

## Revisión sobre el hongo *Microcyclus ulei*, agente causal del mal suramericano de la hoja del caucho

### A review of the *Microcyclus ulei* Ascomycetes fungus, causative agent of South American rubber-leaf blight

Ibbonne Aydee García Romero\*, Fabio Ancízar Aristizábal\*\*, Dolly Montoya Castaño\*\*\*

#### RESUMEN

El hongo ascomycete *Microcyclus ulei* es el agente causal del SALB que es una de las enfermedades más importantes del árbol de caucho natural (*Hevea brasiliensis*) en América Latina y ha sido responsable de numerosas pérdidas económicas. Este hongo ha presentado alta variabilidad fisiológica y se sugiere su alta adaptabilidad, dentro de los mecanismos asociados a su virulencia se ha descrito la tolerancia al HCN. Se han obtenido clones de *Hevea* resistentes mediante mejoramiento genético, sin embargo, aun no son bien conocidos los mecanismos asociados a ésta. Un mayor conocimiento de este patógeno permitirá el desarrollo de nuevas estrategias de control así como el mayor entendimiento de los mecanismos asociados a resistencia del hospedero.

**Palabras clave:** *Microcyclus ulei*, SALB, *Hevea brasiliensis*.

#### ABSTRACT

The *Microcyclus ulei* Ascomycetes fungus is the causal agent of south-American leaf blight (SALB), this being one of the most important diseases affecting the natural rubber tree (*Hevea brasiliensis*) in Latina-America and has been responsible for numerous economic losses. This fungus has presented high physiological variability, suggesting its great adaptability. HCN tolerance has been described as being one of the mechanisms associated with its virulence. Resistant *Hevea* clones have been obtained by genetic improvement; however, the mechanisms associated with this are still not well known. Greater knowledge of this pathogen will lead to developing new control strategies and better understanding of the mechanisms associated with host resistance.

**Key words:** *Microcyclus ulei*, SALB, *Hevea brasiliensis*.

#### INTRODUCCIÓN

La enfermedad llamada *mal suramericano de la hoja del caucho* o SALB por sus siglas en inglés (*South American Leaf Blight*) es una de las enfermedades más importantes del cultivo del caucho natural en América Latina y se constituyó durante las primeras décadas del siglo pasado en la causa

más importante que impidió la expansión del cultivo. En países como Brasil se presenta en todas las regiones donde se cultiva el árbol de caucho y ha sido causante de numerosas pérdidas económicas especialmente en la región de la Amazonia. (Gasparotto, et ál., 1990, Kalil Filho & Junqueira, 1989). La enfermedad del SALB es ocasionada por el ataque del hongo ascomycete *Microcyclus ulei* y

Recibido: octubre 23 de 2006 Aceptado: noviembre 24 de 2006

\* Química farmacéutica, estudiante de doctorado en Ciencias Agropecuarias. Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia. correo electrónico: iagarcia@unal.edu.co

\*\* Ph. D en Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia.

\*\*\* Ph. D en Ciencias Biológicas. Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia.

causa la caída prematura de las hojas jóvenes, en condiciones ambientales favorables puede llegar a causar la defoliación total de los árboles (Gasparotto, et ál., 1984). El clima influye considerablemente en el desarrollo de la enfermedad, la duración de dos periodos de mojamiento foliar y dos de temperaturas iguales o superiores a 20 °C son factores climáticos que determinan la ocurrencia de la enfermedad (Gasparotto, et ál., 1991). En viveros y en jardines clonales su alta incidencia ha determinado la reducción del crecimiento y disminución del porcentaje de plantas para ser injertadas.

En árboles adultos ataques sucesivos causan el debilitamiento de las plantas y como resultado una reducción en la producción de látex, incluso en clones muy susceptibles puede llegar a causar la muerte (Gasparotto, et ál., 1984).

### Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica del hongo se ha realizado con base en la forma perfecta o fase telomórfica que es la correspondiente a *Microcyclus ulei*. La fase anamórfica o conidial denominada *F. heveae* ha sido clasificada dentro del género *Fusicladium* (Shubert, et ál., 2003). El hongo pertenece a la clase Ascomycete, orden Mycosphaerellales y familia Mycosphaerellaceae. El género *Microcyclus* ha sido incluido en esta familia por Ericsson y Hawksworth (1993), quienes lo consideraron la contraparte estromática de la familia Mycosphaerellaceae (Dothideales).

Dentro de las especies reportadas de este género se encuentran alrededor de 15, correspondientes a hongos tropicales y subtropicales, que son patógenos biotróficos o necrotrofos de las hojas de sus hospederos. Un rango extenso de angiospermas está asociado con el género, y especies individuales están restringidas a un hospedero particular (Cannon, et ál., 1995).

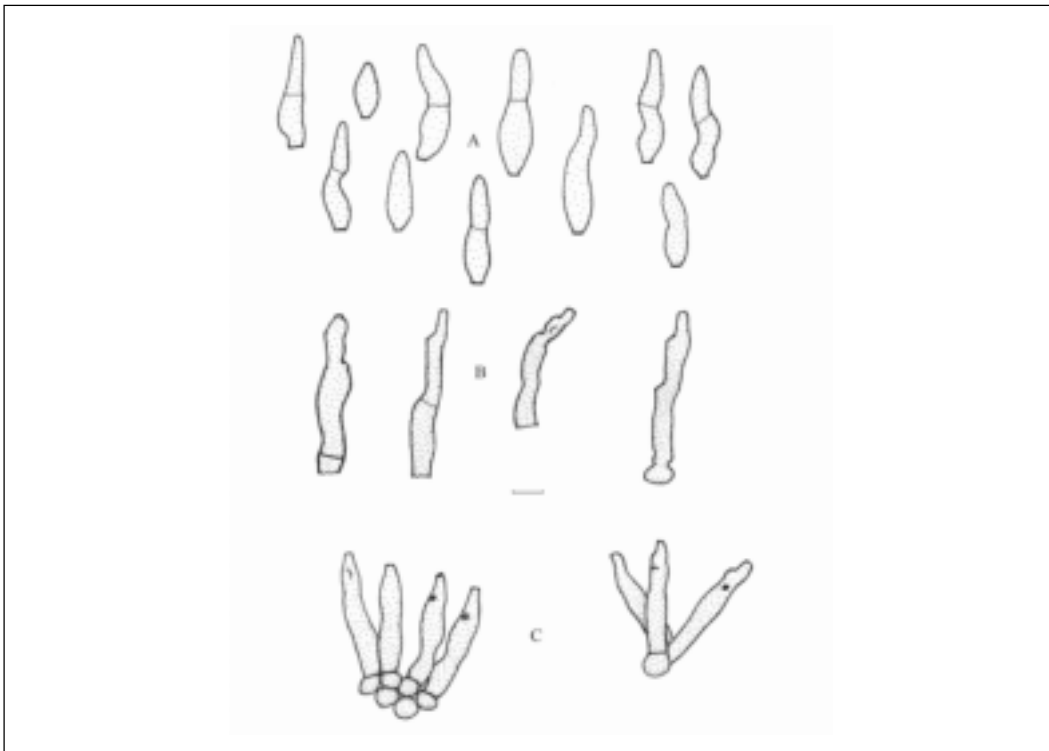
### Morfología y fisiología

El hongo *Microcyclus ulei* es un hongo biotrófico especializado que ataca únicamente plantas del género *Hevea* y dentro de éste, las especies *Hevea brasiliensis*, *Hevea guinensis*, *Hevea benthamiana*, *Hevea spruceana*, *Hevea*

*camargaona*, *Hevea camporum* y sus híbridos. (Junqueira, et ál., 1989). Este hongo dentro de su ciclo de vida presenta tres tipos de esporas que son conidios, picnidioforos y ascosporas. La fase conidial del hongo corresponde a *Fusicladium macrosporun* Kuyper o *Fusicladium heveae* (Shubert, et ál., 2003) y es la responsable de la enfermedad en el árbol de caucho (Gasparotto, et ál., 1984). Los conidios se forman de manera individual, generalmente septados y a veces sin éste, usualmente son curvados o sigmoides, lisos y hialinos (figura 1) que después adquieren una coloración grisácea o verde olivo, con un tamaño aproximado de 15–65 x 6–11 µm (Shubert, et ál., 2003). Las lesiones causadas por el crecimiento del hongo aparecen en las hojas, tallos, pecíolos, flores, inflorescencias y frutos jóvenes. Las manchas en las hojas se sitúan sobre la cara inferior y se encuentran esparcidas en toda la superficie foliar, son de color café grisáceo, anfígenas, variables en forma y tamaño con un diámetro que oscila entre 8 mm – 10 mm y alta esporulación en clones de caucho natural susceptibles. En clones resistentes entre 1,5 y 2,0 mm con ausencia o esporulación parcial (Junqueira, et ál., 1989, Araújo, et ál., 2001).

La forma telomórfica del hongo que es la denominada *Microcyclus ulei*, en hojas adultas forma estructuras llamadas estromas. Los estromas son de color amarillo café, globosos, generalmente adaxiales, carbonosos, superficiales amontonados y a veces formando anillos alrededor de las perforaciones de las hojas, con un tamaño entre 200 y 400 µm (Chee and Holliday, 1986, citado por Serie técnica CONIF, 1997, Schubert, et ál., 2003). Las ascas son claviformes con un tamaño de 56-80 x 12-16 µm, con ocho esporas, las ascosporas son alargadas septadas con un tamaño de 18-22 x 5-8 µm (Cannon, et ál., 1995).

El hongo produce cantidades grandes de conidios los cuales son diseminados a través del agua lluvia o el viento siendo este último el responsable de la diseminación del inóculo dentro de las mismas plantaciones así como entre plantaciones localizadas a grandes distancias (Gasparotto, et ál., 1984). La fase picnidial conocida como *Micosphaerella heveae* no tiene importancia en la diseminación del patógeno (Chee, 1975, citado por Gasparotto, et ál., 1984).



**Figura 1.** *Fusicladium heveae*. A – conidio, B – células conidiogénicas, C – conidioforos en fascículos sueltos, escala = 10  $\mu$ m, tomado de (Schubert, et ál., 2003).

La germinación de los conidios *in vitro* se inicia después de tres horas de incubación. Se observa con un rápido crecimiento del tubo germinativo y dentro de las siguientes 24 horas las primeras ramificaciones de la hifa primaria. La germinación más efectiva ocurre a una concentración de conidios entre  $1$  y  $5 \times 10^5$ , concentraciones menores aumentan el tiempo de la germinación (Gasparotto, et ál., 1984).

Inoculaciones realizadas sobre discos de hojas de clones de *Hevea* resistentes y susceptibles indican que la germinación de los conidios así como la penetración micelial entre las células de la hoja ocurren en ambos tipos de clones. La aparición de las lesiones surge al quinto día después de la inoculación y éstas sólo se presentan en hospederos susceptibles. El aumento de lesiones se observa entre el quinto y el sexto día así como la esporulación, la cantidad de esporas varía con el tipo de clon. (Hashim and Pereira, 1989). Las estructuras estromáticas pueden llegar a aparecer después de 15 días en los clones más susceptibles (García, et ál., 1995).



**Figura 2.** Foliolos en estadio C del clon PB-260 infectados con *M. ulei*. Tomada del archivo fotográfico del Instituto de Biotecnología grupo de investigación en caucho natural.

### Cultivo *in vitro*

El aislamiento del hongo se realiza a partir de material foliar infectado que presenta alto grado de esporulación, las hojas pueden estar en estado C que es el estado de maduración foliar propuesto por Halle and Martin (1968). Es conveniente realizar la siembra lo más rápido posible con el fin de tener un mayor porcentaje de germinación de los conidios (Junqueira, et ál., 1984).

Uno de los primeros reportes del cultivo *in vitro* del hongo fue realizado por Chee, (1978), y posteriormente por otros autores como Lieberei, et ál., (1983), Junqueira, et ál., (1984), y Mattos, (1999) entre otros, quienes han mejorado las metodologías de manejo *in vitro* del hongo propuestas inicialmente por Chee, (1978). Debido a la baja tasa de crecimiento que tiene *M. ulei* en condiciones *in vitro* se han manejado diferentes tipos de medios de cultivo que van desde el uso de PDA (papa dextrosa agar) únicamente, hasta medios complejos como el MC4 y otros propuestos por Junqueira, et ál., (1984).

Adicionalmente se han evaluado condiciones de fotoperiodo y temperaturas de incubación. Se han valorado también condiciones para la inducción de las diferentes fases que tiene el hongo durante su ciclo de vida. Dentro de éstas las que han presentado mayor dificultad son la obtención de micelio en corto tiempo y de conidios. Para la producción de micelio Lieberei, et ál., (2006), proponen las condiciones para su obtención en cinco días en cultivo líquido de papa-sucrosa al 0.5% con concentraciones bajas de KCN, incubado a una temperatura de 23 °C en oscuridad. Para la esporulación *in vitro* Mattos (1999), propone la adición de suplementos como agua de coco, sin embargo los resultados obtenidos por Lieberei, et ál., (1983), muestran que la esporulación es mejor en medios poco enriquecidos como el agar papa dextrosa al 0.5% con una iluminación diaria de 90 minutos.

### Variabilidad ecofisiológica

Desde la década de los sesenta del siglo pasado diferentes investigadores han reportado la variabilidad fisiológica de aislamientos de *M. ulei*

obtenidos en diferentes regiones de Latinoamérica (Chee and Holliday, 1986, citado por Serie técnica CONIF, 1997) y dependiendo el tipo de clones de *Hevea* que atacaban se hizo una clasificación inicial por razas de la 1 a la 4. Para 1966, Miller estableció una serie de clones diferenciadores para la identificación de razas fisiológicas de *M. ulei*. En Brasil *Sudhevea* (EMBRAPA), la raza 4 fue subdividida en 4<sup>a</sup>, 4<sup>b</sup> y 4<sup>c</sup>. Estudios posteriores realizados por Chee, et ál., (1986), identificaron las razas 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8, aumentando en cuatro las razas inicialmente establecidas por Miller.

Junqueira, et ál., (1989), analizaron la reacción de varios clones derivados de 9 especies de caucho a 52 aislamientos de *M. ulei* de diferentes regiones heveícolas del Brasil y determinaron cuatro grupos distintos, de acuerdo con la esporulación de los aislamientos sobre los folíolos:

- Grupo I: que corresponde a los aislamientos que esporulan en todos los clones con genes de *H. Bentamiana* y algunas progenies de *H. brasiliensis* puros.
- Grupo II: aislamientos que esporulan en todas las progenies o en la mayoría de los clones de *H. Brasiliensis*, excepto FX985 y MDF180.
- Grupo III: aislamientos que esporulan tanto en la mayoría de los clones híbridos de *H. Bentamiana* como en la mayoría de los clones *H. brasiliensis*, excepto FX985 y MDF180.
- Grupo IV: que esporulan solamente en los clones de *H. camporum*.

Posteriormente fue descrita la alta variabilidad en aislamientos de *M. ulei* provenientes de diferentes regiones agroclimáticas del Brasil, desde aislamientos recolectados en las regiones húmedas y calientes de la región Amazónica hasta las regiones semisecas del sur del Brasil. También se reportaron cambios de hospederos combinados con adaptación a un extenso rango de ambientes abióticos (Gasparotto and Junqueira, 1994). Lo anterior se ratificó con los estudios realizados por Rivano (1997), quien trabajó con 16 aislamientos de *M. ulei* provenientes del interior de floresta en la Guayana Francesa detectando 11 razas diferentes. El estudio hecho en la plantación de Michelin de

Bahía por Mattos, et ál., (2003) incluyó 50 aislamientos de *M. ulei* los cuales fueron evaluados en 12 clones de *Hevea* correspondientes a *H. brasiliensis*, *H. pauciflora* y *H. benthamiana* utilizando metodologías similares a las manejadas por los estudios anteriormente mencionados, pero evaluando un mayor número de aislamientos. En este estudio fue posible distinguir 36 perfiles diferentes de virulencia lo cual permite suponer que se encontraron nuevas razas del patógeno. La alta variabilidad obtenida del poder patogénico, muestra la capacidad de adaptación que tiene el hongo lo cual dificulta en un futuro la obtención de clones con resistencia durable (Mattos, et ál., 2003).

### Variabilidad genética

Los estudios realizados para evaluar la variabilidad fisiológica de aislamientos de *M. ulei* de diferentes orígenes geográficos son bastantes y se ha logrado establecer un gran número de razas presentes incluso en una misma plantación (Junqueira, et ál., 1989; Rivano, 1997; Mattos, et ál., 2003). Sin embargo son pocos los estudios realizados directamente sobre el genoma del hongo como es el desarrollo de marcadores moleculares que permitan establecer si las razas hasta ahora encontradas corresponden o no a diferentes genotipos. La variabilidad genética se ha evidenciado con el uso de algunos marcadores moleculares como isoenzimas y más recientemente con microsatélites, no obstante estos estudios no han tenido impacto debido al número pequeño de aislamientos incluido. El estudio realizado por Junqueira, et ál., (1987), evaluaron 7 aislamientos de *M. ulei* con diferentes niveles de virulencia aplicando nueve isoenzimas. Los resultados logrados permitieron encontrar que los aislamientos que difirieron en virulencia también tuvieron diferencias en los patrones isoenzimáticos obtenidos. Con los patrones de isoperoxidasa, isoestearasa e isolactato deshidrogenasa lograron diferenciar un mayor número de aislados. Adicionalmente se logró establecer relación entre los patrones isoenzimáticos de dos aislamientos con su grado de virulencia.

La detección de microsatélites específicos para *M. ulei* a partir de una librería enriquecida para secuencias repetidas de CA y GA, permitieron el diseño de once juegos de primers para su amplifi-

cación por PCR. Éstos fueron evaluados en 11 aislamientos de *M. ulei*. Se encontró que 9 loci presentaron polimorfismo entre los aislados provenientes de diferentes regiones de Brasil y 5 entre los aislados provenientes de la Guayana Francesa. El locus que presentó mayor polimorfismo entre todos los aislamientos fue Mu5 (Leguen, et ál., 2006). La aplicación de esta técnica así como la de otros marcadores moleculares tipo RFLP, AFLP, ITS entre otros, en una población más grande junto con la información de características de virulencia y ecotipos permitirían un mayor entendimiento de la dinámica de las poblaciones de este patógeno.

### Resistencia de *Hevea* al SALB

Las especies de *Hevea* presentan resistencia inherente al SALB lo cual ha hecho posible la selección de clones que presentan una mayor resistencia así como la obtención de nuevos clones a partir de programas de mejoramiento genético utilizando como principal fuente de resistencia clones de la especie *Hevea benthamiana* (Junqueira, et ál., 1992).

La resistencia al SALB de especies de *Hevea* se asocia con el tamaño de las lesiones, el periodo de latencia y la esporulación reducida del hongo en las hojas. La determinación de los periodos de latencia y la esporulación se usan comúnmente en la evaluación de resistencia horizontal en otras enfermedades. La esporulación también ha sido considerada como un test sensible para la diferenciación de razas del patógeno. En la evaluación de clones de *Hevea* con diferentes razas de *M. ulei*, el tamaño de la lesión no fue significativo en tanto que la esporulación sí. Hasim, et ál., (1989), igual que Langford, sugieren tener en cuenta este último parámetro para evaluar la resistencia horizontal en clones de *Hevea* y su utilidad en la selección.

Existen otros parámetros asociados a la resistencia de *Hevea* a *M. ulei*, entre los cuales se encuentra la producción de escopoletina que puede actuar como una barrera química, su acumulación en las hojas ha sido utilizada como un componente adicional para la descripción de la resistencia junto con los parámetros arriba descritos así como la acumulación de lignina y el número de estromas. La inoculación de 36 clones con diferentes niveles de

resistencia, provenientes de Malasia, Brasil, Java, Guatemala, Costa de Marfil y Sri Lanka con la cepa FTP25 de *M. ulei*, permitió establecer que la ausencia de acumulación de escopoletina así como la de lignina en las hojas afectadas por el hongo, estuvieron relacionadas con la severidad de los síntomas de la enfermedad, sugiriendo la participación de estos compuestos en la resistencia (García, et ál., 1999). La lignificación ha sido asociada con la respuesta hipersensible, la cual es inducida rápidamente después de la infección, los clones totalmente resistentes presentaron una intensa lignificación, que le permitieron rodear las esporulaciones (García, et ál., 1995). Sin embargo probablemente los procesos de lignificación jueguen un papel de menor importancia que la reacción hipersensible de producción de fitoalexinas como la escopoletina, que es dominante. Es decir, las reacciones de defensa del árbol de caucho a *M. ulei* durante la infección estarían envolviendo las rutas metabólicas de síntesis de los fenilpropanoides las cuales se estarían sobreexpresando (García, et ál., 1995).

Pese a que el *Hevea brasiliensis* es un forestal perenne se ha logrado obtener un mapa genético a partir de 196 individuos de la F1 producto del cruce entre un parental resistente al SALB RO38 un clon híbrido interespecífico entre *H. brasiliensis* x *H. benthamiana* y un parental susceptible de *H. brasiliensis* PB-260 el cual ha sido saturado mediante marcadores tipo RFLP, AFLP, microsátélites e isoenzimas (Lespinasse, et ál., 2000).

Mediante este mapa y la evaluación de características cuantitativas asociados con resistencia al SALB como tipo de lesión (TL) y diámetro de la lesión (DL) al inocular F1 con cinco cepas de *M. ulei* se logró identificar seis QTL asociados con resistencia distribuidos en cinco grupos de ligamiento del mapa genético de RO38. Fue posible correlacionar un QTL para las cinco cepas ubicado en el cromosoma g13 cercano al marcador EM36/14, con las características fenotípicas DL y TL. Otros dos QTL fueron detectados para cuatro cepas uno para TL ubicado en g11 y uno ubicado en g12 para DL, los otros tres QTLs se ubicaron en los cromosomas g15, g13 y g10. Este estudio permitió la identificación de dos QTLs con un mayor efecto sobre la resistencia, mostrando que la resistencia cuantitativa es más oligogénica que poligénica lo cual

es consistente con otros estudios reportados (Lespinasse, et ál., 2000). La evaluación sobre esta misma progenie de características genotípicas adicionales en condiciones naturales, permitió confirmar el mayor efecto sobre la resistencia de un QTL ubicado en g13 cerca al marcador EM36/14, adicionalmente se estableció que este alelo denominado *M13-lbn* proviene desde el parental *H. benthamiana* del clon RO38. (Le Guen, et ál., 2003).

Otro estudio realizado con el fin de buscar fuentes de resistencia a *Microcyclus ulei* y tener un mayor conocimiento de la respuesta del huésped al ataque del patógeno, fue llevado a cabo por Hagen, et ál., (2003) en el cual se evaluó la respuesta de yuca al ser inoculada en su parte foliar con conidiosporas de *M. ulei*. Los resultados obtenidos muestran que la respuesta de esta planta al ataque del hongo no es una respuesta típica de resistencia no hospedero. La respuesta hipersensible en la planta producida inicialmente, es inhibida por la liberación de HCN (ácido cianúrico) de las células muertas, en tanto que el hongo sigue creciendo debido a su alta tolerancia a este compuesto. Dada la similitud de respuesta que presenta con *Hevea brasiliensis* se plantea la posibilidad que yuca pueda llegar a ser un nuevo huésped del hongo biotrófico *M. ulei*.

La inclusión de otro tipo de estrategias moleculares enfocadas a la búsqueda de genes asociados a la resistencia del *Hevea* al SALB, que impliquen menos tiempo y que complementen los resultados hasta ahora obtenidos mediante la estrategia de mapeo posicional, permitirían un apoyo más direccionado en la selección de clones así como en los programas de mejoramiento genético tradicionales.

### **Mecanismos asociados a la patogenicidad de *M. ulei***

Los factores de virulencia asociados a la patogenicidad de *M. ulei* son poco conocidos, pese a ser un hongo ampliamente estudiado en cuanto a su morfología, fisiología y epidemiología, solamente se han reportado los estudios de Lieberei, et ál., (1983), y Lieberei, et ál., (2006), en los que se evaluó bajo condiciones *in vitro* la tolerancia de *M. ulei* al HCN. Este compuesto, es producido por algunas

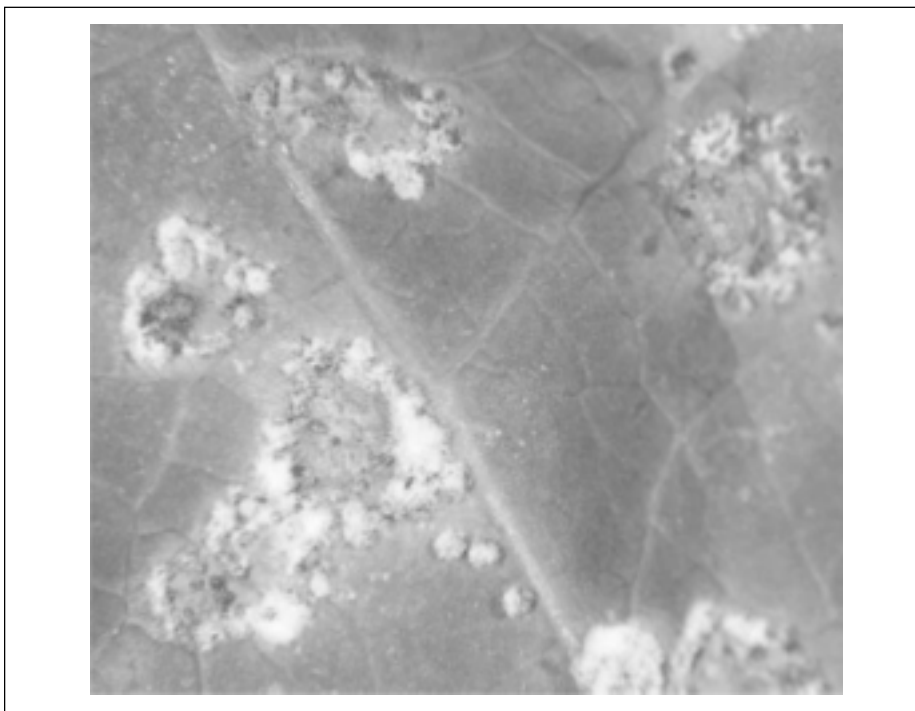
plantas como repuesta al ataque de algunos patógenos. Dentro de estas plantas cianogénicas de han reportado el genero *Manihot* (Hagen, et ál., 2003) y el genero *Hevea* (Lieberei, et ál., 1983).

El cianuro es un fuerte inhibidor de la cadena respiratoria y de la actividad de metaloenzimas, lo cual influye significativamente en el metabolismo de plantas cianogénicas durante procesos de infección de hongos patogénicos (Lieberei, et ál., 1983). Se ha estudiado la relación de la producción de cianuro y la resistencia a patógenos en algunas plantas como el *Linum usitatissimum* cuando es atacado por *Colletotrichum lini* y en *Lotus corniculatus* atacado por *Stephylium loti* (Rissler and Millar, 1977). En el caso de *Hevea* la producción de HCN favorece el crecimiento de *M. ulei*. Lieberei, et ál., (2006) muestran que crecimiento de *M. ulei* al igual que otros hongos como *Neurospora crassa* usan rutas metabólicas alternativas a la del citocromo para la obtención de energía, aumentando la ruta fermentativa por consiguiente la resistencia al cianuro. Adicionalmente este estudio permitió establecer el siguiente esquema del proceso de infección: durante la penetración y colonización temprana del tejido foliar del árbol de caucho por

parte de *M. ulei*, es liberado el HCN, a su vez el hongo adapta su metabolismo energético en presencia del ácido. En contraste, la respuesta de resistencia temprana de la planta se ve disminuida por el HCN. Después de cuatro días de la colonización, se producen los conidióforos. Un día después los conidióforos rompen la epidermis disminuyendo la concentración de HCN dentro del tejido foliar lo que permite el inicio del proceso de esporulación.

Otro mecanismo muy diferente asociado a la resistencia de *M. ulei* al HCN es la producción de una  $\beta$ -glucosidasa con actividad especifica sobre los sustratos de los compuestos cianogénicos de la planta (Lieberei, et ál., 2006), sin embargo los estudios hasta ahora realizados no son suficientes para establecer la funcionalidad y especificidad de esta enzima.

El mayor entendimiento de los factores de virulencia asociados a la patogenicidad así como la búsqueda de genes de avirulencia que permitan el reconocimiento del patógeno por clones de *Hevea* permitiría contribuir al conocimiento de los mecanismos de resistencia presentes en el huésped.



**Figura 3.** Crecimiento de micelio de *Dicyma pulvinata* sobre lesiones foliares estromáticas causadas por *M. ulei*. Tomada de (Correà, et ál., 2006).

## Control del patógeno

El SALB puede ser controlado de manera satisfactoria con el uso de fungicidas a nivel de viveros y jardines clonales. Sin embargo el uso de fungicidas en árboles adultos de plantación se hace muy limitado por la dificultad para las aplicaciones debido a la altura que alcanzan los árboles, e insostenible por el alto costo económico. (Nilton, et ál., 1992). Por tanto la mejor alternativa para el control del patógeno ha sido la obtención de clones resistentes a partir de programas de mejoramiento genético tradicionales así como el injerto de copa con clones de la especie *H. benthamiana* (Gasparotto, et ál., 1991).

Las aplicaciones de benomyl en jardines clonales y viveros mostraron un nivel satisfactorio para el control del hongo, presentando mayor eficiencia que fungicidas como etibendazol y mancozeb (Rocha, et ál., 1978), Sin embargo, estudios posteriores (Junqueira, et ál., 1988) mostraron que este fungicida actúa convenientemente sólo para el control de algunos clones. La evaluación con mezclas de fungicidas como tiofanato metílico, triadimefon y methamidophos, mostró resultados similares, es decir, el control funcionó de manera diferente en los clones evaluados lo cual dependió del nivel de resistencia parcial a las diferentes razas de *M. ulei*. Permitiendo concluir que los clones de *Hevea* responden de manera diferente al control químico (Junqueira, et ál., 1992).

Otra alternativa que se ha buscado más recientemente es el control biológico mediante la aplicación del hongo *Dicyma pulvinata* que ha mostrado ser un eficiente de antagonista del *M. ulei*, ya que coloniza las lesiones estromáticas (figura 3) causando la destrucción de las estructuras sexuales y en consecuencia la defoliación del árbol se disminuye. (Junqueira and Gasparotto, 1991). Se han realizado aislamientos de *D pulvinata* en diferentes regiones del Brasil y se ha evaluado su eficiencia de colonización de las lesiones estromáticas foliares causadas por *M. ulei*, de esta evaluación se seleccionaron cuatro aislamientos de 51 que muestran ser promisorios y que podrían ser utilizados como controladores biológicos del *M. ulei* (Correã, et ál., 2006). Sin embargo este tipo de estrategia apenas inicia sus estudios y se presenta como una solución a largo plazo.

Pese a que *M. ulei* es un hongo que se ha venido estudiando desde principios del siglo pasado y se ha avanzado en el conocimiento de su morfología, diversidad patogénica y comportamiento en campo, debido a la dificultad de su manejo *in vitro* aun se desconoce mucho de su fisiología y de los factores asociados a la virulencia, así como los mecanismos asociados a la resistencia por parte del género *Hevea*.

Es relevante continuar con estudios que permitan un mayor conocimiento de este patógeno dada la importancia económica que representa el cultivo del árbol de caucho natural en países en vía de desarrollo, el cual se presenta como una alternativa económica debido a la alta demanda de caucho natural a nivel mundial. Adicionalmente el *M. ulei* se ha convertido en una amenaza para los países productores del Asia y África en donde actualmente no existe, ya que se ha demostrado la alta susceptibilidad que tienen los clones sembrados en sus plantaciones.

El desarrollo reciente de técnicas en biología molecular se muestra como una herramienta sólida para la generación rápida de conocimiento no solamente del hongo, también de su hospedero así como la interacción entre los dos.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Esperanza Torres profesora de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de Colombia y a Silvia Restrepo profesora de la Universidad de Los Andes por la revisión y correcciones hechas al manuscrito. Al proyecto "Caracterización morfológica y molecular del hongo *Microcyclus ulei* causante del mal suramericano de la hoja del caucho" actualmente en ejecución por la Universidad Nacional de Colombia y al Instituto Amazónico de investigaciones Científicas SINCHI con financiación del Ministerio de Agricultura.

## BIBLIOGRAFÍA

Araújo, A.E.; Kalil Filho, A.; Nobrega, M.B.; Sousa, N.R.; Santos J.W.R. 2001. Reaction of ten clones of rubber (*Hevea benthamiana*) to three *Microcyclus ulei* isolates. *Acta Amazónica*. 31(3): 349-356.



- Cannon, P.I.; Camaran C.C.; Romero A.I. 1995. Studies on biotrophic fungi from Argentina: *Microcyclus porleriae*, whit a key to South American species of *Microcyclus*. *Mycol. Res* 99: 353–356.
- Corrêa Marques de Mello, S.; Santos, M.; Tavares da Silva, J.B. 2006. Isolados de *Dicyma pulvinata* em estromas de *Microcyclus ulei* em seringueira. *Pesq. agropec. bras.*; 41(2): 359-363.
- Chee, K.H.; Holliday, P. 1986. Enfermedad suramericana de la hoja del hule (caucho) Hevea. Instituto para la Investigación y Desarrollo del Hule de Malasia, MRRDB. Monografía n° 13. Presentado en la serie técnica n° 37 *Avances de la investigación en caucho natural*. CONIF. 1997 Santa Fe de Bogotá.
- Chee, K.H.; Kaiming, Z.; Darmono, T.W. 1986. *Ocurrence of eight races of Microcyclus ulei on Hevea in Bahía*. Brasil. British Mycological Society. 87: 15-21.
- Chee, K.H. 1978. South American Leaf Blight of *Hevea brasiliensis*: Culture of *Microcyclus ulei*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 70(3): 341.
- Eriksson, O.E.; Hawksworth D.L. 1993. Outline of the ascomycetes-1993. *System Ascomycetum*. 12: 51-257.
- García, D.; Cazaux, E.; Rivano, F.; Auzac, D. 1995. Chemical and structural barriers to *Microcyclus ulei*, the agent of South American Leaf Blight, in *Hevea* spp. *Eur. J. For. Path.* 25: 282-292.
- García, D.; Troispoux V.; Grance, N.; Rivano, F.; Auzac, D. 1999. Evaluation of the resistance of 36 *Hevea* clones to *Microcyclus ulei* and relation to their capacity to accumulate scopoletin and lignins. *Eur. J. For. Path.* 29: 323-338.
- Gasparotto, L.; Lieberei, R.; Trindade, D. 1984. *In vitro* conidia germination of *Microcyclus ulei* and its sensitivity to fungicides. *Fitopatologia Brasileira*. 9: 505-511.
- Gasparotto, L.; Ferreira, F.A.; Lima, M.I.; Pereira, J.C.; Santos, A.F. 1990. Enfermedades da seringueira no Brasil. *Circular Técnica* 3, EMBRAPA-CPAA, Manaus. 169 p.
- Gasparotto, L.; Zambolin, L.; Junqueira, N.T.V, Mafía, L.A.; Ribeiro, F. X. 1991. Epidemiology of south American leaf blight of rubber tree. II – Manaus region – AM. *Fitopatologia Brasileira*. 16(1): 19-21.
- Gasparotto, L.; Junqueira, N.T.V., 1994. Ecophysiological variability of *Microcyclus ulei*, causal agent of rubber tree leaf blight. *Fitopatologia Brasileira*. 18: 22-24.
- Gasparotto, L.; Figueredo, A.; Rezende, J.C.; Ferreira, F.A. 1997. Doenças da Seringueira no Brasil. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuarias. 39-41. EMBRAPA.
- Hagen, J.; Gasparotto L.; Moraes V.; Lieberei R. 2003. Reaction of cassava to *Microcyclus ulei*, Causal Agent of South American Leaf Blight of Rubber tree. *Fitopatologia Brasileira*. 28(5) 477-480.
- Halle, F.; Martin R. 1968. Study of the growth rhythm in *Hevea brasiliensis* (*Euphorbiaceae Cronoideae*). *Andansonia*. 8(4): 475-503.
- Hashim, I.; Pereira, J.C. 1989. Lesion Size, latent period and sporulation on leaf Discs as indicators of resistance of *Hevea* to *Microcyclus ulei*. *J. nat. Rubb. Res.* 4(11): 56-65.
- Junqueira, N.T.V.; Chaves, G.M.; Zambolim, L.; Romero R.; Gasparotto L. 1984. Isolamento cultivado e esporulação agente etiológico de mal-dafolhas da seringueira M ulei. *Revista Seres*. 31: 322-331.
- 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.
- Junqueira, N.T.V.; Alfenas, A.C.; Chaves, G.M.; Zambolim, L.; Gasparotto, L. 1987. Variabilidade isoenzimática de isolados de *Microcyclus ulei* com diferentes níveis de virulência. *Fitopatologia Brasileira*. 12(3), 208-214.
- Junqueira, N.T.V.; Gasparotto, L.; Lieberei, R.; Normando, M.C.S.; Lima, M.I. 1989. Especialização fisiológica de *Microcyclus ulei* em diferentes espécies de seringueira: Identificação de grupos de patótipos *Fitopatologia Brasileira*. 14(2):147. Resumo.
- Junqueira, N.T.V.; Gasparotto, L. 1991. Controle biológico de fungos estromáticos causadores de doenças foliares em seringueira. In: Bettiol, W. (Org.). Controle biológico de doenças de plantas. Jaguariúna, SP: EMBRAPA-CNPDA, v.1, p. 307-331. (EMBRAPA-CNPDA. Documentos 15).
- Junqueira, N.T.V.; Kalili Filho, A.N.; Araujo, A.E., 1992. Genética da resistência da seringueira ao *Microcyclus ulei*. *Fitopatologia Brasileira*. 14 (2): 149. Resumo
- Kalil Filho, A.N.; Junqueira N.T.; 1989. Bases e procedimentos para o programa del melhoramiento de seringueira no CNPSD-Manaus, AM. Documentos 8, EMBRAPA-CNPDA, Manaus. 13 p.
- Le Guen, V.; Lespinasse, D.; Oliver, G.; Rodier-Goud, M.; Pinard, F.; Seguin, M. 2003. Molecular

- mapping of genes conferring field resistance to South American leaf blight (*Microcyclus ulei*) in the rubber tree. *Theor Appl Genet.* 108: 160-167.
- Le Guen, V.; Rodier-Goud M.; Troispoux, T.; Seguin, M. 2004. Characterization of polymorphic microsatellite markers for *Microcyclus ulei*, causal agent of South American Leaf blight of rubber trees. *Molecular Ecology Notes.* 4: 122-124.
- Lespinasse, D.; Grivet, L.; Troispoux, V.; Rodier-Goud, M.; Pinard, F.; Seguin, M. 2000. Identification of QTLs involved in the resistance to South American leaf blight (*Microcyclus ulei*) in the rubber tree. *Theor Appl Genet.* 100: 975-984.
- Lespinasse, D.; Rodier-Goud, M.; Grivet, L.; Leconte A.; Legnate, H.; Seguin, M. 2000. A saturated genetic linkage map of rubber tree (*Hevea* spp) based on RFLP, AFLP, microsatellite and isozyme markers. *Theor Appl Genet.* 100: 127-138.
- Lieberei, R.; Schrader, A.; Biehl, B.; Chee, K. H. 1983. Effect of cyanide on *Microcyclus ulei* cultures. *Journal of the Rubber Research, Institute of Malaysia.* 31(3): 227-235.
- Lieberei, R. 2006. Physiological characteristics of *Microcyclus ulei* (P. Henn.) V.ARX. - A fungal pathogen of the cyanogenic host *Hevea brasiliensis*. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 80(1): 63-68.
- Mattos, C. 1999. Culture media with coconut water for sporulation of *Microcyclus ulei*. *Fitopatologia Brasileira.* 24(3): 470.
- 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.
- Miller, J.W. 1966. Diferencial clones of *Hevea* for identifying races of *Dothidella ulei*. *Plant Disease Reporter.* 50:187-190.
- Nilton, T.V.; Junqueira, Lima M.; Gasparotto, L.; Luis, A.J. 1992. Integrated control of rubber tree leaf Blight association between genetic resistente and chemical control. *Pesq. Agropec. Bras.* 27 (7): 1027-1034.
- Rissler, J.F.; Millar, R.L. 1977. Contribution of a cyanide insensitive alternative respiratory system to increases in formamide hydrolase activity and to growth in *Stemphyium loti*. *Plant Physiol.* 60: 857-861.
- Rivano, F. 1997. South American leaf blight of *Hevea* I. Variability of *Microcyclus ulei* pathogenecity. *Plantation Recherche, Devel.* 4: 104-114.
- Rocha, H.M.; Medeiros, A.G.; Vasconcelos, A.P. 1978. Comparação de fungicidas para controle do mal-das-folhas de seringueira (*Microcyclus ulei* (P. Henn.) v. Arx) em viveiro. *Fitopatologia Brasileira.* 3: 163.
- Schubert, K.; Ritschel, A.; Braun, U. 2003. A monograph of *Fusicladium* lat. (Hyphomycetes). *Schlenchtendalia.* 9: 353-356.