

Efecto de la roya del álamo sobre el follaje y el crecimiento.

CORTIZO, S.^{1,2}; MEMA, V.^{1,3}; GRACIANO, C.⁴ ABBIATI, N.⁵; Y GUIAMET, J.⁴.

1. EEA Delta del Paraná – INTA.
2. Cátedra de Genética, Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires.
3. Cátedra de Dasonomía, Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires.
4. INFIVE. CONICET-Universidad de La Plata.
5. Cátedra de Estadística, Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad de Lomas de Zamora.
scortizo@correo.inta.gov.ar, vmema@agro.uba.ar, corinagraciono@yahoo.com,
norabbi2000@yahoo.com.ar , jguiamet@museo.fcnym.unlp.edu.ar

Resumen

Las distintas especies de royas se encuentran entre los organismos fitopatógenos más destructivos. Parasitan a un enorme rango de especies vegetales causando vastas pérdidas a muchos cultivos, de los que los álamos no son una excepción.

En el Delta del Río Paraná se han reportado dos grandes epifitias en las décadas de 1920 y 1940 respectivamente. Posteriormente la roya dejó de ser un problema en la región pues se manifestaba sobre el final del período de crecimiento. Sin embargo, a partir de 1994 los ataques, causados por *Melampsora medusae*, comenzaron a anticiparse y se volvieron cada vez más intensos, causando defoliaciones y pérdidas de rendimiento.

El presente trabajo tiene como objetivo la evaluación del efecto de la enfermedad sobre el follaje y el crecimiento en estaquero de tres clones *Populus deltoides* 'Australiano 106/60', *Populus deltoides* 'Bolivar Belle' ("Stoneville 109") y *Populus deltoides* 'Onda' ("I 72/51") con distinto comportamiento frente al ataque de roya.

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con tres repeticiones en un arreglo factorial de los tres niveles de clones y los dos niveles de pulverización (pulverizado y no pulverizado) de veinticuatro plantas por parcela.

El ataque de roya fue monitoreado quincenalmente durante todo el ciclo de crecimiento contabilizando el número de pústulas por centímetro cuadrado en una muestra de 10 hojas tomadas al azar entre las más atacadas para cada clon y nivel de pulverización.

Periódicamente durante el ciclo de crecimiento se evaluaron las siguientes variables: número de hojas desarrolladas, número de hojas caídas y área foliar.

En el mes de marzo se evaluó la concentración de clorofila en una muestra de 15 hojas para cada clon y nivel de pulverización.

Al final del período vegetativo se evaluó el crecimiento de las guías a través de la medición del largo total y el diámetro a 1 metro del punto de inserción.

Todas las variables evaluadas fueron significativamente modificadas por el ataque de roya en el clon "I 72/51". Solamente las variables relacionadas con el follaje, a excepción de la concentración de clorofila, fueron afectadas en el "Australiano 106/60", mientras que el clon "Stoneville 109" presentó un comportamiento similar tanto para las variables de follaje como para las de crecimiento.

Nuestros resultados indican que las pérdidas provocadas por la roya dependen en gran medida del genotipo y que el daño a nivel de hoja no se traduce en la misma medida en disminución en el crecimiento.

Palabras claves: *Populus deltoides*, *Melampsora medusae*, defoliación, clorofila, crecimiento.

Introducción

Las distintas especies de royas se encuentran entre los organismos fitopatógenos más destructivos. Parasitan a un enorme rango de especies vegetales causando importantes pérdidas en muchos cultivos, de los que los álamos no son una excepción (Thielges *et al*, 1989; Pinon, 1992; Chastagner and Newcombe, 1993).

La roya del álamo, considerada la enfermedad más importante de *Populus deltoides* Barth y otros álamos alrededor del mundo, es causada por distintas especies del género *Melampsora* (Tabor *et al*, 2000).

En el Delta del Río Paraná se han reportado dos grandes epifitias. La primera de ellas, atribuida a *Melampsora medusae* (Thuem.), obligó al reemplazo del álamo "Carolino" (*Populus deltoides* subesp. *angulata* cv. *carolinensis*) por el álamo "criollo" (*Populus nigra* cv. *itálica*) en la década de 1920, el cual a su vez fue diezclado por *Melampsora larici-populina* (Kleb.) en la década de 1940 (Fernandez Valiela 1979). Posteriormente la roya dejó de ser un problema en la región pues se manifestaba al final del período vegetativo cuando el crecimiento ya no es significativo (Ragonese y Rial Alberti, 1973/74; Blanco, 1977; Fernandez Valiela, 1979).

Sin embargo, a partir 1994 los ataques comenzaron a anticiparse y volverse cada vez más intensos (Cortizo, 2005).

El desarrollo de la enfermedad se ve favorecido por el monocultivo de clones susceptibles implantados con altas densidades, en donde el movimiento del aire se encuentra restringido. La severidad del ataque varía con el clon, las condiciones climáticas durante la estación de crecimiento, el microclima del sitio, la disponibilidad de nitrógeno y potasio del suelo, etc..

La roya causa importantes daños en estaqueros y plantaciones comerciales los álamos entre los cuales podemos mencionar defoliaciones severas durante el verano, aumento de la susceptibilidad a daños producidos por bajas temperaturas durante el invierno, retraso en la brotación del año siguiente, mayor susceptibilidad a condiciones de estrés ambiental y al ataque de otros parásitos, reducción del crecimiento, pérdida de calidad de la madera producida, etc. (Thielges and Adams, 1975; Newcombe, 1996; Steenackers *et al*, 1996; Tabor *et al*, 2000; Nischwitz and Newcombe, 2004).

La reducción de crecimiento puede alcanzar valores del 30% al 60 % (Widin and Schipper, 1981; May-de Mio *et al*, 2006; Pinon *et al*, 2006;).

La gravedad de los daños producidos ha obligado a los mejoradores a establecer como objetivo prioritario de selección la resistencia a enfermedades. (Newcombe *et al*, 1996; Steenackers *et al*, 1996; Lefèvre *et al*, 1998; Pinon and Frey, 1999; Riemenschneider *et al*, 2001).

Para cumplir con este propósito la selección se basó principalmente en genes mayores raza-específicos que otorgaban inmunidad, los cuales frecuentemente fueron superados por coevolución del patógeno (Steenackers *et al*, 1994; Steenackers *et al*, 1996; Newcombe, 1996; Pinon y Valadon, 1997). Bajo estas circunstancias el uso de resistencia parcial se manifiesta como una promisorio alternativa. En este contexto el conocimiento de los niveles de tolerancia y de las estrategias utilizadas por distintos clones para contrarrestar los efectos de la enfermedad resulta de gran interés.

El presente trabajo tiene como objetivo la evaluación del efecto de la enfermedad sobre el follaje y el crecimiento en estaquero de tres clones *Populus deltoides* 'Australiano 106/60', *Populus deltoides* 'Bolivar Belle' ("Stoneville 109") y *Populus deltoides* 'Onda' ("I 72/51") con distinto comportamiento frente al ataque de roya.

Materiales y Métodos

Este estudio se realizó en un ensayo instalado en el año 2005 sobre un terreno protegido por un dique total en la E.E.A. Delta del Paraná (Lat: 34°32' 48" S., Long: 58°29' 28" O).

Como material vegetal se utilizaron estacas de 60 centímetros de largo y sección homogénea tomadas a alturas similares de guías de año de tres clones de *Populus deltoides* Marsh 'Australiano 106/60', 'Bolivar Belle' y 'Onda' que presentan distinto comportamiento frente al ataque de *Melampsora medusae*, agente causal de la roya del álamo. Los clones 'Bolivar Belle' y 'Onda' son conocidos en nuestro medio como "Stoneville 109" e "I 72/51"

respectivamente.

La preparación del terreno se realizó con un arado de discos y se acondicionaron 18 parcelas con un mulching de plástico negro de 100 μ de espesor. Entre parcela y parcela se dejaron calles de 4 metros de ancho para facilitar las tareas de pulverización.

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con 3 repeticiones para un arreglo factorial de los tres niveles de los clones y 2 niveles de pulverización (pulverizado y no pulverizado) de 24 plantas por parcela separadas a 80 x 80 centímetros, de las cuales se midieron las 4 centrales.

Para mantener las parcelas libres de roya se aplicó tebuconazole, en una dosis de 25.8 g de principio activo por hectolitro de agua hasta punto de goteo, utilizando una pulverizadora a motor de mochila. La primer aplicación se realizó el 29 de diciembre ante la aparición de las primeras pústulas y las restantes el 17 de enero, 2 de febrero y 20 de febrero respectivamente.

El ataque de roya fue monitoreado, quincenalmente durante todo el ciclo de crecimiento, contabilizando el número de pústulas por centímetro cuadrado en una muestra de 10 hojas tomadas al azar entre las más atacadas, para cada clon y nivel de pulverización.

Periódicamente se evaluaron las siguientes variables: número de hojas totalmente expandidas, número de hojas caídas y área foliar.

Para estimar el área foliar se midió el largo y ancho máximo y se dibujó el contorno de 150 hojas por clon en papel de 75 gr/m². Las imágenes fueron recortadas y pesadas en balanza de precisión. Con estas variables se ajustó una función para cada clon (Tabla 1).

Australiano 106/60	Area foliar = $(-0.16276 + 0.33315 L + 0.55389 A)^2$
Stoneville 109	Area foliar = $(-0.02868 + 0.32406 L + 0.54709 A)^2$
I 72/51	Area foliar = $(-0.27849 + 0.32234 L + 0.61327 A)^2$

Tabla 1: funciones de ajuste para la estimación del área foliar

Las funciones obtenidas se validaron con sendas muestras independientes de 150 hojas y se utilizaron en la estimación del área foliar de las distintas plantas.

En el mes de marzo se evaluó la concentración de clorofila en una muestra de 15 hojas para cada clon y nivel de pulverización. El muestreo se estandarizó tomando la hoja número 10 desde el ápice de cada planta.

Se determinó área foliar y peso seco de cada hoja. Con estos parámetros, se calculó el peso foliar específico. Para determinar la concentración de clorofila se realizaron 6 mediciones distribuidas uniformemente en cada hoja con el Spad-502. Para relacionar las unidades de Spad con la concentración de clorofila, se realizó una extracción a partir de discos de 0,20 cm² con 1 ml de dimetilformamida. La concentración de clorofila se calculó según Inskeep y Bloom (1985).

Al final del período vegetativo se evaluó el crecimiento de las guías principales de cada planta a través de la medición del largo total y el diámetro a 1 metro del punto de inserción.

Los datos fueron analizados utilizando el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System) versión 9.1.3. En todos los casos se comprobó el cumplimiento de los supuestos necesarios para el análisis de varianza y ante el incumplimiento, se efectuó una transformación de variables para resolver el problema. Para las variables número de hojas caídas y número de hojas total la transformación empleada fue la logarítmica mientras que para el porcentaje de hojas caídas la transformación empleada fue la inversa.

Resultados

En la última semana de diciembre comenzaron a visualizarse las primeras pústulas. La severidad de la enfermedad varió con el genotipo empleado a lo largo de la temporada analizada. El clon "I 72/51" fue más atacado en la segunda quincena de enero mientras que el "Australiano 106-60" lo fue durante la segunda quincena de febrero. El "Stoneville 109" presentó niveles de ataque similares o levemente inferiores al "Australiano 106-60" (Fig. 1).

Las parcelas tratadas con el fungicida se mantuvieron libres de pústulas durante todo el período vegetativo.

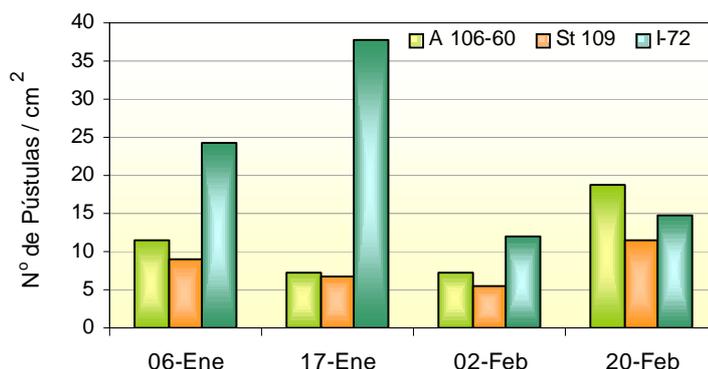


Fig 1: Evolución del número de pústulas por cm² durante el verano de 2006.

El número total de hojas desarrolladas depende del genotipo ($F= 41.86$; $p= 0.0001$) (Figura 2) y no fue afectado por la enfermedad ($F= 0.42$, $p = 0.5312$).

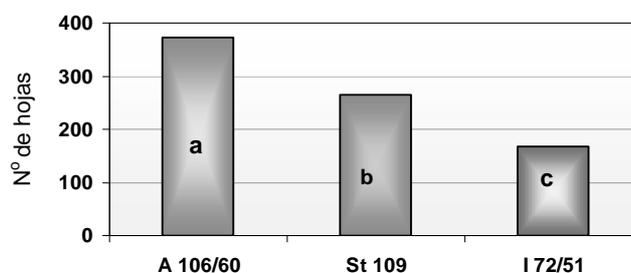


Fig. 2: Número de hojas total medio por clon.

La roya modificó el período de duración de las hojas. El número de hojas caídas prematuramente en las parcelas no pulverizadas fue significativamente mayor que en las parcelas pulverizadas (Figura 3).

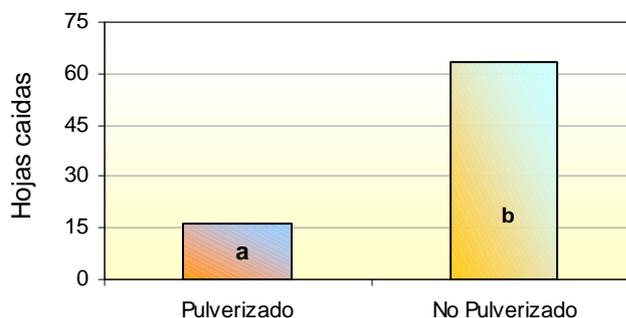


Fig. 3: Media del número de hojas caídas en parcelas pulverizadas (sanas) y no pulverizadas (con roya).

Sin embargo, al considerar la variable porcentaje de hojas caídas nuestros resultados indican que los clones "I 72/51" y "Australiano 106/60" presentan un menor porcentaje de hojas caídas en las parcelas pulverizadas, mientras que en el clon "St. 109" presentó un comportamiento inverso (Fig. 4).

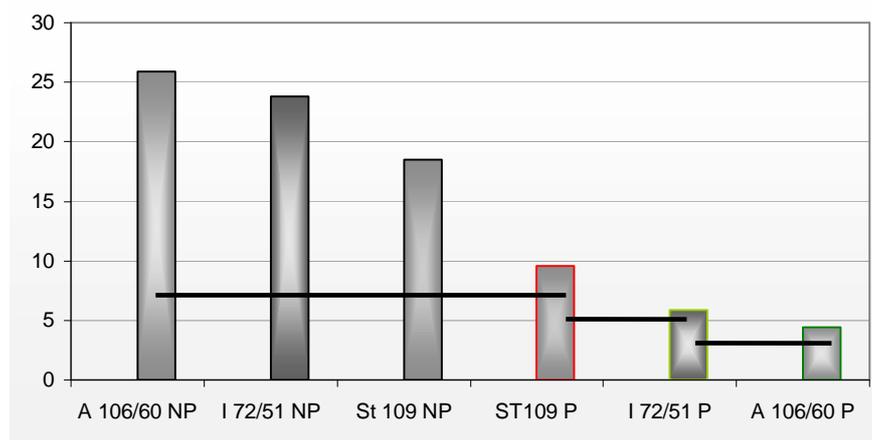


Fig. 4: Porcentaje de hojas caídas para los distintos clones y tratamientos.

El ataque de roya afectó significativamente el área foliar total del clon "I 72/51" ($F= 15.52$; $p= 0.0001$) (Fig 5).

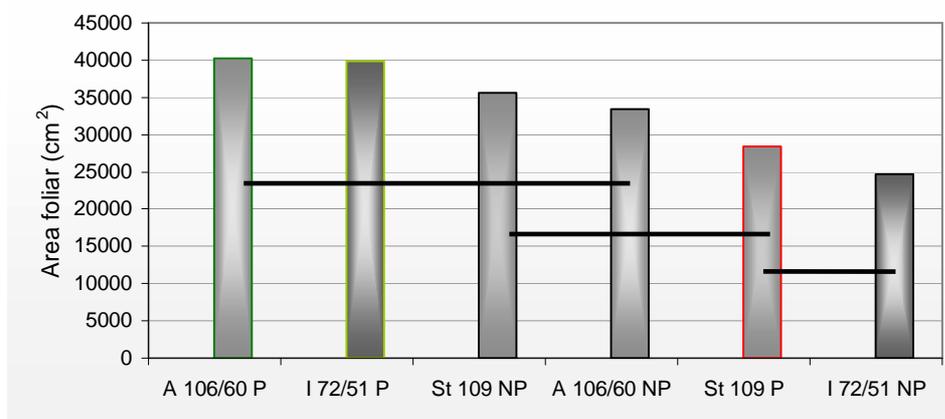


Fig. 5: Área foliar media por clon en parcelas pulverizadas (sanas) y no pulverizadas (con roya).

No se encontraron diferencias significativas para peso foliar específico (g de materia seca / cm² de hoja) entre parcelas pulverizadas y no pulverizadas ($F= 0.67$, $p= 0.4197$).

Tanto las mediciones realizadas con el SPAD 502 (Minolta) como en determinaciones espectrofotométricas de extractos en dimetil formamida (DMF) demuestran que la roya afectó significativamente la concentración de clorofila en el clon "I 72/51" pero no en el resto de los clones ($F= 31.32$, $p= 0.0001$) Tabla1.

	Clorofila en unidades de SPAD				µg de clorofila / ml cm²			
	No pulverizado		Pulverizado		No pulverizado		Pulverizado	
I 72/51	33.80	a	43.56	bc	22.8	a	57.7	c
A 106-60	34.07	a	39.70	ab	31.6	ab	51.9	bc
St 109	42.35	bc	48.63	c	44.4	abc	68.4	c

Tabla 1: Determinación de la concentración de clorofila con SPAD 502 y espectrofotometría

Tanto el diámetro a 1 metro de la base como el largo de la guía principal se redujeron significativamente a consecuencia del desarrollo de la enfermedad en el clon "I 72/51" ($F=7.41$, $p= 0.0022$ y $F= 9.7$, $p= 0.0009$ respectivamente). Las diferencias en crecimiento para los otros

(Fig. 6 y 7).

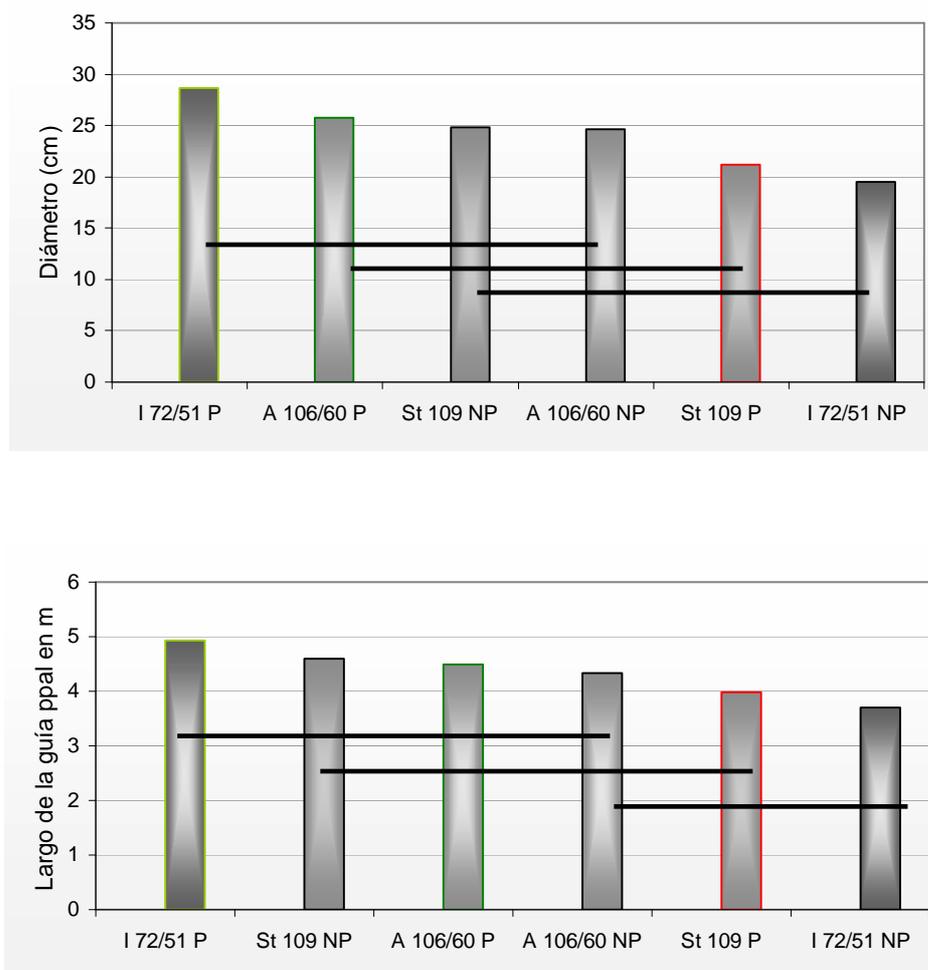


Fig. 7: Altura de la guía principal por clon en parcelas pulverizadas (sanas) y no pulverizadas (con roya).

Discusión

La roya del álamo, considerada la enfermedad más importante de *Populus deltoides* Barth (Tabor et al, 2000) por sus efectos detrimentales en la cantidad y calidad de madera producida (Thielges and Adams, 1975; Newcombe, 1996; Steenackers et al, 1996; Tabor et al, 2000; Nischwitz and Newcombe, 2004).

La gravedad de los daños producidos ha obligado a los mejoradores a seleccionar clones resistentes. (Newcombe *et al*, 1996; Steenackers *et al*, 1996; Lefèvre *et al*, 1998; Pinon and Frey, 1999; Riemenschneider *et al*, 2001), que frecuentemente fueron superados por coevolución del patógeno (Steenackers *et al*, 1994; Steenackers *et al*, 1996; Newcombe, 1996; Pinon y Valadon, 1997).

En la actualidad existe un nuevo enfoque sobre el tratamiento de las enfermedades. Este consiste en el manejo de los niveles poblacionales del patógeno a través de prácticas de cultivo, con la finalidad de lograr que el impacto de la enfermedad sea tolerable y disminuir la presión selectiva sobre el patógeno. De este modo se espera que el sistema evolucione hacia un estado estable (Pinon, 1984).

Nuestros resultados indican que la roya no afectó el número de hojas totales que cada genotipo puede desarrollar pero sí su vida media, lo cual se evidencia a través del número de hojas caídas prematuramente. Sin embargo, este comportamiento no se ve reflejado en el área foliar debido principalmente a la arquitectura de los distintos genotipos analizados.

El clon "I 72/51" desarrolla una guía principal casi invariablemente sin brotes y presenta

hojas de gran tamaño, mientras que los otros dos clones desarrollan numerosos brotes que van reemplazando a las hojas afectadas por la enfermedad. Por otro lado las hojas son de menor tamaño de modo tal que al caerse afectan en menor medida al área fotosintética total.

Bajo condiciones normales (sin enfermedad) el clon "I 72/51" es más eficiente que los otros dos clones en la producción y traslocación de fotosintatos, pero bajo condiciones adversas todo el aparato fotosintético se resiente rápidamente, no solo por la pérdida de área foliar sino también por la reducción de la concentración de clorofila.

Por otro lado, el clon "Australiano 106-60" bajo condiciones normales es menos eficiente en concentrar los fotosintatos en el tallo, ya que parte de la energía producida por la fotosíntesis es desviada para el desarrollo de nuevas ramitas y hojas. Sin embargo, esta característica resulta favorable ante un ataque de roya porque la planta se libera de hojas afectadas que igualmente hubieran sido eliminadas por efecto del sombreo.

Los resultados observados en el clon "Stoneville 109" son contradictorios y podrían deberse a una interacción negativa con el funguicida.

En base a nuestros resultados podemos concluir que es necesario tener en cuenta una visión global a la hora de realizar la selección, pues el crecimiento no solamente depende de la susceptibilidad de cada uno de los genotipos, sino también de su habilidad en el desarrollo de estrategias que permiten contrarrestar los efectos de la enfermedad.

Bibliografía

- Blanco, J. (1977) Susceptibilidad y resistencia al ataque de Roya en los alamares cultivados del Delta del Paraná. Folleto Técnico Forestal N° 50. IFONA: 12 pp.
- Chastagner, G. and Newcombe, G. (1993) An overview of poplar uses and *Melampsora* leaf rust pathogens in the Pacific Northwest. Poplar leaf rust workshop. Washington State University: 7-14.
- Cortizo, S. (2005). Roya del álamo en el Delta del Paraná. IDIA XXI. Forestales. Revista de información sobre investigación y desarrollo agropecuario. Año V- N° 8: 139-142.
- Fernandez Valiela, M. (1979) Introducción a la Fitopatología. Vol IV Hongos y Micoplasmas: 613 pp. Ediciones INTA.
- Inskip, W.P and P.R. Bloom (1985) Extinction coefficients of chlorophyll a and b in N,N-dimethylformamide and 80% acetone. Plant Physiology 77: 483-485
- Lefèvre, F., Goué-Mourier, M. C., Faivre-Rampant, P., and Villar, M. (1998) A single gene cluster controls incompatibility and partial resistance to various *Melampsora larici-populina* races in hybrid poplars. Phytopathology 88: 156-163.
- May-De Mio, L., Amorin, L. e Moreira, L. Progreso de epidemias e avaliação de danos da ferrugem em clones de álamo. Fitopatol. bras. 2006, vol. 31, no. 2:133-139.
- Newcombe, G. 1996. The specificity of fungal pathogens of Populus. In, Biology of Populus and its implications for management and conservation. Part I, Chapter 10. R. F. Stettler, H. D. Bradshaw Jr., P. E. Heilman, and T. M. Hinckley, eds. NRC Research Press, National Research Council of Canada, Ottawa, ON. pp. 223-246.
- Newcombe, G. 2006. The especificity of fungal pathogens of Populus. In Biology of Populus and its implications for management and consevation. Part I, Chapter 10. Edited by R.F. Stettler, H.D. Bradshaw, Jr, P.E. Hielman, and T.M. Hinckley. NCR Research Press, National Research Council of Canada, Ottawa, ON. : 223-246.
- Newcombe, G., Bradshaw, H. D., Jr., Chastagner, G. A., and Stettler, R. F. 1996. A major gene for resistance to *Melampsora medusae* f. sp. *deltoidae* in a hybrid poplar pedigree. Phytopathology 86:87-94.16. Pichot, C., and Tessier du Cros, E. 1993. Susceptibility of *P. deltoides*
- Nischwitz, C. and Newcombe, G. 2004. The use of *Sphaerellopsis filum* for biological control of *Melampsora* species on *Populus* species. Abstracts of Proceedings of the 22° Sessi on International Poplar Commission. International Poplar Commisssion Working Paper IPC/2. Forest Resources Division, FAO, Roma: 167.
- Pinon, J. (1984). Management of diseases of poplars. Eur. J. For. Path. 14:415-425.
- Pinon, J. (1992) Variability in the Genus *Populus* in sensitivity to *Melampsora* rust. *Silvae Genica* 41: 25-44.
- Pinon, J. and Frey, P (1999) Breeding poplar for disease resistance as seen by pathologists. Abstracts of Proceedings of International Poplar Symposium II. IUFRO. INRA. Orleans. Francia: 73.

- Pinon, J.; Frey, P. and Husson, C. (2006) Wettability of Poplar leaves influences dew formation and infection by *Melampsora larici-populina*. Plant Disease 90: 177-184.
- Pinon, J. and Valadon, A. (1997) Comportement des cultivars de peupliers commercialisables dans l'Union Européenne vis-à-vis de quelques parasites majeurs. Ann. Sci. For. 54:19-38.
- Ragonese, A. y Rial Alberti, F (1973/74). Resistencia de los cultivares de álamo de la Sección Algeiros al ataque de roya (*Melampsora spp.*) IDIA. Suplemento Forestal N° 8: 40-46.
- Riemenschneider, R.E.; Stanton, B.J., Vallée, G. and Périnet, P. 2001. Poplar breeding strategies. Ed: Dickmann, D.I., Isebrand, J.G., Eckenwalde, J.E. and Richardson, J. Poplar culture in North America. NRC Research Press, Ottawa, Ontario, Canadá: 43-76.
- Steenackers, J.; Steenackers, M. Steenackers, V. and M. Stevens (1996) Poplar diseases, consequences on growth and wood quality. Biomass and Bioenergy. Vol 10. Nos 5/6: 267-274.
- Steenackers, M. Steenackers, V. and Delporte, T. (1994) A new physiological race of *Melampsora larici-populina* in Belgium. Proc. Int. Poplar Commission and FAO, Working Group of Diseases. FAO . Roma.
- SAS Institute Inc. (2004). SAS OnlineDoc® 9.1.3. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Tabor, G.; Kubisiak, N.; Klopfenstein, R.; Hall, R. and McNabb Jr. (2000) Bulk segregant analysis identifies molecular markers linked to *Melampsora medusae* resistance in *Populus deltoides*. Phytopathology 90: 1039-1042.
- Thielges, B and Adams (1975) Genetic variation and heritability of *Melampsora* leaf rust resistance in Eastern Cottonwood. Forest Science 21: 278-282.
- Thielges, B.; Sabdono, A.; Rousseau, J. and Prakash, C. (1989) Genetic variation and hereditabilities of growth rate and *Melampsora* leaf rust resistance in a mid-south population of *Populus deltoides* Bartr. Recent developments in poplar selection and propagation techniques. In: HFV-FsB (eds) Proc IUFRO Working Party. Hann Münden: 142-145.
- Widin, K.D. and Schipper, A.L. Jr. (1981) Epidemiology and impact of *Melampsora medusae* leaf rust infection on yield of hybrid poplars in north-central United States. Eur. J. For. Pathol. 11: 438-488.