

Disturbios histológicos causados por *Microcyclus ulei* y el complejo *Colletotrichum* spp. en caucho (*Hevea brasiliensis*)

Olga María Castro-Navarro¹, Donald Heberth Riascos-Ortiz², Lilliana María Hoyos-Carvajal³, Anibal Leonidas Tapiero-Ortiz⁴

¹I.A. M.Sc. Investigador Máster Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – AGROSAVIA, Centro de Investigación La Libertad – Km 17, Vía Puerto López, CEP 500009, Villavicencio-Meta, Colombia. ²I.A. M.Sc. Ph.D. Profesor Ph.D. Fitopatología y Protección de Cultivos, Programa de Agronomía, Universidad del Pacífico, Km 13 vía al Aeropuerto, Barrio el Triunfo Campus Universitario, CEP 764504, Buenaventura, Valle del Cauca, Colombia. ³I.A. M.Sc. Ph.D. Profesora Asociada Departamento de Ciencias Agronómicas, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, Carrera 65 Nro. 59A - 110 Bloque 14, CEP 050034, Medellín, Antioquia, Colombia. ⁴I.A. M.Phil. Ph.D. Investigador Ph.D, AGROSAVIA, Centro de Investigación La Libertad – Km 17, Vía Puerto López, CEP 500009, Villavicencio-Meta, Colombia. Autor para correspondencia: Olga María Castro-Navarro (omcastro@agrosavia.co)

Data de chegada: 10/10/2019. Aceito para publicação em: 15/03/2020.

10.1590/0100-5405/229849

RESUMEN

Castro-Navarro, O.M.; Riascos-Ortiz, D.H.; Hoyos-Carvajal, L.M; Tapiero-Ortiz, A.L. Disturbios histológicos causados por *Microcyclus ulei* y el complejo *Colletotrichum* spp. en caucho (*Hevea brasiliensis*). *Summa Phytopathologica*, v.46, n.2, p.105-112, 2020.

Las dos enfermedades más limitantes para el cultivo del caucho en Colombia son el Mal Suramericano de las hojas, ocasionado por *Microcyclus ulei* y la antracnosis, por *Colletotrichum* spp. Estos patógenos afectan los tejidos foliares, que bajo condiciones favorables pueden llegar a ocasionar la defoliación total de los árboles. A hojas sanas y enfermas del clon GT1 en distintos estados fenológicos se les realizaron cortes histológicos, los cuales fueron sometidos a tinción doble de safranina-green, previo a la toma de fotografías bajo el microscopio de luz. En las hojas sanas se observó la organización de los tejidos, apreciándose que las hojas adultas presentan una capa fina de ceras, ausente en las hojas jóvenes. Los estados juveniles de las hojas infectadas por *M. ulei* presentaron degradación y desorganización de la epidermis, parénquima (empalizada y esponjoso) y haces

vasculares, mientras que en las hojas adultas se evidenció la formación de estromas acompañada por la desaparición de la epidermis, alargamiento y lignificación de las células del parénquima de empalizada y lignificación parcial. Las hojas en estados juveniles infectadas por *Colletotrichum* spp. presentaron hundimientos en la epidermis, acompañado por la presencia de lignina; las hojas en estado adulto mostraron depresiones pronunciadas con fuerte lignificación y degradación del parénquima esponjoso o el de empalizada y en ocasiones ambos. En algunas células del mesófilo se observaron hifas y conidias del hongo. En conclusión, se observó que la infección por estos dos patógenos ocasiona daños histológicos de diferente grado, los cuales varían con la edad del tejido y en concordancia con los síntomas visuales.

Palabras clave: histopatología, enfermedades foliares, resistencia ontogénica.

RESUMO

Castro-Navarro, O.M.; Riascos-Ortiz, D.H.; Hoyos-Carvajal, L.M; Tapiero-Ortiz, A.L. Disturbios histológicos causados por *Microcyclus ulei* e *Colletotrichum* spp. em seringueiras (*Hevea brasiliensis*). *Summa Phytopathologica*, v.46, n.2, p.105-112, 2020.

As duas doenças mais limitantes para o cultivo de borracha na Colômbia são o Mal das folhas causado por *Microcyclus ulei* e antracnose, por *Colletotrichum* spp. Esses patógenos afetam os tecidos foliares, que em condições favoráveis podem resultar no desfolhamento total das árvores. Cortes histológicos de folhas saudáveis e doentes do clone GT1 em diferentes estágios foliares foram realizadas e submetidos a dupla coloração de safranina-green, antes de tirar fotografias ao microscópio de luz. Nas folhas saudáveis foi observada a organização dos tecidos, apreciando que as folhas adultas apresentam uma fina camada de ceras, ausentes nas folhas jovens. Os estágios juvenis das folhas infectadas por *M. ulei* apresentaram degradação e desorganização da epiderme, parênquima (palicádico

e lacunoso) e feixes vasculares, enquanto nas folhas adultas foi evidenciado a formação de estromas acompanhados pela perda da epiderme, alongamento e lignificação das células do parênquima palicádico e lignificação parcial. As folhas em estágios juvenis infectadas por *Colletotrichum* spp. mostraram colapsos na epiderme, acompanhados pela presença de lignina; as folhas do estágio adulto mostraram depressões pronunciadas com forte lignificação e degradação do parênquima lacunoso ou palicádico e, às vezes, ambas. Em algumas células do mesófilo foram observadas hifas e conídios do fungo. Em conclusão, observou-se que a infecção por os dois patógenos provoca danos histológicos de graus variados, que variam com a idade do tecido e de acordo com os sintomas visuais.

Palavras chave: seringueira, histopatologia, doenças foliares, resistência ontogênica.

ABSTRACT

Castro-Navarro, O.M.; Riascos-Ortiz, D.H.; Tapiero-Ortiz, A.L.; Hoyos-Carvajal, L.M. Histological disturbances caused by *Microcyclus ulei* and *Colletotrichum* spp. in rubber trees (*Hevea brasiliensis*). *Summa Phytopathologica*, v.46, n.2, p.105-112, 2020.

The two main diseases affecting the rubber tree in Colombia are South American leaf blight caused by *Microcyclus ulei* and anthracnose caused by *Colletotrichum* spp. These pathogens affect the leaf tissue and, under favorable climate conditions, can lead to total defoliation of trees. Healthy and symptomatic leaves in different phenological stages of the GT1 clone were histologically sectioned and double stained with safranin-fast green, before pictures were obtained under a light microscope. Tissue organization was observed in healthy leaves, evidencing that mature leaves had a thin wax layer, which was absent in young leaves. Early stages of leaves infected by *M. ulei* showed degradation and disorganization of the epidermis, parenchyma

(palisade and spongy) and vascular bundles, while mature leaves had formation of stromata together with epidermis loss, elongation and lignification of the palisade parenchyma cells, besides partial lignification. Young leaves infected by *Colletotrichum* spp. showed depressions in the epidermis, accompanied by the presence of lignin; mature leaves presented pronounced depressions with strong lignification and degradation of the spongy or palisade parenchyma and sometimes both processes occurred. Fungal hyphae and conidia were observed in some mesophyll cells. In conclusion, infection by both pathogens causes histological damage of varied degrees according to the age of the tissue and the visual symptoms.

Keywords: rubber tree, histopathology, foliar diseases, ontogenic resistance.

En Colombia, el área sembrada en caucho (*Hevea brasiliensis* Muell.) es marginal con respecto al potencial productivo del país (3, 25). Los cálculos más conservadores estiman en cerca de 263.000 ha el área óptima para el establecimiento de plantaciones de caucho, área que puede ser de hasta 900.000 ha si se incluyen zonas con algún tipo de restricciones para ser consideradas zona de escape a la principal enfermedad denominada Mal Suramericano de las Hojas (4).

En el 2010 había solamente 21.381 ha de caucho sembradas en Colombia. En el 2011 esta cifra aumentó a 25.687 ha (2), en tanto que para el 2017 se tenían poco más de 56.000 ha (11). Con una tasa de incremento anual oscilando alrededor de 30%, en unos pocos años se dispuso de caucho natural para satisfacer la demanda interna (20.295 TM) y se obtuvieron excedentes para exportación. En el ámbito regional, la producción se concentra en Meta (39%), Santander (22%), Caquetá (17%) y Antioquia (10%).

Siguiendo lo expuesto por Hallé et al. (18), los ciclos de la ontogenia foliar comprenden cuatro fases relacionadas con el nivel de actividad del meristemo apical y con las fases de desarrollo foliar. La fase A comprende la formación de primordios foliares y de yemas axilares, dura en promedio 9 días; la fase B es la de elongación inicial, tiene una duración media de 10 días y presenta dos etapas: B1, donde los folíolos tienen una concentración alta de antocianina y están en posición vertical con el ápice hacia arriba y B2, donde los ápices de los folíolos se voltean hacia abajo y presentan coloración antocianina menos intensa; en la fase C los folíolos son flácidos y de color verde, dura aproximadamente 8 días; la fase D se caracteriza por el desarrollo completo de las hojas y dormancia de la yema apical, dura cerca de 13 días. Durante los estados juveniles del cultivo este proceso se repite por periodos de aproximadamente 12 – 18 días. En clones comerciales, una vez formada la copa del árbol e iniciada la etapa productiva, el proceso ocurre principalmente durante la época seca, 1 o 2 veces al año y dura de 12 – 20 días a partir de la brotación, dependiendo del clon (21). En sentido fisiológico durante el curso de su maduración, las hojas de caucho pasan de ser casi exclusivamente “vertedero” (estados A – C) a “fuente” (estado C). En términos epidemiológicos, con referencia a la expresión de la resistencia genética de la planta a los patógenos el proceso coincide con la migración de estados receptivos a completamente no receptivos a la mayoría de enfermedades foliares, dependiendo de la susceptibilidad (resistencia) del clon.

La enfermedad más limitante para el cultivo del caucho en el Sur y Centroamérica es el Mal Suramericano de las hojas (14), ocasionada por el hongo *Microcyclus ulei* (Henn.) Arx (Anamorfo: *Fusicladium macrosporum* Kuijper; syn *Pseudocercospora ulei*, (Henn.) (5). El patógeno afecta hojas jóvenes en desarrollo, frutos inmaduros y tallos jóvenes de *Hevea* spp. (1). La incidencia de la enfermedad ocasiona caída prematura de hojas jóvenes y bajo condiciones favorables puede causar la defoliación total; en viveros y jardines clonales ocasiona reducción del crecimiento; en árboles adultos las afecciones sucesivas debilitan las plantas, reduciendo su producción de látex, y en clones muy susceptibles pueden llegar a ocasionar la muerte (13). La enfermedad se presenta prácticamente en todos los países donde se cultiva el caucho.

Desde 1992 se ha venido observando un incremento de la incidencia de antracnosis en Brasil, constituyéndose en un limitante importante para el desarrollo del cultivo en el estado de São Paulo, la región con mayor desarrollo del cultivo (12). En Colombia, la incidencia de la enfermedad ha venido incrementándose, particularmente en áreas de la altillanura próxima a Puerto

Gaitán, Meta, donde se ha desarrollado un núcleo productivo con alrededor de unas 20.000 ha de cultivo. Varias especies dentro de los complejos *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. boninense* y *C. acutatum* han sido identificadas de lesiones de antracnosis en los Llanos Orientales en AGROSAVIA, La Libertad (10).

Además de necrosis y deformación foliar, el principal daño que ocasionan las infecciones por *Colletotrichum* spp. es la caída secundaria de las hojas, resultado de afecciones durante el proceso de formación del nuevo follaje, luego de la defoliación natural de árboles ya diferenciados (adultos). La destrucción sistemática de las hojas nuevas por re-infecciones durante periodos húmedos debilitan los árboles, producto de disminuciones sustanciales de la densidad foliar; las ramas terminales mueren, ocasionando el síntoma conocido como muerte descendente. Estos daños se reflejan en pérdidas de la producción de látex (17), aunque más importante, modifican la parsimonia de los procesos de defoliación natural anual de los clones comerciales, provocando la exposición de tejidos receptivos a la enfermedad durante las épocas húmedas (10).

Los estudios histopatológicos en enfermedades foliares del caucho son incipientes; éstos permiten apreciar el avance de la enfermedad a nivel del tejido vegetal y observar las estructuras del patógeno involucradas en cada etapa del proceso infeccioso. El presente estudio aporta información en aspectos histopatológicos relacionados con la incidencia de enfermedades foliares del caucho, a partir de la observación del desarrollo del proceso infeccioso de *M. ulei* y *Colletotrichum* spp. en tejidos de hojas con distintos estados fenológicos del clon GT1; la observación a escala microscópica de las estructuras de los patógenos y la descripción de los disturbios histológicos ocasionados por la infección, en concordancia con los síntomas visuales externos y los daños en los tejidos analizados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización

El estudio se realizó en el Centro Experimental de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA) La Libertad, ubicado geográficamente a 9° 6' de latitud norte y 73° 34' de longitud oeste, en el km 17 vía Villavicencio Puerto López, a 330 m.s.n.m. La precipitación anual promedio es de 2800 mm, distribuida entre los meses de abril a diciembre, la temperatura promedio de 26°C y la humedad relativa media de 85% en la época lluviosa y 65% en la seca. El procesamiento y análisis histológico de las muestras se realizó en el Laboratorio de Sanidad Vegetal de la Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá.

Descripción de síntomas y análisis histopatológico

Se colectaron folíolos sanos y enfermos en los estados fenológicos B₂, C y D (18) del clon GT1. La condición de enfermedad fue determinada macroscópicamente mediante sintomatología, a partir de las descripciones reportadas en la literatura para Mal suramericano de las hojas y Antracnosis, causadas por *M. ulei* y *Colletotrichum* spp. (15), respectivamente. Los aislamientos de *Pseudocercospora ulei*, fueron caracterizados por Rodríguez (23) como *Microcyclus ulei* mediante AFLPs y los de *Colletotrichum* spp. por Damm et al. (6, 7) como *C. annellatum* y *C. lactiophilum*.

En el análisis histopatológico se empleó el protocolo propuesto por Prophet et al. (22) para la obtención de cortes histológicos

en tejido vegetal, modificado. Para tal fin, se realizaron cortes transversales de 5 mm de diámetro en hojas con y sin síntomas de las enfermedades.

Los cortes fueron procesados de acuerdo con el siguiente procedimiento: **(1) Fijación de tejidos** por inmersión en FAA (Formaldehído comercial, Alcohol 85%, Ácido acético glacial), luego se procedió a la **(2) Deshidratación de tejidos por inmersión** en etanol, consecutivamente y en forma ascendente, a concentraciones de 70%, 80%, 90%, 96% y 96%. Cada 24 h se hizo el respectivo cambio de alcohol y para la última concentración se dejaron las muestras por dos días consecutivos; seguidamente se realizó el **(3) Aclarado de tejidos** en alcohol etílico (96%) grado analítico y terbutanol puro (100%), con una relación de 2:1 respectivamente. A las 24 horas se realizó el cambio de alcoholes en proporción 1:1; se efectuó un tercer cambio a las 24 horas y se modificó la relación a 1:2, respectivamente; por último se dejaron los tejidos en terbutanol puro. A continuación se llevó a cabo una **(4) Imbibición** de las muestras en parafina fundida con terbutanol puro en partes iguales a 56°C por 3 días, hasta la evaporación del alcohol; seguido por la **(5) Deposición de tejidos**, para lo cual se dispusieron los cortes en parafina fundida dentro de moldes para obtener bloques; a partir de los cuales se realizaron **(6) Cortes transversales** de 7µm de espesor, utilizando un micrótopo de rotación tipo Minot. Los cortes fueron dispuestos en láminas portaobjetos, realizando un baño de flotación; posteriormente se colocaron en una estufa a 65 °C para retirar la parafina. La **(7) Tinción de tejidos** se llevó a cabo mediante inmersión de los cortes en xilol grado comercial durante 10 min, luego en etanol 96% durante 5 min, seguido de un lavado en agua corriente.

Las placas con los cortes se colocaron en safranina al 1% (19) durante 24 h y seguidamente se procesaron con alcohol 96% adicionado con 0,5 g de ácido picrico por 15 seg, alcohol amoniacal al 1% durante 2 min, etanol al 96% (5 min), Fast Green por 10 seg (19), esencia de clavos por 2 min; proceso concluido mediante 2 lavados en etanol al 96%, durante 5 min.

Finalmente las placas se colocaron en isopropanol grado analítico durante 5 min y en xilol 96% durante 10 min. El montaje se selló con resina sintética (citosin), se analizaron los cortes y se tomaron fotografías bajo el microscopio a 100X, 400X y 1.000X, identificando las capas del tejido foliar, su conformación y estado, así como las estructuras de los patógenos estudiados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La observación microscópica de los cortes de las hojas sanas permitió diferenciar la organización de los tejidos (Figura 1a y b; 2a y b) en conformidad con lo reportado por Gonçalves & Zieri (16); observándose una capa muy fina de ceras en las hojas adultas, ausente en las hojas jóvenes (Figura 2b). Los folíolos jóvenes infectados por *M. ulei* presentaron deformación acompañada por abundante esporulación conidial. Tanto macro como microscópicamente se observó degradación y destrucción de la epidermis, parénquima (empalizada y esponjoso) y haces vasculares (Figura 1c y d), con presencia de conidias sigmoides del estado anamorfo *P. ulei*. (Figuras 1e y f); Sambugaro et al. (24) reportaron resultados similares para otro clon susceptible (PB 314), en el cual observaron esporulación conidial en las superficies adaxial y abaxial de la hoja, necrosis foliar y degeneración de los

tejidos del mesófilo 10 días después de la inoculación (ddi).

En los folíolos adultos se evidenció la formación de estromas (Figuras 2c y d) acompañada por la desintegración de la epidermis; alargamiento y necrosis de las células del parénquima de empalizada, mientras que en los otros tejidos se apreció lignificación parcial (Figuras 2e y f). Sambugaro et al. (24) también reportaron alteración del parénquima de empalizada al inicio de la formación del tejido estromático (45 ddi) en el clon PB 314.

La infección de *Colletotrichum* spp. en folíolos jóvenes con lesiones necróticas, con bordes definidos y esporuladas, se manifestó microscópicamente con hundimientos (depresión del tejido), degradación y desprendimiento del mesófilo (Figuras 3c, d); con presencia de masas conidiales en acérvulos que sobresalen a la epidermis (Figura 3e).

Los folíolos en estado maduro con deformación y “perdigoneo” mostraron depresiones pronunciadas con fuerte lignificación y degradación del parénquima esponjoso o el de empalizada y en ocasiones ambos (Figuras 4b y c), en algunas células del mesófilo se observaron hifas y conidias del hongo (Figura 4c).

En conformidad con lo expuesto por Lieberei et al. (20), los estadios A, B y C son hojas completamente demandantes de energía (“sink”) y carecen casi por completo de lignina; el incremento en el tamaño de la hoja sigue un curso casi exponencial durante las etapas tempranas del desarrollo foliar, con rápido crecimiento de la pared celular y elongación celular; los procesos de endurecimiento de la pared celular se retardan hasta los estados adultos. Estos eventos fisiológicos están relacionados con la receptividad a la infección por inóculo de *M. ulei* y *Colletotrichum* spp.; los tejidos de las hojas en fase A son altamente receptivos y su receptividad se transforma hacia completamente resistentes durante la etapa D; esta receptividad relacionada con la edad del tejido foliar (ontogénica) es específica para cada clon (21).

Los resultados obtenidos en este estudio mostraron correspondencia con lo descrito por Lieberei (21); evidenciándose además que la resistencia ontogénica (receptividad) en caucho reportada para *M. ulei*, opera también para *Colletotrichum* spp. En hojas jóvenes carentes de cutícula y lignina se observa una deformación generalizada de los tejidos por parte de los patógenos analizados; mientras que en las hojas adultas, con la cutícula y lignina desarrolladas, el daño ocasionado por estos patógenos se encuentra limitado a las células epidermales; se sugiere que estos compuestos contribuyen a la expresión de la resistencia de las hojas de caucho.

La resistencia ontogénica (receptividad) ha sido reportada en otros patosistemas, entre los que se incluye el mildew polvoso (*Uncinula necator*) - uva (*Vitis vinifera*), donde se observó una alta susceptibilidad de las bayas en la primera semana de formación del fruto y un incremento en la expresión de la resistencia cuando alcanza 3 semanas de edad (8); este evento fue asociado al incremento en el grosor de la cutícula con la edad del fruto; al porcentaje de grados brix; y a la formación de compuestos fenólicos con actividad antimicrobial (9). En el caso del caucho esta resistencia ha sido asociada, además de la formación de la cutícula y de los compuestos fenólicos, a la producción de lignina, ácido cianhídrico-HCN y escopoletina (21).

Para describir la morfo-histología de hojas de caucho afectadas por hongos fitoparásitos, Sterling et al. (26) siguieron un método de micropreparados de cortes vegetales con tinciones de lugol, lactofenol-ácido, fucsina, lactofenol-azul, anilina-ácido fucsina,

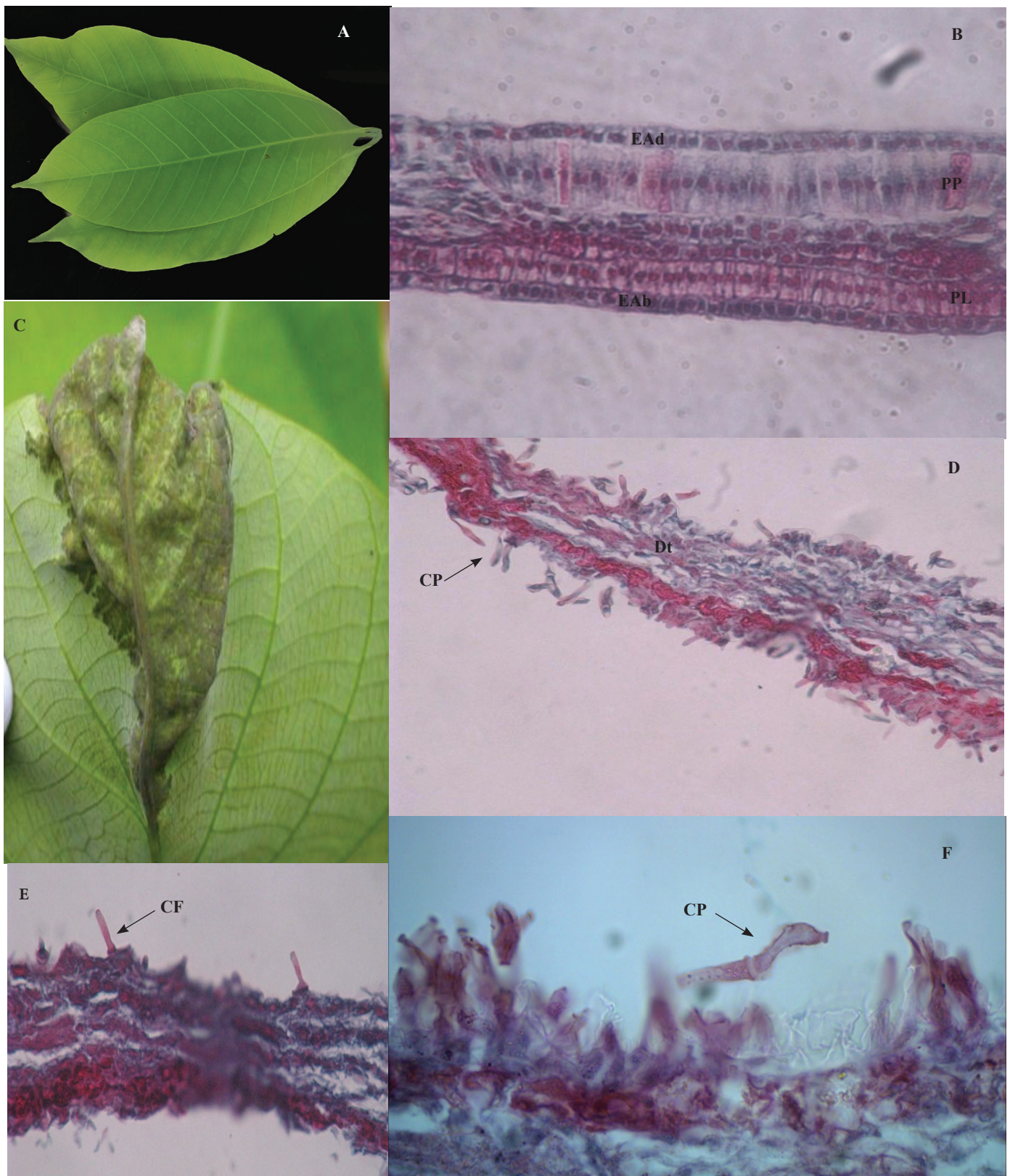


Figura 1. A. Foliolos en estadio C, sanos (18). B. Organización histológica de un foliolo joven sano en estadio C (40x); EAd = Epidermis adaxial; PP = Parénquima de empalizada; PL = Parénquima esponjoso; EAb = Epidermis abaxial. C. Síntomas de infección de *M. ulei* en estadio C. D. Daños histológicos por infección de *M. ulei* en foliolo estadio C (40x); Dt = degradación de los tejidos; CP = conidia de *Pseudocercospora ulei* (40x) E. CF = Conidióforo de *P. ulei* en tejido foliar joven (40x). F. CP = Conidia de *P. ulei* (100x). Fuente: Autores.

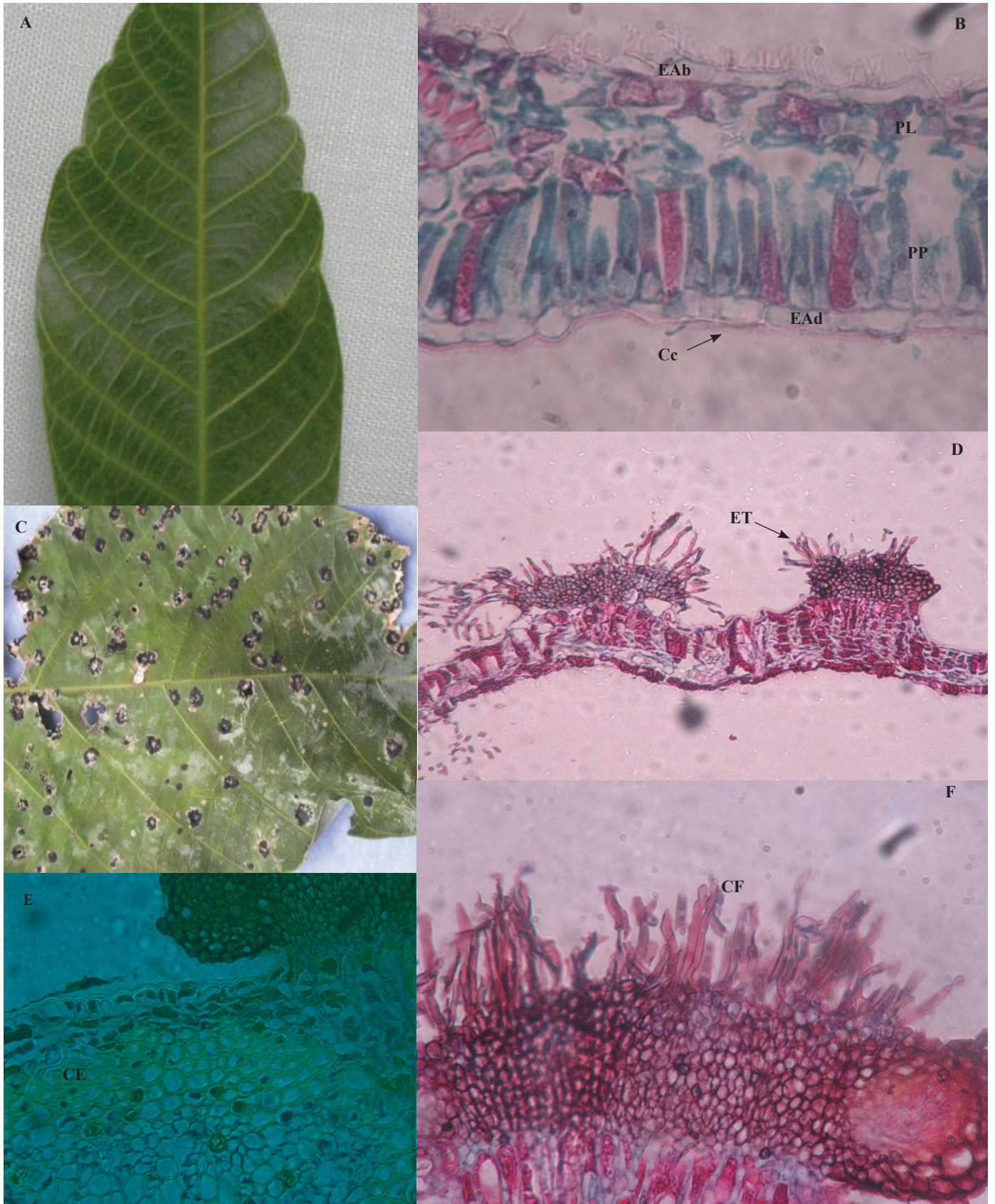


Figura 2. A. Foliolo en estadio D (18). B. Organización histológica de un foliolo maduro y sano en estadio D (40x); Cc = capa cêrea; EAd = Epidermis adaxial; PP = Parênquima de empalizada; PL = Parênquima esponjoso; EAb = Epidermis abaxial. C. Foliolo en estadio D con síntomas de *M. ulmi*. D. corte transversal de foliolo en estadio D con estromas de *M. ulmi* = ET (10x). E. CE = células esclereidas asociadas a estromas del patógeno (40x). F. CF = conidióforos (40x). Fuente: Autores.

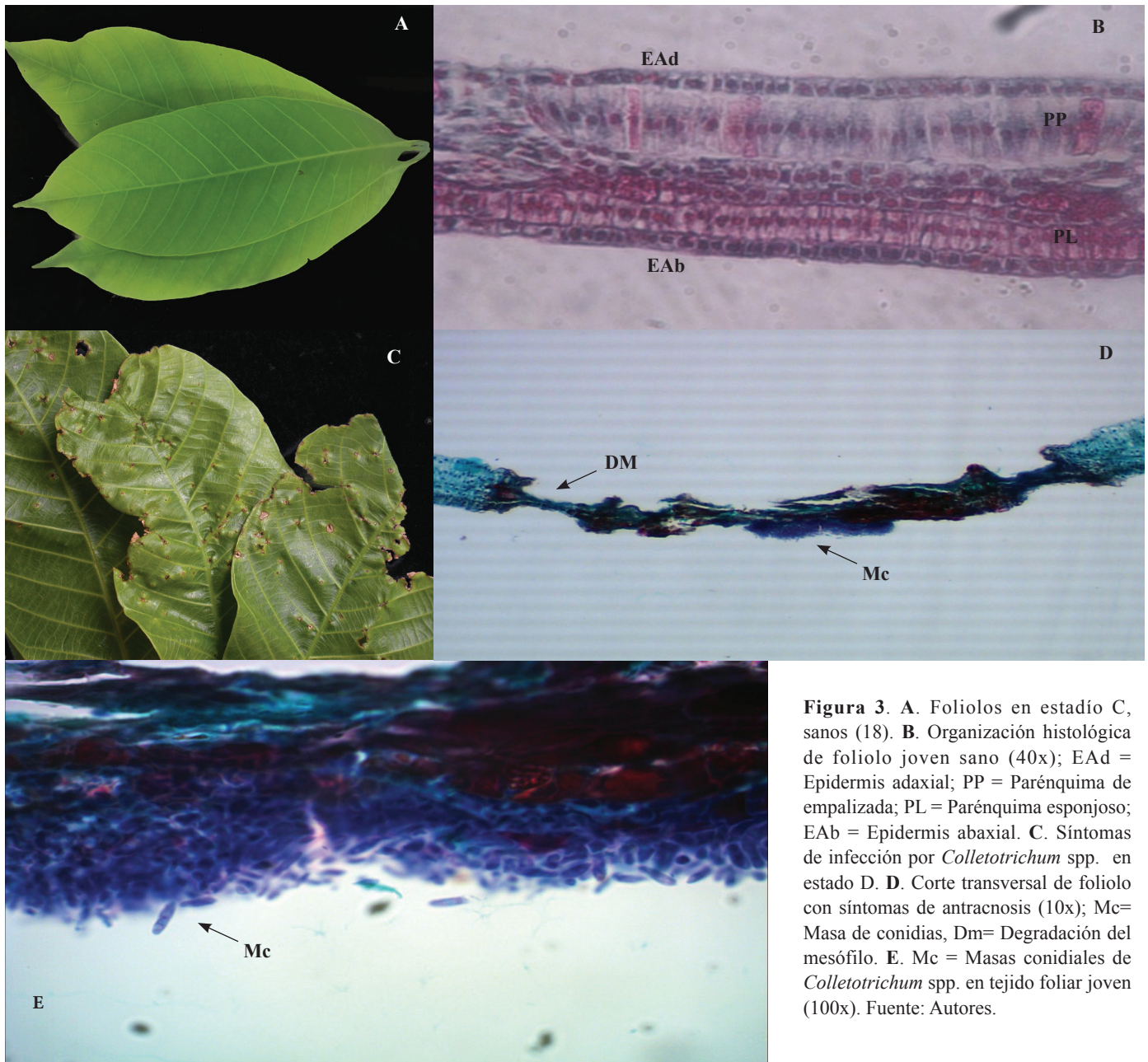


Figura 3. A. Foliolos en estadio C, sanos (18). B. Organización histológica de foliolo joven sano (40x); EAd = Epidermis adaxial; PP = Parénquima de empalizada; PL = Parénquima esponjoso; EAb = Epidermis abaxial. C. Síntomas de infección por *Colletotrichum* spp. en estado D. D. Corte transversal de foliolo con síntomas de antracnosis (10x); Mc= Masa de conidias, Dm= Degradación del mesófilo. E. Mc = Masas conidiales de *Colletotrichum* spp. en tejido foliar joven (100x). Fuente: Autores.

lactofenol-ácido acético y fenol-glicerina; siguiendo esta metodología no se logró una clara definición de los tejidos y de las estructuras del patógeno *M. ulei*. Por otro lado, Sambugaro et al. (24) estudiaron los aspectos anatómicos de hojas inoculadas con *M. ulei* en tres clones de caucho, para lo cual emplearon tinción con azul de toluidina, colorante que les permitió observar los sitios en los cuales se acumulan compuestos fenólicos como respuesta a la infección en clones con resistencia moderada.

Los resultados de este estudio demostraron que la técnica histológica y de tinción (safranina-fast green) es útil para distinguir claramente los diversos tejidos foliares del caucho y poder diferenciarlos de las estructuras de los patógenos bajo estudio.

Conflicto de intereses: El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no

existe ningún conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA) por la financiación de esta investigación, la cual se realizó en el marco del proyecto “Optimización y vinculación de conocimientos y tecnologías para sistemas integrados de producción de la Orinoquia. ACT. Estrategias para el manejo del cultivo del caucho en la altillanura plana CIAT-MADR” y al laboratorio de Sanidad Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá por permitir el uso de los equipos y la toma de fotografías por parte de los autores.

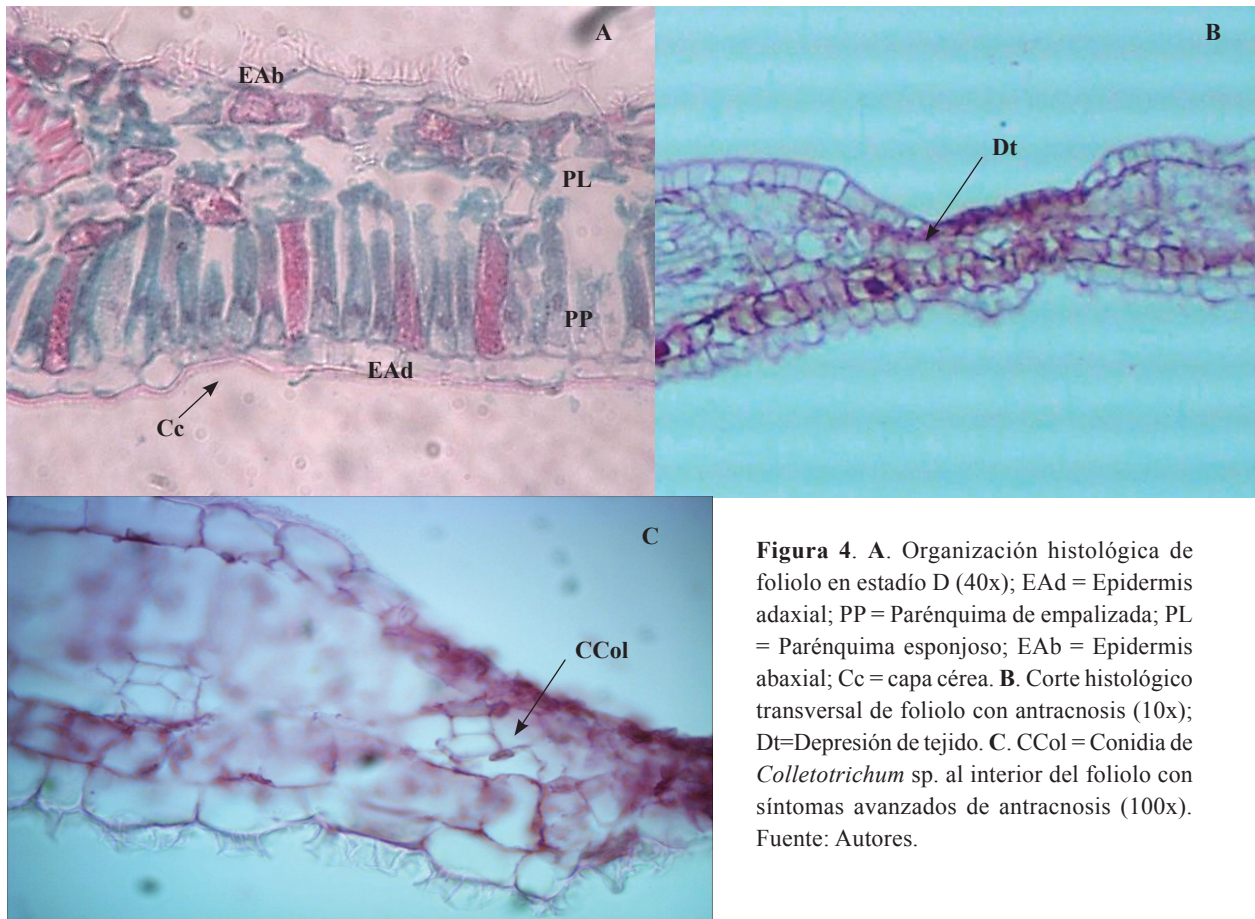


Figura 4. A. Organización histológica de foliolo en estadio D (40x); EAd = Epidermis adaxial; PP = Parénquima de empalizada; PL = Parénquima esponjoso; EAb = Epidermis abaxial; Cc = capa cèrea. B. Corte histológico transversal de foliolo con antracnosis (10x); Dt=Depresión de tejido. C. CCol = Conidia de *Colletotrichum* sp. al interior del foliolo con síntomas avanzados de antracnosis (100x). Fuente: Autores.

BIBLIOGRAFÍA

- Chee, K.; Holliday, H. **South American Leaf Blight of Hevea Rubber**. Kuala Lumpur: Malaysian Rubber Research Development Board, 1986. 50p. (MRRDB Monograph, 13).
- Confederación Cauchera Colombiana. **Informe del Censo Nacional Cauchero 2012**. Bogotá: Confederación Cauchera Colombiana, 2012. 15p. Documento Interno.
- Confederación Cauchera Colombiana. Zonas Caucheras: Censo Cauchero Nacional. **El Cauchero**, Bogotá, v.1. p.19-20, 2016. Disponible en: <https://docs.wixstatic.com/ugd/e90b5c_b06fc0fea162488cb73f7bb8b-c70ad31.pdf>. Acceso en: 15 dic. 2018.
- CONIF. **Avances investigativos en caucho natural**. Santafé de Bogotá: CONIF, MADR, 1997. 158p. (Serie Técnica, 37).
- Da Hora Júnior, B.T.; De Macedo, D.M.; Barreto, R.W.; Evans, H.C.; Mattos, C.R.R.; Maffia, L.A.; Mizubuti, E.S. Erasing the past: a new identity for the Damoclean pathogen causing South American leaf blight of rubber. **PLOS ONE**, Portland, v.9, n.8, p.1-12, 2014. Disponible en: <<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0104750>>. Acceso en: 3 mayo 2018.
- Damm, U.; Cannon, P.F.; Woudenberg, J.H.C.; Johnston, P.R.; Weir, B.S.; Tan, Y.P.; Shivas, R.G.; Crous, P.W. The *Colletotrichum boninense* species complex. **Studies in Mycology**, Utrecht, v.73, p.1-36, 2012. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3458415/pdf/simycol_73_1_001.pdf. Acceso en: 20 junio 2018.
- Damm, U.; Cannon, P.F.; Woudenberg, J.H.C.; Crous, P.W. The *Colletotrichum acutatum* species complex. **Studies in Mycology**, Utrecht, v.73, p.37-113, 2012. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3458416/pdf/simycol_73_1_002.pdf>. Acceso en: 20 junio 2018.
- Ficke, A.; Gadoury, D. M.; Seem, R. C. Ontogenic resistance and plant disease management: A case study of grape powdery mildew. **Phytopathology**, Geneva NY, v.92, n.6, p.671-675, 2002. Disponible en: <<https://apsjournals.apsnet.org/doi/pdf/10.1094/PHYTO.2002.92.6.671>>. Acceso en: 12 feb. 2018.
- Ficke, A.; Gadoury, D.M.; Seem, R.C.; Godfrey, D.; Dry, I.B. Host barriers and responses to *Uncinula necator* in developing grape berries. **Phytopathology**, Geneva NY, v.94, n.5, p.438-445, 2004. Disponible en: <<https://apsjournals.apsnet.org/doi/pdf/10.1094/PHYTO.2004.94.5.438>>. Acceso en: 12 feb. 2018.
- Guevara, Y.A.; Tapiero, A.L. Diversidad intra-específica de las poblaciones de *Colletotrichum* spp. afectando caucho en Colombia. In: Congreso Brasileiro de Heveicultura, 5., 2017, Goiânia. **Trabalhos científicos 1**. Jaboticabal: Fundação de Apoio a Pesquisa, Ensino e Extensão, 2017. p.29-33.
- Gutiérrez, A. **Informe final del proyecto: Modelo territorial validado y ajustado en campo de los cuatro (4) núcleos productores de caucho**. Villavicencio: AGROSAVIA, 2017. 54p. Documento Interno.
- Furtado, E.L.; Silveira, A.P. Doenças da seringueira em viveiros e jardins clonais e seu controle. In: Medrado, M.J.S.; Bernardes, M.S.; Costa, J.D.; Martins, A.N. (ed.). **Formação de mudas e plantio de seringueira**. Piracicaba: ESALQ, 1992. p.52-64.
- Furtado, E.L.; Trindade, D.R. Doenças da Seringueira. In: Kimati, H.; Amorim, L.; Rezende, J.A.M.; Bergamim, F.A.; Camargo, L.E.A. (ed.). **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v.2, p.559-567.
- Gasparotto, L.; Santos, A.F.; Pereira, J.C.R.; Ferreira, F.A. **Doenças da seringueira no Brasil**. Brasília, DF: Embrapa, 1997. 168p.
- Gasparotto, L.; Pereira J.C.R. **Doenças da Seringueira no Brasil**. 2.ed. Brasília, DF: Embrapa, 2012. 256p.
- Gonçalves, M.B.; Zieri, R. Leaf anatomy of rubber-tree clones. **Scientia Agricola**, São Vicente SP, v.60, n.4, p.709-713, 2003. Disponible en: <<http://www.scielo.br/pdf/sa/v60n4/a15v60n4.pdf>>. Acceso en: 20 nov 2017.
- Guyot, J.; Omanda, E.; Ndoutoume, A.; Otsaghe, A.; Enjalric, F.; As-

- soumou, H. Effect of controlling *Colletotrichum* leaf fall of rubber tree on epidemic development and rubber production. **Crop Protection**, **Ámsterdam**, v.20, p.581-590, 2001.
18. Hallé, F.; Oldeman, R.A.; Tomlinson, P.B. **Tropical Trees and Forest: an architectural analysis**. Berlin: Springer, 1978. 441p.
 19. Johansen, D.A. **Plant micro technique**. 1.ed. New York: McGraw-Hill, 1940. 524p.
 20. Lieberei, R.; Fock, H.P.; Biehl, B. Cyanogenesis inhibits active pathogen defense in plants: Inhibition by gaseous HCN of photosynthetic CO₂-fixation and respiration in intact leaves. **Angewandte Botanik**, Hamburg, v.70, p.230-238, 1996.
 21. Lieberei, R. South American leaf blight of the rubber tree (*Hevea* spp.): new steps in plant domestication using physiological features and molecular markers. **Annals of Botany**, Oxford, v.100, p.1125-1142, 2007. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2759241/pdf/mcm133.pdf>>. Acceso en: 20 nov. 2017.
 22. Prophet, E.B.; Bills, B.; Arrington, J.B.; Sobin, L.H (ed.). **Laboratory Methods in Histotechnology**. Washington: American Registry of Pathology, 1992. 279p.
 23. Rodríguez T.S.M. **Análisis de la Variabilidad Genética de Aislamientos de *Microcyclus ulei* provenientes de tres zonas caucheras de los Llanos Orientales, mediante la técnica AFLPs**. 2012. 126p. Tesis (Maestría en Ciencias Agrarias énfasis en Fitopatología) – Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
 24. Sambugaro, R.; Furtado, E.L.; Rodella, R.A.; Mattos, C.R.R. Anatomía foliar de seringueira (*Hevea* spp.) e desenvolvimento da infecção por *Microcyclus ulei*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.30, p 51-56, 2004.
 25. Secretaría Técnica de la Cadena del Caucho Natural y su Industria. **Comportamiento del caucho natural en Colombia y en el mundo (2002 – 2008)**. Bogotá: STNCC, 2008. Disponible en: <http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/5378/1/20084915429_Bullet_Caucho_2008.pdf>. Acceso en: 15 oct. 2017.
 26. Sterling, A.; Galindo, L.C.; Parra, J.P. Histopatología de folíolos de plántulas de caucho (*Hevea brasiliensis*) afectados por hongos fitoparásitos. **Momentos de Ciencia**, Florencia, v.2, n.2, p.82-88, 2005.