

Evaluación inicial del asocio

caucho – copoazú

en el Caquetá: una alternativa de enriquecimiento
agroforestal con potencial para la Amazonia
colombiana

Evaluación inicial del asocio
caucho – copoazú
en el Caquetá: una alternativa de enriquecimiento
agroforestal con potencial para la Amazonia
colombiana

EDITORES

Armando Sterling Cuéllar
Carlos Hernando Rodríguez León
Luz Marina Melgarejo Muñoz



Instituto
amazónico de
investigaciones científicas
SINCHI



MINAMBIENTE

Sterling Cuellar, Armando; Rodríguez León, Carlos Hernando; Melgarejo Muñoz, Luz Marina (Editores)

Evaluación inicial del asocio caucho – copoazú en el Caquetá: una alternativa de enriquecimiento agroforestal con potencial para la Amazonia colombiana. Armando Sterling Cuellar, Carlos Hernando Rodríguez León, Luz Marina Melgarejo Muñoz (Eds.). Bogotá, Colombia: Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas- “SINCHI”, 2015

1. HEVEA BRASILIENSIS 2. THEOBROMA GRANDIFLORUM 3. MICROCI-
CLUS ULEI 4. AGROFORESTERÍA 5. CLONES. 6. CAQUETÁ – COLOMBIA 7.
AMAZONIA COLOMBIANA
ISBN 978-958-8317-xx

©Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas “SINCHI”
Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible
Universidad Nacional de Colombia
Asociación de Reforestadores y Cultivadores de Caucho del Caquetá, Asoheca

Primera edición: Septiembre de 2015

Revisión técnica:

Juan Fernán Sierra Hayer, PhD.
Wilmer Herrera Valencia

Coordinación de la producción editorial:

Diana Patricia Mora Rodríguez

Producción editorial:

Diagramación, fotomecánica, impresión y encuadernación:
Editorial Kimpres S.A.S.

Reservados todos los Derechos

Disponible en:

Instituto Sinchi

Calle 20 No. 5-44 Tel.: 4442077

www.sinchi.org.co

Impreso en Colombia

Printed in Colombia

Este proyecto hace parte integral del Contrato RC No. 746 -2011 celebrado entre la Fiduciaria Bogotá como vocera del Patrimonio Autónomo denominado Fondo Nacional de Financiamiento para la Ciencia, la Tecnología y la Innovación Francisco José de Caldas, el Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas “SINCHI”, la Universidad Nacional de Colombia y la Asociación de Reforestadores y Cultivadores de Caucho del Caquetá, ASOHECA



Instituto
amazónico de
investigaciones científicas
SINCHI

LUZ MARINA MANTILLA CÁRDENAS

Directora General

CARLOS ALBERTO MENDOZA VÉLEZ

Subdirector Administrativo y Financiero

MARCO EHRLICH

Subdirector Científico y Tecnológico

MARIA SOLEDAD HERNÁNDEZ

Coordinadora Programa Sostenibilidad e Intervención

CARLOS HERNANDO RODRÍGUEZ LEÓN

Coordinador Sede Florencia



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
SEDE BOGOTÁ

IGNACIO MANTILLA PRADA
Rector

JORGE IVÁN BULA ESCOBAR
Vicerrector General

JESÚS SIGIFREDO VALENCIA RÍOS
Decano Facultad de Ciencias

CONSUELO BURBANO MONTENEGRO
Directora Departamento de Biología



Asociación de Reforestadores y Cultivadores de Caucho del Caquetá

PABLO EMILIO PINEDA GONZÁLEZ

Director Ejecutivo

JUNTA DIRECTIVA

JOSÉ RICARDO GUTIÉRREZ ROJA

Presidente

GREYCIOMARA CASANOVA MARÍN

Vicepresidente

JOSE YUBER BALANTA VEGA

Secretario

JOSE MELQUICEDEC LOAIZA SERRANO

PLINIO GAONA RODRÍGUEZ

Miembros principales

Evaluación inicial del asocio
caucho – copoazú
en el Caquetá: una alternativa de enriquecimiento agroforestal
con potencial para la Amazonia colombiana

EQUIPO TÉCNICO

Armando Sterling Cuéllar
Líder del proyecto

Carlos Hernando Rodríguez León, Luz Marina Melgarejo Muñoz,
Jaime Alberto Barrera, María Soledad Hernández, Diego Ferney
Caicedo Rodríguez, Marcela Carrillo Bautista, Bernardo Betancurt
Parra, Augusto Mazorra Valderrama (Q.E.P.D), Yasodhara Marieth
Salas Tobón, Yeny Rocío Virgüez Díaz, Walter Hernando Pérez,
Erminso Garzón López, Yeison Fabián Hernández Yate, Ingrid Vanesa
Guano Franco, Brisvany Estefania Guerra Montealegre, Natalia
Cucaita, Claudia Hernández, Rafael H. Gutiérrez, Heberth Góngora
Ocampo, Ana María Perdomo Sandoval, Lyda Yasmin Jara Jiménez,
Yuber Fabián Castaño, Kelly Alejandra Pérez, Yuli Liliana Hernández,
Yeimi Andrea Jara, Yeimi Fernanda Lozada, Ismael Dussán Huaca,
Rafael Vaquero Triana, Ancizar Marín Muñoz, Ferney Darío Vaquero,
Tomas Edison Hermosa, Aldemar González Pérez, Gildardo Trujillo
Mahecha, Julio César Gómez, Yenny Herrera.

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). El Sudeste Asiático produce el 91% del caucho natural a nivel mundial. Tailandia, Indonesia y Malasia concentran el 66.5% de la producción, siendo éstos los principales países productores. América Central y del Sur representan el 3% de la producción mundial (IRSG, 2013).

En Colombia, a diciembre de 2014, se reportó la existencia de 49500 ha cultivadas de caucho, constituidas principalmente por clones introducidos de origen asiático, africano y americano (CCC, 2014). El 68.5% del área total establecida se concentra en cuatro núcleos caucheros: Meta, Santander, Caquetá y Antioquia (Becerra, 2014). Según Asoheca (2014), el departamento de Caquetá posee 6017 ha de caucho, de las cuales 1581 ha son plantaciones en etapa productiva con una producción de 1894.4 toneladas de caucho seco por año.

En Colombia, el sector cauchero es uno de los renglones con mejores ventajas competitivas en el mercado, dado que el caucho natural es uno de los productos con más amplia oferta y demanda a nivel internacional (MADR-Agronet, 2013). Sin embargo, para responder positivamente ante ésta demanda, es necesario optimizar la productividad primaria del sector a través del uso de materiales genéticos sobresalientes (clones de alto rendimiento y tolerancia a los principales limitantes fitosanitarios) y la implementación de modelos de siembra sostenibles para las diferentes regiones del país.

En este sentido, el Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas "SINCHI", la Universidad de la Amazonía y la Asociación de

Reforestadores y Cultivadores de Caucho del Caquetá, ASOHECA, han contribuido con información preliminar sobre la ampliación de la base genética de caucho en la región con nuevos materiales (Sterling y Rodríguez, 2011, 2012) y han adoptado la idea de reconvertir el modelo tradicional del monocultivo por modelos agroforestales con especies nativas maderables o frutales promisorios para la región como el copoazú [(*Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) K. Schum)] (Sterling y Rodríguez, 2014).

Al incorporar el concepto agroforestal en la producción de caucho en la Amazonia colombiana, además de incrementar la diversidad de especies por hectárea y producir ingresos económicos derivados de las especies asociadas, se generan una serie de beneficios ambientales entre los que se destacan la conservación de la biodiversidad (Beukema et al., 2007; Sterling et al. 2014), el secuestro de carbono (Moreno et al., 2005), la adaptación ecofisiológica al cambio climático (Rodrigo, 2007), la recuperación potencial de áreas degradadas por efecto de la ganadería extensiva y de manera indirecta, la reducción de la presión antrópica sobre nuevas áreas de bosque destinadas para la implementación de actividades productivas no sostenibles.

En este documento se presentan para el departamento de Caquetá y con potencial para la Amazonía colombiana, las bases técnicas y científicas para la implementación y adopción preliminar de un nuevo modelo de enriquecimiento agroforestal de plantaciones en monocultivo de caucho en surco doble, a través de la incorporación de nuevos ecotipos clonados de copoazú en los primeros años de la etapa improductiva del cultivo de caucho.

Esta publicación se deriva del proyecto de investigación denominado: “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”. Este proyecto hace parte integral del Contrato RC No. 746 -2011 celebrado entre la Fiduciaria Bogotá como vocera del Patrimonio Autónomo denominado Fondo Nacional de Financiamiento para la Ciencia, la Tecnología y la Innovación Francisco José de Caldas, el Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas

“SINCHI”, la Universidad Nacional de Colombia y la Asociación de Re-forestadores y Cultivadores de Caucho del Caquetá, ASOHECA.

La presente publicación se dividió en cinco capítulos que describen las etapas del proceso técnico e investigativo a partir del cual se realizó la evaluación inicial del asocio agrisilvícola caucho – copoazú en dos zonas climáticas del departamento de Caquetá.

El capítulo 1 presenta la evaluación del desempeño inicial del asocio agrisilvícola: caucho (clones FX 3864, FX 4098 y IAN 873) y copoazú (ecotipos clonados 4, 11 y un testigo local) en los municipios de Belén de los Andaquíes y San Vicente del Caguán.

En el capítulo 2 se muestran los resultados de la respuesta bioquímica (enzimas del sistema antioxidante y el contenido de osmolitos) de tres clones de caucho y de tres ecotipos clonados de copoazú en asocio agrisilvícola en dos zonas climáticas del departamento de Caquetá y tres épocas estacionales (seca, húmeda y transición a seca).

El capítulo 3 expone los resultados del seguimiento temporal (dos ciclos de defoliación – refoliación anual) del SALB (*Microcyclus ulei*) en tres clones de caucho presentes en dos zonas climáticas del departamento de Caquetá.

El capítulo 4 reporta los cambios fisiológicos expresados por dos clones de caucho (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 en el departamento de Caquetá.

El capítulo 5 presenta los resultados relacionados con el beneficio de almendras de copoazú, una labor que comprende una serie de operaciones como recolección del fruto, separación de la semilla, fermentación, secado y procesamiento con el fin de presentar un producto de buena calidad en el mercado y con potencial de aprovechamiento agroindustrial en el departamento de Caquetá.

Agradecimientos

AGRADECEMOS AL PERSONAL DIRECTIVO Y administrativo del Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas “SINCHI”, quienes apoyaron la realización del proyecto y acompañaron permanentemente este proceso, en especial a la doctora Luz Marina Mantilla Cárdenas, Directora General, al doctor Carlos Alberto Mendoza Vélez, Subdirector Administrativo y Financiero, al doctor Marco Ehrlich, Subdirector Científico y Tecnológico, a la doctora Rosario Piñeres Vergara, ex-Subdirectora Administrativa y Financiera y a Uriel Gonzalo Murcia, Coordinador del Programa Modelos de Funcionamiento y Sostenibilidad por su apoyo en la generación de la información cartográfica de la presente investigación.

A la Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá, a todo el personal directivo, administrativo y a todo el equipo técnico del Laboratorio de Fisiología Vegetal del Departamento de Biología por el apoyo en laboratorio y logístico requerido para el desarrollo de ésta investigación

A la Asociación de Reforestadores y Cultivadores de Caucho del Caquetá (Asoheca), a todo el personal directivo, administrativo y a todo el equipo técnico de la Asociación que realizó el acompañamiento técnico y logístico requerido para el desarrollo de ésta investigación.

Expresamos nuestro especial agradecimiento a: Liliana Duque Castro, Natividad Hoyos Barreiro, María Elza García Morales, Elcy Quintero Barrera, Nancy Cano Briñez y Gabriel Jaime Bernal Villegas, propietarios de los predios en los cuales se establecieron las parcelas agroforestales de investigación en los municipios de Belén de los Andaquíes y San Vicente del Caguán, por facilitar sus terrenos y apoyar la logística requerida para el desarrollo de la presente investigación. Extendemos

igualmente un sincero agradecimiento a las familias residentes en los predios antes mencionados por la calurosa acogida que le brindaron a todo el equipo técnico del proyecto.

Al Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación COLCIENCIAS por la cofinanciación e interventoría de la presente investigación.

A la Fiduciaria Bogotá como vocera del Patrimonio Autónomo denominado Fondo Nacional de Financiamiento para la Ciencia, la Tecnología y la Innovación “Francisco José de Caldas”, en el convenio suscrito con el Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas “SINCHI”.

Al Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible al cual se encuentra vinculado el Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas “SINCHI”.

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

Finalmente expresamos nuestros agradecimientos a Juan Fernán Sierra Hayer y Wilmer Herrera Valencia por las observaciones y aportes planteados como resultado de la revisión técnica realizada al documento y que contribuyeron de manera significativa en mejorar la publicación.

Contenido

Introducción	9
Agradecimientos	13
Contenido	15

CAPÍTULO I

Desempeño inicial del asocio agrisilvícola caucho (<i>Hevea brasiliensis</i>)–copoazú (<i>Theobroma grandiflorum</i>) en dos zonas climáticas de Caquetá, Colombia	19
Introducción	21
Las especies	23
<i>El caucho (Hevea brasiliensis)</i>	23
<i>El copoazú (Theobroma grandiflorum)</i>	24
Descripción del área de estudio	26
<i>Localización y clima</i>	26
<i>Suelos según el tipo de paisaje y relieve</i>	29
Material vegetal	31
Diseño experimental	32
Establecimiento de las parcelas agrisilvícolas	32
<i>Identificación y selección de las plantaciones monoclonales de caucho</i>	32
<i>Labores técnicas relacionadas con el enriquecimiento agrisilvícola con copoazú</i>	35
Sostenimiento de las parcelas agrisilvícolas	36
<i>Labores técnicas relacionadas con el sostenimiento de los enriquecimientos agrisilvícolas</i>	36
Evaluación del crecimiento y el potencial precoz productivo de los tres clones de caucho	38
<i>Evaluación de los principales parámetros de crecimiento</i>	38
<i>Evaluación de los principales parámetros de producción precoz</i>	39

Evaluación de la supervivencia y el crecimiento de los tres ecotipos de copoazú	39
<i>Evaluación de los principales parámetros de supervivencia</i>	39
<i>Evaluación de los principales parámetros de crecimiento</i>	40
Análisis estadístico	41
Crecimiento y el potencial precoz productivo de los tres clones de caucho	42
<i>Altura total (AT) y comercial (AC) (m)</i>	42
<i>Circunferencia del tronco (CT) (cm)</i>	46
<i>Índice de área foliar (IAF)</i>	48
<i>Parámetros de producción precoz y calidad física del caucho</i>	51
Supervivencia y crecimiento de los tres ecotipos de copoazú	56
<i>Prendimiento y supervivencia</i>	56
<i>Altura total (AT) (m)</i>	57
<i>Diámetro a 10 cm del suelo (D+10) (cm)</i>	62
<i>Índice de área foliar (IAF)</i>	62
Consideraciones finales	66
Referencias bibliográficas	66

CAPÍTULO II

Respuesta bioquímica estacional de material foliar de caucho (<i>Hevea brasiliensis</i>) y copoazú (<i>Theobroma grandiflorum</i>) en dos zonas edafoclimáticas de Caquetá, Colombia	77
Introducción	79
Evaluación de los parámetros bioquímicos de caucho	85
<i>Evaluación del contenido estacional de proteína, catalasa y peroxidasa en caucho</i>	85
<i>Evaluación del contenido estacional de algunas enzimas del Ciclo Ascorbato-Glutatión en caucho</i>	89
<i>Evaluación del contenido estacional de algunos osmolitos compatibles en caucho</i>	94
Evaluación de parámetros bioquímicos de copoazú	97
<i>Evaluación del contenido estacional de proteína, catalasa y peroxidasa en copoazú</i>	97
<i>Evaluación del contenido estacional de algunas enzimas del Ciclo Ascorbato-Glutatión en copoazú</i>	100
<i>Evaluación del contenido estacional de algunos osmolitos compatibles en copoazú</i>	103
Referencias bibliográficas	105

CAPÍTULO III

Epidemiología del mal suramericano de las hojas (<i>Microcyclus ulei</i>) en tres clones de caucho (<i>Hevea brasiliensis</i>) presentes en dos zonas climáticas de Caquetá (Colombia)	111
Introducción	113
Mal suramericano de las hojas (<i>Microcyclus ulei</i> (P. Henn) v. Arx)	114
Evaluación epidemiológica del mal suramericano de las hojas-SALB	116
<i>Evaluación de los síntomas del SALB y su relación con los factores climáticos</i>	117
<i>Análisis del progreso temporal del SALB</i>	118
<i>Determinación de los patrones fenológicos foliares y su relación con los síntomas del SALB</i>	119
<i>Análisis estadístico</i>	119
Incidencia y severidad del salb y su relación con los factores climáticos	121
Modelos y curvas de progreso temporal del salb	128
Patrones fenológicos foliares y su relación con los síntomas del SALB	131
Consideraciones finales	138
Referencias bibliográficas	139

CAPÍTULO IV

Respuesta fisiológica del caucho (<i>Hevea brasiliensis</i>) al mal suramericano de las hojas (<i>Microcyclus ulei</i>) en condiciones de inoculación controlada y de infección natural en Caquetá (Colombia)	145
Introducción	147
Fisiología del estrés en caucho y su importancia en el contexto regional	148
Evaluación de la respuesta fisiológica del caucho al SALB en condiciones de inoculación controlada	149
<i>Condiciones de inoculación controlada</i>	149
<i>Fuente de inóculo</i>	150
<i>Material vegetal</i>	150
<i>Evaluación temporal del SALB</i>	151
Evaluación de la respuesta fisiológica del caucho al salb en condiciones de infección natural	153
<i>Condiciones de infección natural</i>	153

<i>Evaluación de los cambios fenológicos y el nivel de retención foliar del dosel</i>	153
<i>Evaluación del intercambio gaseoso y fluorescencia de la clorofila a</i>	154
<i>Índice de área foliar (LAI)</i>	155
<i>Análisis estadístico</i>	156
Respuesta fisiológica del caucho al salb en condiciones de inoculación controlada	157
<i>Severidad del SALB y AUSPC</i>	157
<i>Parámetros fotosintéticos</i>	157
Respuesta fisiológica del caucho al SALB en condiciones de infección natural	164
<i>Intensidad de los síntomas del SALB según la fenología y el nivel de retención foliar</i>	164
<i>Respuesta fisiológica en la interacción nivel de retención foliar x SALB</i>	175
Consideraciones finales	185
Referencias bibliográficas	186

CAPÍTULO V

Beneficio de almendras de copoazú (<i>Theobroma grandiflorum</i>) en Caquetá (Colombia)	193
Introducción	195
Cambios fisicoquímicos que ocurren durante el proceso de fermentación	197
<i>Variación del pH y otros cambios químicos</i>	198
<i>Cambios en los cotiledones</i>	200
<i>Cambio en los azúcares</i>	200
<i>Cambios en los polifenoles</i>	200
Factores que intervienen en la fermentación	201
Métodos de fermentación	202
Fermentación del cacao silvestre: copoazú	203
Referencias bibliográficas	231

CAPÍTULO I

Desempeño inicial del asocio agrisilvícola caucho (*Hevea brasiliensis*)–copoazú (*Theobroma grandiflorum*) en dos zonas climáticas de Caquetá, Colombia

Armando Sterling Cuéllar¹, Carlos Hernando Rodríguez León¹,
Yeny Rocío Virgüez Díaz², Diego Ferney Caicedo Rodríguez¹,
Jaime Alberto Barrera¹, Augusto Mazorra Valderrama¹,
Bernardo Betancurt Parra¹, Heberth Góngora Ocampo³



¹ Investigadores Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas “SINCHI” Sede Florencia

² Co-investigador del proyecto

³ Co-investigador Asociación de Reforestadores y Cultivadores de Caucho del Caquetá, Asoheca

Introducción

El caucho natural [*Hevea brasiliensis* (Willd. Ex Adr. de Juss.) Muell.-Arg.], es una especie productora de látex cuyos orígenes se remontan en las llanuras de la región Amazónica y la Orinoquia en América del Sur con una amplia distribución en países como Bolivia, Brasil, Colombia, Guyana francesa, Perú, Surinam y Venezuela (Gonçalves *et al.*, 1997).

En Colombia, el sector cauchero es uno de los renglones con mejores ventajas competitivas en el mercado, dado que el caucho natural es uno de los productos con más amplia oferta y demanda a nivel internacional (MADR-Agronet, 2013). Sin embargo, para responder positivamente ante ésta demanda, es necesario optimizar la productividad primaria del sector a través del uso de materiales genéticos sobresalientes (alto rendimiento y tolerancia a los principales limitantes fitosanitarios) y la implementación de modelos de siembra sostenibles para las diferentes regiones del país.

En este sentido, en regiones como la Amazonia colombiana y en zonas con amplia tradición cauchera como el departamento de Caquetá, el Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas "SINCHI", la Universidad de la Amazonía y la Asociación de Reforestadores y Cultivadores de Caucho del Caquetá, Asoheca, han contribuido con información preliminar sobre la ampliación de la base genética de caucho en la región con nuevos materiales de siembra (Sterling y Rodríguez, 2011, 2012) y han adoptado la idea de reconvertir el modelo

tradicional del monocultivo por arreglos agroforestales con especies nativas frutales o maderables promisorias para la región (Sterling y Rodríguez, 2014, Sterling *et al.*, 2015).

Según Barrera *et al.* (2009), entre los frutales amazónicos el copoazú [(*Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) K. Schum)] posee las potencialidades para su cultivo en asocio bajo arreglo agroforestal con leñosas perennes como el caucho que es de ciclo productivo largo y se impone dentro del arreglo cubriendo el estrato superior del dosel.

Al incorporar el concepto agroforestal en la producción de caucho en la Amazonia colombiana, además de incrementar la diversidad biológica de especies por hectárea, se generan flujos de caja a partir de las especies asociadas dentro del periodo improductivo del cultivo de caucho. En este sentido, es fundamental identificar los principales parámetros técnicos que determinan la viabilidad de la implementación de estos arreglos, a partir de la evaluación del desempeño, la respuesta ambiental, el comportamiento fitosanitario y el potencial agroindustrial de las especies asociadas con el fin de recomendar la mejor alternativa al productor.

Rodrigo *et al.* (2004) y Snoeck *et al.* (2013) afirman que los socios del caucho con diversas especies vegetales pueden favorecer en un 50% el desarrollo y el crecimiento de los árboles de caucho en comparación con el monocultivo. Aunque son muchos los beneficios reales y potenciales que se atribuyen al uso de los sistemas agroforestales con caucho (Pereira *et al.*, 1997), han sido poco comprendidos los efectos producidos por la interacción entre factores como el genotipo vegetal, el tipo de socio o los factores ambientales inherentes sobre el desempeño del cultivo del caucho y de las especies asociadas en las primeras etapas de la implementación de estos arreglos.

En el presente capítulo se exponen los resultados relacionados con la evaluación del desempeño inicial de tres clones de caucho (crecimiento y potencial precoz productivo en los clones FX 3864, FX 4098 y IAN 873) y de tres ecotipos clonados de copoazú (supervivencia y crecimiento en los ecotipos 4, 11 y un testigo local) en asocio agrisilvícola en dos zonas climáticas del departamento del Caquetá (Amazonia colombiana).

Las especies

El caucho (*Hevea brasiliensis*)

Clasificación taxonómica (Compagnon, 1998)

Clase: Magnoliopsida

Orden: Malpighiales

Familia: Euphorbiaceae

Género: *Hevea*

Epíteto de la especie: *brasiliensis*

Nombre científico: *Hevea brasiliensis* L. (Willd. ex A.Juss.) Mull.Arg.

Nombre Común: caucho, siringa, seringueira, hule (Figura 1.1A).

Descripción botánica

Según Compagnon (1998), el árbol de caucho alcanza alturas entre los 20 y 30 m. El tronco es recto y cilíndrico de 30 a 60 cm de diámetro, su madera es de color blanca y liviana. Sus hojas son compuestas trifoliadas, alternas, de 16 cm de longitud, por 6 a 7 cm de ancho. Durante la estación seca las hojas de la copa del árbol se tornan de color rojizo, luego se presenta un desprendimiento parcial de su masa foliar. Las flores son pequeñas y reunidas en amplias panículas. Produce fruto desde los cuatro años, cada uno de los cuales es una gran cápsula de 4 cm de diámetro que se abre en valvas, con semillas ricas en aceite.

Su látex es blanco o amarillento y abundante. El sangrado “sangrar” se realiza en el tronco del árbol; Cuando el árbol alcanza un diámetro $\geq$ a 45 cm, de circunferencia a 1.30 m de altura, se traza la línea de rayado apertura de panel”, la cual se le debe dar una inclinación de 45° para que al rayado el látex drene hasta depositarse en una taza que adhiere con alambre al tronco en su base inferior.

Generalidades del cultivo

El caucho es una especie forestal perennifolia cuya principal fuente de aprovechamiento es la producción de látex destinada principalmente a la industria llantera y automotriz (Compagnon, 1998). Según Goncalves

et al. (1997), los orígenes del caucho natural se remontan a las llanuras de la región Amazónica y a la Orinoquia en América del Sur con una amplia distribución en países como Brasil, Bolivia, Colombia, Guyana Francesa, Perú, Surinam y Venezuela.

El Sudeste Asiático produce el 91% del caucho natural a nivel mundial. Tailandia, Indonesia y Malasia concentran el 66.5% de la producción, siendo estos los principales países productores. América Central y del Sur representan el 3% de la producción mundial (IRSG, 2013). Colombia solo cubre el 8.5% de la demanda nacional (MADR. Agronet, 2013).

En Colombia, a diciembre de 2013, se reportó la existencia de 44100 ha cultivadas de caucho, constituidas principalmente por clones introducidos de origen asiático, africano y americano (Becerra, 2014). El 68.5% del área total establecida se concentra en cuatro núcleos caucheros: Meta, Santander, Caquetá y Antioquia (Becerra, 2014). Según Asoheca (2014), el departamento de Caquetá posee actualmente 6017 ha de caucho, de las cuales 1581 ha son plantaciones en etapa productiva con una producción de 1894.4 toneladas de caucho seco por año.

El copoazú (*Theobroma grandiflorum*)

- **Clasificación taxonómica (Alverson et al., 1999)**

Clase: Magnoliopsida.

Subclase: Caryophyllidae.

Orden: Malvales

Familia: Esterculiaceae

Género: *Theobroma*

Epíteto de la especie: *grandiflorum*

Nombre científico: *Theobroma grandiflorum*

Nombre Común: en Perú: Copoazú; en Brasil: copoazú, cacau, cupuaçu verdadeiro; en Colombia: bacau; Ecuador: patas (Figura 1.1B).

Descripción botánica

Según Vargas y Arguelles (2000), el copoazú es un árbol que puede crecer hasta 18 m en estado silvestre, cultivado sin clonar alcanza una altura entre 5 m a 8 m. Las ramas son plagiotrópicas. La formación o estructura de las mesas o ramificaciones es importante para una producción balanceada de frutos y para planificar distancias de siembra cuando se planifica el establecimiento de arreglos agroforestales. Las hojas son simples subcoriáceas, lamina foliar oblonga u oblonga, ovalada, glabra de color verde en el haz y verde claro o rosado en el envés.

Las inflorescencias están ubicadas en la parte apical de las ramas plagiotrópicas en número de 3 a 5. Flor pentámera, 5 sépalos y 5 pétalos. Ovario supero pentagonal con 5 lóculos multiovalados. Frutos en baya drupácea de forma elipsoide u oblonga, con exocarpio rígido, leñoso y verde recubierta por una coloración ferruginosa y polvosa que se desprende al manipular. El mesocarpio es blanco de 7 mm de espesor. El fruto puede contener de 20 a 50 semillas pero existen plantas que producen frutos sin semillas.

Generalidades del cultivo

El copoazú forma parte de las 22 especies descritas del género *Theobroma*, en donde nueve de ellas son nativas de Amazonia; razón por la se sugiere la región como posible centro de origen (Gentry, 1996). El principal producto del copoazú es su pulpa, la cual es utilizada en la industria de refrescos, dulces, jaleas, sorbetes y otros; sin embargo, sus semillas también pueden ser utilizadas para obtener un producto semejante al chocolate obtenido del cacao (Hernández y Barrera, 2004).

Según Barrera *et al.* (2009), el copoazú cumple los requerimientos para su cultivo bajo arreglo agroforestal; se desempeña bien en asocio con leñosas perennes como el caucho que es de ciclo productivo largo y se impone dentro del arreglo cubriendo el estrato superior del dosel. El copoazú es un buen complemento para la diversificación del modelo tradicional del monocultivo de caucho, además de convertirse en una opción económica en el periodo improductivo del caucho.



Figura 1.1. Especies vegetales utilizadas en el establecimiento de seis parcelas agrisilvícolas de investigación en dos localidades de Caquetá (Colombia). **A.** Caucho (*Hevea brasiliensis*). **B.** Copoazú (*Theobroma grandiflorum*).

Descripción del área de estudio

Localización y clima

La presente investigación se desarrolló en el departamento de Caquetá (Amazonia colombiana), en los municipios de Belén de los Andaquíes al sur y San Vicente del Caguán al norte del Departamento (Tabla 1.1).

El Caquetá se localiza al Sur de Colombia, forma parte de la Región Amazónica y de la subregión denominada Amazonia Occidental, caracterizada por contar con la mayor densidad demográfica. Concentra más de 86% de la población de toda la región amazónica. Según Ojeda (2004) el territorio del departamento de Caquetá tiene un área de 88.965 Km², con corredores biológicos únicos y gran variedad de fauna y flora, que lo caracterizan como uno de los departamentos más mega

Tabla 1.1. Localización y aspectos climáticos generales del área geográfica donde se realizó la investigación en Caquetá (Colombia)

Localidad (Municipio)	Latitud	Longitud	Altura (msnm)	Precipitación media anual (mm)	Humedad relativa media anual (%)	Temperatura media anual (°C)	Clasificación de Caldas Lang
Belén de los Andes	01° 09' 20.2"	75° 48' 08"	300	3471	87.1	25	Cálido húmedo
San Vicente del Caguán	02° 01' 33.6"	74° 55' 07.4"	344	2503	82.3	25.4	Cálido semihúmedo a húmedo

Fuente: datos climáticos anuales (IDEAM, 2014); coordenadas geográficas (Sinchi, 2014); clasificación Caldas Lang (IGAC, 2010).

biodiversos del país. De acuerdo con la ubicación geográfica de la Amazonia colombiana en el trópico húmedo, con área en los dos hemisferios, la proximidad al eje ecuatorial y la incidencia casi vertical de la radiación solar durante todo el año, estimulan una zona de mayor calentamiento, de un alto potencial de recepción de energía solar, que es interceptada por los sistemas convectivos locales, asociados al régimen de precipitación, biomas, zonobiomas, orobiomas y principalmente a los sistemas de circulación atmosférica intertropical (Alisios del NE y del SE) y regional (Zona de Convergencia Intertropical – ZCIT en la Llanura Oriental Colombiana) (Rangel y Luengas, 1997; SINCHI-INADE, 1998; IGAC, 1999). En la figura 1.2 se pueden apreciar las principales tipologías climáticas características del área de estudio (SINCHI, 2015b).

En Caquetá, la presencia de lluvias es constante durante todo el año, pero se pueden definir unas épocas de “verano ecológico (época seca)”, en las cuales el volumen de lluvia mensual está por debajo del promedio, que corresponde a los meses de noviembre a febrero. Por otra parte, se observa un periodo en el cual el volumen de lluvias es superior al promedio mensual, determinando una época de “invierno ecológico (época lluviosa)”, que corresponde a los meses de abril a junio. Un periodo entre estas épocas denominado “transicional” puede

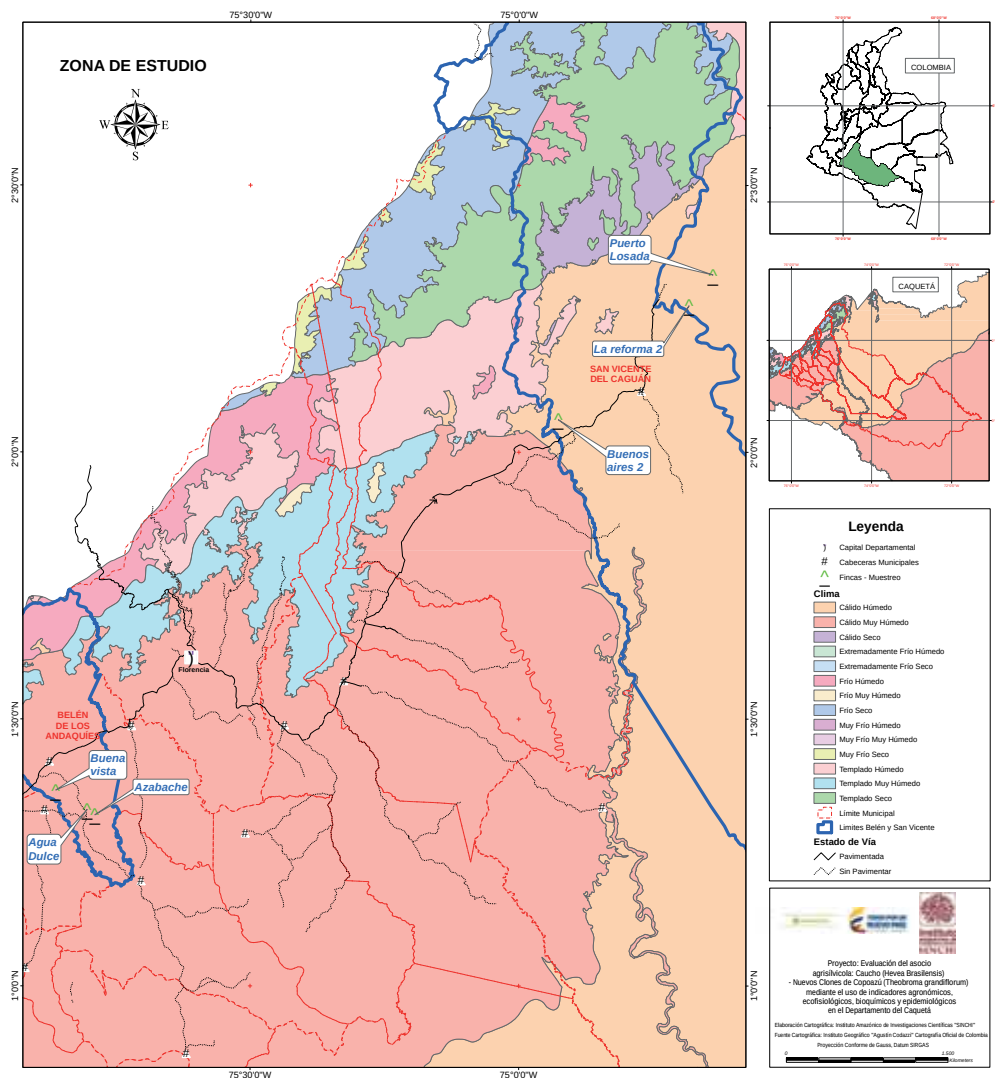


Figura 1.2. Mapa climático del área de estudio (estrellas verdes) localizada en el departamento del Caquetá (Colombia). Fuente: SINCHI (2015b).

distinguir el paso de la época lluviosa hacia la época seca. En la tabla 1.2, se pueden observar los principales parámetros climáticos de las tres épocas antes referidas, las cuales se consideraron en las evaluaciones fisiológicas en campo (Capítulos 2 y 3).

Tabla 1.2. Principales parámetros climáticos promedio inherentes a las épocas pluviométricas consideradas en los municipios de Belén de los Andaquíes y San Vicente del Caguán (Caquetá, Colombia) en el periodo comprendido entre noviembre de 2012 y enero de 2015.

Nombre de la época	Nomenclatura utilizada para la época	Meses comprendidos	Localidad	Precipitación media mensual (mm)	Temperatura media mensual (°C)	Humedad relativa media mensual (%)	Radiación fotosintéticamente activa ^b ($\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)
Época seca	Seca	Noviembre a febrero	Belén de los Andaquíes	260.6±9.0 ^a	25.9±0.2	84.7±1.5	871±35
			San Vicente del Caguán	42.0±5.9	26.9±0.1	69.6±0.4	1525±87
Época lluviosa	Lluvia	Marzo a junio	Belén de los Andaquíes	437.7±50.6	25.1±0.1	89.0±1.0	653.4±47
			San Vicente del Caguán	266.0±8.7	25.1±0.2	85.0±0.2	952±64
Transición hacia la época seca	Transición	Julio a octubre	Belén de los Andaquíes	306.0±64.2	24.7±0.1	87.7±0.2	798±52
			San Vicente del Caguán	110.8±28.2	21.3±0.4	81.6±0.5	1367±75

^a Medias con error estándar

^b PAR (Radiación fotosintéticamente activa)

Fuente: datos Belén de los Andaquíes (IDEAM, 2015); datos San Vicente del Caguán (Sinchi, 2015a)

Suelos según el tipo de paisaje y relieve

Los suelos del departamento de Caquetá en términos generales, presentan textura principalmente fina, predominio de arcillas, con limitaciones y diferentes grados de drenaje interno. El pH, ácido fluctúa entre 4.5 y 5.8 (IGAC, 1993). La saturación de bases es baja. Presentan alto contenido o saturación de aluminio. En los horizontes minerales

se presenta bajo contenido de carbón, fósforo, potasio y magnesio. En la figura 1.3 se pueden apreciar las principales unidades de relieve presentes en la zona de estudio (SINCHI, 2015c), a partir de las cuales se asociaron los suelos de piedemonte (arcillosos, ácidos a muy ácidos, con alto contenido de aluminio, que los hace tóxicos y una baja fertilidad) a los ensayos establecidos en Belén de los Andaquíes), y suelos de lomerío (arcilloso-arenosos principalmente, ácidos a muy ácidos, con un alto contenido de aluminio que los hace tóxicos y con una baja fertilidad) a los ensayos establecidos en San Vicente del Caguán (IGAC, 2010).

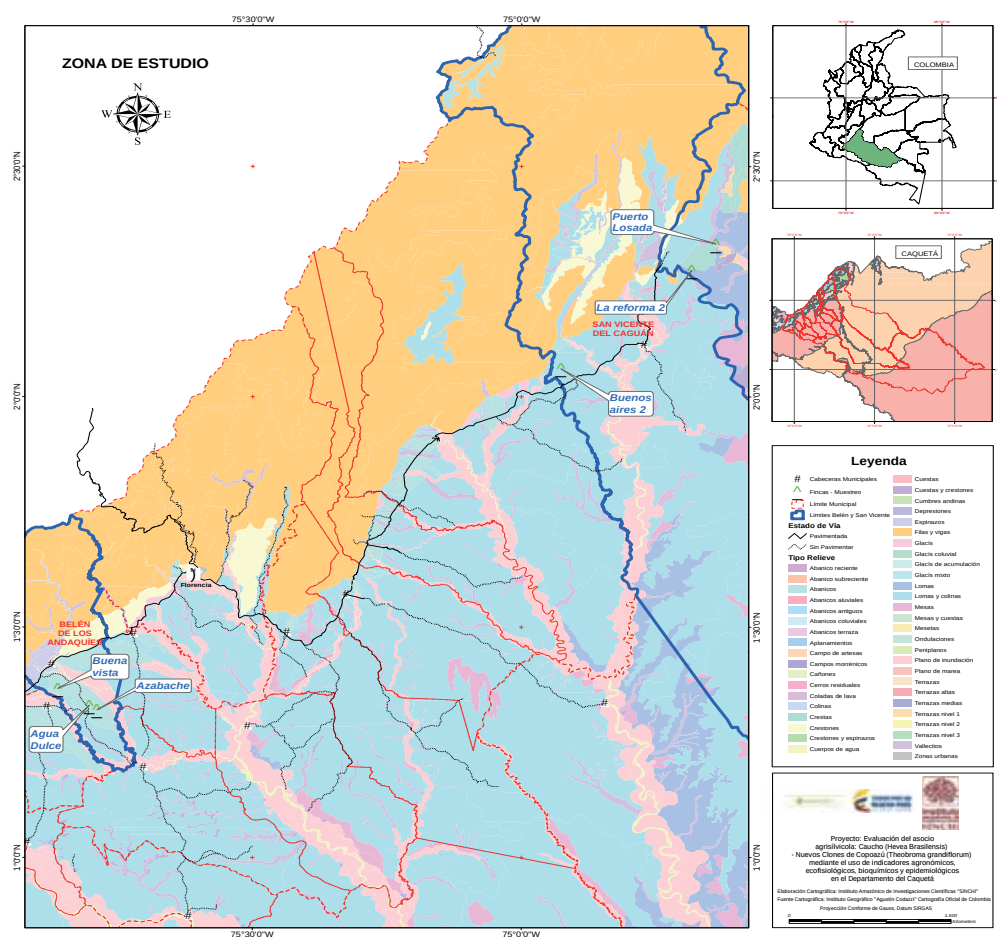


Figura 1.3. Mapa de tipos de relieve asociados al área de estudio (estrellas verdes) localizada en el departamento del Caquetá (Colombia). Fuente: SINCHI (2015c).

Material vegetal

El material vegetal correspondió a tres clones de caucho (*H. brasiliensis*) de origen americano (los cultivares FX 3864 y IAN 873, y el clon promisorio FX 4098) con un rango de edad de 4–5 años (Tabla 1.3).

En relación con los cultivos asociados, se utilizaron tres materiales promisorio de copoazú, denominado “Ecotipo sobresaliente No. 4 y 11 de la colección de germoplasma de SINCHI en el Departamento del Guaviare y un testigo local” (Melgarejo *et al.*, 2006).

Tabla 1.3. Listado de clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) evaluados en asocio agrisilvícola con copoazú (*Theobroma grandiflorum*) en los municipios de Belén de los Andaquíes y San Vicente del Caguán (Caquetá, Colombia).

Clon	Progenitores ^a	Especie de <i>Hevea</i>	Origen	Tipo de reacción a <i>M. ulei</i> ^b	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> , 2005), crecimiento vigoroso (Rivano <i>et al.</i> , 2010; Sterling <i>et al.</i> , 2012) con susceptibilidad al secamiento del panel. Resistencia parcial a <i>M. ulei</i> (Le Guen <i>et al.</i> , 2008, Rivano <i>et al.</i> , 2010; Sterling y Dussán, 2012).
FX 3864	PB 86 x FB 38	<i>H. brasiliensis</i> x <i>H. brasiliensis</i>	Brasil	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> . Susceptible a <i>M. ulei</i> (Junqueira <i>et al.</i> , 1986; Mattos <i>et al.</i> , 2003; Sterling <i>et al.</i> , 2009)
IAN 873	FA 1717 x PB 86	<i>H. brasiliensis</i> x <i>H. brasiliensis</i>	Brasil	Susceptible	Clon secundario desarrollado por el Instituto Agonomico del Norte. Sus árboles son altos y vigorosos, con un tallo vertical y de rápido crecimiento. Susceptible a <i>M. ulei</i> (Junqueira <i>et al.</i> , 1986; Sterling y Dussán, 2012; Sterling <i>et al.</i> , 2012)

^a Fuente: Junqueira *et al.* (1986); Mattos *et al.* (2003); Rivano *et al.* (2010).

^b Fuente: Gasparotto *et al.* (1997)

Diseño experimental

En ambas localidades, se eligieron tres plantaciones monoclonales (una por clon), cada una de 1 ha, para un total de seis parcelas experimentales las cuales se encontraban establecidas en surco doble con distancia de siembra 4.0 x 2.8 x 10.0 m.

Cada plantación monoclonal se subdividió en tres tratamientos, cada uno constituido por un ecotipo clonado de copoazú (ecotipos 4 y 11 de la Colección de SINCHI en Guaviare y un testigo caquetense) (Figura 1.4A). Los materiales de copoazú se establecieron entre las líneas de las calles dobles del caucho con un distanciamiento de 3.0 x 4.0 m, para un total de 156 plantas por tratamiento (Figura 1.4B).

Establecimiento de las parcelas agrisilvícolas

Identificación y selección de las plantaciones monoclonales de caucho

Para el establecimiento de las seis parcelas agrisilvícolas se seleccionaron seis plantaciones monoclonales de caucho distribuidas así: IAN 873 (vereda Buenos Aires #2), FX 3864 (vereda La Reforma #2) y FX 4098 (vereda Puerto Losada) en el municipio de San Vicente del Caguán (Figura 1.5A – C); y IAN 873 (vereda Buena Vista), FX 3864 (vereda Azabache) y FX 4098 (vereda Agua Dulce) en el municipio de San Vicente del Caguán (Figura 1.5D – F).

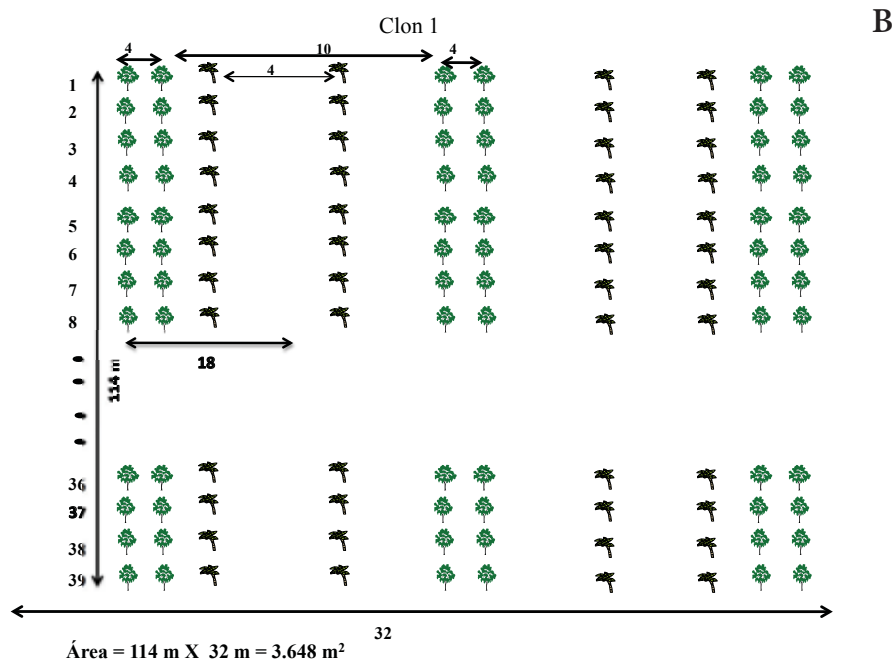
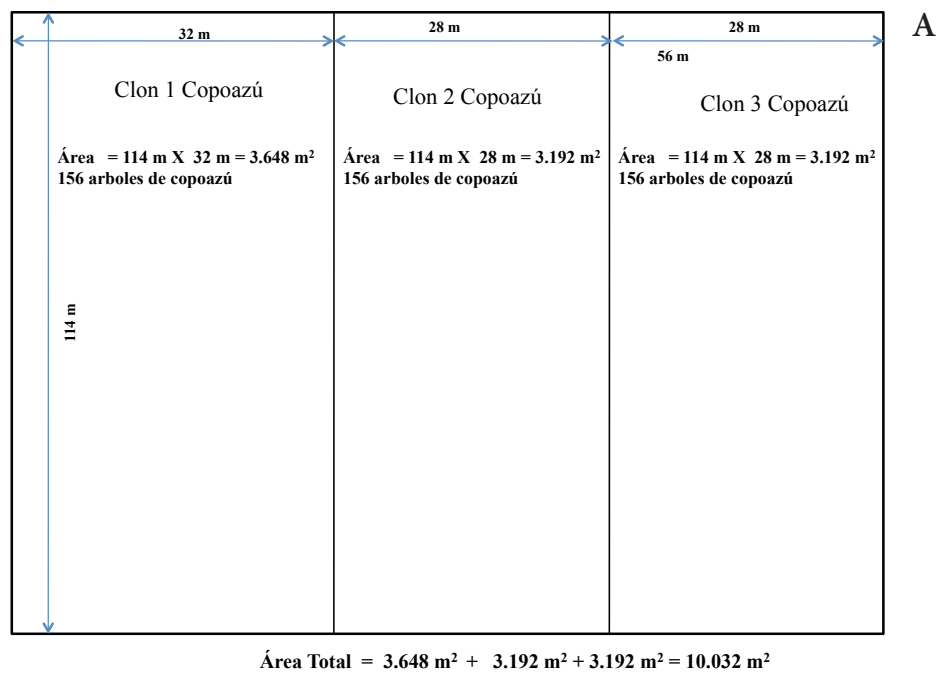


Figura 1.4. Esquema general del asocio agrisilvícola: caucho (*Hevea brasiliensis*) – copoazú (*Theobroma grandiflorum*). **A.** Diseño de los tratamientos. **B.** Modelo y distancias de siembra.

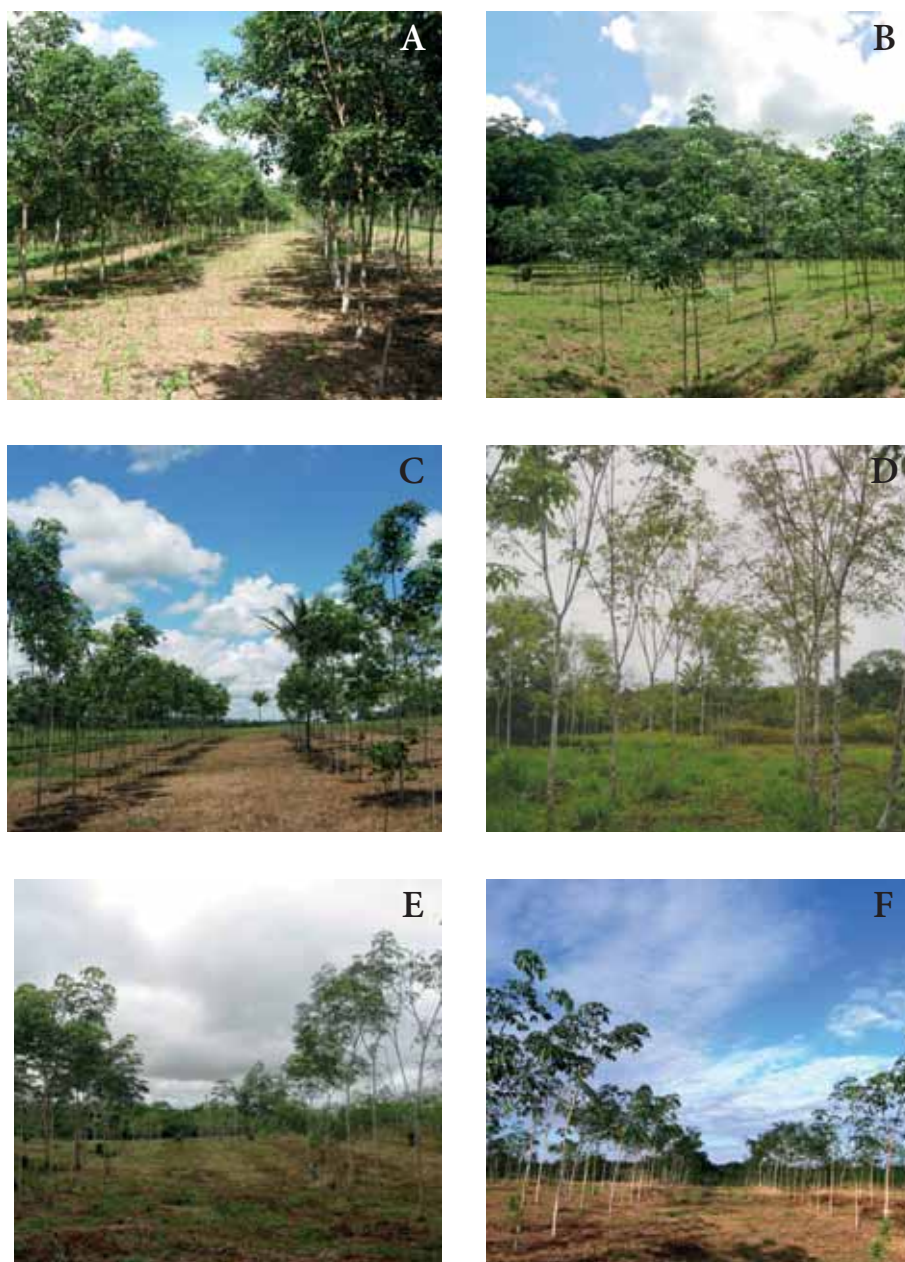


Figura 1.5. Predios seleccionados para el establecimiento de las seis parcelas agrisilvícolas de caucho (*Hevea brasiliensis*) y copoazú (*Theobroma grandiflorum*) **A, B y C**, plantaciones de IAN 873, FX 3864 y FX 4098, respectivamente, en el municipio de San Vicente del Caguán. **D, E y F**, plantaciones IAN 873, FX 3864 y FX 4098, respectivamente, en el municipio de Belén de los Andaquíes.

Labores técnicas relacionadas con el enriquecimiento agrisilvícola con copoazú

En la figura 1.6 se resumen las distintas fases técnicas involucradas en el establecimiento de las seis parcelas experimentales (plantaciones monoclonales de caucho enriquecidas con copoazú) en las dos localidades de Caquetá.



Figura 1.6. Labores técnicas de establecimiento técnico de las seis parcelas agrisilvícolas de caucho y copoazú. **A.** Limpieza mecánica de lotes. **B.** Ahoyado de los terrenos. **C.** Aplicación de correctivos edáficos. **D.** Siembra de patrones de copoazú. **E.** Asocio agrisilvícola caucho–copoazú. **F.** Valla del proyecto.

Las principales labores técnicas de establecimiento consistieron en: a) limpieza de terrenos (la cual se realizó mediante guadaña) (Figura 1.6A); b) ahoyado de los terrenos (se delimitaron los tres tratamientos experimentales y los puntos de siembra de los patrones de copoazú) (Figura 1.6B); c) aplicación de correctivos edáficos [cal dolomita (300 g/planta) y fosforita (300 g/planta)] y fertilización orgánica con compost (500 g/planta) (Figura 1.6C); d) siembra del material vegetal de copoazú (patrón en bolsa de 5 meses de edad) (Figura 1.6D).

Sostenimiento de las parcelas agrisilvícolas

Labores técnicas relacionadas con el sostenimiento de los enriquecimientos agrisilvícolas

Luego de la siembra de los patrones de copoazú en las calles dobles de las plantaciones monoclonales de caucho, se continuó con la injertación *in situ* de los tres ecotipos de copoazú, y en adelante con las respectivas labores técnicas de sostenimiento de las seis parcelas agrisilvícolas (Figura 1.7).

Las principales labores técnicas de sostenimiento consistieron en: a) selección de varetas para la injertación de los patrones de copoazú (Figura 1.7A); b) injertación *in situ* del material vegetal de copoazú (propagación clonal) (Figura 1.7B y C); c) deschupone y podas de formación (Figura 1.7D); d) limpieza y plateo del terreno (Figura 1.7E y F); e) implementación del plan de fertilización con la aplicación de insumos agrícolas como abono orgánico (300 a 500 g/planta), abono compuesto (150 a 300 g/planta), fertilizante foliar (80 cm³/planta) y el respectivo manejo fitosanitario contra plagas y arvenses según correspondió (Figura 1.7G); f) incorporación de un sombrío transitorio con plátano Hartón entre las líneas de copoazú para reducir el flujo de radiación debajo del dosel de los árboles de caucho en crecimiento y por tanto, favorecer la supervivencia y desarrollo del copoazú (Figura 1.7H).



Figura 1.7. Principales labores técnicas de sostenimiento de las parcelas agrisilvícolas de caucho y copoazú. **A.** Selección de las varetas de los ecotipos de copoazú. **B.** Injertación *in situ* de los patrones. **C.** Plántula injertada. **D.** Deschupone y podas. **E.** Limpieza mecánica de surcos y calles. **F.** Plateo. **G.** Fertilización. **H.** Establecimiento de un sombrío transitorio de plátano Hartón entre las líneas de copoazú.

Evaluación del crecimiento y el potencial precoz productivo de los tres clones de caucho

Evaluación de los principales parámetros de crecimiento

Altura total (AT) (m)

La altura total de los árboles de caucho se determinó anualmente en el 100% de los individuos, a partir de la distancia comprendida entre el suelo y el ápice de la copa (Pereira *et al.* 2007), mediante el uso de una vara centimétrica de 4 m de longitud.

Altura comercial (AC) (m)

La altura comercial de los árboles es la parte del fuste que puede utilizarse o aprovecharse con fines industriales, esta se determinó en el 100% de los individuos, a partir de la distancia comprendida entre el suelo y la primera ramificación del árbol (Pereira *et al.* 2007), mediante el uso de una vara centimétrica de 4 m de longitud.

Circunferencia del tronco o vigor (CT) (cm)

El vigor de los árboles se expresó como la medida de la circunferencia (cm) del tronco a 1.2 m del suelo a través de una cinta métrica utilizada sobre el 100% de los individuos (Junior *et al.* 2007).

Índice de área foliar (IAF)

El índice de área foliar por su sigla en inglés LAI (*leaf area index*) es el área proyectada de las superficies de las hojas por unidad de área de suelo (Marshall y Waring, 1986). Esta medida de crecimiento se relaciona con el área de la superficie fotosintética (necesaria para capturar la energía lumínica) (Wilhem *et al.*, 2000) y con la transpiración dentro del dosel (Chen *et al.*, 1997).

La medición indirecta del IAF se realizó por medio de un Ceptómetro AccuPAR® Modelo LP.80, con la barra dispuesta de manera perpendicular al eje vertical de la planta, ajustando el número de sensores al diámetro del dosel de la misma. Los valores de IAF se calcularon a partir de las lecturas de la PAR que llega al dosel (PAR_a), y la

PAR que hay debajo de este (PAR_d) (Carver y Griffiths, 1981; Fournier y Andreu 1999).

Evaluación de los principales parámetros de producción precoz

Con el fin de evaluar el rendimiento precoz productivo de los tres clones de caucho, se realizó el equipamiento y las respectivas pruebas de sangría en las seis parcelas agrisilvícolas durante seis meses de seguimiento (agosto de 2014 a enero de 2015) (Figura 1.8). Asimismo, y con el objetivo de identificar la calidad física del caucho obtenido, se realizó en el Laboratorio de Calidad de la Planta TSR 20 de Asoheca (La Montaña, Caquetá), la determinación del contenido de caucho seco por sus siglas en inglés DRC (Dry Rubber Content), la plasticidad inicial (PI) y el índice de retención de plasticidad (PRI) sobre muestras de coágulo fresco recolectadas en el proceso de extracción del látex en campo.

Para la evaluación de la producción precoz (producción de caucho seco en árboles en etapa de crecimiento) se empleó el sistema de explotación 1/S2↓ d/3 6d/7 2 x 1 cm³ x 2.5% de Etephon (Sangría en media espiral, cada 3 días con un día de descanso en la semana y dos estimulaciones con 1 cm³ de Etephon (Ethrel) al 2.5%). La sangría se realizó en horas de la mañana. Una hora después de la sangría se aplicó 1 ml de ácido acético (7%) en las tazas de sangrado durante el periodo lluvioso. Con el fin de prevenir enfermedades en el panel de sangría se realizó la aplicación una vez por semana de una mezcla de fungicida Ridomil®, en dosis de 25 g/L H₂O. Esta mezcla se aplicó con un pincel en lo largo del corte de sangría.

Evaluación de la supervivencia y el crecimiento de los tres ecotipos de copoazú

Evaluación de los principales parámetros de supervivencia

La supervivencia de los materiales de copoazú injertados se evaluó al mes, a los 3 meses y a los 6 meses posteriores al establecimiento, como



Figura 1.8. Principales labores técnicas de equipamiento y sangría precoz realizada sobre tres clones de caucho en diferentes parcelas agrisilvícolas localizadas en dos localidades de Caquetá, Colombia. **A.** Medición de la circunferencia del tronco. **B.** Trazado del panel. **C.** Rayado del panel. **D.** Caucho recolectado en campo.

el porcentaje de plantas vivas en relación con el total de plantas injertadas en campo definitivo.

Evaluación de los principales parámetros de crecimiento

Al cabo del primero y segundo año, posteriores al establecimiento en campo definitivo de los ecotipos clonados de copoazú, se realizó la evaluación de los siguientes parámetros de crecimiento:

Altura total (AT) (m)

La altura total de las plantas de copoazú se determinó anualmente en el 100% de los individuos, a partir de la distancia comprendida entre

el suelo y el ápice de la copa (Pereira *et al.* 2007), mediante el uso de una vara centimétrica de 4 m de longitud.

Diámetro a 10 cm del suelo (D+10) (cm)

El vigor de los árboles se expresó como la medida de la circunferencia (cm) del tallo a 10 cm del suelo en el copoazú a través de una cinta métrica utilizada sobre el 100% de los individuos.

Índice de área foliar (IAF)

El índice de área foliar (LAI) se hizo de manera indirecta mediante un Ceptómetro AccuPAR® Modelo LP.80, siguiendo la misma metodología empleada con el cultivo del caucho.

Análisis estadístico

Para el análisis de las variables de crecimiento del caucho se ajustó un modelo lineal general (MLG) donde los factores fijos fueron la localidad, el año de evaluación, el clon de caucho y sus interacciones. Para la variable producción de caucho seco se ajustó un MLG con los factores fijos localidad, clon, tratamiento (ecotipo de copoazú), tiempo (medido en meses) y sus interacciones. Asimismo, se empleó un MLG para los parámetros de calidad física del caucho (DRC, PI y PRI) con los efectos fijos localidad, clon y sus interacciones. Para las variables de crecimiento del copoazú se analizaron mediante un MLG los efectos fijos localidad, año de evaluación, clon de caucho, tratamiento y sus interacciones.

Para todas las variables analizadas, la varianza residual se modeló para contemplar varianzas diferentes según la heterocedasticidad observada en los efectos considerados. En el caso de las variables de crecimiento y producción de caucho seco, se analizó la correlación residual para las observaciones sucesivas (año o mes) realizadas sobre una misma planta mediante los modelos de simetría compuesta y sin estructura, respectivamente.

Los criterios de Akaike (AIC) y Bayesiano (BIC) se utilizaron para la selección de la estructura de varianzas y correlaciones residuales.

El ajuste del MLG se realizó utilizando la función `lme` de la librería `nlme` (Pinheiro *et al.*, 2013) de R (R Core Team, 2014), bajo la interfaz implementada en InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2014). La comparación de medias para las combinaciones de los niveles de todos los factores evaluados, se realizó mediante la prueba de comparaciones múltiples LSD de Fisher con una significancia del 5%.

Todas las pruebas estadísticas se corrieron en el programa InfoStat versión 2014 (Di Rienzo *et al.*, 2014).

Crecimiento y el potencial precoz productivo de los tres clones de caucho

Altura total (AT) y comercial (AC) (m)

De acuerdo con la tabla 1.4 las medias en la altura total (AT) de los árboles de *H. brasiliensis* presentaron diferencias significativas entre los clones y entre las localidades ($P < 0.05$). En general, la mayor AT se observó en la localidad de San Vicente del Caguán con una media de 10.58 m. No hubo diferencias significativas en la AT entre los clones FX 3864 y IAN 873.

Por otro lado, se observaron diferencias significativas en la altura comercial (AC) de *H. brasiliensis* entre localidades, años y clones ($P < 0.05$). No hubo diferencias significativas en la AC entre FX 4098 y testigo IAN 873 (Tabla 1.4). Luego del segundo año de seguimiento del cultivo del caucho, entre localidades las mayores medias de AT y AC se presentaron en el clon FX 4098 en el municipio de San Vicente del Caguán (10.58 y 3.97 m, respectivamente) (Tabla 1.4).

En la figura 1.9 se muestra el comportamiento de la AT en cada localidad para cada clon durante dos años de evaluación. Independiente del año, para ambas localidades, el clon FX 4098 presentó diferencias significativas ($P < 0.05$) con una media de 10.46 m siendo considerado este clon el de mayor altura (11.85 m) en el municipio de San Vicente del Caguán, mientras que en Belén de los Andaquíes, éste material no superó los 9.94 m.

Al respecto, Sterling *et al.* (2014) plantean que las diferencias de la altura se deben posiblemente a la capacidad de adaptación que tienen los genotipos a las condiciones climáticas, sumado a la tolerancia a los problemas fitosanitarios. Los valores medios de AT reportados en el presente estudio son superiores a los encontrados por Macedo *et al.* (2006) los cuales oscilaron entre 1.35 a 2.15 m donde específicamente las variaciones se pueden relacionar a que el material utilizado presentaban mayor madurez y por lo tanto mayor porte y altura, a las condiciones climáticas y a la misma densidad de siembra.

Los resultados arrojados en esta investigación evidenciaron índices de crecimiento de *H. brasiliensis* superiores, especialmente en el clon promisorio FX 4098, similar a lo informado por Sterling *et al.* (2012a, 2014, 2015) quienes registraron para la misma localidad y en el mismo clon las mayores medias de AT en campos de monocultivos y con diseño agroforestal.

Sterling y Correa (2010) y Vélez-Sánchez y Nieto-Rodríguez (2013), informan que en La Montañita y en la Orinoquia colombiana la menor altura y vigor fue dado en el clon IAN 873 al igual que en la presente investigación donde la media no superó los 9.25 m (Tabla 1.4). Cabe señalar que en el presente estudio, aunque los clones de caucho presentaron mayor tiempo de establecimiento respecto a otras investigaciones, se puede ver marcadamente el desarrollo de estos genotipos independiente del tiempo de madurez.

De acuerdo con lo anterior, los valores medios de altura total (AT) (10.46 m) en el clon FX 4098 fueron superiores a los informados por Gonçalves y Rossetti (1982), quienes encontraron alturas que oscilaron entre 2.31 y 2.93 m en plantaciones con dos años de edad establecidas en Manaus (Brasil).

En esta investigación, el crecimiento observado en el clon FX 4098 en los dos años de seguimiento fue superior a sus homólogos, lo que indica que este material posee una mayor tasa de crecimiento alticlinal, similar a lo reportado en condiciones de jardín clonal por Sterling y Correa (2010) y en campo clonal a gran escala por Sterling *et al.* (2012).

Del mismo modo, los estudios de Macedo *et al.* (2006) y Sterling y Correa (2010) registraron rangos de altura de 1.35 a 2.15 m y 2.2 a 3.8

m, respectivamente, inferiores a lo informado en el presente estudio. Esto confirma la superioridad en altura de los materiales evaluados en esta investigación, dada la edad del cultivo y las condiciones de siembra en las que los arreglos agrisilvícolas fueron establecidos.

Al respecto, Rodrigo *et al.* (2001, 2004) y Snoeck *et al.* (2013) afirman que los asocios de materiales sobresalientes de caucho con diversas especies vegetales pueden favorecer en un 50% el desarrollo y el crecimiento de los árboles de caucho en comparación con el monocultivo.

En relación con la AC, se puede observar que entre localidades el crecimiento fue mayor en San Vicente del Caguán donde se presentó un progreso muy significativo para el clon FX 4098 (4.41 m). Sin embargo, en Belén de los Andaquíes la mejor AC fue dada para el clon FX 3864 (3.35 m) seguido por el IAN 873 (3.26 m) (Figura 1.9).

Según Pereira *et al.* (2007), la altura comercial es considerada una de las medidas más importantes en las diferentes especies maderables, puesto que es la que permite calcular la parte del fuste que puede utilizarse o aprovecharse para la venta, siendo en este caso donde se realiza el panel de rayado para la extracción del látex.

En consecuencia, se puede afirmar que la estabilización de la altura total y comercial y el incremento en el vigor aumentan la probabilidad de obtener mejores índices de producción de látex (Gonçalves *et al.*, 2001). Según Vasconcellos y Abreu (1983), aunque la altura es un parámetro secundario en la evaluación del desempeño, se debe considerar la selección de plantas de menor altura, debido a que la reducción en la altura ejerce un efecto apreciable sobre la producción en plantas jóvenes.

Según la tabla 1.4 el crecimiento entre las localidades específicamente para Belén de los Andaquíes se encontró que esta fue menor (8.77 m), debido posiblemente a las condiciones edafoclimáticas que se presentan en cada zona. Rao *et al.* (1998), indicó que los factores agrometeorológicos presentan un papel importante en la relación agua-suelo-planta, causando efectos significativos en el crecimiento del cultivo del caucho.

Según Pereira (2007) la altura de los árboles y la circunferencia del tronco son dos índices de crecimiento muy importantes en la valoración del desempeño de *H. brasiliensis* en la etapa improductiva del cultivo.

Tabla 1.4. Medias de altura total (AT), altura comercial (AC), circunferencia del tronco (CT) e índice de área foliar (IAF) de árboles de caucho (*Hevea brasiliensis*) según la localidad y el clon de caucho, para dos años de evaluación en Caquetá (Colombia).

Factor	Nivel	Año ^d	AT (m)	AC (m)	CT (cm)	IAF
Locali- dad	San Vicente del Caguán	1	9.99 ± 0.04 ^a b ^b	3.62 ± 0.03 b	43.70 ± 0.32 b	2.54 ± 0.05 b
		2	11.17 ± 0.14 a	4.33 ± 0.03 a	48.49 ± 0.32 a	2.96 ± 0.05 a
		Media ^c	10.58 a	3.97 a	46.09 a	2.75 a
	Belén de los Andaques	1	7.87 ± 0.04 d	3.01 ± 0.03 d	34.85 ± 0.35 d	1.24 ± 0.06 c
		2	9.67 ± 0.04 c	3.45 ± 0.03 c	38.08 ± 0.35 c	2.81 ± 0.06 a
		Media	8.77 b	3.23 b	36.47 b	2.03 b
Clon	FX 4098	1	10.04 ± 0.05 c	3.46 ± 0.04 c	41.84 ± 0.39 b	1.69 ± 0.06 d
		2	10.89 ± 0.05 a	4.03 ± 0.04 a	44.50 ± 0.39 a	3.42 ± 0.06 a
		Media	10.46 a	3.74 a	43.17 a	2.55 a
	FX 3864	1	8.36 ± 0.06 d	3.20 ± 0.04 d	37.93 ± 0.44 c	1.81 ± 0.07 d
		2	10.26 ± 0.06 b	3.61 ± 0.04 b	43.46 ± 0.44 a	3.19 ± 0.07 b
		Media	9.31 b	3.40 b	40.69 b	2.50 a
	IAN 873	1	8.39 ± 0.05 d	3.29 ± 0.04 d	38.05 ± 0.39 c	2.04 ± 0.06 c
		2	10.10 ± 0.05 bc	4.03 ± 0.04 a	41.90 ± 0.39 b	2.18 ± 0.06 c
		Media	9.25 b	3.66 a	39.97 b	2.11 b

^a Error estándar

^b Valores en cada columna seguidos por la misma letra no difieren estadísticamente entre años para cada nivel del factor (Medias separadas por la prueba LSD, $p \geq 0.05$; $n = 35$)

^c Medias en cada columna seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente entre niveles del factor (Prueba LSD, $p \geq 0.05$)

^d 1 (Marzo de 2013 a marzo de 2014); 2 (Marzo de 2014 a marzo de 2015)

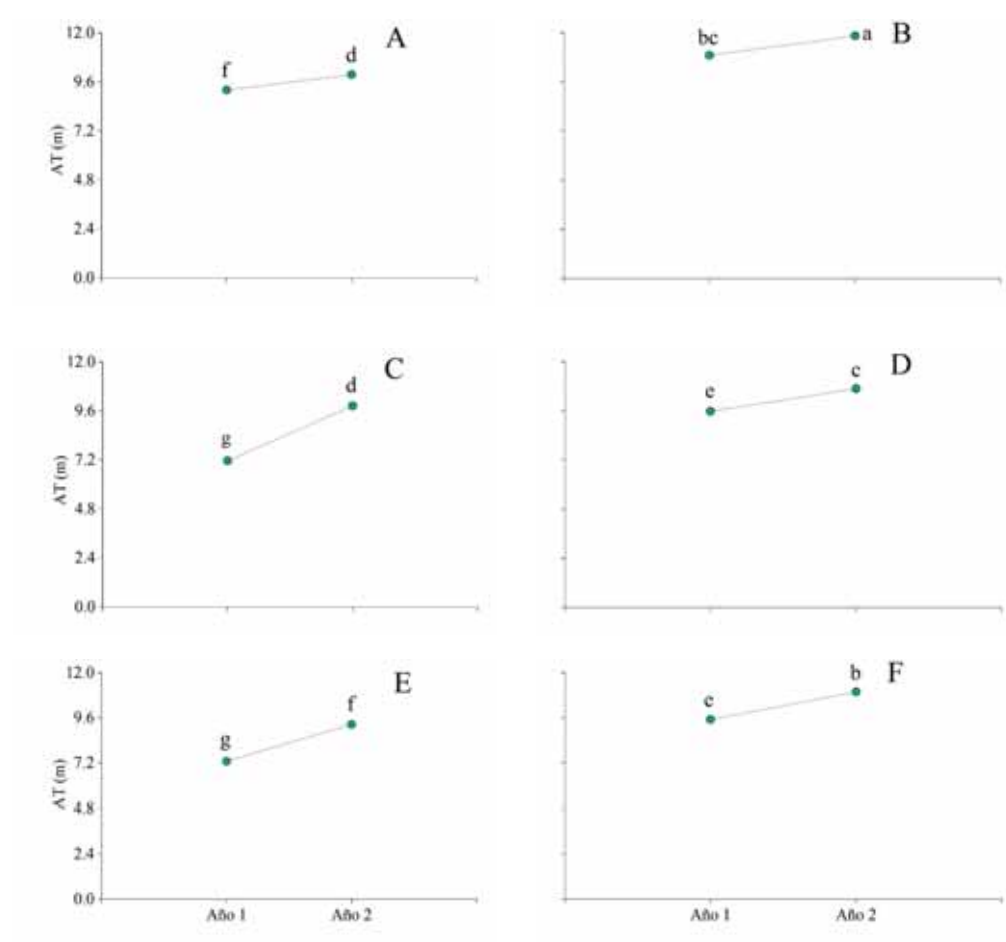


Figura 1.9. Altura total (AT) (m) de tres clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) en dos localidades de Caquetá (Colombia) para dos años de evaluación. **A, C y E**, municipio de Belén de los Andaquíes; **B, D y F**, municipio de San Vicente del Caguán; **A y B**, clon FX 4098; **C y D**, clon FX 3864; **E y F**, Clon IAN 873. Medias seguidas por la misma letra para cada clon en una misma localidad, no difieren estadísticamente entre años (Prueba LSD; $P < 0.05$). Las barras representan el error estándar de la media.

Circunferencia del tronco (CT) (cm)

De acuerdo con la tabla 1.4 la circunferencia del tronco (CT) presentó una diferencia significativa entre localidad, año y clon de caucho ($P < 0.05$). Sin embargo, entre clones FX 3864 y IAN 873 fueron estadísticamente

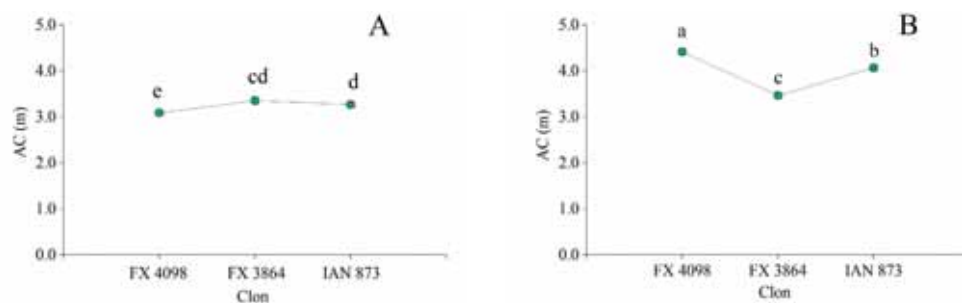


Figura 1.10. Altura comercial (AC) (m) de tres clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) en dos localidades de Caquetá (Colombia). **A**, municipio de Belén de los Andaquíes; **B**, municipio de San Vicente del Caguán. Medias seguidas por la misma letra para cada clon en cada año no difieren estadísticamente (Prueba LSD, $P < 0.05$). Las barras representan el error estándar de la media.

similares. Entre localidades, fue mayor la CT en San Vicente del Caguán (46.09 cm) en comparación con Belén de los Andaquíes (36.47 cm).

Respecto a las diferencias encontradas entre los dos años de seguimiento, se observa un incremento progresivo de la CT en los tres clones de caucho para ambas localidades (Figura 1.11). No obstante, se destaca el clon FX 4098 quien presentó mayor circunferencia del tronco 49.74 cm y 39.27 cm en San Vicente del Caguán y Belén de los Andaquíes, respectivamente.

Narayanan *et al.* (1974) afirman que este parámetro indicador del vigor de los árboles es el más importante en el desempeño de *H. brasiliensis*, debido a que está directamente relacionado con el grado de madurez de la plantación, lo que determina el inicio de la sangría. Este proceso inicia comercialmente una vez los árboles alcanzan una circunferencia mínima de 45 cm a 1.20 m por encima del suelo (Bernardes *et al.*, 1988; Pereira *et al.*, 2001).

Según Gonçalves *et al.* (2001), los genotipos más vigorosos son más deseados, debido a que alcanzarán más rápidamente el período de sangría y permitirán la explotación y recuperación económica temprana.

Los valores medios de CT reportados en esta investigación, fueron similares a los registrados por Sterling *et al.* (2010, 2012, 2014, 2015),

quienes encontraron mayores crecimientos de CT en el clon FX 4098, siendo este el más vigoroso, en la localidad de San Vicente del Caguán.

No obstante, estos resultados difieren de Mattos *et al.* (2007) y Sterling y Correa (2010), Oliveira y Cruz (2007) quienes observaron el mayor vigor en los clones de la serie CDC y FDR. Estas variaciones en el crecimiento de la circunferencia fue afectada posiblemente a las variaciones genotípicas entre materiales similar a lo reportado por Vélez-Sánchez y Nieto-Rodríguez (2013), quienes encontraron diferencias entre los materiales, una circunferencia media de 6.69 cm para FX 3864 y 4.61 cm para PR 255.

Los resultados de éste estudio muestran cómo la variación clonal influye directamente en la expresión de los caracteres fenotípicos de *H. brasiliensis* (Gonçalves *et al.*, 2006; Sterling *et al.*, 2012; Vélez-Sánchez y Nieto-Rodríguez, 2013). Según Vinod *et al.* (1996), tales caracteres no solo responden a la naturaleza genética de los árboles, sino también a las variaciones ambientales del sitio en donde están establecidos, afirmación que considera el presente estudio, en donde se encontraron diferencias significativas en la CT entre los municipios de Belén de los Andaquíes y San Vicente del Caguán.

Índice de área foliar (IAF)

Según la tabla 1.4 existen diferencias significativas en el IAF entre localidades, años de seguimiento y material vegetal ($P < 0.05$). Entre clones, FX 4098 y FX 3864 fueron estadísticamente similares. Entre localidades el mayor IAF se presentó en San Vicente del Caguán (2.75) en comparación a Belén de los Andaquíes (2.03).

En la figura 1.12 se observa que la mayor media de IAF (3.66) se presentó en el municipio de San Vicente del Caguán en el clon FX 4098. Seguido por el clon FX 3864, que aunque presento medias similares (3.62) estas fueron alcanzadas en el municipio de Belén de los Andaquíes.

De acuerdo con lo anterior Sterling *et al.* (2014, 2015), en socios agroforestales con caucho y copoazú reportaron que las mayores medidas de IAF fueron dadas en la localidad de San Vicente del Caguán en el clon FX 4098.

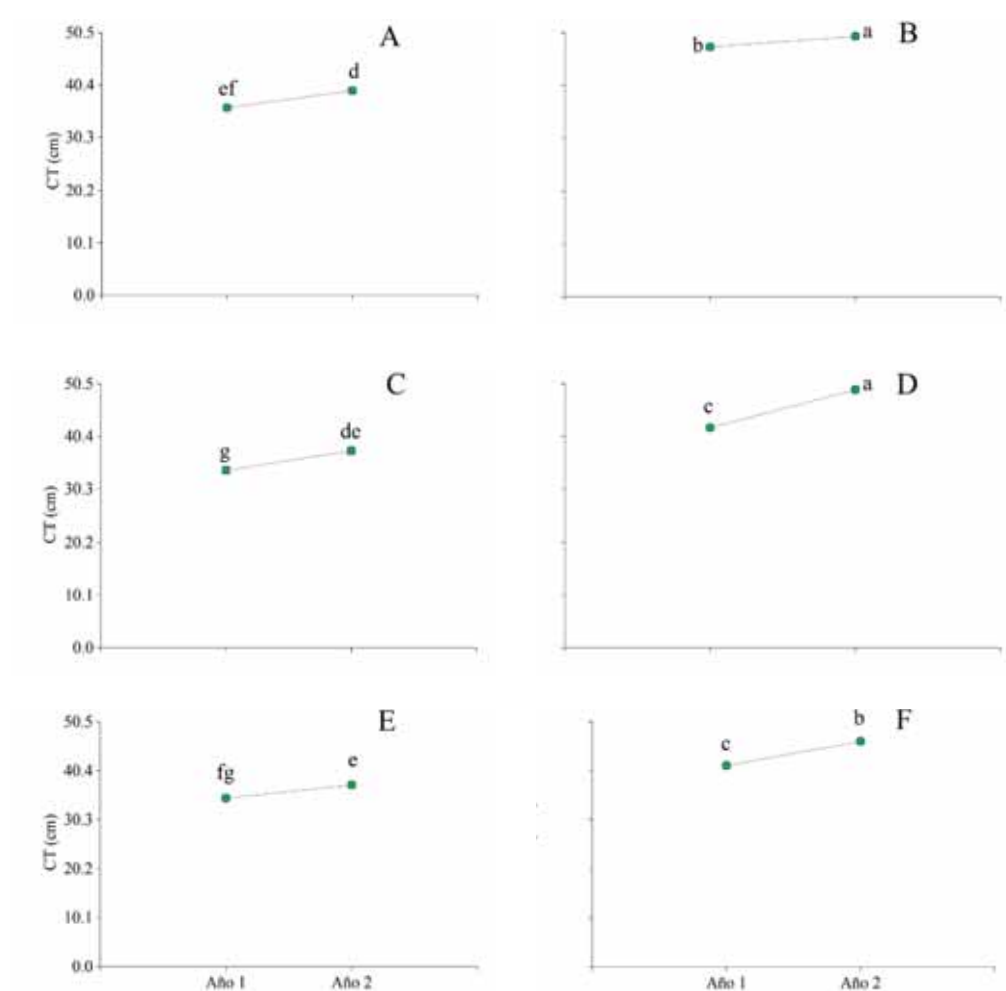


Figura 1.11. Circunferencia de tronco (CT) (cm) de tres clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) en dos localidades de Caquetá (Colombia). **A, C y E**, municipio de Belén de los Andes; **B, D y F**, municipio de San Vicente del Caguán; **A y B**, clon FX 4098; **C y D**, clon FX 3864; **E y F**, Clon IAN 873. Medias seguidas por la misma letra para cada clon en una misma localidad, no difieren estadísticamente entre años (Prueba LSD; $P < 0.05$). Las barras representan el error estándar de la media.

Según Waring *et al.* (1996), el IAF es un indicador importante de la productividad y del crecimiento del tronco de los árboles. En este sentido, los valores medios de IAF reportados en la presente investigación para el clon FX 4098 resultaron superiores a los observados en el clon

testigo IAN 873, lo que permite presumir un alto potencial productivo en el clon FX 4098, y por tanto un desempeño superior en la etapa productiva del cultivo (Goncalves *et al.*, 2006).

Daniel *et al.* (1982), Klepac (1983), Gonçalves y Marques (2008) afirman que muchos de los caracteres anatómicos relacionados con el

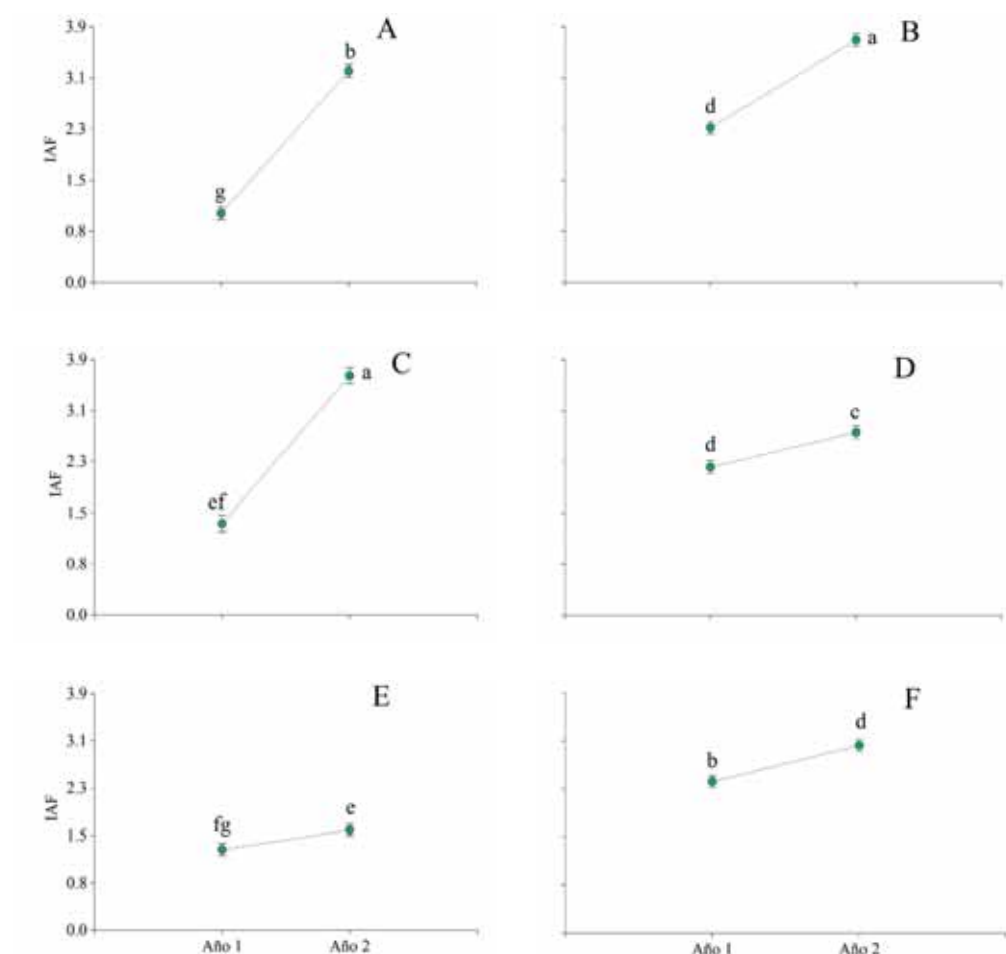


Figura 1.12. Índice de área foliar (IAF) de tres clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) en dos localidades de Caquetá (Colombia). **A, C y E**, municipio de Belén de los Andaquíes; **B, D y F**, municipio de San Vicente del Caguán; **A y B**, clon FX 4098; **C y D**, clon FX 3864; **E y F**, Clon IAN 873. Medias seguidas por la misma letra para cada clon en una misma localidad, no difieren estadísticamente entre años (Prueba LSD; $P < 0.05$). Las barras representan el error estándar de la media.

crecimiento de los clones de caucho están determinados por las condiciones ambientales del sitio en donde se establecieron.

De acuerdo con lo anterior, independiente del clon utilizado, en el presente estudio las mejores medias de IAF fue dado en la localidad de San Vicente del Caguán lo cual confirma la influencia de las condiciones ambientales y del modelo de siembra en el desarrollo del dosel del cultivo del caucho.

Parámetros de producción precoz y calidad física del caucho

Se encontraron diferencias muy significativas en la producción de caucho seco (PCS) para todos los efectos analizados (Tabla 1.5). En el caso del contenido del caucho seco (DRC) no hubo diferencia significativa en la localidad ni en la interacción localidad x clon (similar al índice de plasticidad, PRI). En general, las variables que que más fueron influenciadas por los efectos estudiado fueron PCS y plasticidad inicial (PI) (Tabla 1.5).

Tabla 1.5. Análisis de la varianza de los efectos localidad (L), clon (C), tiempo (T) y sus interacciones, para el rendimiento de producción de caucho seco (PCS) (g. árbol⁻¹ .sangría⁻¹), contenido de caucho seco (DRC) (%), plasticidad inicial (PI) e índice de retención de plasticidad (PRI) (%), en Caquetá (Colombia).

Variables	<i>p</i> -valores basados en el estadístico de Fisher (<i>F</i>)						
	L	C	T	L x C	L x T	C x T	L x C x T
PCS	0.0001**	0.0001**	0.0001**	0.0001**	0.0001**	0.0001**	0.0001**
DRC (%)	0.6428NS	0.0009**	...	0.4589NS	...	...	...
PI	0.0001**	0.0001**	...	0.0001**	...	...	...
PRI (%)	0.0001**	0.0001**	...	0.0911NS	...	...	...

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

Se encontró que el PCS varió significativamente entre clones y en relación a los tratamientos de copozú con los que fueron asociados dichos materiales (Tabla 1.6). El clon FX 4098 presentó mayor PCS (9.48

g . árbol⁻¹. sangría⁻¹) respecto al clon FX 3864 quien presento la menor producción (6.32 g . árbol⁻¹. sangría⁻¹) en cada uno los tres tratamientos con los que se asoció en el municipio de Belén de los Andaquíes (Tabla 1.6). Sin embargo, en el municipio de San Vicente del Caguán, el clon FX 3864 presentó el mayor PCS (28.29 g . árbol⁻¹. sangría⁻¹).

Independiente del clon de caucho, el mayor PCS (24.05 g . árbol⁻¹. sangría⁻¹) se reportó en el municipio de San Vicente del Caguán con el tratamiento testigo, seguido por el los tratamiento T4 (ecotipo clonado 4) y T11, los cuales no exhibieron diferencias significativas entre sí (Tabla 1.6). Belén de los Andaquíes fue el municipio con las menores medias de PCS. El PCS osciló entre 6.32 y 9.48 g . árbol⁻¹. sangría⁻¹ en los clones de caucho FX 3864 y FX 4098, respectivamente.

En el municipio de Belén de los Andaquíes, se registró la menor media de PCS la cual no superó los 16.01 g . árbol⁻¹. sangría⁻¹ para los tres clones de caucho durante los seis meses de evaluación. El asocio FX 4098/ecotipo testigo de copoazú fue el más sobresaliente en PCS al final del monitoreo mensual (Figuras 1.13 A, C y E).

En San Vicente del Caguán, durante el mes de diciembre de 2014 se presentó la mayor PCS en el clon FX 3864 (43.94 g . árbol⁻¹. sangría⁻¹) asociado con el ecotipo testigo de copoazú (Figura 1.13B). Según las figuras 1.13B y 1.13D, los mejores meses para la producción de caucho seco fueron septiembre y diciembre de 2014 (Tabla 1.2) para los clones de caucho FX 3864 y FX 4098. Sin embargo, en San Vicente del Caguán la mayor PCS en el clon testigo IAN 873 se presentó en el mes de agosto (transición hacia la época seca) (43.81 g . árbol⁻¹. sangría⁻¹) en asocio con el ecotipo testigo de copoazú (Figura 1.12F).

Los valores de PCS reportados en la presente investigación, difieren de los resultados de Lima *et al.* (2002), quienes encontraron en el período lluvioso una mayor metabolización de azúcares asimilables (reductores) que conlleva a una alta producción de látex. También contrasta con los resultados de Conforto *et al.* (2007) quienes reportaron para el clon asiático PB 235 un aumento en la producción en período lluvioso, debido a la mayor disponibilidad hídrica para la fabricación de los carbohidratos y por tanto, en el aumento de la biomasa del clon.

Tabla 1.6. Medias de la producción de caucho seco (PSC) (g . árbol⁻¹. sangría⁻¹) de los clones de caucho (*Hevea brasiliensis*): FX 4098, FX 3864 y el testigo IAN 873 (*Hevea brasiliensis*) en asocio agrisilvícola con tres ecotipos (tratamientos) de copoazú (*Theobroma grandiflorum*) en dos localidades de Caquetá (Colombia).

Clon	Belén de los Andaquíes			
	T4	T11	Testigo	Promedio
IAN 873	9.2 ± 0.52 ^a de ^b	10.07 ± 0.52d	8.99 ± 0.52de	9.42d
FX 4098	9.82 ± 0.52d	9.04 ± 0.52de	9.56 ± 0.52de	9.48d
FX 3864	4.63 ± 0.52 f	6.08 ± 0.52f	8.26 ± 0.52e	6.32e
Media ^c	7.88d	8.40cd	8.94c	8,40
	San Vicente del Caguán			
	T4	T11	Testigo	Promedio
IAN 873	18.94 ± 1.26bc	20.63 ± 1.26b	25.20 ± 1.26a	21.59b
FX 4098	18.42 ± 1.26bc	16.23 ± 1.26c	18.47 ± 1.26bc	17.71c
FX 3864	28.04 ± 1.26a	28.34 ± 1.26a	28.48 ± 1.26a	28.29a
Media	21.80b	21.73b	24.05a	22,53

^a Error estándar

^b Valores en cada columna seguidos por la misma letra no difieren estadísticamente (LSD, $P < 0.05$)

^c Medias de los valores en esta fila seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente (Prueba LSD, $P < 0.05$).

Tratamiento: (T4, ecotipo 4 de Copoazú; T11, ecotipo 11 de Copoazú y Testigo, ecotipo testigo de Copoazú).

Sterling y Hernández (2012) reportaron los máximos valores de la PCS en el segundo muestreo de recolecta del coágulo de campo, es decir, en la época seca del departamento del Caquetá, lo cual coincide con el presente estudio. De acuerdo con lo anterior, se observa que los factores climáticos afectan la producción de látex ya que estos tienen una influencia importante sobre el metabolismo de los carbonos en *H. brasiliensis*, principalmente en los carbohidratos disponibles para la síntesis de látex (Úbeda *et al.*, 2002).

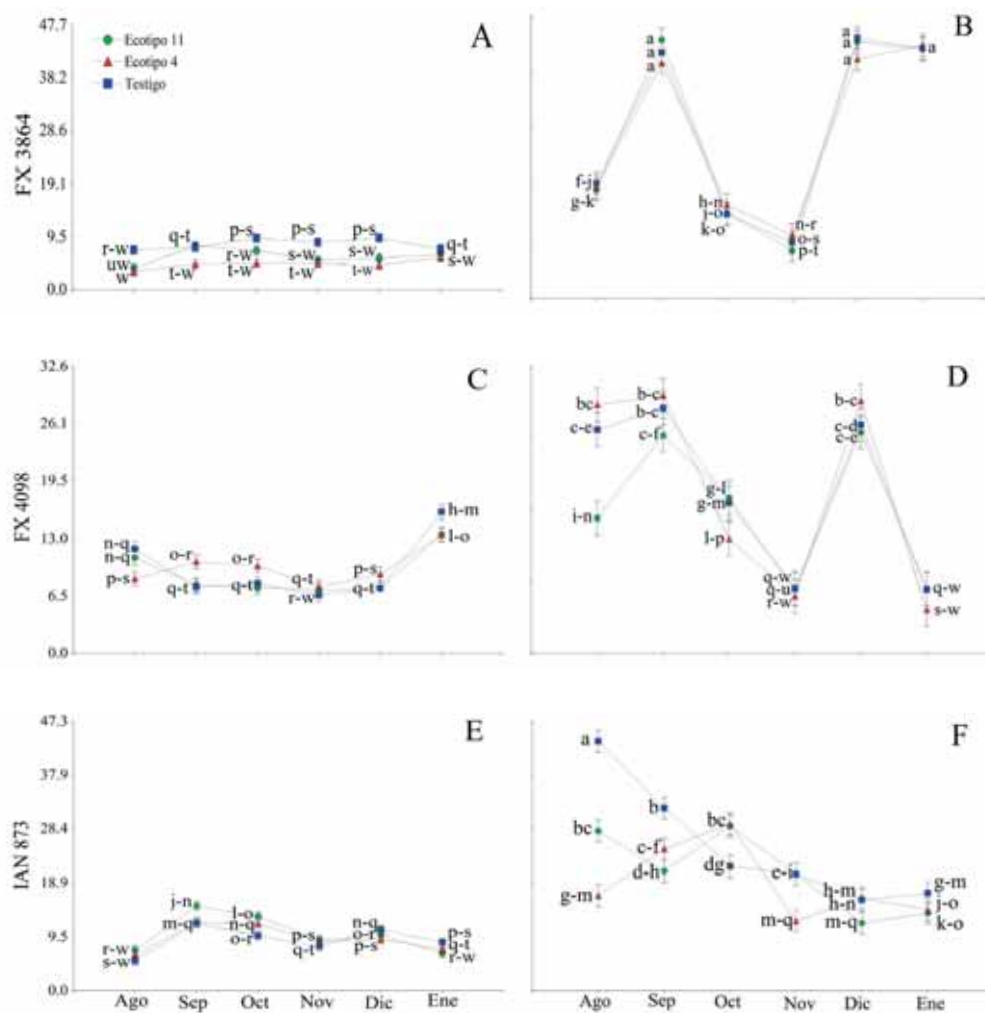


Figura 1.13. Media de la producción (g.árbol⁻¹.Sangría⁻¹) de tres clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) en asocio con tres ecotipos de copoazú (*Theobroma grandiflorum*) en dos localidades de Caquetá (Colombia) para seis meses de evaluación (agosto de 2014 a enero de 2015). **A, C y E**, municipio de Belén de los Andaquíes; **B, D y F**, municipio de San Vicente del Caguán. **A y B**, clon FX 3864; **C y D**, clon FX 4098; **E y F**, clon IAN 873. Medias seguidas por la misma letra para cada ecotipo en cada año no difieren estadísticamente (Prueba LSD; $P < 0.05$). Las barras representan el error estándar de la media.

Los resultados de la presente investigación son similares con los estudios realizados por Gonçalves y Rossetti (1982) en Brasil, quienes demostraron mediante pruebas de microsangría en plantas de dos años de edad, que la altura y la producción son imposibles de correlacionar, lo cual se notó muy marcadamente en el presente estudio, puesto que aunque las mayores tallas en AT, AC y CT se dieron en para un mismo clon, la PCS fue mayor en otro genotipo.

Gonçalves *et al.* (1984) afirman que una alta correlación fenotípica y genética entre producción, altura de la planta y diámetro, evidencia la posibilidad de obtener materiales jóvenes con una alta capacidad productiva y de gran vigor. Asimismo, Gonçalves *et al.* (2006) demostraron que la productividad de látex no está necesariamente relacionada con el aumento del perímetro del árbol. Sin embargo, los resultados aquí presentados difieren con los reportes de Martínez *et al.* (2003), quienes afirman que las variables dasométricas diámetro normal y altura total, son variables que influyen en la producción de látex en el árbol del caucho.

En relación con los parámetros de calidad física del caucho, se encontró un efecto significativo de la interacción localidad x clon para las variables DRC y PRI ($P > 0.05$) (Figuras 1.14A y C). Se observó además para ambas localidades que el clon FX 3864 fue el que presentó mayor DRC (61.19% en Belén de los Andaquíes y 63.19% en San Vicente del Caguán) en comparación con los otros clones evaluados. Por otro lado, las mayores medias de PI y PRI para ambas localidades, se reportaron en el clon IAN 873, con valores máximos en el municipio de San Vicente del Caguán (PI = 37.27 y PRI = 41.72 %) (Figuras 1.14 B y C).

La producción y la calidad física del caucho dependen especialmente de características genotípicas de los clones y de los factores ambientales. En este sentido, no todos los clones de caucho se comportan de la misma manera en una misma región, de hecho, algunos alcanzan las condiciones ideales para su aprovechamiento (45 cm de circunferencia a la altura del pecho y 7 mm de grosor de corteza) al quinto y sexto año del establecimiento, otros por el contrario, se pueden demorar más de 7 años (Gonçalves *et al.*, 2000; Ramos *et al.*, 2001; Premakumari *et al.*, 2002).

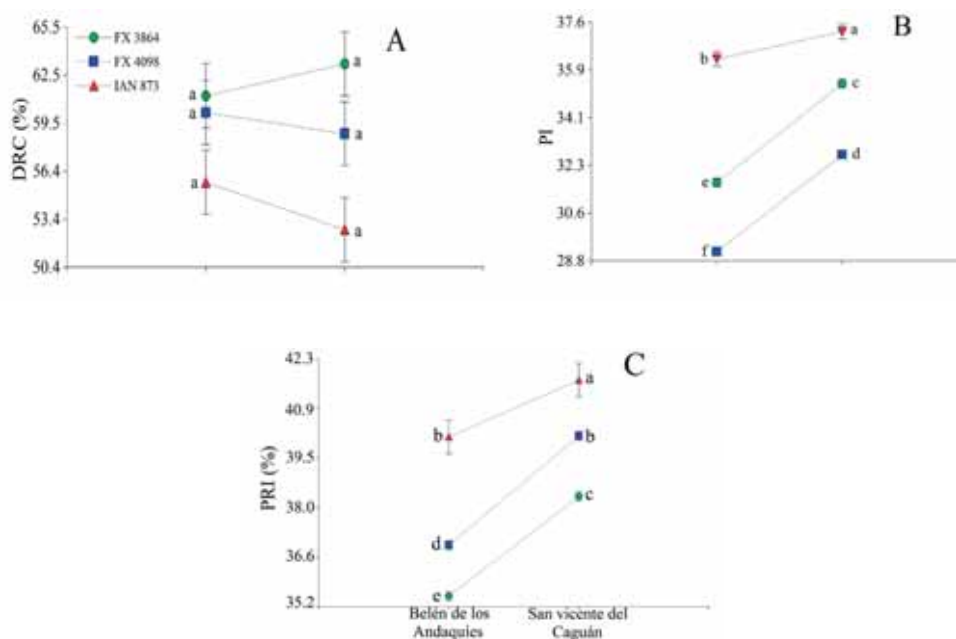


Figura 1.14. Media de parámetros físicos de calidad de caucho seco determinados en laboratorio para tres clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) en dos localidades de Caquetá (Colombia). **A**, contenido de caucho seco (DRC) (%); **B**, índice de plasticidad (PI); **C**, índice de retención de plasticidad PRI (%). Medias seguidas por la misma letra para cada clon en cada localidad no difieren estadísticamente (Prueba LSD; $P < 0.05$). Las barras representan el error estándar de la media.

Supervivencia y crecimiento de los tres ecotipos de copoazú

Prendimiento y supervivencia

Con el fin de reducir el impacto de la radiación solar sobre la supervivencia del copoazú (debido a la baja densidad foliar de los árboles de caucho), fue necesario establecer dos líneas de plátano Hartón en las calles dobles del caucho, lo cual favoreció significativamente la supervivencia y el desarrollo de los tres ecotipos de copoazú en ambas localidades. Sterling y Suárez (2014) destacaron las ventajas que ofrece el

plátano como sombrío transitorio para el copoazú en diferentes sistemas agroforestales con caucho en dos zonas edafoclimáticas del Caquetá (Albania y San Vicente del Caguán).

Según la tabla 1.7, el ecotipo 11 y el testigo de copoazú en asocio con el clon de caucho IAN 873, fueron los que presentaron los mayores porcentajes de prendimiento ($> 86\%$ en Belén de los Andaquíes y $> 90\%$ en San Vicente del Caguán). Sin embargo, la mayor supervivencia ($< 40\%$ sin sombrío transitorio y $> 84\%$ con sombrío transitorio) se registró en los ecotipos 4 y 11. Los menores índices de supervivencia se observaron en el municipio de Belén de los Andaquíes, en el cual las copas de los árboles presentaron una menor densidad foliar en comparación con San Vicente del Caguán.

Según Sterling *et al.* (2012b) los bajos índices de densidad foliar observados en Caquetá, están principalmente relacionados con una mayor incidencia de problemas fitosanitarios que alteran los patrones fenológicos de la planta. Esta afectación reduce por tanto, la capacidad de interceptación lumínica y se favorecen altos niveles de radiación solar bajo el dosel del caucho que llega a ser limitante para el copoazú, debido a que ésta especie posee una baja tolerancia a la luz solar directa (Barrera *et al.*, 2006; Guerrero *et al.*, 2007; Guerrero, 2012).

Altura total (AT) (m)

Para cada año de evaluación, se encontraron diferencias significativas en la AT entre localidades, ecotipo de copoazú y el clon de caucho asociado ($P < 0.05$) (Tabla 1.8). No hubo diferencias significativas en la AT entre los ecotipos 11 y el testigo, ni entre las plantas de copoazú que se asociaron con los clones de caucho FX 4098 y FX 3864. Las mayores medias de AT (0.84 m) se reportaron en el municipio de San Vicente del Caguán.

El ecotipo 11 presentó la mayor media de AT (1.27 m) en asocio con el clon IAN 873 en la localidad de San Vicente del Caguán. Asimismo, el segundo mejor crecimiento se observó en el ecotipo testigo (1.25 m) pero ésta vez en asocio con el clon FX 3864 (Figura 1.15).

Tabla 1.7. Prendimiento y supervivencia *in situ* de tres ecotipos clonados de copoazú (*Theobroma grandiflorum*) establecidos en arreglo agrisilvícola con tres clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) en dos localidades del Caquetá (Colombia).

Municipio	Vereda	Clon	Ecotipo 4			Ecotipo 11			Ecotipo testigo		
			% prendimiento	% supervivencia		% prendimiento	% supervivencia		% prendimiento	% supervivencia	
				1 ^a	2 ^b		1	2		1	2
Belén de los Andaquies	Agua Dulce	FX 4098	81	26	79	97	38	81	77	23	78
	Azabache	FX 3864	50	20	73	84	39	76	69	26	70
	Buena Vista	IAN 873	97	40	83	87	28	84	87	27	82
San Vicente del Caguán	Buenos Aires	IAN 873	92	32	92	62	28	94	95	35	90
	La Reforma # 2	FX 3864	73	30	89	74	40	90	67	27	88
	Puerto Losada	FX 4098	75	30	90	85	45	91	82	22	89

^aSupervivencia antes de la implementación del sombrío transitorio con plátano Hartón (*Musa AAB*)
^bSupervivencia posterior a la implementación del sombrío transitorio con plátano Hartón (*Musa AAB*)

Sterling y Suárez (2014) en un estudio con copoazú bajo sistema agroforestal con caucho, reportaron que el mayor incremento del copoazú se presentó en el municipio de San Vicente del Caguán, lo cual coincide con la presente investigación. Del mismo modo, estos autores encontraron mayor respuesta del desempeño del copoazú, cuando los tratamientos tuvieron menor distancia de siembra entre árboles de caucho en el estrato superior. En el presente estudio, al observar el dosel del estrato superior generado por el caucho, sobresale el dosel de los clones IAN 873 y FX 3864 en la localidad de San Vicente del Caguán, los cuales favorecieron el buen desempeño del copoazú.

Al comparar los datos de crecimiento luego de 24 meses del establecimiento del cultivo del copoazú en asocio agrisilvícola, se refleja que estos fueron inferiores a los reportados por Deus *et al.* (1993) con 133 cm, Embrapa/Cpaf-Ro (1996) con 163 cm, Silvestre (1996) con 163 cm, Ribeiro *et al.* (2004) con 154.5 cm y Perez *et al.* (2005) con 213 cm.

Sin embargo, se puede observar que los resultados de los tratamientos 11 y testigo no estuvieron distantes de los resultados reportados por Deus *et al.* (1993), fueron similares a lo informado por Ribeiro *et al.* (2004), y superan los reportes de Sterling y Suárez (2014) en estudios realizados en Caquetá Colombia.

Cabe resaltar que en la presente investigación se emplearon materiales de siembra de origen sexual clonados, lo cual incidió en la homogeneidad esperada respecto al desempeño de la especie. Por lo tanto, se puede afirmar que el buen desempeño que expresaron algunos clones de caucho, la edad del cultivo y las distancias empleadas en el presente estudio, incidieron directamente en la fase de crecimiento del cultivo asociado (copoazú).

El buen desempeño del ecotipo testigo puede asociarse a la adaptabilidad del material en las condiciones agroecológicas de región, en tanto que el ecotipo 11 de copoazú amerita profundizar en su desempeño, dado que es un material prometedor y su buen desempeño puede estar ligado a condiciones genéticas.

Tabla 1.8. Medias de altura total (AT), diámetro del fuste basal (DB) y a 10 cm del suelo (D+10) e índice de área foliar (IAF) de plantas de copoazú (*Theobroma grandiflorum*) según la localidad, el ecotipo de copoazú y el clon de caucho con el que se asoció el copoazú, para dos años de evaluación en Caquetá (Colombia).

Factor	Nivel	Año	AT (m)	D+10 (cm)	IAF
Localidad	San Vicente del Caguán	1	0.71 ± 0.02abb	1.86 ± 0.05 c	2.88 ± 0.07 b
		2	0.98 ± 0.02 a	2.72 ± 0.05 a	4.14 ± 0.07 a
		Media	0.84 a	2.29 a	3.51 a
	Belén de los Andaquies	1	0.43 ± 0.01 d	1.39 ± 0.03 d	1.36 ± 0.05 d
		2	0.60 ± 0.01 c	2.00 ± 0.03 b	2.18 ± 0.05 c
		Media	0.52 b	1.70 b	1.77 b
	11	1	0.59 ± 0.02 c	1.68 ± 0.05 c	2.08 ± 0.07 d
		2	0.83 ± 0.02 a	2.52 ± 0.05 a	3.3 ± 0.07 a
		Media	0.71 a	2.10 a	2.69 a
Ecotipo	4	1	0.47 ± 0.02 d	1.54 ± 0.05 d	1.91 ± 0.07 d
		2	0.68 ± 0.02 b	2.21 ± 0.05 b	2.77 ± 0.07 b
		Media	0.58 b	1.88 b	2.34 c
	Testigo	1	0.64 ± 0.02 bc	1.65 ± 0.05 cd	2.37 ± 0.07 c
		2	0.86 ± 0.02 a	2.34 ± 0.05 b	3.42 ± 0.07 a
		Media	0.75 a	2.00 a	2.89 a
Clon	FX 4098	1	0.49 ± 0.02 c	1.62 ± 0.05 d	1.97 ± 0.07 c
		2	0.67 ± 0.02 b	2.27 ± 0.05 b	3.48 ± 0.07 a
		Media	0.58 b	1.95 b	2.72 b
	FX 3864	1	0.54 ± 0.02 c	1.46 ± 0.05 e	1.77 ± 0.07 c
		2	0.73 ± 0.02 b	2.31 ± 0.05 b	2.56 ± 0.07 b
		Media	0.63 b	1.89 b	2.17 c
	IAN 873	1	0.68 ± 0.02 b	1.79 ± 0.05 c	2.62 ± 0.07 b
		2	0.97 ± 0.02 a	2.50 ± 0.05 a	3.45 ± 0.07 a
		Media	0.83 a	2.14 a	3.03 a

^a Error estándar

^b Valores en cada columna seguidos por la misma letra no difieren estadísticamente entre años para cada nivel del factor (Medias separadas por la prueba LSD, $p \geq 0.05$; $n = 35$)

^c Medias en cada columna seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente entre niveles del factor (Prueba LSD, $p \geq 0.05$)

d1 (Marzo de 2013 a marzo de 2014); 2 (Marzo de 2014 a marzo de 2015)

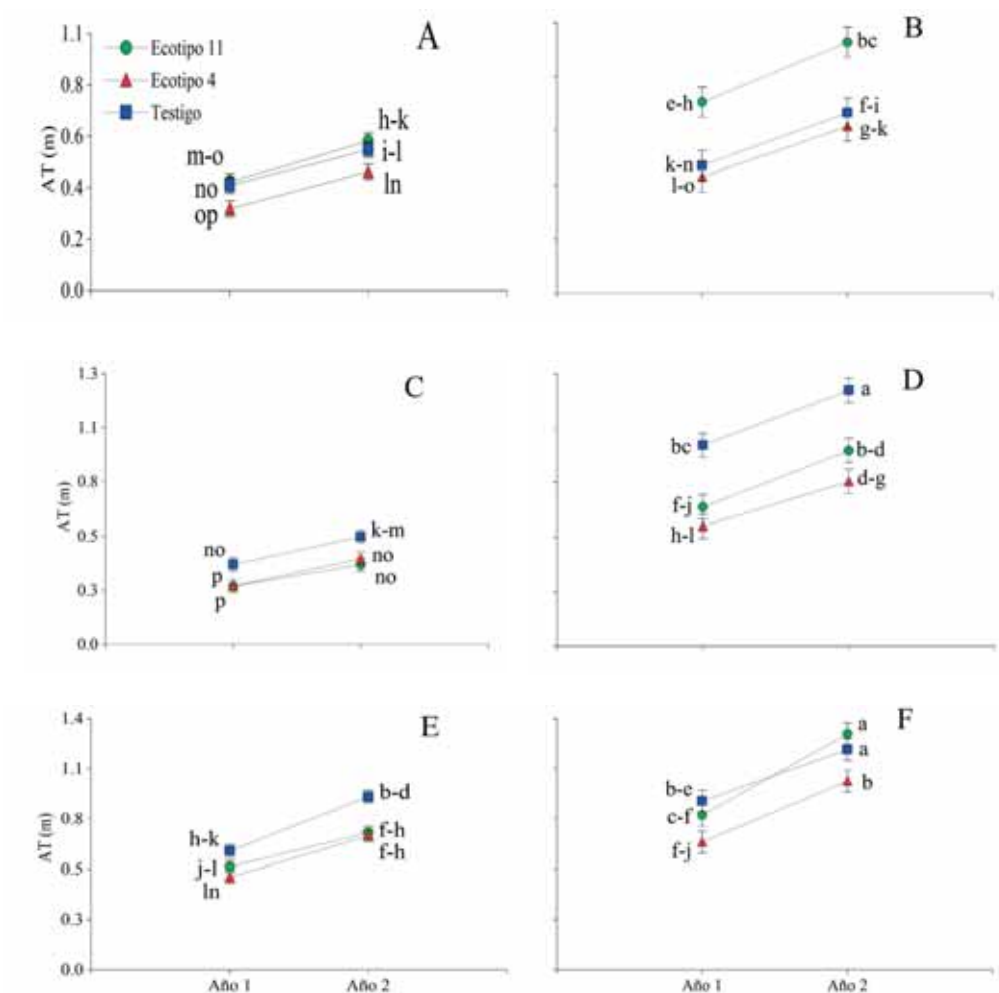


Figura 1.15. Altura total (m) de tres ecotipos de copoazú (*Theobroma grandiflorum*) en asocio con diferentes clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) en dos localidades de Caquetá (Colombia) para dos años de evaluación. **A, C y E**, municipio de Belén de los Andaquíes; **B, D y F**, municipio de San Vicente del Caguán. **A y B**, clon FX 4098; **C y D**, clon FX 3864; **E y F**, clon IAN 873. Medias seguidas por la misma letra para cada ecotipo en cada año no difieren estadísticamente (Prueba LSD; $P < 0.05$). Las barras representan el error estándar de la media.

Diámetro a 10 cm del suelo (D+10) (cm)

Para cada año de evaluación, se encontraron diferencias significativas en el diámetro a 10 cm del suelo (D+10) entre localidades, ecotipo de copoazú y el clon de caucho asociado ($P < 0.05$) (Tabla 1.8). En el año 2 del seguimiento, en el municipio de Belén de los Andaquíes el ecotipo 4 fue el que presentó el mayor D+10 con cada uno de los tres clones de caucho con los que se asoció (Figuras 1.16A, C y E). El asocio con el clon IAN 873 fue el más favorable para el D+10 en los tres ecotipos de copoazú (2.45, 2.33 y 2.30 cm para los ecotipos 4, 11 y testigo, respectivamente).

En el municipio de San Vicente del Caguán, se destacaron los ecotipos 11 y el testigo (Figuras 1.16B, D y F). El mejor asocio para estos ecotipos fue con el clon FX 3864 (D+10= 3.54 cm para el ecotipo 11 y D+10= 3.09 cm para el ecotipo testigo). Sin embargo, se observó también un crecimiento sobresaliente del ecotipo 11 con el clon FX 4098 (D+10= 3.07 cm). El asocio con el clon IAN 873, mostró resultado similares para ambos ecotipos para los dos años de evaluación.

Al respecto, Sterling y Suárez (2014) reportan para la localidad de San Vicente del Caguán las mejores tallas en cuanto a la circunferencia del tallo del copoazú, debido a las condiciones microclimáticas que permitieron un mejor desarrollo de la especie, similar a lo publicado en la presente investigación.

Barrera *et al.* (2009) al evaluar el crecimiento de copoazú en diferentes niveles de radiación bajo sistemas agroforestales por un periodo de 2 años encontraron un crecimiento continuo reportando valores inferiores para el año 1 y 2 que oscilaron entre de 0.5 a 0.9 cm y 0.7 a 1.4 cm, respectivamente. Situación similar a la reportada en el presente estudio. De igual forma Silvestre (1996), Ribeiro *et al.* (2004) y Sterling y Suárez (2014), reportan valores de circunferencia de 4.3 y 3.6 cm, respectivamente, muy cercanos a los encontrados en el presente estudio.

Índice de área foliar (IAF)

Según la tabla 1.8 se observaron diferencias significativas en el IAF entre localidades, clones de caucho y ecotipos de copoazú para ambos años de evaluación (todas, $P < 0.05$). Los ecotipos 11 y el testigo fueron

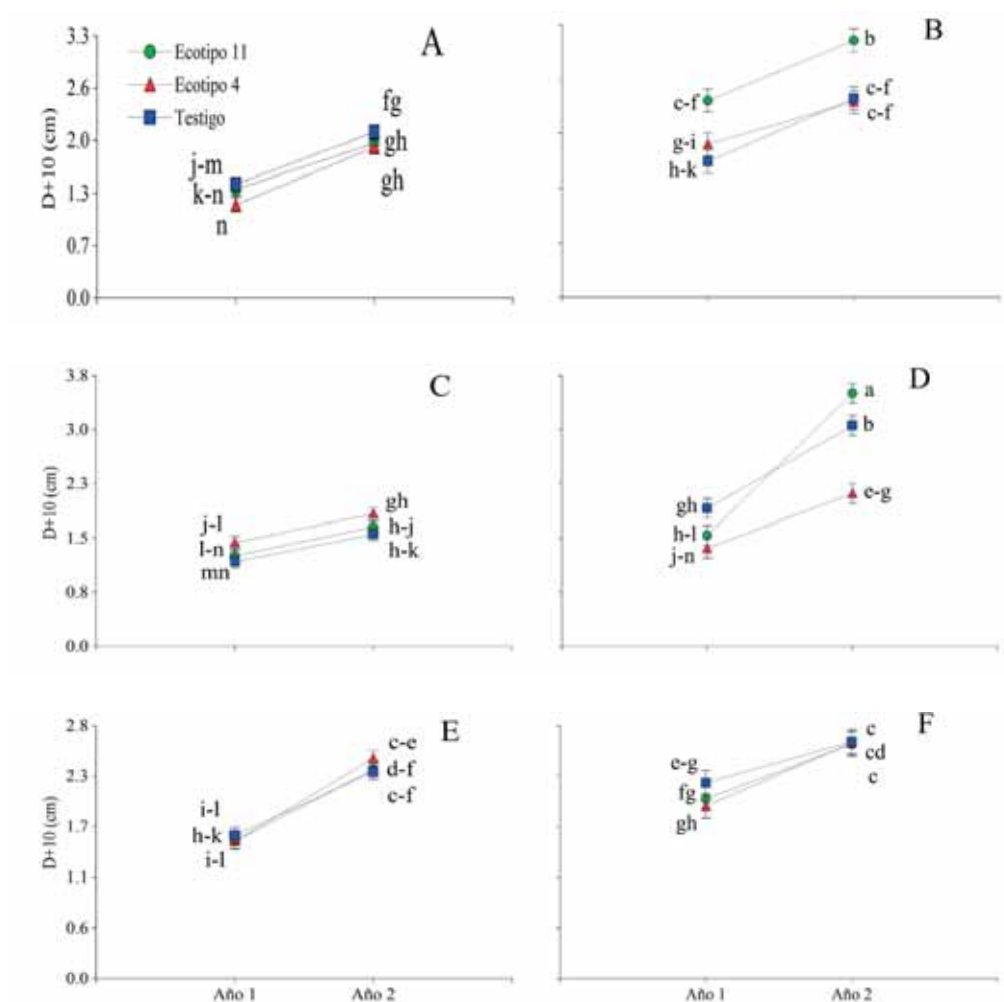


Figura 1.16. Diámetro a 10 cm del suelo (D+10) (cm) de tres ecotipos de copoazú (*Theobroma grandiflorum*) en asocio con diferentes clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) en dos localidades de Caquetá (Colombia) para dos años de evaluación.

A, C y E, municipio de Belén de los Andaquíes; **B, D y F**, municipio de San Vicente del Caguán. **A y B**, clon FX 4098; **C y D**, clon FX 3864; **E y F**, clon IAN 873. Medias seguidas por la misma letra para cada ecotipo en cada año no difieren estadísticamente (Prueba LSD; $P < 0.05$). Las barras representan el error estándar de la media.

estadísticamente similares ($P > 0.05$). Entre localidades, el mayor IAF se dio en los individuos establecidos en el municipio de San Vicente del Caguán (IAF = 3.51). Las mayores medias de IAF se presentaron en el ecotipo 11 en asocio con los clones IAN 873 (IAF = 4.93) y FX 3864 (IAF = 4.57) (Figura 1.17).

Según Sterling y Suárez (2014), en un estudio agroforestal con caucho y copoazú en Caquetá, reportaron que el mayor IAF fue dado en la localidad de Albania al sur del Departamento del Caquetá, lo cual contrasta con los resultados encontrados en la presente investigación en el cual el mayor IAF se presentó en la zona norte del Departamento, específicamente en el municipio de San Vicente del Caguán.

Es importante mencionar que este tipo de estudios en los que se analiza la relación de especies vegetales con su entorno ambiental, son la base técnica para la formulación y el diseño agroforestal con especies nativas promisorias como es el caso de *T. grandiflorum*. Las especies vegetales tropicales cumplen principios básicos que rigen la respuesta de la planta frente a factores como la densidad de la población, la radiación solar, el suministro de agua y de nutrientes como factores limitantes en la producción (Valladares y Niinemets, 2008).

El presente estudio indica una interacción genotipo-ambiente distinta para cada localidad, reflejado en el comportamiento vegetativo de la planta, lo cual refleja una plasticidad fisiológica para diferentes ambientes, especialmente favorable hacia la zona norte de Caquetá. Esta capacidad de adaptación resulta favorable en el asocio con caucho, toda vez que el manejo apropiado del régimen lumínico resulta preponderante para la supervivencia y desarrollo del copoazú (Guerrero *et al.*, 2007).

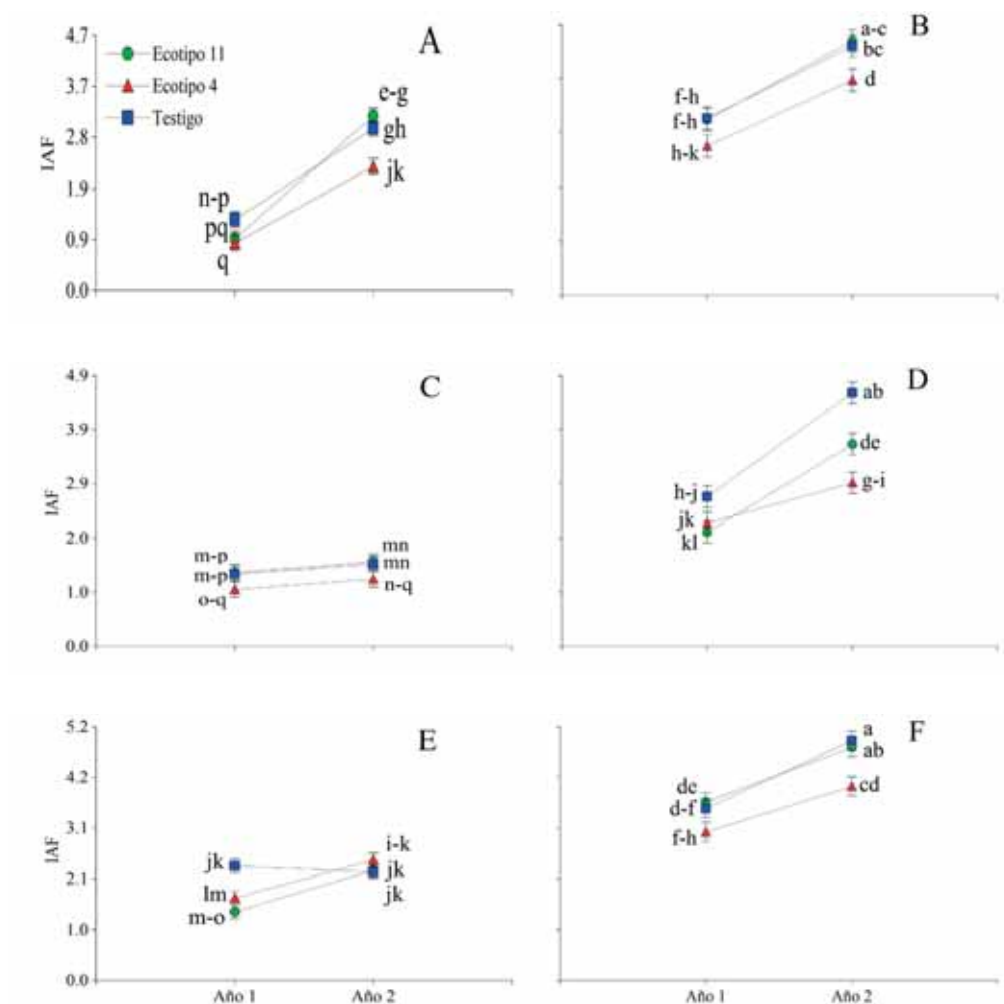


Figura 1.17. Índice de área foliar (IAF) de tres ecotipos de copoazú (*Theobroma grandiflorum*) en asocio con diferentes clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) en dos localidades de Caquetá (Colombia) para dos años de evaluación. **A, C y E**, municipio de Belén de los Andaquíes; **B, D y F**, municipio de San Vicente del Caguán. **A y B**, clon FX 4098; **C y D**, clon FX 3864; **E y F**, clon IAN 873. Medias seguidas por la misma letra para cada ecotipo en cada año no difieren estadísticamente (Prueba LSD; $P < 0.05$). Las barras representan el error estándar de la media.

Consideraciones finales

En la localidad de San Vicente del Caguán (Caquetá, Colombia) se observan los mejores índices de crecimiento (AT, AC, CT y IAF) para los tres clones de caucho, dentro de los que se destaca el clon FX 4098 por su mejor desempeño tanto en San Vicente del Caguán como en Belén de los Andaquíes.

El mejor potencial precoz productivo (producción de caucho seco por árbol por sangría y DRC) se presentó en San Vicente del Caguán, en el asocio agrisilvícola: clon de caucho FX 3864–ecotipo testigo de copoazú. Sin embargo, los mejores índices de calidad física del caucho (índice de plasticidad, PI e índice de retención de plasticidad, PRI), se observaron en el clon IAN 873 tanto en San Vicente del Caguán como en Belén de los Andaquíes.

En general, el ecotipo 11 de copoazú presentó el mejor crecimiento vegetativo en los diferentes asocio con caucho, especialmente en el municipio de San Vicente del Caguán. No obstante, despreciando el efecto de la localidad, los asocio que se realizaron con el clon IAN 873 resultaron más favorables para la supervivencia y desarrollo de los diferentes ecotipos de copoazú. En este sentido, no se observó una diferenciación significativa en el efecto producido por los clones FX 4098 y FX 3864 sobre el crecimiento del copoazú.

Referencias bibliográficas

- ALVERSON, W.S.; WHITLOCK, B. A.; NYFFLER, R.; BAYER, C.; BAUM, D. A.
1999. Phylogeny of the core Malvales: evidence from *ndhF* sequence data. *Am J Bot.* 86: 1474–1486.
- ASOHECA (ASOCIACIÓN DE REFORESTADORES Y CULTIVADORES DE CAUCHO DEL CAQUETÁ). 2014. Información estadística de caucho en el Departamento del Caquetá (Colombia) a diciembre de 2013. Documento interno de Agronegocios. Ismael Dussán (editor). 2 p.

- BARRERA, G. 2006. Respuestas de la clorofila y la fotosíntesis al déficit hídrico y diferentes condiciones de luz en dos variedades de cacao (*Theobroma cacao* L.). Trabajo especial de grado. Universidad de Los Andes. Merida, Venezuela. 66 p.
- BARRERA, J.; ORJUELA, N.; MELGAREJO, L. M.; CAICEDO, D.; HERNÁNDEZ, M. S.; VARGAS, G. (2009). Interacciones planta-ambiente en modelos de producción con arazá (*Eugenia stipitata*) y copoazú (*Theobroma grandiflorum*). En Hernández, M. y Barrera, A. (comps.) Frutas amazónicas: competitividad e innovación (pp. 35-62). Bogotá: Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas "SINCHI". 102 p.
- BECERRA M. F. 2014. Retos y oportunidades del negocio del caucho natural en Colombia. Congreso Internacional Cauchero 2014. 2 y 3 de abril de 2014. Universidad EAFIT. Medellin, Colombia. 20p.
- BERNARDES, M. S.; CASTRO, P. R.; FURTADO, E. L. (1988). Sistemas de sangría da seringueira. Piracicaba: Rhodia. 24 p.
- CARVER, T. L. W.; GRIFFITHS, E. 1981. Relationship between powdery mildew infection, green leaf area and grain yield of barley. Ann. Appl. Biol. 99: 255–266.
- COMPAGNON, P. 1998. El caucho natural. Consejo mexicano del Hule y CIRAD. 701 p.
- CONFORTO, DE CASSIA. E.; PERES, A. R.; CAVALCANTE, J. R. 2007. Variação sazonal de alguns parâmetros fisiológicos em folhas autosombreadas de plantas adultas de seringueira (*Hevea brasiliensis* Müell. Arg. Cultivar RRIM 600). Revista Agricultura Tropical 9(1): 1-17.
- CHEN, J. M.; RICH, P. M.; GOWER, S. T.; NORMAN, J. M.; PLUMMER, S. 1997. Leaf area index of boreal forests: theory, techniques and measurements. Journal of Geophysical Research 102: 429.443.
- DANIEL, T. W.; HELMS, A. J.; BAKER, S. F. 1982. Principios de Silvicultura. McGraw.Hill. New York. 492 p.
- DEUS, C. E.; WEIGAND, R.; VIANA, V. M.; FERRAZ, P.; BORGES, H. B.; ALMEIDA, M.; SILVEIRA, M.; VICENTE, C. A.; ANDRADE, P. 1993. Comportamento de 28 especies arboreas tropicais sob diferentes regimen de luz em Rio Branco, Acre. UFAC. 170 p.
- DI RIENZO, J. A.; CASANOVES, F.; BALZARINI, M. G.; GONZALEZ, L.; TABLADA, M.; ROBLEDO, C. W. InfoStat versión 2014. Grupo

- InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>.
- EMBRAPA, CPAF. 1996. Obtencao de matrizes superiores de cupuacuzai-ros em Rondonia. Porto Velho. Relatorio Tecnico de Andamento de Subprojeto. 2 p.
- FOURNIER, C.; ANDRIEU, B. 1999. ADEL.maize: an L.system based mo-del for the integration of growth processes from the organ to the ca-nopy: application to regulation of morphogenesis by light availability. *Agronomie* 19 (3/4): 313.327.
- GASPAROTTO, L.; DOS SANTOS A. F.; PEREIRA J. C. R.; FERREIRA F. A. 1997. Doenças na seringueira do Brasil. EMBRAPA Amazônia Oc-cidental. Brasília, 148 p.
- GENTRY, A. H. 1996. A field guide to the families and genera of woody plants of northwest South America (Colombia, Ecuador, Peru) with supplementary notes on herbaceous taxa. The University of Chicago Press. Chicago (Ill), EEUU. 799-803.
- GONÇALVES, P DE S.; ROSSETTI, A. G. 1982. Resultados preliminares do comportamento de clones de seringueira em Manaus. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 17(1): 99-102.
- GONÇALVES, P DE S.; ROSSETTI, A. G.; VALOIS, A. C. C.; VIEGAS, I. J. 1984. Estimativas de correlações genéticas e fenotípicas de alguns caracteres quantitativos em clones jovens de seringueira. *Revista Bra-sileira de Genética*, 7(1), 95-107.
- GONÇALVES, P. DE S.; ORTOLANI, A. A.; CARDOSO, M. 1997. Melho-ramento genético da seringueira: uma revisão. Documentos IAC 54. Campinas São Paulo, Brasil. 55 pp.
- GONÇALVES, P. DE S.; SAES, S. A.; FURTADO, E. L.; SAMBUGARO, R.; SAKAI, M. 2000. Clones promissores de seringueira para a região do Vale do Ribeira, São Paulo. *Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 35(12): 2343.2353.
- GONÇALVES, P DE S.; BATAGLIA, O. C.; ORTOLANI, A. A.; FONSECA, F DA S. (2001). Manual de Heveicultura para o Estado de São Paulo, Série Tecnologia APTA. Campinas: Instituto Agrônômico (IAC). 78 p.

- GONÇALVES, P. S.; AGUIAR, A. T. E.; GOUVÊA, L. R. L. 2006. Expressão fenotípica de clones de seringueira na região noroeste do estado de São Paulo. *Bragantia*, Campinas, 65(3): 389. 398.
- GONÇALVES, P. S.; MARQUES, J. R. B. 2008. Clones de seringueira: Influência dos fatores ambientais na produção e recomendação para o plantio. In: ALVARENGA, A. P.; CARMO, C. A. F. S. (Coord.). *Seringueira*. Viçosa: EPAMIG. 179.248.
- GUERRERO, D.; BARRERA, J.; HERNANDEZ, M. S.; VARGAS, G. 2007. Analisis de crecimiento durante la fase vegetativa de cinco fenotipos de copoazu *Theobroma grandiflorum* (Willd ex Spreng) Schum en la amazonia occidental Colombiana. *Revista Colombia de Ciencias Hortícolas*. 1(1): 52-66.
- GUERRERO C. D. 2012. Interceptacion de luz y respuestas en crecimiento de plantas de copoazu (*Theobroma grandiflorum* willd ex spreng k schum) bajo modelos de enriquecimiento forestal con caucho en el caqueta. Tesis: Maestria en Agroforesteria. 85 p.
- HERNANDEZ, M. S.; BARRERA, J. A. 2004. Bases técnicas para el aprovechamiento agroindustrial de Especies Nativas de la Amazonia. Ed. Guadalupe Ltda. Bogotá. 70-92.
- IDEAM (Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales, CO). 2015. Sistema de Información Nacional Ambiental. Estación No. 44045010 (Enero de 2000–Mayo de 2015). San José del Fragua, Caquetá (Colombia).
- IGAC (INSTITUTO GEOGRAFICO AGUSTIN CODAZZI). 1993. Aspectos ambientales para el ordenamiento territorial Occidente del departamento de Caquetá. 3 Tomos. Tercer Mundo Editores. Santafé de Bogotá, D.C. (Proyecto Investigaciones para la Amazonia –INPA: Estudios en la Amazonia Colombiana VI).
- IGAC (INSTITUTO GEOGRAFICO AGUSTIN CODAZZI). 2010. Caquetá, características geográficas. Imprenta nacional de Colombia. Bogotá, D.C. 373 p.
- IRSG (INTERNATIONAL RUBBER STUDY GROUP, SI). 2013. Rubber Statiscal Bulletin. Recuperado de [http:// www.rubberstudy.com/statistics.aspx](http://www.rubberstudy.com/statistics.aspx).

- JUNIOR, E. J. S.; GONÇALVES, P. S.; AGUIAR, A. T. E.; ARANTES, F. C. 2007. Seleção de progênies de seringueira a partir de caracteres de produção e vigor. En: Memórias I Congresso Brasileiro de Heveicultura. Borracha Natural. INCAPER. Guarapará. Es. 2 p.
- JUNQUEIRA, N. T. V.; CHAVES G. M.; ZAMBOLIM L.; GASPAROTTO L.; ALFENAS A. C. 1986. Variabilidade fisiológica de *M. ulei*. Fitopatologia Brasileira. 11: 823-833.
- KLEPAC, D. 1983. Crecimiento e Incremento de Árboles y Masas Forestales. Segunda ed. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo México. 95 p.
- 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.
- LIMA, D. U.; OLIVEIRA, L. E. M.; SOARES, A. M.; DELÚ-FILHO, N. 2002. Avaliação sazonal da produção de borracha e da dinâmica de carboidratos solúveis em plantas de seringueira (*Hevea brasiliensis* Müll. Arg.) cultivadas em lavras, Minas Gerais. Revista Árvore 26(3): 377-383.
- MACEDO, R.; VENTURIM, N.; PEREIRA, A.; MORAIS, V.; GOMES, J.; JUNIOR, M. 2006. Dinâmica de crescimento de seringueira e produção de cafeeiros em sistemas agroflorestais Implantados em lavras – Minas Gerais. Revista científica eletrônica de engenharia florestal. 6(7): 1.11.
- MARSHALL, J. D.; WARING, R. H. 1986. Comparison of methods of estimating leaf area index in old growth douglas fir. *Ecology* 67: 975-979.
- MARTINEZ, G. E.; JASSO, J.; VARGAS, J.; VELAZQUEZ, A.; PALMA, D. J. 2003. Predicción de la producción de látex en plantaciones comerciales de hule (*hevea brasiliensis* müll. Arg.) En: oaxaca, méxico. Revista Fitotecnia Mexicana, julio.septiembre, año/vol. 26, número 003 Sociedad Mexicana de Fitogenética, A.C. Chapingo, México.
- MATTOS, C. 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.; GARCIA, D.; LE GUEN, V. 2005. Selecao de Clones de Seringueira com Alta Producao e Resistentes ao Mal-Das-Folhas. CEPLAC. Comunicacao tecnico (28): 1-9.

- MATTOS, C. R. R.; GARCÍA, D.; LE GUEN, V.; GUYOT, J. 2007. Seleção de clones de seringueira com alta produção e resistentes ao mal-das-folhas. Consultado 07 may. 2010. Recuperado de <http://www.ceplac.gov.br/radar/Artigos/artigo2.htm>.
- MADR (Ministerio de agricultura y desarrollo rural agronet–red de información y comunicación del sector agropecuario, co). 2013. Presentación Subsector Heveícola Colombiano Diciembre 2013.
- MELGAREJO, L. M.; HERNÁNDEZ, M. S.; BARRERA, J. A.; CARRILLO, M. 2006. Oferta y potencialidades de un banco de germoplasma del genero *Theobroma* en el enriquecimiento de los sistemas productivos de la región amazónica. Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas–SINCHI. 224 p.
- NARAYANAN, R.; HO, C. Y.; CHEN, K. T. (1974). Clonal nursery studies in *Hevea*. III. Correlations between yield, structural characters, latex constituents and plugging index. Rubber Research Institute of Malaysia Journal, 24(1), 1-14.
- OJEDA, A. 2004. El Departamento de Caquetá. Insumos de la primera fase realizada en el año 2000, documento de trabajo, Bogotá, Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas, SINCHI.
- OLIVEIRA, A. B.; CRUZ, B. R. 2007. Competição de clones de seringueira (*Hevea brasiliensis*) em condições de restrições à ocorrência do mal-das-folhas (*Microcyclus ulei*) no estado do rio de janeiro En Memórias I Congresso Brasileiro de Heveicultura. Borracha Natural. Guarapará: Incaper/Cedagro. 2 p.
- PEREIRA, A. V. 1997. Avaliação preliminar do desempenho de clones de seringueira (*Hevea* spp.) no Estado de Goiás e no Distrito Federal. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. 98 p.
- PEREIRA, A. V.; PEREIRA, A. B. C.; BENESI, J. F. C. 2001. Desempenho de clones de seringueira sob diferentes sistemas de sangria. Boletim de Pesquisa e desenvolvimento 16, 1-19. Planaltina: Embrapa.
- PEREIRA, A. V. 2007. Desenvolvimento de novos clones de seringueira. En: Memórias I Congresso Brasileiro de Heveicultura. Borracha Natural. INCAPER/CEDAGRO. Guarapará.Es. 32 p.

- PEREZ, H.; BUCHELI, P.; GIRALDO, B. B. 2005. La Agroforestería en Guainía: Una alternativa sostenible. Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas, SINCHI. 36 p.
- PINHEIRO, J.; BATES, DOUGLAS.; SAIKAT DEBROY.; DEEPAYAN SARKAR AND THE R DEVELOPMENT CORE TEAM. 2013. nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R package version (3): 1-109.
- PREMAKUMARI, D.; RAMESH, B. N.; SOMAN, T. A.; JOHN, A.; NAZEER, M. A. 2002. Genetic Influence for Intraclonal Variations and Associations of Juvenile Yield and Girth in Thirteen *Hevea* Clones in Kanyakumari Region of South India. Indian Journal of Natural Rubber Research, 15(1): 28-32 p.
- RAO, P. S.; SARASWATHYAMMA, A. C. K.; SETHURAJ, M. R. 1998. Studies on the relationship between yield and meteorological parameters of para rubber tree (*Hevea brasiliensis*).
- RAMOS, N. P.; GONÇALVES P. DE S.; MARTINS, A. L. M. GODOY, J. G. 2001. Avaliação Genética em Diferentes Combinações de Enxerto e porta-enxerto de Seringueira. Científica, 29(1-2): 103-115 p.
- RIBEIRO, G.; JARDIN, F.; ROSA, L. 2004. Avaliação preliminar de sistema agroflorestal no projeto água verde, albras, Barcarena, Pará II. Rev. Cienc. Agrar. 41: 49-72.
- 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. European Journal of Plant Pathology, 126, 541-552.
- RODRIGO, V. H. L.; STIRLING, C. M.; TEKLEHAIMANOT, Z.; NUGAWELA, A. 2001. Intercropping with banana to improve fractional interception and radiation use efficiency of immature rubber plantations. Field Crops Res. 69: 237-249.
- RODRIGO, V. H. L.; SILVA, T. U. K.; MUNASINGHE, E. S. 2004. Improving the spatial arrangement of planting rubber (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) for long-term intercropping. Field Crop Res 89 (3): 327-335.
- R CORE TEAM. 2014. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.

- SINCHI (INSTITUTO AMAZONICO DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS). 2015a. Estación meteorológica en el Departamento del Caquetá. EM 23206. Febrero de 2014 – Mayo de 2015.
- SINCHI (INSTITUTO AMAZONICO DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS). 2015b. Información cartográfica. Laboratorio Sig Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas. Mapa climático del área de estudio localizada en el departamento del Caquetá (Colombia).
- SINCHI (INSTITUTO AMAZONICO DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS). 2015c. Información cartográfica. Laboratorio Sig Instituto Amazonico de Investigaciones Cientificas. Mapa de suelos localizada en el departamento del Caquetá (Colombia).
- SILVESTRE, W. V. D. 1996. Observacoes preliminares sobre a cultura do cupuacuzairo (*Theobroma grandiflorum* Schum) cultivad a pleno sol. Belem: FCAP. 18 p.
- SNOECK, D.; LACOTE, R.; KÉLI, J.; DOUMBIA, A.; CHAPUSET, T.; JAGORET, P.; GOHET, E. 2013. Association of *Hevea* with other tree crops can be more profitable than *Hevea* monocrop during first 12 years. Industrial Crops and Products 43: 578.586.
- STERLING, C. A.; RODRÍGUEZ, A. O. L.; CORREA, D. J. (2009). Evaluación fitosanitaria y resistencia en campo a *Microcyclus ulei* de *Hevea brasiliensis* en la Amazonia colombiana. Revista Colombia Amazónica 2: 79-90.
- STERLING, C. A.; CORREA, D. J. 2010. Desempeño de una colección clonal de caucho en periodo de inmadurez en la amazonia colombiana. In: Revista Ingeniería & Amazonia 3(1): 1.12.
- STERLING, A.; GALINDO, L. C.; CORREA, J. 2010. Incidencia y severidad de *Microcyclus ulei* en una colección de caucho en la Amazonia colombiana. Ingenierías & Amazonía, 3(2): 93-104.
- STERLING, C. A.; RODRIGUEZ, 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. Colombia. 195 p.
- STERLING, C. A.; DUSSÁN, H. I. 2012. Resistencia a *Microcyclus ulei* (P. Henn.) v. Arx y Desempeño de clones promisorios de caucho [*Hevea brasiliensis* (willd. ex a. juss.) müll. arg.] en el suroccidente del

- departamento del Caquetá, Colombia. Ingenierías & Amazonia 5(1):5-16.
- STERLING, C. A.; HERNÁNDEZ V. E. J. 2012. Desempeño de genotipos élitos de caucho [*Hevea brasiliensis* (willd. ex a. juss.) müll. arg.] en período de inmadurez en el suroccidente del Caquetá, Colombia. Ingenierías & Amazonia 5(2): 111-126.
- STERLING, C. A.; RODRIGUEZ, 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.
- STERLING, C. A.; RODRÍGUEZ, L. C. H.; CAICEDO, R. D.; BETANCURT, P. B.; MAZORRA, V. A.; DUSSAN, H. I.; CASTILLO, O. J.O.; RUIZ, T. P. N.; GARZÓN, G. M. T.; JARA, J. L. Y. 2012a. Evaluación del desempeño y arquitectura de copas de diez clones de caucho natural (*Hevea brasiliensis*) en tres campos clonales a gran escala CCGE. pp. 15.53. 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 periodo improductivo a gran escala. Capítulo 1. Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas – SINCHI. Scripto S.A.S. Bogotá. Colombia. 147 p.
- STERLING, C. A.; RODRÍGUEZ, L. C. H.; DUSSÁN, H. I.; CASTILLO, O. J. O.; RUIZ, T. P. N.; JARA, J. L. Y. 2012b. Desempeño de diez clones de caucho natural en campo clonal a gran escala en condiciones de la amazonia colombiana. Revista colombiana Amazónica No. 5. 161.175.
- STERLING, C. A.; RODRIGUEZ, 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. Colombia. 220 p.
- STERLING, C. A.; SUAREZ, S. J. C.; RODRIGUEZ, L. C. H.; VARGAS, L. M. A. 2014. 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. 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. Scripto S.A.S. Bogotá. Colombia. 220 p.
- STERLING, C. A.; SUAREZ, S. J. C. 2014. Evaluación del crecimiento de copoazú (*Theobroma grandiflorum*) y plátano Hartón (*Musa AAB*) en sistema agroforestal con caucho (*Hevea brasiliensis*) en dos zonas edafoclimáticas del departamento del Caquetá. 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. Scripto S.A.S. Bogotá. Colombia. 220 p.
- STERLING, C. A.; SUAREZ, S. J. C.; CAICEDO, D. F.; RODRIGUEZ, L. C. H.; SALAS, T. Y. M.; VIRGÜEZ, D. Y. R. 2015. Crecimiento inicial de clones promisorios de *Hevea brasiliensis* (willd. ex a. juss.) müll. arg. en sistema agroforestal en Caquetá, Colombia. Revista Colombia Forestal 18(2):175-192.
- UBEDA, D. L.; MOTA, L.E.; SOARES, A. M.; DELÚ-FILHO, N. 2002. Avaliação sazonal da produção de borracha e da dinâmica de carboidratos solúveis em plantas de seringueira (*Hevea brasiliensis* müll. Arg.) cultivadas em lavras, minas gerais R. Árvore, Viçosa-MG .26(3): 377-383.
- VALLADARES, F.; NIINEMETS, U. 2008. Shade tolerance, a key plant feature of complex nature and consequences. Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics 39: 157-168.
- VARGAS, G.; ARGUELLES, J. 2000. Clasificación y caracterización morfo-agronómica del germoplasma de cinco especies frutales amazónicas. Instituto Amazónico de investigaciones científicas–SINCHI. San José del Guaviare, Colombia. 28 p.
- VASCONCELLOS, M. E. C.; ABREU, C. P. 1983. Emprego do coeficiente de caminhamento em clones de seringueira. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 18(7): 779-787.
- VÉLEZ, S. D. F.; NIETO, R. V. M. 2013. Desempeño inicial de clones de caucho en el municipio de Puerto Carreño, Vichada, Colombia. Colombia Forestal 16(2): 186-199.

- VINOD, K. K.; MEENATTOOR, J. R.; POTHEN, J.; KRISHNAKUMAR, A. K.; SETHURAI, M. R. 1996. Performace analysis for wintering pattern in *Hevea brasiliensis* clones. Indian Journal of Natural Rubber Research, 1, 44-47.
- WARING, R. H.; THIES, W. G.; MUSCATO, D. 1996. Stem Growth per Unit of Leaf Area: A Measure of Tree Vigor. Forest Sei 26(1): 112-117.
- WILHEM, W.W.; RUWE, K.; SCHLEMMER, M. 2000. Comparison of three leaf area index meters in a crop canopy. Crop Science 40: 1179-1183.

CAPÍTULO II

Respuesta bioquímica estacional de material foliar de caucho (*Hevea brasiliensis*) y copoazú (*Theobroma grandiflorum*) en dos zonas edafoclimáticas de Caquetá, Colombia

Walter Hernando Pérez^{1, 2},
Luz Marina Melgarejo^{*1},
Jaime Barrera², Armando Sterling²



¹ Laboratorio de fisiología y bioquímica vegetal. Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia. E-mail: lmmelgarejo@unal.edu.co (*Autor de correspondencia)

² Investigadores Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas “SINCHI” Sede Florencia.

Introducción

El caucho natural (*H. brasiliensis*) es una planta endémica y ampliamente distribuida en la Amazonia colombiana, siendo el departamento de Caquetá el que provee la mayor tasa de producción y transformación de la planta (Sterling *et al.*, 2012); mientras que el copoazú es un frutal amazónico con amplias perspectivas de industrialización en la región. El clima del departamento, influenciado por su ubicación geográfica en la zona ecuatorial, presenta una distribución de lluvias monomodal con picos de precipitación entre los meses de abril y julio dependiendo de la ubicación exacta del lugar. La temporada de transición se encuentra entre agosto y octubre, mientras que la temporada seca comprende los meses de diciembre a febrero (Sterling *et al.*, 2012). Dependiendo de la severidad de la sequía se pueden presentar eventos de déficit hídrico que podrían llegar a generar estrés oxidativo.

El metabolismo aeróbico en la planta es la fuerza motriz para el mantenimiento de la viabilidad celular. La paradoja es que al mismo tiempo el oxígeno representa un peligro potencial debido a sus características paramagnéticas. El oxígeno mismo es un bi-radical ya que posee dos electrones desapareados y además sus reacciones de reducción dentro del metabolismo normal de la planta forma las especies reactivas de oxígeno, que son mucho más reactivas. Entre las especies reactivas de oxígeno se encuentran el oxígeno singlete, el anión radical superóxido, el peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo.

En condiciones óptimas, la planta genera especies reactivas de oxígeno (ROS) como consecuencia del metabolismo aeróbico normal

en las reacciones de reducción univalente del oxígeno a agua, en cloroplastos y mitocondria (se estima que el 1-5% del oxígeno usado por la mitocondria resulta en producción de ROS); mientras que en otros compartimientos celulares se forman subproductos de diversas rutas metabólicas como las de la reacción de la glicolato oxidasa, la β -oxidación de ácidos grasos, la reacción enzimática de las flavin oxidasas, la reacción de fenton, la reacción de Mehler en cloroplastos, la vía de la fotorrespiración, entre otras (Gill y Tuteja, 2010; Sharma *et al.*, 2012). De hecho es claro el papel que tienen las concentraciones de las ROS en condiciones normales, ya que actúan como señalizadores intracelulares que median respuestas de la planta como el cierre de estomas, el gravitropismo, la apoptosis e incluso la adquisición de tolerancia al estrés (Sharma *et al.*, 2012). En estos casos el sistema antioxidante mantiene en control las ROS ya que hay un balance dinámico entre la producción de las ROS y su eliminación por el sistema antioxidante (Shi *et al.*, 2014). El estrés oxidativo ocurre cuando ese balance se rompe y la velocidad de producción de las especies reactivas de oxígeno es mayor que la capacidad del sistema antioxidante de las diferentes células del organismo para contrarrestar su efecto tóxico (Sweetlove y Moller, 2009; Shi *et al.*, 2014). El exceso de las especies reactivas de oxígeno produce acciones diversas que pueden ser el origen del daño celular.

En plantas el estrés oxidativo se puede evidenciar por la presencia de los productos de oxidación en las células. Las ROS reaccionan con los lípidos poliinsaturados de las membranas generando la peroxidación lipídica y como consecuencia produce pérdida de fluidez de la membrana y lisis celular. También reaccionan con las proteínas produciendo inactivación de enzimas, desnaturalización, fragmentación de péptidos, susceptibilidad a la proteólisis. Igualmente reaccionan con los ácidos nucleicos modificando las bases nitrogenadas produciendo mutagénesis en el ADN nuclear, cloroplástico y mitocondrial (Gill y Tuteja, 2010; Sharma *et al.*, 2012).

Los estreses bióticos (infección por patógenos y plagas) y abióticos (salinidad, bajas y altas temperaturas, radiación UV-B, metales pesados, contaminantes atmosféricos y déficit hídrico) han sido reportados

como los causantes principales en los desequilibrios que genera estrés oxidativo (Szöllősi, 2014).

Los eventos de déficit hídrico ocurren cuando la tasa de transpiración excede la tasa de consumo de agua (Bhushan *et al.*, 2007; Sofo *et al.*, 2010). Este es causado por períodos de sequía prolongados y su efecto depende de las características moleculares, morfológicas y fisiológicas de la planta (Pérez, 2012). En el déficit hídrico la producción de ROS se genera en varios sitios: como producto de los cambios en la actividad de los fotosistemas y la tasa de transporte de electrones a través de la reacción de Mehler en los cloroplastos (Sharma *et al.*, 2012); en la ruta de la fotorrespiración donde se reporta una producción de peróxido de hidrógeno de cerca del 70% (Noctor *et al.*, 2002); o al inhibirse la actividad fotosintética por el desequilibrio entre la captura de la luz y su utilización bajo estrés por déficit hídrico, por lo que la disipación de la energía en exceso conduce a la generación de ROS (Sharma *et al.*, 2012). Las plantas responden al estrés para asegurar la homeóstasis de los procesos celulares; por ejemplo, cierran estomas para evitar pérdidas de agua por transpiración acompañando el proceso con disminución de la conductancia estomática y aumentando el uso eficiente del agua (Rivas *et al.*, 2013).

Se ha reportado que los procesos de aclimatación tienen un rol importante en la respuesta ante el estrés, ya que pueden minimizar los efectos del déficit hídrico por ajuste osmótico (Crespo *et al.*, 2011), el cual consiste en la acumulación activa de solutos en tejidos de la planta en respuesta a un déficit hídrico o cualquier disminución de la disponibilidad de agua. Con ello disminuye el potencial de solutos y consecuentemente el potencial hídrico total de raíces, tallos y hojas, dando a la planta la posibilidad de absorber agua a potenciales hídricos del suelo más negativos, permitiendo mantener la actividad fisiológica asociadas a los contenidos hídricos de cada uno de los tejidos ya que se promueve el movimiento del agua, incrementando su tolerancia (Pérez *et al.*, 2010; Boussadia *et al.*, 2013). Las plantas que están bajo estrés por déficit hídrico aumentan la síntesis y acumulación de aminoácidos como prolina y ácido aspártico, proteínas de bajo peso molecular, ácidos orgánicos, azúcares simples como la glucosa, sacarosa y manitol, y

compuestos de amonio cuaternario (Boussadia *et al.*, 2013). De acuerdo a esto es un hecho que plantas tolerantes al estrés tienen un sistema antioxidante más efectivo que las plantas no tolerantes y presentan una mayor acumulación de solutos compatibles para ajuste osmótico (Sharma *et al.*, 2012).

Por otro lado, la mayoría de las plantas cuando presentan eventos de déficit hídrico activan el sistema de eliminación de especies reactivas de oxígeno como mecanismo de defensa ante el estrés. Esta respuesta de la planta depende del tiempo de exposición al déficit y la severidad del mismo, varía de acuerdo al tipo de órgano o tejido y de la etapa de desarrollo de la planta (Pérez, 2012; Boaretto *et al.*, 2014).

Los componentes del sistema antioxidante de defensa pueden ser enzimáticos (SOD, CAT, APX, GR, POD, entre otras) (tabla 1) o no enzimáticos (ascorbato, glutatión, fenoles, polifenoles, carotenoides, tocoferoles, entre otros) (Gill y Tuteja, 2010; Sofo *et al.*, 2010; Pérez *et al.*, 2010; Sharma *et al.*, 2012; Szöllősi, 2014). Los sistemas antioxidantes tienen diferentes mecanismos de acción para reducir los efectos de las ROS (Box, 2008):

Reduciendo las concentraciones de oxígeno libre en los diferentes compartimientos de la célula.

- Eliminando las ROS o transformándolas en sustancias menos reactivas.
- Previniendo la formación de radicales libres.
- Reparando el daño oxidativo.
- Incrementando la eliminación de moléculas dañadas.

Las principales enzimas del sistema antioxidante enzimático se agrupan en el ciclo del ascorbato-glutatión, el cual aumenta su actividad en eventos de déficit hídrico y está presente en al menos cuatro compartimientos celulares que incluyen el citosol, los cloroplastos, las mitocondrias y los peroxisomas, y se sintetiza en las sucesivas reacciones de oxidorreducción del ascorbato, el glutatión y el NADPH catalizadas por varias enzimas del sistema antioxidante (Sofo *et al.*, 2010; Sharma *et al.*, 2012; Szöllősi, 2014). La primera enzima del ciclo ascorbato-glutatión

Tabla 2.1. Principales enzimas del sistema antioxidante enzimático, su reacción y ubicación en la célula.

Enzima	Reacción que cataliza	Ubicación celular
Superóxido dismutasa (SOD)	$2O_2^{\bullet -} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$	Cloroplastos, mitocondria, citosol y peroxisomas (Sharma et al., 2012; Szöllösi, 2014)
Ascorbato peroxidasa (APX)	$H_2O_2 + \text{ascorbato} \rightarrow 2H_2O + \text{DHA}$	Cloroplastos, mitocondria y citosol (Gill y Tuteja, 2010; Szöllösi, 2014)
Glutatió reducida (GR)	$GSSG + NADPH \rightarrow GSH + NADP$	Cloroplastos, mitocondria, citosol y peroxisomas (Sharma et al., 2012; Szöllösi, 2014)
Catalasa (CAT)	$2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$	Peroxisomas (Gill y Tuteja, 2010)
Peroxidasas (POD)	$H_2O_2 + \text{sustrato} \rightarrow 2H_2O + \text{Sustrato oxidado}$	Principalmente en citosol pero también en cloroplastos, mitocondria y retículo endoplasmático

es la superóxido dismutasa (SOD) que transforma el anión radical superóxido en oxígeno y peróxido de hidrógeno, el cual es el sustrato principal del ciclo. La función primordial del ciclo es transformar el H_2O_2 en agua, eliminando la especie reactiva de oxígeno del metabolismo de la planta por acción de la enzima ascorbato peroxidasa (APX), la cual utiliza una molécula de ascorbato como donador de electrones en la reacción de reducción del peróxido. Este ascorbato se convierte en monodehidroascorbato y el ciclo continúa con la función de regenerar el ascorbato para poder ser utilizado nuevamente en la reducción del peróxido a agua. En esta parte del ciclo, el monodehidroascorbato tiene tres rutas para reducirse nuevamente a ascorbato, la primera es por acción de la enzima monodehidroascorbato reductasa (MDHAR) la cual utiliza una molécula de nicotinamida adenina dinucleótido fosfato en su forma reducida (NADPH) como donador de electrones para la reacción de reducción generando la forma oxidada ($NADP^+$); la segunda es por

acción de cualquier otro donador de electrones que se encuentre en el medio; y la tercera por el paso del monodehidroascorbato a su forma reducida (regeneración del ascorbato) y a su forma oxidada (la molécula de dehidroascorbato). Este último compuesto generado se reduce también a ascorbato en la última parte del ciclo por causa de la enzima dehidroascorbato reductasa (DHAR), la cual utiliza una molécula de glutatión reducido (GSH) como donador de electrones, la cual es oxidada a glutatión en su forma oxidada (GSSG o glutatión disulfuro). En este momento ya se ha regenerado el ascorbato utilizado, pero se tiene una molécula de glutatión oxidado, la cual por acción de la glutatión reductasa se reduce nuevamente a GSH, que puede volver a entrar en la reacción de la enzima dehidroascorbato reductasa.

Se han reportado cambios en las actividades de las enzimas del ciclo ascorbato-glutatión, en enzimas de la familia de las peroxidasas, en catalasa y osmolitos compatibles como azúcares simples y prolina, durante eventos de déficit hídrico en *Gmelina arborea* (Crespo *et al.*, 2011), en *Amaranthus hybridus*, *Amaranthus hypochondriacus* y *Amaranthus tricolor* (Slabbert y Krüger, 2014), en caña de azúcar (Boaretto *et al.*, 2014), en *Oudneya africana* (Talbi *et al.*, 2015), en vid *Vitis vinifera* (Martínez-Lüscher *et al.*, 2015), en material foliar de té (Liu *et al.*, 2015), en plantas jóvenes de *Moringa oleifera* (Rivas *et al.*, 2013), en material foliar de cultivos de *Olea europea* L. (Boussadia *et al.*, 2013), en semillas de tomate (Shi *et al.*, 2014), en el clon GT1 de caucho (clon originario de Indonesia) en el cual se reportó además un aumento en la expresión de genes relacionados con las enzimas del sistema antioxidante (Wang, 2014), entre otros.

Los mecanismos de tolerancia al déficit de agua se enfocan en proteger y reparar las estructuras celulares contra los efectos de la deshidratación y la consecuente generación de ROS. Estos mecanismos incluyen la síntesis de proteínas, la activación y sobreexpresión de enzimas del sistema antioxidante, la síntesis y liberación de metabolitos como azúcares simples y aminoácidos que aumentan el potencial osmótico, o antioxidantes de bajo peso molecular como el ácido ascórbico y el glutatión (Bandurska *et al.*, 2013; Szöllösi, 2014).

En el presente estudio se evaluaron actividades de enzimas del sistema antioxidante y el contenido de osmolitos en tres clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) y tres clones de copoazú (*Theobroma grandiflorum*) en un asocio agrisilvícola en dos zonas climáticas del departamento del Caquetá y tres épocas estacionales (húmeda, transición a seca y seca).

Evaluación de los parámetros bioquímicos de caucho

Evaluación del contenido estacional de proteína, catalasa y peroxidasa en caucho

Contenido de proteína soluble

Las proteínas se ven ampliamente afectadas en eventos de estrés por déficit hídrico, debido a que las ROS pueden causar modificaciones en aminoácidos, fragmentación en péptidos, alteración de carga eléctrica, inactivación de enzimas y susceptibilidad a la proteólisis; aunque también se pueden ver inducidas como proteínas de defensa, proteínas de choque térmico, dehidrinas y acuaporinas (Durand *et al.*, 2011; Sharma *et al.*, 2012; Pérez, 2012). La determinación del contenido de proteína se realizó de acuerdo al método de Bradford (1976) utilizando el Kit *BioRad protein assay* (BioRad, Hercules, USA).

El contenido de proteína soluble se observa en la figura 2.1. No se encontraron tendencias marcadas entre los diferentes clones y épocas. De época húmeda hacia época seca se presenta una disminución en el contenido foliar de las plantas de la localidad de Belén de los Andaquíes para los clones FX3864 y FX4098, mientras que el clon IAN 873 no presenta diferencias significativas entre épocas. Por otro lado, en la época de transición de húmeda a seca, en las plantas de la localidad de San Vicente del Caguán se encuentra disminución del contenido proteico, pero las épocas húmeda y seca no presentan diferencias significativas.

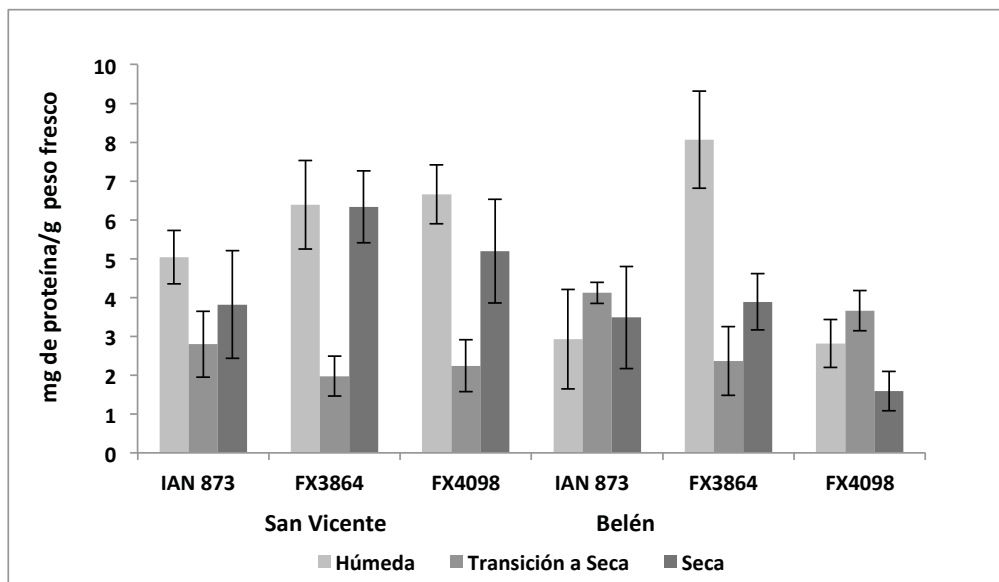


Figura 2.1. Contenido de proteína soluble en tres clones de caucho (IAN 873, FX3864, FX 4098) en dos zonas edafoclimáticas y tres épocas del año (las barras representan la desviación estándar en las medidas).

Actividad enzimática catalasa CAT

La enzima catalasa es una enzima con una alta afinidad por el peróxido de hidrógeno y cataliza la reacción de dismutación del peróxido a agua y oxígeno; además, es la única enzima que no necesita de un sustrato donador de electrones para llevar a cabo la reacción ya que en su sitio catalítico posee iones metálicos que cumplen esta función (Moreno *et al.*, 2010; Sharma *et al.*, 2012).

La actividad enzimática de catalasa (CAT) se determina mediante el método modificado de permanganato/peróxido (Aebi, 1974; Moreno *et al.*, 2010); el proceso consiste en la cuantificación de peróxido de hidrógeno consumido por una cantidad de extracto enzimático de CAT mediante una titulación (volumétrica) con permanganato de potasio debidamente estandarizado.

La unidad de actividad enzimática catalasa se define como:

$$U_{cat} = \frac{\mu\text{moles de } H_2O_2}{\text{min}}$$

Los resultados de la actividad enzimática CAT se observan en la figura 2.2. La tendencia general es que hay aumento de la actividad CAT en los clones comparando entre época húmeda y época seca, pero no es clara la tendencia observada en la época de transición.

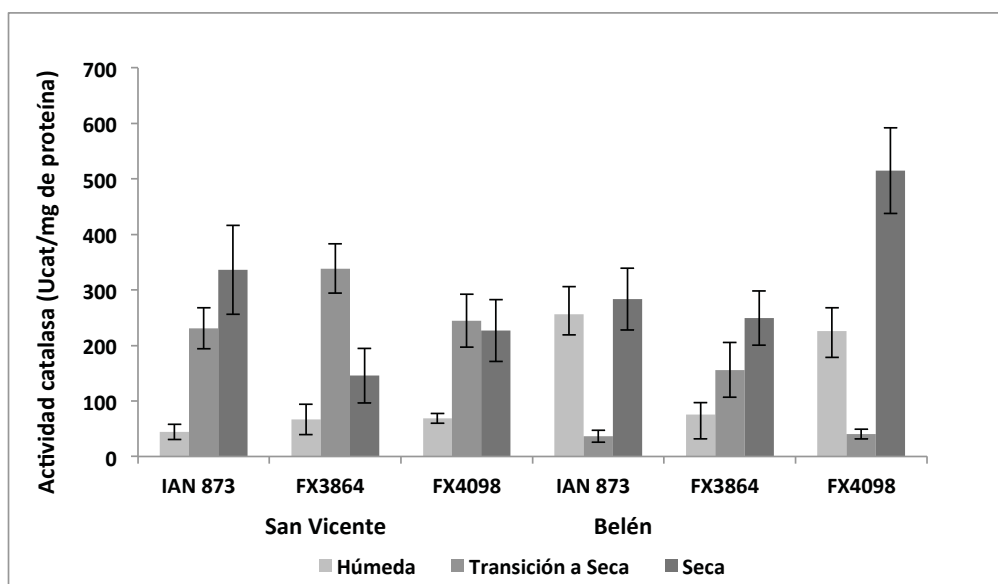


Figura 2.2. Actividad enzimática catalasa en tres clones de caucho (IAN 873, FX3864, FX 4098) en dos zonas edafoclimáticas y tres épocas del año (las barras representan la desviación estándar en las medidas).

Actividad enzimática peroxidasa POD

Las peroxidasas son enzimas que catalizan la oxido-reducción entre el peróxido de hidrógeno y agentes reductores. Un amplio número de compuestos orgánicos son utilizados como donador de protones, tales como guaiacol, pirogalol, α -aminopterina, floroglucinol, catecol, aminas aromáticas, ácido ascórbico, o-fenilenediamina, entre otros (Kumar *et al.*, 2011).

La determinación de la actividad enzimática peroxidasa se realiza mediante el seguimiento cinético de la reacción cromogénica entre el peróxido de hidrógeno y o-dianisidina, catalizada por enzimas de la familia de las peroxidases que se puede detectar espectrofotométricamente a 460 nm (Moreno et al., 2010; Kumar et al., 2011).

La unidad de actividad enzimática peroxidasa se define como:

$$Upod = \frac{\Delta \text{Absorvancia } 460 \text{ nm}}{\text{min}}$$

Los resultados de la actividad enzimática POD se observan en la figura 2.3 Se puede observar que los clones tienen la misma tendencia en las dos localidades encontrándose los mayores contenidos en la localidad de Belén de los Andaquíes excepto para el clon FX3864. En la mayoría de casos se encuentra que hay aumento de la actividad comparando únicamente entre la época húmeda y la época seca. El clon IAN 873 es el único que presenta aumento gradual desde época húmeda a transición a época seca; mientras que en los otros clones la actividad es mayor en época de transición.

Teniendo en cuenta los resultados se observa la importancia de las enzimas antioxidantes. Se reporta que la eliminación de H_2O_2 es importante para evitar la reacción con radicales libres o metales de transición celulares; en este proceso participan enzimas en el citosol o unidas a la pared celular como las peroxidases, y enzimas de la familia de las catalasas presentes en los peroxisomas (Szöllősi, 2014). Al igual que en este estudio, se reportaron cambios en el contenido de proteína y actividad catalasa y peroxidasa en material foliar de plántulas, plantas juveniles y plantas adultas de tres clones de *Gmelina arborea* presentando aumento en todos los parámetros de época húmeda a época seca (Crespo *et al.*, 2011). Por otro lado, se encontraron incrementos en las actividades CAT y POD y aumentos en los contenidos de proteína en raíces de rábano en déficit hídrico (Shafiq *et al.*, 2015) y aumentos en los contenidos de catalasa y peroxidasa en plántulas de cuatro cultivares de tomate (Shi *et al.*, 2014). De acuerdo a los resultados obtenidos para

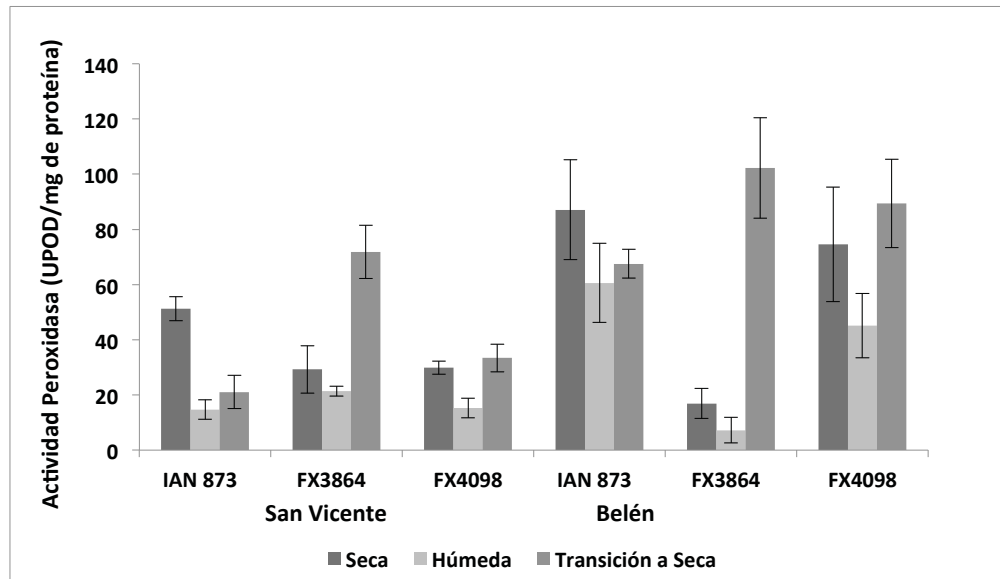


Figura 2.3. Actividad enzimática peroxidasa en tres clones de caucho (IAN 873, FX3864, FX4098) en dos zonas edafoclimáticas y tres épocas del año (las barras representan la desviación estándar en las medidas).

caucho, se puede deducir que los clones que mejor respuesta tienen al déficit hídrico estacional son el IAN873 y FX4098.

Evaluación del contenido estacional de algunas enzimas del Ciclo Ascorbato-Glutatión en caucho

Actividad enzimática superóxido dismutasa SOD

La superóxido dismutasa es la primera línea de defensa ante las ROS, ya que su reacción enzimática elimina el exceso del anión radical superóxido, primer producto de la reducción univalente del oxígeno, transformándolo en H_2O_2 , una ROS menos reactiva.

La determinación de la actividad enzimática superóxido dismutasa se realiza mediante el método desarrollado por Giannopolitis y Ries (1977), propuesto por primera vez por Beauchamp y Fridovich (1971), utilizando Nitro Blue Tetrazolium NBT como detector del radical

superóxido en presencia de Riboflavina que actúa como generador de radicales superóxido, medido espectrofotométricamente a 560 nm.

La unidad de actividad Superóxido dismutasa (SOD), se define como la cantidad de enzima que inhibe la reducción del NBT a formazán en un 50%, según la definición de Beauchamp y Fridovich (1971)

$$Usud = \frac{V}{v} - 1$$

Donde V y v representan la absorbancia en ausencia y presencia de SOD, respectivamente.

Los resultados de la actividad enzimática SOD se observan en la figura 2.4. Se puede observar que las tendencias son similares en las dos zonas edafoclimáticas para los tres clones, aunque la actividad es

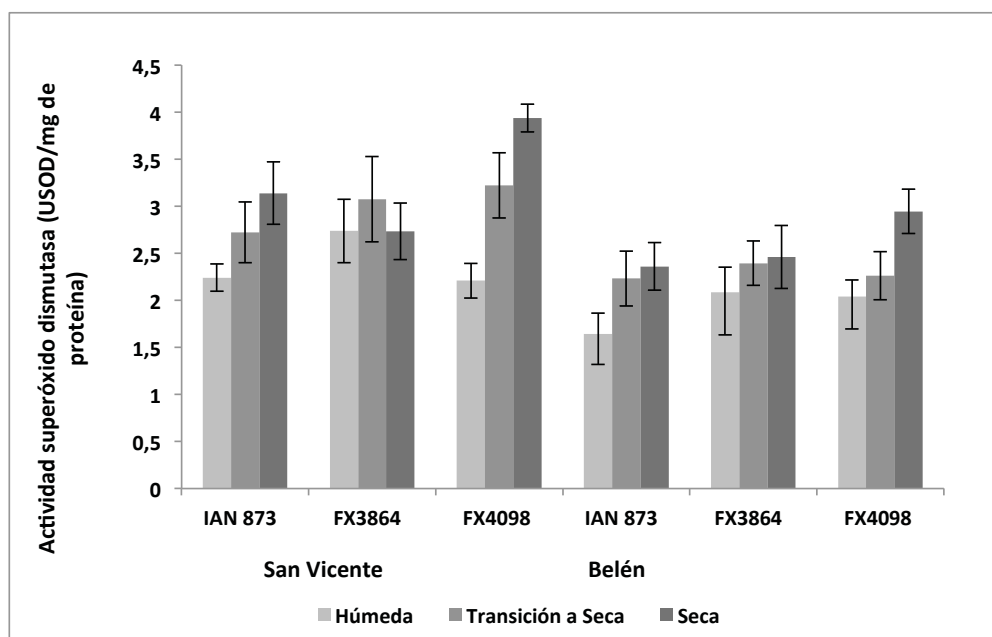


Figura 2.4. Actividad enzimática superóxido dismutasa en tres clones de caucho (IAN 873, FX3864, FX 4098) en dos zonas edafoclimáticas y tres épocas del año (las barras representan la desviación estándar en las medidas).

mayor en las plantas de San Vicente del Caguán comparando el mismo clon y la misma época en las dos zonas edafoclimáticas. Los clones IAN 873 y FX4098 muestran aumento estadísticamente significativo de la actividad SOD entre época húmeda a época seca, tanto en las plantas del municipio de San Vicente del Caguán como de Belén de los Andaquíes.

Actividad enzimática Ascorbato peroxidasa APX

La ascorbato peroxidasa cataliza la reducción del peróxido de hidrógeno a agua haciendo parte del ciclo ascorbato-glutación. La APX presenta mayor afinidad por el peróxido que la CAT, haciendo de la APX una enzima importante en condiciones de estrés. El principal compartimiento celular de función de la CAT es el peroxisoma, y de la APX es la mitocondria y el citosol (Sharma *et al.*, 2012).

La determinación de la actividad enzimática ascorbato peroxidasa se realiza mediante el seguimiento espectrofotométrico de la oxidación del ascorbato a dehidroascorbato por acción del peróxido de hidrógeno y catalizada por la enzima ascorbato peroxidasa, medida a 290 nm (revisado por Moreno *et al.*, 2010)

La unidad de actividad enzimática ascorbato peroxidasa se define como:

$$U_{apx} = \frac{\mu \text{ moles de Ascorbato oxidado}}{\text{min}}$$

Los resultados de la actividad enzimática APX en el presente estudio se observan en la figura 2.5. En general, en los clones evaluados en las localidades se presenta aumento de la actividad APX de época húmeda a época seca. La actividad es mayor en los clones sembrados en la zona de San Vicente del Caguán en comparación con Belén de los Andaquíes.

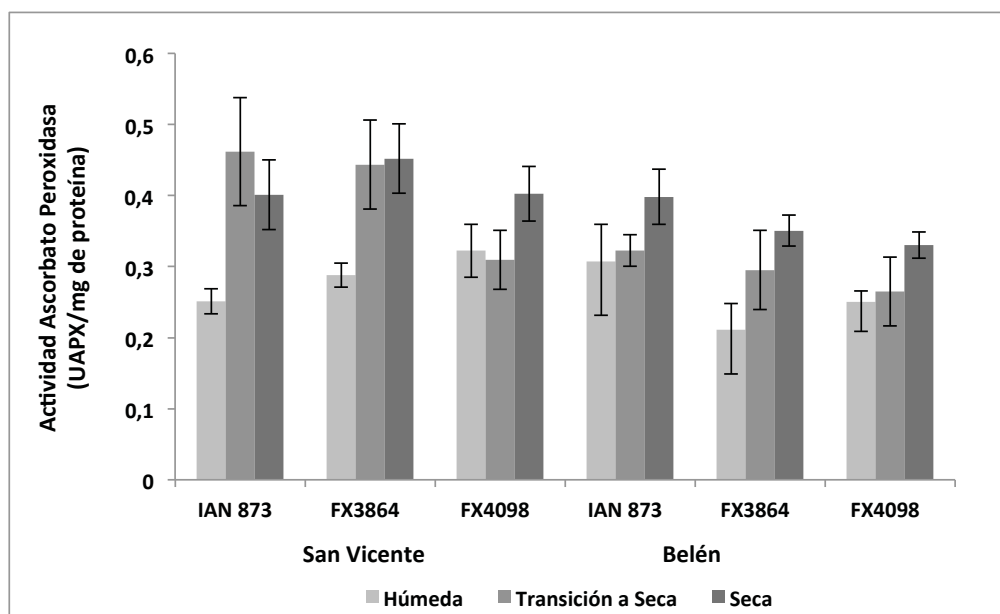


Figura 2.5. Actividad enzimática Ascorbato peroxidasa en tres clones de caucho (IAN 873, FX3864, FX 4098) en dos zonas edafoclimáticas y tres épocas del año (las barras representan la desviación estándar en las medidas).

Actividad enzimática Glutación reductasa GR

La glutatión reductasa tiene como función bioquímica transformar el glutatión oxidado en glutatión reducido, el cual es un importante agente antioxidante necesario en el ciclo del ascorbato-glutatión.

La metodología de análisis de la actividad enzimática glutatión reductasa se realiza mediante el seguimiento de la cinética de la reacción de reducción del NADPH-dependiente de glutatión disulfuro (GSSG) a glutatión sulfhidrilo (GSH), por acción de la enzima glutatión reductasa (EC 1.8.1.7), que se puede seguir espectrofotométricamente por una disminución en la absorbancia a 340 nm debida por la disminución en la concentración del NADPH (Yanarelli *et al.*, 2007; Moreno *et al.*, 2010)

La unidad de actividad enzimática Glutatión reductasa se define a 25 °C y pH 7.6 como:

$$U_{GR} = \frac{\mu \text{ moles de NADPH oxidado}}{\text{min}}$$

Los resultados de la actividad enzimática GR se observan en la figura 2.6. En general la tendencia es que no hay cambios significativos en la actividad GR foliar entre las épocas de muestreo, excepto en el clon FX4098 en el cual se presenta un aumento hacia la época seca, siendo mayor en las plantas de la localidad de Belén de los Andaquíes.

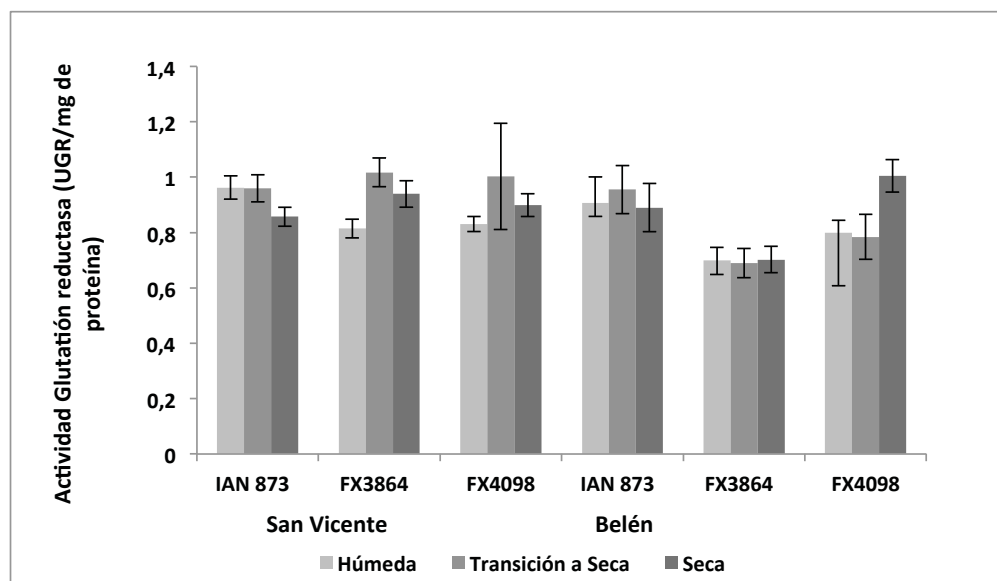


Figura 2.6. Actividad enzimática Glutación reductasa en tres clones de caucho (IAN 873, FX3864, FX 4098) en dos zonas edafoclimáticas y tres épocas del año (las barras representan la desviación estándar en las medidas).

El aumento en la concentración de las actividades de las enzimas del ciclo ascorbato glutación es considerado como indicativo de algún grado de tolerancia al estrés (Zagorchev *et al.*, 2013). De acuerdo a los resultados obtenidos en las actividades de las enzimas del ciclo ascorbato-glutación del presente estudio se observa que al igual que en otros estudios

se aumenta la actividad durante el déficit hídrico o a medida que las plantas de caucho se ven afectadas por la época seca. Se ha reportado en otras especies como por ejemplo del género *Amaranthus* aumento de la actividad de enzimas del ciclo ascorbato glutatión como SOD y GR durante el déficit hídrico (Slabbert y Krüger, 2014); o en raíces de rábano sometido a déficit hídrico aumento en la actividad SOD (Shafiq *et al.*, 2015). De acuerdo a lo anterior se sugiere que los tres clones de caucho evaluados y particularmente los clones IAN 873 y FX4098, tienen algún grado de tolerancia a la sequía ya que presentan aumento en las actividades de las enzimas analizadas del ciclo ascorbato glutatión.

Evaluación del contenido estacional de algunos osmolitos compatibles en caucho

Contenido de prolina

La prolina es un aminoácido el cual se ha reportado se acumula como respuesta fisiológica de la planta ante ciertos tipos de estrés bióticos y abióticos (Verbruggen y Hermans, 2008). Se presume que en eventos de estrés, la proteína encargada de la degradación de la prolina (prolina deshidrogenasa) presenta una disminución drástica de su actividad, generando entonces una sobreacumulación de prolina, la cual puede actuar como osmorregulador, estabilizador de macromoléculas, desintoxicador de radicales libres, y fuente de carbono y nitrógeno que puede ser usado cuando el estrés cese (Claussen, 2005; Mohammadkhani y Heidari, 2008).

La determinación de prolina se realiza mediante el seguimiento espectrofotométrico de la reacción cromogénica entre el amoníaco proveniente de la oxidación de la prolina por acción de la ninhidrina en medio ácido, y otra molécula de ninhidrina para formar un compuesto de coloración violeta que puede ser extraído con tolueno y ser detectado espectrofotométricamente a 520 nm (Bates *et al.*, 1973; Moreno *et al.*, 2010). El contenido de prolina en las plantas evaluadas en la presente investigación se puede observar en la figura 2.7. El compuesto se reporta como µg de prolina/g de peso fresco foliar.

En las plantas de la localidad de San Vicente del Caguán se observan cambios entre el 80 y 140 μg prolina/g de peso fresco aproximadamente, entre época húmeda y época seca, siendo los aumentos mayores para los clones IAN 873 y FX3864; mientras en la localidad de Belén de los Andaquíes el mayor aumento se da para el clon IAN 873. Durante época seca, en general, los mayores contenidos de prolina se presentan en las plantas de la localidad de San Vicente del Caguán.

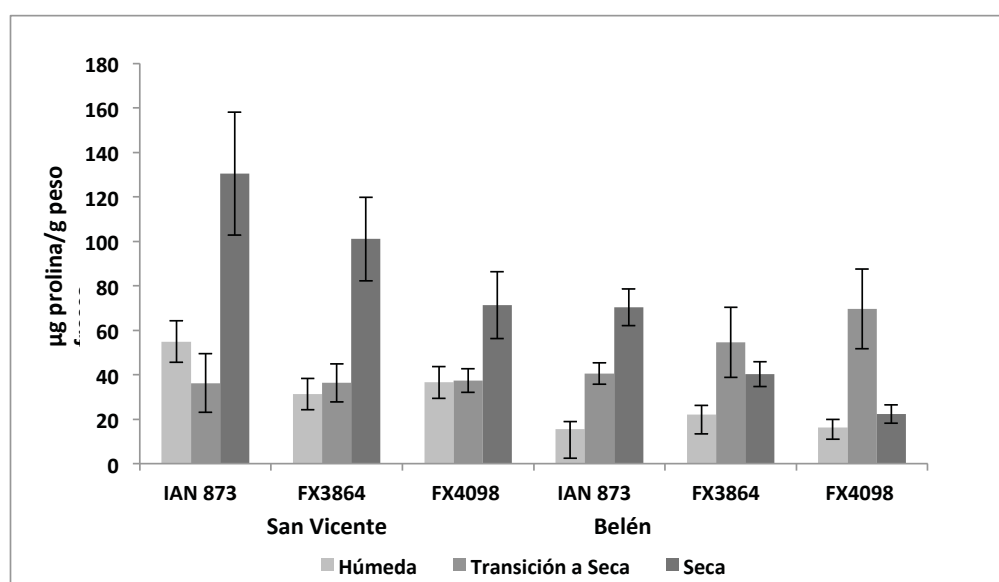


Figura 2.7. Contenido de prolina en tres clones de caucho (IAN 873, FX3864, FX 4098) en dos zonas edafoclimáticas y tres épocas del año (las barras representan la desviación estándar en las medidas).

Contenido de azúcares solubles

Los carbohidratos, en particular los azúcares, se encuentran ampliamente distribuidos en los tejidos vegetales, se dividen en estructurales (los que se encuentran ligados a las paredes celulares) y los no estructurales (se encuentran distribuidos en los órganos de la planta). Los azúcares presentes en las plantas son importantes en los procesos de ajuste osmótico.

Las aldosas, cetosas y polisacáridos hidrolizables solubilizados en el proceso de extracción con agua destilada, en medio fuertemente ácido forman compuestos derivados del furfural que son reconocidos por el fenol formando compuestos de color amarillo-naranja (la intensidad del color naranja es proporcional a la cantidad total de carbohidratos presentes en la solución), que pueden ser detectados espectrofotométricamente a 490 nm (Dubois *et al.*, 1956; Mikkelsen y Cortón, 2004). Los resultados se pueden observar en la figura 2.8.

En general, los contenidos de azúcares solubles foliares disminuyen en las diferentes épocas climáticas, en los tres clones. En los clones de la localidad de San Vicente disminuye entre un 30 y 50% siendo los mayores cambios para los clones IAN 873 y FX3864; mientras que en la localidad de Belén solo presenta cambios significativos el clon IAN 873 en donde los contenidos de azúcares también disminuyen.

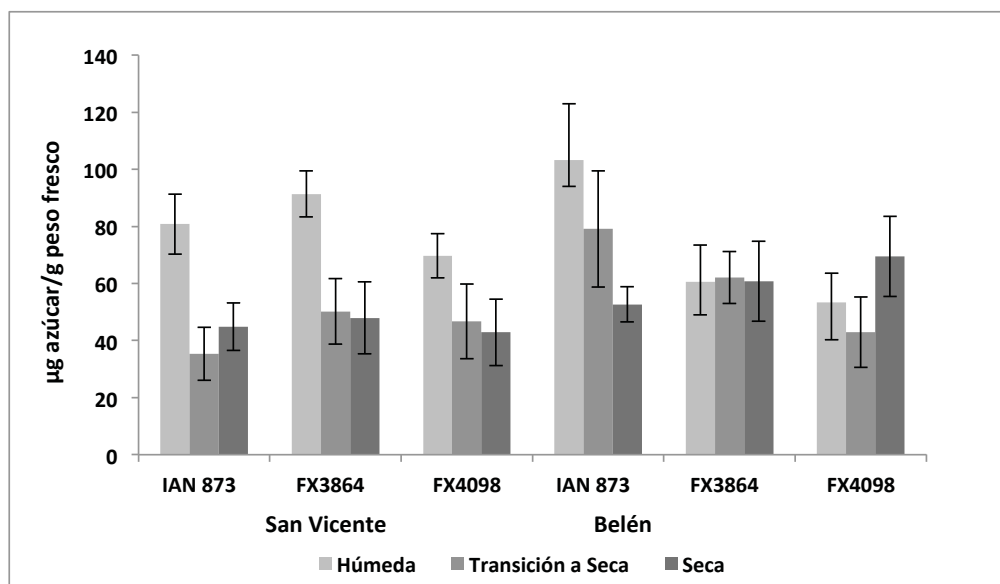


Figura 2.8. Contenido de azúcares solubles en tres clones de caucho (IAN 873, FX3864, FX 4098) en dos zonas edafoclimáticas y tres épocas del año (las barras representan la desviación estándar en las medidas).

De acuerdo con los resultados se observa que la época seca influye en la respuesta de los diferentes clones de caucho sobre los contenidos de osmolitos compatibles, presentándose aumento del contenido de prolina y disminución en el contenido de azúcares solubles. Un efecto similar fue reportado en material foliar de cultivares de árboles de oliva (*Olea europea* L.) tanto en azúcares como en prolina (Boussadia *et al.*, 2013). De igual forma, un aumento en el contenido de prolina y disminución en el contenido de azúcares solubles se reportó en dos variedades de *Medicago truncatula* (Yousfi *et al.*, 2010). Por otro lado, para material foliar de melina (*Gmelina arborea*) se encontró aumento tanto en el contenido de prolina como en el contenido de azúcares solubles en un déficit hídrico estacional (Crespo *et al.*, 2011); y en material foliar de tres especies del género *Amaranthus* se encontraron aumentos significativos en el contenido de prolina libre (Slabbert y Krüger, 2014). Reportes de literatura indican que el aumento en el contenido de prolina es una respuesta común que ha sido asociado con la tolerancia al estrés (Gruszka *et al.*, 2007).

De acuerdo con los datos relacionados con osmolitos compatibles, se sugiere que el clon con mejor respuesta a la época seca es el IAN 873; con un aumento en la concentración de prolina libre indicador de tolerancia al estrés, mayor que en los otros clones en las condiciones de estudio.

Evaluación de parámetros bioquímicos de copoazú

Los parámetros evaluados en hojas de copoazú se determinaron de acuerdo a las mismas consideraciones que se realizaron en el análisis de material foliar de caucho (sección 2.2 del presente capítulo).

Evaluación del contenido estacional de proteína, catalasa y peroxidasa en copoazú

Contenido de proteína soluble

El contenido de proteína soluble en material foliar de copoazú se puede observar en la figura 2.9 En las plantas de la localidad de San Vicente

del Caguán se observan los mayores contenidos de proteína comparado con las plantas de la localidad de Belén de los Andaquíes. Se encuentra que en San Vicente del Caguán, el ecotipo 4, y comparando entre época húmeda y seca, presenta una disminución significativa en el contenido de proteína; mientras que el ecotipo 11 y el testigo local no presentan diferencias significativas, teniendo el testigo un máximo de contenido en época de transición. Por otro lado, en los clones de Belén de los Andaquíes la tendencia es que el contenido de proteína aumenta de época húmeda a época seca.

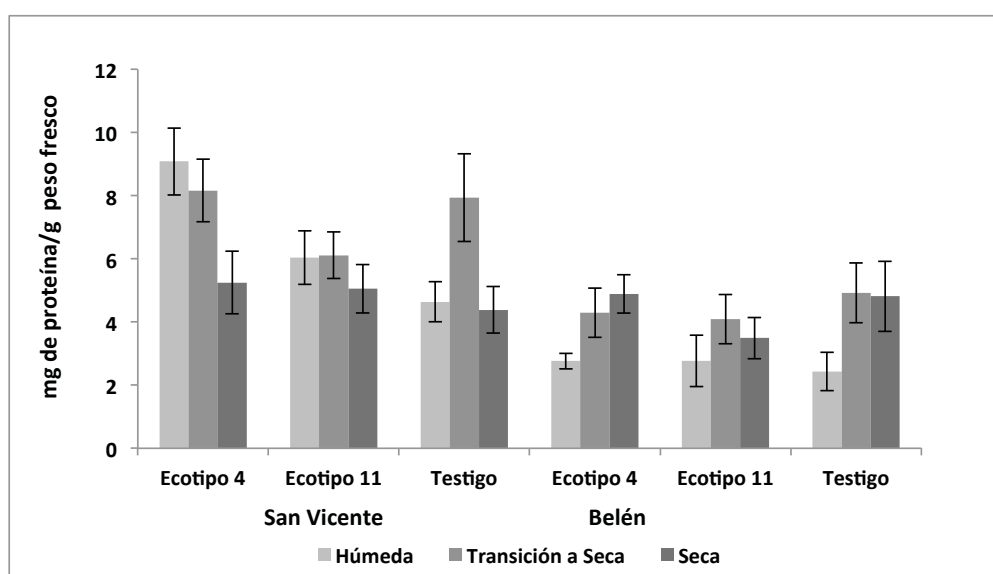


Figura 2.9. Contenido de proteína soluble en tres ecotipos de copoazú (Ecotipo 4, Ecotipo 11 y un testigo local) en dos zonas edafoclimáticas y tres épocas del año (las barras representan la desviación estándar en las medidas).

Actividad enzimática Catalasa CAT

La actividad enzimática catalasa en material foliar de copoazú se puede observar en la figura 2.10. La tendencia general en los ecotipos evaluados es que hay aumento en la actividad enzimática de época húmeda a época seca. Se encontró mayor aumento de actividad en las plantas sembradas en la localidad de Belén.

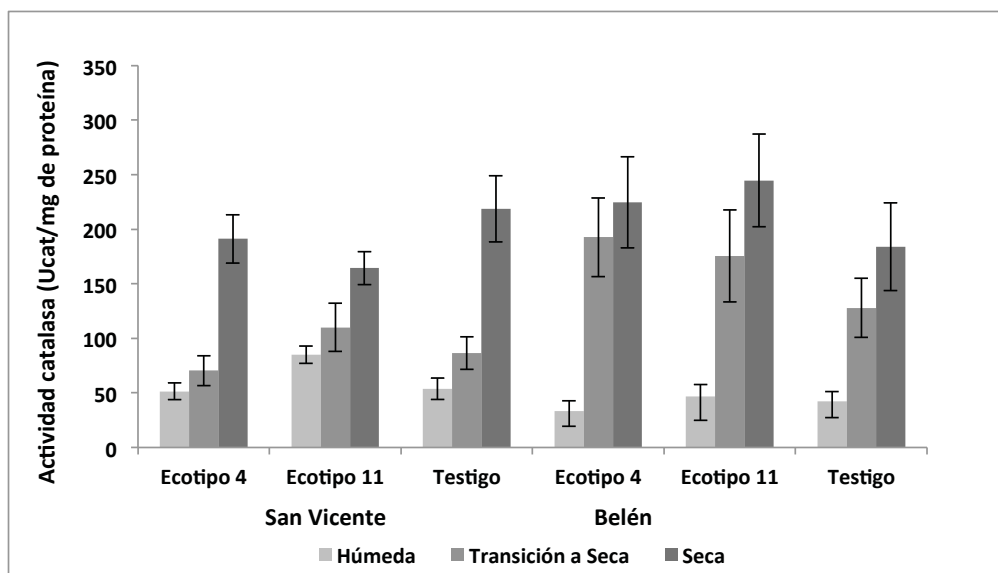


Figura 2.10. Actividad enzimática catalasa en tres ecotipos de copoazú (Ecotipo 4, Ecotipo 11 y un testigo local) en dos zonas edafoclimáticas y tres épocas del año (las barras representan la desviación estándar en las medidas).

Actividad enzimática peroxidasa POD

La actividad enzimática peroxidasa en material foliar de copoazú se puede observar en la figura 2.11. La tendencia general en los ecotipos es que hay aumento en la actividad enzimática de época húmeda a época seca, con variaciones en la época de transición de húmedo a seco. Se observó mayor aumento en la actividad en las plantas testigo en cada una de las localidades. La tendencia a mayores actividades se presenta en las plantas de la localidad de Belén.

Al igual que en este estudio, se reportó en material foliar en tres clones de *Gmelina arborea* cambios en la actividad catalasa y peroxidasa, presentando aumento de época húmeda a época seca (Crespo *et al.*, 2011); en genotipos tolerantes de caña de azúcar también se presentan aumentos en la actividad enzimática CAT (Boaretto *et al.*, 2014); y en material foliar de plantas jóvenes de *Moringa oleífera* sometidas a estrés moderado igualmente (Rivas *et al.*, 2013). Aunque los clones de copoazú

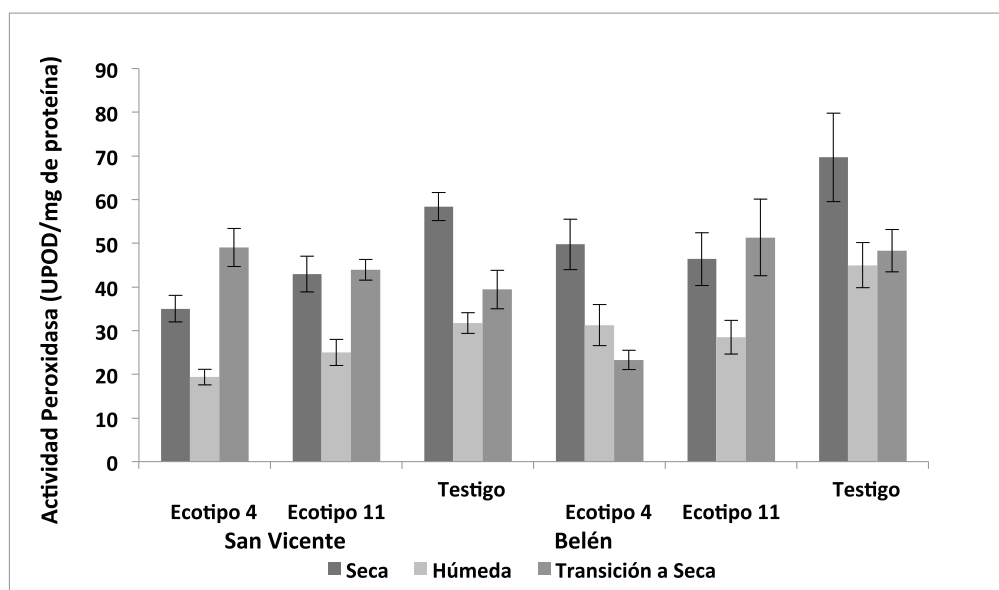


Figura 2.11. Actividad enzimática peroxidasa en tres ecotipos de copoazú (Ecotipo 4, Ecotipo 11 y un testigo local) en dos zonas edafoclimáticas y tres épocas del año (las barras representan la desviación estándar en las medidas).

tienen una respuesta favorable respecto a estos tres primeros parámetros medidos, es el testigo local quien presenta la mejor respuesta al déficit hídrico estacional en las dos zonas edafoclimáticas estudiadas.

Evaluación del contenido estacional de algunas enzimas del Ciclo Ascorbato-Glutatión en copoazú

Actividad enzimática Superóxido dismutasa SOD

La actividad enzimática superóxido dismutasa en material foliar de copoazú se puede observar en la figura 2.12. La tendencia general en las plantas de la localidad de san Vicente es un aumento gradual de época húmeda a época seca pasando por época de transición, presentándose que los contenidos entre ecotipos son estadísticamente similares en cada época. Por otro lado, en las plantas de la localidad de Belén hay un aumento de actividad de época húmeda a época seca en el ecotipo

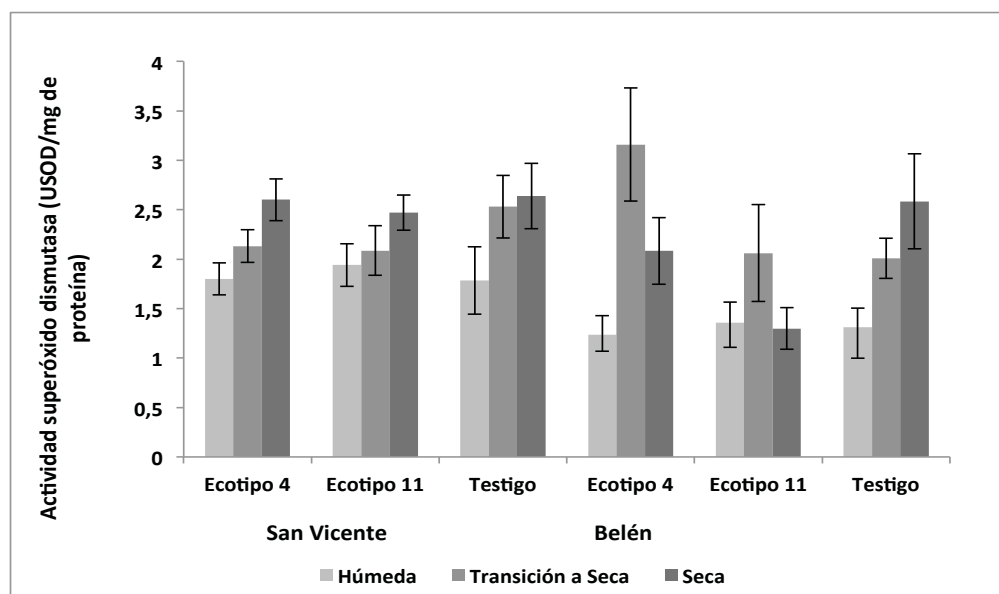


Figura 2.12. Actividad enzimática superóxido dismutasa en tres ecotipos de copoazú (Ecotipo 4, Ecotipo 11 y un testigo local) en dos zonas edafoclimáticas y tres épocas del año (las barras representan la desviación estándar en las medidas).

4 y el testigo, mientras que en el ecotipo 11 no hay diferencias entre estas dos épocas pero si se presenta un máximo en época de transición.

Actividad enzimática Ascorbato peroxidasa APX

La actividad enzimática ascorbato peroxidasa en material foliar de copoazú se puede observar en la figura 2.13. Se presentan las mayores actividades en las plantas de la localidad de San Vicente del Caguán en las tres épocas comparado con las plantas de la localidad de Belén de los Andaquíes. Se encuentra que la tendencia general en el municipio de San Vicente del Caguán es que no hay diferencias en la actividad enzimática de los ecotipos evaluados de época húmeda a época de transición, pero hay un aumento considerable en la época seca, presentándose la mayor variación en el ecotipo 11.

En la localidad de Belén de los Anadquíes, el testigo presenta la misma tendencia que todos los ecotipos evaluados en la localidad de

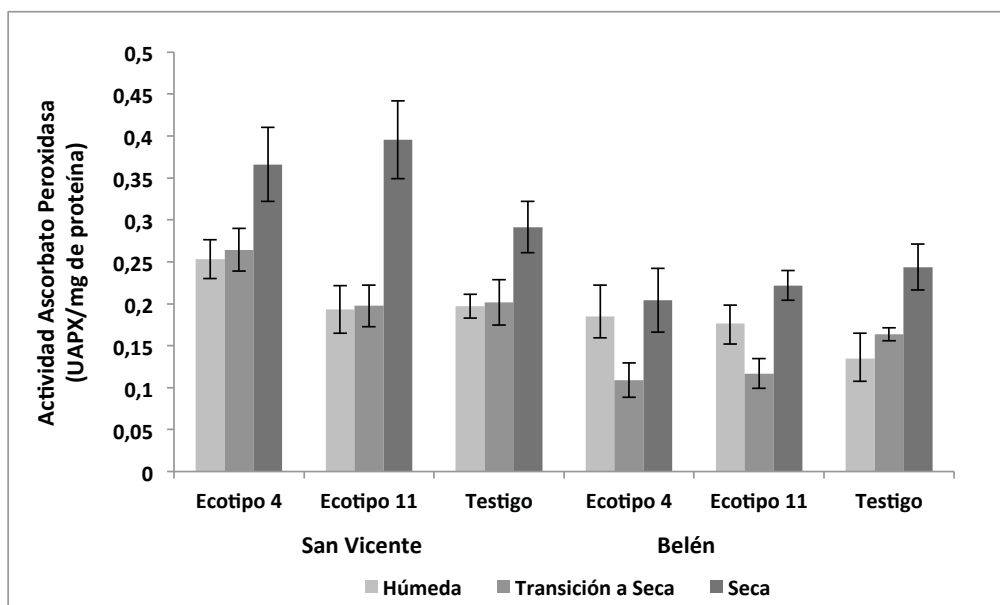


Figura 2.13. Actividad enzimática ascorbato peroxidasa en tres ecotipos de copoazú (Ecotipo 4, Ecotipo 11 y un testigo local) en dos zonas edafoclimáticas y tres épocas del año (las barras representan la desviación estándar en las medidas).

San Vicente del Caguán. En la localidad de Belén de los Anadaquíes los ecotipos 4 y 11, y comparando entre la época húmeda y seca tienen una ligera tendencia a aumentar la actividad APX, la cual es menor comparando con los ecotipos sembrados en San Vicente del Caguán.

Se ha reportado que en especies del género *Amaranthus* el efecto combinado de las enzimas pertenecientes al ciclo ascorbato glutatión como GR, APX y SOD producen niveles de regulación frente a los efectos tóxicos del peróxido de hidrógeno y que además dicha regulación se asocia con tolerancia al estrés (Slabbert y Krüger, 2014).

De acuerdo a este parámetro, los ecotipos de copoazú que presentan mejor respuesta a la época seca son el ecotipo 4 y el testigo local. La mayor respuesta a la época seca se dio en las plantas de la localidad de San Vicente del Caguán en los tres ecotipos, lo que sugiere que se presentó una época seca más severa en esta localidad y a su vez

una buena capacidad de respuesta de las plantas de copoazú para contrarrestar el efecto negativo del déficit hídrico.

Evaluación del contenido estacional de algunos osmolitos compatibles en copoazú

Contenido de prolina

El contenido de prolina en material foliar de copoazú se puede observar en la figura 2.14. Se observa que no hay una tendencia clara entre épocas, pero claramente se tiene que los mayores contenidos foliares de prolina se encuentran en los ecotipos sembrados en la localidad de Belén de los Andaquíes.

En las plantas de esta localidad se observa un aumento en el contenido de prolina, comparando entre la época húmeda y época seca, en los ecotipos 4 y 11; mientras que el testigo no tiene un cambio significativo entre estas dos épocas pero presenta un máximo en la época de

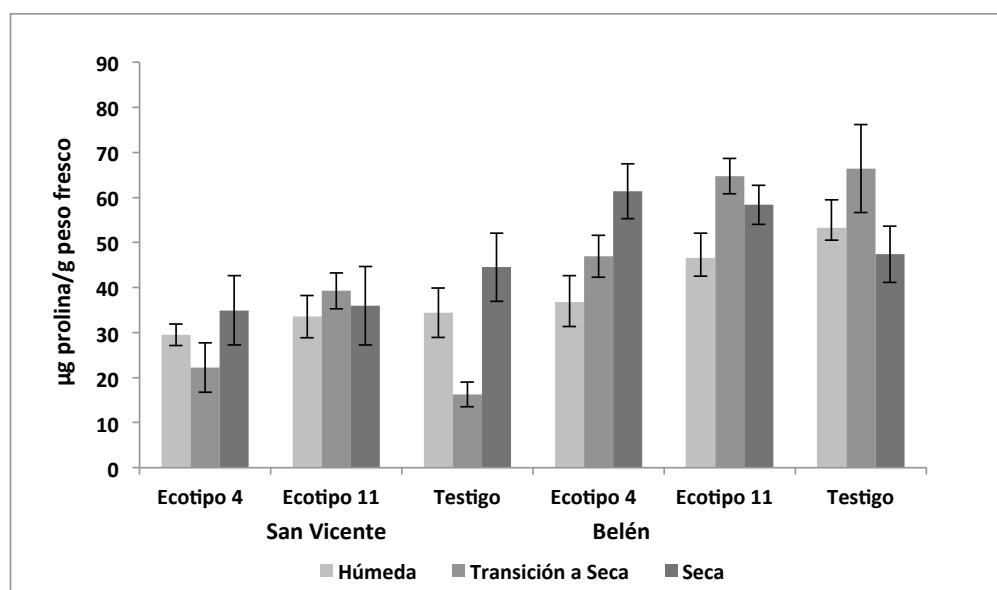


Figura 2.14. Contenido de prolina en tres ecotipos de copoazú (Ecotipo 4, Ecotipo 11 y un testigo local) en dos zonas edafoclimáticas y tres épocas del año (las barras representan la desviación estándar en las medidas).

transición. Por otro lado, en la localidad de San Vicente del Caguán los ecotipos no presentan diferencias significativas entre épocas, excepto el testigo que presenta una disminución en época de transición.

Contenido de azúcares solubles

El contenido de azúcares solubles en material foliar de copoazú se puede observar en la figura 2.15. El ecotipo 4 en las dos localidades presenta aumento en el contenido de azúcares entre las dos épocas contrastantes húmeda y seca. El ecotipo 11 en San Vicente del Caguán presenta aumento entre las dos épocas contrastantes, mientras que en Belén de los Anadquies presenta una leve disminución. El testigo en San Vicente del Caguán presenta una leve disminución.

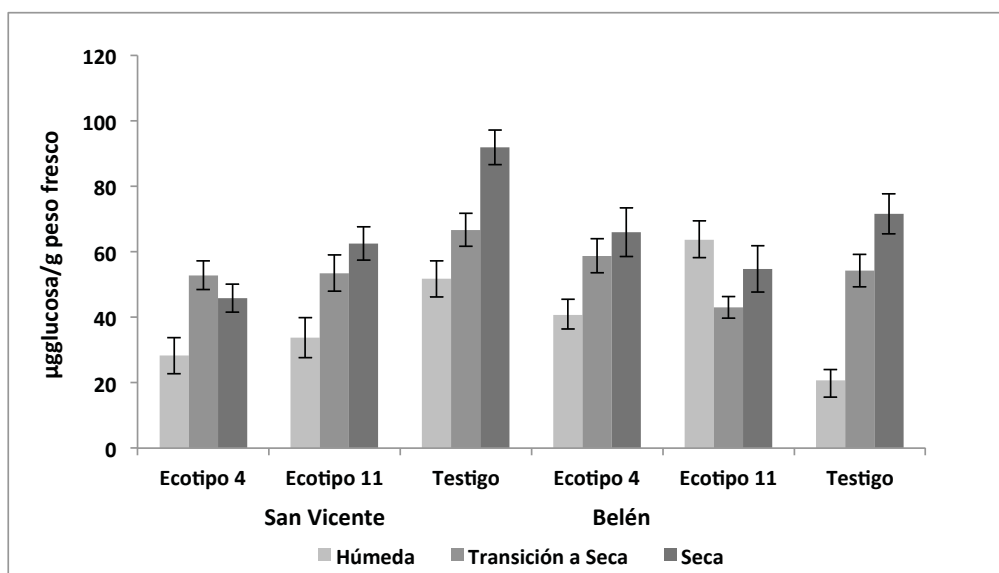


Figura 2.15. Contenido de azúcares solubles en tres ecotipos de copoazú (Ecotipo 4, Ecotipo 11 y un testigo local) en dos zonas edafoclimáticas y tres épocas del año (las barras representan la desviación estándar en las medidas).

Se ha reportado que la acumulación de prolina se presenta en eventos de déficit hídrico, de hecho se ha encontrado que la manipulación de los genes relacionados con la biosíntesis de este aminoácido proporcionan tolerancia frente a varios tipos de estrés como el déficit hídrico (Gruszka *et al.*, 2007); actuando como osmoprotector y en procesos

de ajuste osmótico al igual que los azúcares de bajo peso molecular. Además actúa como antioxidante, protección contra la fotoinhibición, regulador de la acidez del citosol, y sirve como fuente de carbono y nitrógeno de reserva (Gruszka *et al.*, 2007; Mousavi *et al.*, 2009).

Adicionalmente se ha reportado que los contenidos de prolina y azúcares aumentan con el déficit hídrico (Mohammadkhani y Heidari, 2008; Crespo *et al.*, 2011; Yousfi *et al.*, 2010; entre otros).

De acuerdo a los resultados obtenidos en copoazú en referencia a osmolitos compatibles se sugiere que el ecotipo que mejor respuesta tiene frente a la época seca es el testigo local debido a su aumento en el contenido de azúcares y prolina.

Referencias bibliográficas

- AEBI, H. 1974. Catalase, In Methods of Enzymatic Analysis (Segunda Edición). 1974. Editado por Hans Ulrich Bergmeyer, Academic Press, pp 673-684.
- BANDURSKA, H.; NIEDZIELA, J.; CHADZINIKOLAU, T. 2013. Separate and combined responses to water deficit and UV-B radiation. Plant Science, 213: 98-105.
- BATES, L.; WALDREN, R.P.; TEARE, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil 39: 205-207.
- BEAUCHAMP, C. Y FRIDOVICH, I. 1971. Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Analytical Biochemistry, 44: 276-286.
- BHUSHAN, D.; PANDEY, A.; CHOUDHARY, M.K.; DATTA, A; CHAKRABORTY, S; CHAKRABORTY, N. 2007. Comparative Proteomics Analysis of Differentially Expressed Proteins in Chickpea Extracellular Matrix during Dehydration Stress. Molecular and Cellular Proteomics, 6 (11): 1868-1884.
- BOARETTO, L.F.; CARVALHO, G.; BORGO, L.; CRESTE, S.; LANDELL, M.; MAZZAFERA, P.; AZEVEDO, R. 2014. Water stress reveals differential antioxidant responses of tolerant and non-tolerant sugarcane genotypes. Plant Physiology and Biochemistry, 74: 165-175.

- BOUSSADIA, O.; BCHIR, A.; STEPPE, K.; VAN LABEKE, M.C.; LEMEUR, R.; BRAHAM, M. 2013. Active and passive osmotic adjustment in olive tree leaves during drought stress. *European Scientific Journal*, 9 (24): 423-439.
- BOX, A. Ecología de Caulerpales: fauna y biomarcadores. Tesis doctoral. 2008. Universidad de las islas Baleares.
- BRADFORD, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein using the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72: 248-254.
- CLAUSSEN W. 2005. Proline as a measure of stress in tomato plants. *Plant Science* 168: 241-248.
- CRESPO, S. C.; MORENO-CHACÓN, L.; ROJAS, A.; MELGAREJO, L. M. 2011. Principal component analysis of changes due to water stress for some osmolytes, pigments and antioxidant enzymes in *Gmelina arborea* Robx: leaves from trees planted in northern Colombia. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 22(12): 2275-2280.
- DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; ROBERS, P.A.; SMITH, F. 1956. Colorimetric method for the determination of sugar and related substances. *Analytical Biochemistry*, 28: 350-356
- DURAND, T.; SERGEANT, K.; RENAUTA, J.; PLANCHON, S.; HOFFMANN, L.; CARPIN, S.; LABEL, P.; MORABITO, D.; HAUSMAN, J. 2011. Poplar under drought: Comparison of leaf and cambial proteomic responses. *Journal of proteomics* 74: 1396 – 1410.
- GIANNOPOLITIS, C. YRIES, S. 1977. Superoxide dismutases: occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, 59: 309-314.
- GILL, S. Y TUTEJA, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48 (12): 909-930.
- GRUSZKA, E.; SCHUSTER, I.; PILEGGI, M.; SCAPIM, C.; CORREA, H.; MARUR, C.; ESTEVES, L. 2007. Stress-induced synthesis of proline confers tolerance to water deficit in transgenic wheat. *Journal of Plant Physiology*, 164(10): 1367-1376.
- KUMAR, R., AWANEESH, K., KUMAR, V., MEDICHERL, J. 2011. Biochemical characterization of a peroxidase isolated from Caribbean plant: *Euphorbia cotinifolia*. *Process Biochemistry*, 46: 1350–1357.

- LIU, S.C.; YAO, M.Z.; MA, C.L.; JIN, J.Q.; MA, J.Q.; LI, C.F.; CHEN, L. 2015. Physiological changes and differential gene expression of tea plant under dehydration and rehydration conditions. *Scientia Horticulturae*, 184: 129-141.
- MARTÍNEZ-LÜSCHER, J.; MORALES, F.; DELROT, S.; SÁNCHEZ-DÍAZ, M.; GOMÈS, E.; AGUIRREOLEA, J.; PASCUAL, I. 2015. Characterization of the adaptive response of grapevine (cv. Tempranillo) to UV-B radiation under water deficit conditions. *Plant Science*, 232: 13-22.
- MIKKELSEN S.; CORTÓN, E. 2004. Spectroscopic Methods for Matrix Characterization. *Bioanalytical Chemistry*. Chapter 1. Wiley-Interscience, USA. p: 11-12.
- MOHAMMADKHANI, N; HEIDARI, R. 2008. Drought-induced Accumulation of Soluble Sugars and Proline in Two Maize Varieties. *World Applied Sciences Journal* 3 (3): 448-453.
- MORENO, L.; CRESPO, S.; PÉREZ W.; MELGAREJO L. M. 2010. Capítulo X Pruebas bioquímicas como herramientas para estudios en fisiología. En: *Experimentos en Fisiología Vegetal*. 277pp. Universidad Nacional de Colombia Primera edición, Diciembre de 2010. pp 135-184.
- MOUSAVI, E.A.; KALANTARI, K.M.; JAFARI, S.R. 2009. Change of some osmolytes accumulation in water-stressed colza (*Brassica napus* L.) As affected by 24-epibrassinolide. *Iranian Journal of Science & Technology*, Transaction A, 33, No. A1.
- NOCTOR, G.; VELJOVIC-JOVANOVIC, S.; DRISCOLL, S.; NOVITSKAYA, L.; FOYER, C.H. 2002. Drought and oxidative load in the leaves of C3 plants: a predominant role for photorespiration?. *Annals of Botany*, 89: 841-850.
- PÉREZ, L.V.; ROJAS, Y.D.; MELGAREJO, L.M. 2010. Capítulo IV Agua. En: *Experimentos en Fisiología Vegetal*. 205 pp. Universidad Nacional de Colombia Primera edición, Diciembre de 2010. pp 63-78.
- PÉREZ, W. 2012. Aproximación proteómica del material IRHO 7001 de palma de aceite *Elaeis guineensis* Jacq en condiciones de déficit hídrico. Tesis de maestría. Universidad Nacional de Colombia. Disponible en: <<http://www.bdigital.unal.edu.co/11465/>>.
- RIVAS, R.; OLIVEIRA, M.T.; SANTOS, M.G. 2013. Three cycles of water deficit from seed to young plants of *Moringa oleifera* woody species

- improves stress tolerance. *Plant Physiology and Biochemistry*, 63: 200-208.
- SHAFIQ, S.; AKRAM, N.A.; ASHRAF, M. 2015. Does exogenously-applied trehalose alter oxidative defense system in the edible part of radish (*Raphanus sativus* L.) under water-deficit conditions?. *Scientia Horticulturae*, 185: 68-75.
- SHARMA, P.; JHA, A.B.; DUBEY, R.S.; PESSARAKLI, M. 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany*: 1-26.
- SHI, Y.; ZHANG, Y.; YAO, H.; WU, J.; SUN, H.; GONG, H. 2014. Silicon improves seed germination and alleviates oxidative stress of bud seedlings in tomato under water deficit stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 78: 27-36.
- SLABBERT, M.M.; KRÜGER, G.H.J. 2014. Antioxidant enzyme activity, proline accumulation, leaf area and cell membrane stability in water stressed *Amaranthus* leaves. *South African Journal of Botany* 95: 123–128
- SOFO, A.; CICCIO, N.; PARAGGIO, M.; SCOPA, A. 2010. Regulation of the Ascorbate–Glutathione Cycle in Plants Under Drought Stress. En: *Ascorbate-Glutathione Pathway and Stress Tolerance in Plants*. Editores ANJUM, N. A.; CHAN, M. T.; UMAR, S. Editorial Springer, Holanda, p 137-189.
- STERLING, A.; RODRÍGUEZ, C.; CAICEDO, D.; BETANCURT, B.; MAZORRA, A.; DUSSAN, I.; CASTILLO, J.; RUIZ, P.; GARZÓN, T.; JARA, Y. 2012. Evaluación del desempeño y arquitectura de copas de diez clones de caucho natural (*Hevea brasiliensis*) en tres Campos Clonales a Gran Escala CCGE. Capítulo 1 en: *Ampliación de la base genética de caucho natural con proyección para la Amazonia colombiana: fase de evaluación en periodo improductivo a gran escala*. Sterling, A. y Rodríguez, C. (Eds.). Bogotá, Colombia: Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas- Sinchi.
- SWEETLOVE, L., I. MOLLER. 2009. Oxidation of Proteins in Plants—Mechanisms and Consequences. *Advances in Botanical Research*, 52: 1-24.

- SZÖLLÖSI, R. 2014. Capítulo 3–Superoxide Dismutase (SOD) and Abiotic Stress Tolerance in Plants: An Overview, In: Oxidative Damage to Plants, editado por Parvaiz Ahmad, Academic Press, San Diego, pp 89-129.
- TALBI, S.; ROMERO-PUERTAS, M.C.; HERNÁNDEZ, A.; TERRÓN, L.; FERCHICHI, A.; SANDALIO, L.M. 2015. Drought tolerance in a Saharian plant *Oudneya africana*: Role of antioxidant defences. *Environmental and Experimental Botany*, 111: 114–126.
- VERBRUGGEN, N Y HERMANS, C. 2008 Proline accumulation in plants: a review. *Amino Acids*. 35 (4): 753-759.
- YANNARELLI, G., FERNÁNDEZ, A., SANTA, D., TOMARO, M. 2007. Glutathione reductase activity and isoforms in leaves and roots of wheat plants subjected to cadmium stress. *Phytochemistry*, 68: 505–512.
- YOUSFI, N.; SLAMA, I.; GHNAYA, T.; SAVOURÉ, A.; ABDELLY, C. 2010. Effects of water deficit stress on growth, water relations and osmolyte accumulation in *Medicago truncatula* and *M. laciniata* populations. *Comptes Rendus Biologies*, 333 (3): 205-213.
- WANG, L.F. Physiological and molecular responses to drought stress in rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.). 2014. *Plant Physiology and Biochemistry*, 83: 243-249.
- ZAGORCHEV, L.; SEAL, C.E.; KRANNER, I.; ODJAKOVA, M. 2013. A Central Role for Thiols in Plant Tolerance to Abiotic Stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 14: 7405-7432.

CAPÍTULO III

Epidemiología del mal suramericano de las hojas (*Microcyclus ulei*) en tres clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) presentes en dos zonas climáticas de Caquetá (Colombia)

Armando Sterling Cuéllar*¹, Erminso Garzón López²,
Ingrid Vanesa Guano Franco², Brisvany Estefania Guerra
Montealegre², Lyda Yasmin Jara Jiménez³



¹ Investigador Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas “SINCHI” Sede Florencia.
E-mail: asterling@sinchi.org.co, asterlingc@gmail.com (*Autor de correspondencia)

² Tesistas contratistas del proyecto. Contrato RC No. 746-2011 FIDUCIARIA
BOGOTÁ-COLCIENCIAS-SINCHI-UNAL-ASOHECA

³ Coinvestigador del proyecto

Introducción

Dada la importancia del caucho natural y su creciente demanda en el mercado internacional, en Colombia se han venido adelantando planes masivos para la expansión del cultivo la mayoría de ellos apoyados en el establecimiento de nuevas hectáreas en pequeños y medianos cultivadores cuya estrategia busca en general, compensar en primer lugar la demanda interna, ya que el país sólo cubre el 3% de la demanda nacional (CCC, 2011).

No obstante, la mayoría de los cultivares de caucho establecidos en Colombia 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, 2010a, b, c; Sterling y Melgarejo, 2014). 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.*, 2012).

Esta situación ha impulsado en el ámbito nacional, la necesidad no sólo de ampliar la base genética de caucho natural en el país (Castellanos *et al.*, 2009) especialmente en regiones con amplia tradición cauchera como el departamento de Caquetá (Amazonia colombiana) (Sterling y Rodríguez, 2011, 2012), sino además la necesidad de identificar el impacto real del SALB, así como las estrategias de manejo integrales que permitan realizar un control apropiado de la enfermedad (Castellanos *et al.*, 2009; Sterling y Rodríguez, 2014).

En respuesta a la necesidad de dar soluciones ante la presión ambiental que representa este problema fitosanitario en la región amazónica para el cultivo de caucho, se han adelantado diversos estudios en procura de identificar nuevos materiales promisorios con resistencia al SALB (Sterling y Rodríguez, 2011; Sterling y Rodríguez, 2012) y la evaluación de nuevos modelos de siembra en diseños agroforestales con el fin de aprovechar el máximo potencial genético de los nuevos materiales (Sterling y Rodríguez, 2014; Sterling *et al.*, 2015).

Sin embargo, son pocos los estudios donde se han analizado la dinámica epidemiológica del SALB en Colombia (Castro, 2011) y en condiciones de la Amazonia colombiana éste conocimiento no se encuentra documentado. En este sentido, es fundamental generar información relacionada con la epidemiología de la enfermedad, lo cual permitirá diseñar estrategias apropiadas para el diagnóstico, el monitoreo y el manejo integral del SALB en los principales materiales comerciales establecidos en la región y en los nuevos materiales de caucho promisorios para la Amazonia colombiana.

De acuerdo con lo anterior, en el presente capítulo se exponen los resultados relacionados con el seguimiento temporal del SALB (dos ciclos de defoliación – refoliación anual) en tres clones de caucho (FX 3864, FX 4098 y IAN 873) presentes en dos zonas climáticas del departamento de Caquetá (Amazonia colombiana).

Mal suramericano de las hojas (*Microcyclus ulei* (P. Henn) v. Arx)

El SALB es la principal enfermedad del caucho natural y se encuentra distribuida en todas las zonas productoras de caucho de América Central y del Sur, en donde representa el principal limitante para el establecimiento de nuevos cultivos en estas regiones (Gasparotto *et al.*, 2012). Este hongo, endémico de Centro y Sudamérica, fue inicialmente identificado en árboles de caucho del Brasil en 1904. La clasificación taxonómica del agente etiológico se ha realizado con base en la forma

perfecta o fase telomórfica del hongo, 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

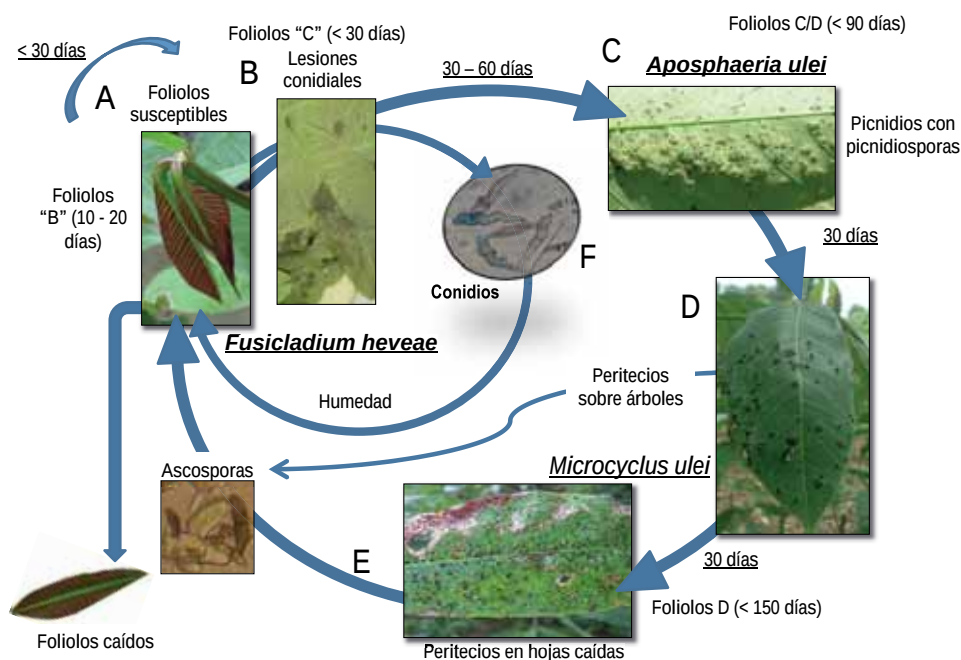


Figura 3.1. Ciclo de vida de *Microcyclus ulei* agente causal del mal suramericano de las hojas de caucho (*Hevea brasiliensis*). Adaptado de Gasparotto *et al.* (2012).

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 ciclo completo del SALB (Figura 3.1) dura aproximadamente de 4 a 5 meses (Gasparotto *et al.*, 2012) el cual comienza con la liberación de los ascosporos presentes en folíolos maduros senescentes, los cuales son diseminados por el viento afectando folíolos jóvenes, especialmente de otras plantas que a su vez producirán nuevas esporas (conidios) alcanzada la fase infecciosa de la enfermedad. Las conidias y ascosporas son diseminadas para infectar e iniciar ciclos primarios y secundarios de la enfermedad.

La fase epidemiológica o explosiva del SALB se produce cuando el hongo cumple varios ciclos continuos produciendo nuevas defoliaciones y mayor cantidad de inóculo. El ciclo culmina con la formación nuevamente de ascosporos en folíolos con madurez fisiológica.

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.*, 2012). 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 (Rivano *et al.*, 2013).

Evaluación epidemiológica del mal suramericano de las hojas–SALB

La evaluación epidemiológica del SALB consistió en el seguimiento temporal de los síntomas de la enfermedad, los patrones fenológicos foliares y los principales factores climáticos presentes en dos ciclos de

defoliación – refoliación anual (ciclo 1: septiembre de 2013 a enero de 2014 y ciclo 2: septiembre de 2014 a enero de 2015) para árboles de caucho en etapa de crecimiento (6 años de edad) pertenecientes a tres clones (FX 3864, FX 4098 y IAN 873) establecidos en dos zonas climáticas con diferente prevalencia al SALB (Sterling *et al.*, 2012): Belén de los Andaquíes (clima cálido muy húmedo y alta incidencia de la enfermedad) y San Vicente del Caguán (clima cálido húmedo y baja incidencia de la enfermedad) en el departamento de Caquetá, Colombia (Tabla 1.1). A continuación se describen los principales parámetros evaluados.

Evaluación de los síntomas del SALB y su relación con los factores climáticos

En cada zona y para cada clon, se seleccionaron 30 árboles de caucho que entraron en un proceso de defoliación-refoliación anual (ciclo fenológico de renovación foliar), a los cuales se les realizaron evaluaciones semanales durante 16 semanas con el fin de registrar la incidencia y la severidad del SALB desde el inicio de la senescencia foliar hasta la refoliación completa de los árboles.

Para evaluar la incidencia (I) del SALB se empleó la siguiente ecuación:

$$I (\%) = (N_i / N_t) \times 100$$

En donde, N_i corresponde al número de plantas del clon i con síntomas de la enfermedad y N_t representa el número total de plantas evaluadas pertenecientes al clon i .

Para analizar la severidad de ataque del SALB se empleó la escala adaptada 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).

En cada ciclo de evaluación y para cada zona, el registro multitemporal (intervalos de 1 h) de los principales parámetros climáticos [temperatura (°C), humedad relativa (%) y precipitación (mm)] se realizó a través de



Figura 3.2. Cuantificación del SALB en folíolos de caucho (*Hevea brasiliensis*) caídos, empleados en la cuantificación del SALB durante dos ciclos de defoliación –refoliación en dos localidades de Caquetá, Colombia. **A.** Cestos de recolecta. **B.** Folíolos recolectados en los cestos.

una miniestación climática DECAGON® Em50. Los datos registrados se descargaron semanalmente y se utilizaron para calcular distintas variables climáticas derivadas de interés epidemiológico (Tabla 3.2).^F

Análisis del progreso temporal del SALB

Con el fin de describir el progreso de la enfermedad a lo largo del tiempo, se emplearon trampas (cestos) de recolecta de folíolos caídos (Figura 3.2A), contruidos en tubo PVC ($\varnothing = 2.54$ cm) y malla de polisombra al 50% con dimensiones de 1.0 x 1.0 m x 0.5 m (Adaptado de Furtado *et al.*, 2008). Se utilizaron nueve cestos por cada clon, y se distribuyeron al azar entre las líneas bajo las copas de los árboles en una superficie de 1 ha. La colecta de los folíolos se realizó con una periodicidad semanal.

Los folíolos caídos dentro de cada cesto se recolectaron y se empacaron en bolsas plásticas para su posterior evaluación en el Laboratorio de Fitopatología del Instituto “SINCHI” en Florencia, Caquetá. Los folíolos se clasificaron en folíolos sanos y folíolos con lesiones: lesiones conidiales (folíolos jóvenes) y lesiones estromáticas (folíolos maduros) (Furtado *et al.*, 2008). Luego, se eligieron al azar 10 folíolos lesionados por cesto de recolecta (independiente del tipo de lesión) y se contaron el número de lesiones por folíolo (NLF) presentes en un área circular central de 2 cm², la cual se empleó como una medida

de la intensidad de los síntomas del SALB (Adaptado de Furtado *et al.*, 2008) (Figura 3.2B). Los datos recolectados se utilizaron para construir modelos matemáticos para describir las curvas de progreso de la enfermedad a lo largo del tiempo. Asimismo, se calculó el área bajo la curva del progreso de la enfermedad por sus siglas en inglés AUDPC (*Area under the disease progress curve*) a través de la integración trapezoidal de la curva de progreso de la enfermedad (proporción acumulada de NLF en el tiempo) mediante la fórmula propuesta por Campbell y Madden (1990).

Determinación de los patrones fenológicos foliares y su relación con los síntomas del SALB

La caracterización de la fenología foliar de los 30 árboles seleccionados por cada clon en cada localidad, se realizó mediante una escala cualitativa modificada de Furtado (1996), así: de= defoliamiento, considerado a partir del momento en que el 10% de la copa del árbol presenta hojas senescentes en caída, d= defoliamiento y refoliamiento, D= defoliamiento completo, re= refoliamiento y R= refoliamiento completo. Asimismo, se evaluó a nivel de dosel el nivel retención foliar (NRF) mediante la siguiente escala visual: 0= 100% de hojas retenidas, 1= 99-80% de hojas retenidas, 2= 79-60% de hojas retenidas, 3= 59-40% de hojas retenidas, 4= 39 -20% de hojas retenidas y 5= 0% de hojas retenidas y se relacionó con incidencia y la severidad del SALB. Según el clon y la fenofase foliar, una mayor nota en esta escala foliar estuvo relacionada con una mayor intensidad de los síntomas del SALB.

Análisis estadístico

Para el análisis de las variables incidencia (I), severidad (S) y nivel de retención foliar (NRF) en cada ciclo fenológico de renovación foliar, se ajustó un modelo lineal general (MLG) con los factores fijos localidad, clon, tiempo y su interacción (con excepción de I) a un nivel de significancia del 5%. Asimismo, se ajustó un MLG para las variables S y NRF con los factores fijos localidad, fenofase foliar y clon. Adicionalmente, se empleó un MLG para la variable AUDPC con los factores fijos ciclo, localidad y clon.

En los MLG, la varianza residual se modeló para contemplar varianzas diferentes según la heterocedasticidad observada en los efectos fijos del modelo, mientras que la correlación residual para las observaciones sucesivas realizadas sobre una misma planta se contempló mediante un modelo de simetría compuesta. Los criterios de Akaike (AIC) y Bayesiano (BIC) se utilizaron para la selección de la estructura de varianzas y correlaciones residuales. El ajuste del MLG se realizó utilizando la función lme de la librería nlme (Pinheiro *et al.*, 2013) de R (R Core Team, 2014), bajo la interfaz implementada en InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2014).

El análisis de las interacciones, mediante la comparación de medias para las combinaciones de los niveles de todos los factores evaluados, se realizó mediante la prueba de comparaciones múltiples LSD de Fisher con una significancia del 5%. A través de un análisis de correlación de Pearson se estableció el grado de asociación de I y S con los principales parámetros climáticos registrados. Asimismo se analizó la correlación entre I, S y NRF para cada fenofase foliar (con excepción de D) en el clon más susceptible de cada localidad.

Para el análisis del progreso temporal del SALB se probaron tres modelos matemáticos clásicos en epidemiología (Madden *et al.*, 2007) basados en ecuaciones de regresión no lineal:

Modelo Logístico: $Y = 1 / (1 + ((1/y_0) - 1) * \exp(-r * t))$

Modelo Monomolecular: $Y = 1 - (1 - y_0) * \exp(-r * t)$

Modelo de Gompertz: $Y = \exp(-(-\ln(y_0)) + \exp(-r * t))$

En donde, Y corresponde a la proporción acumulada de la intensidad de la enfermedad (NFL), y_0 el inóculo inicial, r la tasa de infección y t el tiempo. Para el análisis de estos modelos, se empleó el procedimiento descrito por Bergamin Filho (1995) y Jesus Junior *et al.* (2004). Los criterios de R^2 , Akaike (AIC) y Bayesiano (BIC) se utilizaron para la selección del mejor modelo matemático.

Todas las pruebas estadísticas se corrieron en el programa InfoStat versión 2014 (Di Rienzo *et al.*, 2014).

Incidencia y severidad del SALB y su relación con los factores climaticos

Se observaron síntomas y signos de *M. ulei* en ambos municipios y en los tres clones de caucho, con excepción de los clones FX 3864 y FX 4098 en el municipio de San Vicente del Caguán, en donde no se reportó la enfermedad para los dos ciclos fenológicos de renovación foliar. Asimismo, se encontraron diferencias muy significativas en las medias de la incidencia y la severidad del SALB para los distintos efectos analizados, con excepción de la interacción clon x tiempo la cual resultó no significativa para ambos ciclos fenológicos (Tabla 3.1).

Tabla 3.1 Análisis de varianza de los efectos localidad (L), clon (C), tiempo (T) y sus interacciones, para la incidencia y la severidad del SALB (*Microcyclus ulei*) en dos ciclos fenológicos de renovación foliar de caucho (*Hevea brasiliensis*) en Caquetá, Colombia.

Varia- bles ^a	Ciclo ^b	p - valores basados en el estadístico de Fisher (F)						
		L	C	T	L x T	C x T	L x C	L x C x T
Incidencia	1	<0.001	<0.001	<0.001	0.005	0.227	<0.001	-
	2	<0.001	<0.001	<0.001	0.005	0.498	<0.001	-
Severidad	1	<0.001	<0.001	<0.001	0.005	<0.001	<0.001	<0.001
	2	<0.001	<0.001	<0.001	0.005	<0.001	<0.001	<0.001

Para ambos ciclos fenológicos de renovación foliar, la mayor incidencia del SALB se presentó en los clones FX 3864 (< 70%) y IAN 873 (< 60%) en los municipios de Belén de los Andaquíes y San Vicente del Caguán, respectivamente (Figura 3.3). El clon FX 4098 presentó la menor incidencia (< 40%) de la enfermedad en Belén y estuvo ausente en San Vicente del Caguán.

En relación con el progreso temporal de la incidencia del SALB e independiente de la localidad (Figuras 3.4A y B), el clon IAN 873 fue el más afectado por la enfermedad, especialmente en el ciclo fenológico 2, con una incidencia promedio máxima de 86.7% en el día 21

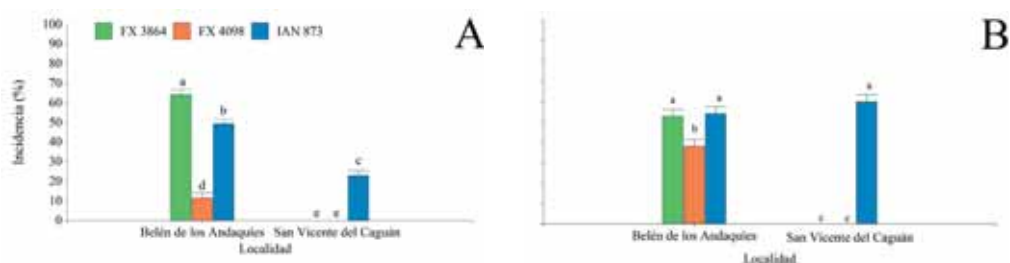


Figura 3.3 Incidencia media (%) del SALB (*Microcyclus ulei*) en tres clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) para dos ciclos fenológicos de renovación foliar en dos localidades de Caquetá, Colombia. **A**, ciclo 1 (septiembre de 2013 a enero de 2014); **B**, ciclo 2 (septiembre de 2014 a enero de 2015). Medias seguidas por la misma letra entre clones en cada localidad no difieren estadísticamente (Prueba LSD; $p < 0.05$). Las barras representan el error estándar de la media.

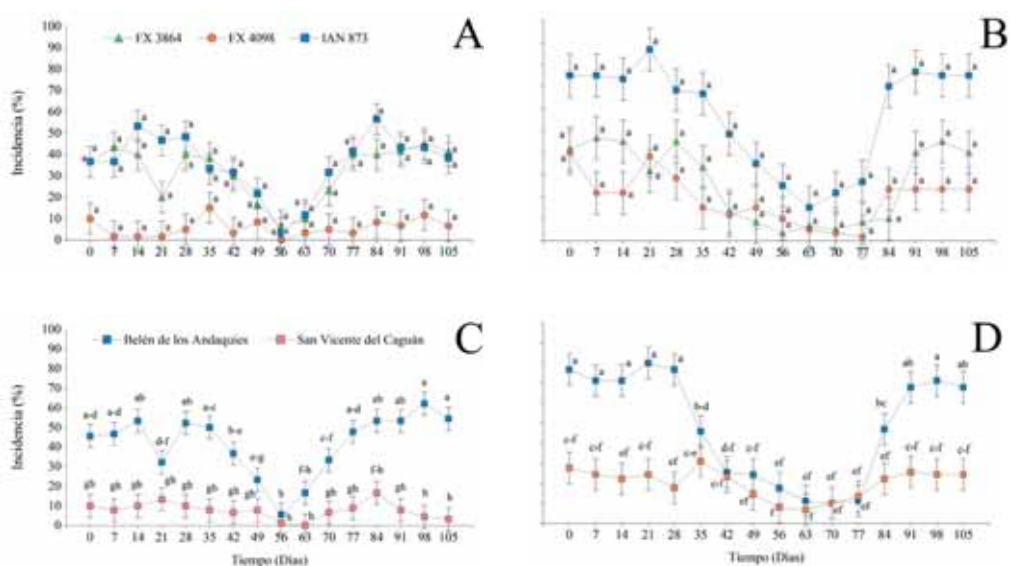


Figura 3.4 Progreso temporal de la incidencia media (%) del SALB (*Microcyclus ulei*) en caucho (*Hevea brasiliensis*) para dos ciclos fenológicos de renovación foliar en Caquetá, Colombia. **A** y **B**, interacción clon x tiempo; **C** y **D**, interacción localidad x tiempo. **A** y **C**, ciclo 1 (septiembre de 2013 a enero de 2014); **B** y **D**, ciclo 2 (septiembre de 2014 a enero de 2015). Medias seguidas por la misma letra entre clones o localidades en cada punto del tiempo no difieren estadísticamente (Prueba LSD; $p < 0.05$). Las barras representan el error estándar de la media.

del seguimiento. En general, para los tres clones de caucho la menor incidencia se observó hacia los días 56 y 63 en ambos ciclos fenológicos. Asimismo, al analizar el efecto de la localidad e independiente del clon de caucho (Figuras 3.4C y D), la mayor incidencia del SALB se reportó en el municipio de Belén en ambos ciclos fenológicos, con medias máximas de 62.2% y 80% en los ciclos 1 y 2, respectivamente. La menor incidencia del SALB (< 2%) se reportó hacia los días 56 y 63 del seguimiento en el municipio de San Vicente del Caguán durante el ciclo fenológico 1.

La severidad del SALB siguió un comportamiento similar a la incidencia. A través del tiempo se observó que los síntomas de la enfermedad se intensificaron en los clones FX 3864 en el municipio de Belén de los Andaqués (ambos ciclos fenológicos) (Figuras 3.5A y B) y IAN 873

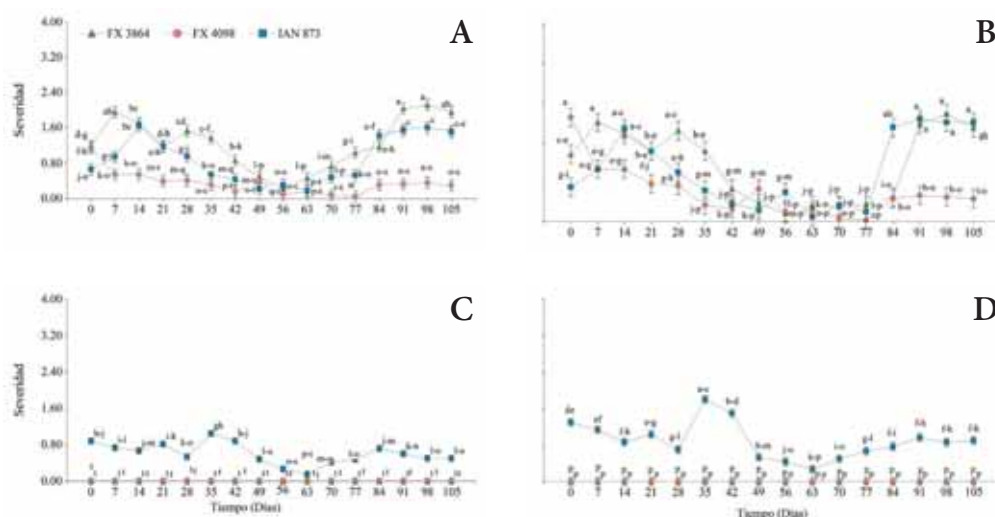


Figura 3.5 Progreso temporal de la severidad media del SALB (*Microcyclus ulei*) en tres clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) para dos ciclos fenológicos de renovación foliar en dos localidades de Caquetá (Colombia). **A** y **B**, municipio de Belén de los Andaqués; **C** y **D**, municipio de San Vicente del Caguán; **A** y **C**, ciclo 1 (septiembre de 2013 a enero de 2014); **B** y **D**, ciclo 2 (septiembre de 2014 a enero de 2015).

Medias seguidas por la misma letra entre clones en cada punto del tiempo no difieren estadísticamente (Prueba LSD; $p < 0.05$). Las barras representan el error estándar de la media.

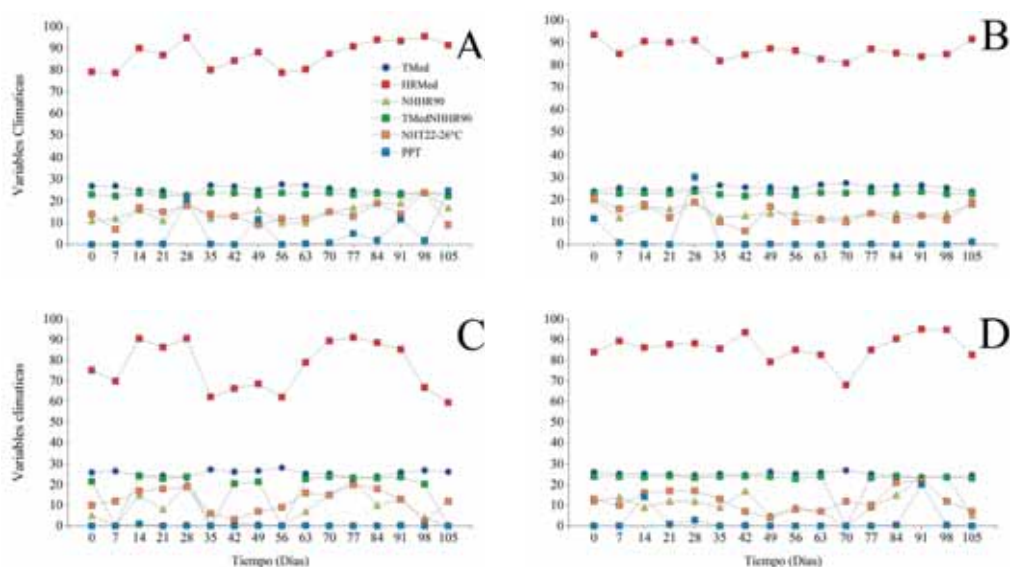


Figura 3.6 Progreso temporal de las principales variables climáticas de interés epidemiológico registradas para dos ciclos fenológicos de renovación foliar de caucho (*Hevea brasiliensis*) en dos localidades de Caquetá, Colombia. **A** y **B**, municipio de Belén de los Andaquíes; **C** y **D**, municipio de San Vicente del Caguán. **A** y **C**, ciclo 1 (septiembre de 2013 a enero de 2014); **B** y **D**, ciclo 2 (septiembre de 2014 a enero de 2015); Tmed, Temperatura media (°C); HRmed, humedad relativa media (%); NHHR90, número de horas diarias con humedad relativa igual o superior a 90%; TMedNHHR90, temperatura media diaria en el periodo con humedad relativa igual o superior a 90% (°C); NHT22-26, número de horas diarias con temperatura entre 22-26°C; PPT, precipitación pluviométrica total diaria (mm).

en el municipio de San Vicente del Caguán (ambos ciclos fenológicos) (Figuras 3.5C y D). En Belén, la severidad media máxima del SALB en el clon FX 3864 fue de 2.17 hacia el día 98 del seguimiento (ciclo 2), mientras que en San Vicente del Caguán la media máxima en el clon IAN 873 fue 1.80 en el día 35 del seguimiento (ciclo 2). En general, para ambas localidades y en ambos ciclos fenológicos se observó un descenso significativo de la severidad entre los días 49 y 70 del seguimiento, similar a lo observado con la incidencia.

Los factores climáticos monitoreados en cada zona de estudio fueron afines a su clasificación climática (Tabla 1.1 y Figura 1.2). En este

sentido, se reportaron mayores humedades relativas y menores temperaturas en el municipio de Belén de los Andaquíes, en comparación con el municipio de San Vicente del Caguán (Figura 3.6). En el municipio de Belén de los Andaquíes se observaron por tanto, a través del tiempo, los mayores rangos en las variables: HRmed (78.6 – 95.5%), NHHR90 (10 – 24 h), NHT22-26 (6 – 24 h), PPT (0 – 30.2 mm), y los menores rangos en las variables: Tmed (22.7 – 27.8 °C) y TMedNHUR90 (21.7 – 23.8 °C).

Los resultados del presente estudio mostraron que los mayores valores de incidencia y severidad del SALB (Figuras 3.4 y 3.5) estuvieron relacionados con la magnitud y con el comportamiento de las variables climáticas registradas durante el seguimiento temporal, especialmente en el municipio de Belén de los Andaquíes (Figura 3.6 y Tabla 3.2).

Según la tabla 3.2, las variables climáticas que mejor se asociaron con la enfermedad fueron NHHR90, TMed, Tmax, HRMed y HRmin. Esta interdependencia fue más notoria en el municipio de Belén, en cuyo caso NHHR90 (positivamente) y TMed (negativamente) fueron las variables climáticas que más se correlacionaron con la incidencia y con la severidad del SALB. En éste estudio la precipitación pluviométrica total diaria (PPT) no se correlacionó significativamente con la incidencia ni con la severidad del SALB.

Los resultados de esta investigación coinciden con Ribeiro do Vale *et al.* (2004), en el sentido en que la temperatura, es uno de los factores ambientales que más influyen en la incidencia y la severidad de las enfermedades. Gasparotto *et al.* (1991) afirman que además de la temperatura, la humedad relativa constituye un factor preponderante en la germinación de los propágulos y en la esporulación del patógeno.

Furtado *et al.* (2008) y Guyot *et al.* (2010) afirman que las condiciones climáticas contrastantes, principalmente de temperatura y humedad relativa, tienen un efecto negativo sobre el desarrollo del SALB. Esto podría relacionarse con la menor incidencia y severidad observadas en el municipio de San Vicente del Caguán en donde hubo ausencia de la enfermedad en dos de los tres clones evaluados, a pesar de que los clones FX 3864 y IAN 873 son igualmente susceptibles a *M. ulei*, especialmente en la zona sur de Caquetá, Colombia (Sterling *et al.* 2010c).

Tabla 3.2 Coeficientes de correlación de Pearson (r) y sus respectivos valores de probabilidad (p). entre variables climáticas y variables del SALB (*Microcyclus ulei*) para dos ciclos fenológicos de renovación foliar de caucho (*Hevea brasiliensis*) en dos localidades de Caquetá, Colombia

Variable climática ^b	Belén de los Andaquíes							
	Ciclo 1 ^a				Ciclo 2			
	Incidencia		Severidad		Incidencia		Severidad	
	r	p - valor	r	p - valor	r	p - valor	r	p - valor
Tmed	-0.61	0.012	-0.65	0.006	-0.60	0.014	-0.54	0.031
Tmax	-0.59	0.016	-0.63	0.009	-0.62	0.010	-0.64	0.008
Tmin	-0.02	0.956	-0.10	0.716	0.33	0.212	0.36	0.168
HRmed	0.59	0.017	0.64	0.007	0.57	0.021	0.48	0.061
HRmax	0.31	0.241	0.41	0.115	-0.13	0.634	-0.26	0.326
HRmin	0.58	0.019	0.64	0.008	0.56	0.024	0.51	0.045
NHHR90	0.68	0.004	0.70	0.003	0.59	0.015	0.51	0.045
TMedNHUR90	-0.15	0.583	-0.17	0.528	0.13	0.638	0.13	0.634
TMaxNHUR90	0.33	0.210	0.40	0.125	-0.11	0.684	-0.15	0.580
TMinNHUR90	-0.02	0.956	-0.10	0.716	0.33	0.212	0.36	0.168
NHT22-26	0.44	0.084	0.40	0.128	0.54	0.031	0.52	0.041
PPT	0.29	0.283	0.26	0.332	0.38	0.149	0.22	0.411

Variable climática	San Vicente del Caguán							
	Ciclo 1				Ciclo 2			
	Incidencia		Severidad		Incidencia		Severidad	
	r	p - valor	r	p - valor	r	p - valor	r	p - valor
Tmed	-0.60	0.015	-0.51	0.042	-0.49	0.056	-0.25	0.351
Tmax	-0.42	0.104	-0.27	0.311	-0.50	0.048	-0.32	0.227
Tmin	-0.18	0.515	-0.04	0.872	0.39	0.133	0.25	0.343
HRmed	0.57	0.022	0.53	0.036	0.53	0.035	0.40	0.124
HRmax	0.40	0.130	0.36	0.169	0.42	0.104	0.34	0.194
HRmin	0.55	0.026	0.47	0.063	0.47	0.069	0.31	0.243
NHHR90	0.38	0.150	0.28	0.298	0.51	0.045	0.34	0.195
TMedNHUR90	0.40	0.124	0.40	0.121	0.38	0.151	0.27	0.306
TMaxNHUR90	0.44	0.090	0.43	0.097	0.33	0.217	0.26	0.340
TMinNHUR90	0.37	0.156	0.39	0.140	0.42	0.102	0.29	0.271
NHT22-26	0.41	0.115	0.38	0.150	0.41	0.112	0.17	0.539
PPT	0.09	0.753	0.17	0.533	0.22	0.412	0.02	0.935

^a Ciclo 1. septiembre de 2013 a enero de 2014; ciclo 2. septiembre de 2014 a enero de 2015

^b Tmed. Temperatura media (°C); Tmax. temperatura máxima (°C); Tmin. temperatura mínima (°C); HRmed. humedad relativa media (%); HRmax. humedad relativa máxima (%); HRmin. humedad relativa mínima (%); NHHR90. número de horas diarias con humedad relativa igual o superior a 90%; TMedNHUR90. temperatura media diaria en el periodo con humedad relativa igual o superior a 90% (°C); TMaxNHUR90. temperatura máxima diaria en el periodo con humedad relativa igual o superior a 90% (°C); TMinNHUR90. temperatura mínima diaria en el periodo con humedad relativa igual o superior a 90% (%); NHT22-26. número de horas diaria con temperatura entre 22-26°C; PPT. precipitación pluviométrica total diaria (mm)

Por otro lado, la mayor incidencia del SALB reportada en el municipio de Belén de los Andaquíes estuvo muy correlacionada tanto con la temperatura media (TMed) como con la humedad relativa (HRMed). Según Gasparotto *et al.* (1989) el SALB aparece cuando la humedad relativa es superior al 95% y la temperatura es de 24 °C, especialmente, en los meses de menor precipitación y en periodos de lluvia intermitente.

Ortolani *et al.* (1983) afirman que regiones con humedades relativas superiores al 85%, son altamente favorables para *M. ulei* y por tanto, se presentarán altas incidencias del SALB. Esto coincide con lo reportado en ésta investigación, en donde la humedad relativa media fue superior al 90% en diferentes tiempos de evaluación (Figura 3.6) especialmente en el municipio de Belén de los Andaquíes, en donde se presentaron incidencias del SALB superiores al 80% en al menos uno de los puntos temporales de muestreo en los que se evaluó la enfermedad (Figura 3.4).

Sin embargo, la asociación significativa descrita en esta investigación entre TMed y la severidad del SALB difiere de lo reportado por Honorato Junior (2010), quien no encontró un efecto directo de la PPT y la TMed en la severidad de la enfermedad en ninguna condición topográfica. No obstante, los resultados de éste estudio para PPT coinciden con lo enunciado por éste autor. En contraste, otros autores como Santos (1992) y Camargo y Camargo (2008) consideran que la precipitación pluviométrica total mensual se correlaciona significativamente con la severidad, debido a que ésta variable se encuentra asociada con las primeras fases infecciosas y con el posterior desarrollo de nuevos síntomas de la enfermedad en la planta.

Guyot *et al.* (2010) afirman que la variable denominada número de horas de mojamiento foliar (NHMF) es uno de los parámetros más relacionados con la severidad de la enfermedad. En este estudio aunque ésta variable no se analizó, su alta correlación con la variable NHHR90 podría explicar como el incremento horario en los valores de humedad relativa ($\geq 90\%$) se correlacionaron positivamente con la incidencia y la severidad de la enfermedad especialmente en la localidad de mayor presión del SALB (Belén de los Andaquíes). Estos resultados coinciden con Furtado y Trindade (2005), quienes afirman que el número

de horas con humedad relativa mayor al 90% (NHHR90) es la variable principal en el pronóstico de las epidemias.

Modelos y curvas de progreso temporal del SALB

La cuantificación de los síntomas del SALB a través de los cestos de recolecta de folíolos caídos, generó resultados similares a los obtenidos en los árboles de caucho (sección anterior). En este sentido, en ambos ciclos fenológicos e independiente de la localidad, la mayor proporción de la enfermedad (AUDPC) se estimó para los clones FX 3864 y IAN 873 (Figura 3.7A). Asimismo, en el municipio de Belén de los Andaquíes se reportaron las mayores medias de AUDPC en los clones anteriormente mencionados (Figura 3.7B). No se registraron síntomas del SALB en los clones FX 3864 y FX 4098 en el municipio de San Vicente del Caguán.

Por otro lado, el análisis de las curvas de progreso del SALB permitió establecer que independiente del ciclo fenológico o de la localidad, la enfermedad siguió un crecimiento de tipo logístico en los tres clones clones de caucho (Tabla 3.3. y Figura 3.8).

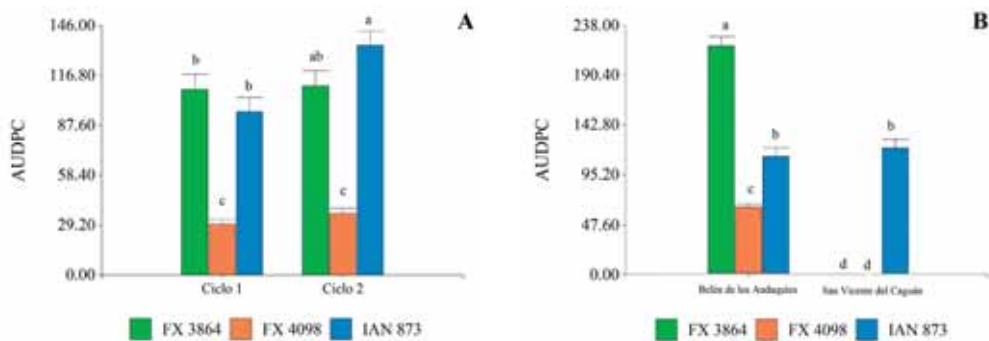


Figura 3.7 Media del área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC) del SALB (*Microcyclus ulei*) en tres clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) según el ciclo fenológico de renovación foliar (A) y la localidad (B) en Caquetá, Colombia. Medias seguidas por la misma letra entre clones para cada ciclo o localidad no difieren estadísticamente (Prueba LSD; $p < 0.05$). Las barras representan el error estándar de la media.

Tabla 3.3 Análisis de regresión lineal utilizados en la evaluación del ajuste de tres modelos matemáticos (logístico, monomolecular y Gompertz) para el patosistema *Hevea brasiliensis*–*Microcyclus ulei* durante dos ciclos fenológicos de renovación foliar de tres clones de caucho evaluados en dos localidades de Caquetá, Colombia.

Modelo ^a	Ciclo ^b	R ^{2*}	R ²	AIC	BIC	y ₀ [*]	Error estándar (y ₀ [*])	y ₀	r	Error estándar (r)
Belén de los Andaquíes										
FX 3864										
Logístico	1	0.99	0.99	-57.68	-55.37	-2.29	0.088	0.092	0.044	0.002
	2	0.99	0.99	-63.63	-61.32	-2.15	0.078	0.104	0.044	0.001
Monomolecular	1	0.89	0.90	-25.07	-22.75	-0.21	0.122	-0.230	0.021	0.002
	2	0.92	0.91	-27.36	-25.04	-0.19	0.105	-0.204	0.022	0.002
Gompertz	1	0.75	0.97	-45.79	-43.47	-1.09	0.099	0.051	0.031	0.002
	2	0.98	0.98	-54.19	-51.87	-1.02	0.081	0.062	0.031	0.001
FX 4098										
Logístico	1	0.95	0.96	-39.63	-37.31	-2.67	0.163	0.065	0.043	0.003
	2	0.98	0.99	-57.44	-55.12	-2.39	0.116	0.084	0.055	0.002
Monomolecular	1	0.75	0.76	-10.74	-8.42	-0.28	0.174	-0.323	0.019	0.003
	2	0.87	0.85	-16.36	-14.04	-0.40	0.192	-0.493	0.031	0.003
Gompertz	1	0.87	0.91	-26.64	-24.32	-1.28	0.177	0.028	0.029	0.003
	2	0.94	0.97	-40.38	-38.06	-1.25	0.160	0.031	0.041	0.003
IAN 873										
Logístico	1	0.98	0.99	-54.26	-51.94	-3.06	0.131	0.045	0.054	0.002
	2	0.97	0.98	-52.89	-50.57	-2.49	0.143	0.076	0.048	0.002
Monomolecular	1	0.90	0.89	-20.77	-18.46	-0.29	0.117	-0.332	0.022	0.002
	2	0.83	0.89	-22.80	-20.49	-0.28	0.169	-0.318	0.023	0.003
Gompertz	1	0.98	0.98	-51.59	-49.27	-1.39	0.078	0.018	0.034	0.001
	2	0.93	0.97	-45.05	-42.73	-1.20	0.146	0.036	0.033	0.003
San Vicente del Caguán^c										
IAN 873										
Logístico	1	1.0	1.0	-47.8	-45.5	-2.2	0.140	0.104	0.043	0.002
	2	1.0	1.0	-61.4	-59.1	-2.3	0.091	0.089	0.048	0.002
Monomolecular	1	0.8	0.9	0.9	-19.8	-0.2	0.164	-0.244	0.022	0.003
	2	0.9	0.9	-20.2	-17.9	-0.3	0.152	-0.323	0.025	0.003
Gompertz	1	0.9	1.0	-37.7	-35.4	-1.0	0.151	0.058	0.031	0.003
	2	0.9	1.0	-45.2	-42.9	-1.1	0.127	0.043	0.034	0.002

^a Valores mayores de R² y valores menores de AIC (criterio de información de Akaike) y de BIC (criterio de información Bayesiano) indicaron el mejor modelo

^b Ciclo 1, septiembre de 2013 a enero de 2014; ciclo 2, septiembre de 2014 a enero de 2015

^c No se registró *M. ulei* en los clones FX 3864 y FX 4098 en el municipio de San Vicente del Caguán, para ambos ciclos de evaluación

R^{2*}, coeficiente de determinación para el ajuste 1: valores transformados (logístico, monomolecular y Gompertz) de la proporción acumulada del número de lesiones por foliolo (NFL) versus el tiempo (días)

R², coeficiente de determinación para el ajuste 2: valores observados versus valores predichos (por cada uno de los tres modelos) de la proporción acumulada del número de lesiones por foliolo (NFL) y el tiempo (días)

y₀^{*}, valor del intersepto para el ajuste 1; y₀ (inóculo inicial), valor del intersepto para el ajuste 2; r (tasa de infección), valor de la pendiente para el ajuste 2.

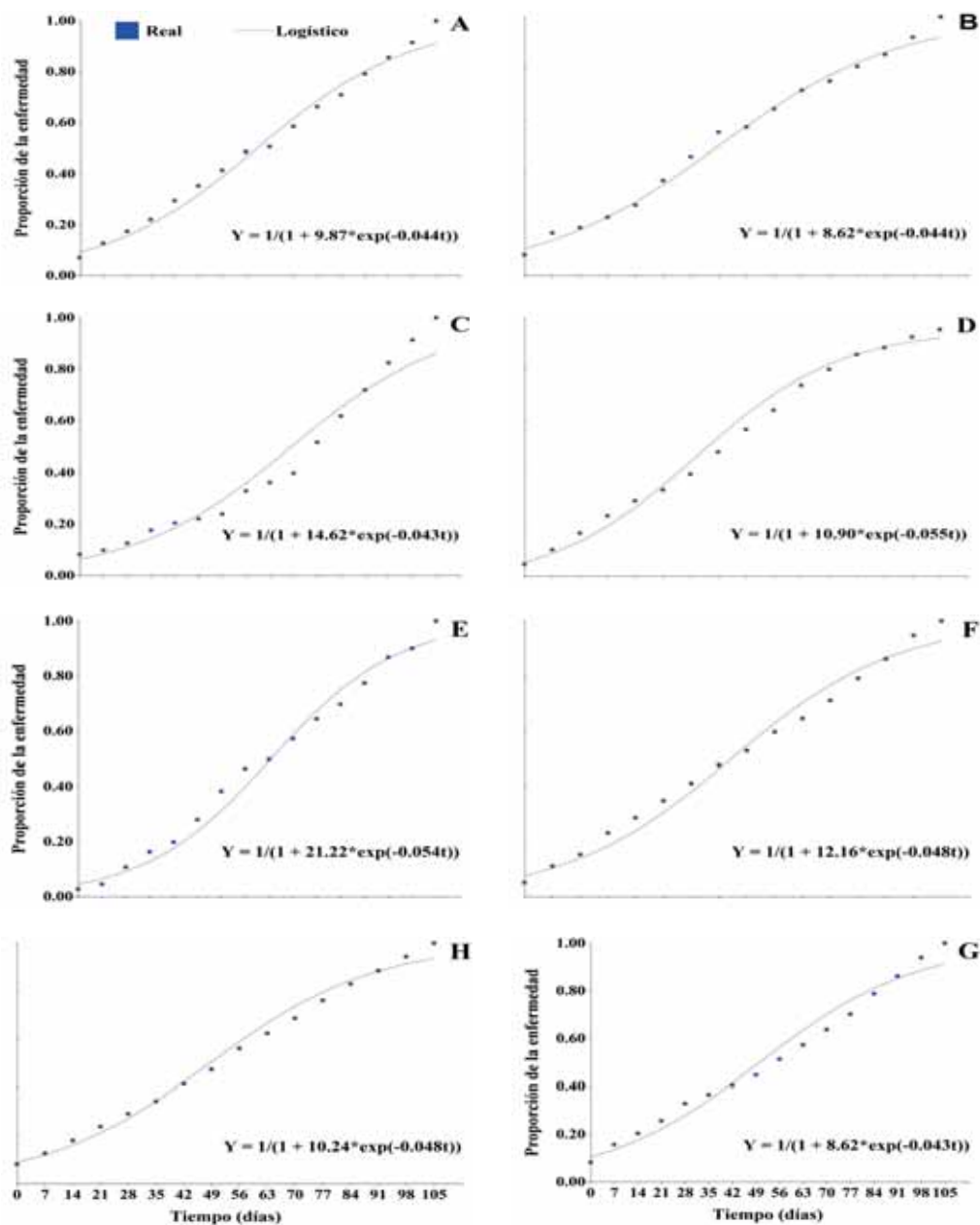


Figura 3.8. Proporción del SALB (*Microcyclus ulei*) en función del tiempo para dos ciclos fenológicos de renovación foliar, de los datos reales y previstos para el mejor modelo (logístico) en tres clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) establecidos en dos localidades de Caquetá (Colombia). **A, C, E y G**, ciclo 1; **B, D, F y H**, ciclo 2; **A, B, C, D, E y F**, Belén de los Andaquíes; **G y H**, San Vicente del Caguán. **A y B**, clon FX 3864; **C y D**, clon FX 4098; **E, F, G y H**, clon IAN 873. No se observó la enfermedad en los clones FX 3864 y FX 4098 en San Vicente del Caguán para los dos ciclos evaluados.

En la localidad de Belén de los Andaquíes (la de mayor incidencia del SALB), las mayores tasas de infección (r) se presentaron en el clon IAN 873, sin embargo, el inóculo inicial (y_0) más alto se reportó en el clon FX 3864 en el segundo ciclo fenológico. En la localidad de San Vicente del Caguán, la susceptibilidad observada en el clon IAN 873 fue inferior ($< y_0$ y $< r$) a la reportada en Belén de los Andaquíes.

Según Camargo y Bergamin Filho (1995), una mayor tasa de infección está relacionada con una ausencia de resistencia horizontal, así como un mayor inóculo inicial se relaciona con una reducción en la resistencia vertical del material genético. Lo anterior, coincide con lo reportado para los clones IAN 873 y FX 3864, los cuales, en condiciones del departamento de Caquetá han demostrado una alta susceptibilidad al SALB especialmente hacia la zona sur del departamento (Sterling *et al.*, 2009, 2010a, b, c, 2012).

Sin embargo, Furtado *et al.* (2008) reportaron para la región del Valle de Ribeira, Estado de São Paulo (Brasil), un mayor inóculo inicial de *M. ulei* en el clon IAN 873 y una mayor tasa de infección en el clon FX 3864, contrario a lo reportado en la presente investigación. Esto indica que el comportamiento epidemiológico en éstos materiales genéticos no sólo depende de su acervo genético (Vanderplank, 1963), sino también de las condiciones ambientales inherentes en cada región (Ortolani *et al.*, 1983).

En esta investigación el modelo de regresión no lineal logístico fue el que mejor se ajustó a las curvas de crecimiento del SALB para los tres clones evaluados. Este modelo coincide con lo reportado por Guyot *et al.* (2008) quienes compararon la evolución temporal de los índices de severidad y estromas en cuatro clones de caucho (incluido el FX 3864) con diferentes susceptibilidad a *M. ulei* en parcelas monoclonales establecidas en la Guyana Francesa.

Según Guyot *et al.* (2008), para cada clon analizado, en la medida en que el índice de severidad máxima de la enfermedad decreció, la media de la tasa máxima de infección del SALB disminuyó respectivamente. Esta afirmación coincide con lo reportado en la presente investigación, especialmente para los clones más susceptibles IAN 873 y FX 3864, los cuales presentaron mayores tasas de infección en la medida en que se incrementó la intensidad de los síntomas (NFL) a través del tiempo.

Patrones fenológicos foliares y su relación con los síntomas del SALB

Se encontraron diferencias muy significativas en las medias de severidad del SALB y en el nivel de retención foliar (NRF) para todos los efectos estudiados en ambos ciclos fenológicos (Tabla 3.4).

Tabla 3.4 Análisis de varianza de los efectos localidad (L), fenología foliar (F), clon (C) y sus interacciones, para la severidad del SALB (*Microcyclus ulei*) y el nivel de retención foliar en dos ciclos fenológicos de renovación foliar de caucho (*Hevea brasiliensis*) en Caquetá, Colombia

Variables ^a	Ciclo ^b	p - valores basados en el estadístico de Fisher (F)						
		L	F	C	L x F	L x C	F x C	L x F x C
Severidad	1	<0.001	<0.001	<0.001	0,005	<0.001	<0.001	<0.001
	2	<0.001	<0.001	<0.001	0,005	<0.001	<0.001	<0.001
Nivel de retención foliar	1	<0.001	<0.001	<0.001	0,005	<0.001	<0.001	<0.001
	2	<0.001	<0.001	<0.001	0,005	<0.001	<0.001	<0.001

^a Para ambas variables, el mejor modelo fue el de varianzas heterogéneas

^b Ciclo 1, septiembre de 2013 a enero de 2014; ciclo 2, septiembre de 2014 a enero de 2015

Por otro lado, el grado de interdependencia entre la intensidad de los síntomas del SALB y el NRF en el dosel de los árboles fue más evidente en los clones más susceptibles evaluados en cada localidad (Tabla 3.5). En este sentido, las variables de la enfermedad (incidencia y severidad) fueron las mejor correlacionadas independiente del clon o de la fenofase considerada. Para algunas de las fenofases estudiadas, se observaron correlaciones significativas positivas y bajas entre los síntomas de la enfermedad y el NRF (a mayor intensidad de la enfermedad menor porcentaje de hojas retenidas en el árbol) (Tabla 3.5).

En el clon FX 3864 que expresó su mayor susceptibilidad al SALB en el municipio de Belén de los Andaquíes, la incidencia y la severidad de la enfermedad se asociaron positiva y significativamente con el NRF en las fenofases iniciales (de y d) del ciclo fenológico de renovación foliar (Tabla

Tabla 3.5 Coeficientes de correlación de Pearson para los clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) más susceptibles al SALB (*Microcyclus ulei*): FX 3864 en Belén de los Andaqués (arriba en la diagonal) y IAN 873 en San Vicente del Caguán (abajo en la diagonal), entre incidencia, severidad y nivel de retención foliar, para cada una de las fenofases foliares evaluadas en Caquetá, Colombia.

Parámetros	Incidencia	Severidad	Nivel de retención foliar
	de ^a		
Incidencia	...	0.70**	0.16*
Severidad	0.85**	...	0.31**
Nivel de retención foliar	0.37**	0.32**	...
	d		
	Incidencia	...	0.70**
Severidad	0.77**	...	0.37**
Nivel de retención foliar	0.06ns	0.06ns	...
	re		
	Incidencia	...	0.87**
Severidad	0.77**	...	-0.12ns
Nivel de retención foliar	-0.08ns	-0.05ns	...
	R		
	Incidencia	...	0.79**
Severidad	0.88*	...	0.02ns
Nivel de retención foliar	0.23**	0.26**	...

^ade, defoliamiento, considerado a partir del momento en que el 10% de la copa del árbol presenta hojas senescentes en caída; d, defoliamiento y refoliamiento; D, defoliamiento completo (no considerado por la ausencia de datos); re, refoliamiento; R, refoliamiento completo

*p < 0.05; significativo; **p < 0.01, muy significativo; ns, no significativo

3.5). Por su parte, el clon IAN 873 que fue el único afectado por el SALB en el municipio de San Vicente del Caguán, los síntomas de la enfermedad estuvieron principalmente asociados con el NRF en el inicio del ciclo fenológico (de) y al final del mismo cuando los árboles refoliaron (R).

El análisis de la evolución temporal del NRF mostró para ésta variable un comportamiento contrastante al observado para la severidad del SALB (Figuras 3.5 y 3.9). En general, se observó un incremento significativo en la media del NRF (disminución del porcentaje de hojas

retenidas) desde el inicio del ciclo fenológico de renovación foliar hasta la pérdida completa del follaje (máximo valor de NRF) (día 56 para la mayoría de los materiales), y en adelante una disminución significativa en la media del NRF (aumento en el porcentaje de hojas retenidas) hacia el final del ciclo fenológico que corresponde a la época en que los árboles refolian casi por completo ($< 100\%$ de las hojas retenidas) (Figura 3.9).

En relación con el comportamiento específico de los clones, se observó a través del tiempo y especialmente en el ciclo fenológico 2, un menor porcentaje de hojas retenidas (mayores valores de NRF), en el clon FX 3864 en el municipio de Belén de los Andaquíes (Figura 3.9B) y en el clon IAN 873 en el municipio de San Vicente del Caguán (Figura 3.9D).

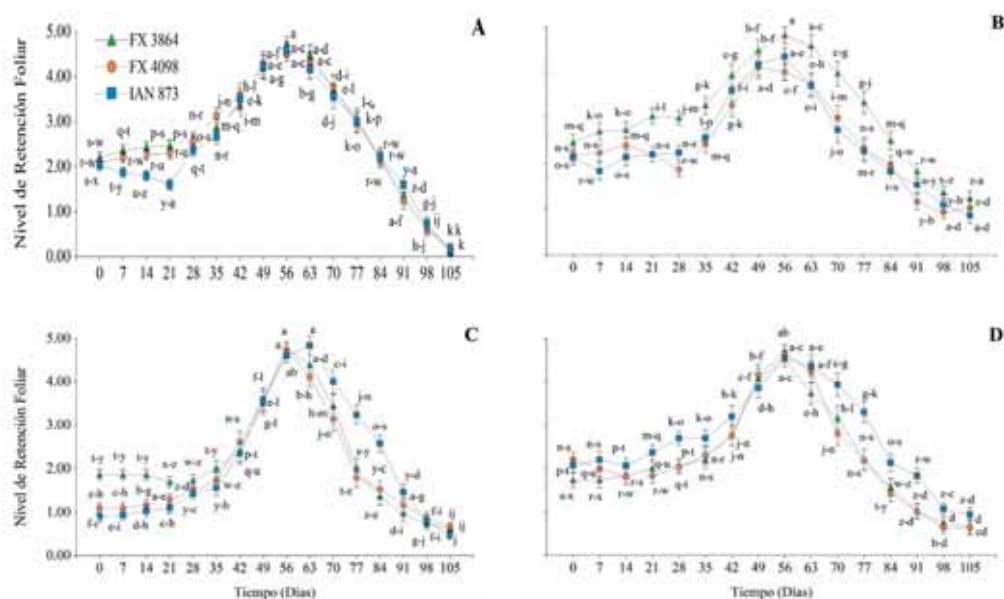


Figura 3.9 Progreso temporal de la media del nivel de retención foliar en tres clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) para dos ciclos fenológicos de renovación foliar en dos localidades de Caquetá (Colombia). **A y B**, municipio de Belén de los Andaquíes; **C y D**, municipio de San Vicente del Caguán; **A y C**, ciclo 1 (septiembre de 2013 a enero de 2014); **B y D**, ciclo 2 (septiembre de 2014 a enero de 2015). Medias seguidas por la misma letra entre clones en cada punto del tiempo no difieren estadísticamente (Prueba LSD; $p < 0.05$). Las barras representan el error estándar de la media.

Del mismo modo que lo observado en el análisis temporal, la cronosecuencia del NRF mostró un incremento significativo de ésta variable (disminución del porcentaje de hojas retenidas) desde el inicio del ciclo fenológico (fenofases “de” y “d”) hasta la pérdida completa del follaje (máximo valor de NRF en la fenofase “D”) y en adelante una disminución significativa del NRF (aumento en el porcentaje de hojas retenidas) hacia el final del ciclo fenológico (fenofases “re” y “R”) (Figura 3.10).

En general, la menor proporción de hojas retenidas en el dosel de los árboles (mayor NRF), se presentó en el clon FX 3864 para el municipio

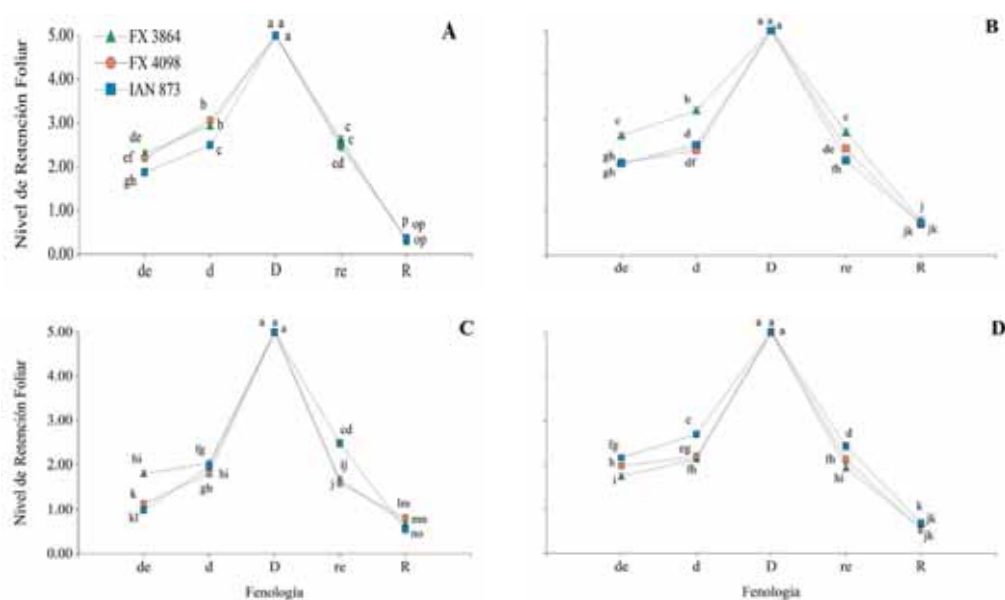


Figura 3.10 Media del nivel de retención foliar en tres clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) para distintas fenofases foliares durante dos ciclos fenológicos de renovación foliar en dos localidades de Caquetá (Colombia). **A y B**, municipio de Belén de los Andaquíes; **C y D**, municipio de San Vicente del Caguán; **A y C**, ciclo 1 (septiembre de 2013 a enero de 2014); **B y D**, ciclo 2 (septiembre de 2014 a enero de 2015). de, defoliamiento, considerado a partir del momento en que el 10% de la copa del árbol presenta hojas senescentes en caída; d, defoliamiento y refoliamiento; D, defoliamiento completo; re, refoliamiento; R, refoliamiento completo. Medias seguidas por la misma letra entre clones en cada fenofase foliar no difieren estadísticamente (Prueba LSD; $p < 0.05$). Las barras representan el error estándar de la media.

de Belén de los Andaquíes y en el clon IAN 873 en el municipio de San Vicente del Caguán. Al comparar éste comportamiento con la cronosecuencia observada en la variable severidad (Figura 3.11) se pudo concluir que estos dos clones presentaron respectivamente los mayores valores de la enfermedad, principalmente en las últimas fenofases (“re” y “R”) del ciclo fenológico de renovación foliar.

Del mismo modo, independiente de la fenofase considerada, se observó una mayor susceptibilidad al SALB en el municipio de Belén de los Andaquíes en comparación con lo reportado en San Vicente del Caguán.

A pesar de que las características fenológicas de las plantas estén principalmente influenciadas por factores genéticos intrínsecos y por factores ambientales como la precipitación, el fotoperíodo y la nutrición de las plantas (Morellato, 1991), cabe resaltar que en el caucho la interacción entre el ciclo de renovación foliar y la incidencia del SALB, juega un rol muy importante en los patrones fenológicos de la planta (Sambugaro, 2007).

En éste estudio, se observó un incremento de la severidad especialmente en las últimas fases del ciclo fenológico. Según Gasparotto *et al.* (1997) y Sambugaro (2007), luego del defoliamiento ocurre la renovación foliar o refoliamiento, y en ésta fase el caucho presenta folíolos susceptibles, los cuales son más propensos a los ataques por parte de las enfermedades foliares. Esto explicaría en gran manera, la aparición de síntomas severos del SALB en las fenofases finales del ciclo fenológico, a partir de las cuales hay menos posibilidad de que los materiales de caucho “escapen” temporal y espacialmente al ataque de *M. ulei* (Menten y Furtado, 1991).

Según Sambugaro (2007), el conocimiento del modo y el periodo de renovación foliar de los clones de caucho así como de las condiciones climáticas inherentes, pueden contribuir con el control del SALB través del mecanismo de evitación o evasión de la enfermedad en el tiempo. Según Furtado y Trindade (2005) éste proceso de evasión se favorecería seleccionando aquellos clones con renovación foliar uniforme, precoz, periodo de hibernación largo y refoliamiento compacto en el período menos favorable (mayor probabilidad de aparición del SALB).

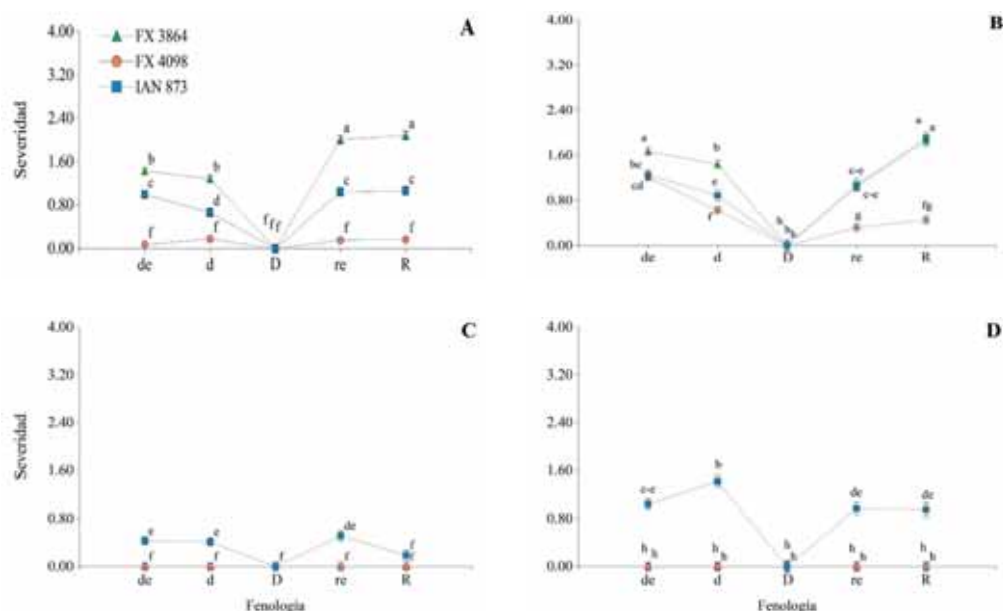


Figura 3.11 Severidad media en tres clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) para distintas fenofases foliares durante dos ciclos fenológicos de renovación foliar en dos localidades de Caquetá (Colombia). **A y B**, municipio de Belén de los Andaquíes; **C y D**, municipio de San Vicente del Caguán; **A y C**, ciclo 1 (septiembre de 2013 a enero de 2014); **B y D**, ciclo 2 (septiembre de 2014 a enero de 2015). de, defoliamiento, considerado a partir del momento en que el 10% de la copa del árbol presenta hojas senescentes en caída; d, defoliamiento y refoliamiento; D, defoliamiento completo; re, refoliamiento; R, refoliamiento completo. Medias seguidas por la misma letra entre clones en cada fenofase foliar no difieren estadísticamente (Prueba LSD; $p < 0.05$). Las barras representan el error estándar de la media.

En la presente investigación, el clon FX 4098 fue el que presentó un menor NRF (mayor porcentaje de hojas retenidas producto de una renovación foliar más uniforme) al final del ciclo fenológico y también presentó la menor severidad del SALB. Aunado a esto, en la zona de estudio también se ha demostrado la menor susceptibilidad que exhibe éste clon frente a *M. ulei* (Sterling *et al.* 2012) por lo que se constituye en un material promisorio para la región desde de su reacción fisiológica

a *M. ulei* (Sterling y Melgarejo, 2014) y desde una perspectiva de tipo epidemiológica.

Sin embargo, cabe aclarar que debido a su resistencia de tipo vertical similar al clon FX 3864 (susceptible a *M. ulei*), su comportamiento y manejo en campo deben ser cuidadosamente monitoreados con el fin de reducir la probabilidad de infecciones severas principalmente en zonas de no escape al SALB, como la región sur del departamento de Caquetá.

En relación con los clones FX 3864 y IAN 873 que fueron los más afectados por el SALB en los municipios de Belén de los Andaquíes y San Vicente del Caguán respectivamente, comparativamente Sambugaro (2007) en un estudio epidemiológico realizado durante 6 años en Vale do Ribeira de Iguape (Sao Paulo, Brasil) reportó una tolerancia intermedia (caída intermedia de foliolos) en el FX 3864 y una mayor tolerancia (menor número de foliolos caídos e infectados) en el IAN 873. Asimismo, Castro (2011) en la altillanura colombiana (zona de escape al SALB) encontró un comportamiento sobresaliente del clon FX 3864 durante las épocas de defoliación y de rebrote foliar, donde el porcentaje máximo de foliolos jóvenes infectados fue nulo.

Este comportamiento fue idéntico al observado en la presente investigación, dado que no hubo reporte del SALB en el municipio de San Vicente del Caguán (zona norte de Caquetá). Esto confirma la influencia que tienen las características climáticas propias de cada zona que determinan una mayor o menor prevalencia de la enfermedad (Guyot *et al.* 2010) y su interacción con las características fenológicas de los materiales genéticos.

Consideraciones finales

El análisis de la evolución temporal de la incidencia y la intensidad de los síntomas del SALB en el departamento de Caquetá, permite concluir que en el municipio de Belén de los Andaquíes (zona de mayor presión del SALB) el clon FX 4098 fue el que presentó los menores índices de la enfermedad mientras que en San Vicente del Caguán (zona de menor

presión del SALB) los clones FX 4098 y FX 3864 no exhibieron síntomas de la enfermedad. Asimismo, se observó que la intensidad de los síntomas del SALB fue mayor en las etapas finales de los ciclos fenológicos especialmente en los materiales que presentaron mayor susceptibilidad al SALB, FX 3864 en Belén de los Andaquíes y IAN 873 en San Vicente del Caguán. Finalmente se encontró que las copas de los árboles de los materiales susceptibles que presentaron menor densidad foliar (menor porcentaje de hojas retenidas) a su vez exhibieron mayores síntomas de la enfermedad.

Este tipo de investigaciones son fundamentales para zonas de no escape al SALB (especialmente la zona centro sur del departamento de Caquetá), dado que permite construir a partir de datos epidemiológicos y climáticos, modelos de riesgo epidemiológico de la enfermedad y en consecuencia, la posibilidad de diseñar estrategias de manejo preventivo o correctivo acordes con las características de los materiales genéticos establecidos en campo y afines a las condiciones climáticas de cada zona que resulten apropiados para la optimización de la productividad del cultivo de caucho en las zonas con más presión de la enfermedad en el departamento de Caquetá.

Referencias bibliográficas

- BERGAMIN, F. A. 1995. Curvas de progresso de doenças. In A BERGAMIN FILHO et al (Coord) *Manual de fitopatología*. 3ª. Ed. Sao Paulo. Ed. Arg. Ceres Ltda. V. 1, cap 30, p 602 – 625.
- CAMARGO, L. E. A.; BERGAMIN FILHO. 1995. Capítulo 37: Controle genético. pp. 729-760. En: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H. & AMORIN, L. (eds). *Manual de Fitopatologia*, Ceres, São Paulo. 481 p.
- CAMARGO, A. P; CAMARGO, M. B. P. 2008. Aptidão climática da heveicultura no Brasil. In Seringueira. Antonio de Pádua Alvarenga & Ciríaca A.F. Santana do Carmo (editores). Viçosa 893 p.
- CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L.V. 1990. *Introduction to plant disease epidemiology*. New York: Jhon Wiley.

- 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.
- CASTRO, N. O. M. 2011. Caracterización de los patosistemas foliares de importancia económica en caucho (*Hevea brasiliensis* Mull. Arg) en la Atillanura estructural plana del Meta (Colombia). p. 58.
- CCC (CONFEDERACIÓN CAUCHERA COLOMBIANA, CO). 2011. Estado actual del gremio cauchero colombiano. En: Memorias Congreso Internacional Cauchero. CC/SENA/SAC/Gobernación del Meta/Cámara de Comercio de Villavicencio. Villavicencio, Colombia. 15p.
- 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. URL <http://www.infostat.com.ar>.
- ERIKSSON O.E., HAWKSWORTH, D.L. 1993. Outline of the ascomycetes-Syst Ascomycetum 12: 51–257.
- FURTADO, E. L.; MENTEN, J. O. M.; PASSOS, J. R. 2008. Intensidade do mal das folhas em plantas jovens e adultas de seis clones de seringueira na região do vale do ribeira. Tropical plant pathology, Brasília, DF. 2 (33): 30-137.
- FURTADO, E. L.; TRINDADE, D. R. 2005. Doenças da Seringueira, In: Kimati, H.; Amorim, L.; Rezende, J.A.M.; Bergamim Filho, A.; Camargo, L.E.A, (Org.), Manual de Fitopatologia. Agronômica Ceres Ltda. São Paulo (2): 559-567.
- FURTADO, E. L. 1996. Comportamento de cultivares de seringueira (*Hevea* spp.) frente ao Mal das folhas na região do Vale do Ribeira – SP. Tese (Doutorado) -Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- GASPAROTTO, L.; FERREIRA, F. A.; DOS SANTO, A. F.; REZENDE, P. J. C.; FURTADO, E. L. 2012. Doenças das folhas. pp. 39-176. En: GASPAROTTO, L.; PEREIRA, R. J. C. (Eds.). Doenças da seringueira no Brasil. Capítulo 3. EMBRAPA Amazônia Occidental. Brasília, DF. 255 p.

- GASPAROTTO, L.; SANTOS, A. F.; PEREIRA, J. C. R.; FERREIRA, F. A. Doenças da Seringueira no Brasil. Brasília: SPI-EMBRAPA, 1997. 168/p.
- GASPAROTTO, L.; ZAMBOLIM, 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.; ZAMBOLIM, L.; MAFFIA, L.; RIBEIRO, D. O.; VALE, F.; JUNQUEIRA, N. 1989. Efeito da temperatura e umidade sobre a infeccao de seringueira (*Hevea spp.*) por *Microcyclus ulei*. Fitopatol.bras. 14 (1): 38-41.
- GUYOT, J.; CONDIANA, V.; DOARE, F.; CILAS, C.; SACHE, I. 2010. Segmentation applied to weather – disease relationship in south american leaf blight of the rubber tree.
- GUYOT, J., CILAS, C., & SACHE, I. 2008. Influence of host resistance and phenology on South American Leaf Blight of the rubber tree with a special consideration for its temporal dynamics. European Journal of Plant Pathology, 120(2), 111–124.
- HONORATO, J. J. 2010. Mal – Das – Folhas da seringueira: Dinamica de inóculo do patógeno, progresso e danos, em tres condicoes topográficas. Viosa, minas gerais – Brasil, p 91.
- HORA JUNIOR, B. T.; DE MACEDO, D. M.; BARRETO, R. W.; EVANS, H. C.; REIS MATTOS, C. R.; MAFFIA, L. A.; MIZUBUTI, G. S. E. 2014. Erasing the past: A new identity for the damoclean pathogen causin south america leaf blight of rubber. PLoS ONE 9(8): e104750. doi:10.1371/journal.pone.0104750
- JESUS JUNIOR DE W.C.; POZZA E.A.; RIBEIRO DO VALE, F. X.; AGUILERA, J.M. 2004. Análise temporal de epidemias. pp. 125 -191. En: RIBEIRO DO VALE, F. X.; CINTRA DE JESUS, J. W.; ZAMBOLIM, LAÉRCIO (eds). Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas. Impressão: Editora Folha de Viçosa Ltda. Brasil. 532 p.
- MADDEN, V. L.; HUGHES, G.; BOSCH, V. F. 2007. The study of plant disease epidemics. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota U.S.A. 421p.
- MENTEN, J.O.M.; FURTADO, E.L. Effect of phenology of rubber trees on the development of South American Leaf Blight. In: International Plant Protection Congress, 12. Anais. Rio de Janeiro, 1991.

- MORELLATO, L.P.C. 1991. Estudo da fenologia de árvores, arbustos e lianas de uma floresta semidecídua no Sudeste do Brasil. 1991. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas. s.p.
- ORTOLANI, A. A.; PEDRO JUNIOR, M. J.; ALFONSI, R. R.; CAMARGO, M.B.P.; BRUNINI, O. 1983. “Aptidão agroclimática para regionalização da Heveicultura no Brasil” in: Seminário Brasileiro de Recomendações de clones de Seringueira, Brasília, Anais. 19-28.
- PINHEIRO, J.; BATES, DOUGLAS.; SAIKAT DEBROY.; DEEPAYAN SARKAR AND THE R DEVELOPMENT CORE TEAM. 2013. Nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R package version (3): 1-109.
- RIBEIRO DO VALE, F. X.; ZAMBOLIM, LAÉRCIO; COSTA, L.C.; LIBERATO, J.R. DA SILVA DIAS A.P. 2004. Influência do clima no desenvolvimento de doenças de plantas. pp. 47 -87. En: RIBEIRO DO VALE, F. X.; CINTRA DE JESUS, J. W.; ZAMBOLIM, LAÉRCIO (eds). Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas. Impressão: Editora Folha de Viçosa Ltda. Brasil. 532 p.
- R CORE TEAM. 2013. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL. <http://www.R-project.org/>.
- RIVANO, F.; MATTOS, C. R. R.; CARDOSO, S. E. A.; MARTINEZ, M.; CEVALLOS, V.; LE GUEN, V.; GARCÍA, D.; BREEDING. 2013. *Hevea brasiliensis* for yield, growth and SALB resistance for high disease environments. *Industrial Crops and Products*, V 44, p. 659-670.
- SAMBUGARO, R. 2007. Estágios foliares, fenologia da seringueira (*Hevea spp.*) e interação com *Microcyclus ulei* (Mal das folhas), Tese (Doutorado)-Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu.
- STERLING, C. A.; RODRÍGUEZ, A. O. L.; CORREA, D. J. 2009. Evaluación fitosanitaria y resistencia en campo a *Microcyclus ulei* de *Hevea brasiliensis* en la Amazonia colombiana. *Revista Colombia Amazónica* (2): 79-90.
- STERLING, A.; GALINDO, L. C.; CORREA, J. 2010a. Incidencia y severidad de *Microcyclus ulei* en una colección de caucho en la Amazonia colombiana. *Ingenierías & Amazonia* 3 (2): 93-104.

- STERLING, A.; RODRÍGUEZ, O. L.; QUINTERO, L. 2010b. Variabilidad fisiológica de aislamientos de *Microcyclus ulei* de la Amazonia colombiana. *Revista Momentos de Ciencia* 7 (1): 30-35.
- STERLING A., GALINDO L.C., CORREA J. 2010c. Incidencia y severidad de *Microcyclus ulei* en una colección de caucho en la Amazonia colombiana. *Ingenierías y Amazonia* 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 Amazonico de Investigaciones Científicas–SINCHI. 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.
- STERLING, C. A.; RODRÍGUEZ, L. C. H.; DUSSAN, H. I.; CORREA, D. J.; VARGAS, L. M. A.; CENTENO, C. A.; SÁNCHEZ, L. R.; RODRIGUEZ, 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.; Rodriguez, L. C. H. (Eds.). Ampliación de la base genética de caucho natural con proyección para la Amazonia colombiana: fase de evaluación en periodo improductivo a gran escala. Capítulo 3. Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas – SINCHI. Scripto S.A.S. Bogotá. Colombia. 147 p.
- STERLING, C. A.; RODRÍGUEZ, L. C. 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. Colombia. 220 p.
- STERLING, C. A.; MELGAREJO, L. M. 2014. Variación temporal a *Microcyclus ulei* en los clones de caucho FX 3864 y FX 4098 en condiciones controladas.

STERLING, A., SUÁREZ, J., CAICEDO, D., RODRÍGUEZ, C., SALAS-TOBÓN, Y. & VIRGÜEZ-DIAZ, Y. 2015. Crecimiento inicial de clones promisorios de *Hevea brasiliensis* (Willd. ex A. Juss.) Müll. Arg. en sistema agroforestal en Caquetá, Colombia. Colombia Forestal, 18(2), 175-192

VANDERPLANCK, J. E.; 1963. Plant diseases: epidemics and control. New York NY. Academics Press.

CAPÍTULO IV

Respuesta fisiológica del caucho (*Hevea brasiliensis*) al mal suramericano de las hojas (*Microcyclus ulei*) en condiciones de inoculación controlada y de infección natural en Caquetá (Colombia)

Armando Sterling Cuéllar¹, Yasodhara Marieth Salas Tobón²,
Luz Marina Melgarejo³, Yeison Fabián Hernández Yate²,
Carlos Hernando Rodríguez León¹



¹ Investigador Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas “SINCHI” Sede Florencia. E-mail: asterling@sinchi.org.co, asterlingc@gmail.com (*Autor de correspondencia)

² Tesistas contratistas del proyecto. Contrato RC No. 746-2011 FIDUCIARIA BOGOTÁ-COLCIENCIAS-SINCHI-UNAL-ASOHECA

³ Profesora Titular Laboratorio de fisiología y bioquímica vegetal. Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia

Introducción

Debido a la creciente demanda del caucho natural, el subsector cauchoero colombiano ha impulsado a nivel nacional la necesidad de seleccionar los mejores clones para cada región, con buen desempeño y tolerancia a los principales limitantes fitosanitarios del cultivo (Castellanos *et al.*, 2009). 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) (Junqueira *et al.*, 1986; Mattos *et al.*, 2003, Sterling y Rodríguez, 2011, 2012; Rivano *et al.*, 2013). Esta patología es ocasionada por el hongo *Microcyclus ulei*, y constituye el principal limitante del cultivo de caucho en América (Gasparotto *et al.* 2012).

El SALB 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). 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 la interacción de los patrones fenológicos foliares con el SALB en relación con la respuesta ecofisiológica de la planta.

La mayoría de los estudios fisiológicos realizados en *H. brasiliensis* han sido abordados en plantas sanas y se ha analizado el efecto de diversos factores abióticos relacionados principalmente con estrés hídrico (Sena *et al.*, 2007; Conforto, 2008), estacionalidad climática (Nascimento *et al.*, 2006), disponibilidad lumínica (Righi y Bernardes, 2008) y el efecto del sistema de cultivo (monocultivo y consorcio) sobre el crecimiento y rendimiento productivo (Oliveira *et al.*, 2006). 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 (Rodrigo, 2007) sobre la respuesta ecofisiológica de la planta.

De acuerdo con lo anterior, en el presente capítulo se reportan los resultados relacionados con los cambios fisiológicos expresados por dos clones de caucho (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 sobre materiales vegetales en etapa de crecimiento en condiciones de alta presión de la enfermedad en la zona sur del departamento de Caquetá, Colombia.

Fisiología del estrés en caucho y su importancia en el contexto regional

La fisiología vegetal en su sentido amplio es la ciencia de la vida de las plantas bajo la influencia de los factores bióticos y abióticos (Larcher, 2003). Según Lamberts *et al.* (2008), estos factores afectan positiva o negativamente (fisiología del estrés) el crecimiento, la productividad, la supervivencia y la reproducción de las plantas, que evolutivamente han desarrollado mecanismos para adaptarse y soportar dichos fenómenos.

Los estudios fisiológicos en caucho 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 (Lieberei, 2007); sin embargo, muchos de los eventos relacionados con la respuesta fisiológica de la planta están poco documentados o entendidos (Sterling y Melgarejo, 2014). 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 y Pereira, 1989; *et al.*, 1995; Rivano *et al.*, 2013; Sterling y Melgarejo, 2014) 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 en condiciones de inoculación controlada o en condiciones de infección natural. Tampoco se tiene claridad sobre los cambios en la respuesta en relación con el progreso de la infección o el ciclo fenológico de la planta.

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 de diferentes clones de caucho natural al SALB constituye un insumo clave para el diseño de herramientas de monitoreo y diagnóstico temprano, para el manejo apropiado del SALB en combinación con las estrategias clásicas de manejo a través del uso de clones resistentes con perspectiva para la región amazónica colombiana y en zonas de alta presión del SALB como la zona sur del departamento de Caquetá.

Evaluación de la respuesta fisiológica del caucho al SALB en condiciones de inoculación controlada

Condiciones de inoculación controlada

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). La temperatura del aire se controló a 23 °C, la humedad relativa mayor a 90% y se manejó un fotoperíodo de 12/12 h (PAR= 11.5 μmol fotones/ $\text{m}^2\cdot\text{s}^2$) (Mattos *et al.*, 2003; Sterling *et al.*, 2010 a, b).

Fuente de inóculo

Se empleó el aislamiento CVI2 de *M. ulei* perteneciente al banco de aislamientos del Laboratorio de Fitopatología del Instituto Sinchi (Figura 4.1A). El inóculo primario, consistió de conidios crecidos *in vitro* los cuales se reactivaron mediante inoculación controlada en un clon susceptible (PB 260) (Sterling *et al.*, 2009), y se preparó en agua destilada estéril una suspensión de inóculo de 2×10^5 conidios/ml (Mattos *et al.*, 2003; Sterling *et al.*, 2010a, b).

Material vegetal

Se utilizaron los clones FX 4098 y FX 3864 (Tabla 1.3) por presentar una reacción diferencial frente a *M. ulei*. El clon FX 4098 clasificado como moderadamente resistente y el clon FX 3864, como susceptible (Sterling y Melgarejo, 2014). Por cada clon de caucho se emplearon plántulas sanas de 4 meses de edad (dos pisos foliares).

Realización de las inoculaciones

Las inoculaciones consistieron en la aspersión de una concentración de inóculo de 2×10^5 conidios/ml sobre el envés de 12 foliolos jóvenes (cuatro hojas trifoliadas) de 12 días de edad en estadio B₂ (Hallé *et al.*, 1978) pertenecientes al segundo piso foliar de cada planta (Sterling *et al.*, 2010a, b) (Figura 4.1B). 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 (NI). La unidad experimental correspondió a cada una de las plantas utilizadas. Se utilizaron cinco plantas por tratamiento. El experimento se realizó por triplicado.

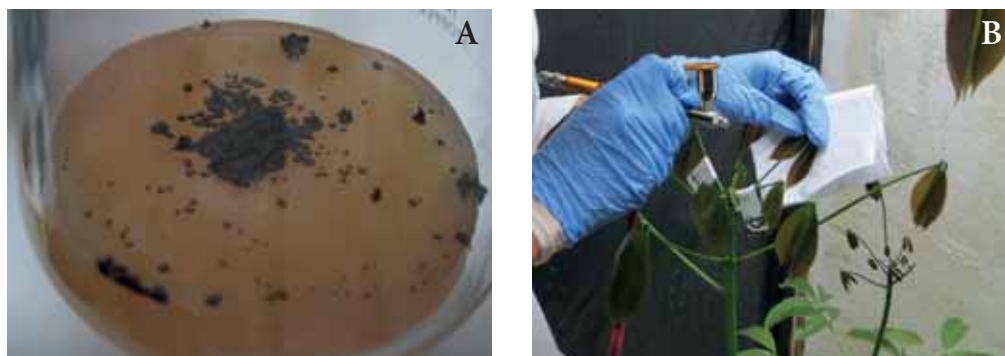


Figura 4.1. Pruebas de infección en condiciones controladas. **A.** Inóculo *in vitro* de *Microcyclus ulei*. **B.** Inoculación por aspersión controlada.

Evaluación temporal del SALB

La evaluación de la severidad de ataque del SALB (*M. ulei*) a través del tiempo, se consideró a los 0, 4, 8, 12, 16 y 20 después de la infección a partir de la escala adaptada 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). Asimismo, 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).

Evaluación del intercambio gaseoso y fluorescencia de la clorofila *a*

- Intercambio gaseoso

Los parámetros de intercambio gaseoso: tasa de asimilación neta de CO₂ (*A*) (μmol CO₂ m⁻².s⁻¹), tasa de transpiración (*E*) (mmol H₂O m⁻².s⁻¹) y conductancia estomática (*g_s*) (mol H₂O m⁻².s⁻¹) se midieron mediante un equipo portátil IRGA de tipo abierto (TPS 2, PP Systems, USA) (Figura 4.2A). 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



Figura 4.2. Evaluaciones fisiológicas en laboratorio. **A.** Intercambio gaseoso con un equipo portátil IRGA. **B.** Fluorescencia de la clorofila con fluorómetro portátil.

la toma de CO_2 (Bacon, 2004). Las evaluaciones se realizaron en dos hojas trifoliadas (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.

- Fluorescencia de la clorofila *a*

Los parámetros de fluorescencia de la clorofila *a*: 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). Estos parámetros se determinaron con un fluorómetro portátil de pulso modulado (Hansatech, Hoddesdon, Inglaterra) (Figura 4.2B). 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 foliolo se adaptó a la oscuridad durante 30 min.

Evaluación de la respuesta fisiológica del caucho al SALB en condiciones de infección natural

Condiciones de infección natural

El estudio se realizó en el municipio de Belén de los Andaquíes, Caquetá (Colombia) (zona de alta presión del SALB) (Tabla 1.3), en dos plantaciones monoclonales de caucho (FX 4098 y FX 3864) de 1 ha cada una, establecidas en surco doble [10 m x 4 m x 2.8 m (510 plantas/ha)], constituidas por árboles en crecimiento de 5 años de edad (etapa improductiva) y con comportamiento caducifolio.

Evaluación de los cambios fenológicos y el nivel de retención foliar del dosel

En cada plantación monoclonal se seleccionaron de manera selectiva árboles de caucho que entraron en proceso de defoliación-refoliación anual (ciclo fenológico de renovación foliar considerado desde septiembre de 2013 hasta enero de 2014). En el desarrollo de éste proceso, los árboles se clasificaron según la fenología foliar (fenofases) y el nivel de retención foliar (NRF) de sus copas.

La clasificación de las fenofases foliares se realizó mediante una escala cualitativa modificada de Furtado (1996), así: de= defoliamiento, considerado a partir del momento en que el 10% de la copa del árbol presenta hojas senescentes en caída, d= defoliamiento y refoliamiento, re= refoliamiento y R= refoliamiento completo. La fenofase D (defoliamiento completo) no se consideró debido a la ausencia de hojas para las evaluaciones fisiológicas. Se seleccionaron 4 árboles por cada fenofase foliar.

La clasificación del NRF se realizó mediante la siguiente escala visual: 0= 100% de hojas retenidas, 1= 99-80% de hojas retenidas, 2= 79-60% de hojas retenidas, 3= 59-40% de hojas retenidas y 4= 39 -20% de hojas retenidas (Figura 4.3). La categoría 5 (0% de hojas retenidas) no se consideró por la ausencia de hojas para las evaluaciones fisiológicas. Se seleccionaron 4 árboles por cada categoría de NRF.

Con el fin de asociar la sintomatología del SALB con los cambios fenológicos y foliares observados en campo, para cada una de las fenofases

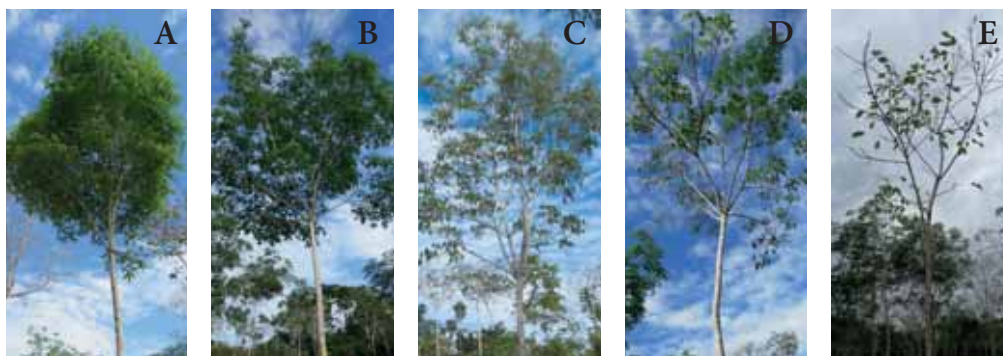


Figura 4.3. Escala de los niveles de retención foliar en caucho. **A.** 0= 100% de hojas retenidas. **B.** 1= 99-80% de hojas retenidas. **C.** 2= 79-60% de hojas retenidas. **D.** 3= 59-40% de hojas retenidas. **E.** 4= 39 -20% de hojas retenida.

foliares y categorías de NRF se determinó visualmente la severidad del SALB en la copa de los árboles mediante la escala adaptada de Gasparotto *et al.* (1989), como se utilizó en la fase de laboratorio. Asimismo, y mediante la metodología de los cestos de recolecta de folíolos caídos (como se explicó en el capítulo 3), se determinó el número de lesiones por folíolo (NLF) presentes en un área circular central de 2 cm², como una medida de la intensidad de los síntomas del SALB evidenciada en los folíolos caídos.

Evaluación del intercambio gaseoso y fluorescencia de la clorofila *a*

En campo definitivo y utilizando la misma metodología empleada en laboratorio, se evaluarán los parámetros fisiológicos de intercambio gaseoso (A , E , g_s y WUE) y fluorescencia de la clorofila (F_v/F_m , F_v'/F_m' , qP , NPQ y ETR) (Figuras 4.4A y B).

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) (Figura 4.4C). El CCI es proporcional a la cantidad de clorofila presente en el tejido



Figura 4.4. Evaluaciones ecofisiológicas en campo. **A.** Intercambio gaseoso con un equipo portátil IRGA. **B.** Fluorescencia de la clorofila con fluorómetro portátil. **C.** Concentración relativa de clorofila con medidor portátil. **D.** Índice de área foliar con ceptómetro.

vegetal, por lo que este valor es un valor relativo del contenido de clorofila (Atkinson *et al.*, 2006; Liberloo *et al.*, 2007). Las evaluaciones se realizaron en los mismos folíolos que se utilizaron para las mediciones de intercambio gaseoso.

Índice de área foliar (LAI)

El índice de área foliar por sus siglas en inglés LAI (*leaf area index*) es el área proyectada de las superficies de las hojas por unidad de área de suelo (Marshall y Waring, 1986). Esta medida de crecimiento se relaciona con el área de la superficie fotosintética (necesaria para capturar la energía lumínica) (Wilhem *et al.*, 2000). La medición indirecta del LAI se realizó por medio de un Ceptómetro AccuPAR® Modelo LP-80,

con la barra dispuesta de manera perpendicular al eje vertical de los árboles (Figura 4.4D). Los valores de LAI se calcularon a partir de las lecturas de la PAR que llega al dosel (PAR_a), y la PAR que hay debajo de este (PAR_d) (Fournier y Andreu, 1999).

Análisis estadístico

Para el análisis de las variables registradas en la fase de laboratorio, se ajustó un modelo lineal general (MLG) con los factores fijos clon (FX 3864 y FX 4098), tratamiento (I y NI), tiempo de muestreo (0, 4, 8, 12, 16 y 20 DDI) y sus interacciones a un nivel de significancia del 5%. Asimismo, se ajustó un MLG para la variable AUSPC con el factor clon. Para el análisis de las variables de campo, se ajustó un MLG con los factores fijos clon (FX 3864 y FX 4098), época (seca, lluvia y transición), fenología (de, d, re y R) o nivel de retención foliar (0, 1, 2, 3 y 4) y sus interacciones con una significancia del 5%.

En los MLGs, la varianza residual se modeló para contemplar varianzas diferentes según la heterocedasticidad observada en los efectos fijos del modelo, mientras que la correlación residual para las observaciones sucesivas en el tiempo 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 del MLG se realizó utilizando la función `lme` de la librería `nlme` (Pinheiro *et al.*, 2013) de R (R Core Team, 2014), bajo la interfaz implementada en InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2014).

El análisis de las interacciones, mediante la comparación de medias para las combinaciones de los niveles de todos los factores evaluados, se realizó mediante la prueba de comparaciones múltiples LSD de Fisher con una significancia del 5%. Los coeficientes de correlación (Prueba de Pearson) entre las distintas variables se estimaron para el 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 2014 (Di Rienzo *et al.*, 2014).

Respuesta fisiológica del caucho al SALB en condiciones de inoculación controlada

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 (Figura 4.5).

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 4.5A). El AUSPC en el clon FX 3864 fue 42.8 % superior al calculado en el clon FX 4098 ($p < 0.05$) (Figura 4.5B).

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

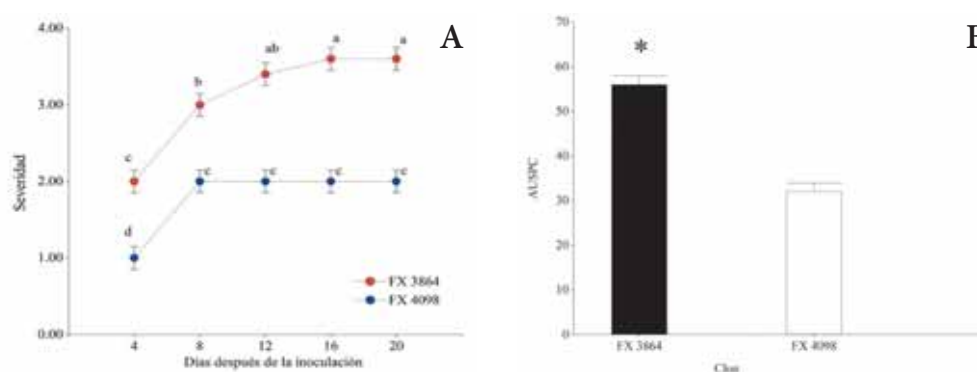


Figura 4.5. A. Curva de progreso de la severidad del SALB (*Microcyclus ulei*, fase conidial: *Fusicladium macrosporum*) y B. Área bajo la curva de progreso del SALB (AUSPC) para dos clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) en condiciones de inoculación controlada. Fenología foliar (0 – 8 días, estadio B y > 12 días, estadio C). Medias para FX 3864 (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; $n = 5$

(DDI) (todas, $p < 0.05$). Asimismo resultaron significativas todas las interacciones entre estos factores. 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 4.6A) y a los 8, 16 y 20 DDI para el clon FX 3864 (susceptible) (Figura 4.6B).

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 4.6G 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 4.6D 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 4.6A, B, C y D), y a los 12 y 16 DDI para E (Figura 4.6E 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 4.6G y H).

El análisis de la fluorescencia de la clorofila permitió detectar 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 ($p < 0.05$). No hubo un efecto significativo de estos factores ni 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 4.7A, 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

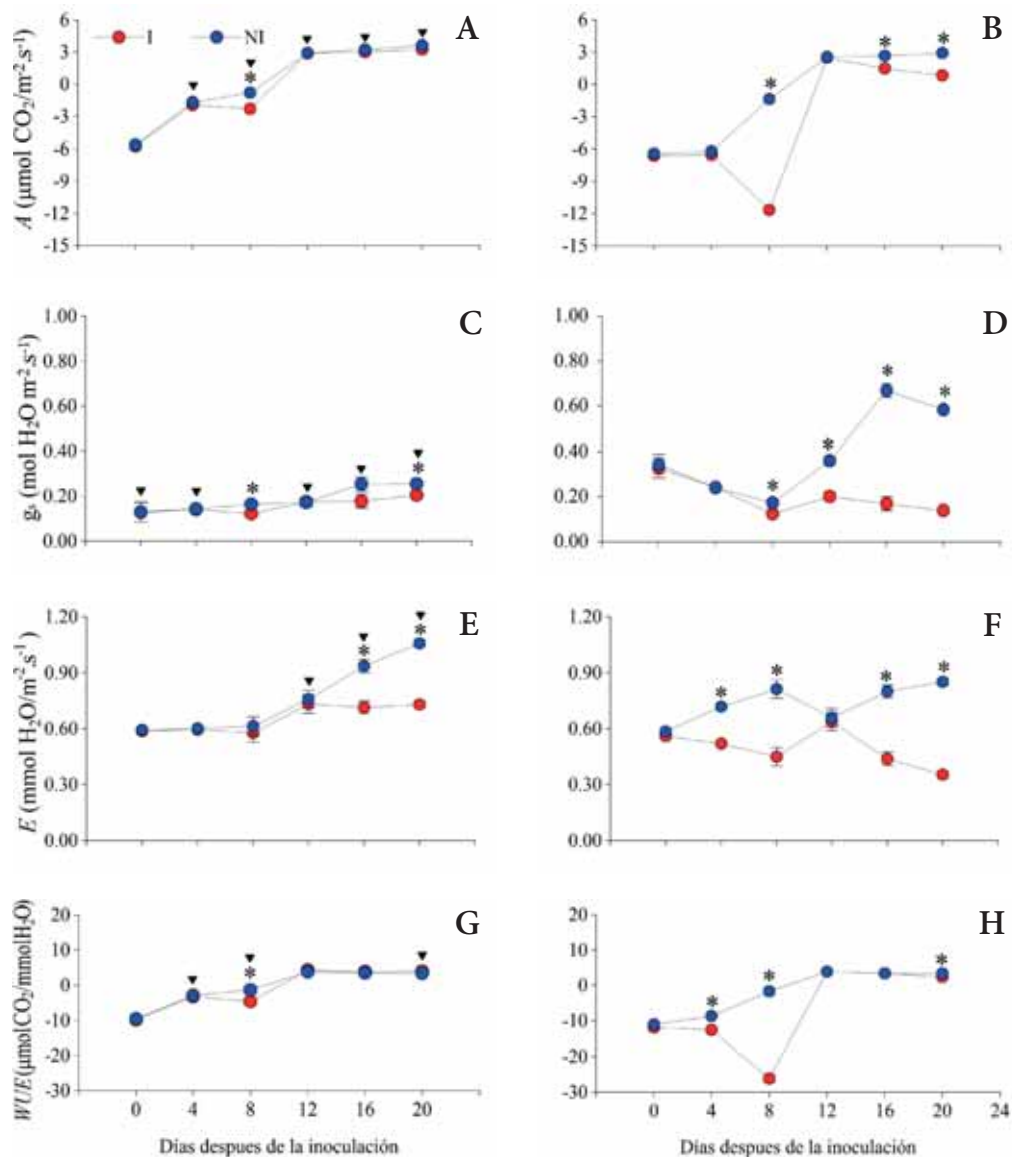


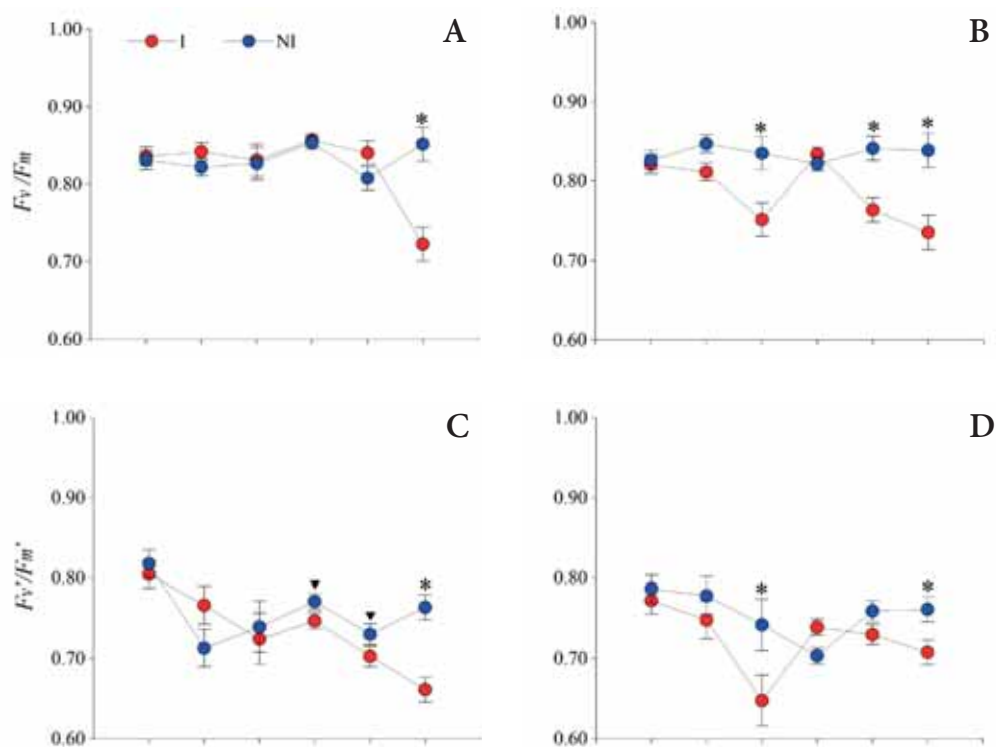
Figura 4.6. A y B, Tasa de asimilación neta de CO₂ (A); C y D, conductancia estomática a vapor de agua (g); E y F, tasa de transpiración (E); y G y H, eficiencia en el uso del agua (WUE) para folíolos de plantas de caucho (*Hevea brasiliensis*) de los clones FX 4098 (moderadamente resistente) (A, C, 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; $n = 5$

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 4.7G 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 4.7B).

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 4.7D). No se observó un efecto significativo del tratamiento (I y NI) sobre los parámetros qP , NPQ y ETR (Figura 4.7 F, H y J).

No se encontraron diferencias significativas para F_v/F_m entre los clones FX 4098 y FX 3864 (Figura 4.7A 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 4.7C y D). Para qP y ETR estas diferencias



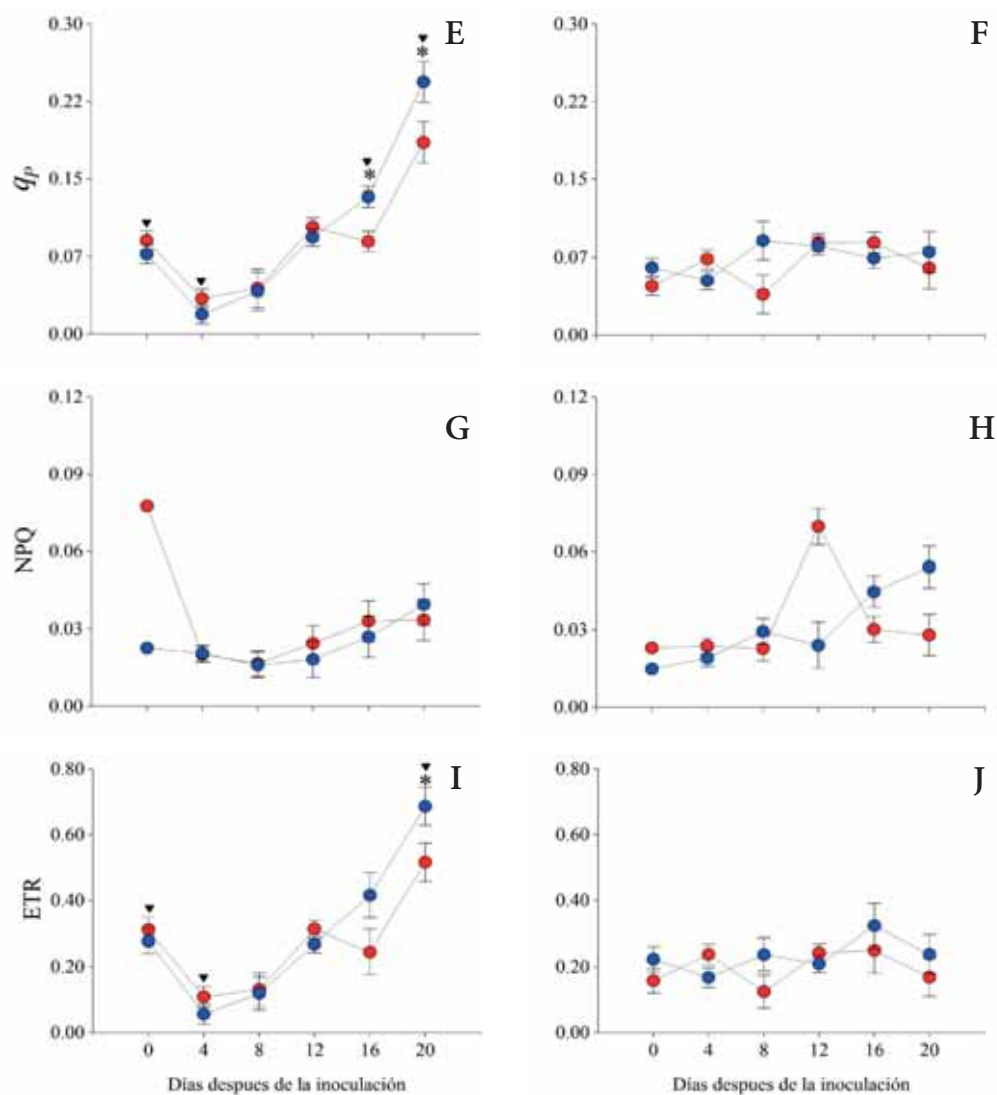


Figura 4.7. A y B, Rendimiento cuántico máximo del fotosistema II (PSII) (F_v/F_m); C y D, eficiencia en la captura de la energía de excitación por los centros de reacción abiertos del PSII (F_v'/F_m'); E y F, quenching fotoquímico (q_P); G y H, quenching no fotoquímico (NPQ); I y J, tasa de transporte 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; $n = 5$.

entre clones ocurrieron a los 0, 4 y 20 DDI (Figura 4.7, E, F, I y J). Asimismo, se presentaron diferencias significativas para qP a los 16 DDI.

Las bajas tasas fotosintéticas en los estadios foliares inmaduros (B y C) pueden estar asociados a procesos como la resistencia estomática, elevada respiración (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 (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 pudo relacionarse con la reducción de la fotosíntesis neta en los folíolos jóvenes de los dos clones evaluados.

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 CO_2 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.

Lo anterior permitiría afirmar que la reducción en A no fue influenciada por la entrada de CO_2 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 CO_2 en el estroma de los cloroplastos durante el ciclo de Calvin (Aucique Pérez *et al.*, 2014).

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), 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.

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*. 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 (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*.

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 (Agris, 2005).

En el clon 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 (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.

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 CO_2 , 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 (Maxwell y Johnson, 2000; Baker, 2008). En el presente estudio las plantas inoculadas del clon altamente susceptible hicieron frente a éste exceso de energía vía disipación térmica a los 12 DDI (folíolos C), dado que hubo un incremento de NPQ en ésta etapa de la infección.

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).

Respuesta fisiológica del caucho al SALB en condiciones de infección natural

Intensidad de los síntomas del SALB según la fenología y el nivel de retención foliar

Se encontraron diferencias significativas en las medias de severidad entre clones, fenofases foliares, niveles de retención foliar (NRF) y en las interacciones clon x fenofase y clon x NRF (todas, $p < 0.05$) (Tabla 4.1). Asimismo, se presentó un efecto significativo del clon y del NRF sobre las medias de NFL. La interacción clon x NRF resultó significativa para NFL. No hubo significancia atribuida a las fenofases foliares o a la interacción fenofase x clon sobre las medias de NFL.

De acuerdo con la tabla 4.1, las fenofases “re” y “R” y las categorías “3” y “4” de NRF, fueron las que más se asociaron con los síntomas del SALB en los árboles de caucho seleccionados para las evaluaciones fisiológicas.

Respuesta fisiológica en la interacción fenología foliar x SALB

Se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en g_s y LAI en los factores clon (C), época (E), fenología (F) y sus interacciones, mientras las variables A, E y WUE las presentaron en época y fenología ($p < 0.01$).

Tabla 4.1. Intensidad de los síntomas del SALB (*Microcyclus ulei*) según la fenología foliar y el nivel de retención foliar en los clones de caucho FX 3864 y FX 4098 bajo condiciones de alta presión de la enfermedad en Caquetá (Colombia)

Severidad				NFL ^f			
Fenofase foliar ^d	Clon		Promedio	Fenofase foliar	Clon		Promedio
	FX 3864	FX 4098			FX 3864	FX 4098	
de	2.00±0.25 ^a b	0.25±0.25c	1.12b	de	1.55±0.26a	0.13±0.26a	0.84a
d	1.75±0.25b	0.50±0.25c	1.12b	d	1.63±0.26a	0.25±0.26a	0.94a
re	3.50±0.25a	0.50±0.25c	2.00a	re	1.90±0.26a	0.60±0.26a	0.62a
R	3.25±0.25a	0.75±0.25c	2.00a	R	1.95±0.26a	0.85±0.26a	1.40a
Media ^c	2.63a	0.50b		Media	1.76a	0.46b	
NRF ^e	Clon		Promedio	NRF	Clon		Promedio
	FX 3864	FX 4098			FX 3864	FX 4098	
0	1.25±0.28bcd	0.25±0.28e	0.75b	0	1.58±0.21c	0.63±0.21d	1.1bc
1	1.50±0.28bc	0.25±0.28e	0.87b	1	1.28±0.21c	0.33±0.21d	0.80c
2	1.75±0.28b	0.50±0.28de	1.12b	2	1.70±0.21	0.40±0.21d	1.05c
3	3.50±0.28a	0.75±0.28cde	2.12a	3	2.43±0.21b	0.55±0.21d	1.49ab
4	3.75±0.28a	1.00±0.28b-e	2.37a	4	3.18±0.21a	0.65±0.21d	1.91a
Media	2.35a	0.55b		Media	2.03a	0.51b	

^a Error estándar

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

^c Medias de los valores en esta fila seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente (Prueba LSD, $p < 0.05$)

^d Fenofases foliares: de, defoliamiento considerado a partir del momento en que el 10% de la copa del árbol presenta hojas senescentes en caída; d, defoliamiento y refo-
liamiento; re, refo-
liamiento; R, refo-
liamiento completo

^e NRF, nivel de retención foliar: 0= 100% de hojas retenidas; 1= 99-80% de hojas retenidas; 2= 79-60% de hojas retenidas; 3= 59-40% de hojas retenidas; 4= 39 -20% de hojas retenidas

^f NFL, número de lesiones por foliolo presentes en un área circular central de 2 cm²

Asimismo las variables de fluorescencia de la clorofila a (F_v/F_m , F_v'/F_m' , qP y ETR) mostraron diferencia altamente significativa ($p < 0.01$) en la interacción época por fenología, del mismo modo que qP y ETR en el efecto clon, y para CCI entre clones y fenofases.

Parámetros de intercambio gaseoso

El valor medio de g_s fue significativamente superior en el clon FX 3864 en un 25% en relación con lo observado en el FX 4098 (Tabla 4.2). Por el contrario A , CCI y LAI presentaron valores medios superiores en el clon FX 4098 comparativamente con el FX 3864 ($p < 0.05$). Las medias más bajas para los seis indicadores fisiológicos, se reportaron durante la fenofase “re” (mayor severidad del SALB) en donde la mayor proporción de la copa corresponde a folíolos en estadios inmaduros B y C con baja o nula actividad fotosintética (Miguel *et al.*, 2007) (Tabla 4.2). Aucique Pérez *et al.* (2014), afirman que las enfermedades foliares conllevan a limitaciones bioquímicas en la asimilación y fijación del CO_2 , lo cual afecta directamente la fotosíntesis.

Los mayores valores medios de A , E y g_s se observaron principalmente durante la fenofase “R” (Tabla 4.2). Por otro lado, en la fenofase “de” se observaron las mayores medias de WUE , CCI y LAI (Tabla 4.2). En relación con la influencia de la época, la mayor favorabilidad sobre los valores medios de A , E , g_s y CCI se presentó durante la transición hacia la época seca (Tabla 4.2).

El análisis interacción clon x fenología resultó significativa para A y mostró que la mayor tasa fotosintética (A) se presentó en el clon FX 4098 ($A = 12.42 \mu\text{mol } CO_2/m^2.s^{-1}$) (Figura 4.8A). Del mismo modo se observó éste comportamiento en la fenofase “R” (menor severidad del SALB para éste clon) durante la época lluviosa ($A = 12.52 \mu\text{mol } CO_2/m^2.s^{-1}$) (Figura 4.8B).

En ambos clones de caucho, los mayores valores de A se presentaron en la fenofase “R”. En contraste, los menores valores se registraron en la fenofase “re”. Entre épocas se observó el mismo patrón, mayores tasas de asimilación neta al final del ciclo fenológico y menores tasas durante el período de refoliamiento. Las bajas tasas fotosintéticas en los estadios foliares inmaduros (B y C) pueden estar asociados a procesos como la resistencia estomática, elevada respiración (Schwob *et al.*, 1998) y altos puntos de compensación de CO_2 (Bergonci, 1981).

Tala 4.2. Medias de las variables fisiológicas A ($\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$), E ($\text{mmol H}_2\text{O}/\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$), g_s ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) y WUE ($\mu\text{mol CO}_2/\text{mmol H}_2\text{O}$) medidos en los clones de caucho FX 3864 y FX 4098 con diferente reacción al SALB (*Microcyclus ulei*) en condiciones de infección natural en Caquetá (Colombia).

Factor	Nivel	Variables					
		A	E	g_s	WUE	CCI	LAI
Clon	FX 3864	7.32 $\pm$ 0.30 ^a b ^b	1.38 $\pm$ 0.07 a	0.35 $\pm$ 0.01 a	6.91 $\pm$ 0.24 a	22.9 $\pm$ 0.78 b	0.87 $\pm$ 0.04 b
	FX 4098	8.31 $\pm$ 0.30 a	1.55 $\pm$ 0.07 a	0.26 $\pm$ 0.01 b	6.63 $\pm$ 0.24 a	34.34 $\pm$ 1.07 a	1.11 $\pm$ 0.07 a
	Media ^c	7.81	1.47	0.31	6.77	28.62	0.99
Fenología ^d	de	7.55 $\pm$ 0.29 b	1.19 $\pm$ 0.06 b	0.26 $\pm$ 0.01 c	8.32 $\pm$ 0.61 a	38.65 $\pm$ 1.65 a	1.20 $\pm$ 0.12 a
	d	6.66 $\pm$ 0.06 c	1.18 $\pm$ 0.01 b	0.29 $\pm$ 0.00 b	6.53 $\pm$ 0.04 b	29.22 $\pm$ 1.33 b	1.09 $\pm$ 0.09 ab
	re	5.32 $\pm$ 0.30 d	0.98 $\pm$ 0.05 c	0.20 $\pm$ 0.01 d	5.92 $\pm$ 0.19 c	17.66 $\pm$ 0.89 c	0.75 $\pm$ 0.05 c
	R	11.73 $\pm$ 0.75 a	2.51 $\pm$ 0.18 a	0.47 $\pm$ 0.03 a	6.32 $\pm$ 0.21b c	28.96 $\pm$ 1.29 b	0.92 $\pm$ 0.05 b
Epoca ^e	Media	7.81	1.46	0.3	6.77	28.62	0.99
	Seca	6.68 $\pm$ 0.37 a	1.41 $\pm$ 0.08 b	0.27 $\pm$ 0.02 b	5.66 $\pm$ 0.29 b	25.35 $\pm$ 1.05 b	1.70 $\pm$ 0.04 a
	Lluvia	7.91 $\pm$ 0.37 a	1.22 $\pm$ 0.08 b	0.26 $\pm$ 0.02 b	8.47 $\pm$ 0.29 a	30.18 $\pm$ 1.20 a	0.88 $\pm$ 0.10 b
	Transición	8.85 $\pm$ 0.37 a	1.76 $\pm$ 0.08 a	0.38 $\pm$ 0.02 a	6.18 $\pm$ 0.29 b	30.34 $\pm$ 1.16 a	0.39 $\pm$ 0.05 c
	Media	7.81	1.46	0.3	6.77	28.62	0.99

^aError estándar

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

^cMedias de los valores en esta fila seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente (Prueba LSD, $P < 0.05$).

^dEstado fenológico [de, defoliamiento considerado a partir del momento en que el 10% de la copa del árbol presenta hojas senescentes en caída; d, defoliamiento y refoliamiento; D, defoliamiento completo (no considerado por la ausencia de datos); re, refoliamiento; R, refoliamiento completo].

^eSeca (Noviembre a febrero); Lluvia (Marzo a junio) y Transición hacia época seca (Julio a octubre).

A, tasa de asimilación neta de CO_2 ($\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$); E, tasa de transpiración ($\text{mmol H}_2\text{O}/\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$); g_s , conductancia estomática al vapor de agua ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$); WUE, uso eficiente del agua ($\mu\text{mol CO}_2/\text{mmol H}_2\text{O}$); CCI, índice de concentración de clorofila y LAI, índice de área foliar.

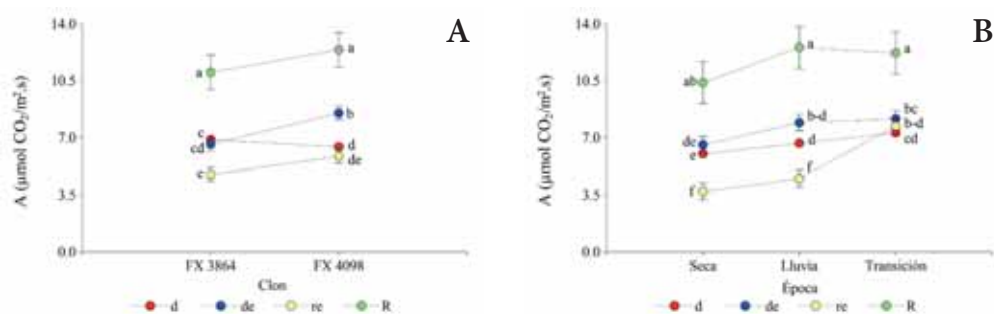


Figura 4.8. Tasa media de asimilación neta de CO_2 (A) entre diferentes fenofases foliares de árboles de caucho (*Hevea brasiliensis*) en etapa de crecimiento según el clon (A) y la época pluviométrica (B) en una zona de alta presión del SALB (*Microcyclus ulei*) en Caquetá (Colombia). Fenofases: de, defoliación considerado a partir del momento en que el 10% de la copa del árbol presenta hojas senescentes en caída; d, defoliación y refoliación; re, refoliación; R, refoliación completo. Medias seguidas por la misma letra entre fenofases en cada clon o época no difieren estadísticamente (Prueba LSD; $p < 0.05$). Las barras representan el error estándar de la media; $n = 4$.

En relación con la tasa media de transpiración (E), la prueba de hipótesis para la interacción clon x época x fenología resultó muy significativa ($p < 0.01$) (Figuras 4.9A y B). En general, en ambos clones, la mayores medias de E se presentaron durante el refoliación completo “R”, así como las menores medias se reportaron en la fenofase “re” (refoliación). En la fenofase “R” del clon FX 4098 y durante la transición hacia la época seca se registró la mayor tasa transpiratoria ($E = 3.79 \text{ mmol H}_2\text{O}/\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$) (Figura 4.9B).

En la figuras 4.9C y D, se observó que el clon susceptible (FX 3864) presentó la máxima conductancia estomática (g_s) en la época seca ($g_s = 0.82 \text{ mol H}_2\text{O}/\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$) y en el clon FX 4098 durante la transición hacia época seca ($g_s = 0.54 \text{ mol H}_2\text{O}/\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$) (Figura 4.9D), en ambos casos, en el refoliación completo “R”. Las mayores fluctuaciones en el comportamiento de g_s se observaron en el clon FX 3864, especialmente en las fenofases “de” y “R” (Figura 4.9C).

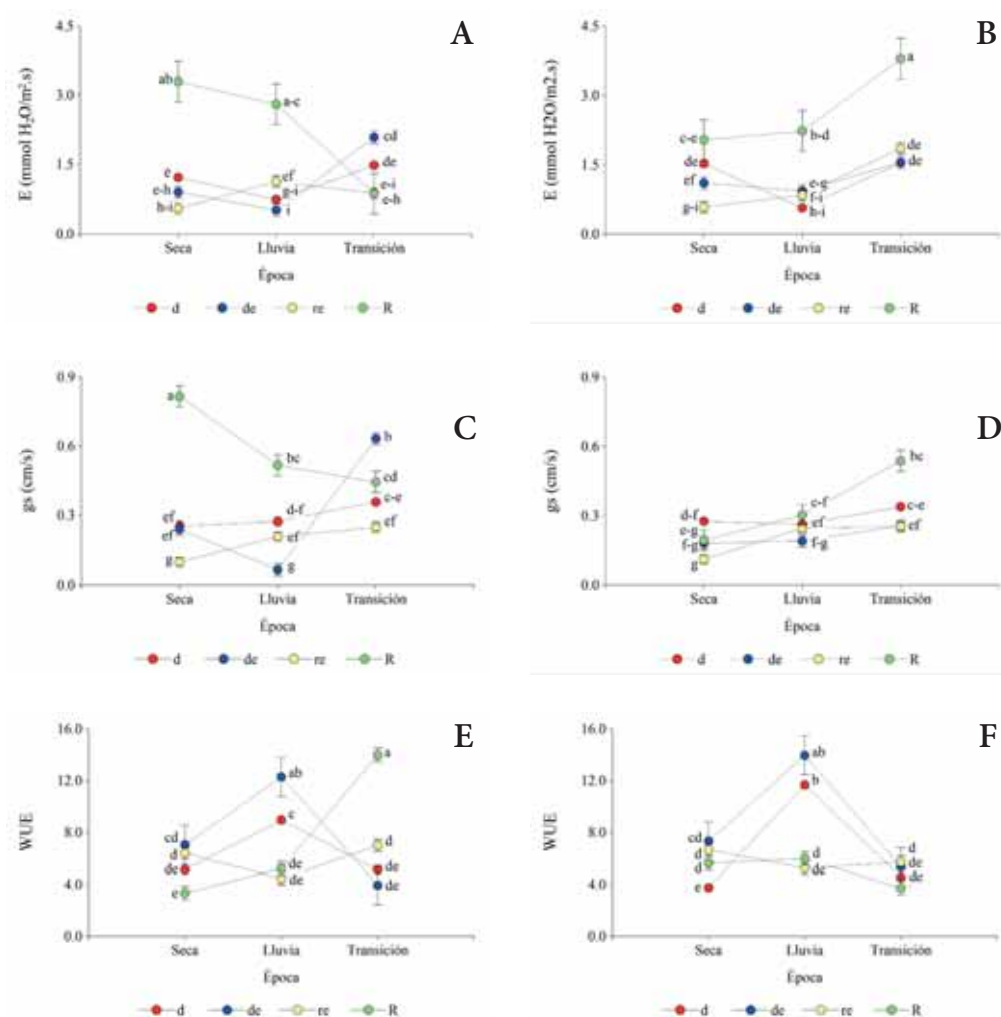


Figura 4.9. Medias de transpiración (E) (A y B), conductancia estomática a vapor de agua (g_s) (C y D) y eficiencia en el uso del agua (WUE) (E y F) entre diferentes fenofases foliares de dos clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) evaluados en tres épocas en una zona de alta presión del SALB (*Microcyclus ulei*) en Caquetá (Colombia). A, C y E, Clon FX 3864; B, D y F, clon FX 4098. Fenofases: de, defoliamiento considerado a partir del momento en que el 10% de la copa del árbol presenta hojas senescentes en caída; d, defoliamiento y refoliamiento; re, refoliamiento; R, refoliamiento completo. Medias seguidas por la misma letra entre fenofases en cada época no difieren estadísticamente (Prueba LSD; $p < 0.05$). Las barras representan el error estándar de la media; $n = 4$.

Se evidenciaron altos valores de *WUE* en los dos clones durante las épocas lluviosa y seca en el estado fenológico “de” (Figuras 4.9E y F). Los mayores ($14.0 \mu\text{mol CO}_2/\text{mmol H}_2\text{O}$) y menores ($3.34 \mu\text{mol CO}_2/\text{mmol H}_2\text{O}$) valores medios de *WUE* se presentaron en el clon FX 3864 en la transición hacia época seca y en la época seca durante el refoliamiento completo “R”.

En general, se observó para ambos clones de caucho un comportamiento muy similar en *A*, *E*, *g*, y *WUE* con medias que se incrementaron significativamente en la fenofase del refoliamiento completo, a pesar de que los síntomas del SALB se asociaron de una manera importante con esta fenofase, aunque en menor grado que lo observado con la fenofase “re”. Lo anterior parece indicar para éste estudio, que características como la acumulación de materia seca, el contenido de cloroplastos (Bergonci, 1981) y la conductancia estomática (Miguel *et al.*, 2007) se incrementan con la edad de las hojas, alcanzando los máximos valores en los folíolos maduros, y que los síntomas del SALB asociados a éstos folíolos en la fenofase “R” no afectaron significativamente el desempeño fotosintético de la planta.

Índice de concentración relativa de clorofila (CCI)

En relación con la concentración relativa de clorofila (CCI), se observó una influencia significativa de la fenofase foliar, debido a que en ambos clones el CCI presentó valores medios altos durante el inicio del ciclo fenológico de renovación foliar (“de”) (Figuras 4.10A y B). Por el contrario en el refoliamiento “re” hubo menores índices de concentración de clorofila.

Índice de área foliar

Se observó también una variación significativa en los valores medios de LAI entre las épocas, ya que se evidenció una disminución en la transición hacia época seca en el clon FX 4098) y en la época lluviosa en el clon FX 3864 (Figuras 4.10C y D). También se apreció que el mayor índice de área foliar se registró durante la época lluviosa (2.93) en el clon FX 4098 en “de”, y en época seca (2.12) en el FX 3864 en refoliamiento completo “R”.

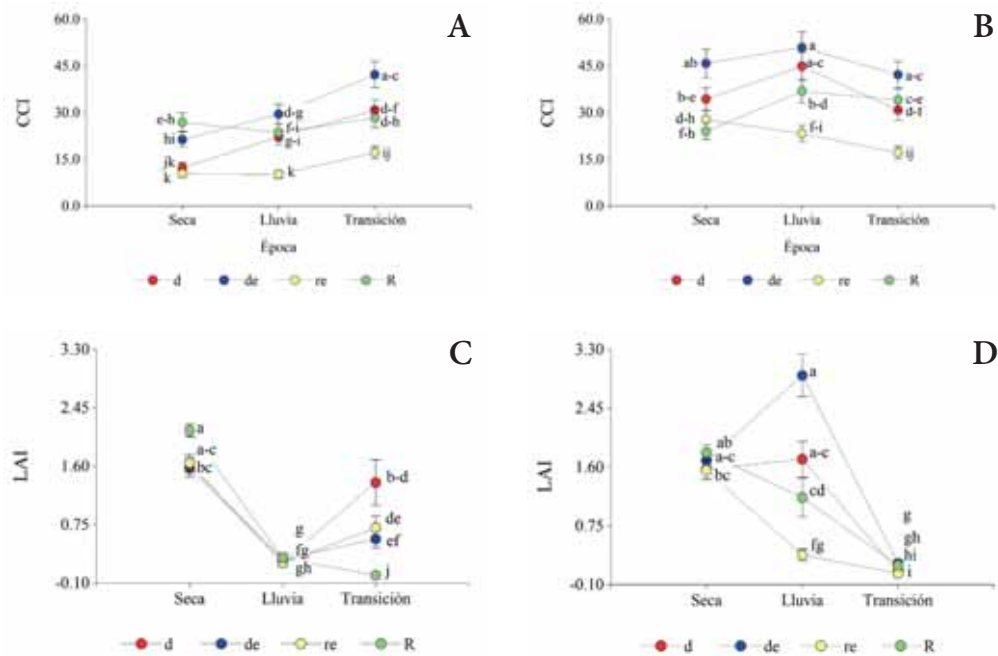


Figura 4.10. Medias de índice de contenido relativo de clorofila (CCI) (A y B) e índice de área foliar (LAI) (C y D) entre diferentes fenofases foliares de dos clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) evaluados en tres épocas en una zona de alta presión del SALB (*Microcyclus ulei*) en Caquetá (Colombia). A y C, Clon FX 3864; B y D, clon FX 4098. Fenofases: de, defoliación considerado a partir del momento en que el 10% de la copa del árbol presenta hojas senescentes en caída; d, defoliación y refoliación; re, refoliación; R, refoliación completo. Medias seguidas por la misma letra entre fenofases en cada época no difieren estadísticamente (Prueba LSD; $p < 0.05$). Las barras representan el error estándar de la media; $n = 4$.

Parámetros de la fluorescencia de la clorofila *a*

En relación con los parámetros de fluorescencia de la clorofila *a*, se observó que no hubo diferencia significativa del valor medio entre clones, fenofases foliares y en las épocas para F_v/F_m , F_v'/F_m' . La época sólo influyó significativamente en las medias de NPQ ($p < 0.05$). Por el contrario qP y ETR mostraron diferencias significativas para los tres efectos antes mencionados, cuyas medias fueron superiores en el clon FX 4098 (Tabla 4.3).

A nivel de fenofases, el valor medio de qP osciló entre 0.38 en “de” y 0.22 en “re”. Asimismo, la media de ETR varió entre 94.21 (fenofase “de”) y 66.59 (fenofase “re”). La ETR fue la variable que fue más influenciada por la época pluviométrica (Tabla 4.3).

Las variables medios de F_v/F_m y F_v'/F_m' no variaron significativamente en la interacción entre fenofases de una misma época (Figuras 4.11A y B). La relación F_v/F_m es considerado como la medida del uso de energía radiante absorbida en la fotosíntesis (Miguel *et al.*, 2007).

Según la Figura 4.11C no se evidenciaron alteraciones significativas en qP , los valores medios mayores se presentaron durante la época seca en “de” (0.37) y “d” (0.36) y en lluvia con 0.35 y 0.27 para las mismas fenofases. Por el contrario, en la transición hacia época seca el mayor valor medio de qP se presentó en el refoliamiento completo “R” con 0.51, seguido por “de” con 0.42.

Según la figura 4.11D, los mayores valores medios de NPQ, se presentaron en la transición hacia la época seca en las fenofases “R” (0.13), “de” (0.12) y “d” y “re” (0.11). Según la tabla 4.1, estas fenofases estuvieron asociadas con síntomas importantes del SALB (severidad y NFL) lo cual indicaría una mayor disipación de la energía por la vía no fotoquímica (calor) para atenuar la afectación producida por la enfermedad en estas fases del desarrollo fenológico de los árboles de caucho, especialmente en el clon más susceptible (FX 3864).

En la época lluviosa se presentaron los valores medios más bajos de ETR (Figura 4.10E), los cuales oscilaron entre 20.69 y 38.75 para las fenofases “re” y “de”, respectivamente. Por el contrario en la época seca se presentaron los valores más altos de ETR con medias de 154.23 y 100.35 en las fenofases “de” y “R”, respectivamente. La ETR óptima observada en la fenofase “de” coincide con la menor sintomatología del SALB reportada para ambos clones de caucho en ésta etapa del ciclo fenológico (Tabla 4.1).

Tabla 4.3. Medias de los principales parámetros de fluorescencia de la clorofila *a* (F_v/F_m , F_v'/F_m' , qP , NPQ , ETR), medidos en los clones de caucho FX 3864 y FX 4098 con diferente reacción al SALB (*Microcyclus ulei*) en condiciones de infección natural en Caquetá (Colombia).

Factor	Nivel	Variables				
		F_v/F_m	F_v'/F_m'	qP	NPQ	ETR
Clon	FX 3864	0.81 ± 0.00^{ab}	0.81 ± 0.00 a	0.28 ± 0.01 b	0.09 ± 0.01 a	68.53 ± 4.55 b
	FX 4098	0.82 ± 0.01 a	0.82 ± 0.01 a	0.34 ± 0.02 a	0.09 ± 0.01 a	91.58 ± 6.79 a
	Media ^c	0.81	0.81	0.31	0.09	80.05
Fenología ^d	de	0.82 ± 0.00 a	0.82 ± 0.00 a	0.38 ± 0.03 a	0.08 ± 0.01 a	94.21 ± 9.44 a
	d	0.82 ± 0.01 a	0.82 ± 0.01 a	0.33 ± 0.02 ab	0.09 ± 0.01 a	84.09 ± 9.03 ab
	re	0.81 ± 0.01 a	0.81 ± 0.01 a	0.22 ± 0.02 c	0.09 ± 0.01 a	66.59 ± 7.63 b
	R	0.82 ± 0.00 a	0.82 ± 0.00 a	0.31 ± 0.02 b	0.08 ± 0.02 a	75.33 ± 6.23 ab
	Media	0.82	0.82	0.31	1.05 b	80.05
Epoca ^e	Seca	0.82 ± 0.01 a	0.82 ± 0.01 a	0.30 ± 0.02 b	0.07 ± 0.01 b	134.51 ± 11.20 a
	Lluvia	0.82 ± 0.00 a	0.82 ± 0.00 a	0.26 ± 0.01 b	0.07 ± 0.01 b	28.26 ± 1.94 c
	Transición	0.81 ± 0.01 a	0.81 ± 0.01 a	0.38 ± 0.02 a	0.12 ± 0.02 a	77.39 ± 4.63 b
	Media	0.82	0.82	0.31	0.08	80.05

^a Error estándar

^b Valores en cada columna seguidos por la misma letra no difieren estadísticamente (LSD, $p < 0.05$)

^c Medias de los valores en esta fila seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente (Prueba LSD, $p < 0.05$).

^d Fenofase foliar [de, defoliamiento considerado a partir del momento en que el 10% de la copa del árbol presenta hojas senescentes en caída; d, defoliamiento y refoliamiento; D, defoliamiento completo (no considerado por la ausencia de datos); re, refoliamiento; R, refoliamiento completo].

^e Seca (Noviembre a febrero); Lluvia (Marzo a junio) y Transición hacia época seca (Julio a octubre).

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 ($\mu\text{g cm}^{-1} \text{s}^{-1}$).

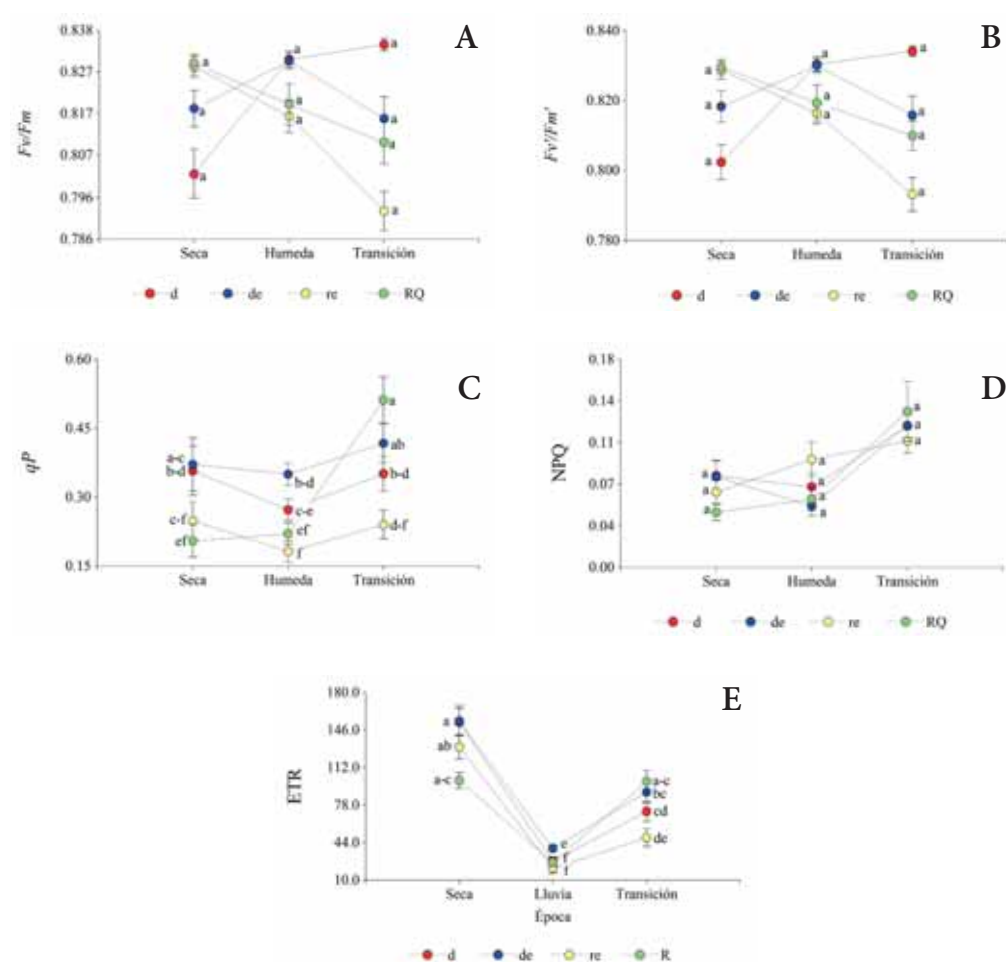


Figura 4.11. Rendimiento cuántico máximo del fotosistema II (PSII) (F_v/F_m) (A); eficiencia en la captura de la energía de excitación para los centros de reacción abiertos del PSII (F_v'/F_m') (B); quenching fotoquímico (qP) (C); quenching no fotoquímico (NPQ) (D); y tasa de transporte de electrones (ETR) (E) entre diferentes fenofases foliares de árboles de caucho (*Hevea brasiliensis*) en etapa de crecimiento para distintas épocas pluviométricas en una zona de alta presión del SALB (*Microcyclus ulei*) en Caquetá (Colombia). Fenofases: de, defoliamiento considerado a partir del momento en que el 10% de la copa del árbol presenta hojas senescentes en caída; d, defoliamiento y refoliamiento; re, refoliamiento; R, refoliamiento completo. Medias seguidas por la misma letra entre fenofases en cada época no difieren estadísticamente (Prueba LSD; $p < 0.05$). Las barras representan el error estándar de la media; $n = 4$.

Respuesta fisiológica en la interacción nivel de retención foliar x SALB

Se presentaron diferencias significativas en las medias de A , E y g_s ($p < 0.05$) para los factores clon, época, nivel de retención foliar (NRF) y sus interacciones. El WUE mostró diferencias significativas en el factor época ($p < 0.05$). Las variables CCI y LAI mostraron diferencias muy significativas entre clones ($p < 0.01$). Por el contrario F_v/F_m , F_v'/F_m' , qP , NPQ y ETR presentaron diferencias significativas en la interacción clon x época ($p < 0.05$). No hubo significancia del clon o el NRF sobre las medias de WUE .

Parámetros de intercambio gaseoso

Se observó un incremento significativo en los valores medios de A , E y g_s durante la época seca en el nivel de retención “0”. En general, las medias más bajas para estos parámetros se evidenciaron en la época seca y en el NRF “4” (20-39% de hojas retenidas en la copa, donde a su vez se presentaron los síntomas más intensos del SALB) (Tablas 4.1 y 4.4). Según Barrera (2013), durante la estación seca cuando el control estomático es mayor se produce una disminución marcada de la fotosíntesis y la transpiración en las horas de máxima demanda evaporativa, lo cual varía con la condición hídrica de la planta.

Las mayores tasas fotosintéticas (A) se presentaron en el nivel de retención foliar “0” el cual los árboles poseen el 100% de hojas retenidas y exhibieron los menores síntomas del SALB (Figuras 4.12A y B, y Tabla 4.1). Entre épocas, el mayor valor de A se presentó en la transición hacia época seca con en el clon FX 4098. En contraste, los valores más bajos de A se reportaron para el NRF “4” en el clon susceptible FX 3864. En éste clon las medias de A fueron de 3.56, 5.69 y 5.88 $\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2.\text{s}^{-1}$ durante las épocas, seca, lluvia y transición, respectivamente (Figura 4.12A).

Estas reducciones en A pueden deberse específicamente a la baja actividad de enzimas fotosintéticas como la Rubisco en respuesta a la infección producida por el patógeno (Rios *et al.* (2014). Asimismo, una menor proporción de hojas en las copas de éstos árboles también implicarían una menor tasa de asimilación neta debido a la reducción del área foliar fotosintética.

Tabla 4.4. Medias de las variables fisiológicas A ($\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$), E ($\text{mmol H}_2\text{O}/\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$), gs ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), WUE ($\mu\text{mol CO}_2/\text{mmolH}_2\text{O}$), CCI y LAI medidas en los clones de caucho FX 3864 y FX 4098 con diferente reacción al SALB (*Microcyclus ulei*) en condiciones de infección natural en Caquetá (Colombia).

Factor	Nivel	Variables					
		A	E	gs	WUE	CCI	LAI
Clon	FX 3864	8.05 $\pm$ 0.29 ^{a,b}	1.53 $\pm$ 0.06 b	0.37 $\pm$ 0.01 a	6.49 $\pm$ 8.17 a	24.70 $\pm$ 1.24 b	0.85 $\pm$ 0.04 b
	FX4098	9.89 $\pm$ 0.26 a	2.06 $\pm$ 0.08 a	0.33 $\pm$ 0.01 b	6.47 $\pm$ 0.69 a	35.48 $\pm$ 1.50 a	1.11 $\pm$ 0.10 a
	Media ^c	8.97	1.79	0.35	6.48	30.09	0.98
Retención ^d	0	12.13 $\pm$ 0.83 a	2.92 $\pm$ 0.25 a	0.45 $\pm$ 0.03 a	5.79 $\pm$ 20.43a	28.76 $\pm$ 2.40 b	1.05 $\pm$ 0.08 a
	1	8.82 $\pm$ 0.31b c	1.54 $\pm$ 0.06 c	0.33 $\pm$ 0.02 c	7.25 $\pm$ 1.67 a	37.45 $\pm$ 2.15 a	1.19 $\pm$ 0.17 a
	2	9.05 $\pm$ 0.23 b	1.82 $\pm$ 0.05 b	0.39 $\pm$ 0.01 b	6.28 $\pm$ 0.28 a	30.03 $\pm$ 2.57 b	1.01 $\pm$ 0.14 ab
	3	8.14 $\pm$ 0.17 c	1.51 $\pm$ 0.02 c	0.35 $\pm$ 0.01 c	6.87 $\pm$ 0.34 a	27.37 $\pm$ 2.10 b	0.79 $\pm$ 0.07 b
	4	6.70 $\pm$ 0.28 d	1.19 $\pm$ 0.05 d	0.23 $\pm$ 0.01 d	6.21 $\pm$ 0.19 a	26.84 $\pm$ 1.50 b	0.86 $\pm$ 0.08 ab
	Media	8.96	1.79	0.35	6.48	30.0	0.98
Epoca ^e	Seca	10.34 $\pm$ 0.33 a	2.18 $\pm$ 0.09 a	0.46 $\pm$ 0.01 a	5.07 $\pm$ 0.13 b	26.00 $\pm$ 1.55 b	1.66 $\pm$ 0.05 a
	Lluvia	7.87 $\pm$ 0.35 b	1.32 $\pm$ 0.09 c	0.24 $\pm$ 0.01 c	8.73 $\pm$ 1.04 a	33.98 $\pm$ 1.80 a	0.96 $\pm$ 0.14 b
	Transición	8.69 $\pm$ 0.33 b	1.88 $\pm$ 0.10 b	0.35 $\pm$ 0.01 b	5.64 $\pm$ 12.26 ab	30.29 $\pm$ 1.69 ab	0.33 $\pm$ 0.04 c
	Media	8.96	1.79	0.35	6.48	30.0	0.98

^aError estándar

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

^cMedias de los valores en esta fila seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente (Prueba LSD, $p < 0.05$).

^dRetención foliar [0= 100% de hojas retenidas, 1= 99-80% de hojas retenidas, 2= 79-60% de hojas retenidas, 3= 59-40% de hojas retenidas, 4= 39 -20% de hojas retenidas y 5= 0% de hojas retenidas (no considerado por la ausencia de datos)].

^eSeca (Noviembre a febrero); Lluvia (Marzo a junio) y Transición hacia época seca (Julio a octubre).
A, tasa de asimilación neta de CO_2 ($\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$); E, tasa de transpiración ($\text{mmol H}_2\text{O}/\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$); gs, conductancia estomática al vapor de agua ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$); WUE, uso eficiente del agua ($\mu\text{mol CO}_2/\text{mmolH}_2\text{O}$); CCI, índice de concentración de clorofila y LAI, índice de área foliar.

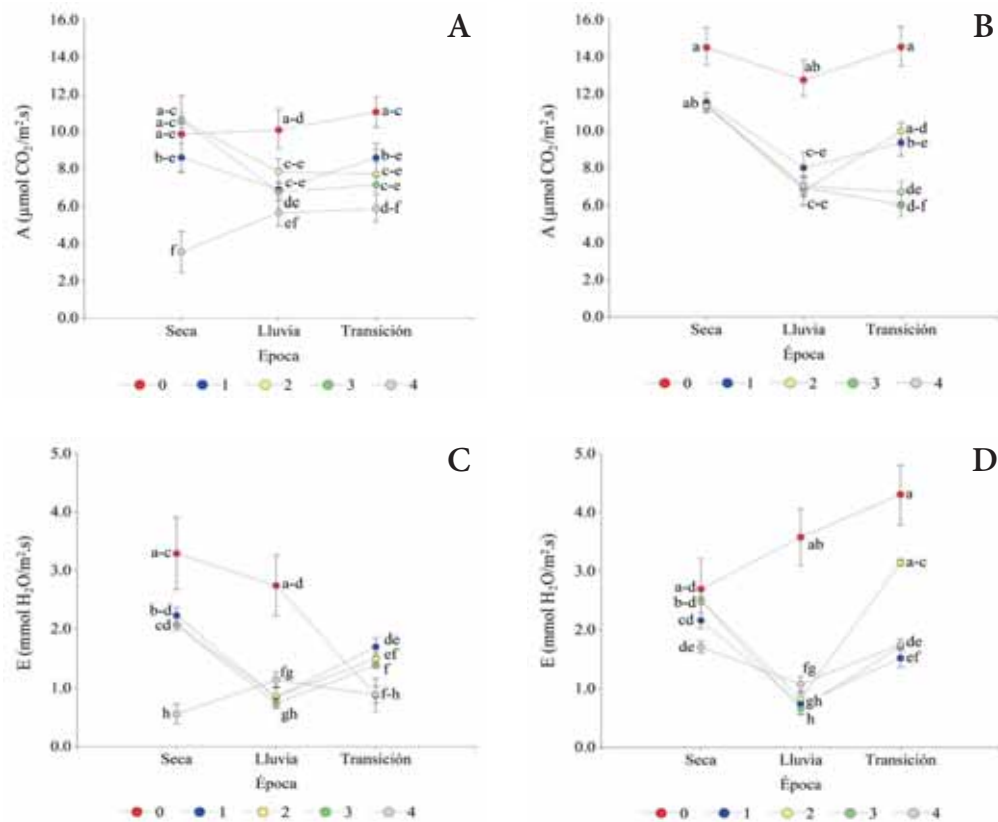


Figura 4.12. Medias de tasa de asimilación neta (A) (**A** y **B**) y transpiración (E) (**C** y **D**) entre diferentes fenofases foliares de dos clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) evaluados en tres épocas en una zona de alta presión del SALB (*Microcyclus ulei*) en Caquetá (Colombia). **A** y **C**, Clon FX 3864; **B** y **D**, clon FX 4098. Fenofases: de, defoliamiento considerado a partir del momento en que el 10% de la copa del árbol presenta hojas senescentes en caída; d, defoliamiento y refoliamiento; re, refoliamiento; R, refoliamiento completo. Medias seguidas por la misma letra entre fenofases en cada época no difieren estadísticamente (Prueba LSD; $p < 0.05$). Las barras representan el error estándar de la media; $n = 4$.

En el clon FX 3864 se observó que la transpiración (E) disminuyó en el NRF “0”, con valores medios en época seca de 3.29, en época lluviosa 2.74 y la transición hacia la época seca con 0.88 $\text{mmol H}_2\text{O}/\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$ (Figura 4.12C). La reducción en E en el clon susceptible también podría relacionarse con el incremento en la intensidad de los síntomas principalmente en folíolos C y D infectados con *M. ulei* (Sterling y Melgarejo, 2014).

Sin embargo, en el clon FX 4098 el comportamiento de la variable fue inverso, ya que el incremento de E comenzó desde la época seca hasta la transición hacia la época seca (2.70 a 4.31 $\text{mmol H}_2\text{O}/\text{m}^2.\text{s}^{-1}$) (Figura 4.12D).

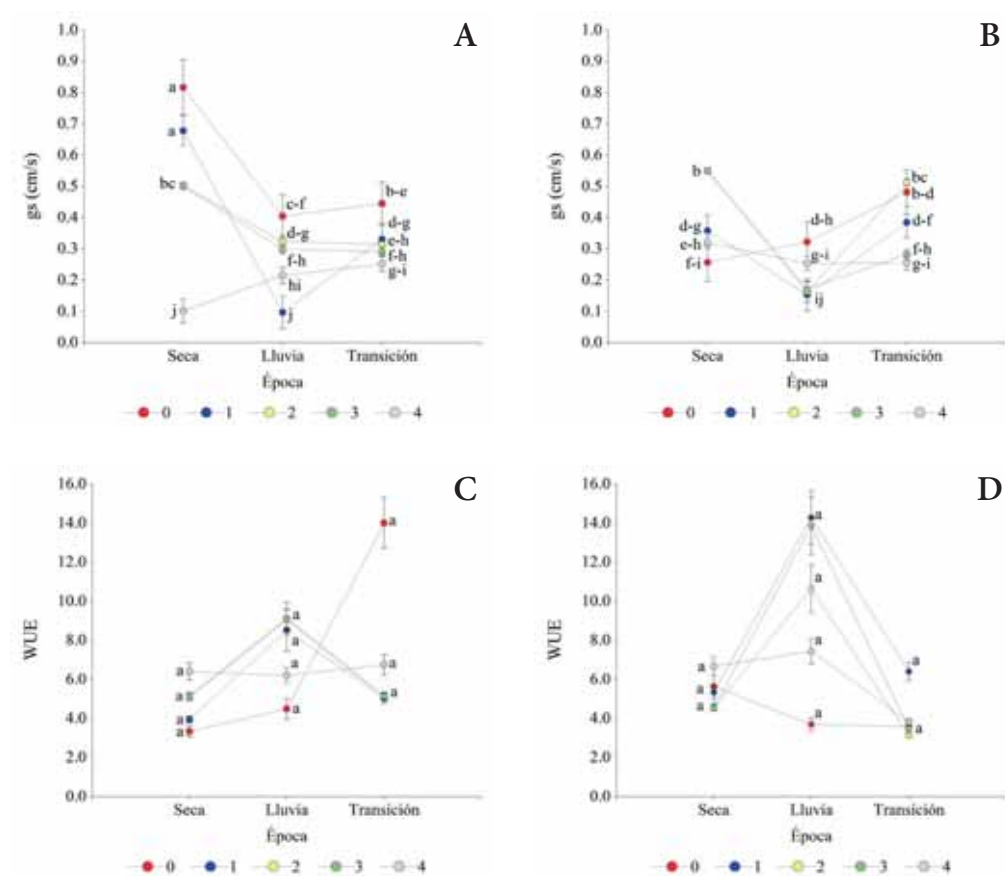


Figura 4.13. Medias de la conductancia estomática a vapor de agua (g_s) (A y B) y eficiencia en el uso del agua (WUE), (C y D) entre diferentes fenofases foliares de dos clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) evaluados en tres épocas en una zona de alta presión del SALB (*Microcyclus ulei*) en Caquetá (Colombia). A y C, Clon FX 3864; B y D, clon FX 4098. Fenofases: de, defoliamiento considerado a partir del momento en que el 10% de la copa del árbol presenta hojas senescentes en caída; d, defoliamiento y refoliamiento; re, refoliamiento; R, refoliamiento completo. Medias seguidas por la misma letra entre fenofases en cada época no difieren estadísticamente (Prueba LSD; $p < 0.05$). Las barras representan el error estándar de la media; $n = 4$.

De acuerdo con la figura 4.13A la mayor conductancia estomática (g_s) en el clon FX 3864 se presentó en el NRF “0” para las tres épocas pluviométricas. Lo mismo ocurrió con las medias de A y E (Figuras 4.12A y C). Con respecto al clon FX 4098 la media de g_s osciló entre 0.15 en época lluviosa y 0.55 en época seca (Figura 4.13B).

En relación con WUE , el clon susceptible FX 3864 presentó un incremento de $14.00 \mu\text{mol CO}_2/\text{mmol H}_2\text{O}$ en la transición hacia época seca, en NRF “0”. Mientras en el clon FX 4098 llegó a $14.28 \mu\text{mol CO}_2/\text{mmol H}_2\text{O}$ durante la época lluviosa en NRF “1” (Figuras 4.13C y D). En árboles con 100% de hojas retenidas (NRF “0”), 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 con el incremento de los síntomas del SALB (mayor NRF asociado a mayores valores de severidad y NFL, tabla 4.1).

Las reducciones en la transpiración (E) en los diferentes estados de retención foliar del clon susceptible (FX 3864) pudieron relacionarse con disminuciones en los valores de g_s y por tanto, pudieron estar asociadas con el cierre estomático. Distintos estudios han demostrado reducciones similares en E y g_s en los patosistemas *Eucalyptus urophylla* – *Puccinia psidii* (Alves *et al.*, 2011), *Phaseolus vulgaris* – *Colletotrichum lindemuthianum* (Polanco *et al.*, 2014) y *Triticum aestivum* – *Piricularia oryzae* (Rios *et al.*, 2014).

Índice de concentración relativa de clorofila (CCI)

En general, la media del CCI en el clon FX 3864 (susceptible) fue menor en comparación con el FX 4098 (moderadamente resistente). Sin embargo, durante la transición hacia la época seca, el FX 3864 presentó el mayor y menor valor medio de CCI para los NRF “1” (42.19) y “3” (11.61), respectivamente (Figura 4.14A).

Se observó también que la media del CCI en el FX 4098 alcanzó el máximo valor durante la época lluviosa, también en el NRF “1” (61.44) y el menor valor medio en la época seca en el NRF “4” (21.57) (Figura 4.14B). Uno de los principales efectos fisiológicos atribuidos al estrés biótico por patógenos está relacionado con la destrucción de la clorofila o la disminución de la producción de éste pigmento fotosintético, el

cual su vez está relacionado con un aumento en la expresión de los pigmentos xantofilas y carotenoides (Bergamin-Filho *et al.*, 1995).

Índice de área foliar (LAI)

Se observaron diferencias significativas en la media del LAI entre los distintos niveles de retención foliar. En este sentido, se observaron menores a mayores valores de NRF, lo cual indica una reducción del follaje en copa como resultado del incremento de la defoliación, la cual estuvo muy asociada a los síntomas del SALB (Tabla 4.1).

Según la figura 4.15, los valores medios de LAI en los dos clones de caucho estuvieron influenciados por la época en que la variable fue medida. De acuerdo con esto, en el clon FX 3864 las menores medias de LAI se presentaron durante las épocas de lluvia y transición, (que corresponden a las épocas de mayor presión del SALB). En relación con el clon FX 4098, la mayor afectación foliar se observó durante la transición hacia la época seca. En excepción de ésta última época, el LAI en el clon FX 4098 fue superior al registrado en el con FX 3864.

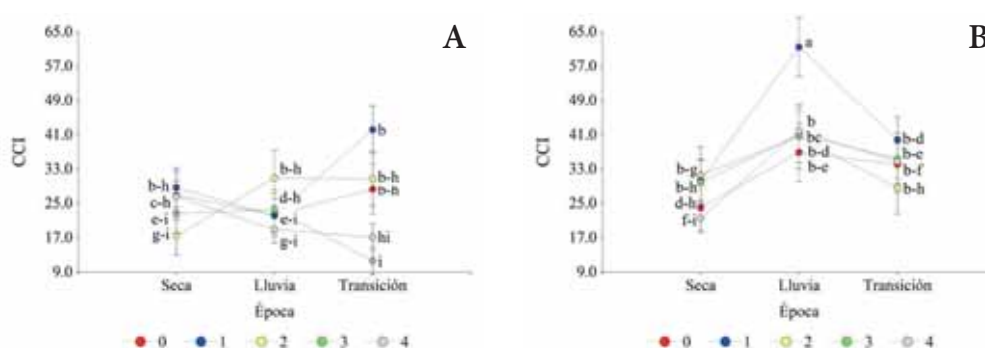


Figura 4.14. Media del índice de concentración relativa de clorofila (CCI) entre diferentes niveles de retención foliar (NRF) en copas de árboles de dos clones de caucho (*Hevea brasiliensis*) en una zona de alta presión al SALB en Caquetá, Colombia. **A**, Clon FX 3864 (susceptible); **B**, Clon FX 4098 (moderadamente resistente). NRF: 0= 100% de hojas retenidas, 1= 99-80% de hojas retenidas, 2= 79-60% de hojas retenidas, 3= 59-40% de hojas retenidas, 4= 39 -20% de hojas retenidas. Medias seguidas por la misma letra entre categorías de NRF en cada época no difieren estadísticamente (Prueba LSD; $p < 0.05$). Las barras representan el error estándar de la media.

Parámetros de la fluorescencia de la clorofila *a*

En la fluorescencia de la clorofila *a*, hubo diferencia significativa ($p < 0.05$) en el valor medio de qP , NPQ y ETR para los factores NRF y época, en donde los mayores medias se reportaron en NRF “3”: 0.41, 0.13 y 101.19 para las variables antes mencionadas, respectivamente. Adicional a esto, el clon FX 4098 presentó los valores medios más altos para éstas variables.

Por otro lado, en el NRF “0” (100% de hojas retenidas) se presentaron los menores valores medios ($F_v/F_m = F_v'/F_m' = 0.08$), ($qP = 0.29$), (NPQ = 0.08) y (ETR = 72.59). Las variables F_v/F_m y F_v'/F_m' mostraron medias similares para los diferentes efectos estudiados (Tabla 4.5).

En la interacción clon x época (Figura 4.16A y C) se observó que F_v/F_m y F_v'/F_m' , en el clon FX 4098 alcanzó en época lluviosa un valor medio de 0.84 y en la transición hacia época seca una media de 0.81. Asimismo, se observó que en la interacción NRF x época (Figura 4.16B y C) no se presentaron diferencias significativas para éstas dos variables ($p < 0.05$).

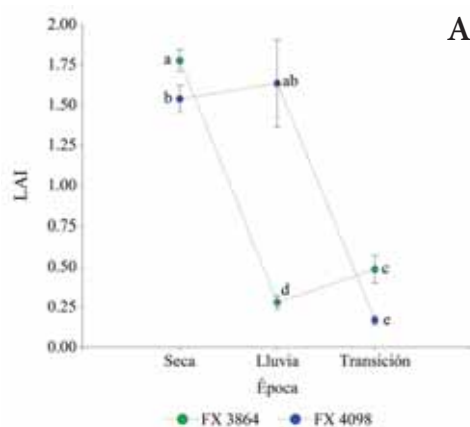


Figura 4.15. Media del índice de área foliar (LAI) medido en árboles en etapa de crecimiento de dos clones de caucho FX 3864 (susceptible) y FX 4098 (moderadamente resistente) en una zona de alta presión del SALB (*Microcyclus ulei*) en Caquetá, Colombia. Medias seguidas por la misma letra entre clones en cada época no difieren estadísticamente (Prueba LSD; $p < 0.05$). Las barras representan el error estándar de la media.

Tabla 4.5. Medias de los principales parámetros de fluorescencia de la clorofila *a*: F_v/F_m , F_v'/F_m' , qP , NPQ y ETR, medidos en los clones de caucho FX 3864 y FX 4098 con diferente reacción al SALB (*Microcyclus ulei*) en condiciones de infección natural en Caquetá (Colombia).

Factor	Nivel	Variables				
		F_v/F_m	F_v'/F_m'	qP	NPQ	ETR
Clon	FX 3864	0.82 ± 0.00 ^{a,b}	0.82 ± 0.00 a	0.32 ± 0.01 b	0.10 ± 0.01 a	81.75 ± 4.03 b
	FX4098	0.83 ± 0.00a	0.83 ± 0.00 a	0.41 ± 0.01 a	0.11 ± 0.01 a	101.25 ± 4.16 a
	Media ^c	0.82	0.82	0.36	0.10	91.5
Retención ^d	0	0.82 ± 0.01 a	0.82 ± 0.01 a	0.29 ± 0.02 b	0.08 ± 0.01 b	72.59 ± 5.31 c
	1	0.83 ± 0.01 a	0.83 ± 0.01 a	0.38 ± 0.02 a	0.11 ± 0.02 ab	91.98 ± 6.21 ab
	2	0.82 ± 0.01 a	0.82 ± 0.01 a	0.36 ± 0.02 a	0.09 ± 0.01 ab	83.70 ± 5.85 bc
	3	0.83 ± 0.01 a	0.83 ± 0.01 a	0.41 ± 0.02 a	0.13 ± 0.02 a	101.19 ± 6.91 ab
	4	0.83 ± 0.01 a	0.83 ± 0.01 a	0.37 ± 0.02 a	0.11 ± 0.02 ab	108.05 ± 7.79 a
	Media	0.82	0.82	0.36	0.10	91.5
Epoca ^e	Seca	0.83 ± 0.00 a	0.83 ± 0.00 a	0.31 ± 0.02 b	0.07 ± 0.01 b	143.31 ± 7.64 a
	Lluvia	0.83 ± 0.00 a	0.83 ± 0.00 a	0.30 ± 0.02 b	0.07 ± 0.01 b	32.46 ± 1.70 c
	Transición	0.82 ± 0.01 a	0.82 ± 0.01 a	0.48 ± 0.02 a	0.18 ± 0.02 a	98.73 ± 3.77 b
	Media	0.82	0.82	0.36	0.10	91.5

^a Error estándar
^b Valores en cada columna seguidos por la misma letra no difieren estadísticamente (LSD, p < 0.05)
^d Retención foliar [0= 100% de hojas retenidas, 1= 99-80% de hojas retenidas, 2= 79-60% de hojas retenidas, 3= 59-40% de hojas retenidas, 4= 39 -20% de hojas retenidas y 5= 0% de hojas retenidas (no considerado por la ausencia de datos)].
^e Seca (Noviembre a febrero); Lluvia (Marzo a junio) y Transición hacia época seca (Julio a octubre). 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 (µg cm-1 s-1).

Con respecto a NPQ y qP cabe mencionar que los mayores valores medios se presentaron durante la transición hacia la época seca en el clon FX 4098 (Figura 4.17A y B).

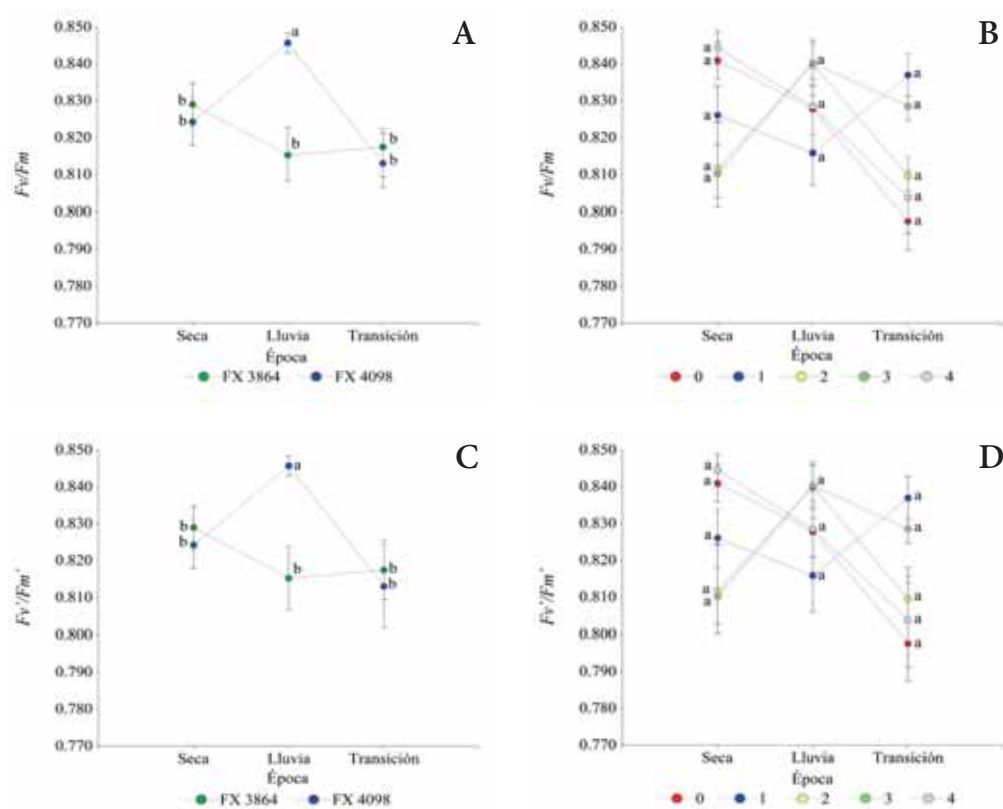


Figura 4.16. A y B, Rendimiento cuántico máximo del fotosistema II (PSII) (F_v/F_m); C y D, eficiencia en la captura de la energía de excitación para los centros de reacción abiertos del PSII (F_v'/F_m') medidos en árboles de caucho (*Hevea brasiliensis*) en etapa de crecimiento en una zona de alta presión del SALB (*Microcyclus ulei*) en Caquetá, Colombia. A y C, Interacción clon x época; B y D, Interacción nivel de retención foliar (NRF) x época. FX 3864 (susceptible) y FX 4098 (moderadamente resistente). NRF: 0= 100% de hojas retenidas, 1= 99-80% de hojas retenidas, 2= 79-60% de hojas retenidas, 3= 59-40% de hojas retenidas, 4= 39 -20% de hojas retenidas. Medias seguidas por la misma letra entre clones o categorías de NRF en cada época no difieren estadísticamente (Prueba LSD; $p < 0.05$). Las barras representan el error estándar de la media.

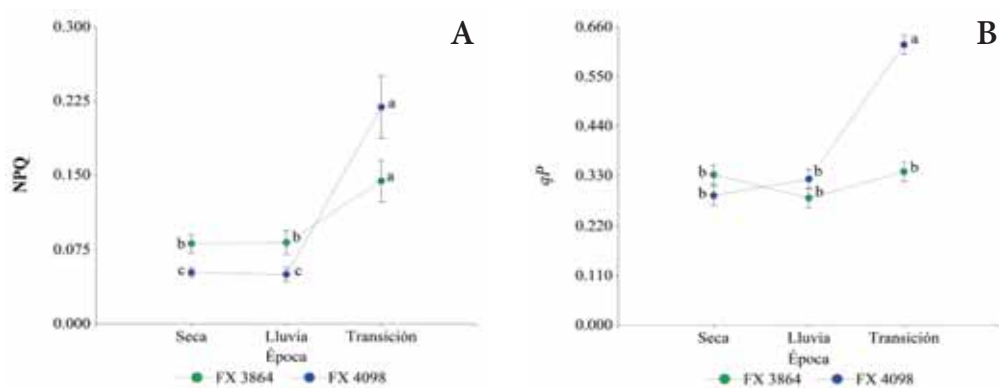


Figura 4.17. Medias de los coeficientes de los quenching no fotoquímicos (NPQ) (A) y quenching fotoquímico (q_p) de dos clones de caucho: FX 3864 (susceptible) y FX 4098 (moderadamente resistente) evaluados en tres épocas en una zona de alta presión del SALB (*Microcyclus ulei*) en Caquetá (Colombia). Medias seguidas por la misma letra entre clones en cada época no difieren estadísticamente (Prueba LSD; $p < 0.05$). Las barras representan el error estándar de la media.

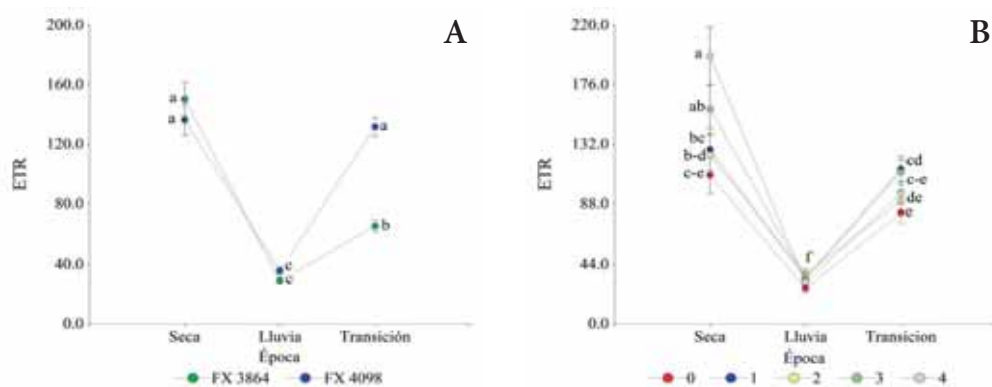


Figura 4.18. Tasa de transporte de electrones (ETR) para las interacciones clon x época (A) y nivel de retención foliar x época (B) medida en árboles de caucho (*Hevea brasiliensis*) en etapa de crecimiento en una zona de alta presión del SALB (*Microcyclus ulei*) en Caquetá, Colombia. FX 3864 (susceptible) y FX 4098 (moderadamente resistente). NRF: 0= 100% de hojas retenidas, 1= 99-80% de hojas retenidas, 2= 79-60% de hojas retenidas, 3= 59-40% de hojas retenidas, 4= 39-20% de hojas retenidas. Medias seguidas por la misma letra entre clones o categorías de NRF en cada época no difieren estadísticamente (Prueba LSD; $p < 0.05$). Las barras representan el error estándar de la media.

En relación con la ETR, se evidenció una disminución de ésta variable en la época lluviosa en las dos interacciones significativas (clon x época y NRF x época). Se aprecia además que el clon FX 3864 tuvo una variación en la media de ETR desde 29.18 hasta 150.34 en la época seca (Figura 4.18B).

Consideraciones finales

El análisis de la respuesta fisiológica de los clones de caucho FX 3864 y FX 4098 a la infección producida por *M. ulei* (SALB) en condiciones controladas y naturales 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 los síntomas producidos por el SALB a nivel foliar (mayor severidad) en condiciones controladas y a nivel de dosel (menor proporción de hojas retenidas en la copa) en condiciones naturales.
- La reducción de la fotosíntesis en el clon FX 3864 fue proporcional al progreso temporal de la enfermedad en condiciones controladas, principalmente en folíolos inmaduros B. En condiciones naturales, la afectación de la fotosíntesis ocurre principalmente en la fase de refoliamiento y en árboles con menor proporción de hojas retenidas en las copas.
- 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 caucho 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 y a nivel de copa sobre árboles en etapa de crecimiento.

Referencias bibliográficas

- 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.
- 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.
- BACON, M. 2004. Water use efficiency in plant biology. Blackwell Publishing Ltd. Oxford UK. 322 p.
- BARRERA, J.A 2013. Estudio Ecofisiológico del Arazá (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh) Bajo Modelos de Producción Predominantes en Paisajes de la Amazonia Norte y Occidental Colombiana. pp. 251
- BAKER, N. R. 2008. Chlorophyll Fluorescence: A Probe of Photosynthesis In Vivo. Plant Biol 59: 89-113.
- BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM L. Manual de fitopatología: princípios e conceitos. 3 ed. São Paulo: Ceres, v.1, 1995. 919 p.
- 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.
- CAMPBELL, C. L., MADDEN, L. V. 1990. Introduction to Plant Disease Epidemiology. Wiley-Interscience, John Wiley & Sons, New York.

- 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. 2002. Desempenho de cinco clones jovens de seringueira na região do planalto ocidental paulista. *Bragantia*, Campinas 61 (3): 237-245.
- CHEE, K. H., HOLLIDAY, P. 1986. South American Leaf Blight of *Hevea*. Rubber Monograph 13. Malaysian Rubber Research and Development Board. 50 p.
- 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.
- DA MATTA, F. M. 2008. Ecophysiology of tropical tree crops: an introduction. *Brazilian Journal. Plant Physiology* 19 (4): 239-244.
- 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 2014. 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.
- FOURNIER, C., & ANDRIEU, B. (1999). ADEL-maize: an L-system based model for the integration of growth processes from the organ to the canopy: application to regulation of morphogenesis by light availability. *Agronomie*, 19(3/4), 313-327.

- FURTADO, E.L. 1996. Comportamento de cultivares de seringueira (*Hevea spp.*) frente ao Mal das folhas na região do Vale do Ribeira – SP, Tese (Doutorado)–Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- 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.
- 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.
- 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.
- HALLÉ, F., OLDEMAN, R., TOMLINSON, P. B. 1978. Tropical trees and forest. Springer-verlag. Berlin, DE. 441 p.
- 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.
- IDEAM (Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales). 2011. Sistema de Información Nacional Ambiental. Estación No. 44045030, La Mono – Belén de los Andaquíes, Caquetá. 10 p.
- IGAC (Instituto Geográfico Agustín Codazzi, CO). 2010. Caquetá, características geográficas. Imprenta nacional de Colombia. Bogotá, D.C. 373 p.
- JUNQUEIRA, N. T. V. L., ZAMBOLIM, 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.
- LIEBEREII, 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. *Annals of Botany* 100: 1125–1142.
- 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.
- MARSHALL, J. D., & WARING, R. H. (1986). Comparison of methods of estimating leaf area index in old-growth douglas fir. *Ecology*, 67, 975–979.
- 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.
- MAXWELL, K., JOHNSON, G. N. 2000. Chlorophyll fluorescence – a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51 (345): 659–668.
- 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. Ait. de Juss.) Muell. Arg.), in Lavras, MG. *Ciênc. Agrotec. Lavras* 31(1): 91–97.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- R CORE TEAM. 2014. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL. <http://www.R-project.org/>.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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., 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., MELGAREJO, M. L. M. 2014. Variación temporal a *Microcyclus ulei* en los clones de caucho FX 3864 y FX 4098 en condiciones controladas Colombia, Revista Colombiana De Biotecnología ISSN: 0123-3475, 2014 vol:16: 158 – 168p.
- 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.
- WILHEM, W. W., RUWE, K., SCHLEMMER, M. (2000). Comparison of three leaf area index meters in a crop canopy. Crop Science, 40, 1179-1183.

CAPÍTULO V

Beneficio de almendras de copoazú (*Theobroma grandiflorum*) en Caquetá (Colombia)

María Soledad Hernández*¹, Marcela Carrillo¹,
Natalia Cucaita², Yenny Herrera²,
Claudia Hernández², Rafael H. Gutiérrez²



¹ Investigador Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas “SINCHI” Sede Florencia.
E-mail: shernandez@sinchi.org.co (*Autor de correspondencia)

² Co-investigador del proyecto

Introducción

El copoazú (*Theobroma grandiflorum*) hace parte de los cacaos silvestres del género *Theobroma* y es una especie sobre la que se ha hecho un gran énfasis en su desarrollo tecnológico para la producción de un análogo al chocolate de taza, que se usa como bebida. El copoazú está compuesto por tres (3) partes; la cáscara o corteza que constituye 46.5% del total del fruto, la pulpa 36.8, y las almendras 16.7%. De manera similar que con el cacao, del beneficio de las semillas del copoazú se obtiene una pasta, análogo al chocolate de cacao, denominada “chocoazú” ya que de acuerdo con la legislación en varios países solo es chocolate, aquel producto obtenido del cacao, los demás productos son de carácter análogo. Mientras que del cacao se obtiene el licor de cacao y la manteca, del copoazú, es posible procesar la pulpa que rodea las semillas y que a diferencia del cacao, tiene alto contenido de sólidos, entre azúcares de cadena corta y larga (sacarosa, almidón) y fibra soluble y no soluble, que corresponde al 63.8% de la recomendación diaria, en su pulpa (SINCHI, 2014). El proceso de fermentación del copoazú, para la obtención de licor de copoazú y obtención de bombones constituye un reto tecnológico que establezca su oferta en el mercado agroalimentario (Melgarejo *et al.*, 2006).

Pueden considerarse dos rutas como resultado de la fermentación del copoazú: la obtención de un licor de uso exclusivo para la producción de chocolate de taza, que se encuentra en el comercio o una línea de producción de chocolate para bombonería. Si se logra tecnificar el proceso de beneficio para la obtención de un licor de copoazú, es

justamente el proceso de fermentación de copoazú, una de las operaciones que tiene que ser mejorada, ya que de ella depende los procesos fisicoquímicos encargados de originar los compuestos precursores del aroma y el sabor del chocolate o en el caso del copoazú del denominado chocoazú. En el proceso de fermentación se soporta gran parte del éxito de un buen licor (FEDECAO, 2008).

Lamentablemente aún no se ha reconocido el valor real de las semillas de copoazú, pues la mayor parte de las veces son empleadas como abono o simplemente abandonadas como residuos, a pesar de poseer una grasa fina de alta digestibilidad. Algunos beneficios del “chocoazú” comparado con el chocolate se relacionan en el aporte de ácidos grasos y antioxidantes, la cantidad de ácido linoléico es mayor en la grasa del copoazú (8.3%) que en la del cacao (1.1%) y mientras que la grasa de cacao posee 69.3% de ácidos grasos saturados, la grasa del copoazú posee 48.9% (Melgarejo *et al.*, 2006).

La fermentación es una etapa decisiva, pues es en esta que se desarrollan los precursores de sabor y aroma típicos de un cacao de buena calidad. Durante la fermentación se espera que los granos se desprendan del mucilago, se provoque la muerte del embrión para evitar la germinación, y se origine la cadena de reacciones bioquímicas en el interior de los granos que generan un aumento de su volumen y el cambio de color hasta alcanzar el tono chocolate característico del grano de cacao. El proceso de fermentación se lleva a cabo en cajones de madera depositando allí los granos extraídos de la mazorca. Los cajones presentan orificios en el fondo y los lados para permitir el fluido de los líquidos que se van desprendiendo. El tamaño y número de los cajones varía de acuerdo con la cosecha de la finca (Rohan, 1964).

Aunque el copoazú pertenece al género *Theobroma*, al igual que el cacao, éste posee características propias como el tamaño de las semillas, el grosor de la testa de las semillas, el contenido de pulpa del fruto, entre otros; estas diferencias originan el hecho de estandarizar el proceso de fermentación propio de las semillas de copoazú, con el fin de controlar diversos parámetros que influyen en las características del producto final.

El beneficio del copoazú constituye una parte fundamental y decisiva para obtener buena calidad de semillas para la producción de un buen licor, que se conoce con los nombres: “chocoazú” o “cupulate”. Con un beneficio adecuado se desarrolla en la almendra los principios fundamentales del sabor, aroma y suavidad inconfundibles de las especies de cacao, lo que determina en gran medida la calidad del producto final.

En el presente capítulo se presentan algunos de los resultados relacionados con el beneficio de almendras de copoazú, una labor que comprende una serie de operaciones como recolección del fruto, separación de la semilla, fermentación, secado y procesamiento con el fin de presentar un producto de buena calidad en el mercado y con potencial de aprovechamiento agroindustrial en el departamento de Caquetá, Colombia.

Cambios fisicoquímicos que ocurren durante el proceso de fermentación

Las operaciones previas de Recolección, Separación de la masa pulpa – semilla y Despulpado son comunes en el proceso de beneficiar el copoazú (Barrera, 1999), y son directamente adaptados del proceso de beneficio del cacao, cuyo propósito es dejar la semilla disponible para alcanzar un proceso de fermentación completo, que desarrolle las característica de un buen licor.

La fermentación es un proceso bioquímico de transformación, interno y externo de la semilla, cuyo resultado es la remoción del mucílago que cubre el grano. La fermentación significa conservar una masa de semillas bien aislada, de tal manera que retenga el calor al mismo tiempo que permita el paso del aire a través de ésta. Durante el tratamiento de fermentación se logra: La inhibición del embrión y favorecer operaciones de secado, así como el desarrollo de sabor en el producto.

Durante la fermentación hay varios cambios que deben ser evaluados: La temperatura, el pH y los °Brix. La fermentación se inicia con las levaduras que convierten los azúcares de la pulpa en alcohol etílico y que continúan con una sucesión de transformación bioquímica de

oxidación del alcohol a ácido acético y luego a dióxido de carbono y agua, produciendo más calor y la consiguiente elevación de la temperatura, hasta más de 40°C en una buena fermentación. Las bacterias ácido lácticas van en aumento, momento para el cual la temperatura habrá alcanzado más de 45°C. Durante los días restantes de 5 a 6 días la actividad bacteriana continua bajo aireación progresiva, debido a que el drenaje de la pulpa desaparece y la temperatura se mantiene por la actividad bacteriana (Beckett, 1988). Por la elevación de la temperatura, la masa o cantidad total de las semillas debe revolverse diariamente para que toda se fermente de una manera uniforme y se presente un leve enfriamiento seguido de un rápido aumento en la temperatura y el cargue de los dispositivos de fermentación no deben tener menor volumen que 40 Kg en promedio, aunque la microfermentación es posible.

El aumento de temperatura de la masa es de gran importancia, dado que la muerte del embrión del grano es debida en parte a este cambio, y por lo tanto se pueden iniciar las reacciones enzimáticas en los cotiledones que en últimas, significa, el desarrollo del sabor y aroma del chocolate. La temperatura óptima para alcanzar la muerte del cotiledón es de 45°C.

Variación del pH y otros cambios químicos

En el comienzo de la fermentación el pH de la pulpa es bajo (3.0) y va aumentando paulatinamente a medida que avanza la fermentación hasta alcanzar un valor de 5.0. El cambio en el pH se considera que es debido a la desasimilación del contenido de azúcares de la pulpa, realizado por las levaduras y bacterias lácticas y acéticas y su sustitución por ácido láctico y acético (Peñaranda y Bolaños, 1990) (Figura 5.1).

Los azúcares constituyen del 10 al 13% de la pulpa, de éstos las 2/3 partes son manosas y la tercera parte es sacarosa. Los azúcares desaparecen prácticamente después del día 2, luego se presenta un leve incremento debido a la migración de los azúcares de los cotiledones muertos hacia la corteza.

La máxima cantidad de etanol se presenta cuando la población de levaduras es alto (primeros días), pero luego decrece debido a la

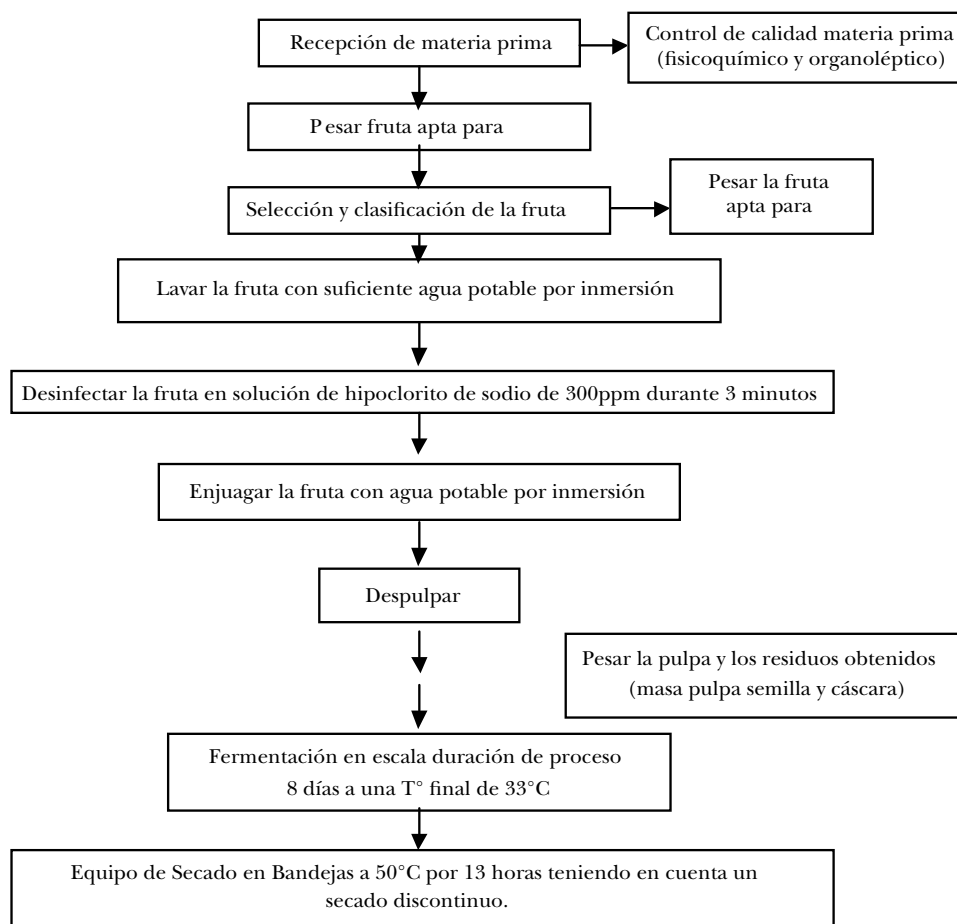


Figura 5.1. Obtención de almendras de copoazú fermentadas y secas

formación de ácido acético a partir de la oxidación del etanol. Después del segundo día, la disminución del contenido de etanol es mayor que el que se debe dar por consumo para la oxidación, dado que, parte del etanol producido penetra a través de la corteza hacia el cotiledón de la semilla.

En el caso del ácido acético, éste se va incrementando a medida que transcurre la fermentación, especialmente cuando se tienen condiciones aerobias para la reacción de oxidación del etanol. Después de 30 a 36 horas de la muerte del embrión, sustancias como polifenoles y alcaloides se difunden desde el cotiledón hacia la corteza de la semilla y la pulpa, donde se oxidan y causan un progresivo pardeamiento.

Cambios en los cotiledones

La muerte del embrión de los granos, es decir, la pérdida del poder germinativo de las semillas es un cambio necesario para que se den las demás reacciones dentro del grano (fermentación enzimática), dado que una vez se pierde el poder germinativo, las paredes celulares se hacen permeables y las diferentes sustancias pueden difundirse libremente a través de los tejidos, originándose de esta forma el sabor y aroma en el grano. La muerte de las células del cotiledón tiene lugar el segundo día, producida principalmente por el ácido acético que se está produciendo en la pulpa.

Cambio en los azúcares

Los azúcares contenidos en el cotiledón juegan un papel muy importante en el desarrollo de los compuestos que dan el sabor y aroma característicos del chocolate. La principal transformación que sufren los azúcares totales es la hidrólisis, con lo cual se produce un incremento en los azúcares reductores como glucosa o fructosa.

La relación entre los azúcares reductores y totales, da el índice de azúcar que también sirve como parámetro para llevar a cabo una buena fermentación. Su valor óptimo está cercano al 90% e indica que se tiene un cacao de buen sabor y aroma (Hernández y León, 2003)

Un alto índice de azúcar indica que se han producido los monosacáridos requeridos para la síntesis de los precursores de los compuestos que le dan sabor y aroma al chocolate (Peñaranda y Bolaños, 1990).

En etapas siguientes del procesamiento del cacao para la obtención del chocolate ocurren ciertos cambios químicos, que dependen de lo ocurrido durante la fermentación. Ese es el caso de la tostión, en donde se da una reacción de degradación de aminoácidos, siendo los agentes degradadores los azúcares reductores. Por lo tanto un aumento considerable de éstos garantiza la degradación de los aminoácidos, y por tanto el desarrollo del aroma en la tostión (Hernández y León, 2003).

Cambios en los polifenoles

Los polifenoles característicos del cacao son los del tipo catequina, y después de casi 30 horas transcurridas desde la muerte del grano, disminuye

su contenido en un 25 a 40%, dado que después de la muerte de los cotiledones todos los componentes comienzan a difundirse hacia la testa, especialmente las catequinas. Además, las cianidinas se hidrolizan enzimáticamente en azúcares y cianidinas, y éstas se convierten en leucocianidinas, dando como resultado un cambio en el color de los cotiledones y en su sabor, puesto que los polifenoles cuando sufren cambios químicos o se difunden a través de la testa reducen el sabor amargo y la astringencia del grano (EMBRAPA, 1990).

Factores que intervienen en la fermentación

Son diversos los factores que influyen en el proceso de fermentación: clima, madurez de los frutos, tiempo transcurrido desde la recolección del fruto hasta que se abre y se procede a fermentar los granos, tipo de cacao, cantidad de cacao, tiempo de fermentación, remoción y aireación de la masa a fermentar y el tipo de fermentador utilizado.

Madurez del fruto. Los frutos verdes no fermentan normalmente, su temperatura permanece constante a 35°C después de un ascenso inicial a 40°C; las pérdidas durante su maduración y secado son mucho mayores que las normales, dado que su rendimiento es tan solo del 21% con respecto al peso húmedo. Además la pulpa es deficiente en azúcares y no se producen las cantidades requeridas de etanol y ácido acético (EMBRAPA, 1990). En el caso de los frutos sobremadurados que pueden contener granos germinados, no se nota una pérdida apreciable en el rendimiento, y la calidad de las semillas no se altera en forma considerable, de hecho el tiempo de aguante puede llegar a ser de nueve días antes de llegar a la fermentación. Mattiello (2001) indica que en este periodo el producto puede llegar a tener una mayor hidrólisis de los azúcares y llevar a una mejor fermentación.

Se ha identificado que aunque la microfermentación es una buena metodología para lograr controlar algunas variables del proceso de fermentación, también es claro que el calor que se genera durante la fermentación se retiene mediante aislamiento, pero eso se vuelve más difícil de lograr con cantidades pequeñas de cacao, debido a que su

superficie es mayor en relación a su masa. Cantidades entre 40-70 kg de grano húmedo pueden llegar a fermentar bien, porque cantidades mayores pueden ser difíciles de voltear en cajones de madera (Peñaranda y Bolaños, 1990).

Los tiempos de fermentación varían dependiendo de la especie y la variedad de cacao o de cualquier otro cacao silvestre como el copoazú, o el maraco. Los cacaos blancos como el maraco pueden requerir pocos días y en el caso del cacao y el copoazú, el tiempo puede variar entre 6 y 8 días. La falta de fermentación completa producirá granos con menos desarrollo del color, y el producto final será más amargo y áspero. Un tiempo excesivo de fermentación producirá semillas de color oscuro opaco y poco sabor a chocolate, además de la propagación de hongos en la testa del grano (EMBRAPA, 1990).

Aireación natural. El objeto de voltear los granos durante la fermentación es asegurar uniformidad, es necesario voltear la masa de granos húmedos para que pueda penetrar el aire, por lo cual masas muy pesadas pueden ser indeseables para lograr una buena fermentación.

Métodos de fermentación

Existen diferentes métodos para realizar la fermentación de las semillas de cacao; los más utilizados son:

Fermentación en montones y en canastas Es el método más sencillo; los granos húmedos se colocan en hojas de plátano sobre madera, donde se amontonan las almendras frescas y se tapan para que se fermenten. Por su parte las canastas se construyen con fibras vegetales. Su tamaño, el cubrimiento de la masa y el sitio donde se coloque la canasta influirán considerablemente en la calidad de las almendras.

Fermentación en cajas. Las cajas se construyen de madera y con una serie de agujeros de dimensiones variables para la aireación, adaptándose a las posibilidades de recolección de cada finca cacaotera. Las cajas descansan sobre patas de modo que quedan separados del suelo por un espacio de 20 cm, con el fin de facilitar la salida del líquido

que se produce durante la fermentación y evitar la frialdad que pueda ocurrir en el fondo si queda en contacto directo con el suelo.

Otra configuración que se realiza con las cajas es la **tipo escalera** (Figura 5.2), donde los cajones de madera se colocan en diferentes niveles. El cacao fresco se deposita en el primer cajón que ocupa el nivel superior, donde se remueve la masa al cabo de 24 horas para facilitar la aireación. A las 48 horas se pasa al cajón intermedio, lo cual permite una nueva remoción; aquí el cacao permanece 48 horas, al cabo de las cuales se pasa al último cajón, donde permanece hasta terminar la fermentación (Gutiérrez, 1998).

Aunque estos métodos contribuyen al desarrollo de nuevas técnicas para realizar el proceso de fermentación, no se han podido generalizar aún, pues no se obtienen buenos resultados.

Fermentación del cacao silvestre: copoazú

Si bien la pulpa constituye un componente fundamental de la fermentación, también es claro que su abundancia puede retardarla o incluso limitarla. La pulpa del cacao difiere en composición y características bromatológicas de la de “pulpa del copoazú”, por lo que se requiere identificar cual es el efecto que puede tener utilizar diferentes porcentajes de pulpa durante la fermentación del cacao silvestre copoazú.

La ciudad de Florencia en el departamento de Caquetá fue seleccionada por sus condiciones de producción y abundancia, como el lugar apropiado para la realización de diferentes ensayos que llevaron a determinar la viabilidad de fermentar, secar y procesar las semillas de copoazú para la obtención de un producto análogo al chocolate. En la primera etapa se trabajó con volúmenes no mayores a 20 kg para fermentar en cajones y cajones en escalera, las semillas de copoazú. Periodo en el cual se fijaron algunas condiciones de la operación fermentación. La selección de algunas variables de respuesta se hizo con base a la facilidad de transferir los métodos de seguimiento al proceso de fermentación en los núcleos de procesamiento en San José del Fra-gua y Belén de los Andaquíes.



Figura 5.2. Fermentador en escalera empleado en los ensayos de campo con masas parcialmente despulpada (20-60 % pulpa) y con cien (100% de pulpa)

Ya Hernández y León (2003), habían avanzado sobre la fermentación de semillas de copoazú con menos del veinte (20%) de pulpa al inicio del proceso. Sin embargo, se hace necesario avanzar en el conocimiento del proceso de fermentación, para lo cual se variaron otras condiciones no estudiadas con anterioridad: las condiciones porcentajes de pulpa de copoazú que rodea la semilla y que son fundamentales para lograr la obtención de un buen licor de copoazú.

A pesar de las varias formas de fermentación que se encuentran descritas tanto para el cacao, así como para el copoazú, se escogió el cajón de madera como el medio de fermentación más apropiado para generar una tecnología accequible para la condición de producción, es decir en el departamento de Caquetá, donde hay una producción de copoazú establecida. Se probaron algunas condiciones controladas, en volúmenes de menos de 5 Kilos de semilla de copoazú, con el fin de replicarlas posteriormente a mayor escala (Figura 5.3)

La fermentación se llevó en condiciones de laboratorio y planta de procesamiento simulando las de Florencia 29°C y humedad relativa no menos al 85%, que habían sido postuladas por Castro (2010) en micro-fermentaciones para la especie copoazú, utilizando mallas de poliuretano (Figura 5.4).



Figura 5.3. Acondicionamiento de la masa pulpa semilla para el proceso de fermentación en cajones de madera y en el sistema de cajón en escalera



Figura 5.4. Cajón de madera con la masa a fermentar utilizado en condiciones controladas en el laboratorio y escalado en cajones de escalera

La remoción de las semillas se realizó manualmente cada 24 horas (Figura 5.5), desde el fondo hasta el exterior repitiendo el proceso de 5 a 7 veces. El tiempo de remoción es un factor influyente en el estado microbiológico de la masa. Criollo *et al.* (2010) encontraron que haciendo remociones cada 48 horas se presenta la descomposición y proliferación

larvas posiblemente generadas por la mosca de la fruta *Anastrepha sp.*, entre el sexto y séptimo día, lo que obligó a detener el proceso sin alcanzar la temperatura y el estado de fermentación deseado.



Figura 5.5. Condiciones controladas de fermentación de masa pulpa semilla de copoazú

La caracterización del proceso de fermentación se realizó mediante el seguimiento de la temperatura, pH, Brix y el color interno de las semillas. Los puntos de medición se muestran en la figura 5.6.

Color interno de las semillas: se llevó a cabo mediante la prueba de corte transversal tomando 3 semillas en cada medición



Figura 5.6. Puntos de control para las variables pH, Brix y Temperatura en cajones de madera en los cuales se fermenta la masa pulpa semilla de copoazú.

Temperatura: Es un indicador directo del estado de fermentación la cual se eleva por reacciones exotérmicas de hidrólisis de proteínas y carbohidratos efectuados por enzimas proteolíticas y levaduras. En la figura 5.7 se presentan las temperaturas promedio de los 5 puntos por profundidad durante 9 días que se monitoreo la fermentación.

Se observa que la temperatura de fermentación de las semillas de copoazú no supera lo 35°C, condición que tampoco es fácil de alcanzar en condiciones de campo. Es posible que esta condición limite el proceso de muerte del embrión y que se haga necesario emplear algunos coadyuvantes para las levaduras responsables de la fermentación y de las reacciones enzimáticas en los tejidos del cotiledón que dan origen a los precursores del sabor y aroma (Graziani de Fariñas *et al.*, 2003). El mayor incremento de temperatura se dio entre los días 0 al 1 con un registro de 31.2 °C en la superficie, 35.8 °C en el medio y 34.5 °C en el fondo del cajón de fermentación. Después de este día se presentó una disminución en la temperatura que se acompañó por la ausencia de lixiviados.

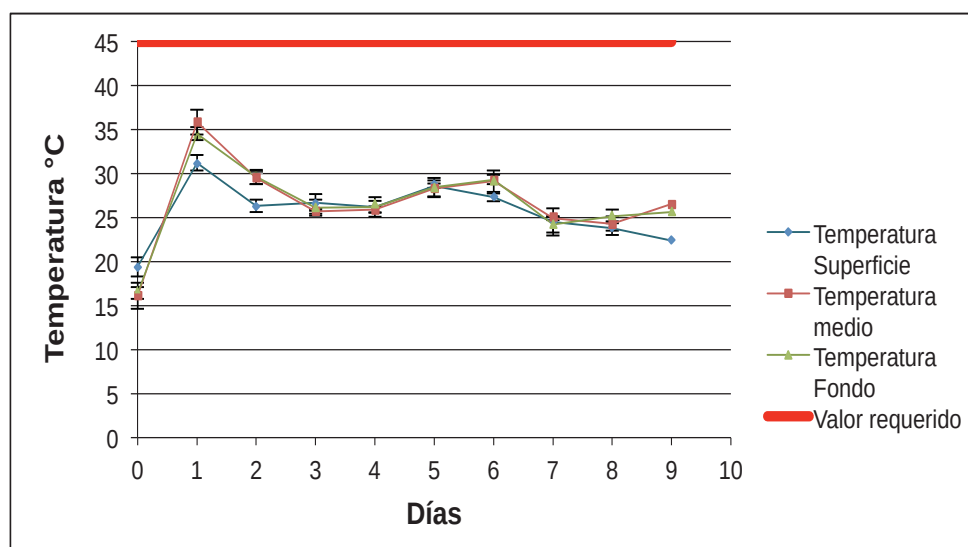


Figura 5.7. Temperatura de la masa pulpa semilla (40% de pulpa, despulpado con tijeras) durante la fermentación en condiciones controladas de laboratorio y en cajones con capacidad para 5 kg.

Melgarejo *et al.* (2006) encontraron que en un esquema de fermentación para el copoazú en fermentador de escalera, se alcanza una temperatura óptima de 44°C en el día 3, la cual no se repitió en las experiencias de fermentación de varios ciclos evaluados durante una serie histórica de tres años.

pH: El pH es un parámetro de la formación ya que su variación durante la fermentación se debe a la degradación microbiana de los ácidos y a la pérdida por difusión de estos compuestos hacia el cotiledón (Contreras *et al.*, 2004). En la figura 5.8 se presentan los valores de pH promedio de los 5 puntos en profundidad media del cajón de fermentación durante 9 días de monitoreo.

Para el caso del copoazú los autores Criollo *et al.* (2010), encontraron un aumento del pH en la zona externa de la semilla debido a la desasimilación del ácido cítrico por parte de los microorganismos que actúan durante la fermentación. Melgarejo *et al.* (2006) describieron pH que oscilan entre 5.7 y 6.0 durante la fermentación de las almendras de copoazú con una notoria disminución del pH. En este experimento el pH en promedio durante los 9 días fue de 3.99 inferior a los reportados por otros autores (Melgarejo *et al.*, 2006).

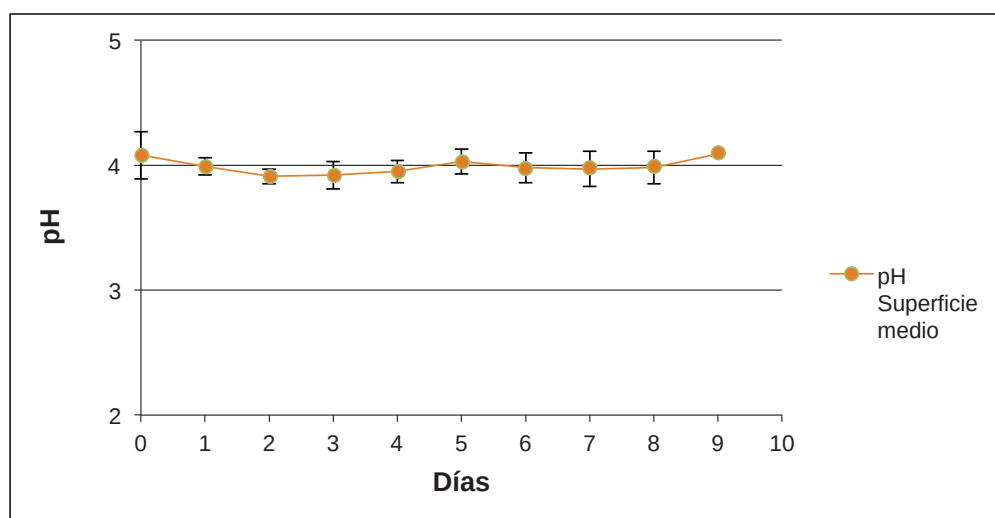


Figura 5.8. pH de la masa pulpa semilla (40% de pulpa, despulpado con tijeras) durante la fermentación en condiciones controladas de laboratorio y en cajones con capacidad para 5 kg.

°Brix: Por su parte, la medida de °Brix da una medida de la hidrólisis de la sacarosa para azúcares monosacáridos, glucosa y fructosa. En la figura 5.9 se presentan los valores de grados Brix promedio de los 5 puntos en profundidad media del cajón de fermentación durante 9 días de monitoreo.

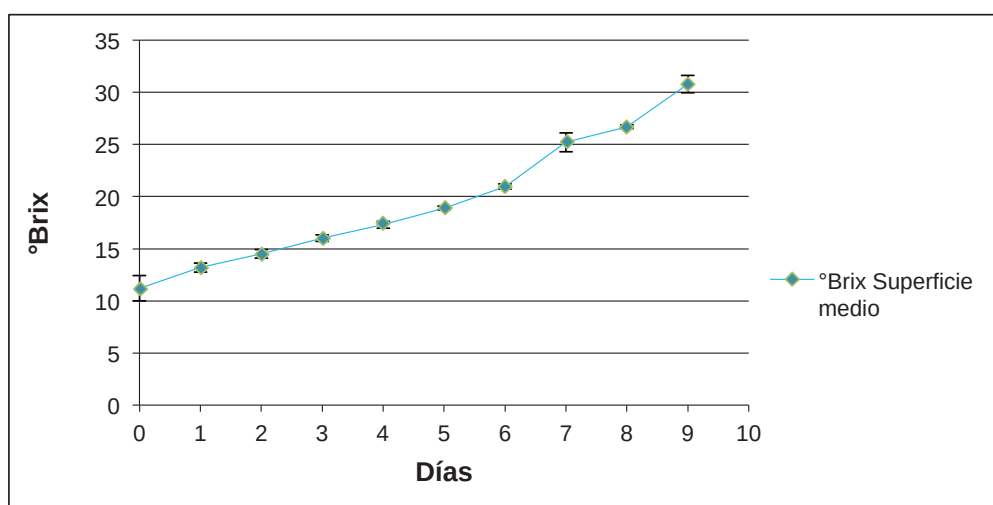


Figura 5.9. °Brix de la masa pulpa semilla (40% de pulpa, despulpado con tijeras) durante la fermentación en condiciones controladas de laboratorio y en cajones con capacidad para 5 kg.

En la gráfica se observa que inicialmente los °Brix en la masa pulpa semillas fue de 11.2, valor que coincide con los reportados para pulpa de copoazú por otros autores (Castro, 2010). Con este parámetro se observa un aumento lineal a través de los días de fermentación hasta un punto final de 30° Brix. Esta condición puede explicarse como una concentración de los azúcares presentes debido a la eliminación del agua de la pulpa.

Color interno de las semillas: El color de las semillas es otro indicador del estado de fermentación. Según la Norma Técnica Colombiana NTC 1252 -Cacao en grano—el análisis de prueba de corte es realizado para determinar el grado de fermentación del cacao según su color interno. La definición de la norma para un cacao bien fermentado es: cáscara o tegumento de color marrón, rojizo o pardo rojizo, que se

desprende fácilmente de la almendra. Las almendras tiene color marrón o pardo rojizo oscuro (color chocolate) con alvéolos bien definidos de forma arriñonada y con olor a chocolate.

En la microfermentación realizada se tomaron tres muestras de cada nivel de profundidad por día y se realizaba el corte transversal (se hicieron solo con tres muestras debido a la poca cantidad de muestra que se estaba fermentando y no se quería alterar la cantidad de masa). En el muestreo se observó una evolución en el cambio de color de algunas semillas, pero esto no era homogéneo en la masa que se estaba fermentando y no se encontró una dependiente entre la profundidad de donde se tomaban.

En las figuras 5.10 a 5.12 donde se tiene semillas tomadas a los días 4, 7 y 9 respectivamente se observa claramente el problema, mientras que unas semillas evolucionaban a un color marrón otras permanecían totalmente blancas. Hasta el final del monitoreo de la fermentación en el día 9 persiste dicha inconsistencia del proceso. Después del día 7 la cáscara desprendía fácilmente del cotiledón.

Con las imágenes obtenidas durante el monitoreo de la fermentación del interior de las semillas de copoazú se hizo una carta de control preliminar de las variaciones de color en el tiempo (figura 5.13).



Figura 5.10. Día 4 de fermentación de semillas de copoazú previamente despulpadas con tijeras (40% de pulpa).



Figura 5.11. Día 7 de fermentación de semillas de copoazú previamente despulpadas con tijeras (40% de pulpa).



Figura 5.12. Día 9 de fermentación de semillas de copoazú previamente despulpadas con tijeras (40% de pulpa).



Figura 5.13. Carta color interno del grano en la fermentación de las semillas de copoazú (*Theobroma grandiflorum*) fermentadas durante 9 días en cajones de madera (40% pulpa en la masa fermentante, despulpado con tijeras).

Semillas de copoazú sin despulpar 100% de pulpa

Se llevo a cabo el proceso de fermentación de la masa pulpa semilla de copoazú, sin retirar pulpa previamente (Figura 5.14).



Figura 5.14. Acondicionamiento de la masa pulpa semilla de copoazú sin despulpar (100% de pulpa) para la fermentación.

La temperatura simulada de la fermentación fue de 29°C (temperatura promedio de la ciudad de Florencia, departamento de Caquetá) (Castro, 2010). Con respecto a la humedad relativa del ambiente, para mejorar las condiciones deficientes de los experimentos anteriores, se humedeció diariamente la cabina con un atomizador de agua, se colocaban recipientes con agua en la cabina y se humedecieron toallas que tapaban el fermentador de madera cada 24 horas como se muestra en la figura 5.15.



Figura 5.15. Condiciones de fermentación controladas de laboratorio de la masa pulpa semilla de copoazú (100% de pulpa).

Las semillas se removieron cada 24 horas, desde el fondo hasta el exterior repitiendo el proceso de 5 a 7 veces. En la figura 5.16 se presentan las temperaturas promedio de todos los puntos por día que se monitoreo la fermentación para masas parcialmente despulpadas de copoazú (40% de pulpa) y con el cien (100%) de pulpa.

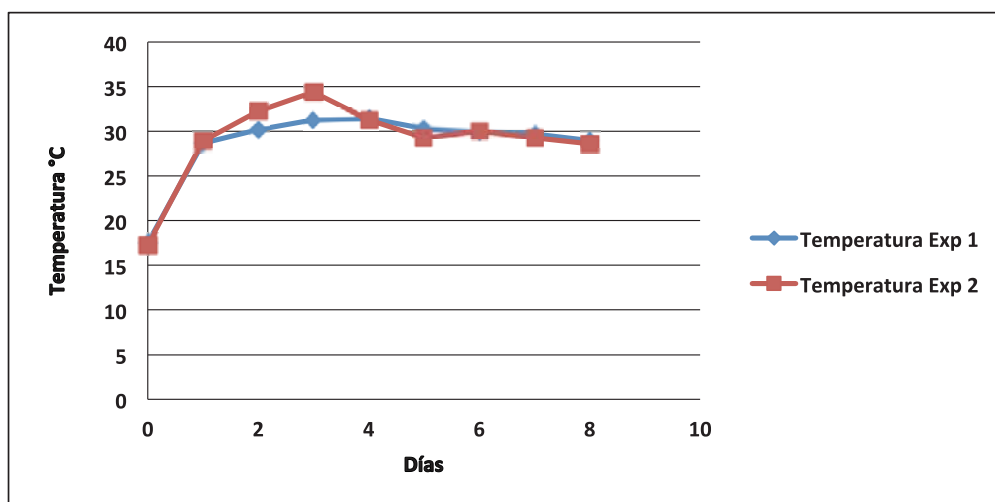


Figura 5.16. Temperatura de la masa pulpa semilla durante los días de fermentación masas parcialmente despulpadas de copoazú, 40% de pulpa ♦ y con el 100% ■ de pulpa.

En la figura 5.16 se observa que en estos ciclos de evaluación de fermentación las temperaturas se mantuvieron por debajo de 35°C. El mayor incremento de temperatura se presentó masas de pulpa semilla con 100% de pulpa de copoazú (34.4°C), mientras que en masas parcialmente despulpadas la temperatura máxima fue de 31.5 °C. Es importante destacar que en esos dos experimentos si se observó presencia de lixiviados, lo que garantiza un control de las condiciones ambientales.

Se observa que la temperatura es homogénea en todo el cajón de fermentación ya que las diferencias de entre los puntos de muestreo y las profundidades no son significativas. Esta homogeneidad se puede atribuir al hecho de una buena aireación en los intervalos de 24 horas con grados similares de aireación y exposición al oxígeno. Sin embargo, la remoción de la masa debería haber generado un incremento en la actividad microbiana que generaría un aumento considerable en la temperatura de la masa, algo que no ocurrió en condiciones del laboratorio y que posteriormente tampoco se presentó en campo, manteniendo la misma cantidad de pulpa (100%).

pH: El pH es un parámetro de la formación ya que su variación durante la fermentación se debe a la degradación microbiana de los ácidos y a la pérdida por difusión de estos compuestos hacia el cotiledón (Contreras *et al.*, 2004).

En la figura 5.17 se presentan los valores de pH promedio de las medidas para los dos experimentos de fermentación durante 9 días de monitoreo.

Para el caso del copoazú Criollo *et al.* (2010) encontraron un aumento del pH en la zona externa de la semilla debido a la desasimilación del ácido cítrico por parte de los microorganismos que actúan durante la fermentación, mientras que en el caso de Melgarejo *et al.* (2006) encontró pH que oscilan entre 5.7 y 6.0 durante la fermentación de las almendras de copoazú con una notoria disminución del pH.

Las masas de pulpa semilla de copoazú con cien (100%) de pulpa alcanzan un pH de 3.89 mientras que cuando se remueve parte de la pulpa el pH es de 3.5 lo cual difiere claramente con lo reportado por Melgarejo *et al.*, (2006).

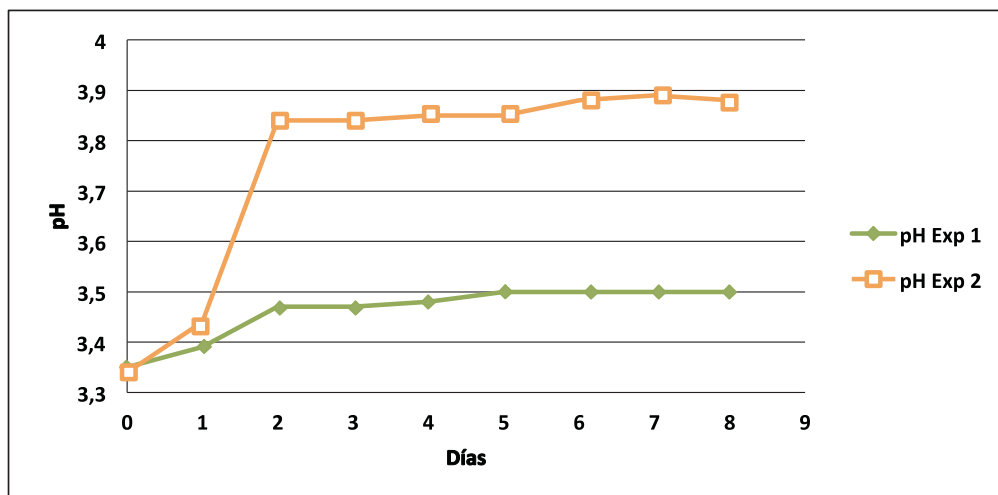


Figura 5.17. pH de la masa pulpa semilla durante los días de fermentación masas parcialmente despulpadas de copoazú, 40% de pulpa ◆ y con el 100% □ de pulpa.

La disminución de los °Brix (Figura 5.18) durante el proceso de fermentación tanto para masas parcialmente despulpadas de almendra de copoazú, así como sin despulpar muestra que la sacarosa se desdobra a velocidades e intensidades similares en ambas. Se observa un descenso significativo entre los días 3 y 4 para los dos casos. Los valores iniciales de °Brix para el experimento 40% de pulpa y 100% de pulpa fueron 13.1 y 13.8, valores que corresponden a los reportados para fermentación de copoazú por otros autores (Castro, 2010); y al final del proceso de fermentación 7.8 y 7.6 respectivamente.

Color interno de las semillas: El color de las semillas es otro indicador del estado de fermentación. Según la Norma Técnica Colombiana NTC 1252 -Cacao en grano—el análisis de prueba de corte es realizado para determinar el grado de fermentación del cacao según su color interno. La definición de la norma para un cacao bien fermentado es: cáscara o tegumento de color marrón, rojizo o pardo rojizo, que se desprende fácilmente de la almendra. Las almendras tiene color marrón o pardo rojizo oscuro (color chocolate) con alvéolos bien definidos de forma arriñonada y con olor a chocolate. Las almendras de masas de

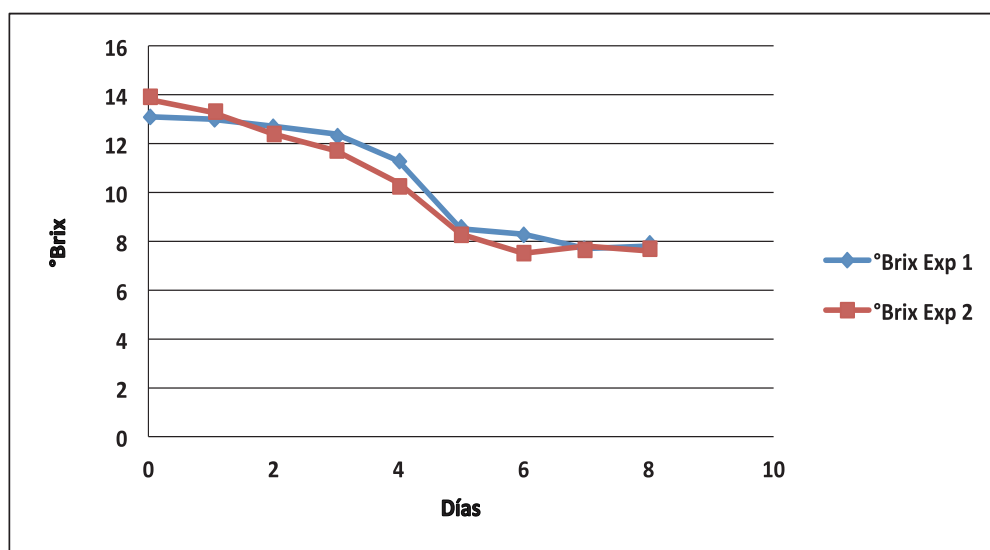


Figura 5.18. °Brix de la masa pulpa semilla durante los días de fermentación masas parcialmente despulpadas de copoazú, 40% de pulpa ■ y con el 100% ♦ de pulpa.

pulpa semilla que mantuvieron el cien (100) de la pulpa alcanzaron en mayor porcentaje y de manera más homogénea el cambio de color interno, característico de la fermentación de las semillas de copoazú. Sin embargo, en semillas parcialmente despulpadas (40% de pulpa) se alcanzó el cambio de color de manera no uniforme en las semillas y no en todas las semillas. En la figura 5.19 se presentan las cartas de control construidas para el proceso de fermentación de las semillas de copoazú.

La fermentación en la primera etapa mostró que se debe mantener humedad relativa alta, durante el proceso de fermentación, sin embargo, esto se logra a través de dos vías, mantener una abundante masa pulpa semilla, al menos mayor que el 40% y el 60% de pulpa y también aumentando la humedad del ambiente de fermentación. Aunque los resultados de fermentación de masas pulpa semilla de más del 60% resultaron en almendras de buena calidad y fermentación similar, sigue siendo de fundamental importancia el volumen de la masa fermentante, es decir mayor a 40 kilos en cajones individuales o cajones de escalera que así lo permitan.



A



B

Figura 5.19. Carta color interno del grado de fermentación para las semillas de copoazú masas parcialmente despulpadas de copoazú (40% de pulpa) (A) y con cien (100%) de pulpa (B)

Los resultados alcanzados permitieron plantear dos condiciones adicionales de fermentación para masas pulpa-semilla con el cien (100%) de pulpa de copoazú tanto en condiciones controladas de laboratorio, como en un ensayo de campo en cajones ensamblados en escalera con 4 cajones de madera rectangulares con una capacidad de 72 kg en cada uno de acuerdo con recomendaciones hechas por Melgarejo *et al.* (2006) (Figura 5.20).

Cada uno de los cajones de madera presentan aberturas en la parte inferior diseñados para permiten la salida de los lixiviados que se producen durante la fermentación. Se dejó en reposo la masa a fermentar por un tiempo de 48 horas para posteriormente realizar la remoción de las semillas. Después se realizó el volteo de las semillas cada 24 horas, moviendo

con las manos todas las semillas desde el fondo hasta el exterior repitiendo el proceso de 5 a 7 veces. En cada remoción realizada se iba retirando la mayor cantidad de pulpa posible que desprendía con facilidad, esto con el fin de no dejar el 100% de la pulpa durante los días de fermentación, si no ir disminuyéndola gradualmente (-50%) (Figura 5.21).

Todos los ensayos adelantados tanto en el laboratorio como en el campo manteniendo el 100% de la pulpa en la masa pulpa semilla mostraron un proceso de fermentación completo, aunque las temperaturas



Figura 5.20. Fermentador de escalera utilizado para la fermentación de la masa pulpa semilla de copoazú con cien (100% de pulpa) en condiciones de Florencia-Caquetá



Figura 5.21. Masa a fermentar masas con el cien (100%) de pulpa. Fermentador de escalera Florencia-Caquetá

alcanzadas durante estos ensayos no llegaron a superar los 40°C y siendo mayores en las condiciones de campo que en el laboratorio. Este resultado confirma resultados con copoazú en Brasil y en Caquetá en ciclos anteriores (Mattieto, 2001 y Melgarejo *et al.*, 2006) y asegura que si bien las condiciones controladas permiten identificar las variables del proceso, son los ensayos en campo los que permiten asegurar los resultados reproducibles en series históricas (Figura 5.22)

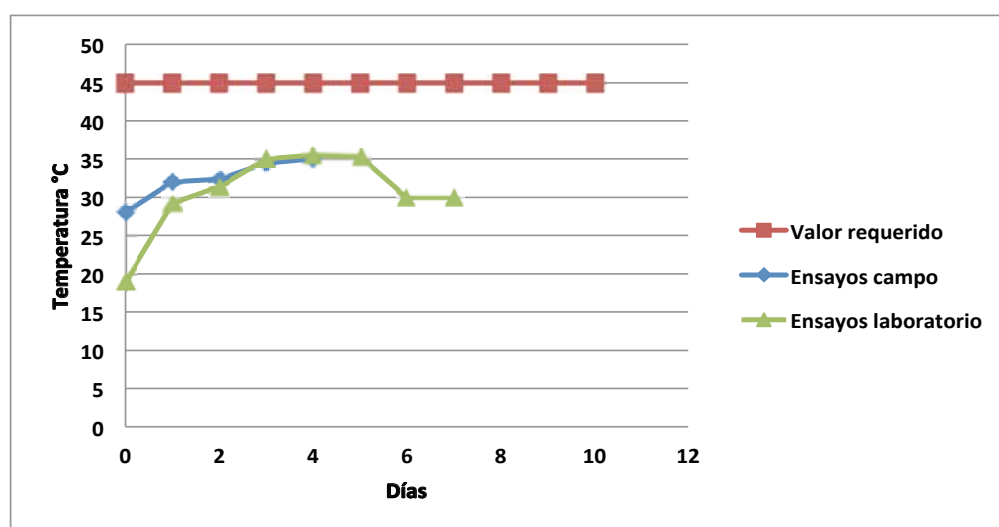


Figura 5.22. Comparación de la temperatura de la masa pulpa semilla durante los días de fermentación para experiencias controladas y experiencias realizadas en el campo con masas de pulpa semilla con cien (100%) de pulpa de copoazú.

Es importante destacar que en esos dos experimentos si se observó presencia de lixiviados, que confirman que el proceso de fermentación se alcanza de manera completa. Se observó que la temperatura fue homogénea en todo el cajón de fermentación ya que las diferencias de entre los puntos de muestreo y las profundidades no fueron significativas.

pH: En los dos experimentos se observó un aumento durante los primeros tres días de fermentación, mucho más notorio para el caso del experimento en campo alcanzando un pH de 3.93 en el día 3, mientras que para el experimento en laboratorio en los 7 días de monitoreo fue de 3.84, datos inferiores a los reportados por otros autores (Melgarejo *et al.*, 2006).

Se observó también que para el caso de experimentación en campo la masa a fermentar comenzó con un pH mucho más alto que en el caso de laboratorio, esto se puede explicar por mayor madurez de los frutos. Condición que no fue considerada en el estudio de la fermentación en este capítulo de la investigación en el Caquetá, pero que sin duda forma parte de las variables más decisivas en el momento de fermentar cualquiera de los frutos de este importante género

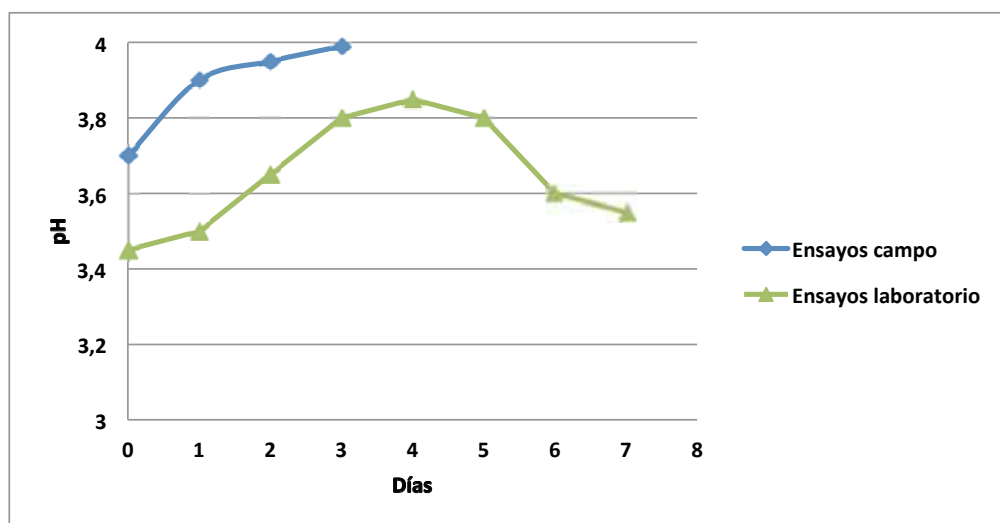


Figura 5.23. Comparación del pH de la masa pulpa semilla durante los días de fermentación para experiencias controladas y experiencias realizadas en el campo con masas de pulpa semilla con cien (100%) de pulpa de copoazú

°Brix: En la gráfica se observa que los resultados para los dos experimentos siguieron la misma tendencia y los valores fueron similares. Se observa un descenso significativo entre los días 3 y 4. Los valores iniciales de °Brix para el experimento laboratorio y campo son 12.1 y 13.4, valores que correspondieron a los reportados para pulpa de copoazú por otros autores (Castro, 2010); y al final del proceso de fermentación de 7.5 (día 7) y 11.5 (día 3) respectivamente.

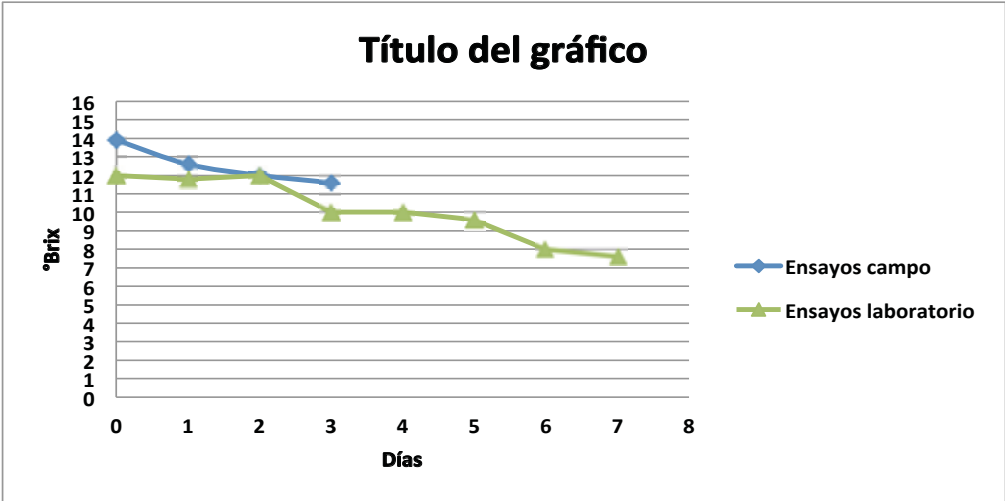


Figura 5.24. Comparación °Brix de la masa pulpa semilla durante los días de fermentación para experiencias controladas y experiencias realizadas en el campo con masas de pulpa semilla con cien (100%) de pulpa de copoazú.

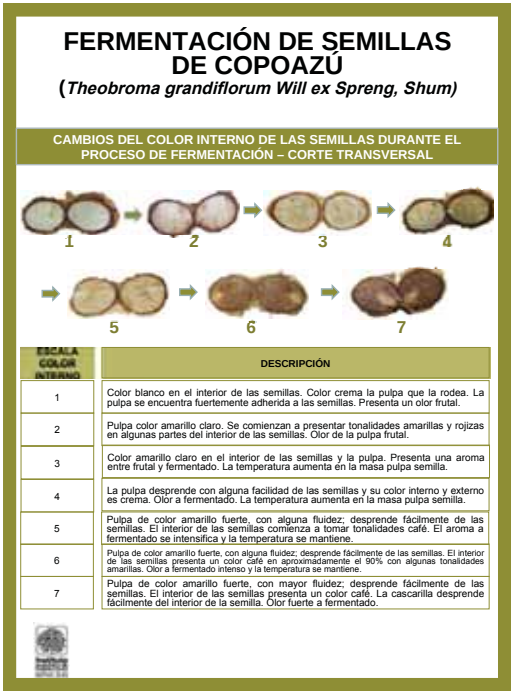


Figura 5.25. Afiche carta de color interno de la semilla durante el avance de la fermentación

Color interno de las semillas: La carta de color interno para las semillas fermentadas de copoazú es uno de los productos de mayor aplicación para el aprovechamiento integral de fruto. Trasciende el aprovechamiento de la pulpa únicamente para dar un nuevo uso del fruto, licor de copoazú, con aplicación en la chocolatería.

Ciclos finales de evaluación llevaron a confirmar que la realización de ensayos de fermentación con masas inferiores a 60 kg de masa pulpa semilla de copoazú no alcanzan, en ningún caso, temperaturas superiores a 40 °C, sin embargo, se puede remover parcialmente la pulpa de las semillas, entre el 40 y el 60 por ciento, con lo cual se mantiene la aplicación y uso de la pulpa en diferentes elaborados agroalimentarios (Figura 5.33).

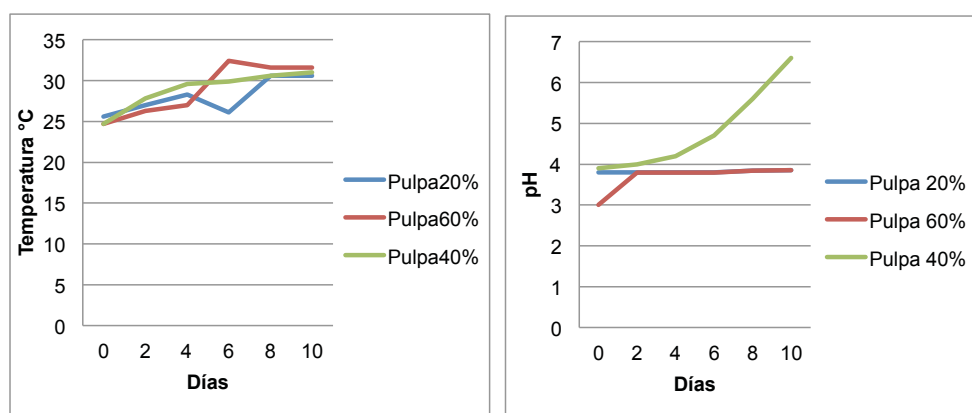


Figura 5.26. Variables de respuesta temperatura y pH para masas fermentantes de pulpa-semilla de copoazú con diferentes porcentajes de pulpa (20-40 y 60%) de pulpa en condiciones de campo. Florencia- Caquetá (29°C y 80% H.R)

Secado: Se aprovecha el calor emitido por el sol con la utilización de secadores solares (secado natural) ya instalados y utilizados en algunas fincas de Caquetá (figura 5.31); es una alternativa viable aprovechando la intensidad solar que se presenta en el departamento de Caquetá, sin embargo, deben ser construidos y mantenidos para que la lluvia no afecte el proceso. De acuerdo con la intensidad solar el proceso puede durar entre 2 y 3 días en estos secadores, con temperatura alcanzadas de 35°C a 40°C. Las semillas deben ser removidas con las manos o

utilizando un rastrillo diariamente. Se puede corroborar la finalización del proceso al tomar 4 a 5 semillas de diferentes áreas y con las manos estimar las semillas secas y duras (esto garantiza que la humedad de las semillas sea menor al 8% y no se presente inconvenientes en la almacenamiento de las mismas).

El Chocolate deriva de la palabra azteca «xocolatl», cuyo significado es «agua espumosa», denominación que era utilizada por los Olmecas (1500- 400 A.C.), por los Aztecas (1400 A.C.), y posteriormente por los Mayas (600 A. C.) (Hurst, 2002) para identificar una bebida amarga, de fuerte sabor, y de gran valor energético. No obstante, hoy en día no sólo se identifica con la palabra “chocolate” al chocolate de mesa, sino también a una amplia y variada gama de productos y subproductos a base del fruto del cacao y en ese mismo esfuerzo esta el aprovechamiento del copoazú para la elaboración de chocolate de taza, así como para elaboración de bombonería selecta. En la figura 5.27 se presenta el diagrama de flujo para la obtención de un licor de copoazú.

Procesamiento del Licor de copoazú: Para la obtención del producto análogo de chocolate, se siguió la metodología estándar empleada para la elaboración de chocolates a partir de cacao (figura 5.27). En cada una de las etapas de proceso se determinó las condiciones de operación adecuadas, a saber:

Refinado: Se realizó haciendo pasar el licor en mezcla con el azúcar y la manteca a través de un equipo provisto de dos rodillos paralelos con separación variable el cual se mantuvo con una distancia no mayor a 25 micras. El proceso se realizó en varios y pequeños lotes, con duración de 5 a 10 segundos y a 300rpm, aproximadamente.

Conchado: Se realizó mediante agitación constante del licor en un montaje a escala de laboratorio (figura). La agitación se realizó por medio de un agitador magnético a una velocidad de 500 rpm graduados en la plancha. La variable de respuesta fue la obtención de una matriz líquida, homogénea y uniforme esta etapa fue de 28-30°C. La variable de respuesta fue obtener pastillas de chocolate o su análogo de buena textura.

Moldeado: Esta operación permitió dar forma a la masa de chocolate. Dicha masa atemperada se vertió en moldes a temperatura ambiente,

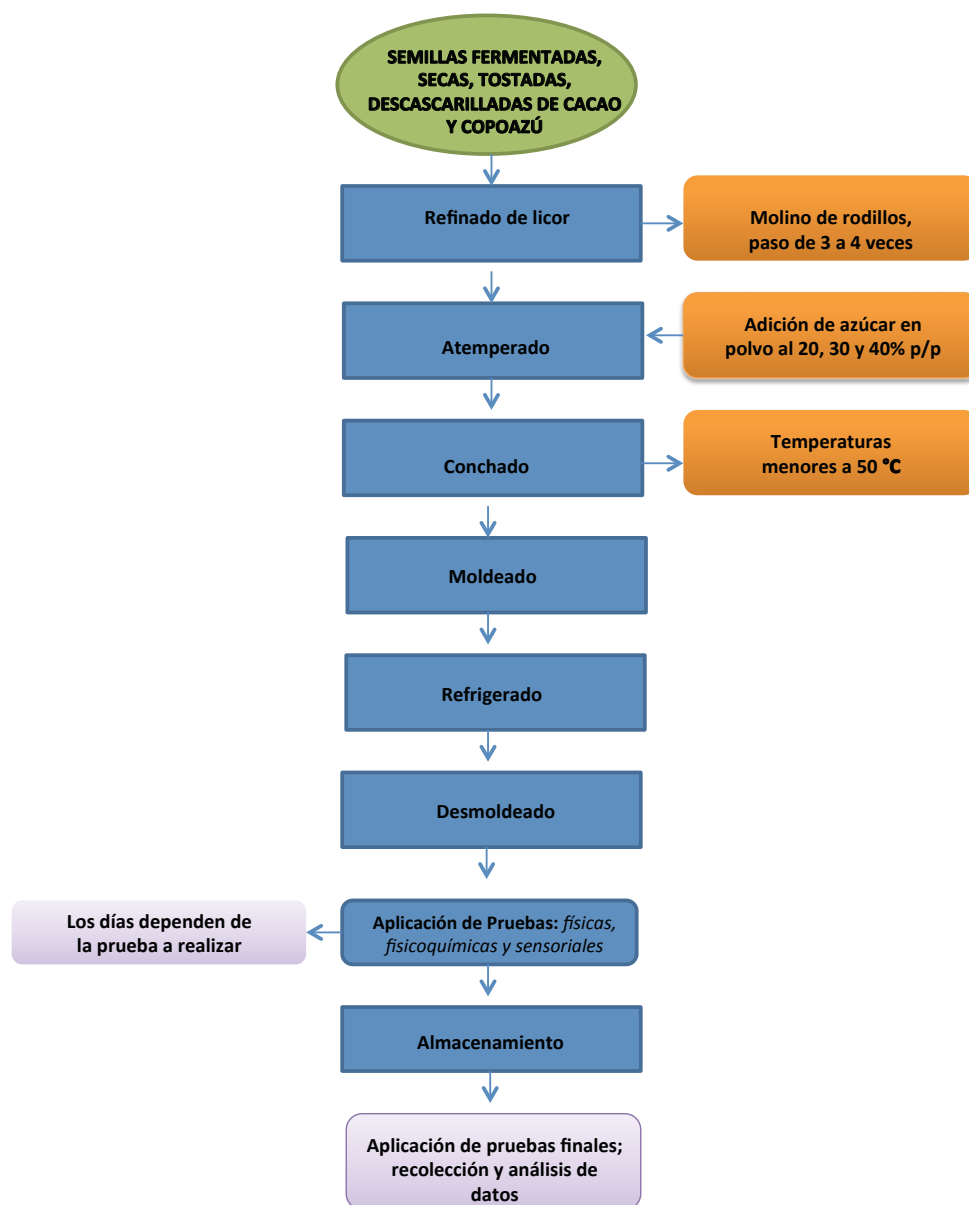


Figura 5.27. Diagrama de flujo para la obtención de licor de almendras de copoazú fermentadas secas y tostadas

Fuente: Autores

con posterior vibración para la eliminación de burbujas de aire de acuerdo con Thesenacasa (2011).

Enfriamiento y desmolde: Esta última operación permitió obtener las tabletas de chocolates mediante la completa cristalización de la masa. El molde se llevó a una temperatura de refrigeración de 15°C por un tiempo de 20 a 30min, luego del cual se desmoldó y obtuvo las tabletas del producto.

Perfil Sensorial o AQD: Se realizó un perfil sensorial o AQD, donde se encuentra la calificación obtenida en cada uno de los atributos y para cada una de las muestras. Se calculó la mediana de las puntuaciones para los diferentes atributos evaluados en las diferentes muestras, como se muestra en las Tablas 5.1 y 5.2.

Tabla 5.1. Valores de “mediana” calculados a partir de las calificaciones recibidas, por atributo, para chocolates con base de copoazú. 721: 30% azúcar; 430: 20% azúcar y 601: 40% azúcar.

COPOAZÚ			
ATRIBUTO	721	430	601
Brillo	1.25	3	0.75
Textura superficial	2.5	2.5	3
Aroma y sabor	1.25	1.5	1.5
Amargo	2.8	4	2
Dureza	1	2	1.25
Fusión en boca	1.75	2	2.25

En la figura 5.28, se puede observar el perfil AQD general obtenido en chocolates a partir de licor de copoazú, mientras que en la figura 5.29 se muestra el perfil AQD general obtenido por los chocolates a base de cacao.

Las calificaciones del panel sensorial del producto análogo de chocolate, elaborado a partir del copoazú fueron menores a las obtenidas a partir de cacao. Esto pudo deberse a que el copoazú, presenta características desconocidas o poco familiares para los panelistas, lo que incide

Tabla 5.2. Valores de “mediana” calculados a partir de las calificaciones recibidas, por atributo, para chocolates a base de cacao. 107: cacao amazónico 30% azúcar; 529: muestra comercial Godiva; 311: cacao amazónico 40% azúcar; 258: muestra comercial Cimarrón; 096: cacao amazónico 20% azúcar y 735: cacao venezolano 25% azúcar y 14%grasa.

CACAO						
Atributo	Chocolates comerciales					
	107	529	311	258	096	735
Brillo	4.5	3.25	4	2.75	4.15	1.25
Textura superficial	3.5	4.15	4	4	3,85	3
Aroma y sabor	2.4	2.8	2.6	2	1.75	1.9
Amargo	3.3	4	2	3	4.75	4
Dureza	2.9	2.9	2	3	2	2
Fusión en boca	2	3	2.65	3	2.7	1.85

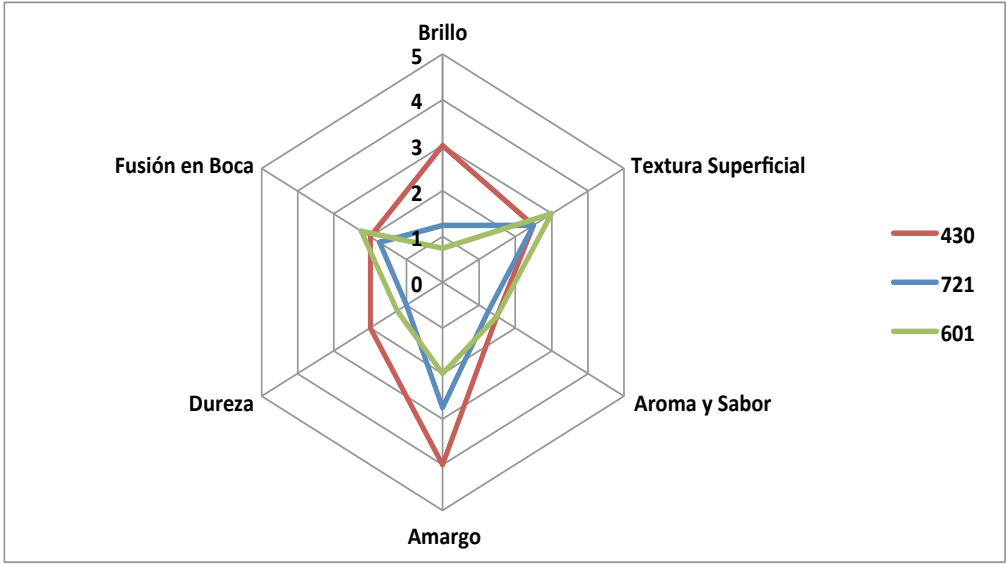


Figura 5.28. Perfil AQR para tres muestras de chocolates oscuros a base de licor de copoazú, evaluando seis atributos sensoriales distintos. 721: 30% azúcar; 430: 20% azúcar y 601: 40% azúcar.

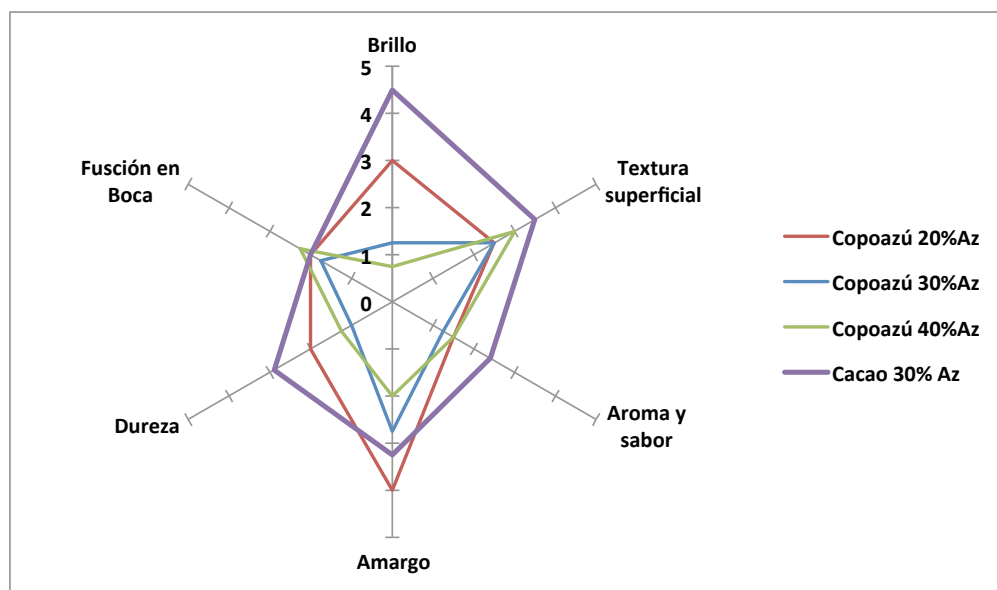


Figura 5.29. Perfil AQD comparativo, entre los productos de las tres concentraciones de azúcar en copoazú y la de 30% en cacao.

directamente en su calificación. Además, de que se hace una continua comparación con chocolates de cacao. El atributo que mayor puntaje obtuvo fue “Amargo” con una calificación de 4.

En la figura 5.29 se puede observar el perfil obtenido en chocolates a partir de licor de copoazú, comparadas con la muestra a base de licor de cacao de mejor aceptabilidad, 30% azúcar, donde es perceptible que las calificaciones son bajas; solamente en el atributo amargo, presenta calificaciones considerables. El siguiente paso obligará a generar la tecnología de obtención de licores de copoazú fluídos y su aplicación bien sea en mezcla o solo para la obtención de confitería.

Descripción de la línea de beneficio de las semillas de copoazú (*Theobroma grandiflorum*)

Recolección: Los frutos deben ser recolectados sanos y en estado maduro según las recomendaciones descritas en la Carta de calidad del copoazú, 2009. Son limpiados con una toalla limpia para eliminar las

partículas libres de la superficie y evitar que se mezclen con la pulpa al abrir el fruto.

Preparación de los frutos: Los frutos son abiertos con un golpe fuerte en el centro. Se abren completamente y se retira toda la masa pulpa-semilla del interior con precaución que no se mezclen partículas de la cáscara. Posteriormente se realiza una separación de las semillas-pula de forma manual (desgrane). Se retira la placenta debido a su presencia

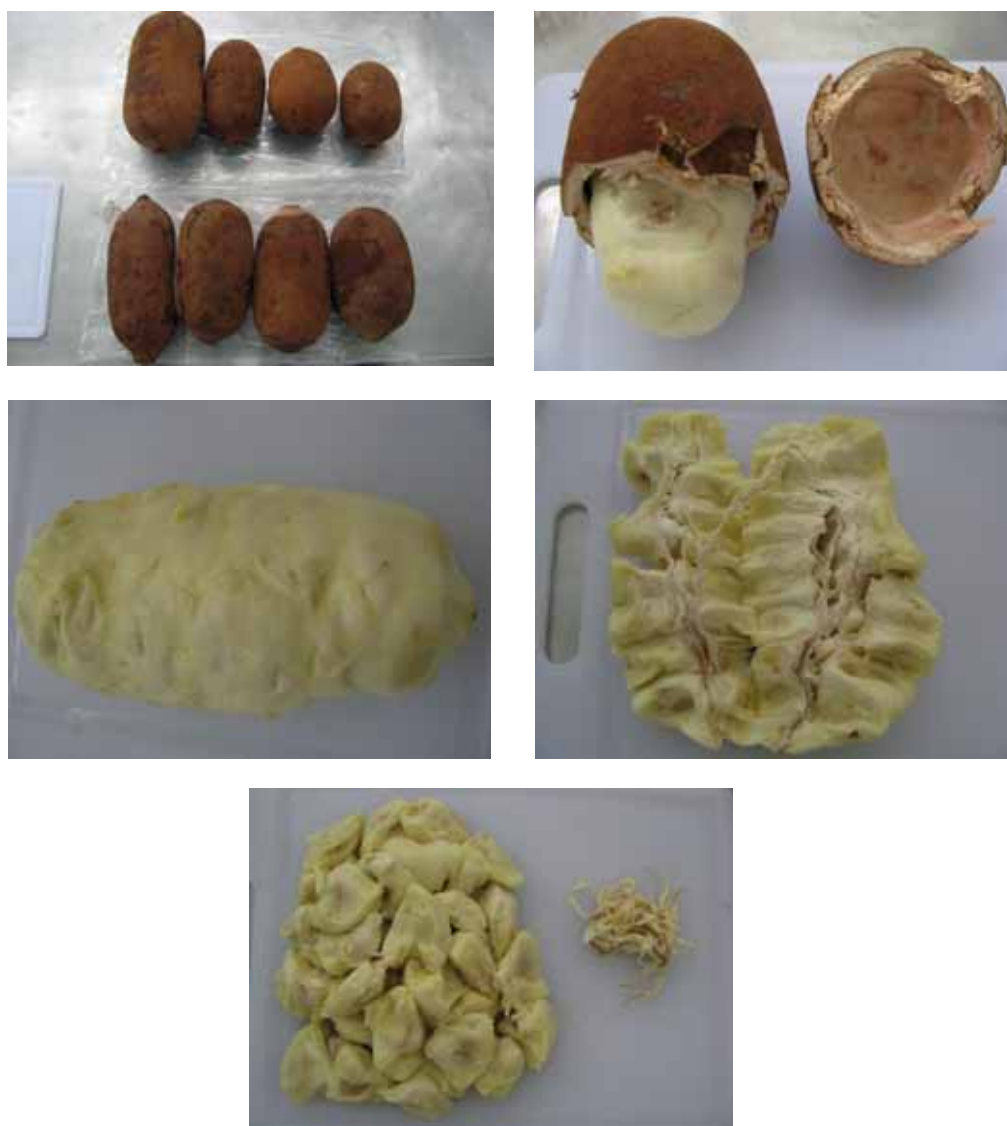


Figura 5.30. Preparación de la masa semilla-pulpa a fermentar

da lugar a granos aglomerados que dificultan las etapas de fermentación y secado (Criollo *et al.*, 2010) (Figura 5.30).

Fermentación: Se utiliza fermentadores en escalera con 5 cajones de madera con capacidad cada uno de 72 kg; cada uno de los cajones de madera presentan aberturas en la parte inferior diseñados para permitir la salida de los lixiviados que se producen durante la fermentación (Figura 5.31). El cajón debe ser cubierto para evitar que escape el calor y se contamine y preferiblemente debe estar ubicado en un sitio cubierto y limpio. La masa semillas – pulpa es incorporada en el primer cajón del fermentador (superior) y el protocolo a desarrollar es:

La remoción consiste en tomar la masa semilla-pulpa con utensilios limpios de plástico o de acero inoxidable y realizar movimientos hacia la superficie, esto con objeto de airear la masa y por lo tanto se den las reacciones químicas correspondientes a la síntesis de compuestos precursores de sabor y aroma de chocolate o de un producto análogo. Cuando se realiza este proceso la pulpa comienza a desprender fácilmente de las semillas, esta pulpa debe retirarse en la mayor cantidad posible durante día. Al terminar este proceso se procede a trasladar la masa al siguiente cajón abriendo la tapa frontal del cajón.

Para el caso de las semillas de copoazú la temperatura máxima que se alcanza es de 39°C entre los días 3 y 4, posteriormente comienza a

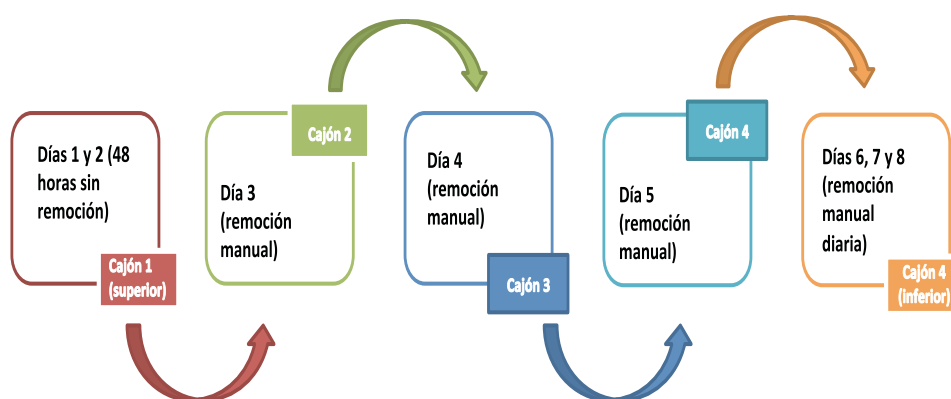


Figura 5.31. Preparación de la masa semilla-pulpa a fermentar

Fuente: Autores

descender; con respecto ° Brix disminuyen notoriamente durante todo el transcurso de la fermentación; y el comportamiento del pH es un aumento hasta el día 4 para luego descender. Sin embargo, se establece que el parámetro para verificar la finalización de la fermentación en campo es el color interno de las semillas mediante corte transversal (tomar 5 a 10 semillas de diferentes áreas del cajón). Se debe alcanzar un color marrón o pardo rojizo oscuro (color chocolate) con alvéolos bien definidos de forma arriñonada y con olor a chocolate. Para dar una mayor guía se construyó una carta de color interno de las semillas durante el avance de la fermentación (figura 5.32).



Figura 5.32. Secadores solares finca municipio Belén de los Andaquíes – Visita finca
“Primer Taller teórico – práctico sobre beneficio de copoazú”

Finalmente, de modo general, se presenta un diagrama con el proceso de beneficio de las semilla de copoazú que comienza con la recolecta de los frutos, el desgrane (preparación de la masa semilla-pulpa), el proceso de fermentación y finalmente el secado (Figura 5.33).



Figura 5.33. Diagrama general del proceso de beneficio de las semillas de copoazú (*Theobroma grandiflorum*)

Referencias bibliográficas

- AOAC Association of Official Analytical Chemist, 16th edición. 1995.
- BARRERA, A. “Determinación de algunas propiedades físico mecánicas de la semilla del Maraco (*Theobroma bicolor* H.B.K.) y Obtención del Bacalate”. Tesis de Ingeniería de Alimentos. Fundación Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Santafé de Bogotá. 1999. Pp 18 – 19.
- BECKETT, S.T., 2008. The Science of Chocolate, second ed. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK.
- CARTA DE CALIDAD DEL COPOAZÚ, 2009. Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas “SINCHI”.
- CARTA DE CALIDAD COLOR INTERNO DE LAS SEMILLAS DE COPOAZÚ DURANTE EL PROCESO DE FERMENTACIÓN, 2012. Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas “SINCHI”.
- CASTRO, Z. 2010. Caracterización del proceso de fermentación del grano de copoazú (*Theobroma grandiflorum* Willd. ex Spreng). Trabajo de grado presentado para optar al título de Especialista en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Nacional de Colombia.
- CONTRERAS, C., ORTIZ DE BERTORELLI, L., GRAZIANI DE FARIÑAS, L. Y PARRA, P. 2004. Fermentadores para cacao usados por los

- productores de la localidad de Cumboto, Venezuela. *Agronomía Tropical* 54(2): 219-232. Venezuela.
- CRIOLLO, J., CRIOLLO, D. Y SANDOVAL, A. 2010. Fermentación de la almendra de copoazú (*Theobroma grandiflorum* [Willd. ex Spreng.] Schum.): evaluación y optimización del proceso. *Revista Corpoica-Ciencia y Tecnología Agropecuaria* (2010) 11(2), 107 -115.
- EMBRAPA. Copoazú. Producción y ecología. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuaria. Centro de Pesquisa Agropecuaria do Tropicó Unido – CPATU. Belem, 1990. Página 258 – 282.
- FEDERACIÓN NACIONAL DE CACAOTEROS, FONDO NACIONAL DEL CACAO. 2008. El beneficio y características físico químicas del cacao (*Theobroma cacao* L.). Colombia 25p
- GRAZIANI DE FARIÑAS, L., ORTIZ DE BERTORELLI, L., ALVAREZ, N. Y TRUJILLO DE LEAL, A. 2003. Fermentación del cacao en dos diseños de cajas de madera. *Agronomía Tropical* v.53 n.2 Maracay. Venezuela pp 45-26
- GUTIÉRREZ, C. El beneficio del cacao. Folleto informativo. Gobernación de Antioquia. Colombia. 1998. Páginas 57 – 58.
- HERNÁNDEZ L, C. LEÓN N, A. “Evaluación de las etapas de fermentación y secado del proceso de beneficio de semillas de copoazú (*Theobroma grandiflorum* Wild ex Spreng Schum)” . Tesis de Grado Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ingeniería. Departamento de Ingeniería Química. Área de Ingeniería de Alimentos. Bogotá D.C. 2003. 145p
- INSTITUTO SINCHI. 2014. Fichas técnicas de especies de uso forestal y agroforestal en la Amazonia colombiana Ed. Instituto “SINCHI”. sp
- MELGAREJO, L.M., HERNÁNDEZ, M.S., BARRERA J. A. Y CARRILLO, M. 2006. Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas “SINCHI”, Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. Universidad Nacional de Colombia. Colciencias. Oferta y potencialidades de un banco de germoplasma del género *Theobroma* en el enriquecimiento de los sistemas productivos de la región amazónica 224p
- MATTIETO, R. 2001. Estudio comparativo das transformacoes estruturais e fisicoquímicas durante o proceso fermentativo de amendoas de cacau (*T. cacao*) e cupuacu (*T. grandiflorum* Schum). Universidad Estadual de

- Campinas. Facultad de Engenharia de alimentos. Departamento de Tecnología de Alimentos 136p.
- NORMA TÉCNICA COLOMBIANA NTC 1252 Cacao en grano. 2003-05-28. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación ICONTEC.
- OLIVERAS, J.M. 2007. La elaboración del chocolate, una técnica dulce y ecológica. Técnica Industrial 268/Marzo-Abril 2007. Pág. 47-51.
- PEÑARANDA, L.E. BOLAÑOS, R. “Diseño de un reactor para la fermentación de cacao y estudio de las variables que influyen en el proceso”. Tesis de Grado. Facultad de Ingeniería Química. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga. 1990.
- ROHAN, T.H. 1964 El beneficio del cacao bruto destinado al mercado. FAO: Estudio Agropecuario. 223p
- SPTB SECRETARIA PRO TEMPORE BRASIL. 1999. Copoasu [*Theobroma grandiflorum* (Willd. Ex Spreng.) Shum.]: Cultivo y utilización, manual técnico. Tratado de cooperación amazónica. Brasil.

