUSPC) para dos clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) en condiciones de inoculación controlada. Fenología foliar (0 – 8 días, estadio B y > 12 días, estadio C). Medias para FX 3864 (Altamente susceptible) y FX 4098 (moderadamente resistente) seguidas por letras distintas para cada evaluación en el tiempo o por un asterisco, fueron significativamente diferentes (Prueba LSD, $p < 0.05$). Las barras representan el error estándar de la media; $n = 5$

La severidad del SALB en el clon FX 3864 fue significativamente superior a través del tiempo respecto a lo observado en el clon FX 4098, donde la diferencia fue mayor a partir de los 12 DDI (Figura 2-3A). El AUSPC en el clon FX 3864 fue 42.8 % superior al calculado en el clon FX 4098 ($p < 0.05$) (Figura 2-3B).

• **Parámetros fotosintéticos**

Se encontraron diferencias significativas en A , g_s , E y WUE entre los dos clones de caucho, entre los tratamientos (I y NI) y a través del tiempo (DDI). Asimismo resultaron significativas todas las interacciones entre estos factores (Tabla 2-6). Para el clon FX 4098 (moderadamente resistente) se encontraron diferencias significativas entre plantas inoculadas (I) y plantas no inoculadas (NI) a los 8 DDI (Figura 2-4A) y a los 8, 16 y 20 DDI para el clon FX 3864 (susceptible) (Figura 2-4B).

En el clon FX 4098 la mayor afectación de A ocurrió en el estadio foliar B, a los 8 DDI en las plantas inoculadas con una reducción del 45.2% en comparación con las plantas no inoculadas, diferente a lo observado en el estadio foliar C (> 12 días) donde no hubo una reducción significativa de A . Para el clon FX 3864, la disminución de A fue del 88.3% a los 8 DDI (estadio B) y del 70.6% a los 20 DDI (estadio C) en plantas inoculadas frente a las no inoculadas. Similar a lo registrado en A , las mayores reducciones en WUE se presentaron en ambos clones a los 8 DDI (71.1% en FX 4098, y 93.5% en FX 3864) (Figura 2-4 G y H). En las plantas inoculadas del clon FX 3864, el más afectado por el SALB (< A), los parámetros g_s y E fueron significativamente inferiores en un 74.6% a los

16 DDI y 58.8% a los 20 días, respectivamente, en comparación con las plantas no inoculadas (Figura 2-4D y F).

Se encontraron diferencias significativas entre los clones FX 4098 y FX 3864 desde los 4 hasta los 20 DDI para A y para g_s (excepto a los 8 DDI) (Figura 2-4A, B, C y D), y a los 12 y 16 DDI para E (Figura 2-4E y F). Entre los días 12 y 16 DDI no se observaron diferencias significativas en el valor medio de WUE entre los dos clones de caucho (Figura 2-4G y H).

Se encontraron diferencias significativas en F_v/F_m , F_v'/F_m' , qP y ETR en al menos uno de los factores (clon, tratamiento y DDI) al igual que en algunas de las interacciones entre estos factores (Tabla 2-6). No hubo un efecto significativo de estos factores ni de sus interacciones en el valor medio de NPQ.

En el clon moderadamente resistente (FX 4098) se observó un efecto significativo del tratamiento (I y NI) sobre los parámetros F_v/F_m , F_v'/F_m' y qP a los 20 DDI, y a los 16 DDI para qP (en todos los casos, en el estadio foliar C) (Figura 2-5A, C y E). En este sentido, los valores medios de F_v/F_m , F_v'/F_m' , y qP decrecieron significativamente en 5.8, 5.2 y 20.8% en plantas inoculadas respecto a las plantas no inoculadas al final del seguimiento (20 DDI). Asimismo, hubo una reducción del 30.7% en la media de qP de plantas inoculadas frente a las no inoculadas a los 16 DDI. No se presentaron diferencias significativas entre inoculadas y no inoculadas para los parámetros NPQ y ETR (Figura 2-5G y I).

En el clon susceptible (FX 3864), los valores medios de F_v/F_m decrecieron significativamente en 9.5, 9.6 y 11.9% en plantas inoculadas en comparación con las no inoculadas a los 8, 16 y 20 DDI, respectivamente (Figura 2-5B). Asimismo, F_v'/F_m' descendió significativamente en 12.2 y 6.7% en plantas inoculadas respecto a las no inoculadas a los 8 y 20 DDI, respectivamente (Figura 2-5D). No se observó un efecto significativo del tratamiento (I y NI) sobre los parámetros qP , NPQ y ETR (Figura 2-5F, H y J).

No se encontraron diferencias significativas para F_v/F_m entre los clones FX 4098 y FX 3864 (Figura 2-5A y B). Hubo diferencias significativas para la media de F_v'/F_m' entre ambos clones a los 12 DDI, con valores superiores en el FX 4098 (Figura 2-5C y D). Para qP y ETR estas diferencias entre clones ocurrieron a los 0, 4 y 20 DDI (Figura 2-5, E, F, I y J). Asimismo, se presentaron diferencias significativas para qP a los 16 DDI.

- **Correlación de Pearson**

El análisis de correlación de Pearson realizado en las plantas inoculadas del clon susceptible (FX 3864), mostró una correlación positiva de A con g_s , E y WUE en ambos estadios foliares (Tabla 2-7). Asimismo se observó en ambos estados fenológicos una correlación negativa de la severidad del SALB con todos los parámetros de intercambio gaseoso, en donde la correlación de la severidad con WUE en el estadio foliar C fue la única no significativa.

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección
 Armando Sterling Cuéllar

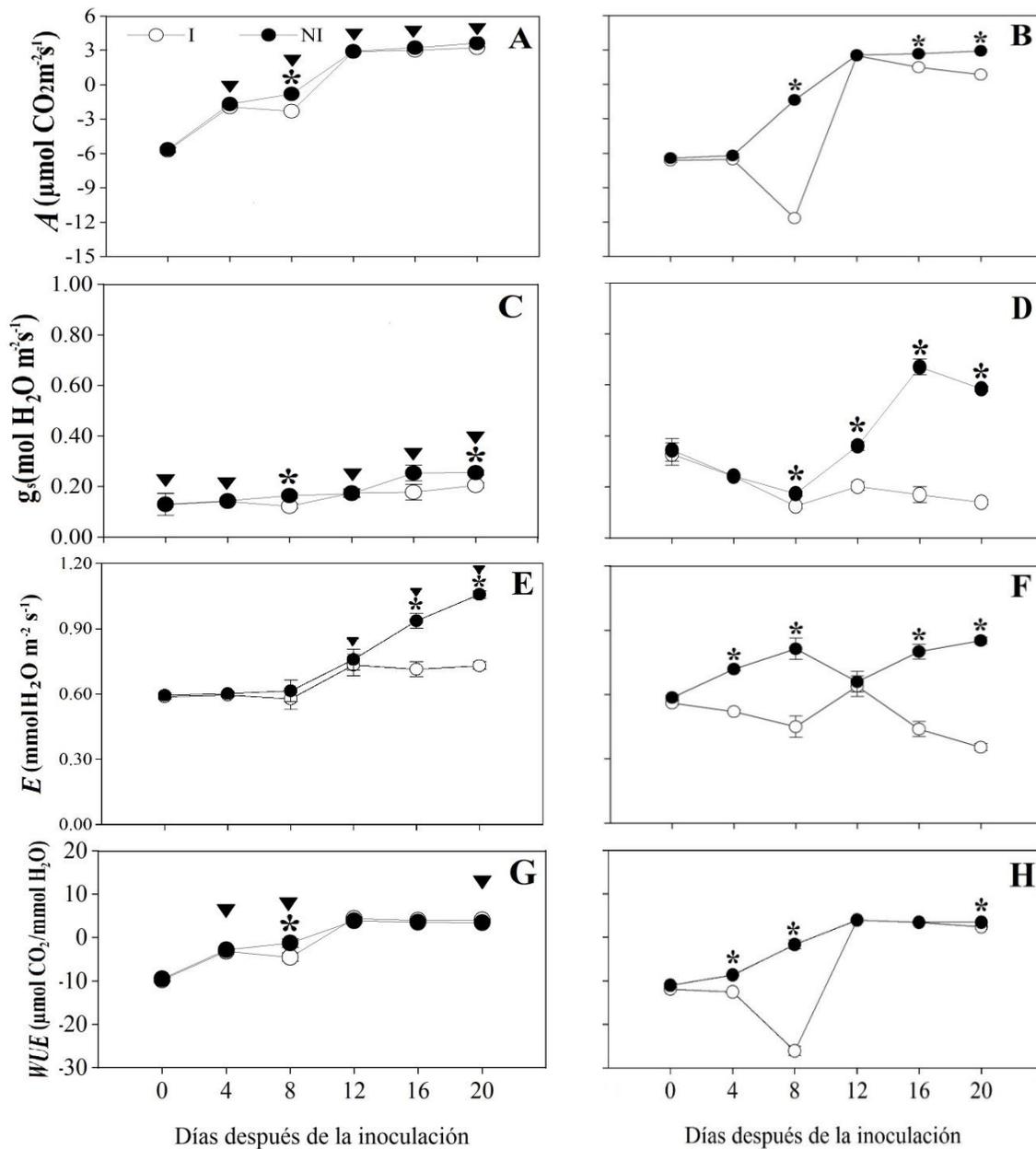


Figura 2-4. A y B, Tasa de asimilación neta de CO₂ (A); C y D, conductancia estomática a vapor de agua (g_s); E y F, tasa de transpiración (E); y G y H, eficiencia en el uso del agua (WUE) para folíolos de plantas de caucho (*Hevea brasiliensis*) de los clones FX 4098 (moderadamente resistente) (A, C, E y G) y FX 3864 (altamente susceptible) (B, D, F y H), inoculados (I) y no inoculados (NI) con *Microcyclus ulei* (fase conidial: *Fusicladium macrosporium*) en condiciones controladas. Fenología foliar (0 – 8 días, estadio B y > 12 días, estadio C). Medias para los clones FX 4098 y FX 3864 seguidos por un triángulo invertido y para los tratamientos I y NI seguidos por un asterisco (*) para cada evaluación en el tiempo fueron significativamente diferentes (Prueba LSD, $p < 0.05$). Las barras representan el error estándar de la media; $n = 5$

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

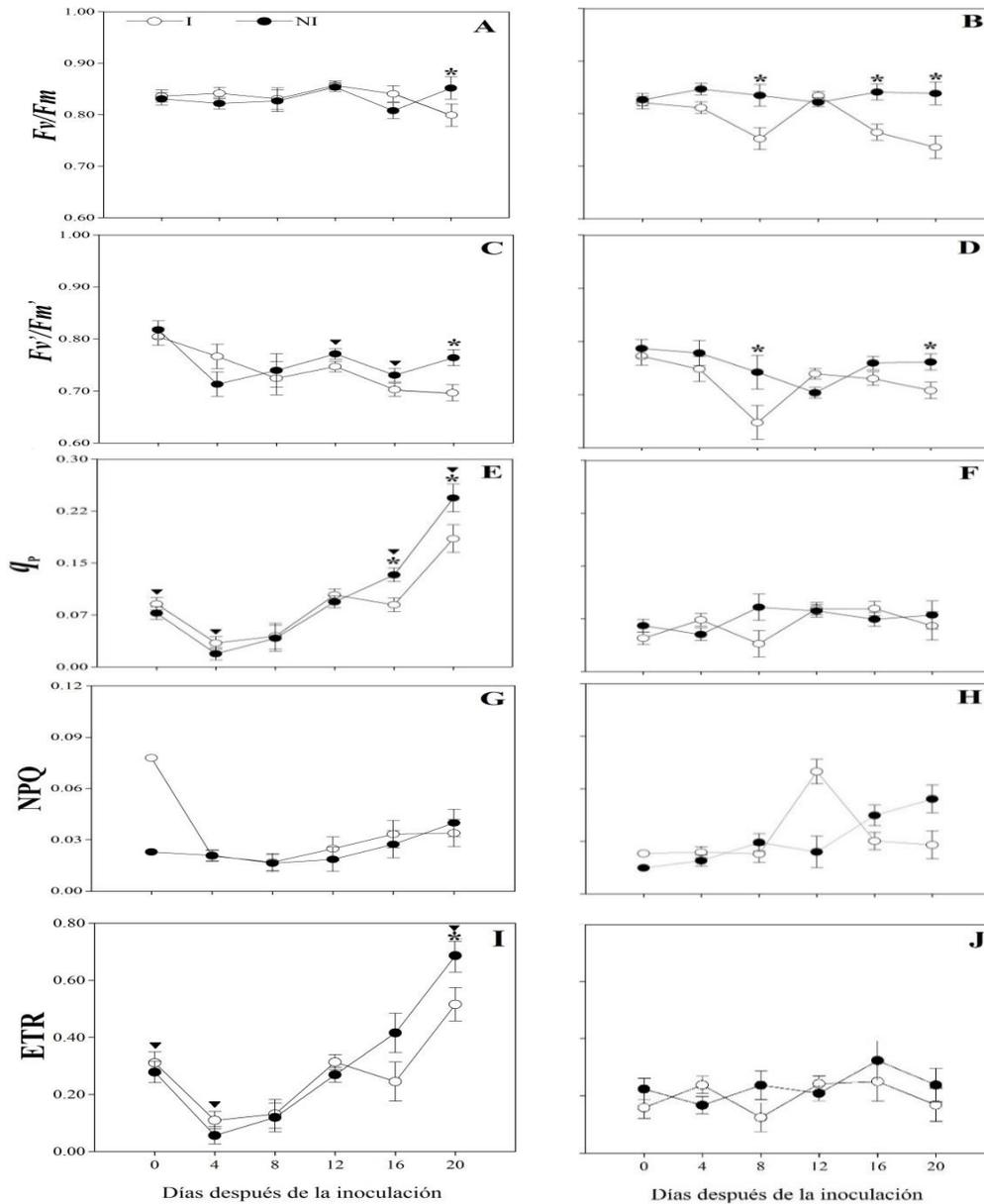


Figura 2-5. A y B, Rendimiento cuántico máximo del fotosistema II (PSII) (F_v/F_m); C y D, eficiencia en la captura de la energía de excitación por los centros de reacción abiertos del PSII (F_v/F_m'); E y F, quenching fotoquímico (q_p); G y H, quenching no fotoquímico (NPQ); I y J, tasa de transporte de electrones (ETR) para folíolos de plantas de caucho (*Hevea brasiliensis*) de los clones FX 4098 (moderadamente resistente) (A, C, E, G y I) y FX 3864 (altamente susceptible) (B, D, F, H y J), inoculados (I) y no inoculados (NI) con *Microcyclus ulei* (Fase conidial: *Fusicladium macrosporum*) en condiciones controladas. Fenología foliar (0 – 8 días, estadio B y > 12 días, estadio C). Medias para los clones FX 4098 y FX 3864 seguidos por un triángulo invertido y para los tratamientos I y NI seguidos por un asterisco (*) para cada evaluación en el tiempo fueron significativamente diferentes (Prueba LSD, $p < 0.05$). Las barras representan el error estándar de la media; $n = 5$.

Tabla 2-7. Coeficientes de correlación de Pearson para el estadio foliar B (arriba de la diagonal) y el estadio foliar C (abajo de la diagonal), entre la severidad del SALB, A , g_s , E y WUE medidos en plantas de caucho (*Hevea brasiliensis*) del clon FX 3864 (susceptible) inoculadas con *Microcyclus ulei* (Fase conidial: *Fusicladium macrosporum*).

Parámetros	A	g_s	E	WUE	Severidad
A	...	0.60**	0.86**	0.98**	-0.76**
g_s	0.94**	...	0.73**	0.62**	-0.63**
E	0.95**	0.86**	...	0.92**	-0.87**
WUE	0.87**	0.85**	0.70**	...	-0.80**
Severidad	-0.54*	-0.58*	-0.58*	-0.38ns	...

A , Tasa de asimilación neta de CO_2 ; g_s , conductancia estomática a vapor de agua; E , tasa de transpiración; eficiencia en el uso del agua, WUE

* $p < 0.05$; significativo; ** $p < 0.01$, muy significativo; NS, no significativo

En relación con los parámetros de la fluorescencia de la clorofila a , se observaron correlaciones positivas significativas de F_v/F_m con qP , NPQ y ETR en el estadio foliar B (10 - 18 días), mientras que en el estadio foliar C (22 - 30 días) sólo se presentaron correlaciones positivas significativas de F_v/F_m con F'_v/F'_m y ETR (Tabla 2-8). F_v/F_m fue el único parámetro que se correlacionó negativamente con la severidad en ambos estadios foliares.

Tabla 2-8. Coeficientes de correlación de Pearson para el estadio foliar B (arriba de la diagonal) y el estadio foliar C (abajo de la diagonal), entre la severidad del SALB, F_v/F_m , F'_v/F'_m , qP , NPQ y ETR medidos en plantas de caucho (*Hevea brasiliensis*) del clon FX 3864 (susceptible) inoculadas con *Microcyclus ulei* (Fase conidial: *Fusicladium macrosporum*).

Parámetros	F_v/F_m	F'_v/F'_m	qP	NPQ	ETR	Severidad
F_v/F_m	...	0.87**	0.48NS	0.11NS	0.51*	-0.57*
F'_v/F'_m	0.35NS	...	0.57*	0.34NS	0.60*	-0.61*
qP	0.50*	0.11NS	...	0.52*	0.99**	-0.09NS
NPQ	0.59*	0.26NS	0.11NS	...	0.53*	-0.01NS
ETR	0.53*	0.24NS	0.96**	0.20NS	...	-0.12NS
Severidad	-0.58*	-0.38NS	-0.34NS	-0.57*	-0.37NS	...

F_v/F_m , rendimiento cuántico máximo del fotosistema II (PSII); F'_v/F'_m , eficiencia en la captura de la energía de excitación por los centro abiertos del PSII; qP y NPQ, coeficientes de los quenching fotoquímicos y no fotoquímicos, respectivamente; ETR, tasa de transporte de electrones.

* $p < 0.05$; significativo; ** $p < 0.01$, muy significativo; NS, no significativo

Los resultados de la presente investigación muestran que los parámetros de intercambio gaseoso y la fluorescencia de la clorofila a fueron poco afectados en el clon

moderadamente resistente (FX 4098) después de la inoculación con *F. macrosporum* (fase conidial de *M. ulei*). Este comportamiento es afín con el buen desempeño agronómico que ha expresado éste material en condiciones de campo (Sterling y Correa, 2010; Rivano *et al.*, 2010; Sterling *et al.*, 2012). En contraste, en el clon susceptible (FX 3864) los parámetros de intercambio gaseoso fueron fuertemente afectados por la infección de *M. ulei*. Según Aucique Pérez *et al.* (2014) en cualquier interacción hospedero-parásito, la reducción en la fotosíntesis, la disminución en la concentración de pigmentos fotosintéticos, el daño estructural de los cloroplastos, las alteraciones en la disipación de energía a través de la fluorescencia de la clorofila y aumentos en la temperatura de la hoja, constituyen los principales efectos negativos que resultan de la infección por patógenos.

En el presente estudio, la infección por *M. ulei* sobre folíolos jóvenes [(estadios B (10 a 18 días) y C (22 a 30 días)] de caucho, ocasionó efectos negativos significativos sobre la fotosíntesis (analizada como A) en plantas susceptibles al patógeno. A medida que la severidad del SALB se incrementó en el tiempo, los valores de A decrecieron significativamente, pero este efecto fue menos evidente en el clon con menor susceptibilidad al SALB (FX 4098). La reducción de A debido al incremento en la severidad de las enfermedades foliares ha sido demostrada en otros estudios (Bastiaans, 1993; Pinkard y Mohammed, 2006; Hajji *et al.*, 2009; Alves *et al.*, 2011; Dallagnol *et al.*, 2011; Cruz-Aguilar *et al.*, 2012; Resende *et al.*, 2012; Polanco *et al.*, 2014; Rios *et al.*, 2014).

Las bajas tasas fotosintéticas en los estadios foliares inmaduros (B y C) pueden estar asociados a procesos como la resistencia estomática, elevada respiración (Samsuddin y Impens, 1979; Schwob *et al.*, 1998) y altos puntos de compensación de CO₂ (Bergonci, 1981). Sin embargo, otras características como la acumulación de materia seca, el contenido de cloroplastos (Bergonci, 1981) y la conductancia estomática (Schwob *et al.*, 1998; Miguel *et al.* 2007) se incrementan con la edad de las hojas, alcanzando los máximo valores en los folíolos maduros. En el presente estudio, el desbalance de estos parámetros pudieron relacionarse con la reducción de la fotosíntesis neta en los folíolos jóvenes de los dos clones evaluados.

Erickson *et al.* (2003) afirman que el cierre estomático es una de las principales causas por las cuales los patógenos reducen la fotosíntesis, debido a que obstruye el ingreso del CO₂ a la planta y por tanto, se afecta el papel que desempeñan los cloroplastos en el proceso fotosintético (Azcón-Bieto, 2000; Grassi *et al.*, 2005). Según Bacelar *et al.* (2006) el cierre estomático debido a una menor disponibilidad de agua en los tejidos enfermos compromete la cadena transportadora de electrones (ETR) y reduce la entrada de CO₂ en el ciclo de Calvin en los cloroplastos, lo que incrementa la foto-oxidación de los pigmentos antena en los fotosistemas.

Según Erickson *et al.* (2003) la reducción en la conductancia estomática (g_s) es uno de los parámetros que más limita la fotosíntesis en plantas enfermas debido a la reducción en el influjo del CO₂ hacia la planta. En el patosistema *H. brasiliensis* – *M. ulei* esta situación fue evidente en las etapas más avanzadas de la enfermedad (8 DDI, folíolos B, y 16 – 20 DDI folíolos C) donde se evidenció una reducción significativa de g_s a la par de un

descenso significativo de *A* en el clon susceptible. Pinkard y Mohamed (2006) y Alves *et al.* (2011) describieron un efecto similar en los patosistemas eucalipto (*Eucalyptus globulus*) – *Mycosphaerella* sp. y *E. urophylla* – *Puccinia psidii* en condiciones de invernadero.

Lo anterior permitiría afirmar que la reducción en *A* no fue influenciada por la entrada de CO₂ hacia el mesófilo de las hojas, sino por acción de la enfermedad que probablemente llevó a diversas limitaciones bioquímicas en la asimilación y fijación del CO₂ en el estroma de los cloroplastos durante el ciclo de Calvin (Debona *et al.*, 2012; Aucique Pérez *et al.*, 2014). Estas reducciones en *A* pueden deberse específicamente a la baja actividad de enzimas fotosintéticas como la Rubisco (Guo *et al.*, 2005; Debona *et al.*, 2012) o enzimas involucradas en la degradación de fotoasimilados (Baker *et al.*, 1997).

Debona *et al.* (2012) demostraron que la fotosíntesis en plantas de trigo (*Triticum aestivum*) se redujo drásticamente durante el proceso infeccioso de *Piricularia oryzae*, debido principalmente a las restricciones bioquímicas relacionadas con una menor actividad aparentemente en la Rubisco. Asimismo Shen *et al.* (2010) observaron que un incremento de la fotosíntesis en plantas no estresadas de soya (*Glycine max*) estuvo relacionado con una mayor actividad de enzimas fotosintéticas. Esto explicaría los mayores valores de *A* observados en éste estudio para las plantas inoculadas del clon FX 4098 en comparación con el FX 3864.

En la mayoría de las enfermedades, *A* es reducida desde el inicio de la infección (Domiciano *et al.*, 2009). No obstante, en este estudio la afectación de la fotosíntesis ocurrió a los 8 DDI en folíolos con síntomas del SALB con las clases de severidad ‘2’ y ‘3’ en los clones FX 4098 y FX 3864, respectivamente. Es decir, que la disminución de *A* además de ser proporcional al progreso de la severidad del SALB en el tiempo, también fue influenciada por el nivel de resistencia del clon de caucho.

Los valores negativos de la fotosíntesis neta en folíolos B reportados en este estudio pueden estar relacionados con bajos contenidos de clorofila y una baja actividad de la Rubisco (Lieberei, 2007; Miguel *et al.*, 2007). Asimismo, Bergonci (1981), reporto limitaciones físicas (resistencia estomática) y bioquímicas (contenido de clorofila y reducción de la actividad enzimática sobre el CO₂) en el proceso fotosintético presente durante la ontogenia foliar del clon de caucho FX 2261.

Por otro lado, Bergonci (1981) en el clon FX 2261 y Miguel *et al.* (2007) en los clones RRIM 600, PB 235 y GT 1, encontraron altas tasas fotosintéticas y una importante conductancia estomática en hojas completamente desarrolladas (folíolos D). En contraste, en folíolos del estadio B, ambos estudios reportaron tasas netas de fotosíntesis negativa y bajas conductancias estomáticas. Estos autores sugieren que la reducción en la conductancia estomática, depende principalmente de la transformación de las células pre-estomáticas durante el desarrollo de la hoja. Basado en estas afirmaciones, es posible que en la presente investigación los estomas no alcanzaron su desarrollo completo en el estadio foliar B, implicando con esto una baja conductancia estomática y por tanto la ausencia de una fotosíntesis neta positiva.

Las reducciones en la transpiración (E) en las plantas inoculadas del clon susceptible pudieron relacionarse con disminuciones en los valores de g_s (dado que se observaron correlaciones positivas significativas) y por tanto, pudieron estar asociadas con el cierre estomático. Distintos estudios han demostrado reducciones similares en E y g_s en los patosistemas trigo (*T. aestivum*) – *Puccinia triticina* (McGrath y Pennypacker, 1990), roble (*Quercus robur*) – *Erysiphe alphitoides* (Hajji *et al.*, 2009), *E. urophylla* – *P. psidii* (Alves *et al.*, 2011), arroz (*Oryza sativa*) – *Bipolaris oryzae* (Dallagnol *et al.*, 2011), sorgo (*Sorghum bicolor*) – *Colletotrichum sublineolum* (Resende *et al.*, 2012), frijol (*Phaseolus vulgaris*) – *C. lindemuthianum* (Polanco *et al.*, 2014) y trigo (*T. aestivum*) – *P. oryzae* (Rios *et al.*, 2014).

Las reducciones en E en las plantas susceptibles de caucho también podrían relacionarse con el incremento en la intensidad de los síntomas cloróticos a partir de los 8 DDI debido a la colonización masiva de los tejidos vegetales por *M. ulei*. Esta idea es soportada por Resende *et al.* (2012) y Rios *et al.* (2014) quienes encontraron una asociación entre la reducción en E y los síntomas de desecación y marchitez observados en hojas altamente colonizadas con *C. sublineolum* en sorgo y con *P. oryzae* en trigo, respectivamente.

Asimismo, las reducciones en el uso eficiente del agua (WUE) se relacionaron con reducciones en A , E y g_s en ambos estadios foliares. Estas reducciones en WUE implicarían por tanto, un desbalance entre la pérdida de agua por transpiración y la toma de CO_2 (Bacelar *et al.*, 2006; Poni *et al.*, 2009), es decir, una afectación en las estrategias utilizadas por las plantas susceptibles de caucho para la conservación del agua en los tejidos foliares debido a la infección por *M. ulei*.

En el presente estudio, en folíolos sanos de ambos clones de caucho, las mayores tasas fotosintéticas y la mayor eficiencia en el uso del agua se presentaron en folíolos C (22 – 30 días de edad). Esto coincide con Miguel *et al.* (2007) quienes observaron en folíolos C de 47 días, incrementos significativos en la conductancia estomática, el contenido de clorofila, la eficiencia de la carboxilación y en el uso eficiente del agua. Vinod *et al.* (2010) reportaron también aumentos significativos en el contenido de clorofilas a, b, total y la relación a/b durante el proceso de ontogenia foliar de cinco clones de caucho sometidos a estrés por bajas temperaturas.

El menor impacto negativo observado sobre los parámetros de intercambio gaseoso en el clon FX 4098, podría explicarse más allá de la menor susceptibilidad al ataque de *M. ulei* (menor severidad), al incremento en la actividad de algunas enzimas antioxidantes expresadas dentro de los mecanismos bioquímicos activos de defensa de la planta en respuesta a la infección (Agrios, 2005). Resende *et al.* (2012) encontraron que la menor afectación de los parámetros de intercambio gaseoso en plantas de sorgo debido a la infección por *C. sublineolum*, estuvo asociada al incremento de la actividad de algunas enzimas antioxidantes como superóxido dismutasa, catalasa, ascorbato peroxidasa y glutatión reductasa, que limitaron por tanto, el daño celular a lo largo del proceso infeccioso.

En el clon altamente susceptible (FX 3864), la infección por *M. ulei* provocó una afectación del rendimiento cuántico máximo del fotosistema II (PSII) (F_v/F_m) con una media que disminuyó de 0.83 a 0.75, lo que pudo relacionarse con algún nivel de afectación en el centro de reacción del PSII (Krause y Weis, 1991; Baker y Rosenqvist, 2004; Bonfig *et al.*, 2006; Baker, 2008). Asimismo fue evidente un descenso simultáneo en la eficiencia en la captura de la energía de excitación cuando se encuentran abiertos los centros de reacción del PSII (F_v'/F_m') y en la disipación fotoquímica de luz absorbida (qP) (8 DDI), lo que indica que las plantas inoculadas redujeron significativamente la capacidad de capturar y utilizar la energía lumínica. Disfunciones fotoquímicas similares han sido reportadas para otros patosistemas como *E. urophylla* – *P. psidii* (Alves *et al.*, 2011) y *T. aestivum* – *P. oryzae* (Aucique Pérez *et al.*, 2014).

Maxwell y Johnson (2000) afirman que una reducción en qP indicaría que la energía fotoquímica podría no ser completamente disipada a través de la asimilación del CO₂, el sumidero principal para la luz absorbida en los cloroplastos. La reducción en qP puede también interpretarse como un aumento en la proporción de la quinona A oxidada, y por tanto, representa una fracción de los centros de reacción del PSII que están propensos a sufrir daño fotoinhibitorio (Lima *et al.*, 2002; Baker, 2008).

Las reducciones en F_v/F_m , F_v'/F_m' y qP también se asociaron con disminuciones en ETR (especialmente en folíolos C), lo cual probablemente creó un exceso de poder reductor (acumulación de e⁻) y una serie de efectos foto-oxidativos (Krause y Weis, 1991; Maxwell y Johnson, 2000; Baker, 2008). En el presente estudio las plantas inoculadas del clon altamente susceptible hicieron frente a éste exceso de energía via disipación térmica a los 12 DDI (folíolos C), dado que hubo un incremento de NPQ en ésta etapa de la infección. Según Krause y Weis (1991) y Maxwell y Johnson (2000), las plantas utilizan diferentes mecanismos de fotoprotección celular para disipar el exceso de energía y evitar por tanto, el daño oxidativo. Estos resultados indicarían al menos en esta etapa del proceso infeccioso, una baja probabilidad de sufrir daño fotoinhibitorio en los centros de reacción del PSII. No obstante, según Rios *et al.* (2014) los incrementos leves en NPQ en otras etapas de la infección demostrarían que la disipación térmica no sería suficiente para prevenir la fotoinhibición, debido a la reducción en los valores de F_v/F_m , como se evidenció en el presente estudio.

En éste estudio se observó una reducción en NPQ en las etapas avanzadas del SALB (> 12 DDI) lo que probablemente podría afectar la capacidad de la planta para disipar el exceso de energía de excitación (Baker, 2008). Resultados similares fueron descritos por Rios *et al.* (2014) en plantas de *T. aestivum* inoculadas con *P. oryzae*, con un incremento significativo en NPQ a las 120 horas después de la inoculación. Alves *et al.* (2011) afirmaron para el patosistema *E. globulus* – *P. psidii* que la aparición de los síntomas cloróticos y necróticos pudieron expresarse como resultado del daño oxidativo, situación que sería menos evidente en el presente estudio dado que aunque hubo una intensificación de la severidad en las tardías de la infección (> 12 DDI) no se observaron lesiones necróticas importantes.

En éste estudio es bastante probable que las reacciones fotoquímicas hayan influenciado la tasa de asimilación de CO₂ dado que se observó un decrecimiento inter-dependiente entre la ETR y A en los días donde hubo mayor impacto de la enfermedad, especialmente en el clon susceptible. Este comportamiento fue contrario a lo reportado por Alves *et al.* (2011) y Rios *et al.* (2014) en los patosistemas *T. aestivum* – *P. oryzae* y *E. globulus* – *P. psidii* respectivamente, en los cuales se observó un leve descenso en ETR en comparación con la reducción en A.

A partir del análisis de la fluorescencia de la clorofila *a*, se pudo evidenciar que la afectación en la captura, uso y disipación de la energía de excitación son los indicadores más importantes en la discriminación de la respuesta fotosintética entre los clones FX 3864 y FX 4098 en respuesta a la infección por *F. macrosporum* (fase conidial de *M. ulei*) en condiciones de inoculación controlada.

2.4.4 Respuesta espectral de los clones de caucho FX 3864 y FX 4098 a la infección por *Microcyclus ulei* en condiciones controladas

- **Influencia de la severidad del SALB sobre el espectro de reflectancia foliar**

Durante el seguimiento temporal del espectro de reflectancia en ambos clones de caucho, las firmas espectrales de folíolos B (10 a 18 días) y C (22 a 30 días) no inoculados, fueron características de folíolos saludables y se evidenció una fuerte absorción por parte de los pigmentos fotosintéticos en el VIS y un alto plato de reflectancia en el NIR atribuido a la estructura interna de la hoja.

En general, la reflectancia en folíolos inoculados se incrementó a medida que aumentó la severidad en el VIS especialmente en el rango espectral entre el verde y el rojo (500 -700 nm) y decreció a mayor severidad en el NIR (Figura 2-6A-D). En la región del VIS comprendida entre los 400 y 550 nm, el mayor incremento en los valores medios de reflectancia se observó en los folíolos B del clon FX 3864 (Figura 2-6B). En contraste, el menor incremento en la reflectancia media en la región del NIR se observó en los folíolos B del clon FX 4098 (Figura 2-6C). En ambos clones de caucho y para todas las clases de severidad, la reflectancia en el VIS fue superior en folíolos en estadio B respecto a lo observado en los folíolos en estadio C. Lo contrario ocurrió con la reflectancia en el NIR. Para todo el espectro de reflectancia, las firmas espectrales en el clon FX 3864 (susceptible) presentaron valores superiores a las reportadas en el clon FX 4098 (moderadamente resistente).

En folíolos en estadio B (10 a 18 días) del clon FX 3864, las mayores diferencias significativas se presentaron entre la clase de severidad '3' y los folíolos sanos ($p < 0.01$), en el VIS entre los 500 y 700 nm, y en el NIR una máxima diferencia positiva a los 701 nm (región del red-edge) y un máxima diferencia negativa desde los 800 hasta los 900 nm (Figura 2-7A). Las longitudes de onda con máxima sensibilidad al SALB presentaron dos picos en el VIS, a los 504 y 680 nm (Figura 2-8A). La sensibilidad de la reflectancia fue baja y con una tendencia plana en el NIR en contraste con la curva de diferencia de la

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

reflectancia. En folíolos C (22 a 30 días) del FX 3864 las mayores diferencias significativas ocurrieron entre los 400 y 500 nm y entre los 600 y 700 nm ($p < 0.01$) (Figura 2-7B). La máxima diferencia se presentó entre la clase de severidad '4' y los folíolos sanos en la región del NIR (706 nm). En relación con la sensibilidad de la reflectancia, ésta presentó dos picos, uno en el rango de los 400-500 nm y otro en el rango de los 550 -700 nm, con cocientes máximos entre reflectancias de folíolos con severidad '4' y folíolos sanos, a los 462 y 682 nm, respectivamente.

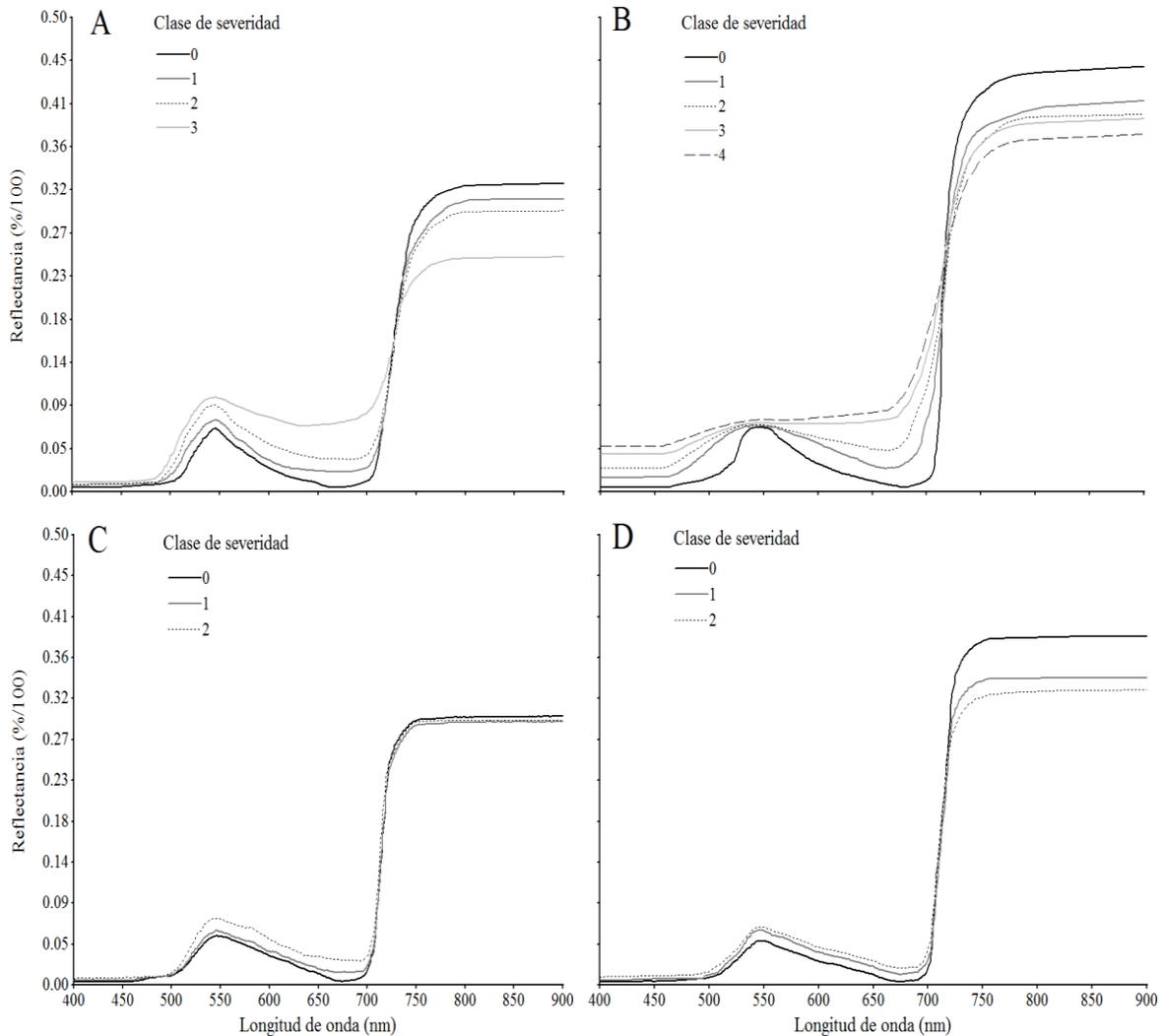


Figura 2-6. Curvas con la media del espectro de reflectancia para folíolos no inoculados de caucho (*Hevea brasiliensis*) ('0') y cada una de las clases de severidades generadas por el mal suramericano de las hojas SALB (Fase conidial: *Fusicladium macrosporium*) (donde '4' representa más del 30% del área foliar lesionada) en condiciones de inoculación controlada. **A y B**, clon altamente susceptible FX 3864 en los estadios foliares B (10 – 18 días) y C (22 – 30 días), respectivamente. **C y D**, clon moderadamente resistente FX 4098 en los estadios foliares B y C, respectivamente.

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

En el clon FX 4098, las mayores diferencias significativas en el espectro de reflectancia entre folíolos infectados (clase de severidad '2') y folíolos sanos ($p < 0.01$), se presentaron en folíolos B en el VIS en el rango de los 500 – 700 nm (con un pico máximo en el NIR, a los 730 nm) y en folíolos C en el NIR entre los 704 y 900 nm (máximas diferencias a los 704 y 749 nm) (Figura 2-7C y D).

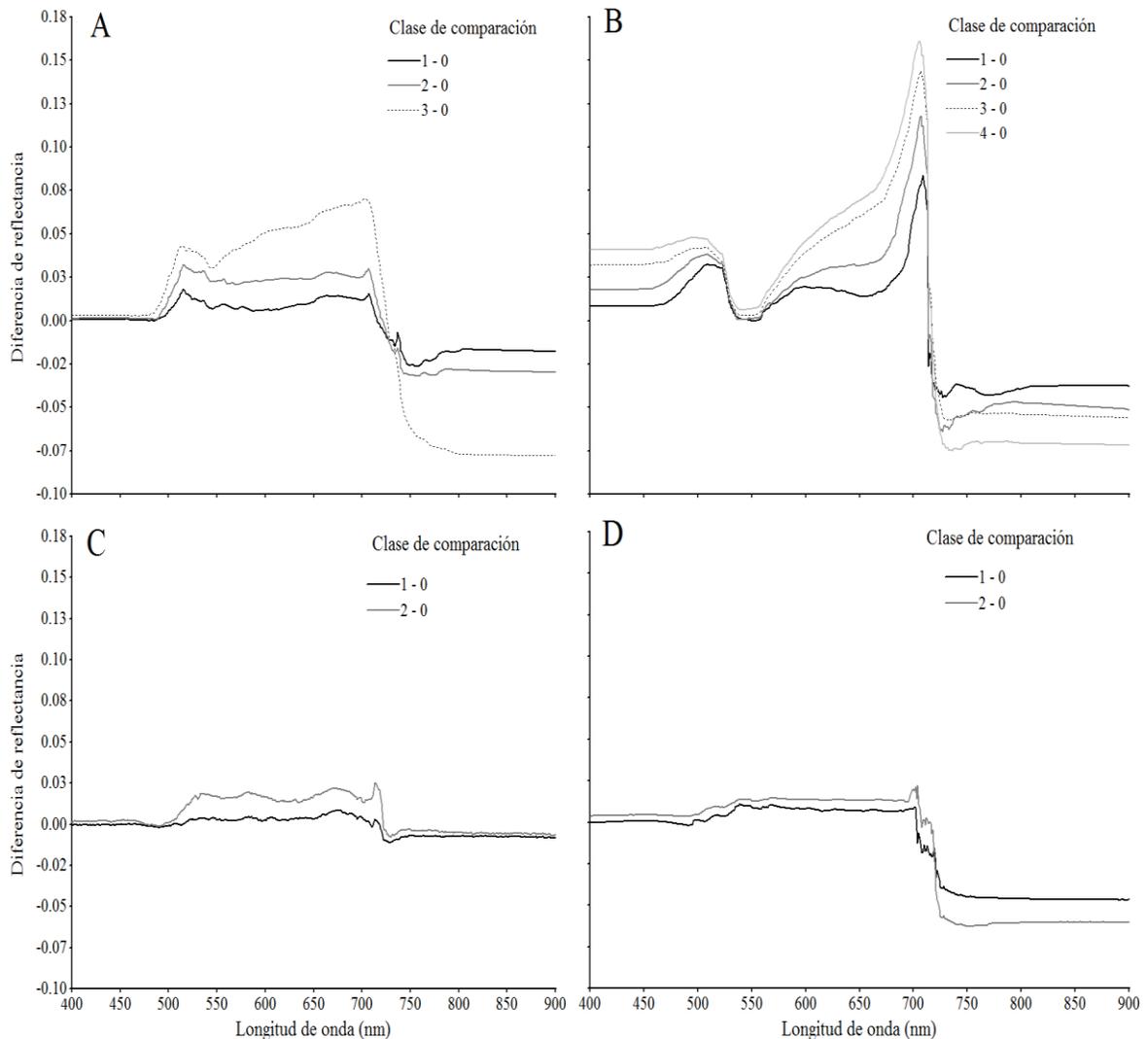


Figura 2-7. Curvas con la media de la diferencia de reflectancia para folíolos no inoculados de caucho (*Hevea brasiliensis*) ('0') y cada una de las clases de severidades generadas por el mal suramericano de las hojas SALB (Fase conidial: *Fusicladium macrosporum*) (donde '4' representa más del 30% del área foliar lesionada) en condiciones de inoculación controlada. **A** y **B**, clon altamente susceptible FX 3864 en los estadios foliares B (10 a 18 días) y C (22a 30 días), respectivamente. **C** y **D**, clon moderadamente resistente FX 4098 en los estadios foliares B y C, respectivamente. Las curvas de diferencia se calcularon restando las medias de reflectancia de folíolos sanos a las medias de folíolos infectados en cada longitud de onda.

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

En relación con las curvas de sensibilidad en el clon FX 4098, tanto en folíolos B como en C, las mayores sensibilidades en los espectros de reflectancia entre folíolos infectados (clase de severidad '2') y folíolos sanos, se presentaron en el VIS entre los 400 y 500 nm y entre los 600 y 700 nm (Figura 2-8C y D). En ambos casos, el pico máximo de sensibilidad se observó a los 674 nm. En el NIR las sensibilidades fueron muy bajas y con una tendencia constante.

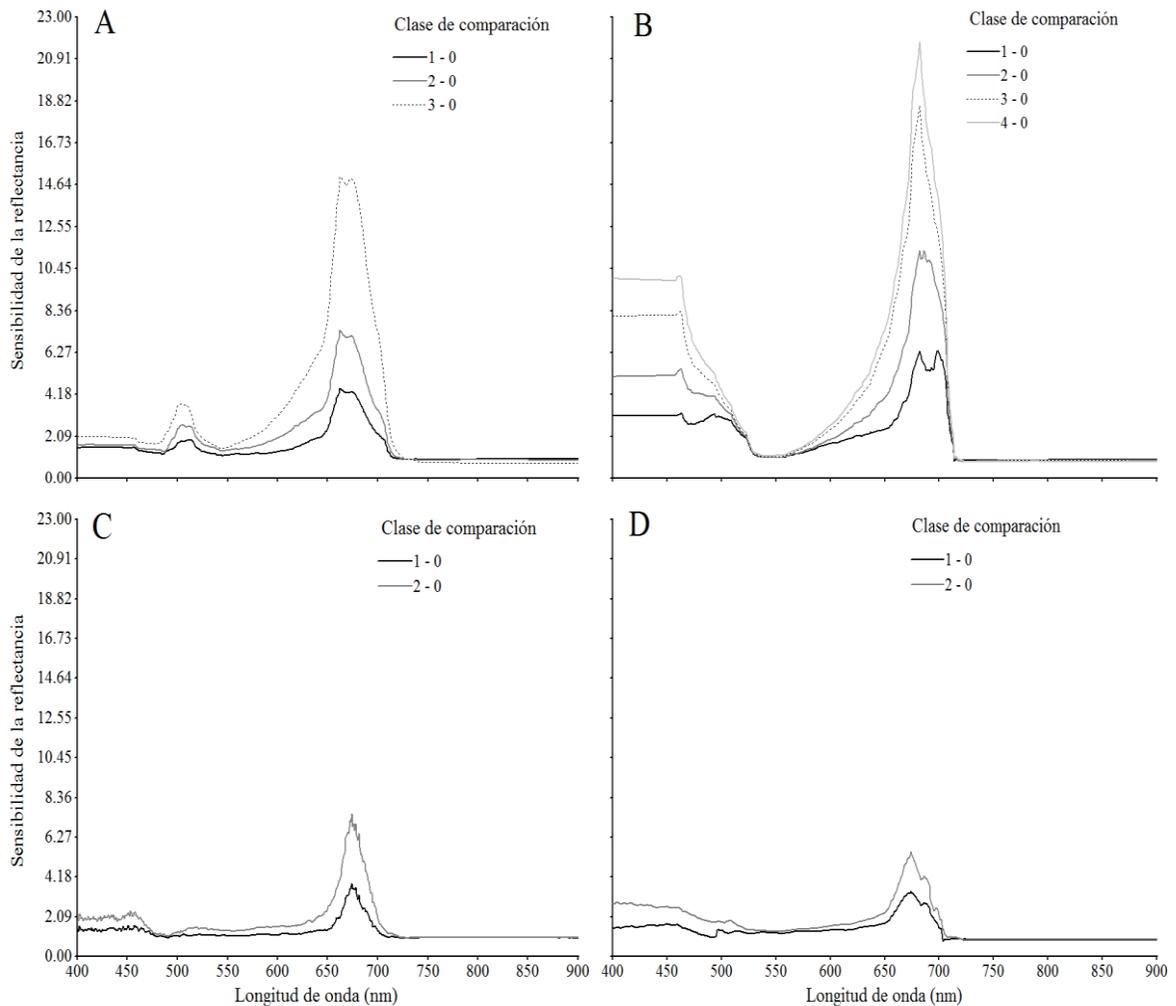


Figura 2-8. Curvas con la media de la sensibilidad de la reflectancia para folíolos no inoculados de caucho (*Hevea brasiliensis*) ('0') y cada una de las clases de severidades generadas por el mal suramericano de las hojas SALB (Fase conidial: *Fusicladium macrosporum*) (donde '4' representa más del 30% del área foliar lesionada) en condiciones de inoculación controlada. **A** y **B**, clon altamente susceptible FX 3864 en los estadios foliares B (10 a 18 días) y C (22 a 30 días), respectivamente. **C** y **D**, clon moderadamente resistente FX 4098 en los estadios foliares B y C, respectivamente. Las curvas de sensibilidad se calcularon por el cociente entre las medias de reflectancia de folíolos infectados y las medias de folíolos sanos en cada longitud de onda.

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección
Armando Sterling Cuéllar

Las longitudes de onda con máxima y mínima sensibilidad se utilizaron para calcular nuevos IVEs en ambos clones de caucho. En el FX 3864 se calcularon los índices R662/R545 y R662/896 para foliolos B, y R682/R727 y R682/R544 para foliolos C. Para el FX 4098, se generaron los índices R674/R490 y R674/R730 en foliolos B y R674/R749 y R674/R550 en foliolos C. Todos los IVEs calculados se correlacionaron positivamente con la severidad de la enfermedad ($r > 0.9$). Los ocho IVEs calculados se probaron para cada uno de los estadios foliares en cada clon, en donde el índice R674/R550 mostró ser el más estable (mayores correlaciones significativas entre las distintas combinaciones clon/fenología foliar). Éste índice se comparó con los seis IVEs tomados de la literatura con el fin de discriminar entre las clases de severidad del SALB (Tabla 2-9).

En el presente estudio, se analizaron diferencias cualitativas y cuantitativas en el espectro de reflectancia medidas en diferentes longitudes de onda en condiciones controladas, entre plantas saludables y enfermas de dos clones de caucho como conocimiento base para la detección temprana y la discriminación de los niveles de severidad del SALB producidos por la fase conidial de *M. ulei* (*F. macrosporum*) en foliolos jóvenes B y C.

El análisis cualitativo de las diferentes firmas espectrales permitió confirmar la absorción de la luz visible por parte de los pigmentos fotosintéticos en las regiones del azul (400 - 500 nm) y del rojo (600 -700 nm), así como la menor absorción de la luz infrarroja en la región comprendida entre los 700 y 900 nm. Según Jacquemoud y Baret (1990) Chandrasekharan (2005) la reflectancia en el NIR depende de la estructura de la hoja, la cual ocasiona una dispersión múltiple de la luz en proporción a los espacios aéreos presentes en el mesófilo de la hoja.

Las interacciones fisiológicas entre patógenos y hospederos vegetales, varían dependiendo principalmente de la virulencia del patógeno (Jones y Dangl, 2006; Mahlein *et al.*, 2010, 2013), la susceptibilidad del genotipo (Alves *et al.*, 2011), la fenología foliar del hospedero y la etapa de la infección (Delalieux *et al.*, 2009). Según Mahlein *et al.* (2010) la intensidad de los cambios fisiológicos y el progreso de los síntomas de las enfermedades influyen directamente sobre las propiedades de reflectancia espectral de las plantas.

En éste estudio, se consideraron la variación clonal y fenológica del cultivo del caucho con el fin de identificar y discriminar entre las clases de severidad del SALB, así como el efecto del progreso temporal de la misma sobre la respuesta espectral en plantas sanas e inoculadas con *F. macrosporum* (anamorfo conidial de *M. ulei*) en condiciones controladas de infección.

Los resultados de ésta investigación permitieron evidenciar diferencias significativas en el espectro de reflectancia entre los dos clones de caucho, con medias de reflectancia superiores en el clon FX 3864, el cual presentó menores contenidos relativos de clorofila. Según Jing *et al.* (2007) una disminución en el contenido de los pigmentos fotosintéticos implicará una reducción en la absorción de la luz en el VIS, y por tanto una mayor reflectancia espectral. Asimismo los foliolos con fenología B expresaron una mayor reflectancia en el VIS y menores valores en el NIR en comparación con los foliolos C.

En caucho los foliolos B corresponden a estadios foliares con un alto contenido de pigmentos rojizos (antocianinas) y bajos contenidos de clorofila los cuales son enmascarados por las antocianinas (Miguel *et al.*, 2007). Esto explicaría la menor absorción de la luz en el VIS en los foliolos B como resultado del menor contenido relativo de clorofila. En relación con el patrón espectral observado en el NIR para éstos mismos foliolos, la menor reflectancia estaría relacionada con un menor desarrollo del mesófilo como resultado del estado de desarrollo de éstos foliolos en comparación con los foliolos C que poseen un mejor desarrollo anatómico congruente con la mayor edad alcanzada (Halle *et al.*, 1978). Estos cambios asociados a la fenología foliar fueron demostrados por Delalieux *et al.* (2009) en la costra del manzano producida por *Venturia inaequalis* mediante el análisis de índices de vegetación espectral. Asimismo, Kobayashi *et al.* (2001) en el cultivo del arroz (*Oryza sativa*) encontraron divergencias espectrales asociadas a la etapa de desarrollo del grano durante la infección debida a *Pyricularia oryzae*.

Independiente del clon de caucho o del estadio foliar, las firmas espectrales se incrementaron en el VIS a medida que aumentaron los síntomas del SALB y decrecieron en el NIR con el desarrollo de la enfermedad. En el VIS estos cambios fueron claramente evidenciados en la región comprendida entre los 600 y 700 nm. La aparición de lesiones necróticas o cloróticas inducen senescencia en los tejidos vegetales y como consecuencia se genera una acumulación de pigmentos amarillentos (Pietrzykowski *et al.* (2006) o marrones (Mahlein *et al.* (2010) que incrementan significativamente la reflectancia en el rango de los 600 a 700 nm.

En relación con el descenso de la reflectancia en el NIR como resultado del incremento de la enfermedad, Malthus y Madeira (1993) afirman que el avance de la infección genera cambios evidentes en la estructura celular los cuales contribuyen con una mayor disipación de la luz a través de los tejidos internos de la hoja (Chandrasekharan, 2005).

- **Relación de las firmas espectrales con la severidad del SALB y con el contenido relativo de clorofila**

El coeficiente de correlación lineal (r) entre las clases de severidad y el espectro de reflectancia varió considerablemente a través de las longitudes de onda. En general, se presentaron correlaciones positivas en el VIS y negativas hacia el NIR (Figura 2-9). La correlación entre la severidad y la reflectancia en foliolos B del clon FX 3864 alcanzó los máximos positivos ($r > 0.90$) entre los 501 y 510 nm y desde los 577 a los 706 nm.

En el NIR se presentó una correlación máxima negativa en los 736 nm ($r = -0.70$; $p < 0.05$) (Figura 2-9A). En relación con los foliolos C del FX 3864, altas correlaciones positivas ($r > 0.80$) se presentaron en todo el VIS (Figura 2-9B), con picos máximos en el rojo y en el azul a los 684 y 470 nm, respectivamente. La mayores correlaciones negativas ($r = -0.73$) en el NIR se presentaron entre los 870 y 900 nm.

En lo foliolos B del clon FX 4098, se observó una fuerte variación en la correlación positiva, entre los 400 y 500 nm, con un máximo a los 467 nm y un mínimo a los 490 nm

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

(Figura 2-9C). La mayor correlación en el VIS se presentó a los 677 nm ($r = 0.97$; $p < 0.01$). En la región del NIR la mayor correlación negativa se presentó a los 728 nm ($r = -0.18$; $p > 0.05$).

En adelante se observó un comportamiento muy homogéneo en la correlación hasta los 900 nm. En folíolos C del FX 4098, en la región del VIS comprendida entre los 511 y 524 nm, se presentó las mayores correlaciones positivas ($r > 0.98$) (Figura 2-9D). En el NIR, las mayores correlaciones negativas se presentaron a partir de los 736 nm y hasta los 900 nm ($-0.91 \leq r \leq -0.89$).

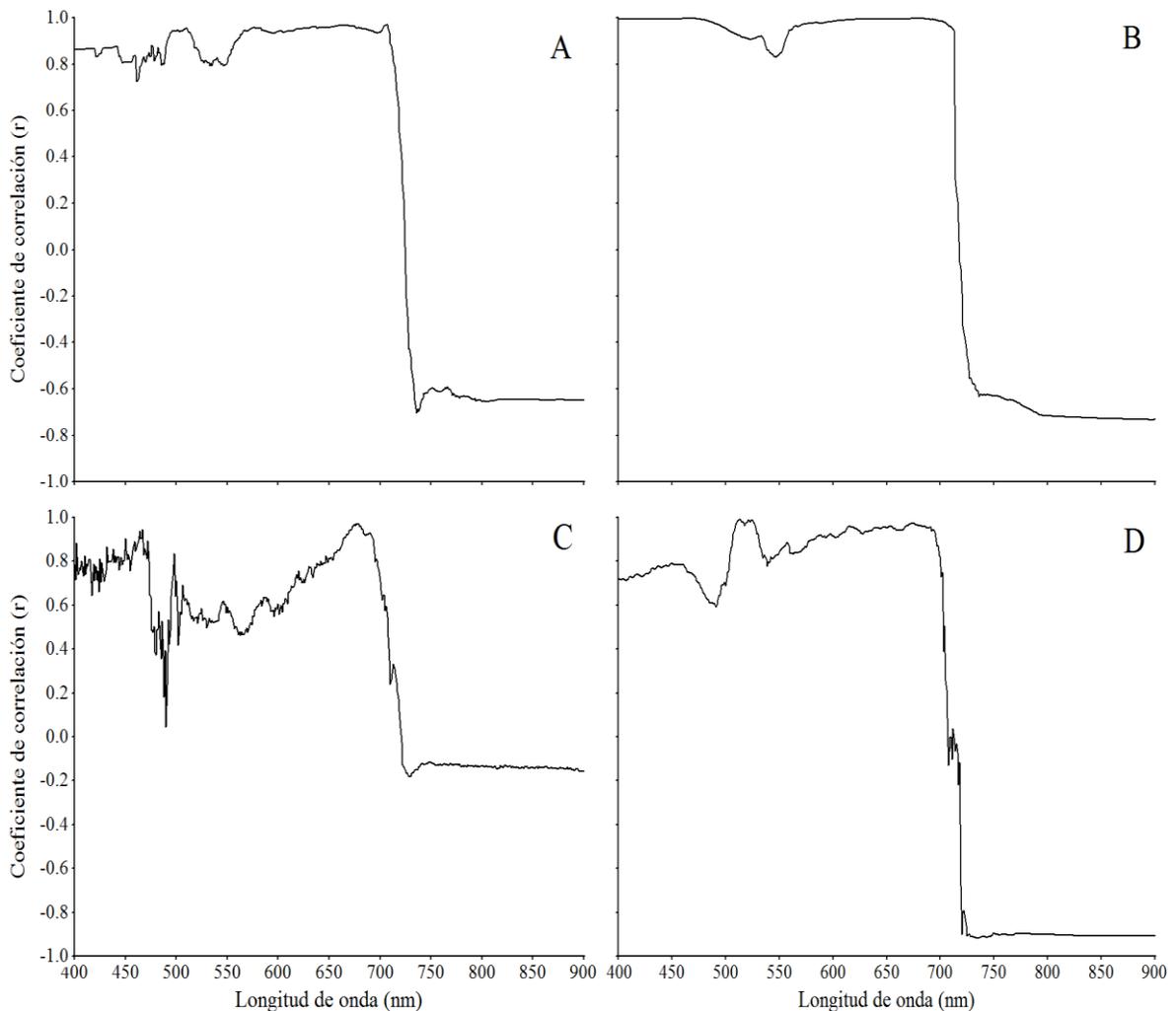


Figura 2-9. Correlograma basado en el coeficiente de correlación de Pearson entre la reflectancia espectral y las clases de severidad generadas por el mal suramericano de las hojas SALB (Fase conidial: *Fusicladium macrosporum*) en condiciones de inoculación controlada. **A** y **B**, clon altamente susceptible FX 3864 en los estadios foliares B (10 a 18 días) y C (22 a 30 días), respectivamente. **C** y **D**, clon moderadamente resistente FX 4098 en los estadios foliares B y C, respectivamente.

En el presente estudio, en ambos clones de caucho la mayor sensibilidad de la reflectancia a la severidad del SALB ocurrió primordialmente en la región del rojo (600 - 700 nm), principalmente a los 674 nm. Asimismo en ésta región se presentaron altas correlaciones positivas entre la reflectancia y la severidad.

Kobayashi *et al.* (2003) y Pietrzykowski *et al.* (2006) identificaron en la región del rojo, específicamente en la reflectancia a los 675 nm, una alta sensibilidad de la reflectancia a la severidad de la piricularia (*Magnaporthe grisea*) en arroz (*O. sativa*) y a la severidad de *Mycosphaerella* en eucalipto (*Eucalyptus globulus*), respectivamente.

En las longitudes de onda más sensibles a la severidad del SALB, se presentaron algunas correlaciones significativas entre la reflectancia y el contenido relativo de clorofila en al menos uno de los estadios foliares en cada clon de caucho. En el VIS, la mejor relación entre la reflectancia y el contenido relativo de clorofila se presentó a los 545 nm con un coeficiente de correlación $r = -0.72$ en foliolos C del clon FX 3864 y $r = -0.40$ en foliolos C del FX 4098. No se presentaron correlaciones significativas en las regiones del azul (400 - 500 nm) y el rojo (600 - 700 nm). En el NIR se presentaron algunas correlaciones positivas significativas en ambos estadios foliares, las cuales oscilaron entre $r = 0.37$ en el FX 4098 y $r = 0.84$ en el FX 3864 a los 749 nm.

La infección por *M. ulei* afectó negativamente la concentración relativa de la clorofila, especialmente en los foliolos C de plantas susceptibles de caucho. Esta situación pudo relacionarse con la acción de enzimas líticas o de toxinas no selectivas producidas por el patógeno durante la colonización del tejido vegetal (Rios *et al.*, 2014). Según Smirnoff (1995) la reducción en la concentración de pigmentos son rasgos típicos del estrés oxidativo ocasionado por infecciones de patógenos y podría ser una consecuencia de la degradación acelerada de la clorofila o por reducciones en su síntesis debido a cambios en la composición de la membrana tilacoidal.

La reflectancia cercana a los 674 nm fue destacada por Merzlyak *et al.* (1999) por ser sensible al deterioro de la clorofila y también es influenciada por la retención o acumulación de pigmentos carotenoides durante la senescencia o por la infección por patógenos como una estrategia para proteger el aparato fotosintético contra el daño fotoquímico debido al oxígeno singlete producido por el estado excitado triplete de la clorofila (Bacelar *et al.*, 2006; Rios *et al.*, 2014).

Gitelson *et al.* (2003) encontraron una fuerte relación lineal de la reflectancia con el contenido total de clorofila cerca a los 700 nm y Jing *et al.* (2007) describieron una fuerte correlación entre la concentración de clorofila y la severidad de la roya amarilla en trigo (*Triticum* sp.) alrededor de los 700 nm. Sin embargo, Pietrzykowski *et al.* (2006) no encontraron correlaciones significativas en ésta región del espectro, similar a lo reportado en la presente investigación en donde en la región del rojo no hubo significancia en la relación lineal de la reflectancia con la clorofila en ambos clones de caucho.

- **Influencia de la severidad del SALB sobre los IVEs**

Todos los IVEs probados permitieron discriminar significativamente entre las clases de severidad del SALB ($p < 0.01$), con excepción del PRI en foliolos B del clon FX 3864 en donde no se presentaron diferencias significativas entre las clases de severidad ($p > 0.05$) (Tabla 2-9). En general, aunque los índices PRI, R850/R710 y ARI fueron influenciados de forma significativa por la severidad del SALB, éstos presentaron la menor capacidad para discriminar entre las clases de severidad, debido a que la separación de medias mediante la prueba de LSD de Fisher, no mostró una diferenciación total entre las severidades reportadas.

Todos los IVEs se correlacionaron significativamente con las clases de severidad del SALB ($p < 0.01$), con excepción del PRI en foliolos B del clon FX 3864 y del PRI en foliolos C del clon FX 4098 (Tabla 2-10). En general, las correlaciones entre los IVEs y la severidad del SALB fueron mayores en el estadio foliar C.

En ambos clones de caucho y para ambos estadios foliares, los IVEs que mejor se correlacionaron con la severidad fueron: R674/R550, R678/R550, NDVI y SIPI. Por otro lado, los IVEs que mejor se correlacionaron con el contenido relativo de clorofila fueron: R850/R710, ARI y PRI (Tabla 2-10). En general, la mejor correlación de éstos IVEs con la clorofila se observó en el estadio de foliar C.

Los IVEs han sido útiles en la detección temprana de las enfermedades, debido a la sensibilidad que poseen frente a cambios en la reflectancia ocasionados por agentes fitopatógenos (Mahlein *et al.* 2013). Diversos estudios han estimado el potencial de los índices de vegetación en la detección temprana de enfermedades (Pietrzykowski *et al.*, 2006; Wu *et al.*, 2008; Delalieux *et al.* 2009; Naidu *et al.*, 2009; Rumpf *et al.*, 2010; Mahlein *et al.* 2009, 2010, 2013).

La mayoría de los índices están altamente correlacionados con el contenido de pigmentos, biomasa o área foliar. Sin embargo, la mayoría de éstos índices espectrales no son específicos en la detección de estrés biótico por patógenos (Mahlein *et al.*, 2013).

En ésta investigación la severidad del SALB afectó significativamente a la mayoría de los IVEs, donde el nuevo índice propuesto (R674/R550) resultó muy significativo y estuvo fuertemente correlacionado con las distintas clases de severidad del SALB en ambos clones de caucho y en los dos estadios fenológicos considerados. No obstante, no se correlacionó significativamente con el contenido relativo de clorofila.

- **Efecto del progreso del SALB sobre los índices de vegetación espectral**

En ambos clones de caucho se observó un incremento en los valores medios de algunos IVEs y una disminución paulatina para otros IVEs a través del tiempo de muestreo, en plantas no inoculadas debido al cambio en la edad y la fenología de los foliolos, y en plantas inoculadas, debido principalmente al progreso de la enfermedad (Tabla 2-11). En este sentido, se observaron mayores cambios a través del tiempo en las medias de los IVEs calculados en plantas inoculadas, principalmente en el clon susceptible (FX 3864).

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

Tabla 2-9. Medias de siete índices de reflectancia espectral para folíolos no inoculados ('0') de dos clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) y cada una de las clases de severidades generadas por el mal suramericano de las hojas SALB (fase conidial: *Fusicladium macrosporum*) en condiciones de inoculación controlada.

Índice de reflectancia	Clon	Clase de severidad por fenología foliar									
		Estadio foliar B					Estadio foliar C				
		0	1	2	3	0	1	2	3	4	
R674/R550	FX 3864 ^c	0.07 ± 0.003 ^{a,d}	0.28 ± 0.006c	0.39 ± 0.006b	0.74 ± 0.008a	0.08 ± 0.004e	0.38 ± 0.01d	0.66 ± 0.01c	1.11 ± 0.01b	1.25 ± 0.01a	
	FX 4098 ^d	0.07 ± 0.01c	0.23 ± 0.01b	0.38 ± 0.01a	–	0.07 ± 0.003c	0.19 ± 0.01b	0.29 ± 0.003a	–	–	
R678/R550	FX 3864	0.08 ± 0.003d	0.28 ± 0.007c	0.37 ± 0.007b	0.75 ± 0.009a	0.07 ± 0.01e	0.41 ± 0.01d	0.72 ± 0.01c	1.21 ± 0.01b	1.32 ± 0.01a	
	FX 4098	0.07 ± 0.004c	0.24 ± 0.01b	0.38 ± 0.01a	–	0.08 ± 0.004c	0.20 ± 0.01b	0.29 ± 0.01a	–	–	
NDVI	FX 3864	0.97 ± 0.003a	0.87 ± 0.006b	0.80 ± 0.006c	0.53 ± 0.009d	0.98 ± 0.002a	0.86 ± 0.01b	0.76 ± 0.01c	0.63 ± 0.004d	0.57 ± 0.004e	
	FX 4098	0.97 ± 0.001a	0.92 ± 0.002b	0.83 ± 0.004c	–	0.98 ± 0.002a	0.93 ± 0.01b	0.89 ± 0.003c	–	–	
PRI	FX 3864	-0.05 ± 0.024a	-0.08 ± 0.046a	-0.09 ± 0.046a	-0.02 ± 0.065a	-0.06 ± 0.0007d	-0.03 ± 0.001c	-0.03 ± 0.001c	0.004 ± 0.001b	0.01 ± 0.001a	
	FX 4098	0.04 ± 0.003a	0.01 ± 0.01b	0.03 ± 0.01ab	–	0.05 ± 0.01b	0.09 ± 0.01a	0.06 ± 0.01ab	–	–	
R850/R710	FX 3864	10.78 ± 0.714a	6.87 ± 1.383b	4.81 ± 1.383b	2.49 ± 1.956b	7.45 ± 0.13a	3.06 ± 0.30b	2.38 ± 0.30bc	1.96 ± 0.26c	1.74 ± 0.23c	
	FX 4098	3.69 ± 0.15a	3.77 ± 0.22a	2.31 ± 0.33b	–	2.64 ± 0.09a	2.48 ± 0.26ab	2.21 ± 0.10b	–	–	
SIPI	FX 3864	0.97 ± 0.002a	0.91 ± 0.004b	0.87 ± 0.004c	0.73 ± 0.006d	0.98 ± 0.002a	0.89 ± 0.01b	0.83 ± 0.01c	0.73 ± 0.004d	0.69 ± 0.004e	
	FX 4098	0.97 ± 0.001a	0.94 ± 0.002b	0.89 ± 0.003c	–	0.98 ± 0.001a	0.95 ± 0.004b	0.91 ± 0.001c	–	–	
ARI	FX 3864	-72.02 ± 1.273d	-27.77 ± 2.465c	-15.27 ± 2.465b	-1.81 ± 3.487a	-68.77 ± 1.47b	0.81 ± 3.29a	5.33 ± 3.29a	7.10 ± 2.85a	7.46 ± 2.55a	
	FX 4098	-0.50 ± 0.04b	-0.38 ± 0.05b	-0.18 ± 0.08a	–	-37.98 ± 2.98b	-19.19 ± 8.16a	-11.95 ± 3.20a	–	–	

^aError estándar

^bPara cada índice, medias en cada fila (clon) por estadio foliar seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente (Prueba LSD, p < 0.05)

^cAltamente susceptible al SALB; ^dModeradamente resistente al SALB

NDVI, Índice de vegetación de diferencia normalizada; PRI, Índice de reflectancia fotosintético; SIPI, Índice independiente de la estructura del pigmento; ARI, Índice de reflectancia de antocianina.

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección
Armando Sterling Cuéllar

Todos los IVEs mostraron diferencias significativas entre el inicio del seguimiento (0 DDI) y al final del monitoreo (20 DDI) (cuando se alcanzó el máximo desarrollo de la enfermedad) en las plantas inoculadas del clon FX 3864. En el clon FX 4098 (moderadamente resistente) estas diferencias sólo se evidenciaron con los índices R850/R710, SIPI y ARI. En el clon FX 3864, se evidenciaron diferencias significativas entre plantas sanas e infectadas a los 4 DDI para los siete IVEs estudiados. En el clon FX 4098, estas diferencias se observaron a los 4 DDI con los índices R674/R550, R678/R550 y PRI; a los 8 DDI con los índices NDVI, R850/R710 y SIPI; y a los 12 DDI con ARI.

Tabla 2-10. Coeficientes de correlación de Pearson (r) entre siete índices de reflectancia espectral y (a) las clases de severidades generadas por el mal suramericano de las hojas SALB (fase conidial: *Fusicladium macrosporium*) de caucho (*Hevea brasiliensis*) y (b) la concentración relativa de clorofila en condiciones de inoculación controlada.

Índice de reflectancia	Clon	Estadio foliar B2		Estadio foliar C	
		(a) Severidad (r)	(b) Clorofila (r)	(a) Severidad (r)	(b) Clorofila (r)
R674/R550	FX 3864 ^a	0.98**	-0.26 NS	0.99**	-0.27 NS
	FX 4098 ^b	0.99**	-0.02 NS	0.99**	-0.17 NS
R678/R550	FX 3864	0.97**	-0.14 NS	0.99**	-0.26 NS
	FX 4098	0.99**	-0.01 NS	0.98**	-0.18 NS
NDVI	FX 3864	-0.95**	0.12 NS	0.99**	0.31 NS
	FX 4098	-0.98**	-0.02 NS	-0.97**	0.20 NS
PRI	FX 3864	-0.04 NS	-0.69**	0.98**	-0.25 NS
	FX 4098	-0.43*	-0.14 NS	0.21 NS	-0.64**
R850/R710	FX 3864	-0.75**	0.54**	-0.91**	0.46 *
	FX 4098	-0.47*	0.17 NS	-0.52*	0.55*
SIPI	FX 3864	-0.96**	0.12 NS	-0.99**	0.33 NS
	FX 4098	-0.97**	-0.02 NS	-0.98**	0.15 NS
ARI	FX 3864	0.95**	-0.26 NS	0.88**	-0.47**
	FX 4098	0.64**	0.46*	0.75**	-0.41*

* $p < 0.05$; significativo; ** $p < 0.01$, muy significativo; NS, no significativo

^aAltamente susceptible al SALB; ^bModeradamente resistente al SALB

NDVI, Índice de vegetación de diferencia normalizada; PRI, Índice de reflectancia fotosintético; SIPI, Índice independiente de la estructura del pigmento; ARI, Índice de reflectancia de antocianina.

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

Tabla 2-11. Efecto del progreso del mal suramericano de las hojas SALB (fase conidial: *Fusicladium macrosporum*) sobre siete índices de reflectancia espectral calculados en dos clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) en condiciones de inoculación controlada.

Índice de reflectancia ^c	Clon	Tratamiento	Tiempo de muestreo ^f (días después de la inoculación)					
			0	4	8	12	16	20
R674/R550	FX 3864 ^d	I	0.07 ± 0.067 ^a ef ^b	0.34 ± 0.067cd	0.50 ± 0.067c	0.75 ± 0.067b	0.82 ± 0.067b	1.20 ± 0.067a
		NI	0.06 ± 0.002f	0.07 ± 0.002ef	0.09 ± 0.002ef	0.10 ± 0.002ef	0.09 ± 0.002ef	0.06 ± 0.002f
	FX 4098 ^e	I	0.15 ± 0.067d-f	0.22 ± 0.067de	0.33 ± 0.067cd	0.26 ± 0.067d	0.27 ± 0.067d	0.30 ± 0.067d
		NI	0.06 ± 0.002f	0.04 ± 0.002f	0.10 ± 0.002ef	0.08 ± 0.002ef	0.07 ± 0.002ef	0.05 ± 0.002f
R678/R550	FX 3864	I	0.07 ± 0.072ef	0.33 ± 0.072cd	0.50 ± 0.072c	0.79 ± 0.072b	0.87 ± 0.072b	1.29 ± 0.072a
		NI	0.06 ± 0.001f	0.08 ± 0.001ef	0.09 ± 0.001ef	0.08 ± 0.001ef	0.07 ± 0.001ef	0.05 ± 0.001f
	FX 4098	I	0.14 ± 0.072d-f	0.23 ± 0.072de	0.33 ± 0.072cd	0.27 ± 0.072de	0.26 ± 0.072de	0.30 ± 0.072cd
		NI	0.08 ± 0.001ef	0.04 ± 0.001f	0.08 ± 0.001ef	0.09 ± 0.001ef	0.08 ± 0.001ef	0.05 ± 0.001f
NDVI	FX 3864	I	0.97 ± 0.033a-c	0.84 ± 0.033d	0.71 ± 0.033e	0.72 ± 0.033e	0.72 ± 0.033e	0.60 ± 0.033f
		NI	0.97 ± 0.001ab	0.97 ± 0.001ab	0.96 ± 0.001a-c	0.97 ± 0.001ab	0.98 ± 0.001a	0.98 ± 0.001a
	FX 4098	I	0.95 ± 0.033a-c	0.92 ± 0.033a-d	0.85 ± 0.033d	0.89 ± 0.033cd	0.90 ± 0.033b-d	0.88 ± 0.033cd
		NI	0.96 ± 0.001a-c	0.98 ± 0.001a	0.97 ± 0.001ab	0.97 ± 0.001ab	0.98 ± 0.001a	0.99 ± 0.001a
PRI	FX 3864	I	0.06 ± 0.012bc	-0.07 ± 0.012f	-0.07 ± 0.012f	-0.02 ± 0.012e	-0.01 ± 0.012e	0.01 ± 0.012d
		NI	0.06 ± 0.001b	-0.02 ± 0.001e	-0.19 ± 0.001g	-0.06 ± 0.001f	-0.06 ± 0.001f	-0.06 ± 0.001f
	FX 4098	I	0.03 ± 0.012b-d	0.01 ± 0.012de	0.03 ± 0.012cd	0.10 ± 0.012a	0.03 ± 0.012b-d	0.07 ± 0.012b
		NI	0.05 ± 0.001bc	0.05 ± 0.001bc	0.02 ± 0.001d	0.07 ± 0.001b	0.05 ± 0.001bc	0.05 ± 0.001bc
R850/R710	FX 3864	I	10.37 ± 0.460b	5.34 ± 0.460g	5.00 ± 0.460gh	2.62 ± 0.460k-m	2.26 ± 0.460lm	1.69 ± 0.460m
		NI	10.85 ± 0.007b	6.76 ± 0.007e	14.74 ± 0.007a	6.61 ± 0.007f	7.56 ± 0.007d	8.16 ± 0.007c
	FX 4098	I	4.10 ± 0.460g-i	3.96 ± 0.460h-j	2.70 ± 0.460k-m	2.10 ± 0.460m	2.32 ± 0.460lm	2.32 ± 0.460lm
		NI	3.06 ± 0.007j-l	4.36 ± 0.007gh	3.64 ± 0.007ij	2.20 ± 0.007m	2.46 ± 0.007lm	3.26 ± 0.007i-k
SIPI	FX 3864	I	0.96 ± 0.018a-d	0.90 ± 0.018e	0.83 ± 0.018f	0.79 ± 0.018g	0.80 ± 0.018fg	0.71 ± 0.018h
		NI	0.97 ± 0.001ab	0.97 ± 0.001ab	0.96 ± 0.001b-d	0.97 ± 0.001ab	0.98 ± 0.001ab	0.99 ± 0.001a
	FX 4098	I	0.96 ± 0.018a-c	0.95 ± 0.018b-e	0.91 ± 0.018c-e	0.93 ± 0.018c-e	0.91 ± 0.018e	0.92 ± 0.018de
		NI	0.97 ± 0.001ab	0.98 ± 0.001ab	0.97 ± 0.001ab	0.97 ± 0.001ab	0.98 ± 0.001ab	0.99 ± 0.001a
ARI	FX 3864	I	-75.74 ± 2.102m	-23.70 ± 2.102ef	-11.45 ± 2.102d	3.19 ± 2.102bc	5.58 ± 2.102ab	8.06 ± 2.102a
		NI	-77.67 ± 0.179m	-67.20 ± 0.179k	-71.20 ± 0.179l	-61.07 ± 0.179i	-66.68 ± 0.179j	-78.56 ± 0.179m
	FX 4098	I	-0.50 ± 2.102c	-0.44 ± 2.102c	-0.19 ± 2.102bc	-10.03 ± 2.102d	-7.42 ± 2.102d	-21.28 ± 2.102e
		NI	-0.65 ± 0.179c	-0.57 ± 0.179c	-0.29 ± 0.179c	-27.69 ± 0.179f	-28.76 ± 0.179g	-57.50 ± 0.179h

^aError estándar

^bPara cada índice, medias en cada fila (clon x tratamiento) seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente (Prueba LSD, p < 0.05)

^cMejor modelo estadístico, sin estructura con varianzas heterogéneas (SEH)

^dAltamente susceptible al SALB; ^eModeradamente resistente al SALB

^f0 - 8 días después de la inoculación (estadio foliar B); > 8 días después de la inoculación (estadio foliar C)

NDVI, Índice de vegetación de diferencia normalizada; PRI, Índice de reflectancia fotosintético; SIPI, Índice independiente de la estructura del pigmento; ARI, Índice de reflectancia de antocianina; I, Inoculado; NI, No inoculado (Testigo).

Los resultados de éste estudio reportados para el clon FX 4098 coinciden para los índices NDVI y SIPI con Mahlein *et al.* (2010, 2013) quienes analizaron la respuesta espectral de la remolacha (*Beta vulgaris*) a tres enfermedades foliares, pero difieren para ARI, dada la detección tardía (12 días) que se observó para éste índice en la presente investigación. Sin embargo, los resultados difieren notablemente para el clon FX 3864, en donde todos los índices estudiados permitieron realizar una detección más oportuna (4 días) que lo reportado por aquellos autores (8 – 17 días). Según Mahlein *et al.* (2013) las modificaciones bioquímicas manifestadas en plantas enfermas hacen que unos índices sean más discriminantes que otros en regiones vecinas del espectro de reflectancia y a través del tiempo.

- **Modelos de regresión para la predicción de las clases de severidad del SALB**

Los mejores modelos de regresión que explicaron la relación entre las clases de severidad del SALB y la respuesta espectral para cada combinación clon/fenología foliar aparecen reportados en la figura 2-10.

Los modelos construidos se utilizaron para predecir las clases de severidad en cada combinación clon/fenología foliar. Esta validación independiente mostró una alta correlación significativa entre los datos predichos y los observados ($r > 0.9$; $p < 0.0001$) (Figura 2-10).

En los folíolos B del clon FX 3864, el 36% de las predicciones fueron exactas, 40% subestimadas y 24% sobrestimadas. En folíolos C, el 26% de las predicciones fueron exactas, 37% subestimadas y 37% sobrestimadas. En el clon FX 4098, en folíolos B y C, las predicciones exactas fueron 12 y 40%, las subestimadas 42 y 30% y las sobrestimadas 48 y 30%, respectivamente.

Los resultados de éste estudio presentan modelos de predicción de las clases de severidad al SALB, específicos para folíolos jóvenes tanto en B como en C y en dos clones de caucho con diferente reacción a *M. ulei* en condiciones controladas de infección. Estos modelos presentaron un mejor ajuste lineal que el reportado por Pietrzykowski *et al.* (2006) para *Mycosphaerella* en *E. globulus* ($R^2=0.83$).

Asimismo, los modelos aquí presentados poseen una mayor capacidad predictiva para valores exactos de las severidades evaluadas. Estas diferencias en la capacidad predictiva de los modelos además de los patosistemas evaluados, podrían relacionarse en la diferencia de sensores utilizados (rango espectral: 250 -2100 nm vs 300 -1000 nm) y en las diferentes circunstancias de medidas con respecto al presente estudio (dosel simulado vs folíolos, dos lámparas de 150 W vs cuatro lámparas de 40 W).

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

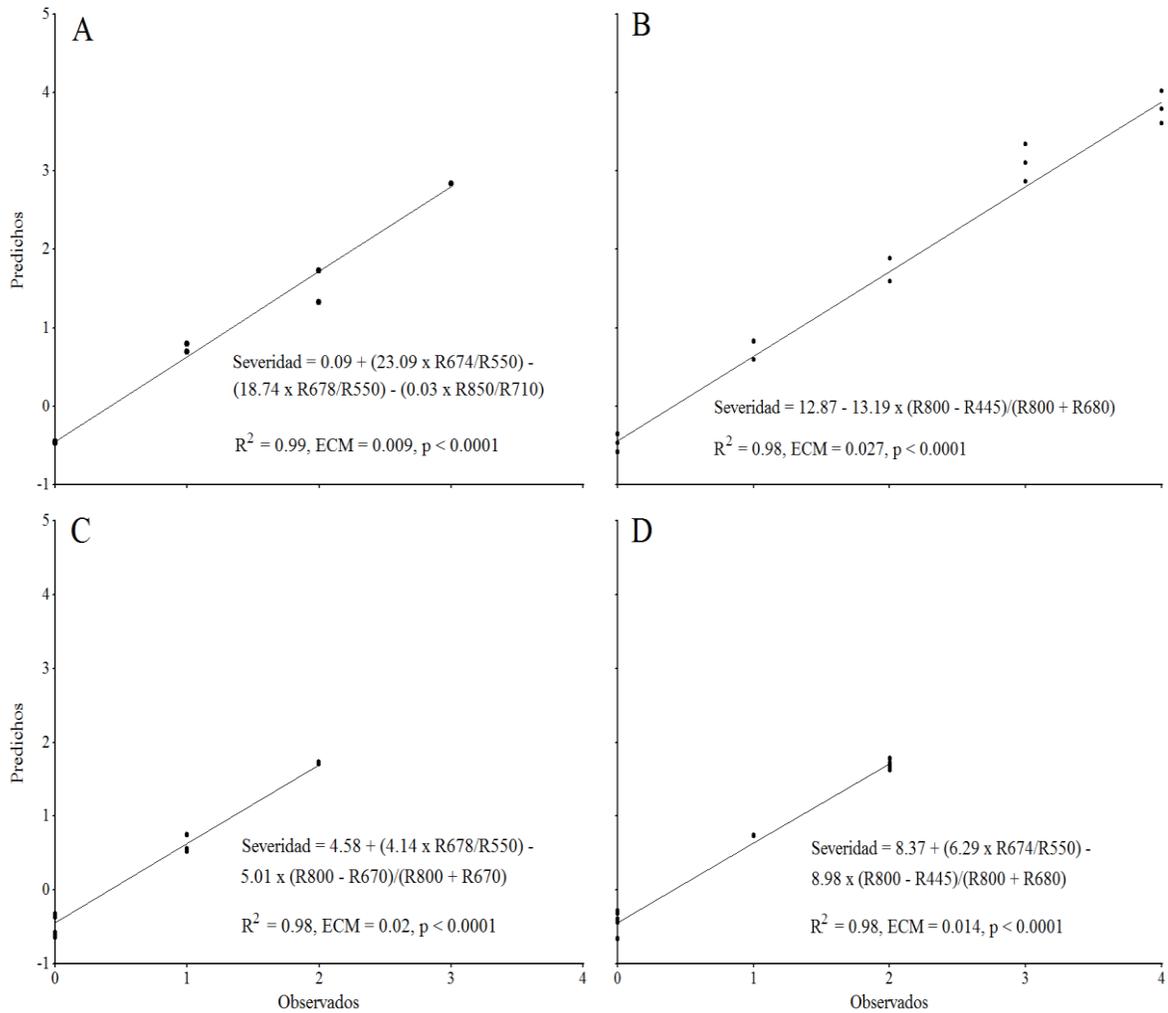


Figura 2-10. Relación entre los valores observados y los valores predichos de las clases de severidad del SALB (fase conidial: *Fusicladium macrosporum*) en dos clones de caucho (*Hevea brasiliensis*), a partir de modelos de regresión lineal múltiple de la respuesta espectral en condiciones de inoculación controlada. **A** y **B**, clon altamente susceptible FX 3864 en los estadios foliares B y C, respectivamente. **C** y **D**, clon moderadamente resistente FX 4098 en los estadios foliares B y C, respectivamente. ECM, Error cuadrático medio.

Este estudio es el primer reporte en el que se analiza desde un enfoque multi-temporal los cambios de los principales componentes fisiológicos asociados a la reacción de los clones FX 3864 y FX 4098 a *M. ulei* en condiciones de inoculación controlada durante la fase infecciosa de la enfermedad. Asimismo, es el primer estudio en el que se analiza los cambios en la respuesta fisiológica (intercambio gaseoso y fluorescencia de la clorofila *a*) y en las propiedades de reflectancia espectral en folíolos jóvenes (B y C) de los clones de caucho FX 4098 y FX 3864 en respuesta a la infección por *M. ulei* en condiciones de inoculación controlada.

2.6 Conclusiones

- El análisis de la variación temporal de los principales componentes fisiológicos asociados a la reacción de los clones de *H. brasiliensis* FX 3864 y FX 4098 a *M. ulei*, permite concluir que en condiciones controladas, la intensidad y la frecuencia de los síntomas así como el grado de esporulación producidos por *M. ulei* cambian significativamente a través del tiempo y esta variación está influenciada a su vez por el nivel de susceptibilidad a *M. ulei* presentado por cada clon. Se observa además que la variación temporal de los síntomas y signos del SALB en los clones FX 3864 y FX 4098, afecta significativamente el grado de inter-correlación entre las variables de ataque y esporulación conidial especialmente entre los días 8 y 12 posteriores a la inoculación.
- El análisis de los parámetros fisiológicos (intercambio gaseoso y fluorescencia de la clorofila *a*) permiten concluir: (a) las tasas fotosintéticas en el clon FX 3864 (altamente susceptible) fueron significativamente afectadas en respuesta a la infección por *M. ulei*, y en un mínimo grado en el clon FX 4098 (moderadamente resistente), como resultado de una menor conductancia estomática y un baja eficiencia en el uso del agua en el clon susceptible; la afectación de la fotosíntesis fue proporcional al progreso de la enfermedad y el fenómeno se intensificó en folíolos inoculados pertenecientes al estadio foliar B.
- El análisis de la respuesta espectral al SALB permite concluir que la enfermedad posee un efecto significativo en las propiedades espectrales de los clones de caucho FX 3864 y FX 4098 en condiciones de inoculación controlada. Éste efecto se basa principalmente en las características fisiológicas de cada clon como el contenido relativo de clorofila, en la fenología de los folíolos (B o C), en la clase de severidad de la enfermedad y en el tiempo de inoculación del patógeno.
- El análisis de las firmas espectrales y de la diferencia y sensibilidad de la reflectancia, permitieron obtener un nuevo índice de vegetación espectral para la detección e identificación del SALB en folíolos jóvenes de los clones de caucho FX 4098 y FX 3864. Asimismo se reportan los primeros modelos lineales basados en índices espectrales para la predicción de las clases de severidad del SALB en las dos fenologías foliares estudiadas en cada clon de caucho.

2.7 Agradecimientos

Los autores agradecen al proyecto: Evaluación del asocio agrisilvícola: caucho (*Hevea brasiliensis*) – nuevos clones de copoazú (*Theobroma grandiflorum*) mediante el uso de indicadores agronómicos, ecofisiológicos, bioquímicos y epidemiológicos en el departamento del Caquetá. Contrato RC No.746 -2011- Fiduciara Bogotá – Colciencias – Sinchi – UNAL - Asoheca por el soporte económico a la presente investigación.

2.8 Referencias

Agrios, G. N. 2005. Fitopatología. Edit. LIMUSA S.A. México. 838 p.

Aucique Perez, C. E., Rodríguez, F. A., Moreira, W. R., DaMatta, F. M. 2014. Leaf Gas Exchange and Chlorophyll a Fluorescence in Wheat Plants Supplied with Silicon and Infected with *Pyricularia oryzae*. *Phytopathology* 104 (2): 143-149.

Aleric, K. M., Kirkman, L. K. 2005. Growth and photosynthetic responses of the federally endangered shrub, *Lindera melissifolia* (Lauraceae), to varied light environments. *American Journal of Botany* 92: 682-689.

Alves, A. A., Guimarães, L. M. S., Chaves, A. R. M., DaMatta, F. M., Alfenas, A. C. 2011. Leaf gas exchange and chlorophyll a fluorescence of *Eucalyptus urophylla* in response to *Puccinia psidii* infection. *Acta Physiol Plant* 33: 1831-1839.

Atkinson, C. J., Dodds, P. A. A., Ford, Y. Y., J. Le Mière., Taylor, J. M., Blake, P. S., Paul, N. 2006. Effects of Cultivar, Fruit Number and Reflected Photosynthetically Active Radiation on *Fragaria x ananassa* Productivity and Fruit Ellagic Acid and Ascorbic Acid Concentrations. *Annals of Botany* 97 (3): 429-441.

Azcón-Bieto, J., Talón, M. 2000. Fundamentos de la fisiología vegetal. Madrid.

Bacelar, E. A., Santos, D. L., Moutinho-Pereira, J. M., Gonçalves, B. C., Ferreira, H. F., Correia, C. M. 2006. Immediate responses and adaptative strategies of three olive cultivars under contrasting water availability regimes: changes on structure and chemical composition of foliage and oxidative damage. *Plant Sci* 170: 596-605.

Bacon, M. 2004. Water use efficiency in plant biology. Blackwell Publishing Ltd. Oxford UK. 322 p.

Baker, N. R., Nogués, S., Allen, D. J. 1997. Photosynthesis and photoinhibition. Plants and UV-B: Response to Environmental Change. P. J. Lumsden, ed. Cambridge University Press, Cambridge, UK. 95-111.

Baker, N. R., Rosenqvist, E. 2004. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *J Exp Bot* 55: 1607-1621.

Baker, N. R. 2008. Chlorophyll Fluorescence: A Probe of Photosynthesis In Vivo. *Plant Biol* 59: 89-113.

Bassanezi, R. B., Amorim, L., Filho, A. B., Berger, R. D. 2003. Gas exchange and emission of chlorophyll fluorescence during the monocycle of rust, angular leaf spot and

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

anthracnose on bean leaves as a function of their trophic characteristics. J Phytopathol 150: 37-47.

Bastiaans, L. 1993. Effects of leaf blast on photosynthesis of rice. Leaf photosynthesis. Neth J Plant Pathol 99: 197-203.

Berger, S., Sinha, A. K., Roitsch, T. 2007. Plant physiology meets phytopathology: plant primary metabolism and plant–pathogen interactions. J Exp Bot 58: 4019-4026.

Bergonci, J. I. 1981. Estudos ecofisiológicos relacionados com o balanço de CO₂ durante a ontogenia foliar em (*Hevea brasiliensis* Müell. Arg.). Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 53 p.

Bonfig, K. B., Schreiber, U., Gabler, A., Roitsch, T., Berge, S. 2006. Infection with virulent and avirulent *P. syringae* strains differentially affects photosynthesis and sink metabolism in *Arabidopsis* leaves. Planta 225:1-12.

Blackburn, G. A. 2007. Hyperspectral remote sensing of plant pigments. Journal of Experimental Botany 58: 844-867.

Campbell, C. L., Madden, L. V. 1990. Introduction to Plant Disease Epidemiology. Wiley-Interscience, John Wiley & Sons, New York.

Cardoso, S. E. A., Freitas, T. A., Silva, D. da C., Gouvea, L. R. L., Goncalves, P., Mattos, C. R. R., García, D. 2014. Comparison of growth, yield and related traits of resistant *Hevea* genotypes under high South American leaf blight pressure. Brasil. Industrial Crops and Products (53): 337-349.

Carter, G. A., Knapp, A. K. 2001. Leaf optical properties in higher plants: Linking spectral characteristics to stress and chlorophyll concentration. American Journal of Botany 88: 677-684.

Castellanos, D. O., Fonseca R. S., Barón, N. M. 2009. Agenda prospectiva de investigación y desarrollo tecnológico para la cadena productiva de caucho natural y su industria en Colombia. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural/Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, D. C. 209 p.

Cavalcante, J. R., Conforto, E. De C. 2006. Fotossíntese e relações hídricas de duas cultivares jovens de seringueira. Revista Brasil. Bot 29 (4): 701-708.

Conforto, E. de C., Cavalcante, J. R., Pessoa, J. D. C., Moreno, J. M. B., Mattoso, L. H. C. 2005. Variação sazonal das trocas gasosas, turgescência relativa do tronco e produtividade em dois cultivares de seringueira em Votuporanga, SP, Brasil. Acta Bot. Bras. 19(4): 733-740.

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

Conforto, E. de C. 2008. Respostas fisiológicas ao déficit hídrico em duas cultivares enxertadas de seringueira (“RRIM 600” e “gt1”) crescidas em campo physiological responses to water deficit in two young field-grown scion rubber. *Ciência Rural*, Santa Maria 38 (3): 679-684.

CCC. Confederación Cauchera Colombiana. 2011. Estado actual del gremio cauchero colombiano. En: Memorias Congreso Internacional Cauchero 2011. CCC/SENA/SAC/Gobernación del Meta/Cámara de Comercio de Villavicencio. Villavicencio-Meta. 15 p.

Chandrasekharan, R. 2005. Optical properties of leaves. 15 p.

Chee, K. H. 1976. Assessing susceptibility of *Hevea* clones to *Microcyclus ulei*. *Ann. Appl. Biol* 84: 135-145.

Chee, K. H., Holliday, P. 1986. South American leaf blight of *Hevea* Rubber. Malaysian Rubber Research and Development Board. Malaysian Rubber Research and Development Board Monograph No. 13. 50 p.

Chou, H., Bundock, N., Rolfe, S. A., Scholes, J. D. 2000. Infection of *Arabidopsis thaliana* leaves with *Albugo candida* (white blister rust) causes a reprogramming of host metabolism. *Mol Plant Pathol* 1:99-113.

Cruz-Aguilar, M., Carvajal, L. H., Melgarejo, L. M. 2012. Respuesta fisiológica de la gulupa (*Passiflora edulis* Sims) frente al ataque por *Fusarium* spp. pp. 91-113. En: Melgarejo, L. M. (Ed). *Ecofisiología del cultivo de la gulupa (Passiflora edulis Sims)*. Capítulo 5. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. Colombia. 144 p.

Dallagnol, L. J., Rodrigues, F. A., Martins, S. C. V., Cavatte, P. C., DaMatta, F. M. 2011. Alterations on rice leaf physiology during infection by *Bipolaris oryzae*. *Australasian Plant Pathol* 40: 360-365.

Datt, B. 1999. A new reflectance index for remote sensing of chlorophyll content in higher plants: tests using *Eucalyptus* leaves. *J. Plant Physiol.* 154: 30-36.

Debona, D., Rodrigues, F. A., Rios, J. A., Telles, K. J. N. 2012. Biochemical changes in the leaves of wheat plants infected by *Pyricularia oryzae*. *Phytopathology* 102:1121-1129.

Delalieux, S., Van Aardt, J., Keulemans, Van Aardt., Schrevels, E., Coppin, P. 2007. Detection of biotic stress (*Venturia inaequalis*) in apple trees using hyperspectral data: Non-parametric statistical approaches and physiological implications. *European Journal of Agronomy* 27: 130-143.

Delalieux, S., Somers, B., Verstaeten, W.W., Van Aardt, J. A. N., Keulemans, W. Coppin, P. 2009. Hyperspectral indices to diagnose leaf biotic stress of apple plants, considering leaf phenology. *International Journal of Remote Sensing* 30 (8): 1887-1912.

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

Di Rienzo, J. A., Macchiavelli, R.E., Casanoves, F. 2011. Modelos lineales mixtos: aplicaciones en InfoStat. 1ª ed. Grupo Infostat. Córdoba, Argentina. 248 p.

Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M., Robledo, C. W. InfoStat versión 2013. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Fecha de consulta: 21 de julio de 2013. Disponible en: <http://www.infostat.com.ar>

Domiciano, G. P., Resende, R. S., Rodrigues, F. A., DaMatta, F. M. 2009. Alteração na fotossíntese de plantas infectadas por patógenos. Revisão Anual de Patologia de Plantas 17: 305-339.

Erickson, J. E., Stanosz, G. R., Kruger, E. L. 2003. Photosynthetic consequences of Marssonina leaf spot differ between two poplar hybrids. The New Phytologist 161: 577-583.

Fonseca, P. D., Aristizabal, G. F. A. 2010. Contribución a la certificación por técnicas moleculares del material comercial de *Hevea brasiliensis* de interés para Colombia. Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional de Colombia – IBUN – Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas Sinchi. Fecha de consulta: 09 de septiembre de 2013. Disponible en: <http://biblioteca.agronet.gov.co:8080/jspui/handle/123456789/1910>

Gamon, J. A., Field, C. B., Bilger, W., Bjorkman, O., Fredeen, A. L., Penuelas, J. 1990. Remote sensing of the xanthophyll cycle and chlorophyll fluorescence in sunflower leaves and canopies. Oecologia 85: 1-7.

García, D., Troispoux, V., Grance, N., Rivano, F., Auzac, D. 1999. Evaluation of the resistance of 36 *Hevea* clones to *Microcyclus ulei* and relation to their capacity to accumulate scopoletin and lignins. Eur. J. For. Path 29: 323-338.

García, D., Mattos, C. R. R., P. de S. Gonçalves., Le Guen, V. 2004. Selection of rubber clones for resistance to South American leaf blight and latex yield in the germoplasm of the Michelin plantation of Bahia (Brazil). J. Rubb. Res 7 (3): 188-198.

Gasparotto, L., Zambolim, L., Maffia, L. A., Ribeiro, D. O., Vale, F. X., Junqueira, N. T. V. 1989. Efeito da temperatura e umidade sobre a infecção de seringueira (*Hevea* spp.) por *Microcyclus ulei*. Fitopatol.bras. 14(1).

Gasparotto, L., Ferreira, F. A., dos Santo, A. F., Rezende, P. J. C., Furtado, E. L. 2012. Capítulo 3: Doenças das folhas. pp. 39-176. En: Gasparotto, L.; Pereira, R. J. C. (Eds.). Doenças da seringueira no Brasil. EMBRAPA Amazônia Occidental. Brasília, DF. 255 p.

Gitelson, A. A., Merzlyak, M. N., Chivkunova, O. B. 2001. Optical properties and nondestructive estimation of anthocyanin content in plant leaves. Photochemistry and Photobiology 74: 38-45.

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

Gitelson, A. A., Kaufman, Y. J., Stark, R., Rundquist, D. 2002. Novel algorithms for remote estimation of vegetation fraction. *Remote Sensing of Environment* 80: 76-87.

Gitelson, A. A., Gritz, Y., Merzylak, M. N. 2003. Relationships between leaf chlorophyll content and spectral reflectance and algorithms for non-destructive chlorophyll assessment in higher plant leaves. *Journal of Plant Physiology* 160: 271-282.

Guo, D. P., Zhao, J. P., Liu, H., Peng, Y., Wang, Q. M., Chen, J. S., Rao, G. Z. 2005. Photosynthetic rate and chlorophyll fluorescence in leaves of stem mustard (*Brassica juncea* var. *tsatsai*) after turnip mosaic virus infection. *Plant Sci* 168: 57-63.

Grassi, G., Vicinelli, E., Ponti, F., Cantoni, L., Magnani, F. 2005. Seasonal and interannual variability of photosynthetic capacity in relation leaf nitrogen in a deciduous forest plantation in northern Italy. *Tree Physiology* 25: 349-360.

Hajji, M., Dreyer, E., Marçais, B. 2009. Impact of *Erysiphe alphitoides* on transpiration and photosynthesis in *Quercus robur* leaves. *Eur J Plant Pathol* 125: 63-72.

Hallé, F., Oldeman, R., Tomlinson, P. B. 1978. *Tropical trees and forest*. Springer-verlag. Berlin, DE. 441 p.

Hashim, I., Chee, K. H., Duncan, E. J. 1978. Reaction of *Hevea* leaves to infection with *Microcyclus ulei*. *J. Rubb. Res. Inst. Malaysia* 26 (2): 67-75.

Hashim, I., Almedia, L. C. C. 1987. Identification of races and in vitro Sporulation of *Microcyclus ulei*. *J. Nat. Rubb. Res* 2 (2) 111-117.

Hashim, I., Pereira, J. C. 1989. Lesion Size, latent period and sporulation on leaf Discs as indicators of resistance of *Hevea* to *Microcyclus ulei*. *J. nat. Rubb. Res* 4(11): 56-65.

Hatfield, L. J., Gitelson, A. A., Schepers, S. J., Walthall, L. C. 2008. Application of spectral remote sensing for agronomic decisions. *Agronomy Journal* 100 (3): 117-131.

IGAC (Instituto Geográfico Agustín Codazzi, CO). 2010. Caquetá, características geográficas. Imprenta nacional de Colombia. Bogotá, D.C. 373 p.

IRSG (International Rubber Study Group, SI). 2013. *Rubber Statistical Bulletin*. Noviembre de 2013. Fecha de consulta: 2 de Abril de 2014. Disponible en: <http://www.rubberstudy.com/statistics.aspx>

Jacquemoud, S., Baret, F. 1990. Prospect: a model of leaf optical properties spectra. *Remote Sensing of Environment* 34: 75-91.

Jing, L., Jinbao, J., Yunhao, C., Yuanyuan, W., Wei, S., Wenjiang, H. 2007. Using hyperspectral indices to estimate foliar chlorophyll a concentrations of winter wheat under yellow rust stress. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 50: 1031-1036.

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

Jones, H. G., Archer, N., Rotenburg, E., Casa, R. 2003. Radiation measurement for plant ecophysiology. *Journal of Experimental Botany* 54:879-889.

Jones, D. G. J., Dangl, L. J. 2006. The plant immune system. *Nature* 444 (7117): 323-329.

Junqueira, N. T. V., Chaves, G. M., Zambolim, L., Romeiro, R. da S., Gasparotto, L. 1984. Isolamento, cultivo e esporulação de *Microcyclus ulei*, agente etiológico do mal-das-folhas da seringueira. *Revista Ceres* (31): 322-331.

Junqueira, N. T. V., Laércio, Z., Geraldo, M. C., Alcelio, C., Gasparotto L. 1988. Reação de Clones de Seringueira a Varios Isolados de *Microcyclus ulei*. *Pesq. agropec.bras.*, Brasilia 23 (8): 877-893.

Junqueira, N. T. V., Lieberei, R., Kalil Filho, A. N., Lima, M. I. P. M. 1990. Components of partial resistance in *Hevea* clones to rubber tree leaf blight, caused by *M. ulei*. *Fitopatologia Brasileira* 15: 211- 214.

Krause, G. H., Weis, E. 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 42:313-349.

Kobayashi, T., Kanda, E., Kitada, K., Ishiguro, K., Torigoe, Y. 2001. Detection of rice panicle blast with multispectral radiometer and the potential of using airborne multispectral scanners. *Phytopathology* 91: 316-323.

Kobayashi, T., Kanda, E., Naito, S., Nakajima, T., Arakawa, I., Nemoto, K., Honma, M., Toujyou, H., Ishiguro, K., Kitada, K., Torigoe, Y. 2003. Ratio of rice reflectance for estimating leaf blast severity with a multispectral radiometer. *J. Gen. Plant Pathol* 69:17-22.

Le Guen, V. A., Guyot, J. B., Mattos, C. C. R., Seguin, M. A., Garcia, D. 2008. Long lasting rubber tree resistance to *Microcyclus ulei* characterized by reduced conidial emission and absence of teleomorph. *Crop Protection* 27: 1498-1503.

Lekawipat, N., Teerawatanasuk, K., Rodier-Goud, M., Seguin, M., Vanavichit, A., Toojinda, T., Tragoonrung, S. 2003. Genetic diversity analysis of wild germplasm and cultivated clones of *Hevea brasiliensis* Muell. Arg. By using microsatellite markers. *Journal of Rubber Research*. 6 (1): 36-47.

Lespinnasse, D., Roider-Goud, M., Grivet, L., Leconte, A., Legnate, H., Seguin, M. 2000. A saturated genetic linkage map of rubber tree (*Hevea* spp.) bases on RPLP, AFLP, microsatellite and isozyme markers. *Theoretical Applied Genetics*. 100: 127-138.

Lieberei, R. 2007. South american leaf blight of the rubber tree (*Hevea* spp.): new steps in plant domestication using physiological features and molecular markers. *Invited Review. Annal of Botany* 100: 1125–1142.

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

Liberloo, M., Tulva, I., Raïm, O., Kull, O., Ceulemans, R. 2007. Photosynthetic stimulation under long-term CO₂ enrichment and fertilization is sustained across a closed Populus canopy profile (EUROFACE). *New Phytologist* 173 (3): 537-549.

Lichtenthaler, H. K., Gitelson, A., Lang, M., 1996: Non-destructive determination of chlorophyll content of leaves of a green and an aurea mutant of tobacco by reflectance measurements. *J. Plant Physiol* 148: 483-493.

Lichtenthaler, H. K., Miede, J. A. 1997. Fluorescence imaging as a diagnostic tool for plant stress. *Trends Plant Sci* 2: 316-320.

Lima, A. L. S., DaMatta, F. M., Pinheiro, H. A., Totola, M. R., Loureiro, M. E. 2002. Photochemical responses and oxidative stress in two clones of *Coffea canephora* under water deficit conditions. *Environ. Exp. Bot* 47: 239-247.

Mahlein, A. K., Hillnhütter, C., Mewes, T., Scholz, C., Steiner, U., Dehne, H. -W. 2009. Disease detection in sugar beet fields: A multi-temporal and multi-sensoral approach on different scales. In C. M. Neale, A. Maltese (Eds.), *Proceedings of the SPIE Europe Conference on Remote Sensing*. pp. 28-38.

Mahlein, A. K., Steiner, U., Dehne, H. W., Oerke, E. C. 2010. Spectral signatures of sugar beet leaves for the detection and differentiation of diseases. *Precision Agriculture* 11: 413-431.

Mahlein, A. K., Rumpf, T., Welke, P., Dehne, H. W., Plümer, L., Steiner, U., Oerke, E.C. 2013. Development of spectral indices for detecting and identifying plant diseases. *Remote Sensing of Environment* 128: 21-30.

Malthus, T. J., Madeira, A. C. 1993. High resolution spectroradiometry: spectral reflectance of field bean leaves infected by *Botrytis fabae*. *Remote Sens. Environ.* 45: 107-116.

Mattos, C. R. R. 1999. Meios de cultura com água de coco verde para esporulação de *Microcyclus ulei*. *Fitopatologia Brasileira* 24: 470. (Resumo).

Mattos, C. R. R., García, D., Pinard, F., Le Guen, V. 2003. Variabilidade de Isolados de *Microcyclus ulei* no Sudeste de Bahia. *Fitopatologia Brasileira* 28 (5): 502-507.

Mattos, C. R. R., García, D., Le Guen, V. 2005. Seleção de Clones de Seringueira com Alta Produção e Resistentes ao Mal-Das-Folhas. *Ceplac. Comunicação técnico* 28: 1-9.

Mattos, C. R. R. 2007. Programa de melhoramento genético de clones de seringueira com resistencia ao fungo *Microcyclus ulei*. En: *Memórias I Congresso Brasileiro de Heveicultura. Borracha Natural. INCAPER. Guarapari-Es, Brasil.*

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

Maxwell, K., Johnson, G. N. 2000. Chlorophyll fluorescence – a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51 (345): 659-668.

Merzlyak, M. N., Gitelson, A. A., Chivkunova, O. B., Rakitin, V. Y. 1999. Non-destructive optical detection of pigment changes during leaf senescence and fruit ripening. *Physiologia Plantarum* 106: 135-141.

Miguel, A. A., De Oliveira, M. L. E., Ramos, A. P., Oliveira, D. M. 2007. Photosynthetic behaviour during the leaf ontogeny of rubber tree clones (*Hevea brasiliensis* (Wild. ex. Adr. de Juss.) Muell. Arg.), in Lavras, MG. *Ciênc. Agrotec. Lavras* 31 (1): 91-97.

McGrath, M. T., Pennypacker, S. P. 1990. Alteration of physiological processes in wheat flag leaves caused by stem rust and leaf rust. *Phytopathology* 80: 677-686.

Naidu, A. R., Perry, M. E., Pierce, J. F., Mekuria, T. 2009. The potential of spectral reflectance technique for the detection of grapevine leaf-roll associated virus fi 3 in two red-berried wine grape cultivars. *Computers and Electronics in Agriculture* 66 (1): 38-45.

Peñuelas, J., Filella, I., Gamon, J. A. 1995. Assessment of photosynthetic radiation use efficiency with spectral reflectance. *The New Phytologist* 13: 291-296.

Pietrzykowski, B. E., Stone, C., Pinkard, E., Mohammed, C. 2006. Effects of *Mycosphaerella* leaf disease on the spectral reflectance properties of juvenile *Eucalyptus globulus* foliage. *For. Path* 36: 334-348.

Pinheiro, J., Bates, D., Saikat, D. 2013. Deepayan Sarkar and the R development core team. *Nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models*. R package version (3): 1-109.

Pinkard, E. A., Mohammed, C. L. 2006. Photosynthesis of *Eucalyptus globulus* with *Mycosphaerella* leaf disease. *New Phytol* 170: 119-127.

Polanco, L. R., Rodrigues, F. A., Nascimento, K. J. T., Cruz, M. F. A., Curvelo, C. R. S., DaMatta, F. M., Vale, F. X. R. 2014. Photosynthetic gas exchange and antioxidative system in common bean plants infected by *Colletotrichum lindemuthianum* and supplied with silicon. *Tropical Plant Pathology* 39(1): 35-42.

Poni, S., Bernizzonia, F., Civardi, S., Gatti, M., Porro, D., Camin, F. 2009. Performance and water use efficiency (Single leaf vs whole-canopy) of well watered and half stressed split root lambrusco grapevines grown in po valley (Italy). *Agricultural, Ecosystems and Environment* 129: 97-106.

Quintero, B. L., Zapata, O. J. A., Bolaños, M. D. C., Sterling, C. A., Rodriguez, A. O. L. 2012. Caracterización morfológica y molecular de diez clones de caucho natural (*Hevea brasiliensis*) promisorios para la Amazonia colombiana. pp. 123-147. En: Sterling, C. A., Rodríguez, L. C. H. (Eds.). *Ampliación de la base genética de caucho natural con proyección para la Amazonia colombiana: fase de evaluación en período improductivo a*

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

gran escala. Capítulo 4. Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas – SINCHI. Bogotá. Colombia. 147 p.

Resende, R. S., Rodrigues, F. A., Cavatte, P. C., Martins, S. C. V., Moreira, W. R., DaMatta, F. M. 2012. Leaf gas exchange and oxidative stress in sorghum plants supplied with silicon and infected with *Colletotrichum sublineolum*. *Phytopathology* 102: 892-898.

Rios, J. A., Rodrigues, F. A., Debona, D., Silva, L. C. 2014. Photosynthetic gas exchange in leaves of wheat plants supplied with silicon and infected with *Pyricularia oryzae*. *Acta Physiol Plant* 36: 371-379.

Richardson, A., Duigan, S., Berlyn, G. 2002. An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. *The New Phytologist*, 153(1): 185-194.

Righi, C. A., Bernardes, S. M. 2008. Disponibilidade de energia radiante em um sistema agroflorestal com seringueiras: produtividade do feijoeiro. *Bragantia*, Campinas 67 (2): 533-540.

Rivano, F., Martínez, M., Cevallos, V., Cilas, C. 2010. Assessing resistance of rubber tree clones to *Microcyclus ulei* in large-scale clone trials in Ecuador: a less time-consuming field method. *Eur J. Plant Pathol* 126: 541-552.

Rodrigo, V. H. L. 2007. Ecophysiological factors underpinning productivity of *Hevea brasiliensis*. *Braz. J. PlantPhysiol* 19 (4): 245-255.

Rumpf, T. A., Mahlein, A. K., Steiner, U., Oerke, E. C., Dehne, H. W., Plümer, L. A. 2010. Early detection and classification of plant diseases with Support Vector Machines based on hyperspectral reflectance. *Computers and Electronics in Agriculture* 74: 91-99.

R Core Team. 2013. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Fecha de consulta: 21 de julio de 2013. Disponible en: <http://www.R-project.org/>

Saha, T. C., Bindu, R., Nazeer, M. A. 2005. Microsatellite variability and its use in the characterization of cultivated clones of *Hevea brasiliensis*. *Plant Breeding*. 124: 86-92.

Samsuddin, Z., Impens, I. 1979. The development of photosynthetic rates with leaf age in *Hevea brasiliensis* Muell. Arg. clonal seedlings. *Photosynthetica*, Prague 13 (3): 267-270.

Sena, J. O. A De., Zaidan, H. A., De Camargo E Castro, P. R. 2007. Transpiration and stomatal resistance variations of perennial tropical crops under soil water availability conditions and water deficit. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 50 (2):225-230.

Schwob, I., Ducher, M., Sallanon, H., Coudret, A. 1998. Growth and gas exchange responses of *Hevea brasiliensis* seedlings to inoculation with *Glomus mosseae*. *Trees*

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección
Armando Sterling Cuéllar

Structure and Function, New York 12 (4): 236-240.

Shen, X., Zhou, Y., Duan, L., Li, Z., Eneji, A. E., Li, J. 2010. Silicon effects on photosynthesis and antioxidant parameters of soybean seedlings under drought and ultraviolet-B radiation. J Plant Physiol 167: 1248-1252.

Smirnoff, N. 1995. Antioxidant systems and plant response to the environment. pp. 217-243 in: Environment and Plant Metabolism: Flexibility and Acclimation. N. Smirnoff, ed. BIOS Scientific Publishers, Oxford.

Solarte, M. E., Pérez, L. V., Melgarejo, L. M. 2010a. Ecofisiología vegetal. En: L.M. Melgarejo (ed). Experimentos en Fisiología Vegetal: 137 - 166. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C. Colombia.

STN (Secretaría Técnica Nacional del Caucho, CO). 2013. Ministerio de Agricultura – Presentación Subsector Heveícola Colombiano a diciembre 2013. En: Congreso Internacional Cauchero 2014. Universidad EAFIT, Medellín, Colombia.

Sterling, C. A., Rodríguez, O. L., Quintero, L., Correa, J. 2009. Evaluación fitosanitaria y resistencia en campo a *Microcyclus ulei* de *Hevea brasiliensis* en la Amazonia Colombiana. Revista Colombia Amazónica 2: 80-90.

Sterling, C. A., Correa, J. 2010. Desempeño de una colección clonal de caucho en período de inmadurez en la Amazonia colombiana. Ingenierías & Amazonía 3 (1): 16-27.

Sterling, C. A., Rodríguez, O. L., Quintero, L. 2010a. Variabilidad fisiológica de aislamientos de *Microcyclus ulei* de la Amazonia colombiana. Revista Momentos de Ciencia 7 (1): 30-35.

Sterling, C. A., Calderón, A., Rodríguez, O. L., Quintero, L. 2010b. Caracterización morfológica y patogenicidad de *Microcyclus ulei* en la Amazonia colombiana. Revista Colombia Amazónica 3: 99-116.

Sterling, C. A., Galindo, L. C., Rodríguez, O. L., Martínez, A. K., Bonilla, R. N. M. 2011. Evaluación de la resistencia a *M. ulei* de los mejores genotipos élites de *H. brasiliensis* de origen franco bajo condiciones naturales y controladas. pp. 139-171. En: Sterling, C. A., Rodríguez, L. C. H. (Eds.). Nuevos clones de caucho natural para la Amazonia Colombiana: Énfasis en la resistencia al Mal Suramericano de las Hojas (*Microcyclus ulei*). Capítulo 5. Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas – SINCHI. Bogotá. Colombia. 195 p.

Sterling, C. A., Rodríguez, L. C. H., Dussán, H. I., Correa, D. J., Vargas, L. M. A., Centeno, C. A., Sánchez, L. R., Rodríguez, M. A. F., Plaza, C. D., Gaviria, D. C., Salas, T. Y. M., Ossa, M. E. O., Ruiz, T. P. N., Castillo, O. J. O. 2012. Evaluación fitosanitaria con énfasis en la resistencia a *Microcyclus ulei* de diez clones de caucho natural (*Hevea brasiliensis*) en Campo Clonal a Gran Escala CCGE. pp. 79-121. En: Sterling, C. A., Rodríguez, L. C. H. (Eds.). Ampliación de la base genética de caucho natural con

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

proyección para la Amazonia colombiana: fase de evaluación en período improductivo a gran escala. Capítulo 3. Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas – SINCHI. Bogotá. Colombia. 147 p.

Sterling, C. A., Rodríguez, C. H., Vargas, M. A., Caicedo, D. F., Dussán, I. 2013. Resistencia a *Microcyclus ulei* de clones promisorios de *Hevea brasiliensis* en sistema agroforestal en la Amazonia colombiana. p 51. En: Mena V.E, Andrade H.J., Mora J.R. (eds). Memorias IV Seminario Internacional de Agroforestería 2013. Universidad Tecnológica del Chocó - Red Agroforestal de Universidades de Colombia (RAUC). Quibdó (Chocó), Colombia. 86 p.

Swiech, R., Browning, S., Molsen, D., Stenger, D. C., Holbrook, G. P. 2001. Photosynthetic responses of sugar beet and *Nicotiana benthamiana* Domin. infected with beet curly topvirus. *Physiol Mol Plant Pathol* 58:43-52.

Viégas, J. M., Haag, M., Bueno, N., Pereira, J. D. A. 1992. Nutricao mineral de seringueira. XII. Absorçao de macro e micronutrientes nos primeiros 240 dias. *Scientia Agricola*, 49 (1): 41-52.

Vinod, K. K., Rajeswari, M. J., Nanja, R. Y. A., Priyadarshan P. M., Chaudhuri, D. 2010. Ontogenetic variations in flush development are indicative of low temperature tolerance in *Hevea brasiliensis* clones. *Ann. For. Res* 53 (2): 95-105.

West, J. S., Bravo, C., Oberti, R., Lemaire, D., Moshou, D., McCartney, H. A. 2003. The potential of optical canopy measurement for targeted control of field crop diseases. *Annual Review of Phytopathology* 41: 593-614.

Wu, D., Feng, L., Zhang, C., He, Y. 2008. Early detection of *Botrytis cinerea* on eggplant leaves based on visible and near-infrared spectroscopy. *Transactions of the ASABE* 51 (3): 1133-1139.

Zhang, M. Fvfvf, Liu, X., O’neill, M. 2002. Spectral discrimination of *Phytophthora infestans* infections on tomatoes based on principal component and cluster analyses. *International Journal of Remote Sensing* 23: 1095-1107.

3. Capítulo 3. Efectos del SALB (*Microcyclus ulei*) en la respuesta fisiológica y espectral de dos clones de *Hevea brasiliensis* crecido bajo condiciones ambientales de Caquetá-Colombia

3.1 Resumen

Este estudio tuvo como objetivo evaluar la respuesta fisiológica y espectral de dos clones (FX 3864 y FX 4098) de caucho (*Hevea brasiliensis*) crecido en jardín clonal bajo condiciones ambientales de Caquetá-Colombia, al mal suramericano de las hojas SALB (*Microcyclus ulei*). Se clasificó la severidad del SALB de acuerdo con la fenología foliar del caucho y con el desarrollo del patógeno (anamorfos *F. hevae* y *A. ulei*, y teleomorfo *M. ulei*). Se analizaron cuatro variables de intercambio gaseoso y cinco de fluorescencia de la clorofila *a*. Se estudió el efecto del SALB sobre las propiedades de reflectancia espectral y se valoraron siete índices de vegetación. Las tasas fotosintéticas en el FX 3864 fueron significativamente afectadas por *M. ulei*, y en un mínimo grado en el FX 4098. La afectación de la fotosíntesis fue proporcional a la intensidad de los síntomas de la enfermedad y el fenómeno se intensificó en folíolos infectados B (16 – 20 días) y C (24 – 28 días). La enfermedad influyó significativamente en las propiedades espectrales. Éste efecto se basó principalmente en el tipo de clon, el contenido relativo de clorofila, la fenología foliar y la clase de severidad según el estadio de desarrollo del patógeno. El análisis de las firmas espectrales permitió obtener dos nuevos índices de vegetación para la detección e identificación del SALB. Asimismo se reporta para cada clon de caucho, un modelo lineal para la predicción de las clases de severidad del SALB en plantas crecidas bajo condiciones ambientales.

Palabras clave: *Hevea brasiliensis*, *Microcyclus ulei*, fotosíntesis, reflectancia, jardín clonal

3.2 Abstract

This study aimed to evaluate the physiological and spectral response of two rubber tree clones (FX 3864 and FX 4098) (*Hevea brasiliensis*) to the South American Leaf Blight SALB (*Microcyclus ulei*) grown in clonal garden under ambient conditions of Caquetá - Colombia. Evaluations were performed in clonal garden, with ambient PAR, temperature and relative humidity. SALB severity according to the foliar phenology of rubber and pathogen development was classified (anamorphics *F. macrosporum* and *A. ulei*, and teleomorph *M. ulei*). Four variables of gas exchange and five for the fluorescence of chlorophyll *a* were analyzed. Effect of SALB on spectral reflectance properties studied seven vegetation indices was evaluated. Photosynthetic rates in the FX 3864 were significantly affected by *M. ulei*, and a minimum degree FX 4098. Involvement of photosynthesis was proportional to the intensity of the symptoms of disease and phenomenon intensified in infected leaflets B (16 – 20 days) and C (24 – 28 days). The disease influenced significantly on the spectral properties. This effect was mainly based in the type of clone, the relative chlorophyll content, leaf phenology and the kind of severity depending on the stage of development of the pathogen. The analysis of the spectral signatures yielded two new vegetation indices for the detection and identification of SALB. Also reported for each rubber tree clone, a linear model for the prediction of severity classes SALB under natural inoculation.

Key words: *Hevea brasiliensis*, *Microcyclus ulei*, photosynthesis, reflectance, clonal garden

3.3 Introducción

El caucho natural [*Hevea brasiliensis* (Willd. Ex Adr. de Juss.) Muell.-Arg.] es una especie de origen suramericano productora de látex, destinado principalmente a la industria llantera (Compagnon, 1998). A nivel mundial, el Sudeste Asiático produce el 93% del caucho natural, África el 4% y América Central y del Sur el 3%. Tailandia, Indonesia y Malasia concentran el 66.5% de la producción, siendo éstos los principales países productores (IRSG, 2013).

Según la CCC (2011), en Colombia la explotación cauchera se concentra en plantaciones comerciales constituidas por clones introducidos principalmente de origen asiático, africano y americano, con una superficie total establecida de 29.346 ha a diciembre de 2010. El 80% del área total establecida se concentra en cuatro núcleos caucheros: Meta, Magdalena medio, Caquetá y Antioquia-Córdoba. Caquetá es el departamento con mayor tradición cauchera de Colombia y el tercero en área sembrada con 6.017 ha de caucho, de las cuales 1.581 ha son plantaciones en etapa productiva con una producción de 1.894 toneladas de caucho seco por año (Asoheca, 2014).

Debido a la creciente demanda, el subsector cauchero colombiano requiere no sólo establecer nuevas áreas de siembra sino también seleccionar los mejores clones para cada región, con buen desempeño y tolerancia a los principales limitantes fitosanitarios del cultivo. En relación con el aspecto fitosanitario, los estudios se han enfocado principalmente en la búsqueda de resistencia al mal suramericano de las hojas, por sus siglas en inglés SALB (South American Leaf Blight) (García-Romero *et al.*, 2006; García *et al.*, 2011), patología ocasionada por el hongo ascomycete *Microcyclus ulei* (anamorfo *Fusicladium macrosporum*), el cual constituye el principal limitante del cultivo en América, área de donde el microorganismo patógeno es endémico.

En el departamento del Caquetá los clones de caucho natural: IAN 873, IAN 710 y FX 3864 han reducido el desempeño en etapa improductiva (Sterling y Correa, 2010) y se ha incrementado la susceptibilidad al SALB (Sterling *et al.*, 2009, 2010a, b). Lo anterior ha impulsado a nivel regional la búsqueda de nuevas fuentes de resistencia genética a *M. ulei* dentro de las cuales se resalta el clon FX 4098 como un material promisorio para la región amazónica colombiana, a partir de evaluaciones preliminares realizadas en experimentos clonales a gran escala (Sterling *et al.*, 2010a, 2011, 2012) y en sistema agroforestal (Sterling y Rodríguez, 2014).

Los estudios fisiológicos realizados en *H. brasiliensis* han sido abordados en plantas sanas enfocándose principalmente en el efecto de factores abióticos (Conforto *et al.*, 2005; Cavalcante y Conforto, 2006; Miguel *et al.*, 2007; Rodrigo, 2007; Sena *et al.*, 2007; Conforto, 2008; Righi y Bernardes, 2008). Desde el punto de vista del estrés por factores bióticos, aun falta por esclarecer los mecanismos por los que por ejemplo los patógenos afectan la capacidad fotosintética de la planta (Dallagnol *et al.* 2011).

La fotosíntesis constituye el principal proceso fisiológico el cual es afectado por los patógenos foliares tanto biotróficos (Berger *et al.*, 2007; Domiciano *et al.*, 2009) como necrotrofos (Bassanezi *et al.*, 2002). Algunas de estas características tales como el intercambio de gases y parámetros de fluorescencia de la clorofila han sido considerados como indicadores útiles no invasivos del estado del aparato fotosintético en condiciones de estrés, incluyendo el ataque por patógenos (Lichtenthaler y Miehe', 1997; Baker y Rosenqvist, 2004; Bonfig *et al.*, 2006; Berger *et al.*, 2007; Domiciano *et al.*, 2009;).

Los estudios sobre fisiología del estrés biótico han demostrado que la infección por patógenos conduce a una disminución significativa en las tasas de fotosíntesis, en la conductancia estomática y en las tasas de transpiración (Chou *et al.*, 2000; Berger *et al.*, 2007; Domiciano *et al.*, 2009; Aucique Pérez *et al.*, 2014; Rios *et al.*, 2014; Alves *et al.*, 2011;)

El análisis sobre la fluorescencia de clorofila *a*, también han demostrado que la eficiencia fotoquímica del fotosistema II (PSII) se reduce por causa de la infección (Van Kooten *et al.*, 1990; Bassanezi *et al.*, 2003; Baker y Rosenqvist, 2004; Bonfig *et al.*, 2006;) y esta a su vez ocasiona modificaciones en el aparato fotosintético (Lichtenthaler y Miehe', 1997).

Sin embargo, las enfermedades no sólo producen cambios en la fisiología de la planta sino que alteran principalmente la respuesta espectral de la misma (Mahlein *et al.*, 2013). Según Mahlein *et al.* (2012), las tecnologías de sensores remotos pueden proveer una alternativa automática y objetiva para la detección y evaluación en campo de las enfermedades de cultivos. Varios estudios han demostrado la posibilidad de utilizar sensores remotos para discriminar entre plantas sanas, y plantas no saludables o enfermas (Moshou *et al.*, 2004; Delaliux *et al.*, 2009; Rumpf *et al.*, 2010; Hillnhütter *et al.*, 2011; Mahlein *et al.*, 2012).

Es común que las condiciones sanitarias de un cultivo bajo condiciones de campo sean evaluados por métodos directos tales como exploración y comprobación en el dosel de las plantas. Sin embargo, este método requiere bastante tiempo y mucha mano de obra, lo que resulta en un aumento de costos para la vigilancia de la enfermedad en la agricultura a gran escala (Zhang *et al.*, 2002). Los métodos de estimación remota que utilizan firmas espectrales e hiperespectrales resultan ser muy precisos y eficientes para el monitoreo de las enfermedades en campo (Rumpf *et al.*, 2010).

En este sentido, las mediciones de reflectancia espectral se utilizan para la evaluación no destructiva del estado fisiológico de la vegetación (contenido de pigmento, área foliar), y para discriminar especies de cultivos o para detectar el impacto del estrés, tales como enfermedades de las plantas, el estrés por sequía o deficiencias nutricionales (Moran *et al.*, 1997; Richardson *et al.*, 2002; Blackburn, 2007). La detección mediante observación directa no permite identificar las fases tempranas de las enfermedades, por lo que las medidas de control además de ser inapropiadas, se aplican demasiado tarde (Mahlein *et al.*, 2013).

En consecuencia, los atributos biofísicos y bioquímicos de la vegetación pueden ser derivados por espectros de reflectancia. Los métodos ópticos, tales como sensores de imagen y sin imágenes hiperespectrales han demostrado ser una herramienta útil para detectar cambios en la vitalidad de la planta (Nilsson, 1995; West *et al.*, 2003; Hatfield *et al.*, 2008). Con las tecnologías de avión y de satélite de avance ha habido un interés creciente en el uso de sensores ópticos remotos para el mapeo y monitoreo de enfermedades de los cultivos en tiempo real en la escala local (Déguisé *et al.*, 1998; Bryant y Moran, 1999).

En *H. brasiliensis*, bajo condiciones de campo, no se ha documentado aún los efectos producidos por el SALB sobre las propiedades de reflectancia espectral de la planta, en cuyo caso dicho conocimiento representa una herramienta valiosa para la valoración no destructiva del estado fisiológico de la misma, el impacto del estrés ocasionado, la discriminación, detección temprana y el monitoreo en tiempo real del SALB.

De acuerdo con lo anterior, el objetivo fue determinar cuál es el comportamiento de los clones de caucho FX 3864 y FX 4098 en respuesta a la infección por *Microcyclus ulei*, en condiciones ambientales de jardín clonal en Caquetá-Colombia, para lo cual se analizó: (a) la variación de los principales parámetros climáticos medidos en el tiempo real durante las evaluaciones fisiológicas, (b) el intercambio gaseoso y la fluorescencia de la clorofila, y (c) la reflectancia espectral.

3.4 Materiales y métodos

3.4.1 Área de estudio

El estudio se realizó en los jardines clonales de caucho de la Asociación de Reforestadores y Cultivadores de Caucho del Caquetá-ASOHECA, localizados entre las coordenadas 1° 32' 54" y 1° 32' 50" de latitud Norte y 75°28'47" y 75°28'44" de longitud Oeste en la vereda Itarca, inspección de Santuario en el municipio de La Montañita (Caquetá, Colombia) (Anexo 5). Ésta zona se encuentra situada en el área de transición entre la cordillera oriental y la planicie amazónica a 450 msnm, presenta una precipitación de 3340 mm, una temperatura de 25.2 °C, una humedad relativa de 85.7% y un brillo solar de 1452 horas/luz/año (IDEAM, 2009).

3.4.2 Material vegetal

Se seleccionaron plantas monopodiales de 12 meses de edad con una altura promedio de 2.0 ± 0.1 m y un diámetro a la altura del pecho (DAP) de 3.8 ± 0.2 cm de los clones de caucho FX 4098 y FX 3864 (Tabla 2-1) pertenecientes a los jardines clonales de ASOHECA en el municipio de La Montañita, Caquetá (Colombia). La identidad varietal del clon FX 3864 fue confirmada por Fonseca y Aristizabal (2010) y la del clon FX 4098 por Quintero *et al.* (2012), mediante el uso de la técnica SSR usando cinco pares de cebadores microsatélites del genoma de *H. brasiliensis*: hmac4, hmac5, hmct1, hmct5 (Saha *et al.*, 2005), y M574 (Lespinasse *et al.*, 2000; Lekawipat *et al.*, 2003).

3.4.3 Condiciones de infección natural y manejo del experimento

Para cada uno de los clones de caucho se delimitaron dos parcelas pareadas, cada una con 100 individuos a razón de 20 individuos por surco de siembra, los cuales fueron previamente sembrados (12 meses de edad) con un distanciamiento de 1 m x 1 m. Una de las parcelas estuvo libre de la aplicación de plaguicidas (tratamiento sin control químico, SQ) para aumentar la probabilidad de infección natural debida al inóculo de *M. ulei* presente en el ambiente, mientras que la parcela homóloga recibió aspersiones (tratamiento con control químico, Q) semanales y alternadas con cada uno de los siguiente fungicidas: Clorotalonil (2.5 g.l^{-1}), Mancozeb (2.5 g.l^{-1}) y Azoxystrobin/Cyproconazol (1.0 ml.l^{-1}). Estas aplicaciones se realizaron cinco meses antes de las evaluaciones fisiológicas con el fin de tener una parcela control, con ausencia de síntomas o signos visibles producidos por el SALB.

Asimismo, se realizaron controles mecánicos de arvenses mensualmente y se aplicó un plan de fertilización cada dos meses de acuerdo con los requerimientos nutricionales del cultivo del caucho (Viegas *et al.*, 1992) con aplicaciones edáficas de NPK (100 g por planta) y de elementos menores (15 g por planta).

3.4.4 Selección de las severidades del SALB según el estadio de desarrollo del patógeno

Durante la época de mayor prevalencia del SALB (*M. ulei*) (marzo a septiembre) en Caquetá (Colombia) (Sterling *et al.*, 2010c), para cada clon de caucho, en cada parcela pareada y mediante un muestreo dirigido, se seleccionaron para cada uno de los estados fenológicos foliares del cultivo de caucho (Halle *et al.*, 1978) las clases de severidad del SALB producidas por diferentes estadios de desarrollo de *M. ulei* en condiciones ambientales (Tabla 3-1). En este sentido, por cada clase de severidad se escogieron cinco plantas y dos foliolos por planta. La planta se consideró como la unidad experimental.

Tabla 3-1. Clases de severidad del mal suramericano de las hojas (*Microcyclus ulei*) según la fenología foliar y el estadio de desarrollo del patógeno, presentes en dos clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) en condiciones de jardín clonal en Caquetá (Colombia).

Tratamiento ^a	Fenología foliar ^b	Estadio de desarrollo del patógeno	Clave	Clases de severidad ^c
FX 3864 (Altamente susceptible)				
Q	B, C, C/D y D	–	–	0
SQ	B, C, C/D y D	–	–	0
SQ	B	<i>Fusicladium macrosporum</i> (fase conidial)	BFm	1, 2 y 3
SQ	C	<i>Fusicladium macrosporum</i> (fase conidial)	CFm	1, 2, 3 y 4
SQ	C/D	<i>Aposphaeria ulei</i> (fase picnidial)	C/DAu	1, 2, 3 y 4
SQ	D	<i>Microcyclus ulei</i> (fase ascospórica)	DMu	1, 2, 3 y 4
FX 4098 (M oderadamente resistente)				
Q	B, C, C/D y D	–	–	0
SQ	B, C, C/D y D	–	–	0
SQ	B	<i>Fusicladium macrosporum</i> (fase conidial)	BFm	1 y 2
SQ	C	<i>Fusicladium macrosporum</i> (fase conidial)	CFm	1 y 2
SQ	C/D	<i>Aposphaeria ulei</i> (fase picnidial)	C/DAu	1 y 2
SQ	D	<i>Microcyclus ulei</i> (fase ascospórica)	DMu	1 y 2

^aQ, plantas con control químico [aplicaciones semanales y alternadas con cada uno de los siguientes fungicidas: Clorotalonil (2.5g.l⁻¹), Mancozeb (2.5g.l⁻¹) y Azoxystrobin/Cyproconazol (1.0 ml.l⁻¹), cinco meses previos al registro de las evaluaciones fisi

^bB, C, C/D y D, foliolos con 16 -20, 24 - 28, 80 - 90 y 140 -150 días de edad, respectivamente

^cDefinidas por el porcentaje de área foliar lesionada, valorada de 0 a 4: 0= nulo (0%); 1= bajo (0.2 - 5%); 2= medio (6 - 15%); 3= alto (18 - 30%); 4= muy alto (40 - 100%) (Adaptado de Gasparotto *et al.*, 1989).

3.4.5 Medición en tiempo real de los principales parámetros climáticos

En el desarrollo de las evaluaciones fisiológicas realizadas en jardín clonal, se registraron en tiempo real las variables ambientales: PAR (radiación fotosintéticamente activa) con un equipo portátil de intercambio de gases IRGA de tipo abierto (TPS 2, PP Systems, USA), temperatura ambiente y humedad relativa con un termohigrómetro portátil (Kestrel®3000 Pocket, Nielsen-Kellerman, USA). Los datos climáticos se sistematizaron y analizaron en valores medios para cada clon, en cada estadio foliar y para cada una de las clases de severidad registradas, con el fin de discutir la influencia o relación de éstos con los parámetros fisiológicos estudiados.

3.4.6 Evaluación del intercambio gaseoso y fluorescencia de la clorofila *a* en los clones de caucho FX 3864 y FX 4098 en respuesta a la infección por *Microcyclus ulei* bajo condiciones ambientales

- **Intercambio gaseoso**

Se midieron la tasa de asimilación neta de CO₂ (*A*) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), la tasa de transpiración (*E*) ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) y la conductancia estomática (*g_s*) ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) por medio de un equipo portátil de intercambio de gases IRGA de tipo abierto (TPS 2, PP Systems, USA). Asimismo se calculó la eficiencia en el uso del agua, por su sigla en inglés *WUE* (water use efficiency) mediante la expresión $WUE = A/E$, que permite determinar el balance entre la pérdida de agua y la toma de CO₂ (Bacon, 2004). Las lecturas se tomaron después de la estabilización de los valores de *A* y *g_s*. Se utilizó el equipo a PAR, temperatura y CO₂ ambientales (Tabla 3-3). Durante las mediciones, la temperatura foliar osciló entre 26.7 y 33.3 °C. Las evaluaciones se realizaron entre las 9:00 y las 11:00 am en cinco plantas y dos folíolos por planta, para cada una de las clases de severidad registradas en cada estadio foliar de cada clon de caucho. Las evaluaciones de intercambio gaseoso se realizaron en los años 2012 y 2013.

Previo al inicio de las evaluaciones de intercambio gaseoso y con el fin de determinar el valor de referencia de *A* a luz saturante (*A_{max}*), en condiciones naturales de jardín clonal, se realizaron con el IRGA entre las 9:00 y las 11:00 am curvas de saturación fotosintética por luz en cada clon (cinco plantas), en los estadios C (22 – 24 días) y D (80 – 90 días) (dos folíolos por estadio) y en las clases de severidad ‘0’ y ‘2’ para el clon FX 4098 y ‘0’ y ‘4’ para el FX 3864. A partir de las curvas de luz se calcularon los puntos de compensación lumínica, los puntos de saturación luminosa (fotosíntesis máxima a saturación por luz) y la eficiencia fotosintética (tasa de producción de CO₂ por energía lumínica captada) por medio del modelo estadístico de Mitscherlich (Aleric y Kirkman, 2005) (Anexos 6). Dadas las características del equipo, la determinación de la curva de luz se empezó con un PPF de 2023 $\mu\text{mol fotonos/m}^2 \cdot \text{s}$ y en adelante en forma descendente a 1547, 711, 418, 279, 205, 147, 66, 15 y 0 $\mu\text{mol fotonos m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ con temperatura (31.5 °C) y CO₂ constante (380 ppm).

- **Fluorescencia de la clorofila *a***

Los parámetros de fluorescencia de la clorofila *a* se estimaron inmediatamente después de las medidas de intercambio gaseoso mediante un fluorómetro portátil de pulso modulado (Hansatech, Hoddesdon, Inglaterra). Las evaluaciones se realizaron en los mismos folíolos que se utilizaron para las mediciones de intercambio gaseoso. Previo al registro de los parámetros de fluorescencia, el punto de medición de cada folíolo se adaptó a la oscuridad durante 30 min. Una vez realizado éste procedimiento, el tejido vegetal se expuso a un haz débil de luz modulada ($0.03 \mu\text{mol m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) para determinar la fluorescencia inicial (F_0). Luego un pulso de luz blanca saturante de $6000 \mu\text{mol m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ fue aplicado por 1 s para asegurar la máxima emisión de fluorescencia (F_m), a partir de la cual se calculó el parámetro $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$ (rendimiento cuántico máximo del fotosistema II, PSII). Se calcularon además bajo condiciones de luz actínica ($1000 \mu\text{mol m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) los siguientes parámetros: eficiencia en la captura de la energía de excitación para los centros de reacción abiertos del PSII (F_v'/F_m'), los coeficientes de los quenching (apagamientos) fotoquímico (qP) y no fotoquímico (NPQ) y la tasa de transporte de electrones, por su sigla en inglés ETR (electron transport rate). La ETR se calculó con la ecuación: $\text{ETR} = \Phi_{\text{PSII}} \times \text{PPFD} \times f \times \alpha$, donde Φ_{PSII} corresponde al rendimiento cuántico del PSII calculado con la fórmula: $(F_m' - F_s)/F_m'$; f es un factor que cuantifica la partición de energía entre PSII (fotosistema II) y PSI (fotosistema I) y se asume con un valor de 0.5, lo cual indica que la energía de excitación es distribuida equitativamente entre los dos fotosistemas; y α es la absorbancia del tejido fotosintético de una hoja, cuyo valor se asume en 0.84 (Maxwell y Johnson, 2000). Las evaluaciones de fluorescencia de la clorofila *a* se realizaron por duplicado (años 2012 y 2013).

3.4.7 Determinación de la respuesta espectral en los clones de caucho FX 3864 y FX 4098 a la infección por *Microcyclus ulei* en condiciones ambientales

- **Medición de la reflectancia a nivel foliar**

La reflectancia espectral se midió inmediatamente después de las medidas fisiológicas con un espectrorradiométrico portable, mediante el uso de un cable de fibra óptica de 2m apoyado por un brazo metálico extensible (Espectrorradiómetro Apogee PS-100, StellarNet, Inc, Tampa, USA). El rango espectral fue de 300 – 1000 nm. Dado que los datos de reflectancia espectral presentaron ruido en los extremos, se analizaron los valores entre 400 y 900 nm. El intervalo de escaneo espectral fue automáticamente interpolado a 1 nm mediante el software SpectraWiz de StellarNet. El espectrorradiómetro se calentó durante 60 min y se calibró previo a las mediciones espectrales, con el fin de incrementar la calidad y homogeneidad de los datos de reflectancia. El promedio de 30 mediciones en el negro se calibró en relación con el promedio de 30 mediciones realizadas sobre una superficie blanca de referencia (reflectancia estándar) (RS50, StellarNet, Inc Tampa, USA), iluminada con una lámpara de luz halógena de 100 Watt. Dada la variación lumínica en campo, se ajustó de manera constante el tiempo de integración entre 100 y 120 ms por escaneo.

Para la obtención de las firmas espectrales se realizaron tres escaneos por foliolo (un registro en el ápice y dos registros, uno a cada lado de la mitad inferior de la vena central de la superficie adaxial) en los dos foliolos de cada planta, con el fin de optimizar el barrido espectral a nivel foliar. Cada escaneo representó el promedio de 30 espectros de reflectancia. El cable de fibra óptica se ubicó a una distancia de 2.5 cm de cada foliolo, con el fin de tener un diámetro de escaneo de 1.35 cm en cada lectura espectral. Los datos espectrales se tomaron en cinco plantas y dos foliolos por planta, para cada una de las clases de severidad registradas en cada estadio foliar de cada clon de caucho. Se analizó el espectro de cinco plantas para cada una de las combinaciones evaluadas (clon/fenología/severidad). Las evaluaciones espectrales se realizaron por duplicado (años 2012 y 2013).

Medición del Índice de Concentración de Clorofila (CCI)

Un medidor portátil de clorofila CCM-200 plus (Opti-Sciences, Inc, USA) permitió medir el Índice de Concentración de Clorofila por sus siglas en inglés CCI (Chlorophyll Concentration Index). El CCI es proporcional a la cantidad de clorofila presente en el tejido vegetal, por lo que este valor es un valor relativo del contenido de clorofila (Richardson *et al.*, 2002; Atkinson *et al.*, 2006; Liberloo *et al.*, 2007). En cada medición, el CCI fue obtenido a partir de la absorbancia óptica a 653 y 931 nm sobre una superficie de tejido vegetal de 71 mm². La calibración se realizó luego de encenderse el equipo y una vez se accedió al panel de medición, manteniendo cerrada y libre la cámara de medición. Una respuesta acústica del equipo 2 – 3 segundos confirmó el proceso de calibración. Las mediciones del CCI (de 0 a 200) se realizaron en cada foliolo inmediatamente después de las lecturas espectrales y en los mismos puntos de muestreo donde se realizaron los escaneos espectrales (Richardson *et al.*, 2002; Pietrzykowski *et al.*, 2006). Los valores de CCI se registraron en cinco plantas y en dos foliolos por planta, para cada clase de severidad en cada estadio foliar de cada clon de caucho. Se analizaron los valores de CCI en cinco plantas para cada una de las combinaciones (clon/fenología/severidad). Las mediciones se realizaron por duplicado (años 2012 y 2013).

3.4.8 Análisis estadísticos

- **Análisis de los principales parámetros climáticos**

Se realizaron pruebas de análisis de varianza (anova) ($\alpha = 0.05$) sobre los principales parámetros climáticos (PAR, T y HR) tomados en tiempo real, con el fin de evaluar la variación de éstos a través de las clases de severidad en las que se tomaron los respectivos registros fisiológicos dentro de cada estadio foliar y en cada clon de caucho. Se compararon también mediante anova, las medias de éstos parámetros entre los dos clones para cada uno de los estadios foliares evaluados. Se probaron los supuestos de normalidad (Q-Q plot y prueba de Shapiro-Wilks) y homocedasticidad (fitted plot y prueba de Levene) sobre los residuales de los datos con una significancia del 5%. La separación de medias se realizó mediante la prueba de comparaciones múltiples LSD de Fisher ($\alpha = 0.05$).

- **Intercambio gaseoso y fluorescencia de la clorofila *a* en respuesta a la infección por *Microcyclus ulei***

Se realizaron análisis de varianza (anova) para evaluar el efecto de la clase de severidad producida por *M. ulei* según el estadio de desarrollo expresado en condiciones ambientales del jardín clonal, sobre los principales parámetros fisiológicos (A , g_s , E , WUE , F_v/F_m , F_v'/F_m' , qP , NPQ y ETR) registrados en cada clon de caucho y en cada estadio foliar, así como la influencia que tuvo el clon (independiente del nivel de severidad) sobre estas variables para cada uno de los estadios foliares evaluados. Se probaron los supuestos de normalidad (Q-Q plot y prueba de Shapiro-Wilks) y homocedasticidad (fitted plot y prueba de Levene) sobre los residuales de los datos con una significancia del 5%. La separación de medias se realizó mediante la prueba de comparaciones múltiples LSD de Fisher ($\alpha = 0.05$). Los coeficientes de correlación (Prueba de Pearson) entre las clases de severidad y las variables fisiológicas se estimaron para los datos de las plantas del clon susceptible (FX 3864) para cada uno de los estadios de desarrollo de *M. ulei* expresados en los distintos estadios foliares (B, C, C/D y D) (Tabla 3-1).

- **Respuesta espectral a la infección por *Microcyclus ulei***

A partir de las lecturas de reflectancia se construyeron las firmas espectrales para cada clase de severidad expresada por los diferentes estadios de desarrollo de *M. ulei* en cada uno de los estadios foliares (B, C, C/D y D) en ambos clones de caucho. Un análisis de varianza permitió evaluar la significancia de la severidad sobre la reflectancia en el espectro visible (VIS, 400 - 700 nm) y en el infrarrojo cercano (NIR, 700 - 900 nm). En este mismo sentido, con el fin de detectar en qué longitudes de onda se presentaron las mayores diferencias, se calculó la diferencia de reflectancia, restando las medias de reflectancia de folíolos sanos a las medias de folíolos infectados en cada longitud de onda (Mahlein *et al.*, 2010). Adicionalmente, se calculó la sensibilidad de la reflectancia como el cociente entre las medias de reflectancia de folíolos infectados y las medias de folíolos sanos en cada longitud de onda (Delaliux *et al.*, 2009). Un análisis de correlación lineal simple de Pearson, permitió analizar la intensidad de la relación entre la firma espectral y la severidad en el VIS y en el NIR (Pietrzykowski *et al.*, 2006).

Se utilizaron índices de vegetación espectral (IVEs) relacionados con diferentes parámetros fisiológicos con el fin de identificar y discriminar entre clones, estadios fenológicos y clases de severidad. En este sentido, se emplearon IVEs obtenidos de las curvas de sensibilidad de la reflectancia (máximos y mínimos) para folíolos jóvenes (B y C) y maduros (C/D y D), e IVEs relevantes reportados en la literatura (Tabla 3-2).

Se realizó un análisis de varianza para determinar qué IVEs presentaron diferencias significativas entre las clases de severidad con un nivel de significancia del 5%. Luego una prueba de comparaciones múltiples LSD de Fisher ($\alpha = 0.05$) permitió identificar las diferencias entre las medias de los IVEs para las clases de severidad analizadas. A continuación se calcularon los coeficientes de correlación de Pearson entre las clases de severidad del SALB, el contenido relativo de clorofila medido con el CCM 200-Plus y los

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

IVEs utilizados. Para éste análisis de correlación se tuvo en cuenta para foliolos sanos, los datos del tratamiento 0Q (con control químico), dado que éste tratamiento se empleó para asegurar la evaluación de foliolos *sensu stricto* libres del SALB en condiciones de jardín clonal.

Tabla 3-2. Índices de vegetación espectral y algoritmos utilizados para analizar la respuesta espectral de dos clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) al mal suramericano de las hojas (*Microcyclus ulei*) en condiciones ambientales de jardín clonal.

Índice	Ecuación ^a	Relacionado con	Referencia
R438/R570	R438/R570	Clorofila (foliolos ^b B y C)	Autor
R670/R569	R670/R569	Clorofila (foliolos D1 y D2)	Autor
R678/R550	R678/R550	Clorofila	(Pietrzykowi <i>et al.</i> (2006)
Índice de vegetación de diferencia normalizada	NDVI = (R800 - R680)/(R800 + R680)	Biomasa/área de la hoja	Lichtenthaler <i>et al.</i> (1996)
Índice de reflectancia fotosintético	PRI = (R570 - R531)/(R570 + R571)	Xantófila	Gamón <i>et al.</i> (1990)
R850/R710	R850/R710	Clorofila	Datt (1999)
Índice independiente de la estructura del pigmento	SIPi = (R800 - R445)/(R800 + R680)	Carotenoides: clorofila a	Penuelas <i>et al.</i> (1995)
Índice de reflectancia de antocianina	ARI = (1/R550) - (1/R700)	Antocianina	Gitelson <i>et al.</i> (2001)

^aReflectancia en longitudes de onda indicadas

^bB, C, C/D y D, foliolos con 16 -20, 24 - 28, 80 - 90 y 140 -150 días de edad, respectivamente

Finalmente, se realizó una regresión lineal múltiple mediante el método stepwise (regresión por pasos) con el fin de seleccionar el mejor modelo predictivo de la enfermedad para cada clon de caucho, capaz de discriminar entre clases de severidad para cualquier fenología foliar o estadio de desarrollo del patógeno. Para el análisis de regresión se tuvieron en cuenta longitudes de onda sensibles a la severidad del SALB en el VIS y en el NIR, así como los IVEs estudiados. En la construcción del modelo se excluyeron los datos de foliolos sanos del tratamiento 0SQ (sin control químico), dado que con el modelo resultante se procuró predecir la severidad '0' en foliolos *sensu stricto* libres del SALB. Se probaron los supuestos de normalidad, no autocorrelación de Durbin-Watson y la multicolinealidad.

El modelo con el menor número de variables significativas dados los mejores coeficientes de determinación (R^2) y el error cuadrático medio (ECM) se utilizaron como criterios para la selección del mejor modelo. Se realizó un diagrama de dispersión entre los valores predichos contra los valores observados y se trazó la línea de ajuste de la regresión lineal entre estos valores (validación independiente). Se calcularon también los porcentajes de clases de severidad subestimadas, sobrestimadas y correctamente clasificadas. Todos los análisis estadísticos se corrieron en el programa InfoStat versión 2013 (Di Rienzo *et al.*, 2013).

3.5 Resultados y discusión

3.5.1 Variación de los principales parámetros climáticos medidos en tiempo real durante las evaluaciones fisiológicas

En la tabla 3-3 se presentan los principales parámetros climáticos registrados en tiempo real durante las evaluaciones fisiológicas en jardín clonal.

Tabla 3-3. Medias de los principales parámetros climáticos registrados durante las evaluaciones fisiológicas en dos clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) sometidos a presión de inóculo natural de *Microcyclus ulei* en condiciones de jardín clonal en Caquetá (Colombia)

Fenología foliar ^d	Estadio de desarrollo del patógeno	Severidad	PAR ($\mu\text{mol fotones m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	T (°C)	HR (%)	
FX 3864 (clon altamente susceptible)						
B	<i>Fusicladium macrosporum</i>	–	0Q	704.5 ± 80.21 ^{a b}	26.5 ± 0.05 ab	85.8 ± 0.04 a
		–	0SQ	779.8 ± 80.21 ab	26.8 ± 0.05 ab	85.6 ± 0.04 a
		1	893.4 ± 80.21 a	26.6 ± 0.05 ab	85.5 ± 0.04 a	
		2	623.2 ± 80.21 ab	26.2 ± 0.05 a	85.7 ± 0.04 a	
		3	843.2 ± 80.21 ab	26.6 ± 0.05 ab	85.9 ± 0.04 a	
		Media ^c	768.8 a	26.5 a	85.7 a	
C	<i>Fusicladium macrosporum</i>	–	0Q	726.6 ± 109.12 bc	26.3 ± 0.09 bc	85.1 ± 0.09 bc
		–	0SQ	442.2 ± 109.12 c	25.6 ± 0.09 c	85.4 ± 0.09 c
		1	1049.5 ± 109.12 a	27.8 ± 0.09 a	83.8 ± 0.09 a	
		2	966.9 ± 109.12 ab	27.7 ± 0.09 a	83.5 ± 0.09 a	
		3	1152.4 ± 109.12 a	28.2 ± 0.09 ab	84.3 ± 0.09 ab	
		4	498.6 ± 109.12 c	25.8 ± 0.09 c	85.2 ± 0.09 c	
Media	806.0 a	26.9 a	84.5 a			
C/D	<i>Aposphaeria ulei</i>	–	0Q	1550.2 ± 69.5 a	31.8 ± 0.07 a	79.8 ± 0.09 a
		–	0SQ	1396.7 ± 69.5 a	31.6 ± 0.07 a	80.2 ± 0.09 a
		1	1444.9 ± 69.5 a	31.8 ± 0.07 a	80.2 ± 0.09 a	
		2	1490.1 ± 69.5 a	31.7 ± 0.07 a	79.8 ± 0.09 a	
		3	1369.2 ± 69.5 a	31.7 ± 0.07 a	80.4 ± 0.09 a	
		4	1438.8 ± 69.5 a	31.3 ± 0.07a	79.9 ± 0.09 a	
Media	1448.3 a	31.6 a	80.1 b			
D	<i>Microcyclus ulei</i>	–	0Q	1256 ± 150.7 ab	31.3 ± 0.07 a	80.1 ± 0.09 a
		–	0SQ	1256 ± 150.7 ab	31.5 ± 0.07 a	80.8 ± 0.09 a
		1	1465.4 ± 150.7 ab	30.9 ± 0.07 a	80.2 ± 0.09 a	
		2	1163.2 ± 150.7 ab	31.4 ± 0.07 a	80.1 ± 0.09 a	
		3	1687 ± 150.7 a	31.2 ± 0.07 a	79.8 ± 0.09 a	
		4	1507.9 ± 150.7 ab	31.3 ± 0.07 a	79.9 ± 0.09 a	
Media	1389.2 a	31.2 a	80.1 a			

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

Tabla 3-3 (Cont.)

Fenología foliar ^d	Estadio de desarrollo del patógeno	Severidad	PAR ($\mu\text{mol fotones m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	T (°C)	HR (%)
FX 4098 (clon moderadamente resistente)					
B	-	0Q	610.5 ± 72.13 ab	25.5 ± 0.07 a	86.6 ± 0.09 a
		0SQ	678.6 ± 72.13 ab	25.3 ± 0.07 a	86.8 ± 0.09 a
	<i>Fusicladium macrosporum</i>	1	831.2 ± 72.13 a	25.9 ± 0.07 a	86.5 ± 0.09 a
		2	542.2 ± 72.13 ab	25.4 ± 0.07 a	86.2 ± 0.09 a
		Media	665.6 a	25.5 b	86.5 b
	C	-	0Q	344.8 ± 79.86 a	24.3 ± 0.07 a
0SQ			321.1 ± 79.86 a	24.9 ± 0.07 a	88.6 ± 0.09 a
<i>Fusicladium macrosporum</i>		1	506.0 ± 79.86 a	24.6 ± 0.07 a	88.8 ± 0.09 a
		2	365.2 ± 79.86 a	24.3 ± 0.07 a	88.2 ± 0.09 a
		Media	384.3 b	24.5 b	88.5 b
C/D		-	0Q	850.6 ± 80.4 a	28.9 ± 0.07 a
	0SQ		842.4 ± 80.4 a	28.6 ± 0.07 a	85.7 ± 0.09 a
	<i>Aposphaeria ulei</i>	1	447.2 ± 80.4 b	27.3 ± 0.07 b	84.1 ± 0.09 b
		2	955.6 ± 80.4 a	28.2 ± 0.07 a	85.0 ± 0.09 a
		Media	773.9 b	28.2 b	85.2b
	D	-	0Q	964.3 ± 62.95 a	27.5 ± 0.07 a
0SQ			598.5 ± 62.95 c	28.7 ± 0.07 c	83.6 ± 0.09 c
<i>Microcyclus ulei</i>		1	729.2 ± 62.95 bc	28.8 ± 0.07 bc	83.8 ± 0.09 bc
		2	913 ± 62.95 ab	27.4 ± 0.07 ab	84.7 ± 0.09 ab
		Media	801.3 b	28.1 b	84.2 b

^aError estándar

^bMedias en cada columna para cada fenología/patógeno seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente (Prueba LSD, $p < 0.05$)

^cValores promedios entre clones para un misma fenología foliar, seguidos por la misma letra no difieren estadísticamente (Prueba LSD, $p < 0.05$)

^dB, C, C/D y D, folíolos con 16 -20, 24 - 28, 80 - 90 y 140 -150 días de edad, respectivamente

PAR, radiación fotosintéticamente activa; T, temperatura ambiente; HR, humedad relativa; Q, plantas con control químico [aplicaciones semanales y alternadas con cada uno de los siguiente fungicidas: Clorotalonil ($2.5\text{g}\cdot\Gamma^{-1}$), Mancozeb ($2.5\text{g}\cdot\Gamma^{-1}$) y Azoxystrobin/Cyproconazol ($1.0\text{ml}\cdot\Gamma^{-1}$), cinco meses previos al registro de las evaluaciones fisiológicas); SQ, plantas sin control químico.

De acuerdo con la tabla 3-3, se presentaron variaciones significativas en la PAR, T y HR durante las evaluaciones fisiológicas realizadas entre las clases de severidad producidas por *F. macrosporum* en folíolos C del clon FX 3864 y en las generadas por *A. ulei* y *M. ulei* en folíolos C/D y D, respectivamente, en el clon FX 4098. Asimismo, hubo diferencias significativas en el registro de los parámetros climáticos entre clones, excepto para la PAR, durante las evaluaciones fisiológicas que se realizaron entre las severidades producidas por *F. macrosporum* en folíolos B.

3.5.2 Intercambio gaseoso y fluorescencia de la clorofila *a* de los clones de caucho FX 3864 y FX 4098 en respuesta a la infección por *Microcyclus ulei* en condiciones ambientales de jardín clonal

- **Parámetros fotosintéticos**

En ambos clones de caucho, se encontraron diferencias significativas en *A*, *E* y *WUE* entre las clases de severidad del SALB producidas por *F. macrosporum* en foliolos B (BFm) y C (CFh) y entre las clases de severidad producidas por *A. ulei* y *M. ulei* en foliolos C/D (C/DAu) y D (DMu), respectivamente (Tabla 3-4). El valor medio de g_s no varió significativamente entre las clases de severidad producidas por *M. ulei* en foliolos C/D (clon FX 3864) y entre las severidades generadas por *F. macrosporum* en foliolos C (clon FX 4098). Entre clones de caucho, las mayores diferencias en los parámetros de intercambio gaseoso se observaron en los estadios foliares B y D. En el estadio foliar C sólo se presentaron diferencias significativas en g_s y en foliolos C/D no se presentaron diferencias en ninguno de los parámetros evaluados.

Tabla 3-4. Análisis de varianza de los efectos severidad del mal suramericano de las hojas (*Microcyclus ulei*) y clon de caucho (*Hevea brasiliensis*), para las variables fisiológicas tasa de asimilación neta de CO₂ (*A*), conductancia estomática a vapor de agua (g_s), tasa de transpiración (*E*), eficiencia en el uso del agua (*WUE*), rendimiento cuántico máximo del fotosistema II (PSII) (F_v/F_m), eficiencia en la captura de la energía de excitación por los centros abiertos del PSII (F_v/F_m'), coeficientes de los quenching fotoquímico (*qP*) y no fotoquímico (NPQ) y tasa de transporte de electrones (ETR).

Variables	Severidad								Clon			
	FX 3864				FX 4098							
	BFm ^a	CFh	D1Au	D2Mu	BFm	CFh	D1Au	D2Mu	BFm	CFh	D1Au	D2Mu
<i>A</i>	<0.001	<0.001	<0.002	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.007	0.398	0.829	0.008
g_s	0.003	<0.001	0.001	0.066	0.044	0.192	0.005	<0.001	0.193	<0.001	0.721	0.002
<i>E</i>	<0.001	<0.001	<0.001	0.003	0.003	0.009	0.003	0.009	0.016	0.895	0.325	0.002
<i>WUE</i>	<0.001	<0.001	0.004	<0.001	<0.001	<0.001	0.018	<0.001	0.002	0.372	0.061	0.359
F_v/F_m	0.021	0.238	0.015	0.018	0.245	0.408	0.549	0.191	0.413	0.104	0.241	0.618
F_v'/F_m'	0.013	0.014	0.103	0.279	0.855	0.503	0.244	0.703	0.218	<0.001	0.006	0.854
<i>qP</i>	0.394	0.114	0.669	0.41	0.398	0.292	0.519	0.502	0.361	0.008	0.080	<0.001
NPQ	0.723	0.089	0.557	0.022	0.893	0.376	0.463	0.033	0.782	0.502	0.005	0.734
ETR	0.139	0.310	0.190	0.072	0.729	0.050	0.061	0.802	0.042	0.019	<0.001	0.487

^aBFm, foliolos B (16 -20 días) infectados con *Fusicladium macrosporum*; CFm, foliolos C (24 - 28 días) infectados con *F. macrosporum*; C/DAu, foliolos C/D (80 - 90 días) infectados con *Aposphaeria ulei*; DMu, foliolos D (140 - 150 días) infectados con *Microcyclus ulei*.

En el clon FX 3864, en los foliolos de los estadios B, C, C/D y D con la mayor clase de severidad del SALB, hubo una reducción en *A* del 79.05, 92.8, 88.8 y 81.5% respectivamente, en comparación con los foliolos sanos (0Q). En el clon FX 4098 ésta reducción fue del 74.2, 54.8, 56.7 y 52.4% para foliolos B, C, C/D y D, respectivamente (Figuras 3-1A, B y 3-2A, B). Entre clones, el FX 3864 presentó una reducción significativa en *A* del 45.7 y 27.2% en foliolos B y D, respectivamente, en comparación con los foliolos correspondientes del clon FX 4098.

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

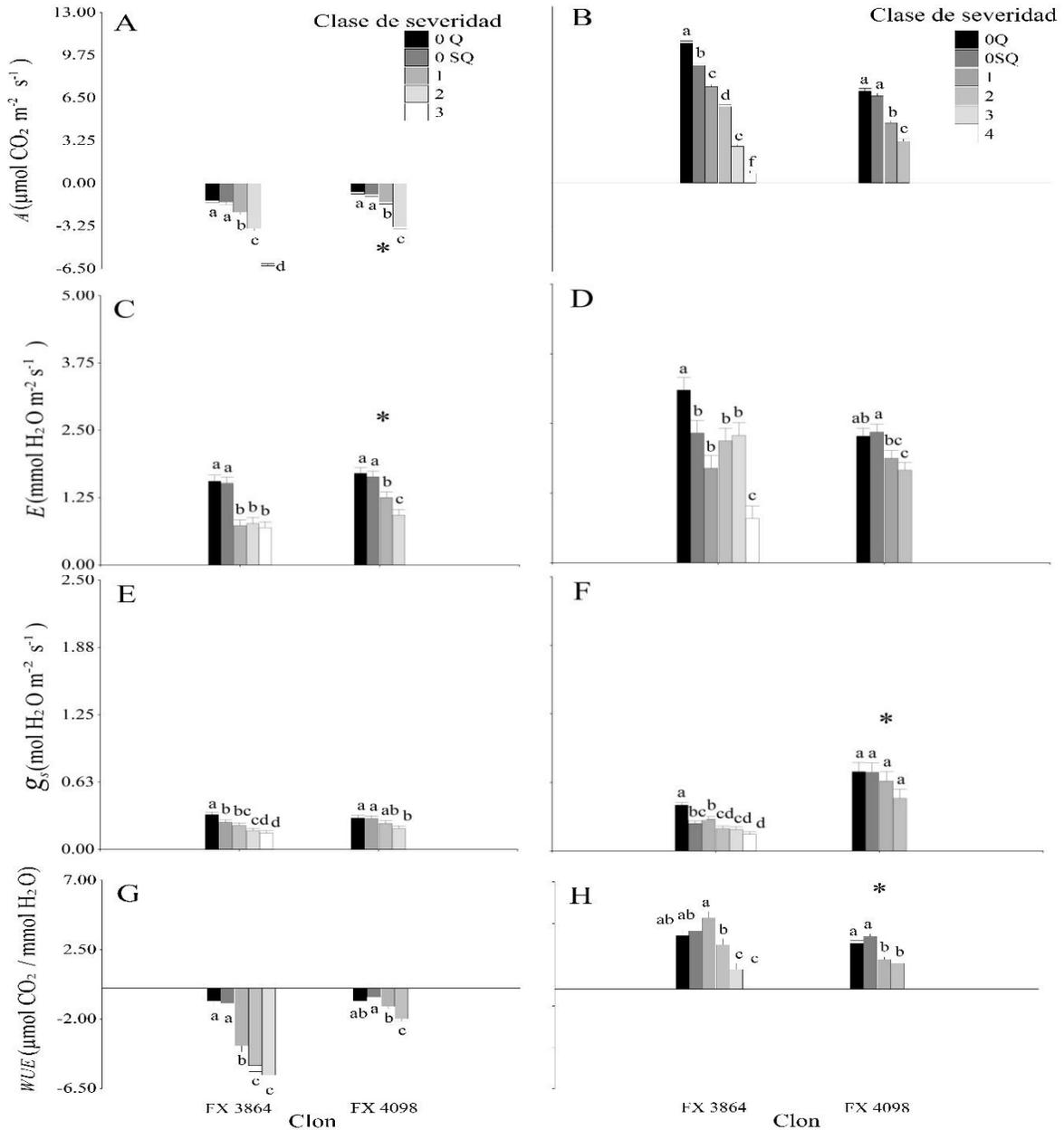


Figura 3-1. A y B, Tasa de asimilación neta de CO₂ (A), C y D, tasa de transpiración (E), E y F, conductancia estomática a vapor de agua (g_s); y G y H, eficiencia en el uso del agua (WUE) para dos clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) en folíolos jóvenes sanos (0Q, con control químico y 0SQ, sin control químico) y con cada una de las clases de severidad del SALB producidas por diferentes estadios de desarrollo de *Microcyclus ulei* en condiciones ambientales en jardín clonal. A, C, E y G, folíolos en estadio B (16 – 20 días) infectados con *Fusicladium macrosporum*; B, D, F y H, folíolos en estadio C (24 – 28 días) infectados con *F. macrosporum*. Medias para los clones FX 3864 y FX 4098 sin asterisco (*) y para las clases de severidad en cada clon seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente (Prueba LSD, $p < 0.05$). Las barras representan el error estándar de la media; $n = 5$

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

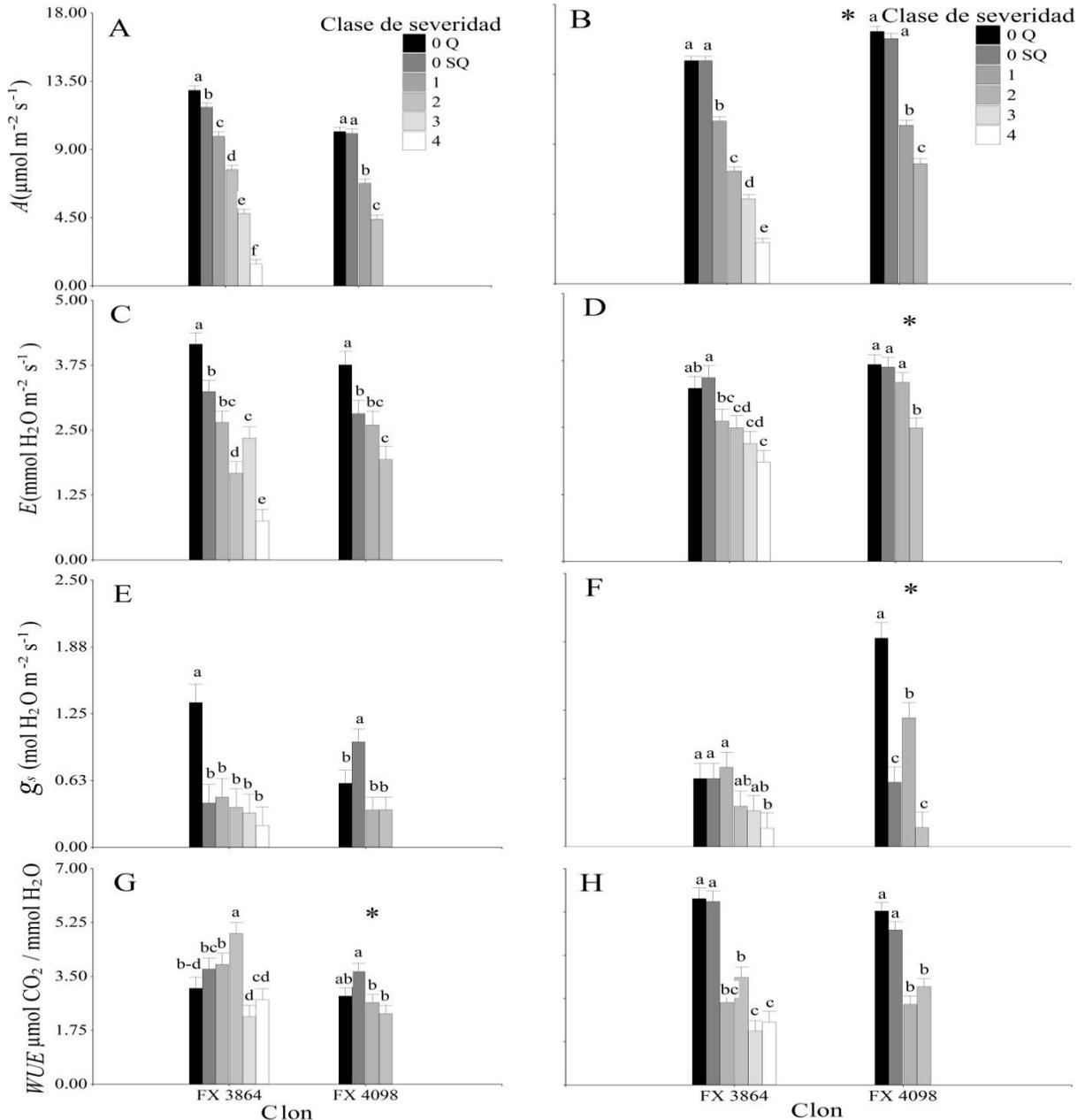


Figura 3-2. A y B, Tasa de asimilación neta de CO₂ (A), C y D, tasa de transpiración (E), E y F, conductancia estomática a vapor de agua (g_s); y G y H, eficiencia en el uso del agua (WUE) para dos clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) en folíolos maduros sanos (0Q, con control químico y 0SQ, sin control químico) y con cada una de las clases de severidad del SALB producidas por diferentes estadios de desarrollo de *Microcyclus ulei* en condiciones ambientales de jardín clonal. A, C, E y G, folíolos en estadio C/D (80 – 90 días) infectados con *Aposphaeria ulei*; B, D, F y H, folíolos en estadio D (140 – 150 días) infectados con *M. ulei*. Medias para los clones FX 3864 y FX 4098 sin asterisco (*) y para las clases de severidad en cada clon seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente (Prueba LSD, p < 0.05). Las barras representan el error estándar de la media; n = 5

En la clase de severidad más alta del SALB (según el estadio foliar), en el clon FX 3864 la mayor reducción significativa en E y g_s fue del 81.9% (foliolos C/D) y 85.2% (foliolos C/D), respectivamente. En relación con el WUE se observó incremento significativo del 85.1% en los valores negativos reportados para los foliolos B. En el clon FX 4098 la disminución de E y g_s fue del 48.6% (foliolos C/D) y 90.6% (foliolos D), respectivamente. Asimismo, los valores negativos de WUE se incrementaron en un 71.4% (foliolos B), (Figuras 3-1C, D, E, F, G, H y 3-2C, D, E, F, G, H).

Las bajas tasas fotosintéticas en los estadios foliares inmaduros (B y C) pueden estar asociados a procesos como la resistencia estomática, elevada respiración (Samsuddin y Impens, 1979; Schwob *et al.*, 1998) y altos puntos de compensación de CO_2 (Bergonci, 1981). Sin embargo, otras características como la acumulación de materia seca, el contenido de cloroplastos (Bergonci, 1981) y la conductancia estomática (Schwob *et al.*, 1998; Miguel *et al.* 2007) se incrementan con la edad de las hojas, alcanzando los máximos valores en los foliolos maduros. En el presente estudio, la combinación de estos parámetros pudieron contribuir con el incremento de la fotosíntesis neta y la eficiencia en el uso del agua en los dos clones evaluados.

Los valores negativos de la fotosíntesis neta en foliolos B reportados en este estudio pueden estar relacionados con bajos contenidos de clorofila y una baja actividad de la Rubisco (Lieberei, 2007; Miguel *et al.*, 2007). Asimismo, Bergonci (1981), reportó limitaciones físicas (resistencia estomática) y bioquímicas (contenido de clorofila y reducción de la actividad enzimática sobre el CO_2) en el proceso fotosintético presente durante la ontogenia foliar del clon de caucho FX 2261.

Por otro lado, Bergonci (1981) en el clon FX 2261 y Miguel *et al.* (2007) en los clones RRIM 600, PB 235 y GT 1, encontraron altas tasas fotosintéticas y una importante conductancia estomática en hojas completamente desarrolladas (foliolos D). En contraste, en foliolos del estadio B, ambos estudios reportaron tasas netas de fotosíntesis negativa y bajas conductancias estomáticas. Estos autores sugieren que la reducción en la conductancia estomática, depende principalmente de la transformación de las células pre-estomáticas durante el desarrollo de la hoja. Basado en estas afirmaciones, es posible que los foliolos de estadio B utilizados en la presente investigación no alcanzaron su desarrollo completo, implicando con esto una baja conductancia estomática y por tanto la ausencia de una fotosíntesis neta positiva.

Los resultados de la presente investigación muestran que los parámetros de intercambio gaseoso y la fluorescencia de la clorofila a fueron poco afectados en el clon moderadamente resistente en foliolos B y C infectados con *F. macrosporum*, C/D con *A. ulei* y D con *M. ulei*. Este comportamiento es afín con el buen desempeño agronómico que ha expresado éste material en condiciones de campo (Sterling y Correa, 2010; Rivano *et al.*, 2010; Sterling *et al.*, 2012, 2014a).

En contraste, en el clon susceptible (FX 3864) los parámetros de intercambio gaseoso fueron fuertemente afectados por la infección de *M. ulei* en todo los estadios foliares estudiados. Según Resende *et al.* (2012) y Aucique Pérez *et al.* (2014) en cualquier interacción hospedero-parásito, la reducción en la fotosíntesis, la disminución en la

concentración de pigmentos fotosintéticos, el daño estructural de los cloroplastos, las alteraciones en la disipación de energía a través de la fluorescencia de la clorofila y aumentos en la temperatura de la hoja, constituyen los principales efectos negativos que resultan de la infección por patógenos.

En el presente estudio, la infección por *M. ulei* sobre folíolos jóvenes (estadios B y C) y maduros (estadios C/D y D) de caucho, ocasionó efectos negativos significativos sobre la fotosíntesis (*A*) en plantas susceptibles al patógeno en condiciones de inoculación natural. En la medida en que la severidad del SALB se intensificó, los valores de *A* decrecieron significativamente en los cuatro estadios foliares, pero este efecto fue menos evidente en el clon con menor susceptibilidad al SALB (FX 4098). Según Lieberei (2007) los materiales con resistencia al SALB poseen diversos mecanismos bioquímicos y fisiológicos que incluyen una mayor concentración de compuestos fenólicos, lignina, HCN y fitoalexinas, un aumento en la actividad de las enzimas de defensa como quitinasas, α -hidroxinitrilo liasa y β -glucosidasas y una rápida transcripción de genes relacionados con la resistencia del hospedero.

La reducción en *A* debido al incremento en la severidad de las enfermedades foliares ha sido demostrada en otros estudios en condiciones semicontroladas y controladas (Bastiaans, 1993; Lopes y Berger, 2001; Pinkard y Mohammed, 2006; Hajji *et al.*, 2009; Alves *et al.*, 2011; Dallagnol *et al.*, 2011; Cruz-Aguilar *et al.*, 2012; Resende *et al.*, 2012; Polanco *et al.*, 2014; Rios *et al.*, 2014) y poco documentado en condiciones de campo (Pinkard y Mohammed, 2006; Hajji *et al.*, 2009).

En el patosistema *H. brasiliensis* – *M. ulei* (con sus anamorfos *F. macrosporum* y *A. ulei*) se observaron reducciones significativas en g_s en los folíolos con mayor intensidad de síntomas cloróticos y necróticos (clase de severidad ‘4’) principalmente en los estadios B, C y C/D. Alves *et al.* (2011) y Aucique Pérez *et al.* (2014) describieron esta misma situación con los patosistemas *E. urophylla* – *P. psidii* y *T. aestivum* – *P. oryzae*, respectivamente, en condiciones de invernadero.

Lo anterior permitiría afirmar que la reducción en *A* fue por acción de la enfermedad que probablemente llevó a diversas limitaciones bioquímicas en la asimilación y fijación del CO₂ en el estroma de los cloroplastos durante el ciclo de Calvin (Debona *et al.*, 2012; Aucique Pérez *et al.*, 2014). Estas reducciones en *A* pueden deberse específicamente a la baja actividad de enzimas fotosintéticas como la Rubisco (Guo *et al.*, 2005; Debona *et al.*, 2012; Rios *et al.* (2014)), los cambios en la capacidad de regeneración de RuBP (Taiz y Zeiger, 2006), o a enzimas involucradas en la degradación de fotoasimilados (Baker *et al.*, 1997).

Por otra parte, la disminución en *A* fue proporcional al incremento de la clase de severidad del SALB y la magnitud de la afectación congruente con la fenología foliar y con el nivel de resistencia clonal. Debona *et al.* (2012) en el patosistema *T. aestivum* – *P. oryzae*, observaron que *A*, *E* y g_s se redujeron drásticamente en dos cultivares de trigo con diferentes niveles de resistencia, aunque tales reducciones se produjeron en mayor medida para el cultivar susceptible.

Las reducciones en la transpiración (E) en los diferentes estadios foliares de las plantas infectadas del clon susceptible (FX 3864) pudieron relacionarse con disminuciones en los valores de g_s (dado que se observaron correlaciones positivas significativas principalmente en folíolos D infectados con *M. ulei*) y por tanto, pudieron estar asociadas con el cierre estomático. Distintos estudios han demostrado reducciones similares en E y g_s en los patosistemas *T. aestivum* – *P. triticina* (McGrath y Pennypacker, 1990), *Q. robur* – *E. alphitoides* (Hajji *et al.*, 2009), *E. urophylla* – *P. psidii* (Alves *et al.*, 2011), *O. sativa* – *B. oryzae* (Dallagnol *et al.*, 2011), *S. bicolor* – *C. sublineolum* (Resende *et al.*, 2012), *P. vulgaris* – *C. lindemuthianum* (Polanco *et al.*, 2014) y *T. aestivum* – *P. oryzae* (Rios *et al.*, 2014).

Las reducciones en E en las plantas susceptibles de caucho también podrían relacionarse con el incremento en la intensidad de los síntomas principalmente en folíolos C, C/D y D infectados con *F. macrosporum*, *A. ulei* y *M. ulei*, respectivamente. Esta idea es soportada por Resende *et al.* (2012) y Rios *et al.* (2014) quienes encontraron una asociación entre la reducción en E y los síntomas de desecación y marchitez observados en hojas altamente colonizadas con *C. sublineolum* en sorgo y con *P. oryzae* en trigo, respectivamente.

Asimismo, las reducciones en el uso eficiente del agua (WUE) se relacionaron con reducciones en A , E y g_s principalmente en folíolos jóvenes B y C. Estas reducciones en WUE implicarían por tanto, un desbalance entre la pérdida de agua por transpiración y la toma de CO_2 (Bacelar *et al.*, 2006; Poni *et al.*, 2009), es decir, una afectación en las estrategias utilizadas en los folíolos jóvenes de las plantas susceptibles de caucho para la conservación del agua en los tejidos foliares debido a la infección por *F. macrosporum*. En los folíolos D infectados con *M. ulei*, no se observó ninguna asociación de WUE con A , E y g_s , lo que debió implicar un mayor balance entre la pérdida de agua y la fotosíntesis, a pesar de que WUE decreció significativamente con el incremento de la severidad del SALB.

El menor impacto negativo observado sobre los parámetros de intercambio gaseoso en el clon FX 4098, podría explicarse más allá de la menor susceptibilidad al ataque de *M. ulei* (menor severidad), al incremento en la actividad de algunas enzimas del sistema antioxidante expresadas dentro de los mecanismos bioquímicos activos de defensa de la planta en respuesta a la infección (Agrios, 2005; Resende *et al.* 2012; Polanco *et al.* 2014)

En el presente estudio, en folíolos sanos de ambos clones de caucho, las mayores tasas fotosintéticas y la mayor eficiencia en el uso del agua se presentaron en folíolos completamente desarrollados (D). Esto coincide con Miguel *et al.* (2007) quienes observaron en folíolos maduros de 52 y 57 días, incrementos significativos en la conductancia estomática, el contenido de clorofila, la eficiencia de la carboxilación y en el uso eficiente del agua. Vinod *et al.* (2010) reportaron también aumentos significativos en el contenido de clorofilas a, b, total y la relación a/b durante el proceso de ontogenia foliar de cinco clones de caucho sometidos a estrés por bajas temperaturas.

En relación con la fluorescencia de la clorofila, se observaron diferencias significativas entre las clases de severidad del SALB en al menos en uno de los estadios foliares del clon FX 3864 para las medias de F_v/F_m , F_v'/F_m' , y NPQ. En el clon FX 4098 sólo se presentaron

diferencias en la media de NPQ entre las clases de severidad producidas por *M. ulei* en foliolos D (Tabla 3-4). Entre clones, los parámetros F_v/F_m' , qP , NPQ y ETR presentaron diferencias en al menos uno de los estadios foliares, destacándose los estadios C y C/D donde se presentaron el mayor número de parámetros influenciados por el SALB.

En el clon FX 3864, en los foliolos de los estadios B, C/D y D en la clase de severidad más alta del SALB, hubo una reducción significativa en F_v/F_m del 13.3, 9.7% y 12.1% respectivamente, en comparación con los foliolos sanos (0Q). Ninguna clase de severidad afectó significativamente el valor medio de F_v/F_m en ninguno de los estadios foliares del clon FX 4098 (Figuras 3-3A, B y 3-4A, B). Entre clones, no se observaron diferencias significativas en la media de F_v/F_m .

En la mayor severidad del SALB (según el estadio foliar), para el clon FX 3864 la mayor reducción significativa en F_v/F_m' , y NPQ fue del 9.8% (foliolos B) y 47.7% (foliolos D), respectivamente. El mayor incremento significativo en qP fue del 36.1% en foliolos C. En el clon FX 4098, la única variación significativa (incremento) se presentó en NPQ en los foliolos D con un valor de 36.4%.

En el clon altamente susceptible (FX 3864), la infección por *M. ulei* provocó una afectación del rendimiento cuántico máximo del fotosistema II (PSII) (F_v/F_m) el cual decreció a < 0.80 en los cuatro estadios foliares evaluados, lo que sugiere una posible afectación en el centro de reacción del PSII (Krause y Weis, 1991; Baker y Rosenqvist, 2004; Bonfig *et al.*, 2006; Baker, 2008). Asimismo en foliolos jóvenes C fue evidente un descenso simultáneo en la eficiencia en la captura de la energía de excitación cuando se encuentran abiertos los centros de reacción del PSII (F_v/F_m') y un aumento en la disipación fotoquímica de luz absorbida (qP), lo que indica que las plantas susceptibles infectadas redujeron significativamente la capacidad de capturar la energía lumínica y aunque hubo una mayor proporción de centros de reacción abiertos, la energía capturada no fue significativamente disipada por los mecanismos fotoquímicos (dada la disminución de F_v/F_m). Disfunciones fotoquímicas similares han sido reportadas para otros patosistemas como *E. urophylla* – *P. psidii* (Alves *et al.*, 2011) y *T. aestivum* – *P. oryzae* (Aucique Pérez *et al.*, 2014).

En éste estudio, en foliolos jóvenes (C), las plantas susceptibles de caucho en la severidad más alta del SALB ('4') disiparon el exceso de energía absorbida mediante la ruta fotoquímica (qP) más que por disipación térmica (NPQ). En foliolos B no se evidenciaron alteraciones significativas en qP y en NPQ, no obstante se observó una tendencia hacia el incremento de la disipación fotoquímica. Esto indicaría un descenso en la proporción de quinona A oxidada, y por tanto una menor probabilidad de sufrir daño fotoinhibitorio (Baker, 2008).

En éste estudio es bastante probable que las reacciones fotoquímicas hayan influenciado la tasa de asimilación de CO₂ dado que se observó un decrecimiento inter-dependiente entre la ETR y A en los estadios foliares donde hubo mayor impacto de la enfermedad, especialmente en el clon susceptible. Este comportamiento fue contrario a lo reportado por Alves *et al.* (2011) en el patosistema *E. urophylla* – *P. psidii* y por Aucique Pérez *et al.*

(2014) en el patosistema *T. aestivum* en donde hubo un leve descenso de la ETR en relación con la reducción de A.

Dentro de los mecanismos de fotoprotección celular, las plantas poseen otras vías de disipación de la energía de excitación con el fin de evitar el daño oxidativo, entre las que destaca la disipación térmica (Krause y Weis, 1991; Maxwell y Johnson, 2000).

En esta investigación, la fracción de la energía lumínica absorbida que fue disipada térmicamente (NPQ) en el clon susceptible, se redujo significativamente en la severidad 3 en folíolos D por lesiones ocasionadas por *M. ulei*. Esto indicaría que los centros de reacción del PSII pueden sufrir un daño fotoinhibitorio por un exceso de energía de excitación no disipada. No obstante en otros estadios foliares hubo una reducción en NPQ entre algunas severidades, lo que implicaría finalmente la posibilidad de sufrir fotodaño crónico (Lima *et al.*, 2002).

Resultados similares fueron descritos por Rios *et al.* (2014) en plantas de *T. aestivum* inoculadas con *P. oryzae*, con un incremento significativo en NPQ. Alves *et al.* (2011) afirmaron para el patosistema *E. globulus* – *P. psidii* que la aparición de los síntomas cloróticos y necróticos pudieron expresarse como resultado del daño oxidativo, situación que puede considerarse en el presente estudio dada la intensificación de la severidad del SALB especialmente en folíolos maduros.

En el presente estudio las plantas infectadas, como una de sus posibles alternativas, hacen frente a un exceso de la energía de excitación a través de la disipación de calor, como lo demuestra el aumento del NPQ. Sin embargo, Aucique Pérez *et al.* (2014) afirman que la disipación térmica puede no ser suficiente para evitar la fotoinhibición, dados los descensos observados en F_v / F_m .

A partir del análisis de la fluorescencia de la clorofila *a*, se pudo evidenciar que la afectación en la captura, uso y disipación de la energía de excitación son los indicadores más importantes en la discriminación de la respuesta fotosintética entre los clones FX 3864 y FX 4098 en respuesta a la infección por *M. ulei* en condiciones ambientales principalmente en los estadios foliares maduros C/D y D.

- **Correlación de Pearson**

El análisis de correlación de Pearson realizado en el clon de caucho que expresó las mayores severidades del SALB (FX 3864), mostró una correlación positiva de A con g_s , E y WUE en todos los estadios foliares, exceptuando la correlación entre A y WUE en el estadio C/D que resultó no significativa (Tabla 3-5). Asimismo se observó en todos los estados fenológicos una correlación negativa muy significativa de la severidad del SALB con todos los parámetros de intercambio gaseoso, donde los mayores coeficientes de correlaciones se presentaron en los folíolos jóvenes B (fase conidial infecciosa) y C/D (fase inicial estromática).

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección
 Armando Sterling Cuéllar

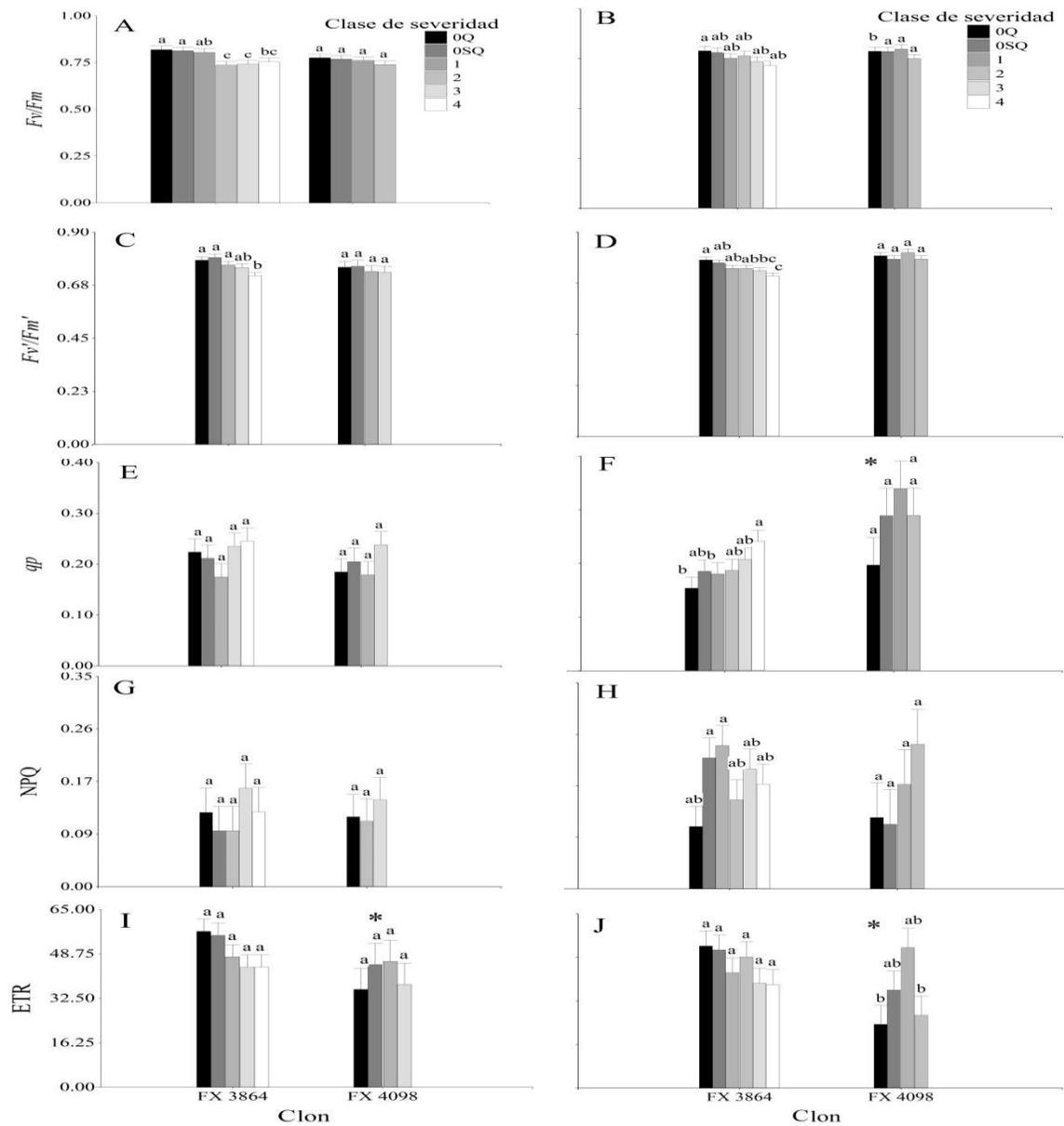


Figura 3-3. A y B, Rendimiento cuántico máximo del fotosistema II (PSII) (F_v/F_m); C y D, eficiencia en la captura de la energía de excitación para los centros de reacción abiertos del PSII (F_v'/F_m'); E y F, quenching fotoquímico (q_p); G y H, quenching no fotoquímico (NPQ); I y J, tasa de transporte de electrones (ETR) para dos clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) en folíolos jóvenes sanos (0Q, con control químico y 0SQ, sin control químico) y con cada una de las clases de severidad del SALB producidas por diferentes estadios de desarrollo de *Microcyclus ulei* en condiciones ambientales en jardín clonal. A, C, E, G y I, folíolos en estadio B infectados con *Fusicladium macrosporum*; B, D, F, H y J, folíolos en estadio C infectados con *F. macrosporum*. Medias para los clones FX 3864 y FX 4098 sin asterisco (*) y para las clases de severidad en cada clon seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente (Prueba LSD, $p < 0.05$). Las barras representan el error estándar de la media; $n = 5$

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección
 Armando Sterling Cuéllar

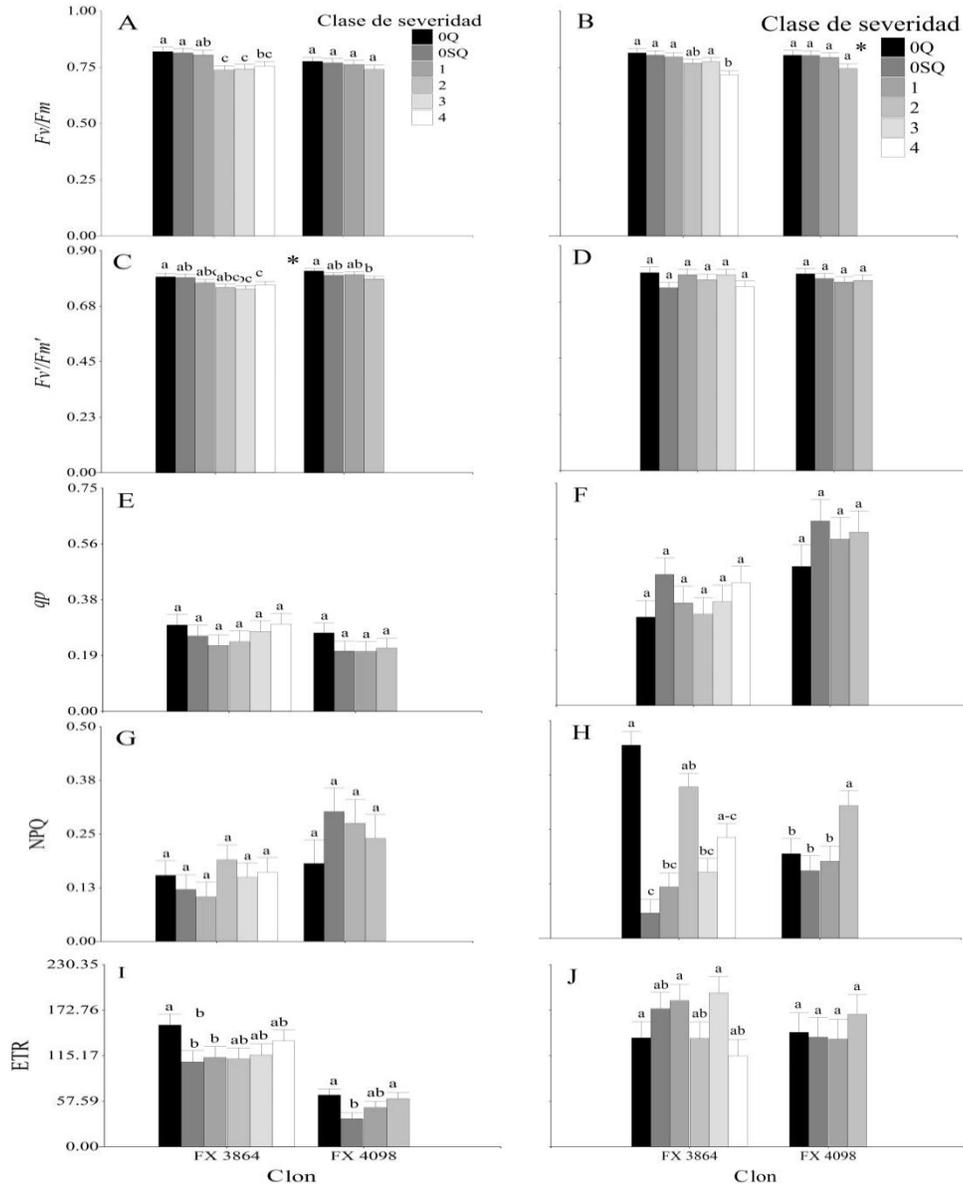


Figura 3-4. A y B, Rendimiento cuántico máximo del fotosistema II (PSII) (F_v/F_m); C y D, eficiencia en la captura de la energía de excitación para los centros de reacción abiertos del PSII (F_v'/F_m'); E y F, quenching fotoquímico (q_p); G y H, quenching no fotoquímico (NPQ); I y J, tasa de transporte de electrones (ETR) para dos clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) en folíolos maduros sanos (0Q, con control químico y 0SQ, sin control químico) y con cada una de las clases de severidad del SALB producidas por diferentes estadios de desarrollo de *Microcyclus ulei* en condiciones ambientales en jardín clonal. A, C, E, G y I, folíolos en estadio C/D infectados con *Aposphaeria ulei*; B, D, F, H y J, folíolos en estadio D infectados con *M. ulei*. Medias para los clones FX 3864 y FX 4098 sin asterisco (*) y para las clases de severidad en cada clon seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente (Prueba LSD, $p < 0.05$). Las barras representan el error estándar de la media; $n = 5$

Tabla 3-5. Coeficientes de correlación de Pearson entre la severidad del SALB (*Microcyclus ulei*), A , g_s , E y WUE medidos en plantas de caucho (*Hevea brasiliensis*) del clon FX 3864 (altamente susceptible) en condiciones de jardín clonal en Caquetá (Colombia)

Variables	A	E	g_s	WUE	Severidad
Foliolos^a jóvenes (B, arriba en la diagonal y C, abajo en la diagonal)					
A	...	0.63**	0.69**	0.83**	-0.95**
E	0.64**	...	0.57**	0.81**	-0.75**
g_s	0.79**	0.59**	...	0.71**	-0.73**
WUE	0.73**	0.04NS	0.51**	...	-0.90**
Severidad	-0.98**	-0.61**	-0.72**	-0.74**	...
Foliolos maduros (C/D, arriba en la diagonal y D, abajo en la diagonal)					
A	...	0.85**	0.54**	0.29NS	-0.98**
E	0.79**	...	0.71**	-0.21NS	-0.83**
g_s	0.54**	0.44*	...	-0.18NS	-0.48**
WUE	0.82**	0.59**	0.28NS	...	-0.30**
Severidad	-0.98**	-0.75**	-0.53**	-0.81**	...

^aB, C, C/D y D, foliols con 16 -20, 24 - 28, 80 - 90 y 140 -150 días de edad, respectivamente

A , Tasa de asimilación neta de CO₂; g_s , conductancia estomática a vapor de agua; E , tasa de transpiración; eficiencia en el uso del agua, WUE

* $p < 0.05$; significativo; ** $p < 0.01$, muy significativo; NS, no significativo

En relación con los parámetros de la fluorescencia de la clorofila a , se observaron correlaciones positivas significativas de F_v/F_m con F'_v/F'_m , y ETR en el estadio foliar B, mientras que en los estadios foliares C, C/D y D sólo se presentaron correlaciones positivas significativas de F_v/F_m con F'_v/F'_m (Tabla 3-6).

F_v/F_m y F'_v/F'_m fueron los parámetros que mejor se correlacionaron negativamente con la severidad en todos los estadios foliares, con excepción de F'_v/F'_m en el estadio D donde la correlación resultó no significativa. En el estadio C se presentaron el mayor número de parámetros correlacionados con la enfermedad, en donde se evidenció que la severidad del SALB afectó negativamente la ETR y positivamente a qP .

Las correlaciones positivas reportadas en éste estudio en el patosistema *H. brasiliensis* – *M. ulei* (con sus anamorfos *F. macrosporum* y *A. ulei*) para A en relación con E y g_s y las correlaciones negativas entre la severidad y los parámetros de intercambio gaseoso, coinciden con Alves *et al.* (2011) en el patosistema *E. urophylla* – *P. psidii*, Resende *et al.* (2012) en el patosistema *S. bicolor* – *C. sublineolum* y Debona *et al.* (2014), Aucique Pérez *et al.* (2014) y Rios *et al.* (2014) en el patosistema *T. aestivum* – *P. oryzae*.

Tabla 3-6. Coeficientes de correlación de Pearson entre la severidad del SALB (*Microcyclus ulei*), F_v/F_m , F'_v/F'_m , qP , NPQ y ETR medidos en plantas de caucho (*Hevea brasiliensis*) del clon FX 3864 (altamente susceptible) en condiciones de jardín clonal en Caquetá (Colombia)

Variables	F_v/F_m	F'_v/F'_m	qP	NPQ	ETR	Severidad
Foliolos^a jóvenes (B, arriba en la diagonal y C, abajo en la diagonal)						
F_v/F_m	...	0.71**	-0.64**	-0.44*	0.51**	-0.62**
F'_v/F'_m	0.84**	...	-0.07NS	-0.10NS	0.61**	-0.66**
qP	-0.28NS	-0.37*	...	0.46*	-0.12NS	0.21NS
NPQ	-0.25NS	-0.28NS	0.57**	...	-0.30NS	0.15NS
ETR	0.34NS	0.34NS	-0.46*	-0.38*	...	-0.49*
Severidad	-0.45*	-0.62**	0.49**	0.04NS	-0.39*	...
Foliolos maduros (C/D, arriba en la diagonal y D, abajo en la diagonal)						
F_v/F_m	...	0.78**	-0.6NS	-0.33NS	0.16NS	-0.55**
F'_v/F'_m	0.50**	...	-0.07NS	-0.10NS	0.16NS	-0.45*
qP	-0.04NS	-0.23NS	...	0.20NS	0.16NS	0.10NS
NPQ	0.04NS	0.17NS	-0.42*	...	0.26NS	0.17NS
ETR	0.30NS	0.03NS	0.41*	-0.37*	...	-0.02NS
Severidad	-0.60**	-0.10NS	0.06NS	-0.03NS	-0.16NS	...

^aB, C, C/D y D, foliolos con 16 - 20, 24 - 28, 80 - 90 y 140 - 150 días de edad, respectivamente

F_v/F_m , rendimiento cuántico máximo del fotosistema II (PSII); F'_v/F'_m , eficiencia en la captura de la energía de excitación por los centros abiertos del PSII; qP y NPQ, coeficientes de los quenching fotoquímicos y no fotoquímicos, respectivamente; ETR, tasa de transporte de electrones.

* $p < 0.05$; significativo; ** $p < 0.01$, muy significativo; NS, no significativo

Sin embargo, la correlación negativa entre los coeficientes de los quenching fotoquímico (qP) y no fotoquímico (NPQ) reportada por Alves *et al.* (2011) sólo coincidió con la correlación reportada en éste estudio para el estadio foliar C/D. Lo que indica que en los demás estadios foliares un incremento de la severidad llevó a una reducción de F_v/F_m y simultáneamente a un aumento en qP y NPQ, como vías de disipación para liberar el exceso de la energía de excitación absorbida.

3.5.3 Respuesta espectral de los clones de caucho FX 3864 y FX 4098 a la infección por *Microcyclus ulei* en condiciones ambientales

- **Influencia de la severidad del SALB sobre el espectro de reflectancia foliar**

En ambos clones de caucho, las firmas espectrales de los foliolos B, C, C/D y D sanos (0Q, con control químico y 0SQ, sin control químico), fueron características de foliolos saludables y se evidenció una fuerte absorción por parte de los pigmentos fotosintéticos en el VIS (600 – 650 nm) y un alto plato de reflectancia en el NIR (700 – 900 nm) atribuido a la estructura interna de la hoja. En general, se observaron algunos incrementos leves no significativos en el VIS y lo contrario en el NIR en la firma espectral de foliolos sanos sin control químico en comparación con los foliolos sanos con tratamiento químico.

La reflectancia en folíolos infectados en los diferentes estadios foliares se incrementó a medida que aumentó la severidad en el VIS y decreció a mayor severidad en el NIR (Figuras 3-5A, B, C, D y 3-8A, B, C, D). Los cambios en el VIS fueron más evidentes en la región del azul (400 – 500 nm) y del rojo (600-700 nm) para el clon FX 3864, y en la región del verde (500 – 600 nm) y del rojo en el clon FX 4098. Para los dos clones y en todas las clases de severidad, la reflectancia en el VIS fue superior en folíolos jóvenes (B y C) respecto a lo observado en los folíolos maduros (C/D y D). Lo contrario ocurrió con la reflectancia en el NIR. Para todos los estadios foliares y en todo el espectro de reflectancia, las firmas espectrales en el clon FX 3864 presentaron valores superiores a lo reportado en el clon FX 4098.

En el clon FX 3864, las mayores diferencias significativas entre las clases de severidad del SALB ($p < 0.01$) se presentaron en los rangos comprendidos entre los 450 y 550 nm y entre los 650 y 700 nm (Figura 3-6A, B, C, D). Las máximas diferencias con picos positivos se presentaron a los 699, 694, 700 y 698 nm en los estadios foliares B, C, C/D y D, respectivamente. En el NIR las mayores diferencias con picos negativos se evidenciaron a los 789, 723, 749 y 717 nm para los estadios B, C, C/D y D, respectivamente. En el VIS, las longitudes de onda con máxima sensibilidad al SALB se presentaron en los rangos 400 -500 nm y 600 -700 nm, con picos máximos a los 443, 688, 670 y 438 en los estadios B, C, C/D y D, respectivamente (Figura 3-7A, B, C, D). Las mínimas sensibilidades en los diferentes estadios foliares se presentaron a los 550nm o en la proximidad de éste. En el NIR las sensibilidades fueron muy bajas y con una tendencia constante. En los estadios B y C, se evidenció mejor la separación de las curvas de sensibilidad entre las clases de severidad.

En el clon FX 4098, las máximas diferencias significativas entre las clases de severidad del SALB se presentaron a los 679, 678, 696 y 690 nm en los estadios foliares B, C, C/D y D, respectivamente (Figura 3-9A, B, C, D). En el NIR las mayores diferencias con picos negativos se evidenciaron a los 848, 798, 849 y 716 nm para los estadios B, C, C/D y D, respectivamente. En el VIS, las longitudes de onda con máxima sensibilidad al SALB se presentaron en los rangos 400 -500 nm y 600 -700 nm (Figura 3-10A, B, C, D). Las mínimas sensibilidades en los diferentes estadios foliares se presentaron entre los 500 y 600 nm con puntos de máximo descenso de la reflectancia a los 550, 530, 570 y 552 nm en los estadios B, C, C/D y D, respectivamente. En el NIR las sensibilidades fueron muy bajas y con una tendencia constante. En los estadios C y D, se evidenció mejor la separación de las curvas de sensibilidad entre las clases de severidad.

Las longitudes de onda con máxima y mínima sensibilidad se utilizaron para calcular nuevos IVEs en ambos clones de caucho. En el FX 3864 (Figura 3-7) se calcularon los índices R678/R567 y R500/R567 en folíolos B, R688/R570 y R438/R570 en folíolos C, R670/R569 y R434/R569 para folíolos C/D, y R698/R536 y R490/R536 para folíolos D. Para el FX 4098 (Figura 3-10), se generaron los índices R679/R550 y R506/R550 en folíolos B, R668/R530 y R440/R530 en folíolos C, R695/R570 y R433/R570 para folíolos C/D, y R619/R530 y R502/R530 para folíolos D.

Todos los IVEs calculados se correlacionaron positivamente con la severidad de la enfermedad ($r > 0.9$). Los 16 IVEs calculados se probaron para cada uno de los estadios foliares en cada clon, en donde los índices R438/R570 y R670/R569 se seleccionaron para foliolos jóvenes y maduros, respectivamente, por presentar las mayores correlaciones significativas entre las distintas combinaciones clon/fenología foliar. Éstos índices se compararon con los seis IVEs tomados de la literatura con el fin de discriminar entre las clases de severidad del SALB (Tablas 3-2, 3-7 y 3-8).

En el presente estudio, el análisis cualitativo de las firmas espectrales permitió confirmar la absorción de la luz visible por parte de los pigmentos fotosintéticos en las regiones del azul (400 -500 nm) y del rojo (600 -700 nm), así como la menor absorción de la luz infrarroja en la región comprendida entre los 700 y 900 nm. De acuerdo con Jacquemoud y Baret (1990), Asner (1998) y Chandrasekharan (2005) la reflectancia en el NIR está influenciada principalmente por la estructura interna de la hoja, asociada a procesos de dispersión debidos a los espacios de aire, contenido de agua y las interfases de aire-agua.

Las interacciones fisiológicas entre patógenos y hospederos vegetales, varían dependiendo principalmente de la virulencia del patógeno (Jones y Dangl, 2006; Mahlein *et al.*, 2010), la susceptibilidad del genotipo (Alves *et al.*, 2010), la etapa de crecimiento del cultivo (Xavier *et al.* 2006), la fenología foliar del hospedero y la etapa de la infección (Delalieux *et al.*, 2009). Sims y Gamon (2002) demostraron que otros factores como la edad, la senescencia y los efectos de la sombra, pueden tener una influencia considerable en la fisiología y en el espectro de reflectancia de la vegetación.

En éste estudio, se destaca un nuevo criterio de variación que corresponde al estadio de desarrollo del patógeno (*F. macrosporum*, *A. ulei* y *M. ulei*) inherentes a cada uno de los estados fenológicos foliares del cultivo del caucho. Esto con el fin de identificar y discriminar (a) entre las clases de severidad del SALB producidas por cada estadio del patógeno, y (b) entre el manejo químico o no, sobre la respuesta espectral en plantas sin síntomas (0Q, y 0SQ) y con síntomas (SQ) en condiciones naturales de infección.

Los resultados de ésta investigación evidenciaron diferencias significativas en el espectro de reflectancia entre los dos clones de caucho, con medias de reflectancia superiores en el clon FX 3864, el cual presentó menores contenidos relativos de clorofila. Según Jing *et al.* (2007) una disminución en el contenido de los pigmentos fotosintéticos implicará una reducción en la absorción de la luz en el VIS, y por tanto una mayor reflectancia espectral. Asimismo los foliolos jóvenes con fenología B y C' expresaron una mayor reflectancia en el VIS y menores valores en el NIR en comparación con los foliolos maduros C y D.

En caucho los foliolos B (< 10 días de edad) corresponden a estadios con bajos contenidos de clorofila los cuales compiten inicialmente con la expresión de los pigmentos antocianínicos (Miguel *et al.*, 2007). Por su parte los foliolos C (< 40 días de edad), aunque verdes, continúan en el proceso de síntesis de clorofila hasta alcanzar los estadios maduros D (> 40 días de edad) (Halle *et al.*, 1978). En este estudio el estadio D se subclasificó en C/D y D con el fin de discriminar entre foliolos D infectados con *A. ulei* y con *M. ulei*, respectivamente.

Esta variación en la fenología foliar explicaría la menor absorción de la luz en el VIS en los folíolos B y C como resultado del menor contenido relativo de clorofila y el aumento en la pigmentación marrón por antocianinas particularmente en los folíolos B. Según Gausman (1985), la presencia de antocianinas durante la ontogenia foliar, causa un aumento pronunciado de la reflectancia en el rojo (600 – 700 nm) en hojas inmaduras en comparación con la menor reflectancia exhibida en hojas maduras verdes. La mayoría de los modelos de hojas no tienen en cuenta la presencia ocasional de antocianinas, que puede influir significativamente en el espectro de reflectancia de la hoja. El uso de los índices de reflectancia para monitorear cambios dinámicos en la pigmentación durante el desarrollo de la hoja, proporciona otra poderosa aplicación de la reflectancia (Gamon y Surfus, 1999)

En el presente estudio fue notable la pigmentación antocianínica en folíolos B de caucho. Estos pigmentos son claves por el papel fotoprotector (Day *et al.*, 1992; Gould *et al.*, 1995) y defensivo (Coley y Barone, 1996) que desempeñan en las plantas. A pesar de esto, se observaron incrementos significativos en los valores de reflectancia para los cuatro estadios foliares estudiados en las plantas susceptibles de caucho.

En relación con el patrón espectral observado en el NIR para los folíolos B, la menor reflectancia estaría relacionada con un menor desarrollo del mesófilo como resultado del estado de desarrollo de estos folíolos en comparación con los folíolos maduros D que poseen un mejor desarrollo anatómico congruente con la mayor edad alcanzada (Halle *et al.*, 1978). Independiente del clon de caucho o del estadio foliar, las firmas espectrales se incrementaron en el VIS a medida que aumentaron los síntomas del SALB y decrecieron en el NIR con el desarrollo de la enfermedad. En el VIS estos cambios fueron claramente evidenciados en la región comprendida entre los 600 y 700 nm.

Delalieux *et al.* (2007) afirman que la región de borde rojo (685-715 nm) representa un rango espectral sensible al estrés biótico por patógenos. En esta zona por tanto, es evidente la detección de incrementos significativos en la reflectancia, debido a la aparición de lesiones necróticas o cloróticas asociadas con la senescencia de los tejidos vegetales por acumulación de pigmentos amarillentos (Merzlyak *et al.*, 1999; Pietrzykowski *et al.*, 2006) o marrones (Mahlein *et al.*, 2010).

En relación con el descenso de la reflectancia en el NIR como resultado del incremento de la enfermedad, Malthus y Madeira (1993) afirman que el avance de la infección genera cambios evidentes en la estructura celular los cuales contribuyen con una mayor disipación de la luz a través de los tejidos internos de la hoja (Kuma *et al.*, 2001; Chandrasekharan, 2005; Delalieux *et al.*, 2007). Con lo anterior, es posible afirmar que los distintos estadios de desarrollo de *M. ulei* al penetrar la cutícula y crecer entre ésta y las paredes de las células epidérmicas del caucho (Lieberei, 2007), afectarían significativamente los valores de reflectancia en la región del infrarrojo cercano. En el presente estudio éste efecto se evidenció especialmente en los folíolos jóvenes (B y C) infectados por *F. macrosporum*.

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección
Armando Sterling Cuéllar

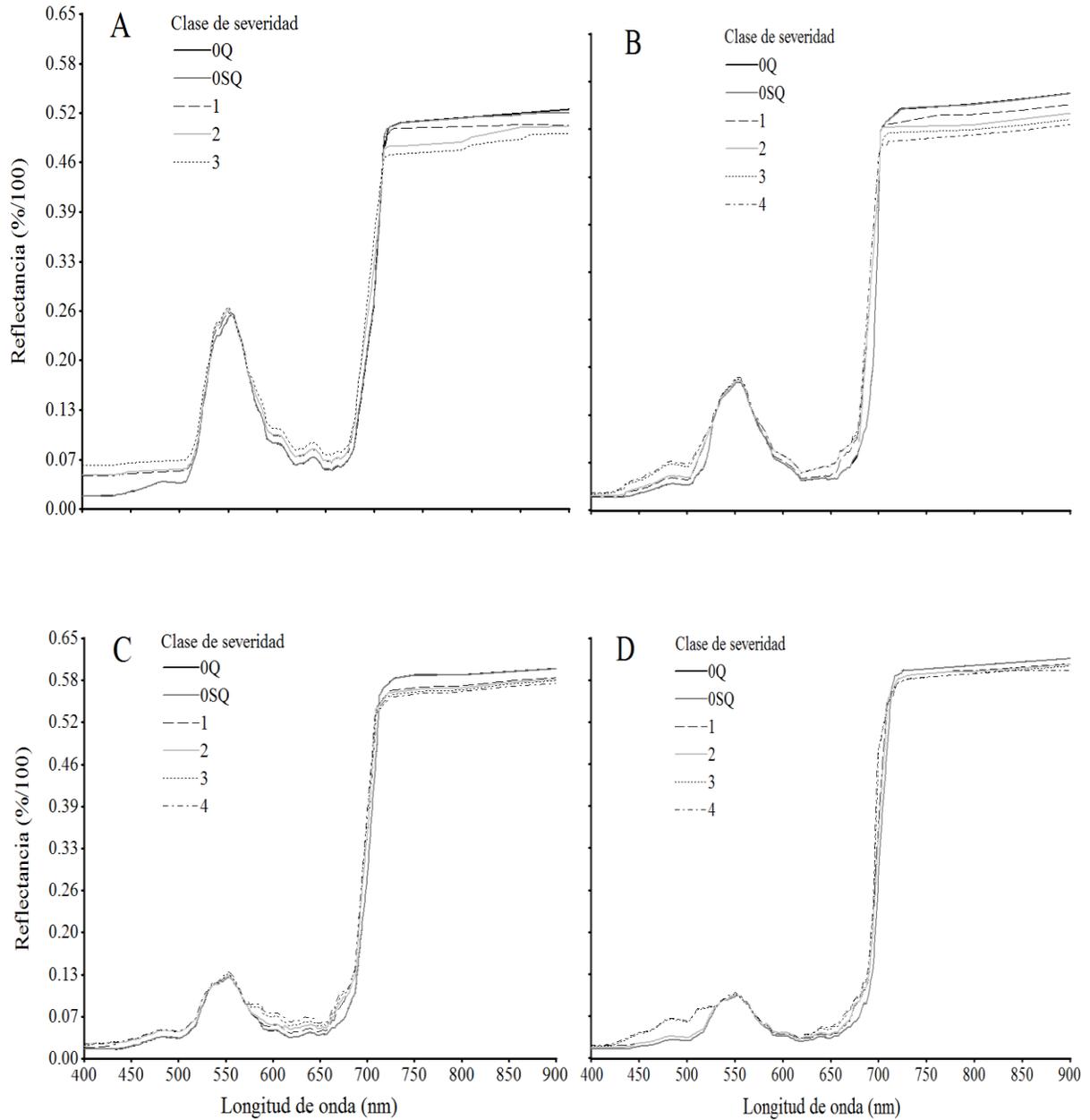


Figura 3-5. Curvas con la media del espectro de reflectancia para folíolos sanos (0Q, con control químico y 0SQ, sin control químico) del clon FX 3864 de caucho (*Hevea brasiliensis*) y cada una de las clases de severidad del SALB producidas por diferentes estadios de desarrollo de *Microcyclus ulei* en condiciones ambientales. **A** y **B**, folíolos jóvenes **B** y **C**, respectivamente, con lesiones producidas por *Fusicladium macrosporum*. **C** y **D**, folíolos maduros **C/D** y **D**, con lesiones producidas por *Aposphaeria ulei* y *Microcyclus ulei*, respectivamente.

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección
Armando Sterling Cuéllar

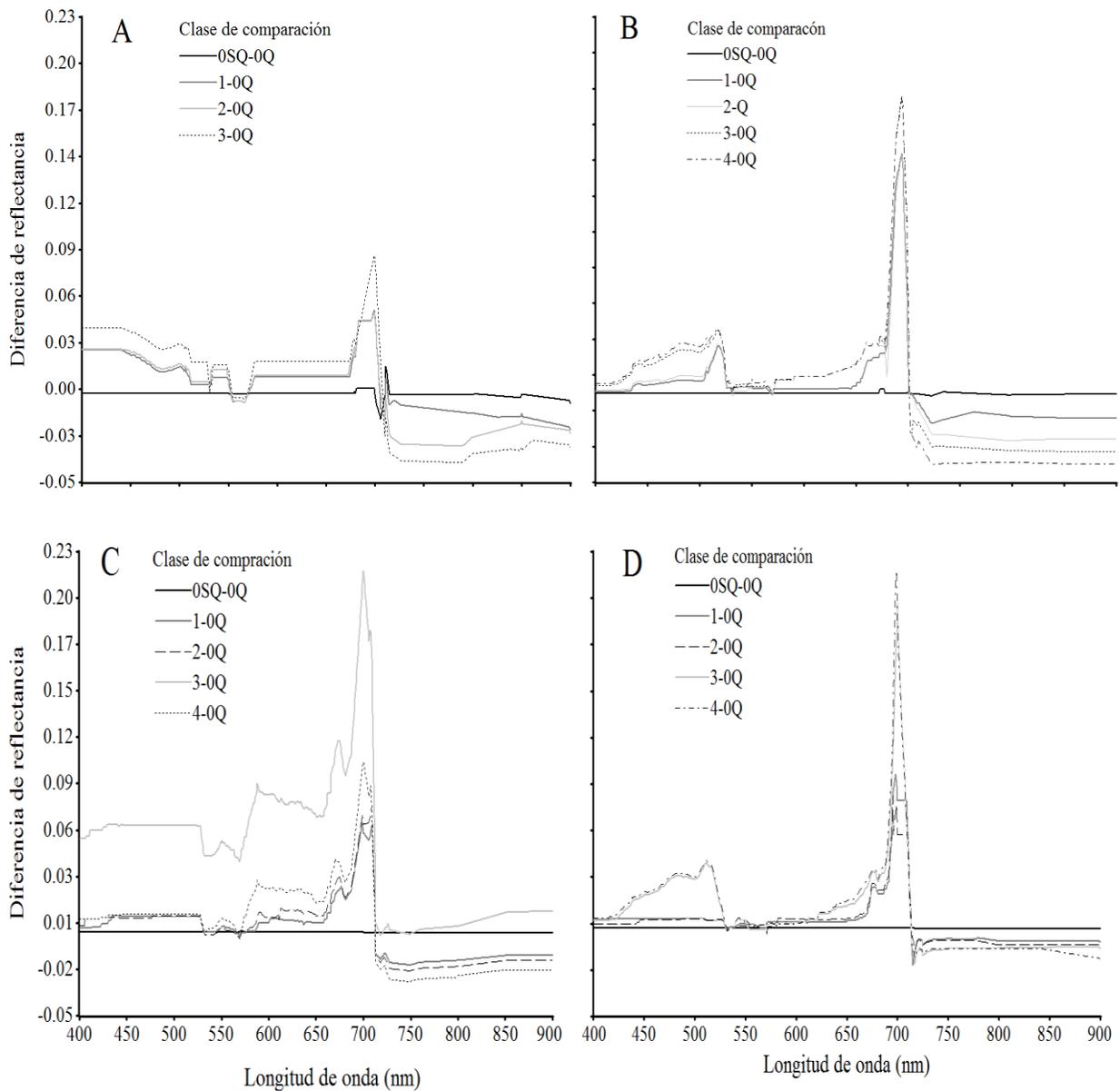


Figura 3-6. Curvas con la media de la diferencia de reflectancia para folíolos sanos (0Q, con control químico y 0SQ, sin control químico) del clon FX 3864 de caucho (*Hevea brasiliensis*) y cada una de las clases de severidad del SALB producidas por diferentes estadios de desarrollo de *Microcyclus ulei* en condiciones ambientales. **A** y **B**, folíolos jóvenes B y C, respectivamente, con lesiones producidas por *Fusicladium macrosporum*. **C** y **D**, folíolos maduros C/D y D, con lesiones producidas por *Aposphaeria ulei* y *Microcyclus ulei*, respectivamente. Las curvas de diferencia se calcularon restando las medias de reflectancia de folíolos sanos a las medias de folíolos infectados en cada longitud de onda.

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección
Armando Sterling Cuéllar

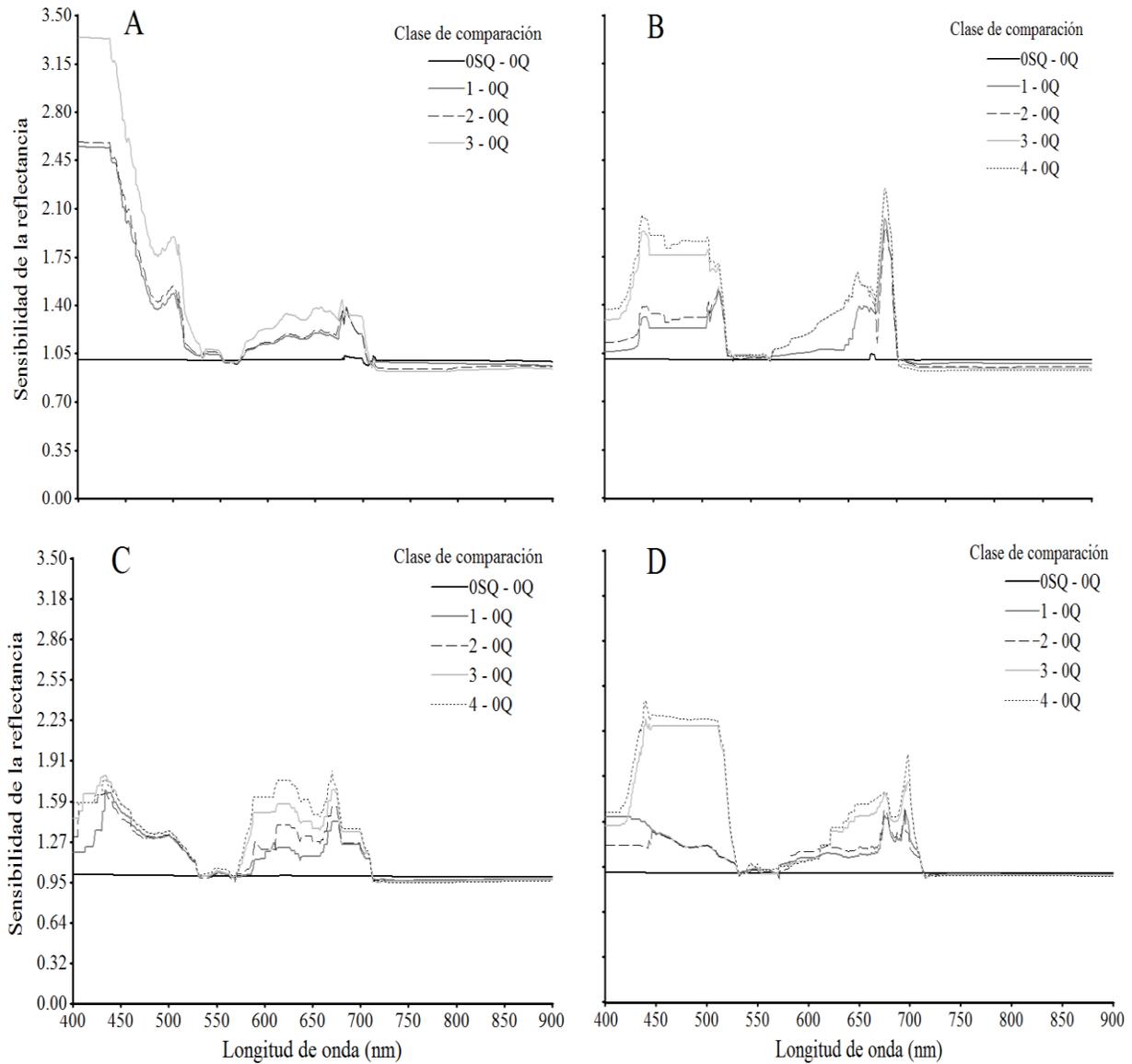


Figura 3-7. Curvas con la media de la sensibilidad de la reflectancia para folíolos sanos (0Q, con control químico y 0SQ, sin control químico) del clon FX 3864 de caucho (*Hevea brasiliensis*) y cada una de las clases de severidad del SALB producidas por diferentes estadios de desarrollo de *Microcyclus ulei* en condiciones ambientales. **A** y **B**, folíolos jóvenes **B** y **C**, respectivamente, con lesiones producidas por *Fusicladium macrosporum*. **C** y **D**, folíolos maduros **C/D** y **D**, con lesiones producidas por *Aposphaeria ulei* y *Microcyclus ulei*, respectivamente. Las curvas de sensibilidad se calcularon por el cociente entre las medias de reflectancia de folíolos infectados y las medias de folíolos sanos en cada longitud de onda.

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección
Armando Sterling Cuéllar

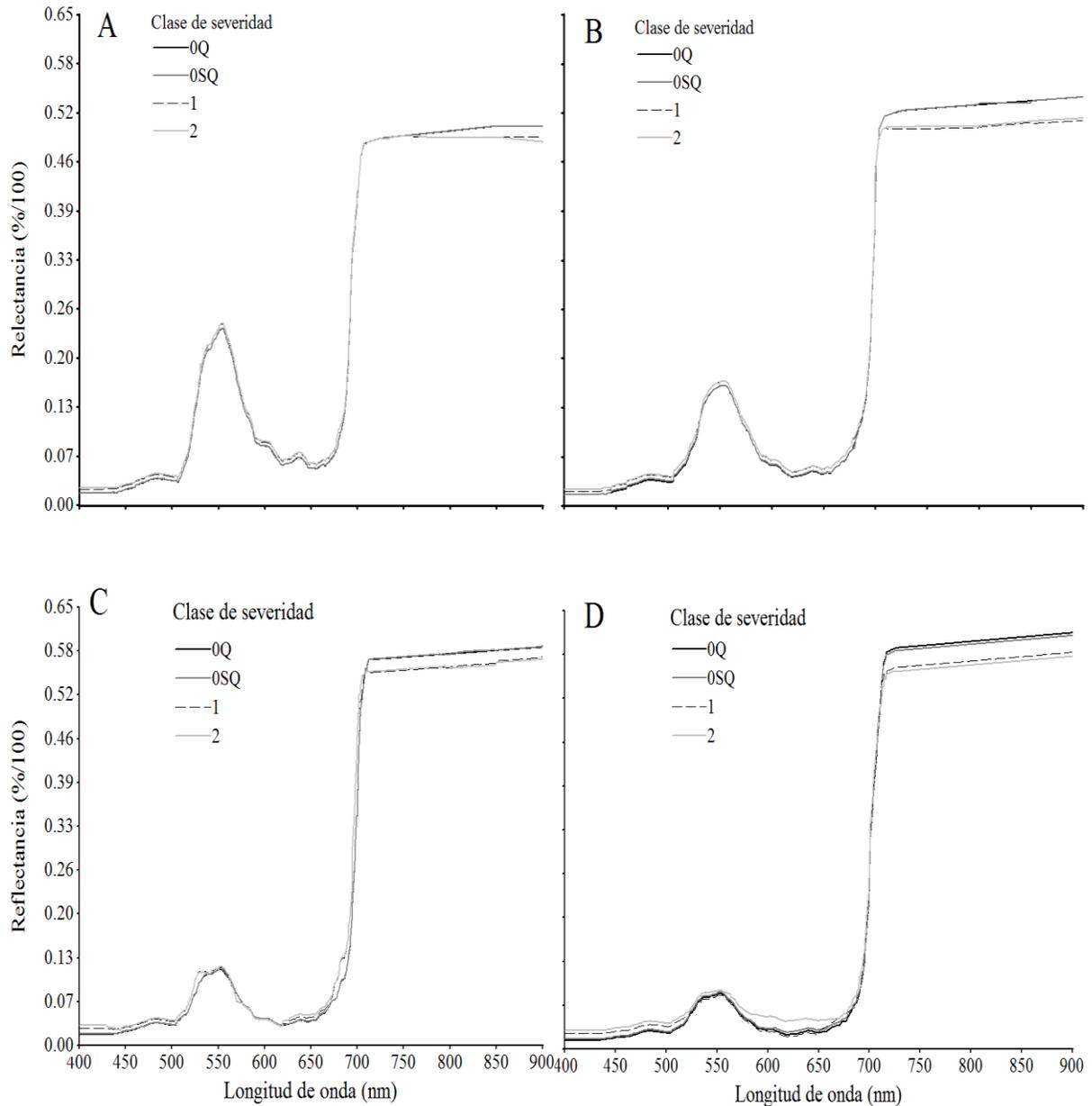


Figura 3-8. Curvas con la media del espectro de reflectancia para folíolos sanos (0Q, con control químico y 0SQ, sin control químico) del clon FX 4098 de caucho (*Hevea brasiliensis*) y cada una de las clases de severidad del SALB producidas por diferentes estadios de desarrollo de *Microcyclus ulei* en condiciones ambientales. **A** y **B**, folíolos jóvenes B y C, respectivamente, con lesiones producidas por *Fusicladium macrosporum*. **C** y **D**, folíolos maduros C/D y D, con lesiones producidas por *Aposphaeria ulei* y *Microcyclus ulei*, respectivamente.

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

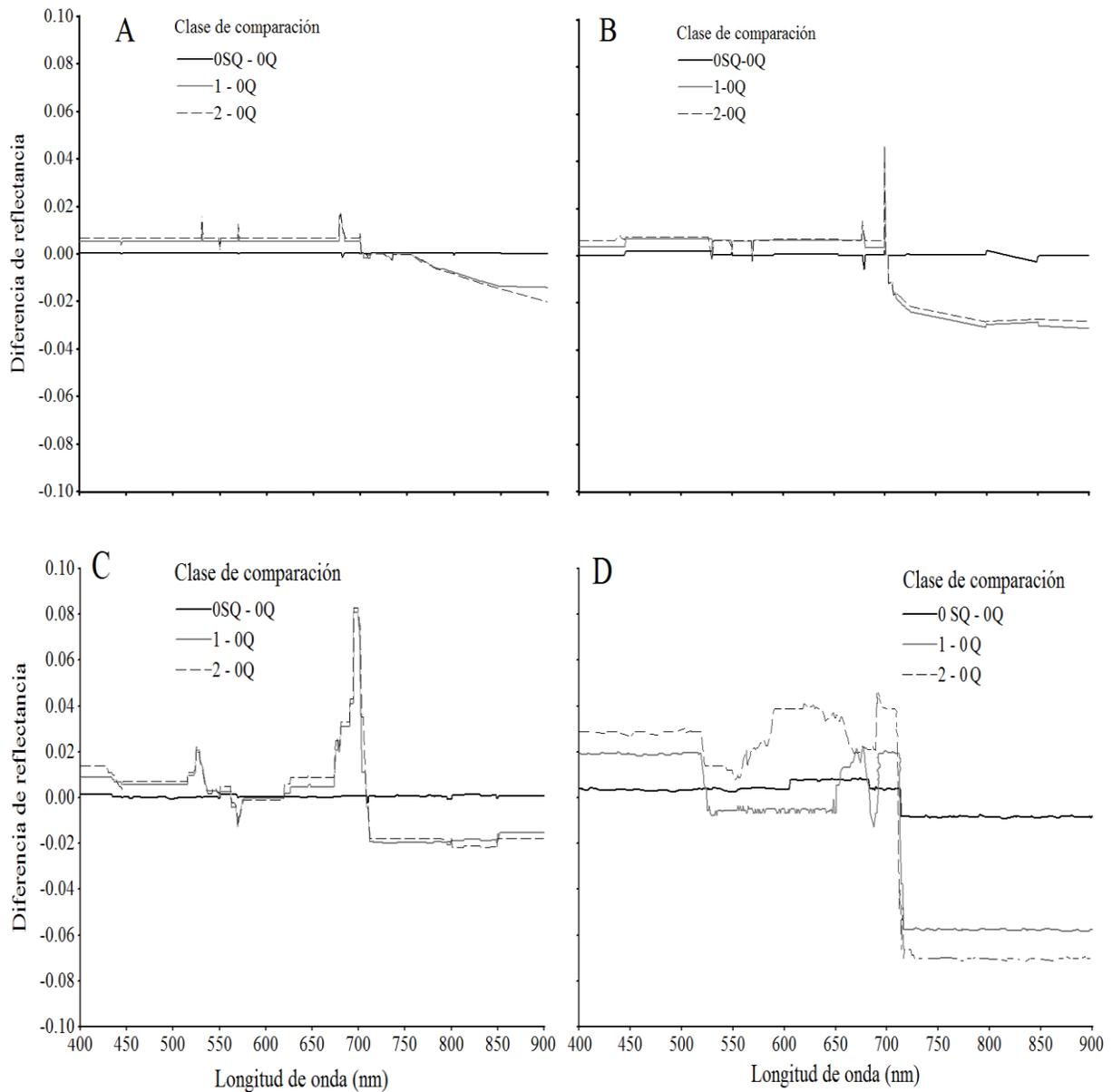


Figura 3-9. Curvas con la media de la diferencia de reflectancia para folíolos sanos (0Q, con control químico y 0SQ, sin control químico) del clon FX 4098 de caucho (*Hevea brasiliensis*) y cada una de las clases de severidad del SALB producidas por diferentes estadios de desarrollo de *Microcyclus ulei* en condiciones ambientales. **A** y **B**, folíolos jóvenes **B** y **C**, respectivamente, con lesiones producidas por *Fusicladium macrosporium*. **C** y **D**, folíolos maduros **C/D** y **D**, con lesiones producidas por *Aposphaeria ulei* y *Microcyclus ulei*, respectivamente. Las curvas de diferencia se calcularon restando las medias de reflectancia de folíolos sanos a las medias de folíolos infectados en cada longitud de onda.

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

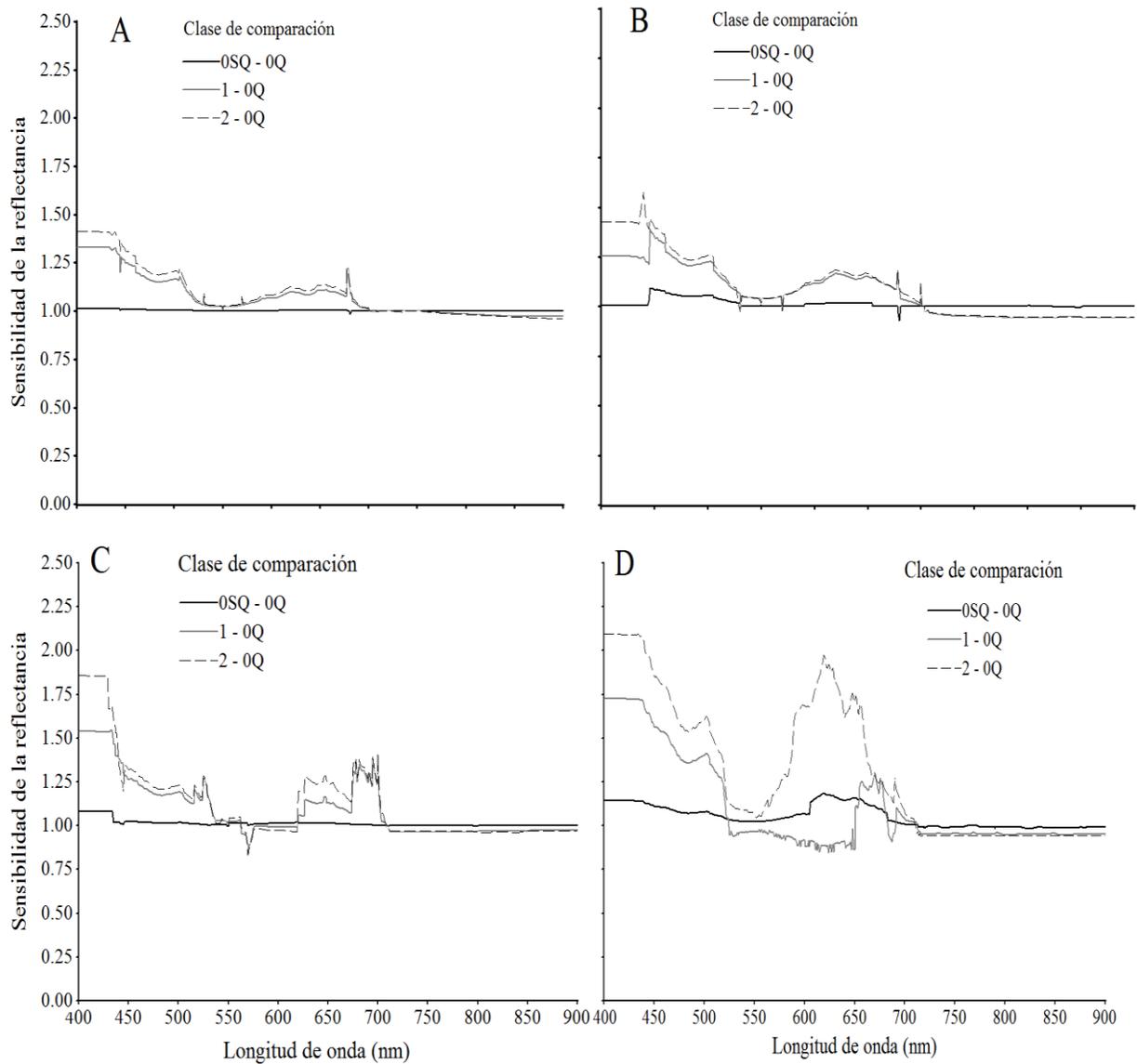


Figura 3-10. Curvas con la media de la sensibilidad de la reflectancia para folíolos sanos (0Q, con control químico y 0SQ, sin control químico) del clon FX 4098 de caucho (*Hevea brasiliensis*) y cada una de las clases de severidad del SALB producidas por diferentes estadios de desarrollo de *Microcyclus ulei* en condiciones ambientales. **A** y **B**, folíolos jóvenes B y C, respectivamente, con lesiones producidas por *Fusicladium macrosporum*. **C** y **D**, folíolos maduros C/D y D, con lesiones producidas por *Aposphaeria ulei* y *Microcyclus ulei*, respectivamente. Las curvas de sensibilidad se calcularon por el cociente entre las medias de reflectancia de folíolos infectados y las medias de folíolos sanos en cada longitud de onda.

- **Relación de las firmas espectrales con la severidad del SALB**

El coeficiente de correlación lineal (r) entre el espectro de reflectancia y las clases de severidad varió considerablemente a través de las longitudes de onda en los distintos estadios foliares (Figura 3-11).

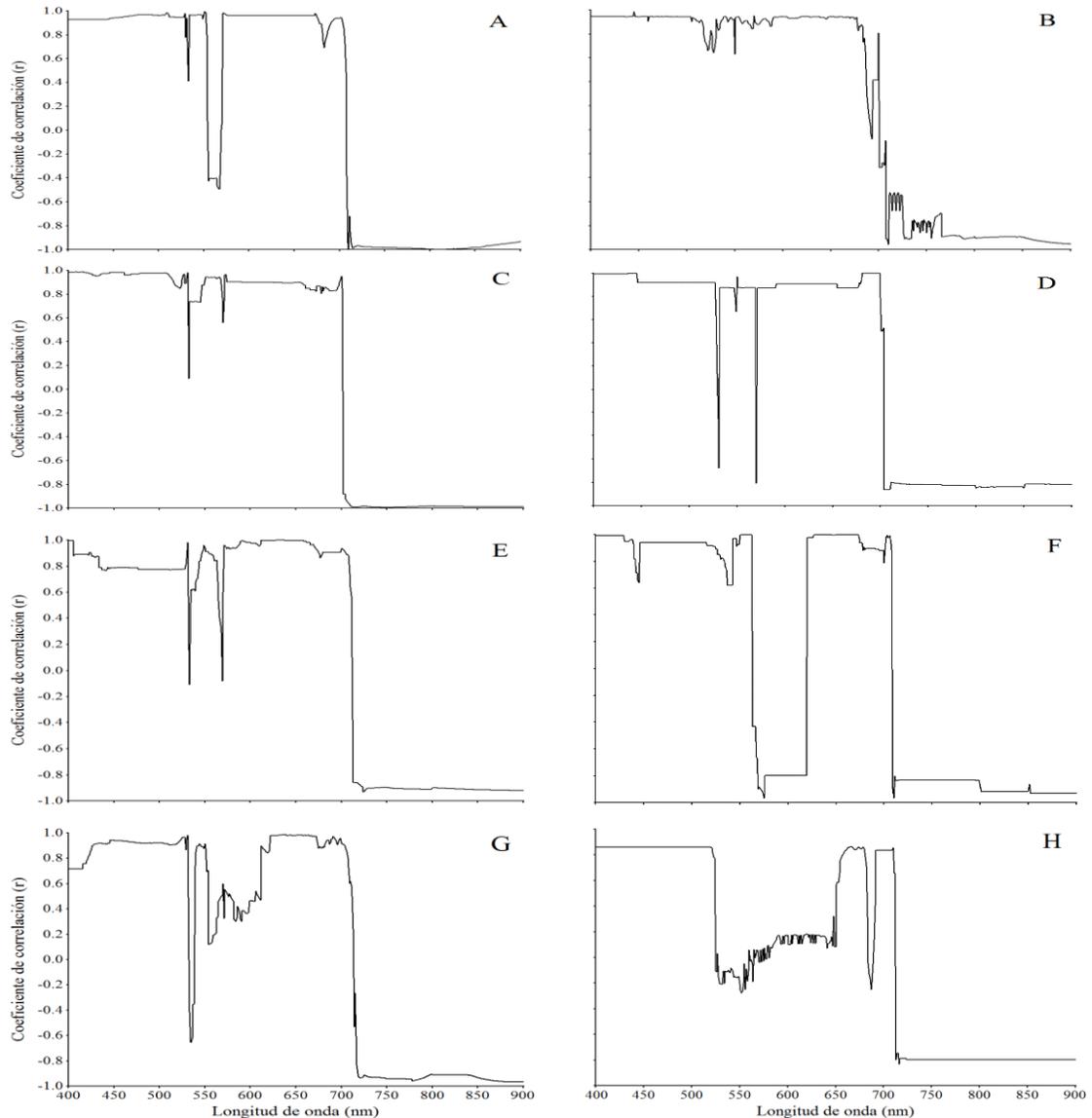


Figura 3-11. Correlograma basado en el coeficiente de correlación de Pearson entre la reflectancia espectral y las clases de severidad del SALB producidas por diferentes estadios de desarrollo de *Microcyclus ulei* en condiciones ambientales. **A, C, E y G**, clon susceptible FX 3864; **B, D, F y H**, clon moderadamente resistente FX 4098; **A y B**, folíolos B infectados con *Fusicladium macrosporum*; **C y D**, folíolos C infectados con *F. macrosporum*; **E y F**, folíolos C/D infectados con *Aposphaeria ulei*; **G y H**, folíolos D con *M. ulei*.

En general, en ambos clones se presentaron importantes correlaciones positivas en dos regiones del VIS, entre los 450 y 500 nm ($r > 0.8$) y entre los 650 y 700 nm ($r > 0.7$). La región entre los 500 y 600 nm mostró una variación con correlaciones positivas y negativas, principalmente en el clon FX 3864. En el NIR todas las correlaciones fueron negativas (Figura 3-11).

En el clon FX 3864 y en la región de mayor variación espectral (500 - 600 nm) las mayores correlaciones ($r > 0.9$) entre la reflectancia y las clases de severidad del SALB se presentaron a los 551, 531, 591 y 531 nm en folíolos C, B, C/D y D, respectivamente (Figura 3-11A, C, E, G). En la región del NIR las correlaciones más negativas ($r < -0.9$) se presentaron a los 810, 749, 724 y 894 nm en folíolos C, B, C/D y D, respectivamente.

En todos los estadios fenológicos del clon FX 4098, se presentaron correlaciones positivas ($r > 0.8$) en la región comprendida entre los 400 y 500 nm (Figura 3-11B, D, F y H). Sin embargo, en la región entre los 500 y 600 nm se observaron picos de correlaciones negativas en los folíolos C ($r = -0.81$) y C/D ($r = -0.96$) a los 570 y 575 nm, respectivamente. Entre los 600 y 700 nm las correlaciones se incrementaron positivamente hasta alcanzar un descenso abrupto con correlaciones negativas ($r < -0.8$) a partir de los 710, 705, 710 y 716 nm en folíolos B, C, C/D y D, respectivamente.

En el presente estudio, en ambos clones de caucho la mayor sensibilidad de la reflectancia a la severidad del SALB ocurrió principalmente en la región del rojo (600 -700 nm), principalmente a los 674 nm. Asimismo en ésta región se presentaron altas correlaciones positivas entre la reflectancia y la severidad.

Los cambios en la reflectancia de las plantas debido a las enfermedades están fuertemente correlacionados con la etapa de la patogénesis y la intensidad de los síntomas (Mahlein *et al.*, 2009). Kobayashi *et al.* (2003) y Pietrzykowski *et al.* (2006) identificaron en la región del rojo, específicamente en la reflectancia a los 675 nm, una alta sensibilidad de la reflectancia a la severidad de la piricularia (*M. grisea*) en arroz (*O. sativa*) y a la severidad de *Mycosphaerella* en eucalipto (*E. globulus*), respectivamente.

- **Relación entre la reflectancia y el contenido relativo de clorofila (valores CCI)**

En las longitudes de onda más sensibles a la severidad del SALB, se observaron correlaciones significativas entre la reflectancia y el contenido relativo de clorofila en los estadios foliares B, C y C/D del clon FX 3864. En el VIS, las correlaciones más negativas se presentaron a los 588, 484 y 501 nm en folíolos C/D ($r = -0.90$), C ($r = -0.81$) y B ($r = -0.81$), respectivamente. En el NIR los mayores coeficientes de correlación positivos se presentaron a los 789, 723 y 749 nm en folíolos B ($r = 0.84$), C ($r = 0.82$) y C/D ($r = 0.60$). No se presentaron correlaciones significativas entre la reflectancia y el contenido relativo de clorofila en el VIS ni en el NIR para todos los estadios foliares del clon FX 4098 y para los folíolos D del FX 3864 infectados con *M. ulei*.

Según Delalieux *et al.* (2007), cambios en las células estructurales de las hojas, inducidos por el estrés biótico, pueden generar lesiones cloróticas visibles con mayor impacto sobre

los valores de reflectancia en las longitudes de onda comprendidas entre los 580 a 660 nm, y por tanto una reducción en el contenido de clorofila. En el patosistema *H. brasiliensis* – *M. ulei* se encontró en los folíolos una reducción en el índice de concentración de clorofila (CCI) en la región del rojo.

El contenido de pigmentos y las propiedades fisiológicas relacionadas con la reflectancia varían con la ontogenia (Sestak, 1985), la senescencia (Merzlyak y Gitelson, 1995), el contenido de nitrógeno (Khamis *et al.*, 1990), la historia de luz (Thayer y Björkman, 1990) y el tipo funcional (Gamon *et al.*, 1997). En consecuencia, la evaluación de la reflectancia en relación con los pigmentos de las hojas, pueden proporcionar indicadores útiles sobre el estado fisiológico de la hoja en una amplia gama de condiciones (Delalieux *et al.*, 2007).

Blackburn (1998) y Richardson *et al.* (2002) encontraron que a los 513 nm, antes del pico del verde, y a los 570 nm, detrás del pico del verde, la reflectancia está influenciada principalmente por el contenido de clorofila y se puede utilizar como un indicador de la relación de clorofila / carotenoides. Jing *et al.* (2007) afirmaron que en longitudes de onda inferiores a 733 nm, se presentan correlaciones negativas entre la reflectancia espectral y la concentración de la clorofila *a*.

La reflectancia cercana a los 674 nm fue destacada por Merzlyak *et al.* (1999) por ser sensible al deterioro de la clorofila y también es influenciada por la retención o acumulación de pigmentos carotenoides durante la senescencia o por la infección por patógenos como una estrategia para proteger el aparato fotosintético contra el daño fotoquímico debido al oxígeno singlete producido por el estado excitado triplete de la clorofila (Bacelar *et al.*, 2006; Rios *et al.*, 2014).

Gitelson *et al.* (2003) encontraron una fuerte relación lineal de la reflectancia con el contenido total de clorofila cerca a los 700 nm. Jing *et al.* (2007) describieron una alta correlación entre la concentración de clorofila y la severidad de la roya amarilla en trigo (*Triticum* sp.) alrededor de los 700 nm. Sin embargo, Pietrzykowski *et al.* (2006) no encontraron correlaciones significativas en ésta región del espectro, similar a lo reportado en la presente investigación en donde en la región del rojo no hubo significancia en la relación lineal de la reflectancia con la clorofila en ambos clones de caucho.

- **Influencia de la severidad del SALB sobre los IVEs**

En ambos clones de caucho, los IVEs permitieron discriminar significativamente entre las clases de severidad del SALB producidas por los diferentes estadios de desarrollo de *M. ulei* en todas las fenologías foliares consideradas ($p < 0.01$), con excepción del PRI en el estadio D del clon FX 4098 donde no se observaron diferencias significativas entre las clases de severidad.

Sin embargo, entre clones no se presentaron diferencias significativas en R678/R550 y NDVI en folíolos B, R678/R550 en folíolos C, y R670/R569, R678/R550, NDVI y SIPI en folíolos C/D (Tabla 3-7). Todos los IVEs se correlacionaron significativamente con las clases de severidad del SALB ($p < 0.01$), con excepción del PRI en folíolos D en ambos

clones de caucho donde no hubo el PRI no fue dependiente de la severidad (Tabla 3-8). En general, las correlaciones entre los IVEs y la severidad del SALB fueron mayores en los estadios foliares C y C/D.

En ambos clones de caucho y para los diferentes estadios foliares, los IVEs que mejor se correlacionaron con la severidad fueron: R438/R570, R670/R569, NDVI y SIPI. En el clon FX 3864 se presentaron las principales correlaciones significativas entre los IVEs y el contenido relativo de clorofila (valores de CCI). Los IVEs que mejor se correlacionaron con el contenido relativo de clorofila fueron R438/R570, R670/R569, NDVI y SIPI (Tabla 3-8). En general, la mejor correlación de éstos IVEs con la clorofila se observó en el estadio de foliar D.

Según Gamon *et al.* (1992) la reflectancia a 531 nm puede detectar la interconversión del ciclo de las xantofilas. Dado que las xantofilas son pigmentos tipo carotenoides reguladores ligados a la eficiencia del PSII, los índices de reflectancia que incorporen reflectancias próximas a 531 nm, podrían proporcionar información importante sobre la actividad fotosintética. No obstante, en el presente estudio el índice PRI sólo se correlacionó significativamente con el índice de concentración de clorofila (CCI) en los foliolos B del clon FX 3864.

La identificación de una enfermedad específica basada en IVEs no es posible hasta ahora, ya que estos índices carecen de especificidad en la patología. Por lo tanto, se requieren métodos de análisis de datos y algoritmos específicos para cada enfermedad (Rumpf *et al.*, 2010; Mahlein *et al.*, 2013).

Sin embargo, los IVEs han sido útiles en la detección temprana de las enfermedades, debido a la sensibilidad que poseen frente a cambios en la reflectancia ocasionados por agentes fitopatógenos (Mahlein *et al.* 2013). Diversos estudios han estimado el potencial de los índices de vegetación en la detección temprana de enfermedades (Pietrzykowski *et al.*, 2006; Delalieux *et al.* 2009; Naidu *et al.*, 2009; Rumpf *et al.*, 2010; Mahlein *et al.* 2010, 2013).

En ésta investigación la severidad del SALB afectó significativamente a la mayoría de los IVEs, donde el nuevo índice propuesto (R674/R550) resultó muy significativo y estuvo fuertemente correlacionado con las distintas clases de severidad del SALB en ambos clones de caucho y en los dos estadios fenológicos considerados. No obstante, no se correlacionó significativamente con el contenido relativo de clorofila.

Según Mahlein *et al.* (2013) las modificaciones bioquímicas manifestadas en plantas enfermas hacen que unos índices sean más discriminantes que otros en regiones vecinas del espectro de reflectancia y a través de tiempo. Del mismo modo las variaciones en la fenología de la hoja contribuyen con las modificaciones en el tipo y concentración de los pigmentos fotosintéticos, los cuales influyen directamente en las patrones de absorción de la luz en el VIS (Delalieux *et al.* 2009).

Tabla 3-7. Medias de siete índices de reflectancia espectral para folíolos sanos (‘0’) de dos clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) y cada una de las clases de severidad del mal suramericano de las hojas SALB producidas por diferentes estadios de desarrollo de *Microcyclus ulei* en condiciones de jardín clonal en Caquetá (Colombia)

Índice de reflectancia	Clon	Clases de severidad													
		BFm ^e							CFm						
		0Q	0SQ	1	2	3	4	Media	0Q	0SQ	1	2	3	4	Media
R438/R570	FX 3864 ^c	0.10 ± 0.001 ^{a,d}	0.10 ± 0.001d	0.250 ± 0.001c	0.25 ± 0.001b	0.32 ± 0.001a	-	0.20a	0.14 ± 0.000f	0.14 ± 0.000e	0.19 ± 0.000d	0.20 ± 0.000c	0.28 ± 0.000b	0.29 ± 0.000a	0.20a
	FX 4098 ^d	0.09 ± 0.000d	0.09 ± 0.000d	0.123 ± 0.000b	0.12 ± 0.000a	-	-	0.11b	0.13 ± 0.000d	0.13 ± 0.000c	0.17 ± 0.000b	0.21 ± 0.000a	-	-	0.16b
R678/R550	FX 3864	0.30 ± 0.000d	0.30 ± 0.000d	0.39 ± 0.000b	0.38 ± 0.000c	0.41 ± 0.000a	-	0.35a	0.44 ± 0.000f	0.44 ± 0.000e	0.57 ± 0.000d	0.58 ± 0.000c	0.58 ± 0.000b	0.59 ± 0.000a	0.53a
	FX 4098	0.32 ± 0.000d	0.32 ± 0.000c	0.38 ± 0.000b	0.38 ± 0.000a	-	-	0.35a	0.48 ± 0.000c	0.47 ± 0.000d	0.55 ± 0.000a	0.55 ± 0.000b	-	-	0.51a
NDVI	FX 3864	0.71 ± 0.000a	0.71 ± 0.000b	0.64 ± 0.000c	0.63 ± 0.000d	0.60 ± 0.000e	-	0.66a	0.74 ± 0.000a	0.74 ± 0.000b	0.65 ± 0.000d	0.70 ± 0.000c	0.61 ± 0.000e	0.60 ± 0.000f	0.67b
	FX 4098	0.70 ± 0.000a	0.70 ± 0.000b	0.66 ± 0.000c	0.65 ± 0.000d	-	-	0.68a	0.73 ± 0.000b	0.75 ± 0.000a	0.70 ± 0.000c	0.69 ± 0.000d	-	-	0.71a
PRI	FX 3864	-0.03 ± 0.000a	-0.03 ± 0.000b	-0.03 ± 0.000d	-0.03 ± 0.000e	-0.03 ± 0.000c	-	-0.03b	-0.02 ± 0.000a	-0.03 ± 0.000b	-0.03 ± 0.000d	-0.03 ± 0.000f	-0.03 ± 0.000e	-0.03 ± 0.000c	-0.02b
	FX 4098	-0.01 ± 0.000a	0.020 ± 0.000b	-0.02 ± 0.000c	-0.02 ± 0.000d	-	-	-0.02a	0.01 ± 0.000a	0.01 ± 0.000b	0.000 ± 0.000c	0.000 ± 0.000c	-	-	0.00a
R850/R710	FX 3864	1.05 ± 0.000c	1.05 ± 0.000b	1.05 ± 0.000d	1.06 ± 0.000a	1.04 ± 0.000e	-	1.05a	1.05 ± 0.000a	1.05 ± 0.000b	1.04 ± 0.000c	1.02 ± 0.000e	1.02 ± 0.000f	1.03 ± 0.000d	1.03a
	FX 4098	1.04 ± 0.000b	1.04 ± 0.000a	1.01 ± 0.000d	1.01 ± 0.000c	-	-	1.03b	1.04 ± 0.000a	1.04 ± 0.000b	1.01 ± 0.000d	1.02 ± 0.000c	-	-	1.02b
SIPI	FX 3864	0.82 ± 0.000a	0.82 ± 0.000a	0.74 ± 0.000b	0.73 ± 0.000c	0.70 ± 0.000d	-	0.76b	0.84 ± 0.000a	0.84 ± 0.000b	0.79 ± 0.000d	0.80 ± 0.000c	0.74 ± 0.000e	0.74 ± 0.000f	0.79b
	FX 4098	0.82 ± 0.000a	0.82 ± 0.000b	0.78 ± 0.000d	0.79 ± 0.000c	-	-	0.80a	0.84 ± 0.000b	0.85 ± 0.000a	0.81 ± 0.000c	0.81 ± 0.000d	-	-	0.82a
ARI	FX 3864	0.39 ± 0.001d	0.38 ± 0.001e	0.79 ± 0.001b	0.72 ± 0.001c	0.98 ± 0.001a	-	0.65b	3.37 ± 0.000e	3.36 ± 0.000f	3.39 ± 0.000d	3.47 ± 0.000b	3.57 ± 0.000a	3.46 ± 0.000c	3.43b
	FX 4098	1.91 ± 0.000b	1.90 ± 0.000d	1.90 ± 0.000c	1.92 ± 0.000a	-	-	1.91a	3.82 ± 0.000c	3.77 ± 0.000d	3.98 ± 0.000a	3.90 ± 0.000b	-	-	3.86a

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

Tabla 3-7 (Cont.)

Índice de reflectancia	Clon	Clases de severidad													
		C/D Au							DMu						
		0Q	0SQ	1	2	3	4	Media	0Q	0SQ	1	2	3	4	Media
R670/R569	FX 3864 ^c	0.59 ± 0.000f	0.59 ± 0.000e	0.86 ± 0.000d	0.95 ± 0.000c	1.01 ± 0.000b	1.09 ± 0.000a	0.85a	0.68 ± 0.000f	0.69 ± 0.000e	0.81 ± 0.000d	0.85 ± 0.000c	1.05 ± 0.000b	1.06 ± 0.000a	0.86a
	FX 4098 ^d	0.75 ± 0.000c	0.75 ± 0.000d	0.91 ± 0.000b	0.98 ± 0.000a	-	-	0.85a	0.59 ± 0.026b	0.63 ± 0.026b	0.76 ± 0.026a	0.77 ± 0.026a	-	-	0.69b
R678/R550	FX 3864	0.55 ± 0.000f	0.55 ± 0.000e	0.74 ± 0.000d	0.75 ± 0.000c	0.79 ± 0.000a	0.79 ± 0.000b	0.70a	0.62 ± 0.000f	0.62 ± 0.000e	0.86 ± 0.000d	0.88 ± 0.000c	0.94 ± 0.000a	0.93 ± 0.000b	0.81a
	FX 4098	0.62 ± 0.000d	0.63 ± 0.000c	0.85 ± 0.000b	0.85 ± 0.000a	-	-	0.74a	0.54 ± 0.015b	0.57 ± 0.015b	0.65 ± 0.015a	0.67 ± 0.015a	-	-	0.61b
NDVI	FX 3864	0.76 ± 0.000a	0.76 ± 0.000b	0.70 ± 0.000c	0.70 ± 0.000d	0.68 ± 0.000e	0.67 ± 0.000f	0.71a	0.81 ± 0.000a	0.81 ± 0.000b	0.74 ± 0.000c	0.74 ± 0.000d	0.73 ± 0.000e	0.72 ± 0.000f	0.76b
	FX 4098	0.75 ± 0.000a	0.75 ± 0.000b	0.69 ± 0.000c	0.69 ± 0.000d	-	-	0.72a	0.84 ± 0.003a	0.83 ± 0.003b	0.82 ± 0.003b	0.81 ± 0.003c	-	-	0.83a
PRI	FX 3864	-0.08 ± 0.000b	-0.08 ± 0.000a	-0.08 ± 0.000d	-0.09 ± 0.000f	-0.08 ± 0.000e	-0.08 ± 0.000c	-0.08a	-0.08 ± 0.000b	-0.08 ± 0.000a	-0.08 ± 0.000d	-0.09 ± 0.000f	-0.08 ± 0.000e	-0.08 ± 0.000c	-0.08a
	FX 4098	-0.09 ± 0.000a	-0.09 ± 0.000a	-0.25 ± 0.000c	-0.25 ± 0.000b	-	-	-0.17b	-0.10 ± 0.004a	-0.10 ± 0.004a	-0.10 ± 0.004a	-0.09 ± 0.004a	-	-	-0.10b
R850/R710	FX 3864	1.23 ± 0.000a	1.23 ± 0.000b	1.07 ± 0.000d	1.07 ± 0.000e	1.08 ± 0.000c	1.06 ± 0.000f	1.12a	1.22 ± 0.000a	1.22 ± 0.000b	1.08 ± 0.000e	1.08 ± 0.000f	1.09 ± 0.000c	1.08 ± 0.000d	1.13b
	FX 4098	1.04 ± 0.00b	1.05 ± 0.000a	1.02 ± 0.000c	1.02 ± 0.000d	-	-	1.03b	1.23 ± 0.011a	1.22 ± 0.011a	1.17 ± 0.011b	1.14 ± 0.011b	-	-	1.19a
SIPI	FX 3864	0.85 ± 0.000a	0.85 ± 0.000b	0.81 ± 0.000c	0.81 ± 0.000d	0.79 ± 0.000e	0.79 ± 0.000f	0.82a	0.88 ± 0.000a	0.88 ± 0.000b	0.84 ± 0.000d	0.84 ± 0.000c	0.81 ± 0.000e	0.81 ± 0.000f	0.84b
	FX 4098	0.85 ± 0.000a	0.85 ± 0.000b	0.81 ± 0.000d	0.81 ± 0.000c	-	-	0.83a	0.90 ± 0.003a	0.89 ± 0.003a	0.87 ± 0.003b	0.86 ± 0.003c	-	-	0.88a
ARI	FX 3864	4.56 ± 0.000e	4.55 ± 0.000f	4.93 ± 0.000d	5.04 ± 0.000b	5.10 ± 0.000a	4.96 ± 0.000c	4.86b	6.90 ± 0.000e	6.90 ± 0.000f	7.36 ± 0.000c	7.29 ± 0.000d	7.94 ± 0.000a	7.62 ± 0.000b	7.34b
	FX 4098	6.01 ± 0.001d	6.04 ± 0.001c	6.80 ± 0.001a	6.62 ± 0.001b	-	-	6.37a	8.02 ± 0.011b	7.77 ± 0.011b	8.51 ± 0.011a	8.40 ± 0.011a	-	-	8.18a

^aError estándar

^bPara cada índice, medias en cada fila (clon) por estadio foliar seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente (Prueba LSD, p < 0.05)

^cAltamente susceptible al SALB; ^dModeradamente resistente al SALB

^eBFm, folíolos B (16 - 20 días) infectados con *Fusicladium macrosporum*; CFm, folíolos C (24 - 28 días) infectados con *F. macrosporum*; C/D Au, folíolos C/D (80 - 90 días) infectados con *Aposphaeria ulei*; DMu, folíolos D (140 - 150 días) infectados con *Microcyclus ulei*.

NDVI, Índice de vegetación de diferencia normalizada; PRI, Índice de reflectancia fotosintético; SIPI, Índice independiente de la estructura del pigmento; ARI, Índice de reflectancia de antocianina.

Tabla 3-8. Coeficientes de correlación de Pearson (r) entre siete índices de reflectancia espectral y (a) las clases de severidad del mal suramericano de las hojas SALB producidas por diferentes estadios de desarrollo de *Microcyclus ulei* en dos clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) y (b) la concentración relativa de clorofila (valores CCI) en condiciones ambientales de inoculación.

Índice de reflectancia	Clon	BFm ^c		CFm	
		(a) Severidad (r)	(b) Clorofila (r)	(a) Severidad (r)	(b) Clorofila (r)
R438/R570	FX 3864 ^a	0.93**	-0.82**	0.976**	-0.805**
	FX 4098 ^b	0.94**	-0.31NS	0.998**	-0.368NS
R678/R550	FX 3864	0.86**	-0.81**	0.766**	0.536**
	FX 4098	0.89**	-0.26NS	0.907**	-0.311NS
NDVI	FX 3864	-0.93**	0.85**	-0.871**	-0.727**
	FX 4098	-0.87**	0.24NS	-0.905**	0.310NS
PRI	FX 3864	-0.68**	0.77**	-0.423*	0.159NS
	FX 4098	-0.95**	0.31NS	-0.837**	0.278NS
R850/R710	FX 3864	-0.59**	0.29NS	-0.735**	0.416*
	FX 4098	-0.85**	0.22NS	-0.834**	0.277NS
SIPI	FX 3864	-0.94**	0.84**	-0.924**	0.766**
	FX 4098	-0.82**	0.19NS	-0.951**	0.334NS
ARI	FX 3864	0.89**	-0.76**	0.713**	-0.374NS
	FX 4098	0.75**	-0.48NS	0.537**	-0.150NS
Índice de reflectancia	Clon	C/DAu		DMu	
		(a) Severidad (r)	(b) Clorofila (r)	(a) Severidad (r)	(b) Clorofila (r)
R670/R569	FX 3864 ^a	0.939**	-0.758**	0.966**	-0.798**
	FX 4098 ^b	0.978**	-0.219NS	0.720**	-0.387NS
R678/R550	FX 3864	0.835**	-0.596**	0.837**	-0.659**
	FX 4098	0.869**	-0.208NS	0.802**	-0.440NS
NDVI	FX 3864	-0.907**	0.713**	-0.891**	0.715**
	FX 4098	-0.883**	0.211NS	-0.835**	0.470NS
PRI	FX 3864	-0.309**	-0.000NS	-0.303NS	0.263**
	FX 4098	-0.862**	0.209NS	0.254NS	-0.177NS
R850/R710	FX 3864	-0.719**	0.49*	-0.686**	0.525**
	FX 4098	-0.891**	0.211NS	-0.818**	0.443NS
SIPI	FX 3864	-0.877**	0.670**	-0.948**	0.767**
	FX 4098	-0.848**	0.207NS	-0.848**	0.477NS
ARI	FX 3864	0.728**	-0.409*	0.827**	-0.627**
	FX 4098	0.742**	-0.189NS	0.462NS	-0.231NS

* $p < 0.05$; significativo; ** $p < 0.01$, muy significativo; NS, no significativo

^aAltamente susceptible al SALB; ^bModeradamente resistente al SALB

^cBFm, folíolos B (16 - 20 días) infectados con *Fusicladium macrosporum*; CFm, folíolos C (24 - 28 días) infectados con *F. macrosporum*; C/DAu, folíolos C/D (80 - 90 días) infectados con *Aposphaeria ulei*; DMu, folíolos D (140 - 150 días) infectados con *Microcyclus ulei*.

NDVI, Índice de vegetación de diferencia normalizada; PRI, Índice de reflectancia fotosintético; SIPI, Índice independiente de la estructura del pigmento; ARI, Índice de reflectancia de antocianina.

- Modelos de regresión para la predicción de las clases de severidad del SALB

Los mejores modelos de regresión que explicaron la relación entre las clases de severidad del SALB y la respuesta espectral para cada clon de caucho crecido en condiciones ambientales en jardín clonal, aparecen reportados en la figura 3-12.

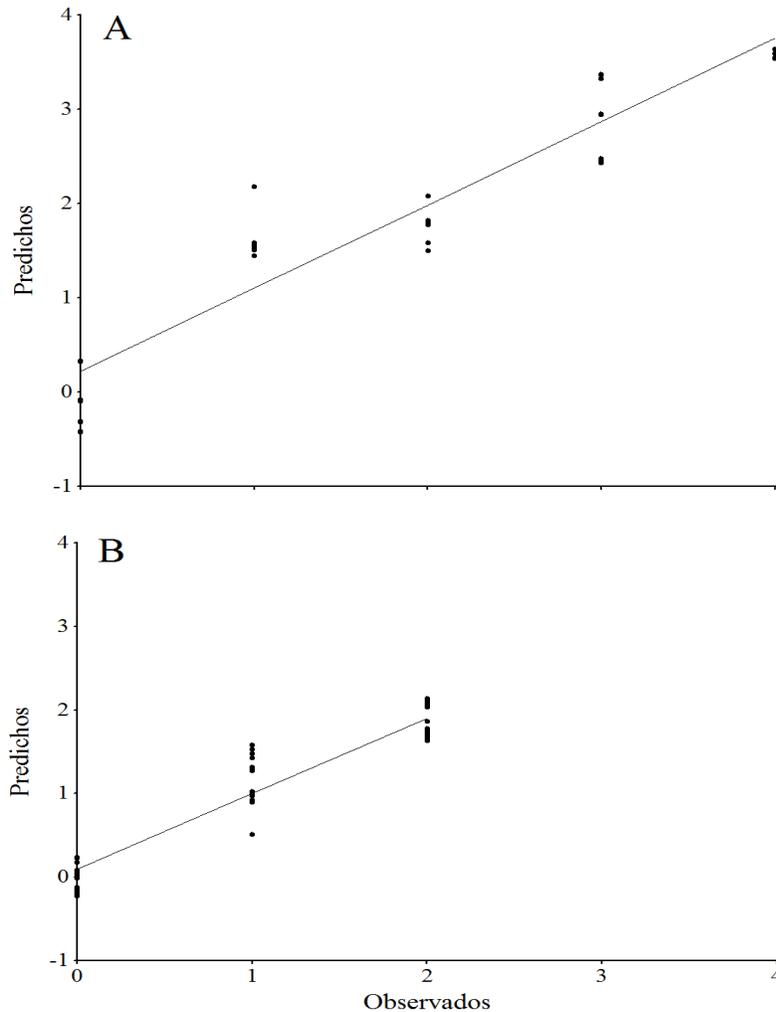


Figura 3-12. Relación entre los valores observados y los valores predichos de las clases de severidad del SALB para dos clones de caucho (*Hevea brasiliensis*), a partir de modelos de regresión lineal múltiple de la respuesta espectral en condiciones ambientales. **A**, clon altamente susceptible FX 3864, Severidad = $7.52 - [20.94 \times (R800 - R680)/(R800 + R680)] + [16.88 \times (R570 - R531)/(R570 + R531)] + (5.67 \times R850/R710) - [0.22 \times (1/R550 - 1/R700)] + (6.08 \times R670/R569)$, $R^2 = 0.88$, ECM = 0.23, $p < 0.0001$. **B**, clon moderadamente resistente FX 4098, Severidad = $-19.57 - (86.62 \times R522) + (28.19 \times R850/R710) - [10.59 \times (R800 - R680)/(R800 + R680)] - [1.52 \times (1/R550 - 1/R700)] + (7.85 \times R670/R569) + (318.51 \times R450)$, $R^2 = 0.89$, ECM = 0.08, $p < 0.0001$

Los modelos construidos se utilizaron para predecir las clases de severidad en cada clon y poseen el poder de discriminar entre severidades del SALB independiente de la fenología foliar y del estadio de desarrollo del patógeno. La validación independiente mostró una alta correlación significativa entre los datos predichos y los observados ($r = 0.94$; $p < 0.0001$ para el clon FX 3864 y $r > 0.95$; $p < 0.0001$ para el clon FX 4098) (Figura 3-12).

En el clon FX 3864 (independiente del estadio foliar), el 5.2% de las predicciones fueron exactas, 47.4% subestimadas y 47.4% sobrestimadas. Para el FX 4098 (independiente de la fenología foliar), el 20% de las predicciones fueron exactas, 41.7% subestimadas y 38.3% sobrestimadas.

Los resultados de éste estudio presentan modelos de predicción de las clases de severidad del SALB a nivel foliar, independientes del estado fenológico y el estadio de desarrollo del patógeno y aplicable específicamente a cada clon de caucho en condiciones ambientales. Estos modelos presentaron un mejor ajuste lineal que el reportado por Pietrzykowski *et al.* (2006) para *Mycosphaerella* en *E. globulus* ($R^2 = 0.83$). Asimismo, los modelos aquí presentados poseen una mayor capacidad predictiva para valores exactos de las severidades evaluadas. Estas diferencias en la capacidad predictiva de los modelos además de los patosistemas evaluados, podrían relacionarse en la diferencia de sensores utilizados (rango espectral: 250 -2100 nm vs 300 -1000 nm) y en las diferentes circunstancias de medidas con respecto al presente estudio (dosel simulado vs foliolos, dos lámparas de 150 W vs cuatro lámparas de 40 W).

Este estudio es el primer reporte en el que se analiza los cambios en la respuesta fisiológica (intercambio gaseoso y fluorescencia de la clorofila *a*) y en las propiedades de reflectancia espectral en foliolos jóvenes (B y C) y maduros (C/D) de los clones de caucho FX 4098 y FX 3864 en respuesta a la infección por los tres estadios de desarrollo del patógeno (*F. macrosporum*, *A. ulei* y *M. ulei*) en condiciones ambientales de crecimiento en jardín clonal.

3.6 Conclusiones

El análisis de los parámetros fisiológicos (intercambio gaseoso y fluorescencia de la clorofila *a*) en condiciones ambientales de jardín clonal permiten concluir:

- Las tasas fotosintéticas en el clon FX 3864 (susceptible) fueron significativamente afectadas en respuesta a la infección por *M. ulei*, y en un mínimo grado en el clon FX 4098 (moderadamente resistente), como resultado de una menor conductancia estomática y una baja eficiencia en el uso del agua en el clon susceptible; la afectación de la fotosíntesis fue proporcional a la intensidad de los síntomas de la enfermedad (mayor nivel de severidad) y el fenómeno se intensificó en foliolos infectados pertenecientes a los estadios foliares B y C.

- Existe una diferenciación significativa en la habilidad para capturar, usar y disipar la energía lumínica por parte del fotosistema II principalmente en el clon FX 3864 y en los estadios foliares jóvenes (B y C).
- El análisis de la respuesta espectral al SALB permite concluir que la enfermedad posee un efecto significativo en las propiedades espectrales de los clones de caucho FX 3864 y FX 4098 en condiciones ambientales de crecimiento en jardín clonal. Éste efecto se basa principalmente en las características fisiológicas de cada clon como el contenido relativo de clorofila, en la fenología de los folíolos (B, C o D) y en la clase de severidad de la enfermedad según el estadio de desarrollo del patógeno.
- El análisis de las firmas espectrales y de la diferencia y sensibilidad de la reflectancia, permitieron obtener dos nuevos índices de vegetación espectral para la detección e identificación del SALB en folíolos jóvenes y maduros de los clones de caucho FX 4098 y FX 3864. Asimismo se reportan para cada clon de caucho, el primer modelo lineal basados en índices espectrales para la predicción de las clases de severidad del SALB en condiciones de inoculación natural.

3.7 Agradecimientos

Los autores agradecen al proyecto: Evaluación del asocio agrisilvícola: caucho (*Hevea brasiliensis*) – nuevos clones de copoazú (*Theobroma grandiflorum*) mediante el uso de indicadores agronómicos, ecofisiológicos, bioquímicos y epidemiológicos en el departamento del Caquetá. Contrato RC No.746 -2011- Fiduciara Bogotá – Colciencias – Sinchi – UNAL - Asoheca por el soporte económico a la presente investigación.

3.8 Referencias

Aucique Perez, C. E., Rodrigues, F. A., Moreira, W. R., DaMatta, F. M. 2014. Leaf Gas Exchange and Chlorophyll *a* Fluorescence in Wheat Plants Supplied with Silicon and Infected with *Pyricularia oryzae*. 104 (2): 143-149.

Agrios, G. N. 2005. Fitopatología. Edit. LIMUSA S.A. México. 838 p.

Alves, A. A., Guimares, L. M. S., Chaves, A. R. M., DaMatta, F. M., Alfenas, A. C. 2011. Leaf gas exchange and chlorophyll *a* fluorescence of *Eucalyptus urophylla* in response to *Puccinia psidii* infection. Acta Physiol Plant 33: 1831-1839.

Aleric, K. M., Kirkman, L. K. 2005. Growth and photosynthetic responses of the federally endangered shrub, *Lindera melissifolia* (Lauraceae), to varied light environments. American Journal of Botany 92: 682-689.

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

Asoheca (Asociación de Reforestadores y Cultivadores de Caucho del Caquetá, CO). 2014. Información estadística de caucho en el Departamento del Caquetá (Colombia) a diciembre de 2013. Documento interno de agronegocios. Ed. I. Dussan. 2 p.

Asner, G. P. 1998. Biophysical and Biochemical Sources of Variability in Canopy Reflectance. Elsevier Science Inc 64: 234-253.

Atkinson, C. J., Dodds, P. A. A., Ford, Y. Y., J. Le Mièrè., Taylor, J. M., Blake, P. S., Paul, N. 2006. Effects of Cultivar, Fruit Number and Reflected Photosynthetically Active Radiation on *Fragaria x ananassa* Productivity and Fruit Ellagic Acid and Ascorbic Acid Concentrations. *Annals of Botany* 97 (3): 429-441.

Bacelar, E. A., Santos, D. L., Moutinho-Pereira, J. M., Gonçalves, B. C., Ferreira, H. F., Correia, C. M. 2006. Immediate responses and adaptative strategies of three olive cultivars under contrasting water availability regimes: changes on structure and chemical composition of foliage and oxidative damage. *Plant Sci* 170: 596-605.

Bacon, M. 2004. Water use efficiency in plant biology. Blackwell Publishing Ltd. Oxford UK. 322 p.

Baker, N. R., Nogués, S., Allen, D. J. 1997. Photosynthesis and photoinhibition. *Plants and UV-B: Response to Environmental Change*. P. J. Lumsden, ed. Cambridge University Press, Cambridge, UK. 95-111.

Baker, N. R., Rosenqvist, E. 2004. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *J Exp Bot* 55:1607-1621.

Baker, N. R. 2008. Chlorophyll Fluorescence: A Probe of Photosynthesis In Vivo. *Plant Biol* 59: 89-113.

Bastiaans, L. 1993. Effects of leaf blast on photosynthesis of rice. *Leaf photosynthesis*. *Neth J Plant Pathol* 99: 197-203.

Bassanezi, R. B., Amorim, L., Bergamin, F. A., Berger, R. D. 2002. Gas exchange and emission of chlorophyll fluorescence during the monocycle of rust, angular leaf spot and anthracnose on bean leaves as a function of their trophic characteristics. *J Phytopathol* 150: 37-47.

Bassanezi, R. B., Amorim, L., Filho, A. B., Berger, R. D. 2003. Gas exchange and emission of chlorophyll fluorescence during the monocycle of rust, angular leaf spot and anthracnose on bean leaves as a function of their trophic characteristics. *J Phytopathol* 150:37-47.

Berger, S., Sinha, A. K., Roitsch, T. 2007. Plant physiology meets phytopathology: plant primary metabolism and plant-pathogen interactions. *J Exp Bot* 58:4019-4026.

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

Bergonci, J. I. 1981. Estudos ecofisiológicos relacionados com o balanço de CO₂ durante a ontogenia foliar em (*Hevea brasiliensis* Müell. Arg.). Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 53 p.

Bonfig, K. B., Schreiber, U., Gabler, A., Roitsch, T., Berge, S. 2006. Infection with virulent and avirulent *P. syringae* strains differentially affects photosynthesis and sink metabolism in *Arabidopsis leaves*. *Planta* 225:1-12.

Blackburn, G. A. 1998. Quantifying chlorophylls and carotenoids at leaf and canopy scale: an evaluation of some hyperspectral approaches. *Remote Sensing of Environment* 66: 273-285.

Blackburn, G. A. 2007. Hyperspectral remote sensing of plant pigments. *Journal of Experimental Botany* 58: 844-867.

Bryant, R. B., Moran, M. S. 1999. Determining crop water stress from crop temperature variability. Proceedings of the Fourth International Airborne Remote Sensing Conference and Exhibition / 21st Canadian Symposium on Remote Sensing, Ottawa, Canada. Ann Arbor, MI: ERIM International Inc. pp. 289-296.

Cavalcante, J. R., Conforto, E. De C. 2006. Fotossíntese e relações hídricas de duas cultivares jovens de seringueira. *Revista Brasil. Bot* 29 (4): 701-708.

Coley, P. D., Barone, J. A. 1996. Herbivory and plant defenses in tropical forests. *Annual Review of Ecology and Systematics* 27: 305-335.

Conforto, E. de C., Cavalcante, J. R., Pessoa, J. D. C., Moreno, J. M. B., Mattoso, L. H. C. 2005. Variação sazonal das trocas gasosas, turgescência relativa do tronco e produtividade em dois cultivares de seringueira em Votuporanga, SP, Brasil. *Acta Bot. Bras.* 19(4): 733-740.

Conforto, E. de C. 2008. Respostas fisiológicas ao déficit hídrico em duas cultivares enxertadas de seringueira (“RRIM 600” e “gt1”) crescidas em campo. *physiological responses to water deficit in two young field-grown scion rubber*. *Ciência Rural*, Santa Maria 38 (3): 679-684.

Compagnon, P. 1998. El Caucho Natural, Biología - Cultivo - Producción. Consejo Mexicano del Hule - CIRAD. México, D. F. 701 p.

CCC. Confederación Cauchera Colombiana. 2011. Estado actual del gremio cauchero colombiano. En: Memorias Congreso Internacional Cauchero 2011. CCC/SENA/SAC/Gobernación del Meta/Cámara de Comercio de Villavicencio. Villavicencio-Meta. 15 p.

Chandrasekharan, R. 2005. Optical properties of leaves. 15 p.

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

Chou, H., Bundock, N., Rolfe, S. A., Scholes, J. D. 2000. Infection of *Arabidopsis thaliana* leaves with *Albugo candida* (white blister rust) causes a reprogramming of host metabolism. *Mol Plant Pathol* 1:99-113.

Cruz-Aguilar, M., Carvajal, L. H., Melgarejo, L. M. 2012. Respuesta fisiológica de la gulupa (*Passiflora edulis* Sims) frente al ataque por *Fusarium* spp. pp. 91-113. En: Melgarejo, L. M. (Ed). *Ecofisiología del cultivo de la gulupa (Passiflora edulis Sims)*. Capítulo 5. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. Colombia. 144 p.

Dallagnol, L. J., Rodrigues, F. A., Martins, S. C. V., Cavatte, P. C., DaMatta, F. M. 2011. Alterations on rice leaf physiology during infection by *Bipolaris oryzae*. *Australasian Plant Pathol* 40: 360-365.

Datt, B. 1999. A new reflectance index for remote sensing of chlorophyll content in higher plants: tests using *Eucalyptus leaves*. *J. Plant Physiol* 154: 30-36.

Day, T. A., Vogelmann, T. C., DeLucia, E. H. 1992. Are some plant life forms more effective than others in screening out ultraviolet- B radiation. *Oecologia* 92: 513-519.

Debona, D., Rodrigues, F. A., Rios, J. A., Telles, K. J. N. 2012. Biochemical changes in the leaves of wheat plants infected by *Pyricularia oryzae*. *Phytopathology* 102: 1121-1129.

Debona, D., Ávila, R. F., Alberto, R. J., Vitor, M. S. C., Felisberto, P. L., DaMatta, F. M. 2014. Limitations to Photosynthesis in Leaves of Wheat Plants Infected by *Pyricularia oryzae*. *Phytopathology* 104(1): 34-39.

Delalieux, S., Aardt, J. V., Keulemans, W., Schrevels, E., Coppin, P. 2007. Detection of biotic stress (*Venturia inaequalis*) in apple trees using hyperspectral data: Non-parametric statistical approaches and physiological implications. *European Journal of Agronomy* 27: 130-143.

Delalieux, S., Somers, B., Verstaeten, W. W., Van Aardt, J. A. N., Keulemans, W., Coppin, P. 2009. Hyperspectral indices to diagnose leaf biotic stress of apple plants, considering leaf phenology. *International Journal of Remote Sensing* 30: 1887-1912.

Deguisse, J. C., McNairn, H., Staenz, K., McGovern, M. 1998. Spatial high resolution crop measurements with airborne hyperspectral remote sensing. *Proceedings of the Fourth International Conference on Precision Agriculture and Other Precision Resources Management*, St. Paul, Minnesota. Ann Arbor, MI: ERIM International Inc. pp. 1603-1608.

Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M., Robledo, C. W. *InfoStat versión 2013*. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Fecha de consulta: 21 de julio de 2013. Disponible en: <http://www.infostat.com.ar>.

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

Domiciano, G. P., Resende, R. S., Rodrigues, F. A., DaMatta, F. M. 2009. Alteração na fotossíntese de plantas infectadas por patógenos. *Revisão Anual de Patologia de Plantas* 17: 305-339.

Fonseca, P. D., Aristizabal, G. F. A. 2010. Contribución a la certificación por técnicas moleculares del material comercial de *Hevea brasiliensis* de interés para Colombia. Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional de Colombia – IBUN – Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas Sinchi. Fecha de consulta: 09 de septiembre de 2013. Disponible en: <http://biblioteca.agronet.gov.co:8080/jspui/handle/123456789/1910>.

Gausman, H. 1985. Plant leaf optical parameters in visible and near-infrared light. Graduate studies. Texas Tech University No. 29 (Lubbock: Texas Tech Press).

Gamon, J. A., Field, C. B., Bilger, W., Bjorkman, O., Fredeen, A. L., Penuelas, J. 1990. Remote sensing of the xanthophyll cycle and chlorophyll fluorescence in sunflower leaves and canopies. *Oecologia* 85: 1-7.

Gamon, J. A., Peñuelas, J., Field, C. B. 1992. A narrow-waveband spectral index that tracks diurnal changes in photosynthetic efficiency. *Remote Sensing of Environment* 41: 35-44.

Gamon, J. A., Serrano, L., Surfus, J. S. 1997. The photochemical reflectance index: an optical indicator of photosynthetic radiation use efficiency across species, functional types, and nutrient levels. *Oecologia* 112: 492-501.

Gamon, J. A., Surfus, J. S. 1999. Assessing leaf pigment content and activity with a reflectometer. *New Phytol* 143: 105-117.

Garcia, R. I. A., Ancizar, A. F., Montoya, C. D. 2006. Revisión sobre el hongo *Microcyclus ulei*, agente causal del mal suramericano de la hoja de caucho. *Rev. Colomb. Biotecnol* 8 (2): 50-59.

Garcia, D., Carels, N., Koop, D. M., Sousa, L. A., Andrade Junior, S.J., Pujade Renaud, V., Mattos, C. R. R., Cascardo, J. C. M. 2011. EST profiling of resistant and susceptible *Hevea* infected by *Microcyclus ulei*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 76: 126-136.

Gitelson, A. A., Merzlyak, M. N., Chivkunova, O. B. 2001. Optical properties and nondestructive estimation of anthocyanin content in plant leaves. *Photochemistry and Photobiology* 74: 38-45.

Gitelson, A. A., Gritz, Y., Merzylak, M. N. 2003. Relationships between leaf chlorophyll content and spectral reflectance and algorithms for non-destructive chlorophyll assessment in higher plant leaves. *Journal of Plant Physiology* 160: 271-282.

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

Gould, K. S., Kuhn, D. N., Lee, D. W., Oberbauer, S. F. 1995. Why leaves are sometimes red. *Nature* 378: 241-242.

Guo, D. P., Zhao, J. P., Liu, H., Peng, Y., Wang, Q. M., Chen, J. S., Rao, G. Z. 2005. Photosynthetic rate and chlorophyll fluorescence in leaves of stem mustard (*Brassica juncea* var. *tsatsai*) after turnip mosaic virus infection. *Plant Sci* 168: 57-63.

Hajji, M., Dreyer, E., Marçais, B. 2009. Impact of *Erysiphe alphitoides* on transpiration and photosynthesis in *Quercus robur* leaves. *Eur J Plant Pathol* 125: 63-72.

Hallé, F., Oldeman, R., Tomlinson, P. B. 1978. *Tropical trees and forest*. Springer-verlag. Berlin, DE. 441 p.

Hatfield, L. J., Gitelson, A. A., Schepers, S. J., Walthall, L. C. 2008. Application of spectral remote sensing for agronomic decisions. *Agronomy Journal* 100 (3): 117-131.

Hillnhütter, C., Mahlein, A. K., Sikora, R., Oerke, E. C. 2011. Remote sensing to detect plant stress induced by heterodera schachtii and rhizoctonia solani in sugar beet fields. *Field Crops Research* 122 (1): 70–77.

IDEAM (Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales, CO). 2009. Datos meteorológicos del departamento del Caquetá. Santa Fé de Bogotá. Estación Limnimétrica. Montañita, Caquetá. pp. 1-3.

IRSG (International Rubber Study Group, SI). 2013. *Rubber Statistical Bulletin*. Noviembre de 2013. Fecha de consulta: 2 de Abril de 2014. Disponible en: <http://www.rubberstudy.com/statistics.aspx>

Jacquemoud, S., Baret, F. 1990. Prospect: a model of leaf optical properties spectra. *Remote Sensing of Environment* 34: 75-91.

Jing, L., Jinbao, J., Yunhao, C., Yuanyuan, W., Wei, S., Wenjiang, H. 2007. Using hyperspectral indices to estimate foliar chlorophyll a concentrations of winter wheat under yellow rust stress. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 50: 1031-1036.

Jones, D. G. J., Dangl, L. J. 2006. The plant immune system. *Nature* 444 (7117): 323-329.

Khamis, S., Lamaze, T., Lemoine, Y., Foyer, C. 1990. Adaptation of the photosynthetic apparatus in maize leaves as a result of nitrogen limitation. *Plant Physiology* 94: 1436-1443.

Kobayashi, T., Kanda, E., Naito, S., Nakajima, T., Arakawa, I., Nemoto, K., Honma, M., Toujyou, H., Ishiguro, K., Kitada, K., Torigoe, Y. 2003. Ratio of rice reflectance for estimating leaf blast severity with a multispectral radiometer. *J. Gen. Plant Pathol* 69: 17-22.

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

Kumar, L., Schmidt, K. S., Dury, S., Skidmore, A. K. 2001, Imaging spectrometry and vegetation science. In Imaging Spectrometry, F. van de Meer and S.M. de Jong (Eds), pp. 111-155 (Dordrecht: Kluwer Academic Press).

Krause, G. H., Weis, E. 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 42: 313-349.

Lekawipat, N., Teerawatanasuk, K., Rodier-Goud, M., Seguin, M., Vanavichit, A., Toojinda, T., Tragoonrung, S. 2003. Genetic diversity analysis of wild germplasm and cultivated clones of *Hevea brasiliensis* Muell. Arg. By using microsatellite markers. *Journal of Rubber Research*. 6 (1): 36-47.

Lespinasse, D., Roider-Goud, M., Grivet, L., Leconte, A., Legnate, H., Seguin, M. 2000. A saturated genetic linkage map of rubber tree (*Hevea* spp.) bases on RPLP, AFLP, microsatellite and isozyme markers. *Theoretical Applied Genetics* 100: 127-138.

Lieberei, R. 2007. South american leaf blight of the rubber tree (*Hevea* spp.): new steps in plant domestication using physiological features and molecular markers. Invited Review. *Annal of Botany* 100: 1125-1142.

Liberloo, M., Tulva, I., Raïm, O., Kull, O., Ceulemans, R. 2007. Photosynthetic stimulation under long-term CO₂ enrichment and fertilization is sustained across a closed *Populus* canopy profile (EUROFACE). *New Phytologist* 173 (3): 537-549.

Lichtenthaler, H. K., Gitelson, A., Lang, M. 1996: Non-destructive determination of chlorophyll content of leaves of a green and an aurea mutant of tobacco by reflectance measurements. *J. Plant Physiol* 148: 483-493.

Lichtenthaler, H. K., Miede, J. A. 1997. Fluorescence imaging as a diagnostic tool for plant stress. *Trends Plant Sci* 2: 316-320.

Lima, A. L. S., DaMatta, F. M., Pinheiro, H. A., Totola, M. R., Loureiro, M. E. 2002. Photochemical responses and oxidative stress in two clones of *Coffea canephora* under water deficit conditions. *Environ. Exp. Bot* 47:239-247.

Lopes, D. B., Berger, R. D. 2001. The effect of rust and anthracnose on the photosynthetic competence of diseased bean. leaves. *Phytopathology* 91: 2121-2220.

Mahlein, A. K., Hillnhütter, C., Mewes, T., Scholz, C., Steiner, U., Dehne, H. -W. 2009. Disease detection in sugar beet fields: A multi-temporal and multi-sensoral approach on different scales. In C. M. Neale, & A. Maltese (Eds.), *Proceedings of the SPIE Europe Conference on Remote Sensing (7472)*: 28-38.

Mahlein, A. K., Steiner, U., Dehne, H. W., Oerke, E. C. 2010. Spectral signatures of sugar beet leaves for the detection and differentiation of diseases. *Precision Agriculture* 11: 413-431.

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

Mahlein, A. K., Steiner, U., Hillnhütter, C., Dehne, H. W., Oerke, E. C. 2012. Hyperspectral imaging for small-scale analysis of symptoms caused by different sugar beet diseases. *Plant methods* (1): 3.

Mahlein, A. K., Rumpf, T., Welke, P., Dehne, H. W., Plümer, L., Steiner, U., Oerke, E.C. 2013. Development of spectral indices for detecting and identifying plant diseases. *Remote Sensing of Environment* 128: 21-30.

Malthus, T. J., Madeira, A. C. 1993. High resolution spectroradiometry: spectral reflectance of field bean leaves infected by *Botrytis fabae*. *Remote Sens. Environ.* 45:107-116.

Maxwell, K., Johnson, G. N. 2000. Chlorophyll fluorescence – a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51 (345): 659-668.

Merzlyak, M. N., Gitelson, A. 1995. Why and what for the leaves are yellow in autumn On the interpretation of optical spectra of senescing leaves (*Acer platanoides* L.). *Journal of Plant Physiology* 145: 315-320.

Merzlyak, M. N., Gitelson, A. A., Chivkunova, O. B., Rakitin, V. Y. 1999. Non-destructive optical detection of pigment changes during leaf senescence and fruit ripening. *Physiologia Plantarum* 106: 135-141.

Miguel, A. A., De Oliveira, M. L. E., Ramos, A. P., Oliveira, D. M. 2007. Photosynthetic behaviour during the leaf ontogeny of rubber tree clones (*Hevea brasiliensis* (Wild. ex. Adr. de Juss.) Muell. Arg.), in Lavras, MG. *Ciênc. Agrotec. Lavras* 31(1): 91-97.

Moran, M. S., Inoue, Y., Barnes, E. M. 1997. Opportunities and limitations for image-based remote sensing in precision crop management. *Remote Sensing of the Environment* 61: 319-346.

Moshou, D., Bravo, C., West, J., Wahlen, S., McCartney, A., Ramon, H. 2004. Automatic detection of ‘yellow rust’ in wheat using reflectance measurements and neural networks. *Computers and Electronics in Agriculture* 44: 173-188.

McGrath, M. T., Pennypacker, S. P. 1990. Alteration of physiological processes in wheat flag leaves caused by stem rust and leaf rust. *Phytopathology* 80: 677-686.

Naidu, A. R., Perry, M. E., Pierce, J. F., Mekuria, T. 2009. The potential of spectral reflectance technique for the detection of grapevine leaf-roll associated virus fi 3 in two red-berried wine grape cultivars. *Computers and Electronics in Agriculture* 66 (1): 38-45.

Nilsson, H. E., 1995: Remote sensing and image analysis in plant pathology. *Annu. Rev. Phytopa* 15: 489-527.

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

Peñuelas, J., Baret, F., Filella, I. 1995. Semiempirical indices to assess carotenoids/chlorophyll a ratio from leaf spectral reflectance. *Photosynthetica* 31: 221-230.

Pietrzykowski, E., Stone, C., Pinkard, E., Mohammed, C. 2006. Effects of *Mycosphaerella* leaf disease on the spectral reflectance properties of juvenile *Eucalyptus globulus* foliage. *For. Path* 36: 334-348.

Pinkard, E. A., Mohammed, C. L. 2006. Photosynthesis of *Eucalyptus globulus* with *Mycosphaerella* leaf disease. *New Phytol* 170: 119-127.

Polanco, L. R., Rodrigues, F. A., Nascimento, K. J. T., Cruz, M. F. A., Curvelo, C. R. S., DaMatta, F. M., Vale, F. X. R. 2014. Photosynthetic gas exchange and antioxidative system in common bean plants infected by *Colletotrichum lindemuthianum* and supplied with silicon. *Tropical Plant Pathology* 39 (1): 35-42.

Poni, S., Bernizzonia, F., Civardi, S., Gatti, M., Porro, D., Camin, F. 2009. Performance and water use efficiency (Single leaf vs whole-canopy) of well watered and half stressed split root lambrusco grapevines grown in po valley (Italy). *Agricultural, Ecosystems and Environment* 129: 97-106.

Quintero, B. L., Zapata, O. J. A., Bolaños, M. D. C., Sterling, C. A., Rodriguez, A. O. L. 2012. Caracterización morfológica y molecular de diez clones de caucho natural (*Hevea brasiliensis*) promisorios para la Amazonia colombiana. pp. 123-147. En: Sterling, C. A., Rodríguez, L. C. H. (Eds.). Ampliación de la base genética de caucho natural con proyección para la Amazonia colombiana: fase de evaluación en período improductivo a gran escala. Capítulo 4. Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas – SINCHI. Bogotá. Colombia. 147 p.

Resende, R. S., Rodrigues, F. A., Cavatte, P. C., Martins, S. C. V., Moreira, W. R., DaMatta, F. M. 2012. Leaf gas exchange and oxidative stress in sorghum plants supplied with silicon and infected with *Colletotrichum sublineolum*. *Phytopathology* 102: 892-898.

Rios, J. A., Ávila, R. F., Debona, D., Castro, S. L. 2014. Photosynthetic gas Exchange in leaves of wheat plants supplied with silicon and infected with *Pyricularia oryzae*. *Acta Physiol Plant.* 36: 371-379.

Richardson, A., Duigan, S., Berlyn, G. 2002. An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. *The New Phytologist*, 153(1): 185-194.

Righi, C. A., Bernardes, S. M. 2008. Disponibilidade de energia radiante em um sistema agroflorestal com seringueiras: produtividade do feijoeiro. *Bragantia*, Campinas 67 (2): 533-540.

Rivano, F., Martínez, M., Cevallos, V., Cilas, C. 2010. Assessing resistance of rubber tree clones to *Microcyclus ulei* in large-scale clone trials in Ecuador: a less time-consuming field method. *Eur J. Plant Pathol* 126: 541-552.

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección
Armando Sterling Cuéllar

Rodrigo, V. H. L. 2007. Ecophysiological factors underpinning productivity of *Hevea brasiliensis*. Braz. J. PlantPhysiol 19(4):245-255.

Rumpf, T. A., Mahleinb, A. K., Steiner, U., Oerke, E. C., Dehne, H. W., Plümer, L. A. 2010. Early detection and classification of plant diseases with Support Vector Machines based on hyperspectral reflectance. Computers and Electronics in Agriculture 74: 91-99.

Saha, T. C., Bindu, R., Nazeer, M. A. 2005. Microsatellite variability and its use in the characterization of cultivated clones of *Hevea brasiliensis*. Plant Breeding. 124: 86-92.

Samsuddin, Z., Impens, I. 1979. The development of photosynthetic rates with leaf age in *Hevea brasiliensis* Muell. Arg. clonal seedlings. Photosynthetica , Prague 13 (3): 267-270.

Sena, J. O. A De., Zaidan, H. A., De Camargo E Castro, P. R. 2007. Transpiration and stomatal resistance variations of perennial tropical crops under soil water availability conditions and water deficit. Brazilian Archives of Biology and Technology 50 (2):225-230.

Sestak, Z. 1985. Chlorophylls and carotenoids during leaf ontogeny. In: Sestak Z, (Ed.) *Photosynthesis during leaf development*. Dordrecht, The Netherlands: Dr W Junk pp. 76-106.

Sims, D., Gamon, J. 2002. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. Remote Sensing of Environment 81 (2): 337-354.

Schwob, I., Ducher, M., Sallanon, H., Coudret, A. 1998. Growth and gas exchange responses of *Hevea brasiliensis* seedlings to inoculation with *Glomus mosseae*. Trees Structure and Function, New York 12 (4): 236-240.

Sterling, C. A., Rodríguez, O. L., Quintero, L., Correa, J. 2009. Evaluación fitosanitaria y resistencia en campo a *Microcyclus ulei* de *Hevea brasiliensis* en la Amazonia Colombiana. Revista Colombia Amazónica 2: 80-90.

Sterling, C. A., Correa, J. 2010. Desempeño de una colección clonal de caucho en período de inmadurez en la Amazonia colombiana. Ingenierías & Amazonía 3 (1): 16-27.

Sterling, C. A., Rodríguez, O. L., Quintero, L. 2010a. Variabilidad fisiológica de aislamientos de *Microcyclus ulei* de la Amazonia colombiana. Revista Momentos de Ciencia 7 (1): 30-35.

Sterling, C. A., Calderón, A., Rodríguez, O. L., Quintero, L. 2010b. Caracterización morfológica y patogenicidad de *Microcyclus ulei* en la Amazonia colombiana. Revista Colombia Amazónica 3: 99-116.

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

Sterling, C. A., Galindo, L. C., Correa, J. 2010c. Incidencia y severidad de *Microcyclus ulei* en una colección de caucho en la Amazonia colombiana. *Ingenierías y Amazonía* 3 (2): 93-104.

Sterling, C. A., Galindo, L. C., Rodríguez, O. L., Martínez, A. K., Bonilla, R. N. M. 2011. Evaluación de la resistencia a *M. ulei* de los mejores genotipos élites de *H. brasiliensis* de origen franco bajo condiciones naturales y controladas. pp. 139-171. En: Sterling, C. A., Rodríguez, L. C. H. (Eds.). *Nuevos clones de caucho natural para la Amazonia Colombiana: Énfasis en la resistencia al Mal Suramericano de las Hojas (*Microcyclus ulei*)*. Capítulo 5. Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas – SINCHI. Bogotá. Colombia. 195 p.

Sterling, C. A., Rodríguez, L. C. H., Dussán, H. I., Correa, D. J., Vargas, L. M. A., Centeno, C. A., Sánchez, L. R., Rodríguez, M. A. F., Plaza, C. D., Gaviria, D. C., Salas, T. Y. M., Ossa, M. E. O., Ruiz, T. P. N., Castillo, O. J. O. 2012. Evaluación fitosanitaria con énfasis en la resistencia a *Microcyclus ulei* de diez clones de caucho natural (*Hevea brasiliensis*) en Campo Clonal a Gran Escala CCGE. pp. 79-121. En: Sterling, C. A., Rodríguez, L. C. H. (Eds.). *Ampliación de la base genética de caucho natural con proyección para la Amazonia colombiana: fase de evaluación en período improductivo a gran escala*. Capítulo 3. Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas – SINCHI. Bogotá. Colombia. 147 p.

Sterling, C. A., Rodríguez, L. C. H. 2014. Agroforestería en el Caquetá clones promisorios de caucho en asocio con Copoazú y Plátano Hartón con potencial para la amazonia colombiana. Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas – SINCHI. Bogotá. Colombia. 220 p.

Sterling, C. A., Suarez, S. J. C., Rodríguez, L. C. H., Vargas, L. M. A. 2014a. Evaluación del crecimiento y estado nutricional de clones promisorios de caucho (*Hevea brasiliensis*) en sistema agroforestal con copoazú (*Theobroma grandiflorum*) y plátano Hartón (*Musa AAB*) en dos zonas edafoclimáticas del departamento del Caquetá. pp. 63-105. En: Sterling, C. A., Rodríguez, L. C. H. (Eds.). *Agroforestería en el Caquetá clones promisorios de caucho en asocio con Copoazú y Plátano Hartón con potencial para la amazonia colombiana*. Capítulo 2. Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas – SINCHI. Bogotá. Colombia. 220 p.

Taiz, L., Zeiger, E. 2006. *Fisiología vegetal*. II Universitat Jaume I. 580 p.

Thayer, S. S., Björkman, O. 1990. Leaf xanthophyll content and composition in sun and shade determined by HPLC. *Photosynthesis Research* 23: 331-343.

Van Kooten, O., Meurs, C., Van Loon, L. C. 1990. Photosynthetic electron transport in tobacco leaves infected with tobacco mosaic virus. *Physiol Plant* 80:446-452.

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

Viégas, J. M., Haag, M., Bueno, N., Pereira, J. D. A. 1992. Nutricao mineral de seringueira. XII. Absorçao de macro e micronutrientes nos primeiros 240 dias. Scientia Agricola, 49 (1): 41-52.

Vinod, K. K., Rajeswari, M. J., Nanja, R. Y. A., Priyadarshan P. M., Chaudhuri, D. 2010. Ontogenetic variations in flush development are indicative of low temperature tolerance in *Hevea brasiliensis* clones. Ann. For. Res 53 (2): 95-105.

West, J. S., Bravo, C., Oberti, R., Lemaire, D., Moshou, D., McCartney, H. A. 2003. The potential of optical canopy measurement for targeted control of field crop diseases. Annual Review of Phytopathology 41: 593-614.

Xavier, A. C., Rudorff, B. F. T., Moreira, M. A., Alvarenga, B. S., Freitas, J. G., Salomon, M. V. 2006. Hyperspectral field reflectance measurements to estimate wheat grain yield and plant height. Sci. Agric 63 (2): 130-138.

Zhang, M., Fvfv, Liu, X., O'neill, M. 2002. Spectral discrimination of *Phytophthora infestans* infections on tomatoes based on principal component and cluster analyses. International Journal of Remote Sensing 23: 1095-1107.

4 Capítulo 4. Consideraciones finales y conclusiones

El análisis de la respuesta fisiológica y espectral de los clones de *H. brasiliensis* FX 3864 y FX 4098 a la infección producida por *M. ulei* (SALB) en diferentes condiciones de infección, permite concluir que:

- El desempeño fotosintético se redujo en el clon FX 3864 (susceptible) y en menor grado en el clon FX 4098 (moderadamente resistente), como resultado de un aumento en la intensidad de los síntomas producidos por el SALB a nivel foliar tanto en condiciones de inoculación controlada como en condiciones ambientales de jardín clonal.
- La reducción de la fotosíntesis en el clon FX 3864 fue proporcional al progreso temporal de la enfermedad en condiciones controladas, principalmente en folíolos B infectados por *F. macrosporum*. En condiciones de jardín clonal, la afectación de la fotosíntesis ocurre principalmente en los folíolos C infectados por *F. macrosporum*, seguido de los folíolos D infectados por *A. ulei* y por *M. ulei*.
- Existe una diferenciación significativa en la habilidad para capturar, usar y disipar la energía lumínica por parte del aparato fotosintético (fotosistema II) entre los clones de *H. brasiliensis* FX 3864 y FX 4098. Esta capacidad a su vez es afectada por la intensidad de los síntomas producidos por el SALB a nivel foliar tanto en condiciones de inoculación controlada como en condiciones ambientales de jardín clonal. En condiciones de jardín clonal, el mayor efecto del SALB sobre el desempeño del aparato fotosintético en estos dos clones ocurre principalmente en folíolos C infectados por *F. macrosporum*.
- El clon susceptible FX 3864 posee una menor reflectancia a nivel foliar tanto en el espectro visible VIS (400 – 700 nm) como en el infrarrojo cercano NIR (700 – 900 nm) y esta respuesta espectral a su vez se incrementa en ambos clones en el VIS y se reduce en el NIR en la medida en que se incrementa la severidad del SALB, dependiente de la fenología foliar e independiente de las condiciones en las que ocurre la infección por *M. ulei*.

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección
Armando Sterling Cuéllar

- En los clones de caucho FX 3864 y FX 4098, el uso de los índices espectrales R674/R550, R438/R570 y R670/R569, permiten detectar, discriminar y predecir a nivel foliar la intensidad de los síntomas del SALB de acuerdo a la fenología foliar y según el estadio de desarrollo de *M. ulei*, con una alta precisión en laboratorio (el primer índice) y en un menor grado en condiciones de jardín clonal (los otros dos índices).
- La detección y discriminación de los niveles de daño producidos por el SALB está principalmente relacionada con la sensibilidad de las propiedades espectrales y con la disminución del contenido de clorofila de la hoja en la región del rojo (600 – 700 nm) como respuesta al incremento de los síntomas cloróticos y necróticos presentes en los folíolos infectados en las etapas más avanzadas de la enfermedad.

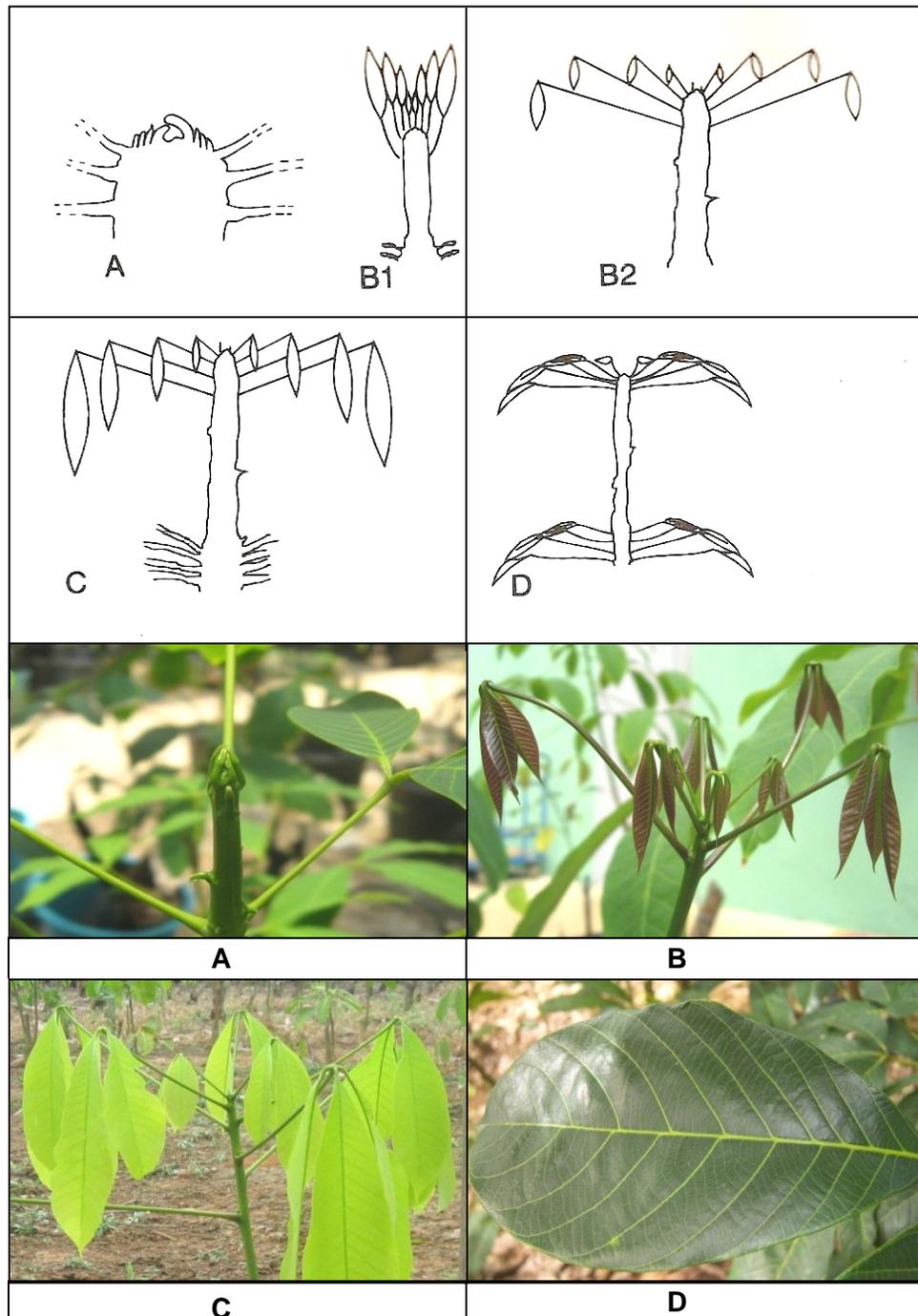
A partir de los resultados y las conclusiones obtenidas en esta investigación, se plantean las siguientes recomendaciones:

- Se sugiere analizar en campo la respuesta fisiológica y espectral de los dos clones de caucho a nivel de dosel teniendo en cuenta el estado fenológico y la densidad foliar, como una herramienta para asistir los programas de mejoramiento genético que buscan resistencia durable a *M. ulei*
- Es importante analizar a nivel espacial con imágenes de satélite, las firmas espectrales y los índices de vegetación espectral obtenidos, con el fin de validar la detección temprana del SALB y la valoración remota del impacto fisiológico ocasionado por el SALB en viveros, jardines clonales, y específicamente en plantaciones en crecimiento y en etapa productiva con los dos clones de caucho analizados en el presente estudio.

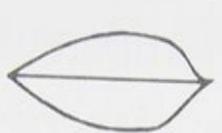
ANEXOS

Anexo A.

Estadios foliares - Desarrollo fenológico de folíolos de *Hevea* spp., tomada de Hallé *et al.* (1978) y adaptada pictóricamente para mayor comprensión



Anexo B.
Escala diagramática de severidad de *Microcyclus ulei* – Modificado de Gasparotto *et al.* (1989)

Clase	Subclase	Diagrama	Área Foliar lesionada (%)	Clase	Subclase	Diagrama	Área Foliar lesionada (%)	
0	1		0	2	1		6	
					2		8	
3		10						
4		12						
5		15						
1	1		0.2		3	1		18
	2		0.4			2		21
	3		0.6			3		24
	4		0.8			4		27
	5		1			5		30
	6		2	4	1		40	
	7		3		2		50	
	8		4		3		65	
	9		5		4		80	
					5		100	

Anexo C.

Curva de respuesta a la luz de la fotosíntesis y parámetros calculados en dos clones de caucho FX 3864 y FX 4098 en condiciones de laboratorio

Curva de luz laboratorio FX3864

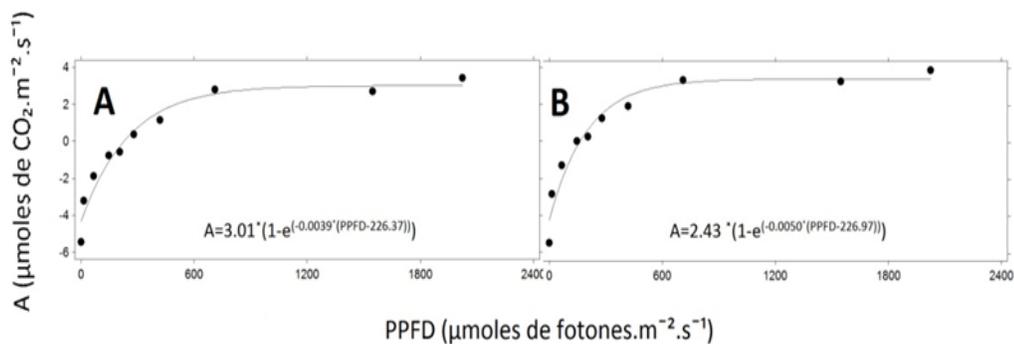


Fig 1. Curvas de respuesta a la luz de la fotosíntesis (A) como una función de densidad de flujo fotosintético (PPFD) en el cultivar de *Hevea brasiliensis* FX3864 crecido bajo condiciones de laboratorio, con diferentes estadios foliares y severidades de SALB (*Microcyclus ulei*). Las curvas de luz se ajustaron por regresión no lineal utilizando la ecuación de Mitscherlich. A-B. Foliolos en estadio C con niveles de severidad 0 y 4, respectivamente.

Curva de luz laboratorio FX4098

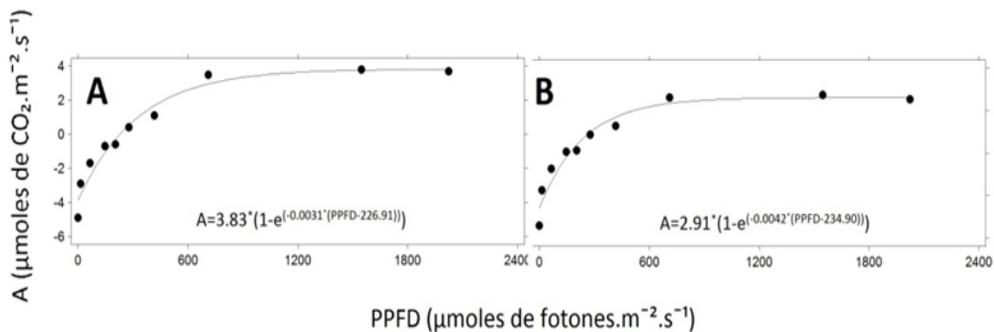


Fig 2. Curvas de respuesta a la luz de la fotosíntesis (A) como una función de densidad de flujo fotosintético (PPFD) en el cultivar de *Hevea brasiliensis* FX4098 crecido bajo condiciones de laboratorio, con diferentes estadios foliares y severidades de SALB (*Microcyclus ulei*). Las curvas de luz se ajustaron por regresión no lineal utilizando la ecuación de Mitscherlich. A-B. Foliolos en estadio C con niveles de severidad 0 y 4 respectivamente.

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

Tabla 1. Parámetros fotosintéticos en folíolos C de dos clones de *Hevea brasiliensis* (FX 4098 y FX 3864) derivados del ajuste del modelo de Mitscherlich en condiciones de laboratorio.

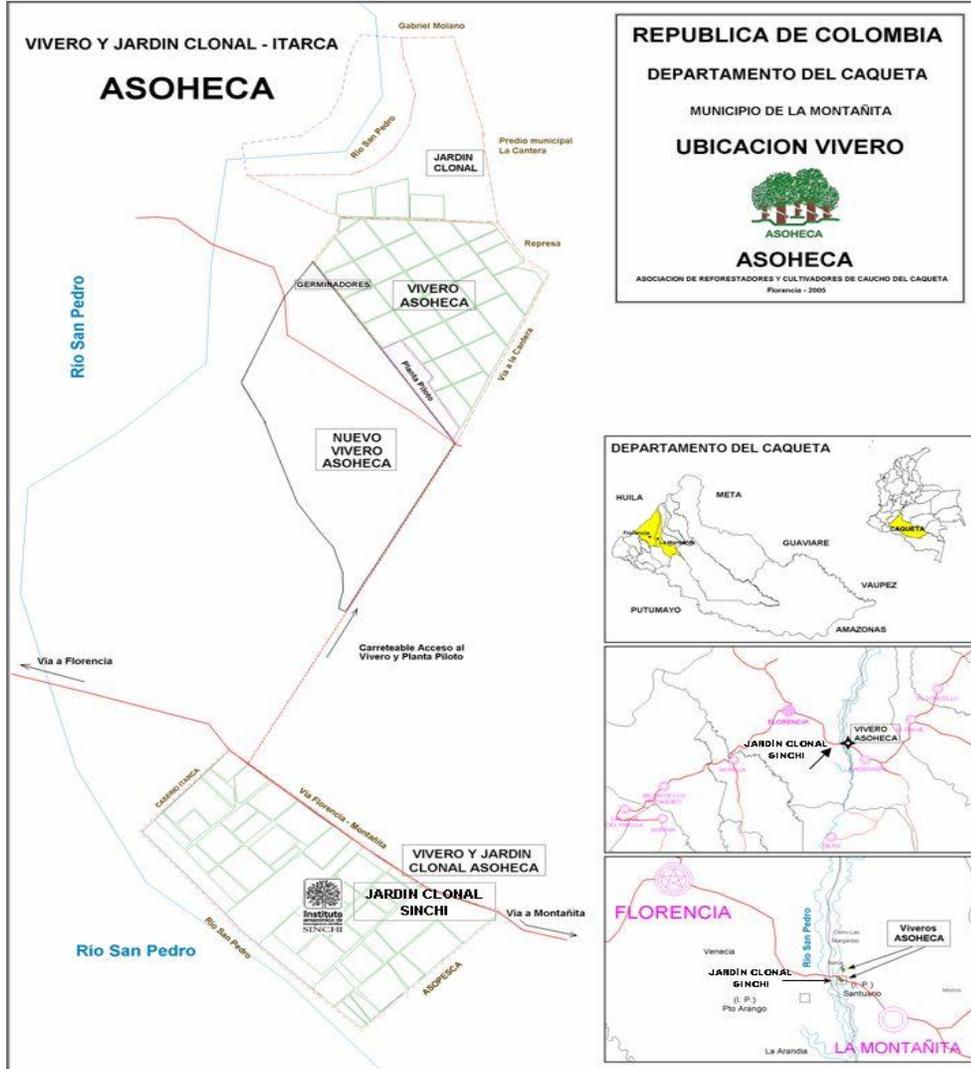
Clon	Estadio foliar*	Severidad	A_{max} ($\mu\text{moles de CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	Aqe ($\mu\text{moles de CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) / ($\mu\text{moles de fotones} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	PCL ($\mu\text{moles de fotones} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	PSL ($\mu\text{moles de fotones} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	Rd ($\mu\text{moles de CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	Pseudo R ²
FX 4098	C	0	3.83	0.0031	226.91	969.68	-3.91	0.9966
		2	2.91	0.0042	234.90	783.13	-4.89	0.9981
FX 3864	C	0	3.01	0.0039	226.37	816.78	-4.27	0.9581
		4	2.43	0.0050	226.97	687.49	-5.13	0.9753

A_{max} = Asíntota de la fotosíntesis a luz saturante (fotosíntesis máxima); Aqe = Pendiente inicial de la curva (eficiencia de la fotosíntesis (ϕ)); PCL = Punto de compensación por luz (intercepto en x cuando la fotosíntesis es igual a cero); PSL = Punto de saturación lumínico; Rd = Tasa de respiración en oscuridad

*C, folíolos con 22 - 30 días de edad evaluados en laboratorio, los cuales poseen tasas de asimilación neta positivas (A)

Anexo D.

Localización geográfica del vivero de ASOHECA y los jardines clonales de ASOHECA y SINCHI, localidad de Itarca, municipio de la Montañita, Caquetá-Colombia.



Anexo E

Curva de respuesta a la luz de la fotosíntesis y parámetros calculados en dos clones de caucho FX 3864 y FX 4098 en condiciones ambientales en jardín clonal

Curva de luz jardín clonal FX 3864

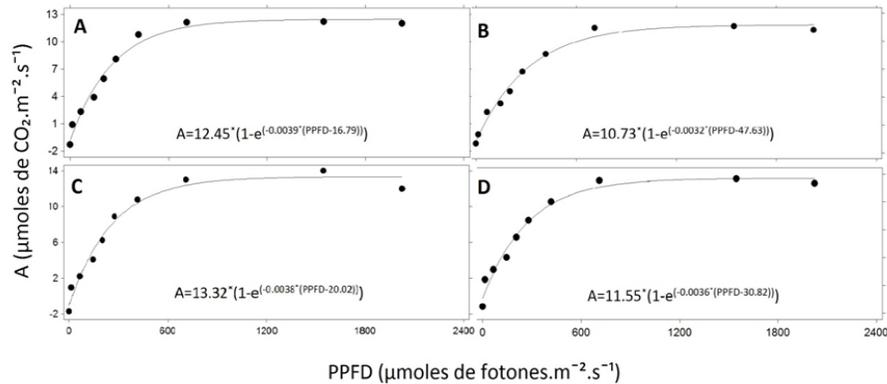


Fig 3. Curvas de respuesta a la luz de la fotosíntesis (A) como una función de densidad de flujo fotosintético (PPFD) en el clon de *Hevea brasiliensis* FX 3864 crecido bajo condiciones ambientales en jardín clonal con diferentes estadios foliares y severidades de SALB (*Microcyclus ulei*). Las curvas de luz se ajustaron por regresión no lineal utilizando la ecuación de Mitscherlich. A-B. Foliolo en la etapa C con niveles de severidad 0 y 4, respectivamente. C-D. Foliolo en la etapa D con severidad 0 y 4, respectivamente.

Curva de luz jardín clonal FX 4098

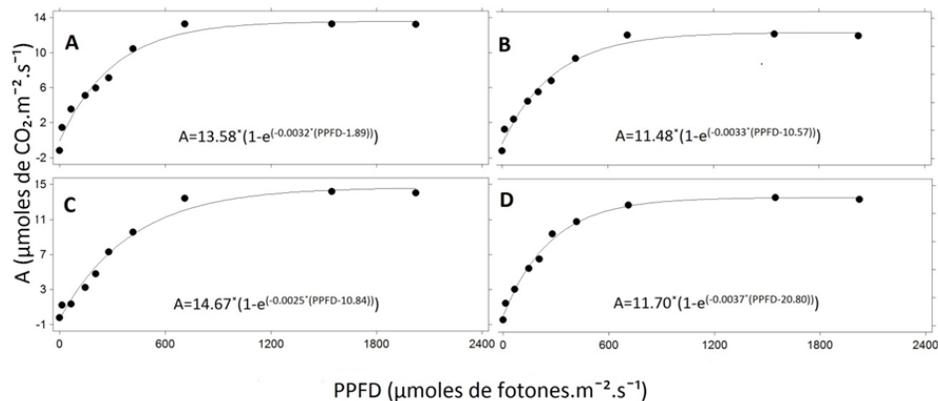


Fig 4. Curvas de respuesta a la luz de la fotosíntesis (A) como una función de densidad de flujo fotosintético (PPFD) en el clon de *Hevea brasiliensis* FX 4098 crecido bajo condiciones ambientales en jardín clonal con diferentes estadios foliares y severidades de SALB (*Microcyclus ulei*). Las curvas de luz se ajustaron por regresión no lineal utilizando la ecuación de Mitscherlich. A-B. Foliolo en la etapa C con niveles de severidad 0 y 4, respectivamente. C-D. Foliolo en la etapa D con severidad 0 y 4 respectivamente.

Efectos del mal suramericano de la hoja (*Microcyclus ulei*) sobre la respuesta fisiológica y espectral del caucho (*Hevea brasiliensis*) sometido a diferentes condiciones de infección

Armando Sterling Cuéllar

Tabla 2. Parámetros fotosintéticos en folíolos C y D de dos clones de *Hevea brasiliensis* (FX 4098 y FX 3864) derivados del ajuste del modelo de Mitscherlich en condiciones de jardín clonal.

Cultivar	Estadio foliar	Severidad	A _{max} ($\mu\text{moles de CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	A _{qe} ($\mu\text{moles de CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) / ($\mu\text{moles de fotones} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	PCL ($\mu\text{moles de fotones} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	PSL ($\mu\text{moles de fotones} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	Rd ($\mu\text{moles de CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	Pseudo R ²
FX 4098	C	0	13.58	0.0032	1.890	721.45	-0.08	0.99
FX 4098	C	2	11.48	0.0033	10.57	708.32	-0.41	0.98
FX 4098	D	0	14.67	0.0025	10.84	931.87	-0.40	0.99
FX 4098	D	2	11.70	0.0037	20.80	643.12	-0.94	0.99
FX 3864	C	0	12.45	0.0039	16.79	607.20	-0.84	0.99
FX 3864	C	4	10.73	0.0032	47.64	767.20	-1.77	0.99
FX 3864	D	0	13.32	0.0038	20.02	625.96	-1.05	0.97
FX 3864	D	4	11.55	0.0036	30.82	670.43	-1.36	0.99

A_{max} = Asíntota de la fotosíntesis a luz saturante (fotosíntesis máxima); A_{qe} = Pendiente inicial de la curva (eficiencia de la fotosíntesis (φ)); PCL = Punto de compensación por luz (intercepto en x cuando la fotosíntesis es igual a cero); PSL = Punto de saturación lumínico; Rd = Tasa de respiración en oscuridad

*C y D, folíolos con 24 - 28 y 80 - 90 días de edad evaluados en jardín clonal, los cuales poseen tasas de asimilación neta positivas (A)