

Efecto de la roya del álamo sobre el crecimiento del año y del rebrote de la siguiente temporada en tres clones con distinta susceptibilidad y arquitectura del canopeo.

*Tesis presentada para optar al título de Magister de la Universidad de Buenos Aires,
Área Producción Vegetal*

Silvia Cortizo

Ing. Agr. - Universidad de Buenos Aires - 1983

Lugar de trabajo: Estación Experimental Agropecuaria Delta del Paraná.
Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA).
Cátedra de Genética. Facultad de Agronomía
Universidad Nacional de Buenos Aires



Escuela para Graduados Ing. Agr. Alberto Soriano
Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires

COMITÉ CONSEJERO

Director de tesis

Juan José Guiamet

Ingeniero Agrónomo (Universidad Nacional de Rosario, Argentina)

Ph. D. of Botany (Univesidad de Michigan, Estados Unidos)

Consejero de Estudios

Corina Graciano

Ingeniera Forestal (Universidad Nacional de La Plata, Argentina)

Doctor en Ciencias Naturales (Universidad Nacional de La Plata, Argentina)

JURADO DE TESIS

Director de tesis

Juan José Guiamet

Ingeniero Agrónomo (Universidad Nacional de Rosario, Argentina)

Ph. D. of Botany (Univesidad de Michigan, Estados Unidos)

JURADO

Marcela Gally

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires, Argentina)

Doctora de la UBA en el área Ciencias Biológicas (Universidad de Buenos Aires, Argentina)

JURADO

Mariano Martín Amoroso

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires, Argentina)

Master of Science, Silviculture and Forest Protection (University of Washington, USA)

Doctor of Philosophy (University of British Columbia, Canada)

Fecha de defensa de la tesis: 29 de abril de 2014

A mi padre

*Quien, aún desde esta inmensa distancia,
me acompaña cada día.*

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria y en especial a la gran familia del Programa Nacional Forestal por su constante apoyo para la realización de mi trabajo, parte del cual permitió lograr los resultados presentados en esta tesis, pero por sobre todo por haberme permitido crecer.

A los miembros de mi comité consejero, quienes desinteresadamente, aún sin conocerme, se sumaron a esta aventura. Por su dedicación, amistad, sus enseñanzas y por haber logrado cambiar mis expectativas sobre la fisiología.

A mi gran maestro Alberto Prina por enseñarme a amar esta profesión, a observar y a estudiar las plantas, pero por sobre todas las cosas por estar ahí sosteniéndome en los peores momentos y lograr contenerme haciéndome ver el lado bueno de las cosas.

A Raul Ríos y a Tomás Schlichter por desafiarme a enfrentar nuevos proyectos.

A mis compañeros de la Estación Experimental Agropecuaria Delta del Paraná INTA (Vanesa, Silvana, Marcelo, Hugo, Lucio, Sergio, Jorge, Manuel, Darío...) que han contribuido de alguna manera para que este trabajo fuera posible.

A mis amigas Nora Abbiati, Nora Frayssinet y Ana Garau por su colaboración y constante apoyo.

A los integrantes del Grupo Carabelas que acompañan mi trabajo día a día. Por sus aportes económicos y, en especial, por estar siempre en el momento oportuno para dar continuidad a los proyectos.

A mis padres por permitirme, acompañarme y cuidarme en este mi más importante viaje, **el de transitar la vida**, por darlo todo y aún más, por hacernos a mí y a mi hermano personas de bien, por enseñarme a diferenciar entre lo bueno y lo malo, a levantarme una y otra vez, a respetar y a honrar la vida y por perdonar mis errores. Gracias por haberme brindado el privilegio de estudiar, por mi primer guardapolvo, y por haber realizado tantos esfuerzos y dejado de lado tantas cosas para que hoy pudiera estar acá y desarrollar una actividad que me sorprende día a día.

A mi esposo, que se sumó a mi gran viaje, por estar en todos los detalles, por la comprensión, el cariño y el apoyo incondicional, por nunca reclamarme nada, por esperar en los aeropuertos, por corregir mis escritos, por arreglar mi computadora, recuperar mis archivos dañados y aprenderse los programas para enseñármelos en 15 minutos, por hacerse cargo de mis obligaciones y por recibirme siempre con una sonrisa. Gracias por hacerme más fácil y agradable el camino. Espero la vida nos regale el milagro de llegar juntos al final como en la Laguna Dorada.

Gracias a todos por ser parte de mi vida.

"Declaro que el material incluido en esta tesis es, a mi mejor saber y entender, original, producto de mi propio trabajo (salvo en la medida en que se identifique explícitamente las contribuciones de otros), y que este material no ha sido presentado, en forma parcial o total, como una tesis en ésta u otra institución."

Ing. Agr. Silvia Cortizo

ÍNDICE GENERAL

Agradecimientos	iv
Índice general	vi
Índice de figuras	viii
Índice de tablas	xiii
Abreviaturas	xvii
Resumen	xviii
Abstract	xix
Capítulo 1 : Introducción general.....	2
1.1 Antecedentes y problemática	2
1.1.1. El álamo y su cultivo	2
1.1.2. El Delta del Paraná.....	3
1.1.3. Principales enfermedades del cultivo del álamo en el Delta.....	5
1.1.4. La roya del álamo.....	6
1.2 Objetivos e hipótesis.....	7
1.3 Organización de la tesis.....	8
Capítulo 2 : Determinación del agente causal y su control	10
2.1. Introducción.....	11
2.2. Materiales y métodos	15
2.2.1. Determinación del agente causal.....	15
2.2.2. Tratamientos químicos para el control de la roya del álamo	16
2.3. Resultados	18
2.3.1. Determinación del agente causal.....	18
2.3.2. Tratamientos químicos para el control de la roya del álamo	20
2.4. Discusión.....	23
2.5. Conclusiones	25
Capítulo 3 : Efecto de la roya sobre la dinámica foliar, la fotosíntesis y la retraslocación del nitrógeno	26
3.1. Introducción.....	27
3.2. Materiales y métodos	28
3.2.1. Generalidades del ensayo	28
3.2.2. Dinámica foliar.....	32
3.2.3. Intercepción de la luz	33
3.2.4. Clorofila y fotosíntesis	34
3.2.5. Nitrógeno.....	35
3.3. Resultados	35
3.3.1. Evolución del ataque de roya	35
3.3.2. Dinámica foliar.....	36
3.3.2.1. Número de hojas.....	36
3.3.2.2. Área foliar.....	44
3.3.3. Intercepción de la luz	53
3.3.4. Clorofila y fotosíntesis	58

3.3.5. Nitrógeno.....	61
3.4. <i>Discusión</i>	63
3.4.1. Dinámica foliar.....	63
3.4.2. Intercepción lumínica.....	67
3.4.3. Fotosíntesis.....	68
3.4.4. Impacto de la roya sobre el reciclado de nitrógeno.....	70
3.5. <i>Conclusiones</i>	70
Capítulo 4 : Efecto de la roya sobre el crecimiento y la calidad de la madera.	72
4.1. <i>Introducción</i>	73
4.2. <i>Materiales y métodos</i>	74
4.3. <i>Resultados</i>	76
4.3.1. Efecto de la roya sobre el crecimiento anual de las guías.....	76
4.3.2. Efecto de la roya sobre la biomasa de raíces.....	80
4.3.3. Efecto de la roya sobre el crecimiento del rebrote de las guías	82
4.3.4. Efecto de la roya sobre la densidad de la madera	84
4.4. <i>Discusión</i>	85
4.5. <i>Conclusiones</i>	89
Capítulo 5 : Conclusiones generales.	91
Capítulo 6 : Bibliografía	101

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1.1 Vista aérea del humedal del Delta del Paraná (denotada por el color verde más oscuro).....	3
Fig. 2.1 Esporas producidas durante el ciclo de la roya. Las uredosporas, teleutosporas y basidiosporas se desarrollan en las hojas del álamo. Éstas últimas geminan en el hospedante alternativo (<i>Larix</i> , <i>Psuga</i> , <i>Pinus</i> , etc.) y producen las picniosporas que generan a su vez las ecidiosporas que infectan al álamo y reinician el ciclo.....	12
Fig. 2.2 Esporas equinuladas de <i>Melampsora medusae</i> con una región lisa en la zona ecuatorial.....	18
Fig. 2.3 Izquierda) Esporas equinuladas de <i>Melampsora larici-populina</i> con una región lisa en la zona apical. Derecha) Esporas totalmente equinuladas del complejo <i>M. populnea</i>	19
Fig. 2.4 Número promedio de pústulas por centímetro cuadrado de la hoja más atacada sin síntomas de necrosis de 10 plantas de los clones <i>P. deltoides</i> “151-68” y “Stoneville 71” a lo largo del ciclo estival.....	20
Fig. 2.5 Hoja de álamo no tratada con numerosas pústulas de roya en la cara abaxial al frente y tratada con funguicidas (sin síntomas de la enfermedad) atrás	21
Fig. 2.6 Extremo apical de una guía de “Stoneville 71” en donde se destaca la presencia de hojas coriáceas con bordes ondulados y reducción de tamaño, compatibles con síntomas de toxicidad, observadas en los tratamientos de pulverización realizados con cyproconazole utilizando una dosis de 22.0 g pa /hl.....	22
Fig. 3.1 Vista parcial de la E.E.A. Delta del Paraná-INTA indicando el lugar de instalación del ensayo	29
Fig. 3.2 Vista del perfil del suelo en donde se estableció el ensayo de 0-1 m de profundidad con las correspondientes capas (C) diferenciadas según color y textura....	30
Fig. 3.3 Vista general de la tarea de pulverización	32
Fig. 3.4 Distribución del ataque de roya por clon durante tres temporadas consecutivas	36
Fig. 3.5 Número total de hojas generadas por planta al final del primer y segundo ciclo de crecimiento para los clones ‘Australiano 129/60’, ‘Stoneville 109’ e ‘I 72/51’ considerando en conjunto plantas sanas y enfermas. Para cada año diferentes letras indican diferencias significativas (P=0,05, Tukey).....	37
Fig. 3.6 Número total de hojas producidas por planta para el clon ‘Australiano 106/60’ durante el tercer ciclo de crecimiento. Diferentes letras indican diferencias significativas (P=0,05, Tukey)	37

Fig. 3.7 Número total de hojas caídas por planta en parcelas pulverizadas (sin roya) y no pulverizadas (con roya) durante el primer ciclo de crecimiento. Diferentes letras indican diferencias significativas (P=0,05, Tukey)	38
Fig. 3.8 Porcentaje de hojas caídas por planta hasta mediados de marzo en parcelas pulverizadas y no pulverizadas de los clones ‘Australiano 106/60’, ‘Stoneville 109’ e ‘I 72/51’ durante el primer ciclo de crecimiento. Diferentes letras indican diferencias significativas (P=0,05, Tukey)	38
Fig. 3.9 Número de hojas caídas por planta en parcelas del clon ‘I 72/51’ pulverizadas, no pulverizadas-pulverizadas y no pulverizadas durante el segundo ciclo de crecimiento	39
Fig. 3.10 Número de hojas caídas por planta en parcelas del clon ‘I 72/51’ pulverizadas, no pulverizadas-pulverizadas-no pulverizadas y no pulverizadas durante el tercer ciclo de crecimiento	40
Fig. 3.11 Número de hojas presentes por planta en parcelas del clon ‘Australiano 106/60’ pulverizadas, no pulverizadas-pulverizadas y no pulverizadas durante el segundo año de ensayo	41
Fig. 3.12 Número de hojas presentes por planta en parcelas del clon ‘Australiano 106/60’ pulverizadas, no pulverizadas-pulverizadas-no pulverizadas y no pulverizadas durante el tercer año de ensayo	41
Fig. 3.13 Número de hojas presentes por planta en parcelas del clon ‘I 72/51’ pulverizadas, no pulverizadas-pulverizadas y no pulverizadas durante el segundo ciclo de crecimiento	43
Fig. 3.14 Hojas presentes por planta en parcelas del clon ‘I 72/51’ pulverizadas, no pulverizadas-pulverizadas-no pulverizadas y no pulverizadas durante el tercer ciclo de crecimiento	43
Fig. 3.15 Área foliar perdida (cm ²) por planta en parcelas del clon ‘I 72/51’ pulverizadas, no pulverizadas-pulverizadas y no pulverizadas durante el segundo ciclo de crecimiento	47
Fig. 3.16 Área foliar perdida (cm ²) por planta en parcelas del clon ‘I 72/51’ pulverizadas, no pulverizadas-pulverizadas-no pulverizadas y no pulverizadas durante el tercer ciclo de crecimiento	47
Fig. 3.17 Área foliar perdida (cm ²) por planta en parcelas del clon ‘Stoneville 109’ pulverizadas, no pulverizadas-pulverizadas y no pulverizadas durante el segundo ciclo de crecimiento	48
Fig. 3.18 Área foliar perdida (cm ²) por planta en parcelas del clon ‘Stoneville 109’ pulverizadas, no pulverizadas-pulverizadas-no pulverizadas y no pulverizadas durante el tercer ciclo de crecimiento	49

Fig. 3.19 Área foliar por planta (cm ²) en parcelas del clon ‘Australiano 106/60’ pulverizadas, no pulverizadas-pulverizadas y no pulverizadas durante la segunda estación de crecimiento	49
Fig. 3.20 Área foliar por planta (cm ²) en parcelas del clon ‘Australiano 106/60’ pulverizadas, no pulverizadas-pulverizadas-no pulverizadas y no pulverizadas durante el tercer ciclo de crecimiento	50
Fig. 3.21 Área foliar por planta (cm ²) en parcelas del clon ‘I 72/51’ pulverizadas, no pulverizadas-pulverizadas y no pulverizadas durante el segundo ciclo de crecimiento	51
Fig. 3.22 Área foliar (cm ²) por planta en parcelas del clon ‘I 72/51’ pulverizadas, no pulverizadas-pulverizadas-no pulverizadas y no pulverizadas durante el tercer ciclo de crecimiento.....	52
Fig. 3.23 Área foliar por planta (cm ²) en parcelas del clon “Stoneville 109” pulverizadas, no pulverizadas-pulverizadas y no pulverizadas durante el segundo ciclo de crecimiento	53
Fig. 3.24 Área foliar por planta (cm ²) en parcelas del clon “Stoneville 109” pulverizadas, no pulverizadas-pulverizadas-no pulverizadas y no pulverizadas durante el tercer ciclo de crecimiento	53
Fig. 3.25 Luz incidente a distintas alturas (m) dentro del canopeo en función de la luz incidente sobre el cultivo en parcelas pulverizadas y no pulverizadas de los clones ‘I 72/51’ y ‘Australiano106/60’	54
Fig. 3.26 Plantas del clon ‘I 72/51’ correspondientes a parcelas pulverizadas que conservan gran parte del follaje (izquierda) y no pulverizadas con marcados signos de defoliación (derecha).....	56
Fig. 3.27 Plantas del clon ‘Australiano 106/60’ correspondientes a parcelas pulverizadas que conservan buena parte del follaje (derecha) y no pulverizadas con mayores niveles de defoliación (izquierda.)	56
Fig. 3.28 Fracción de luz incidente transmitida en función del área foliar acumulada para plantas sanas de los clones ‘Australiano 106/60’ e ‘I 72/51’	57
Fig. 3.29 Fracción de luz incidente transmitida en función del área foliar acumulada para parcelas pulverizadas (sanas) y no pulverizadas (enfermas) del clon ‘I 72/51’	58
Fig. 3.30 Fracción de luz incidente transmitida en función del área foliar acumulada para parcelas pulverizadas (sanas) y no pulverizadas (enfermas) del clon ‘Australiano 106/60’	58
Fig. 3.31 Concentración de clorofila en unidades de SPAD para hojas sanas y enfermas de los clones ‘I 72/51’ y ‘Australiano106/60’ en la segunda estación de crecimiento. Diferentes letras indican diferencias significativas (P=0,05, Duncan)	59
Fig. 3.32 Concentración de clorofila en unidades de SPAD para hojas sanas pertenecientes a plantas de los clones ‘I 72/51’ y ‘Australiano106/60’ que se	

mantuvieron sanas o enfermas durante los 3 ciclos de crecimiento anteriores a la presente evaluación. Diferentes letras indican diferencias significativas (P=0,05, Duncan).....	60
Fig. 3.33 Plantas sanas del clon ‘I 72/51’ que se mantuvieron sanas durante los 3 ciclos de crecimiento anteriores a la evaluación (izquierda) con hojas de color verde oscuro y plantas sanas que habían estado enfermas previamente (derecha) con hojas de color verde claro.....	60
Fig. 3.34 Fotosíntesis neta a saturación lumínica Asat ($\mu\text{moles de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) en hojas sanas y enfermas de los clones ‘Australiano106/60’ e ‘I 72/51’. Diferentes letras indican diferencias significativas (P=0,05, Tukey)	61
Fig. 3.35 Transporte fotosintético de electrones (ETR, $\mu\text{moles de electrones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) en hojas sanas y enfermas de los clones ‘Australiano106/60’ e ‘I 72/51’. Diferentes letras indican diferencias significativas (P=0,05, Tukey).....	61
Fig. 4.1 Esquema de manejo del ensayo para la evaluación del rebrote. Las guías desarrolladas durante la temporada estival (los dos paneles de la izquierda) se cortan durante la temporada de reposo (los dos paneles del centro) y rebrota a partir de las cepas en la primavera siguiente (los dos paneles de la derecha). En cada par de paneles, izquierda: plantas pulverizadas, derecha: plantas no pulverizadas.....	74
Fig. 4.2 Guías producidas por parcelas pulverizadas (izquierda) y no pulverizadas (derecha) del clon ‘I 72/51’ durante el tercer ciclo de crecimiento	80
Fig. 4.3 Detalle del sistema radical de plantas descalzadas de ‘I-72/51’. Izquierda: plantas enfermas. Derecha: plantas sanas.	81
Fig. 4.4 Distribución de raíces por clases diamétricas en plantas pulverizadas y no pulverizadas de ‘Australiano 106/60’	81
Fig. 4.5 Distribución de raíces por clases diamétricas en plantas pulverizadas y no pulverizadas de ‘I 72/5’	82
Fig. 4.6 a) Número de hojas, b) peso seco de las hojas, c) peso seco de los pecíolos, d) peso seco de las láminas foliares y e) peso seco de las guías y las ramas desarrolladas hasta el mes de diciembre del segundo año de ensayo (antes de un nuevo ciclo de la enfermedad) por las plantas sanas del clon ‘Australiano 106’, “Stoneville 109” e ‘I 72/51’ que provienen de cepas que se mantuvieron sanas o enfermas durante el verano del primer año del ensayo. Diferentes letras indican diferencias significativas entre las media clonales para cada una de las variables analizadas (P=0,05, Tukey)	83
Fig. 4.7 a) Número de hojas, b) peso seco de las hojas, c) peso seco de los pecíolos, d) peso seco de las láminas foliares y e) peso seco de las guías y las ramas desarrolladas hasta el mes de diciembre del segundo año de ensayo (antes de un nuevo ciclo de la enfermedad) por las cepas de plantas que se mantuvieron sanas o enfermas durante el primer año del ensayo. Diferentes letras indican diferencias significativas entre las medias del tratamiento de pulverización para cada una de las variables analizadas (P=0,05, Tukey)	84

Fig. 4.8 Densidad de la madera en muestras de madera del clon 'I 72/51' tomadas a altura de pecho en guías de dos años de plantas pulverizadas y no pulverizadas 85

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1 Principios activos, nombre comercial de los productos en el mercado local y dosis recomendadas por el fabricante para el control de la roya que fueron utilizadas en el ensayo realizado en los clones <i>P. deltoides</i> ‘Catfish 2’, ‘151-68’ y ‘Stoneville 71’.	17
Tabla 2.2 Esquema de tratamientos del ensayo de esquemas de pulverización realizado con tebuconazole sobre el clon <i>P. deltoides</i> ‘Stoneville 71’ (P: pulverizado, NP: no pulverizado).....	17
Tabla 2.3 Dimensiones de los tipos de esporas encontradas en Delta del Paraná y ciudades cercanas	19
Tabla 2.4 Número promedio de pústulas por hoja contabilizadas a los 18 días de inicio del ensayo en parcelas tratadas con funguicida y en el control sin tratar	21
Tabla 2.5 Número promedio de pústulas en la hoja más atacada sin síntomas de necrosis y presencia de síntomas de toxicidad en las hojas en desarrollo al momento de la aplicación evaluados a las 3 semanas del tratamiento de dosis de cyproconazole	22
Tabla 3.1 Características químicas y físicas del perfil de suelo donde se ubicó el ensayo (0-1 m).....	29
Tabla 3.2 Funciones de ajuste para la estimación del área foliar. L: largo de la lámina, A: ancho máximo, CME: Cuadrado Medio del Error, R ² : Coeficiente de determinación expresado en porcentaje.	33
Tabla 3.3 Número de hojas caídas por planta en parcelas de ‘I 72/51’ con distintos tratamientos de pulverización para las fechas que presentaron diferencias significativas durante el segundo y el tercer ciclo de crecimiento. Diferentes letras indican diferencias significativas (P=0,05, Tukey)	39
Tabla 3.4 Número de hojas caídas por planta en parcelas de ‘Stoneville 109’ con distintos tratamientos de pulverización para las fechas que presentaron diferencias significativas durante el tercer ciclo de crecimiento. Diferentes letras indican diferencias significativas (P=0,05, Tukey)	40
Tabla 3.5 Número de hojas presentes por planta en parcelas del clon ‘I72/51’ con distintos tratamientos de pulverización para las fechas que presentaron diferencias significativas durante el segundo y tercer ciclo de crecimiento. Diferentes letras indican diferencias significativas (P=0,05, Tukey)	42
Tabla 3.6 Número de hojas presentes por planta en parcelas de ‘Stoneville 109’ con distintos tratamientos de pulverización para las fechas que presentaron diferencias durante el tercer ciclo de crecimiento. Diferentes letras indican diferencias significativas (P=0,05, Tukey)	44
Tabla 3.7 Área foliar desarrollada por planta para los clones ‘Australiano 106/60’. ‘I 72/51’ y ‘Stoneville 109’ con distintos tratamientos de pulverización para el primer	

ciclo de crecimiento. Diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos de un mismo clon (P=0,05, Tukey).	44
Tabla 3.8 Ancho máximo y largo de las láminas foliares de las plantas de los clones ‘I 72/51’ y ‘Stoneville 109’ con distintos tratamientos de pulverización para el primer ciclo de crecimiento. Diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos de un mismo clon (P=0,05, Tukey).	45
Tabla 3.9 Área foliar generada por planta para los clones ‘I 72/51’ y ‘Australiano 106/60’ con distintos tratamientos de pulverización para el segundo y tercer año del ensayo respectivamente. Diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos de un mismo clon (P=0,05, Tukey)	45
Tabla 3.10 Área foliar perdida (cm ²) por planta en parcelas del clon ‘I 72/51’ con distintos tratamientos de pulverización para las fechas que presentaron diferencias durante el segundo y tercer ciclo de crecimiento. Diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos para cada fecha (P=0,05, Tukey)	46
Tabla 3.11 Área foliar perdida por planta en parcelas de ‘Stoneville 109’ con distintos tratamientos de pulverización para las fechas que presentaron diferencias significativas durante el segundo y tercer ciclo de crecimiento. Diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos para cada fecha (P=0,05, Tukey)	48
Tabla 3.12 Área foliar por planta en parcelas de ‘I72/51’ con distintos tratamientos de pulverización para el segundo y tercer año del ensayo que presentaron diferencias durante la temporada de crecimiento. Diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos para cada fecha (P=0,05, Tukey)	51
Tabla 3.13 Área foliar por planta (cm ²) en parcelas de ‘Stoneville 109’ con distintos tratamientos de pulverización para el tercer año del ensayo que presentaron diferencias durante la temporada de crecimiento. Diferentes letras indican diferencias significativas (P=0,05, Tukey)	52
Tabla 3.14 Funciones de ajuste de la fracción de luz incidente en función del área foliar (AF). CME: Cuadrado Medio del Error, R ² : Coeficiente de determinación expresado en porcentaje	57
Tabla 3.15 Determinación de la concentración de clorofila con SPAD 502 y espectrofotometría. Diferentes letras indican diferencias significativas (P=0,05, Tukey)	59
Tabla 3.16 Fotosíntesis neta a saturación de luz (Asat), respiración (R) y fotosíntesis bruta (Agross) en hojas del clon ‘I 72/51’ con y sin ataque de roya. Diferentes letras indican diferencias significativas (P=0,05, Tukey)	61
Tabla 3.17 Porcentaje de nitrógeno total en cepas y raíces de plantas sanas y enfermas de ‘I 72/51’ y de ‘Australiano 106/60’. Diferentes letras indican diferencias significativas para las medias de los clones y de los tratamientos para cepas y para raíces (P=0,05, Tukey)	62

Tabla 3.18 Porcentaje de nitrógeno total en hojas sanas y enfermas de los clones ‘Australiano 106/60’ e ‘I 72/51’. Diferentes letras indican diferencias significativas para las medias correspondientes a los clones y los tratamientos (P=0,05, Tukey).....	62
Tabla 3.19 Porcentaje de nitrógeno total en hojas senescentes sanas y en hojas senescentes que habían sido atacadas por roya de los clones ‘Australiano 106/60’ e ‘I 72/51’. Diferentes letras indican diferencias significativas para las medias correspondientes a los clones y a los tratamientos (P=0,05, Tukey)	62
Tabla 4.1 Peso seco (kg) de las guías producidas por cepa de los clones ‘Australiano 106/60’, ‘I 72/51’ y “Stoneville 109” que recibieron distintos tratamientos de pulverización. Las evaluaciones se realizaron al final del primer y segundo ciclo de crecimiento. Para cada combinación de clon y ciclo de crecimiento diferentes letras indican diferencias significativas (P=0,05, Tukey).....	77
Tabla 4.2 Peso seco (kg) de las guías producidas por cepa de los clones ‘Australiano 106/60’, ‘I 72/51’ y “Stoneville 109” al final del tercer ciclo de crecimiento. Diferentes letras indican diferencias significativas (P=0,05, Tukey)	77
Tabla 4.3 Peso seco (kg) de las guías producidas por cepa al final del tercer ciclo de crecimiento para los distintos tratamientos de pulverización. Diferentes letras indican diferencias significativas (P=0,05, Tukey)	77
Tabla 4.4 Metros lineales de guía con destino comercial obtenidos por planta de los clones ‘Australiano 106/60’, ‘I 72/51’ y “Stoneville 109” en cada uno de los años del ensayo. Para cada clon diferentes letras indican diferencias significativas (P=0,05, Tukey)	78
Tabla 4.5 Metros lineales de guía con destino comercial obtenidos por planta y por año en de parcelas pulverizadas y no pulverizadas de los clones ‘Australiano 106/60’, ‘I 72/51’ y “Stoneville 109”. Para cada clon diferentes letras indican diferencias significativas (P=0,05, Tukey)	78
Tabla 4.6 Cantidad de materia seca (PS) y metros lineales (ML) de guías con destino comercial producidos por cada uno de los clones ensayados a través de los tres años del ensayo.....	78
Tabla 4.7 Metros lineales por kilo de materia seca producido a través de los años por los clones ‘Australiano 106/60’, ‘I 72/51’ y “Stoneville 109”. Diferentes letras indican diferencias significativas (P=0,05, Tukey)	79
Tabla 4.8 Peso seco de las ramas por planta de los clones ‘Australiano 106/60’, ‘I 72/51’ y “Stoneville 109”. Diferentes letras indican diferencias significativas (P=0,05, Tukey)	79
Tabla 4.9 Cantidad de materia seca (PS) y los metros lineales (ML) producidos en parcelas pulverizadas y no pulverizadas de los clones ‘Australiano 106/60’ e ‘I72/51’ a través de los tres años del ensayo.....	79

Tabla 4.10 Peso seco (g) de raíces al final del ensayo en parcelas pulverizadas y no pulverizadas de los clones ‘Australiano 106/60’ e ‘I 72/51’. Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias de tratamientos y de clones (P=0,05, Tukey)....	80
Tabla 4.11 Número y diámetro de las raíces en plantas sanas e infectadas por roya para los clones ‘Australiano 106/60’ e ‘I 72/51’. Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias del número y entre medias del diámetro de raíces para cada uno de los clones (P=0,05, Tukey).....	81
Tabla 4.12 Densidad básica de la madera (kg/m ³) de rodajas extraídas a distintas alturas en guías de año de plantas provenientes de parcelas pulverizadas y no pulverizadas durante dos años consecutivos	85

ABREVIATURAS

CE	Conductividad eléctrica
CIC	Capacidad de intercambio catiónico
CME	Cuadrado medio del error
ha	Hectáreas
LPI	Leaf Plastochron Index
<i>Marsh</i>	Marshall, Humphry
<i>M.</i>	<i>Melampsora</i>
<i>ML</i>	Metros lineales
MO	Materia orgánica
NP	No pulverizado
N total	Nitrógeno total
<i>P.</i>	<i>Populus</i>
P	Pulverizado
P total	Fósforo total
R ²	Coefficiente de determinación
<i>USDA</i>	Departamento de agricultura de los Estados Unidos (United States Department of Agriculture).

RESUMEN

El cultivo de álamos en el Delta del Paraná, la tercera cuenca de importancia forestal de Argentina, es una actividad económica relevante que provee materia prima para las industrias del aserrado, debobinado, tableros de partículas y pulpa para papel.

La producción de madera de álamo está amenazada por enfermedades, cuyo desarrollo se encuentra favorecido por las condiciones ambientales y la estrecha base genética de sus plantaciones comerciales. Entre ellas la roya es considerada la de mayor importancia y en varias oportunidades obligó al reemplazo total de los clones en cultivo.

El objetivo de esta tesis fue evaluar el efecto de la roya sobre el crecimiento del año y del rebrote de la siguiente temporada utilizando como modelo tres clones de *Populus deltoides* con distinta arquitectura del canopy y nivel de tolerancia. Se evaluó además el efecto sobre la densidad básica de la madera dada su importancia en la determinación de la calidad.

A fin de conocer las bases fisiológicas del daño causado por la roya se estudiaron los cambios en la dinámica foliar, la intercepción de la luz, la fotosíntesis el contenido de clorofila y el reciclado del nitrógeno.

Los resultados obtenidos indican que la reducción del crecimiento y la calidad de la madera atribuible a la enfermedad se deben a una disminución de la capacidad fotosintética y consecuentemente de la capacidad de fijar y translocar carbono, tanto para continuar el crecimiento del año como para acumular reservas en la parte aérea y radical. La reducción del sistema radical limita la capacidad de explorar el suelo y adquirir agua y nutrientes durante esa temporada de crecimiento. Esto, sumado a una retranslocación incompleta de nitrógeno debido a que las hojas enfermas caen con mayor cantidad de nitrógeno, reduce las reservas de carbono y de nitrógeno para iniciar el crecimiento y la capacidad de adquirir recursos desde el suelo al inicio de la temporada siguiente.

Palabras claves: *Melampsora medusae*, *Populus deltoides*, roya, álamo, dinámica foliar, fotosíntesis, nitrógeno, crecimiento, rebrote, densidad de madera.

ABSTRACT

Poplar culture in the Paraná Delta, the third most important forestry basin in Argentina, is a significant economic activity that provides raw material for sawmilling, unwinding, plywood, particleboard and paper pulp. The poplar wood production is threatened by diseases whose development is favored by environmental conditions and the narrow genetic base of commercial plantations. Rust is considered the most important disease that has repeatedly forced the complete replacement of previously cultivated clones.

The goal of this thesis was to evaluate the effect of rust on yearly growth and re-growth of the following season by using three clones of *Populus deltoides* with different canopy architecture and disease tolerance. To determine the physiological basis of damage by rust, change in leaf dynamics, interception of light, photosynthesis, chlorophyll content and nitrogen recycling were studied. In addition to the impact of rust on poplar growth, the effect of rust on basic wood density, a wood quality indicator, was also evaluated.

Growth and quality reduction by rust were due to a decrease in photosynthesis, therefore in carbon fixation and in the contents of C compounds to be translocated from leaves to other plant organs. This fact affected the accumulation of reserves in both shoots as well as in roots. Poorly developed root systems limited water and nutrient absorption during the growing season. Additionally, there was incomplete nitrogen re-translocation due to leaves falling while still containing high levels of nitrogen. Consequently, there was less carbon and less nitrogen for the initiation of growth at the start of the following season.

Keywords: *Melampsora medusae*, *Populus deltoides*, rust, poplar, leaf dynamics, growth, photosynthesis, nitrogen, sprouting, wood density.

CAPÍTULO 1 : INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1 Antecedentes y problemática

1.1.1. El álamo y su cultivo

El género *Populus* L. posee entre 30 y 40 especies, en su mayoría colonizadoras de áreas disturbadas de humedales, riberas, orillas de los lagos y tierras altas. Se las puede encontrar en bosques nativos en el hemisferio norte entre los 30 y los 72° de latitud y en plantaciones en latitudes templadas de ambos hemisferios, ya sea en macizos, cortinas, pequeños grupos de árboles aislados, o en sistemas agroforestales según cuál sea el objetivo (Dickmann 2006, Pincemin et al. 2007).

Desde tiempos remotos, los álamos han sido de utilidad para la humanidad gracias a su rápido crecimiento juvenil, facilidad de propagación vegetativa, buena capacidad de rebrote, adaptabilidad a diferentes sitios, alta plasticidad en respuesta a los cambios ambientales y variados usos de la madera (aserrado, debobinado, celulosa, fibras y/o partículas para la producción de tableros y biomasa con fines energéticos) (Zsuffa et al. 1996, Balatinecz et al. 2001, Dickmann 2001, Dillen et al. 2010). También juegan un rol de importancia en la mejora y conservación del ambiente, especialmente en la protección de las cuencas y cultivos, en la remediación de aguas y suelos contaminados, y en el balance de dióxido de carbono (Wang et al. 1999, Schultz et al. 2000, Isebrand y Karnosky 2001, Pilipovic et al. 2006).

Su cultivo posee una larga historia, de hecho el vocablo *Populus* deriva de la denominación latina “*arbor populi*” (árbol del pueblo), debido a que durante el impero romano eran considerados como un indicador de un buen sitio para construir casas, siendo además ampliamente utilizados (Clute 1943). También se los menciona como soporte viviente en los viñedos en uno de los libros publicados por el naturalista romano Plinio el Viejo entre los años 77–79 (Newsome 1964). En China existen antiguos registros de la utilización de los álamos, entre ellos el libro de Hui Zi, con 2400 años de antigüedad, que describe técnicas para su plantación, y el libro de Jin Shu, de 1500 años de antigüedad, donde se menciona su utilización para dar sombra en las calles de las ciudades (Dickmann y Kuzovkina 2008). En la actualidad, *Populus nigra* cv. 'Italica', seleccionado en el siglo XVII en la región de Lombardía, es el árbol ornamental más plantado en el mundo (Li 1996). En Argentina, su cultivo se inicia con la introducción del álamo “Carolino” (*P. deltoides* subesp. *angulata* cv. ‘Carolinensis’) por inmigrantes franceses a fines del siglo XIX (Borodowski y Suarez 2004).

A nivel mundial, los álamos se encuentran en alrededor de 70 millones de hectáreas de bosques nativos, 6,7 millones de hectáreas de plantaciones y 2,3 millones de hectáreas bajo sistemas agroforestales o como árboles fuera del bosque (Ball et al. 2005). En Argentina se cultivan 40.500 ha en macizos y 23.500 ha bajo sistemas agroforestales, ocupando así el décimo y el tercer lugar de importancia a nivel mundial respectivamente (Cortizo 2011), siendo el Delta del Río Paraná, Cuyo, Patagonia y las zonas de secano de la Provincia de Buenos Aires las principales áreas productivas. Cada una de estas

regiones posee particularidades que definen las especies utilizadas, las características de las plantaciones y la problemática del cultivo.

1.1.2. *El Delta del Paraná*

El Delta del Río Paraná, en donde se desarrolló esta tesis, es una compleja planicie inundable de 17.500 km² (Bonfils 1962), ubicada entre la ciudad de Diamante (Entre Ríos) y las cercanías de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires (Kandus 1997). Este extenso mosaico de humedales (Malvárez 1997), con características biogeográficas y ecológicas únicas (Quintana y Bó 2010), pertenece a la Cuenca del Paraná, la segunda en importancia en Sudamérica (Boneto 1986) (Figura 1.1).



Fig. 1.1 Vista aérea del humedal del Delta del Paraná (denotada por el color verde más oscuro)

Según Bonfils (1962) puede dividirse en cuatro zonas: Delta antiguo, Predelta, Bajíos Ribereños y Bajo Delta. Este último se encuentra por debajo de la línea imaginaria que une a las localidades de Baradero (Provincia de Buenos Aires) e Ibicuy (Provincia de Entre Ríos) y es equivalente al Delta inferior en la clasificación de Burkart de 1957 (Malvárez 1995). Incluye zonas geomorfas antiguas de origen marino junto a áreas más recientes de sedimentación de origen fluvial (Quintana y Bó 2010). La característica más distintiva de su fisonomía es la presencia de áreas deltaicas propiamente dichas que forman numerosas islas con albardones elevados bordeando extensas zonas deprimidas dominadas por ambientes pantanosos, conocidas como bañados (Malvárez 1997). Los albardones ocupan alrededor de un 20 % de la superficie y los bañados, fácilmente anegables, el 80 % restante (Boneto y Hurtado 1999). Los suelos son aluviales, dado que fueron constituidos por la deposición de capas sedimentarias, producto de las

ingresiones y regresiones marinas y de los repuntes y crecientes principalmente de los ríos Paraná y Uruguay (Bonfils 1962). Constituyen suelos jóvenes con escaso grado de desarrollo pedogenético, lo que puede verificarse en la estructura masiva y en la presencia de rasgos hidromórficos, producto de la saturación permanente con agua, que genera condiciones reductoras y déficit de oxígeno libre.

El clima es Templado Húmedo sin estación seca, con una precipitación media anual de 1020,9 mm distribuida en aproximadamente 83 días. La temperatura media del mes más cálido (enero) es de 22,6 °C y la del mes más frío (julio) es de 10,5 °C. Los vientos son en general suaves, con una media anual de 4,0 km/h. Debido a su proximidad al estuario del Plata y a la gran cantidad de ríos y arroyos que posee, la humedad relativa es elevada, con valores medios máximos y medios mínimos de 81 % en invierno y 69 % en verano.

La región se encuentra influenciada por inundaciones que se producen por la acción simple o combinada de los siguientes factores: mareas comunes con mayor influencia sobre el estuario del Plata, crecidas de los ríos Paraná y/o Uruguay, debidas a precipitaciones en sus respectivas cuencas, y sudestadas que frenan la salida del agua produciendo desbordes que inundan principalmente las zonas más bajas (Latinoconsult 1972, Mujica 1979, Silva Busso et al. 2004). También se producen inundaciones extraordinarias, siendo las más importantes las correspondientes a los años 1905, 1914, 1922, 1940, 1958, 1959, 1966, 1973, 1977, 1982-84 y 1989, entre las cuales se destacan las de 1959 y 1989 por su altura (4,15 m y 4,05 m respectivamente) y la de 1982-84 por su duración (16 meses) (Prat et al. 1998, Silva Busso et al. 2004).

La actividad productiva en el Delta inferior o Bajo Delta se inicia hacia fines del siglo XVIII con la instalación de colonias europeas de distintos orígenes (Borodowski y Suarez 2005) que fueron reemplazando la vegetación natural por forestaciones de álamos y sauces; plantaciones de frutales; cultivos de mimbre y formio, ganadería, apicultura y emprendimientos turísticos y/o urbanísticos (Kandus 1997, Boneto y Hurtado 1999, Borodowski y Suarez 2004, Fracassi 2005, Quintana y Bó 2010). La fruticultura fue la principal actividad productiva hasta la gran inundación de 1959, la cual fue seguida por grandes heladas durante la década de 1960 que terminaron de diezmar las plantaciones de frutales sobrevivientes a la inundación. A partir de este momento, y favorecida por los cambios producidos en la política económica y por la instalación de una industria papelera, la forestación con álamos y sauces se convirtió en la principal actividad productiva (Kandus et al. 2006). La forestación alcanzó su máximo desarrollo hacia fines de la década del 70, con una superficie de 110.000 ha, pero las pérdidas ocasionadas por la inundación de 1982-84, las fluctuaciones del precio de la madera y el incremento del costo de los fletes desalentaron principalmente a los pequeños productores, con lo cual la superficie cultivada se redujo a las 58.000 ha que se encuentran en la actualidad (Borodowski y Suarez 2005). De esta superficie y, en concordancia con la tipología del terreno, 14.000 ha corresponden a álamo y el resto a sauce (Quintana y Bó 2010). Hacia el Delta frontal los establecimientos forestales son pequeños y poseen una incipiente sistematización formada por zanjás y canales que mejoran el drenaje de los excedentes de agua producidos principalmente por las

sudestadas, aunque han comenzado a observarse algunos endicamientos colectivos que protegen a las áreas forestales de la entrada de agua producida por las mareas y sudestadas (Kandus et al. 2006). Aguas arriba las forestaciones son de mayor tamaño y están normalmente protegidas por grandes endicamientos de los desbordes ocasionados por las crecidas de los grandes ríos, principalmente del Paraná (Quintana y Bó 2010). En la actualidad, las áreas protegidas por endicamientos de distinta magnitud y atajarepunes abarcan un 11,6 % de la región (Kandus y Minotti 2010) y en ellas el álamo es el género forestal por excelencia.

En la zona de influencia del Delta existen alrededor de 44 aserraderos, 4 plantas debobinadoras, 1 de tableros de partículas y 1 de papel para diarios, que consumen alrededor de 750.000 tn anuales de madera de Salicáceas de las cuales el 31 % corresponde a álamo (Brandán et al. 2009), siendo este género el preferido para los destinos de mayor valor económico.

1.1.3. Principales enfermedades del cultivo del álamo en el Delta

La producción de madera de álamo está amenazada por enfermedades, principalmente de origen fúngico, cuyo desarrollo se encuentra favorecido por las condiciones ambientales y el monocultivo clonal. Se han reportado tres grandes epifitias de roya. 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 (Fresa 1936, Fernandez Valiela 1979). La crisis ocasionada por la pérdida del álamo criollo se resolvió con la introducción de *P. xcanadensis* ‘I-154’ que en principio presentó una excelente adaptación y crecimiento pero que luego resultó ser susceptible a la cancrrosis producida por *Septoria musiva* (Peck.). Este patógeno, endémico del este de los Estados Unidos, produce manchas en las hojas que normalmente no traen mayores consecuencias, salvo en ataques muy graves que pueden producir defoliación. El síntoma más perjudicial, descrito por Bier (1939), es la formación de cancrros en las ramas y en el fuste principal, que restringen el movimiento del agua y los nutrientes debilitando los troncos y conduciendo a quebraduras con la consecuente pérdida de rendimiento. En ataques graves puede producir la muerte del árbol. Este clon fue reemplazado por otros híbridos de *P. xcanadensis* que tarde o temprano manifestaron también síntomas de esta enfermedad. Esta nueva crisis fue resuelta con la introducción de nuevos clones de *P. deltoides* que si bien presentan síntomas leves en hojas no desarrollan síntomas en el fuste (Newcombe y Ostry 2001, Feau et al. 2010).

Los clones introducidos resultaron también resistentes a roya, la cual se manifestaba al final del período vegetativo cuando el crecimiento ya no es significativo y de manera muy benigna (Ragonese y Rial Alberti 1973/74, Blanco 1977, Fernandez Valiela, 1979). Sin embargo, a partir de 1994 los ataques comenzaron a anticiparse y volverse cada vez más intensos, obligando al abandono del clon *P. deltoides* ‘Catfish 2’ que ocupaba el 90 % del área cultivada de la región (Petray 1998, Cortizo 2005). Aunque esta modificación en la expresión de la enfermedad indicaba un cambio en la población del

patógeno, no se disponía de reportes sobre determinaciones fitopatológicas tendientes a determinar con certeza cuál fue el agente causal de esta epfitia al inicio de las investigaciones presentadas en esta tesis.

La roya del álamo es considerada la enfermedad más importante de *P. deltoides* y otros álamos alrededor del mundo (Thielges et al. 1989, Pinon 1992, Chastagner y Newcombe 1993, Tabor et al. 2000, Pei y Shang 2005). Los importantes efectos negativos de las enfermedades han obligado a los mejoradores a establecer como objetivo prioritario de selección la “resistencia a enfermedades” (Thielges 1985, Newcombe et al. 1996, Steenackers et al. 1996, Lefèvre et al. 1998, Pinon y Frey 1999, Riemenschneider et al. 2001, Dowkin y Bastien 2004, Stanton 2009, Cortizo 2011). Inicialmente la resistencia se basó principalmente en genes mayores, raza-específicos, que otorgaban inmunidad (Thielges y Adams 1975, Bradshaw 1996; Cervera et al. 1996, Newcombe 1996, Villar et al. 1996, Lefevre et al. 1998, Riemenschneider et al. 2001), los cuales frecuentemente fueron superados por coevolución del patógeno (Pinon 1992 a, b, Steenackers et al. 1994, Pinon 1995, Newcombe 1996, Steenackers et al. 1996, Pinon y Frey 1997, Pinon y Valadon 1997, Pinon y Frey 2005) en algunos casos aún durante el período de evaluación de los clones. Bajo estas circunstancias el uso de resistencia parcial, gobernada por genes menores de efecto cuantitativo no específico, se manifiesta como una promisoriosa alternativa y es considerada una forma más durable de resistencia (Dowkiw et al. 2003, Pinon y Frey 2005, Ganley et al. 2008). Si bien, la utilización de resistencia genética es el medio más efectivo y amigable con el ambiente para el control de la roya del álamo (Newcombe et al. 2001), resulta necesario disponer de un protocolo de control mediante la aplicación de funguicidas hasta se produzca el total recambio de las plantaciones.

1.1.4. La roya del álamo

Varios trabajos hacen mención a los daños que la roya provoca en estaqueros y plantaciones comerciales, entre los cuales podemos mencionar: defoliaciones 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 y pérdida de la calidad de la madera producida (Thielges y Adams 1975, Ostry et al. 1989, Newcombe 1996, Steenackers et al. 1996, Tabor et al. 2000, Nischwitz and Newcombe 2004, Pinon et al. 2006). Sin embargo, son escasos los trabajos que presentan una evaluación robusta de los daños mencionados (Widin and Schipper 1981, May de Mio et al. 2006).

La infección de las hojas de álamo por parte de uredosporas de *Melampsora spp.* se realiza de manera indirecta, principalmente a través de los estomas. Bajo condiciones controladas dos a tres horas después de la inoculación los tubos germinativos ingresan a los estomas y desarrollan las hifas de infección, que invaden el mesófilo esponjoso (Spiers y Hopcroft 1988, Laurans y Pilate 1999, Pinon et al. 2006). Por lo tanto, es de esperar que el intercambio gaseoso se vea afectado desde el inicio de la infección,

mucho antes de la aparición de pústulas. Dentro del primer día se diferencian los haustorios que penetran las células del hospedante y entre el segundo y el tercer día después de la inoculación la biomasa del hongo se incrementa rápidamente, pudiendo aumentar hasta 30 veces. A los 5 días se observan manchas cloróticas en la zona donde las pústulas atravesarán la cutícula dos días después (Spiers y Hopcroft 1990, Hacquard et al. 2011). Se produce una merma de la tasa fotosintética de las hojas enfermas y, si el grado de infección es elevado, la abscisión de las hojas es inevitable.

La defoliación puede afectar el crecimiento por dos vías distintas: por un lado, la menor área foliar disminuye la intercepción de la luz y por ende la actividad fotosintética de la planta. Por otro lado, como ha sido demostrado en otras especies, el hongo se torna un fuerte destino de nutrientes (Robert et al. 2002) y la abscisión de las hojas se produce con niveles más elevados de nutrientes que son retenidos por la biomasa fúngica (van den Berg et al. 2007), disminuyendo su retranslocación a tejidos en crecimiento o a tejidos de reserva (Silla y Escudero 2003). Una vez que la defoliación se ha producido, la rápida formación de hojas nuevas o la mayor duración de hojas preexistentes pueden compensar la disminución en la fotosíntesis debido a la menor área foliar remanente. La dinámica de estos mecanismos de compensación puede estar relacionada con la arquitectura de la planta, especialmente el tamaño y el ritmo de recambio de las hojas y el grado de ramificación de los clones. La magnitud de esta compensación tendrá efecto directo en el crecimiento. Por lo tanto, los clones que compensen la defoliación más rápidamente serán los menos afectados en la acumulación de biomasa al final de la etapa de crecimiento.

A pesar de la importancia del entendimiento de los efectos de la roya del álamo, se encuentran pocos antecedentes que relacionan el progreso de la enfermedad durante la temporada estival con el nivel de defoliación (Hamelin et al. 1993, May de Mio et al. 2006). Algo similar ocurre con relación al efecto de la roya del álamo sobre la fotosíntesis, que en cambio ha sido estudiado en otras especies vegetales (Livne 1964, Bauer et al. 2000).

El efecto de la enfermedad sobre la dinámica foliar y la fotosíntesis en clones de álamo con distinta arquitectura del canopeo (número y tamaño de hojas, grado de ramificación) y su relación con el crecimiento y la acumulación de reservas no ha sido bien caracterizado.

1.2 Objetivos e hipótesis

El objetivo general de esta tesis es evaluar el efecto de la roya del álamo sobre el crecimiento del año y del rebrote de la siguiente temporada, utilizando como modelo tres clones de *P. deltoides* susceptibles a roya y con distinta arquitectura del canopeo.

Se plantearon los siguientes objetivos específicos:

1. Determinar el agente causal de la roya presente actualmente en la Región del Delta del Paraná afectando a *P. deltoides* y su control mediante funguicidas.
2. Evaluar el efecto de la roya del álamo sobre la dinámica foliar y la actividad del aparato fotosintético y su persistencia temporal.
3. Examinar el efecto de la roya sobre la redistribución de nitrógeno (N) desde las hojas senescentes en plantas infectadas.
4. Cuantificar el efecto de la roya sobre el crecimiento del año, del rebrote de la primavera siguiente y sobre la densidad básica de la madera.

Hipótesis general:

La roya del álamo afecta al área foliar, la actividad fotosintética y el crecimiento de manera diferencial según el genotipo utilizado.

Hipótesis específicas:

1. *Melampsora medusae* es el agente causal de la roya del álamo en la región del Delta del Paraná y puede ser controlado mediante una correcta aplicación de funguicidas sistémicos.
2. La roya afecta la dinámica foliar (disminuye la duración de las hojas y aumenta el número de hojas caídas) de manera diferencial según el genotipo: los clones más ramificados compensan mejor la caída de hojas causada por la roya a través de una mayor tasa de formación de nuevas hojas.
3. La infección por roya reduce la fotosíntesis de las hojas enfermas.
4. Las hojas enfermas caen con mayores niveles de nitrógeno.
5. La roya reduce el crecimiento del año y disminuye el crecimiento del año siguiente (rebrote) debido a una menor acumulación de reservas y menor redistribución de nutrientes desde las hojas senescentes a las cepas afectando de igual modo la densidad básica de la madera.

1.3 Organización de la tesis

La organización de este trabajo incluye el presente capítulo a modo de introducción a la problemática y los antecedentes en el tema, y la presentación de la estructura de la tesis. En el Capítulo 2, “Determinación del agente causal y su control”, se presentan los resultados de las investigaciones realizadas para la determinación del agente causal de la roya en la región del Delta del Paraná y su control mediante la aplicación de funguicidas sistémicos.

En el Capítulo 3, “Efecto de la roya sobre la dinámica foliar, la fotosíntesis y la retranslocación del nitrógeno”, se compara la dinámica foliar de plantas sanas y enfermas, presentando un balance entre la ganancia y la pérdida de hojas durante el ciclo de crecimiento, así como la actividad fotosintética de las hojas presentes. Estas variables determinan la capacidad del sistema para captar la luz y transformar el dióxido de carbono en carbohidratos utilizados para el crecimiento y la producción de materia seca. También se analiza la dinámica del nitrógeno, uno de los componentes más importantes para la síntesis de proteínas y el ensamblado de los cloroplastos.

En el Capítulo 4 se presentan los resultados del efecto de la roya sobre el crecimiento del año correspondiente a la parte aérea y de las raíces y del rebrote de la primavera siguiente.

Finalmente en el Capítulo 5 se presentan las conclusiones y consideraciones finales, sintetizando los resultados generales de la tesis, considerando implicancias de la arquitectura de la planta en el manejo de la enfermedad y presentando interrogantes que surgieron del análisis de los principales hallazgos, los cuales podrían conducir a futuras líneas de investigación.

CAPÍTULO 2 : DETERMINACIÓN DEL AGENTE CAUSAL Y SU CONTROL

2.1. Introducción

Roya es el nombre de la enfermedad causada por varias especies de hongos basidiomicetes del orden uredinales. En este orden y dentro de la familia Melampsoreaceas encontramos al género *Melampsora*, descrito por Castagne en 1843, que se caracteriza por tener teleutosporas unicelulares, sésiles con membrana de recubrimiento castaño oscuro adheridas lateralmente formando pústulas oscuras que se liberan al romperse la cutícula. Las uredosporas se encuentran revestidas por una tenue capa espinulosa o equinulada ubicadas en soros, que pueden estar o no incluidos en un peridio (Fernandez Valiela 1979, Lindquist 1982, Kirk et al. 2001).

A nivel mundial se han descrito entre 80 y 100 especies de *Melampsora* (Hiratsuka y Sato 1982, Kirk et al. 2001), de las cuales solamente 13 especies y dos híbridos interespecíficos son capaces de infectar a las distintas especies de álamo (Van Kraayenoord et al. 1974, Spiers y Hopcoft 1994, Bagyanarayana 1998, Cellerino 1999, Newcombe et al. 2000, Pei y Shang 2005).

La roya del álamo presenta un ciclo de vida complejo desarrollado solamente en tejidos vivos de dos hospedantes diferentes, durante el cual se producen cinco clases de esporas (Figura 2.1). El ciclo completo se inicia con la germinación al principio de la primavera de las teleutosporas (n+n) que permanecieron en las hojas caídas de los álamos durante el invierno, y que después de un proceso de cariogamia y meiosis darán origen a las basidiosporas (n), las cuales son diseminadas por el viento e infectan al hospedante intermediario (*Larix*, *Picea*, *Pseudotsuga*, *Tsuga*, *Pinus*, etc.). La germinación de las basidiosporas da origen a los picnios, usualmente agrupados debajo de la cutícula o de la epidermis que conducen la generación de las picniosporas (n) que salen a la superficie aglomeradas en una sustancia viscosa, aromática y dulce que atrae a los insectos. Mediante hifas receptoras capturan picniosporas de otros picnios con tipo de apareamiento opuesto, que llegan dispersadas por las gotas de lluvia y algunos insectos. La verdadera fecundación se lleva a cabo en la base de los picnios y conduce a la formación de ecidios, en donde se producen las ecidiosporas dicarióticas (n+n) que infectarán a las hojas de los álamos penetrando por los estomas (Cellerino, 1999). Alrededor de 7 días después se desarrollan los uredosoros, que son las típicas pústulas de color amarillo-anaranjado ubicadas principalmente en la cara abaxial de las hojas en donde se producen las uredosporas, las cuales pueden ser dispersadas por el viento a grandes distancias (Wilkinson y Spiers 1976, Nagarajan y Singh 1990, Barrès et al. 2008). Durante el período estival se pueden completar hasta 10 ciclos asexuales que determinan el progreso de la enfermedad en el álamo. En el otoño sobre las hojas senescentes se forman las teleutosporas (n+n) que reinician el ciclo (Lindquist 1982, Pei y Shang 2005, Hacquard et al. 2011).

En climas templados, en donde las condiciones climáticas permiten la persistencia de algunas hojas durante el invierno, las uredosporas pueden mantenerse y originar una nueva infección en primavera. También ha sido reportada su permanencia en las yemas conservando su viabilidad por un período de hasta 10 meses y en hojas caídas de una

populnea (Pers.) (Hylander et al. 1953, Wilson y Helderson 1966). Otras dos especies, *M. aecidioides* y *M. pulcherrima*, algunas veces también han sido consideradas dentro de este complejo (Vialle et al. 2011). Todas estas especies poseen uredosporas pequeñas (menores a 30 μm) uniformemente equinuladas por lo cual pueden ser rápidamente separadas de las especies que atacan a las Secciones Aigeiros y Tacamahaca cuyas uredosporas son de mayor tamaño (entre 35 y 50 μm) y presentan un patrón de equinulaciones interrumpidas por un área lisa. Su ubicación permite además separar entre *M. larici populina* y *M. alli-populina* con una superficie lisa en el ápice, de la espora de *M. medusae* que posee la superficie lisa en la región ecuatorial (Pei y Shang 2005). Incluso el híbrido entre *M. larici populina* y *M. medusae* se distingue de las especies que le dieron origen pues presenta zonas sin equinulaciones en el ápice y en la región ecuatorial (Spiers y Hopcoft 1994).

M. larici-populina, la especie más ampliamente distribuida alrededor del mundo, es nativa de Eurasia pero se encuentra también en Australasia, Sudáfrica, América del Norte y América del Sur (Cellerino 1999, Pei y Shang 2005). En nuestro país fue citada por primera vez en el Delta del Río Paraná infectando a *Populus nigra* cv. Itálica, conocido como álamo “criollo” (Fresa 1936, Marchionatto 1937 y 1944). La identidad de esta especie fue confirmada por Unamuno en Madrid y por Gäumann en Zurich (Marchionatto 1937).

M. medusae es originaria de América del Norte, pero se la encuentra también en Europa, Australasia, América del Sur, Asia y el sur de África (Cellerino 1999, Pei y Shang 2005, Steimel et al. 2005). En nuestro país fue reportada por primera vez por Dietel (1937), infectando al álamo carolino, como *M. albertensis* (sinónimo de *M. medusae*). Sin embargo, algunos autores lo señalan como un registro dudoso (Walker 1975).

M. rostrupii fue descrita en el álamo plateado (Fernandez Valiela 1979) y recientemente se dio cuenta de una nueva especie de roya, encontrada en Mendoza sobre el clon *P. deltoides* ‘Stoneville 70’, que por sus características morfológicas correspondería a *M. larici-tremulae* y/o *M. rostrupii*, pero dado que no se pudo determinar el hospedante alternativo fue clasificada como *M. populnea* (Lucero et al. 2011).

En el Delta, después de la epifitía ocurrida en la década del cuarenta que obligó al reemplazo del álamo criollo (*Populus nigra* cv ‘Itálica’), la roya dejó de ser un problema en las plantaciones pues se manifestaba sobre el final del período de crecimiento. Sin embargo, a partir de 1994 se observaron importantes ataques sobre el clon de *P. deltoides* ‘Catfish 2’ que hasta ese momento se había manifestado como resistente.

Aun cuando una adecuada identificación es el primer paso para evaluar el riesgo de desarrollo de la enfermedad y su potencial impacto, y determinar las opciones de manejo de las plantaciones (Vialle et al. 2011), no se encuentran antecedentes sobre cuál fue el agente causal de esta nueva epifitía.

La utilización de resistencia genética es el medio más efectivo y amigable con el ambiente para el control de la roya del álamo (Newcombe et al. 2001). Sin embargo,

cuando los patógenos logran vencer los genes de resistencia del hospedante y hasta tanto se produzca el remplazo clonal, es necesario implementar una serie de medidas culturales que tiendan a disminuir la población del patógeno y crear un ambiente menos propicio para el desarrollo de la infección a fin de minimizar o evitar los efectos perjudiciales de la enfermedad sobre el cultivo. Entre estas medidas culturales podemos mencionar: la eliminación de las hojas caídas durante el otoño, la instalación de plantaciones a mayor distanciamiento o la aplicación de técnicas de poda y raleo en plantaciones densas que favorezcan la aireación dentro del cultivo (Pinon 1984).

También puede resultar atractivo el control biológico mediante micoparásitos (Morelet y Pinon 1973, Nischwitz et al. 2005). En la región del Delta, se ha observado la presencia del hongo *Darluca filum* parasitando esporas de *M. medusae* (datos no publicados), pero su efecto ha resultado insuficiente para controlar la enfermedad.

Otra medida ampliamente recomendada a nivel internacional es la pulverización del follaje con fungicidas tales como oxiclورو de cobre, zineb, mancozeb, triadimefon, miclobutanil, tebuconazole (Chastagner et al. 1993, Giorcelli y Vietto 1995, Johson y Kim 2005). Entre ellos, los fungicidas sistémicos resultan ser los más convenientes pues rápidamente se difunden a través de toda la planta, controlando los focos existentes y protegiendo al follaje de nuevas infecciones. Este tipo de tratamientos resulta además particularmente útil para evaluar el verdadero efecto de la roya sobre la fisiología y el crecimiento, pues permite comparar plantas sanas y enfermas de un mismo genotipo. De esta manera se elimina el efecto de las diferencias genéticas que están presentes cuando se comparan clones resistentes y susceptibles, porque las variaciones genéticas entre ellos y las interacciones entre el clon y el parásito podrían enmascarar los resultados.

En el mercado nacional se dispone de dos fungicidas sistémicos que actúan inhibiendo la biosíntesis de ergosterol del hongo, los cuales contienen tebuconazole y cyproconazole como principio activo respectivamente. Si bien estos productos no han sido desarrollados para el control de roya del álamo, ni se encuentran registrados para su utilización en forestales, han probado ser altamente efectivos en ensayos de control de la roya de álamo en otros países (Spiers 1976, Boudier 1992, Desprez-Loustau et al. 1992). Estos fungicidas presentan bajo riesgo para organismos asociados a las plantaciones como pájaros, mamíferos, abejas y otros organismos terrestres a los cuales no va dirigido el tratamiento, pero son tóxicos a moderadamente tóxicos para organismos acuáticos.

Para poder realizar un control efectivo de la enfermedad se recomienda una frecuencia de aplicaciones cada 2 a 3 semanas a partir del inicio de la enfermedad (Chastagner et al. 1993, Giorcelli y Vietto 1995). Algunos autores sugieren la utilización de trampas caza esporas para definir el inicio del tratamiento (Ostry y Nicholls 1982). Sin embargo, esta práctica no ha dado buenos resultados dada la dependencia de las condiciones climáticas para la germinación de las esporas (Machado, comunicación personal).

El objetivo de este capítulo es determinar el agente causal de la roya presente actualmente en la Región del Delta del Paraná afectando a *P. deltoides* y su control mediante fungicidas.

La hipótesis a contrastar es que *Melampsora medusae* es el agente causal de la roya del álamo en la región del Delta del Paraná y puede ser controlado mediante una correcta aplicación de funguicidas sistémicos.

2.2. Materiales y métodos

2.2.1. Determinación del agente causal

Durante los meses de febrero y marzo de dos temporadas consecutivas (2000-2001) se recolectaron 300 muestras de hojas de álamo naturalmente infectadas de distintos genotipos de *P. deltoides* y *P. xcanadensis*, en plantaciones y estaqueros comerciales en la Región del Delta del Paraná escogidos al azar y de genotipos experimentales incluidos en los bancos clonales de la E.E.A. Delta del Paraná pertenecientes al Programa de Mejoramiento de Salicáceas del INTA. De esta manera se muestrearon plantas de distintos genotipos y bajo distintas condiciones de crecimiento (densas de 18.000 a 20.000 plantas por ha en estaqueros y aisladas entre 277 y 625 plantas por ha en plantaciones), lo cual genera diferentes condiciones que podrían estar influenciando el desarrollo de la enfermedad, aumentando de esta manera la probabilidad de captura de distintos agentes causales si los hubiera. Para verificar la existencia de otras especies de roya que potencialmente podrían atacar a las plantaciones del Delta, se tomaron muestras de hojas infectadas de 30 individuos de las especies *P. deltoides*, *P. nigra*, *P. alba* y *P. xcanadensis* del arbolado público de 5 localidades cercanas a esta región y de los parques de la Facultad de Agronomía de la FAUBA y del INTA Castelar.

En todos los casos se tomaron hojas totalmente expandidas sin síntomas de necrosis que presentaban pústulas bien desarrolladas no coalescentes. Las hojas coleccionadas fueron acondicionadas individualmente entre láminas de papel levemente humedecidas, rotuladas y trasladadas en bolsas plásticas al laboratorio de citología de la Cátedra de Genética de la FAUBA. Para la determinación de especies se tomaron al azar 3 muestras de esporas y paráfisis correspondientes a uredosoros individuales de cada hoja a fin de evitar mezclas de especies que pudieran estar creciendo sobre una misma hoja. Las muestras, conteniendo esporas y paráfisis, fueron montadas individualmente en lactofenol y teñidas con hematoxilina ácida al 0,2 % (p/v). La morfología (forma, presencia y distribución de las ornamentaciones de las esporas y uniformidad de la pared de las esporas y paráfisis), fue observada con un microscopio óptico Zeiss ST 16. Las imágenes correspondientes a 30 uredosporas seleccionadas al azar dentro de los preparados de cada clase identificada fueron digitalizadas y medidas (largo, ancho) utilizando el programa Scion Image.

Muestras representativas de los diferentes tipos de esporas detectadas por microscopía óptica fueron examinadas en un microscopio electrónico de barrido marca Phillips perteneciente al CITEFA (Instituto de Investigaciones Científicas y Técnicas para la Defensa, Argentina).

2.2.2. *Tratamientos químicos para el control de la roya del álamo*

Para disponer de una evaluación del desarrollo de la enfermedad durante la temporada de realización de tratamientos se monitoreó la evolución de la misma contando el número de pústulas por centímetro cuadrado presentes en la hoja más infectada sin síntomas de necrosis pertenecientes a 10 plantas naturalmente infectadas de los clones *P. deltoides* “151-68” y “Stoneville 71” elegidas al azar a partir de enero. Para corroborar la existencia de condiciones adecuadas para la geminación y establecimiento del hongo, así como entender la evolución de nuevas infecciones, se analizaron los datos de temperatura y humedad registrados en la Estación Meteorológica de la E.E.A. Delta del Paraná correspondientes a la temporada del monitoreo de la enfermedad.

Para evaluar la capacidad de dos fungicidas sistémicos disponibles en el mercado local para controlar la roya del álamo se seleccionaron tres clones de *P. deltoides* (‘Catfish 2’, ‘151-68’ y ‘Stoneville 71’) por presentar una alta susceptibilidad a *M. medusae*. Las parcelas seleccionadas pertenecían a estaqueros comerciales implantados entre 1990 y 1998 en la E.E.A. Delta del Paraná con un diseño de 5 filas de 100 cepas cada una, los cuales habían sido recepados anualmente para la obtención de guías de año. En cada parcela se asignaron aleatoriamente los tratamientos de pulverización con las dosis recomendadas por el fabricante (Tabla 2.1) y un control sin pulverizar. Las plantas fueron tratadas hasta mojar completamente el follaje (punto de goteo) con una pulverizadora a motor.

La efectividad del fungicida (erradicación y/o reducción de los síntomas y signos de la enfermedad) fue evaluada a los 18 días posteriores a la aplicación del tratamiento, a través del registro del número de pústulas presentes en la hoja más infectada sin síntomas de necrosis en 15 guías elegidas al azar dentro de cada tratamiento. Dado que el período de protección del fungicida es de dos semanas y el tiempo utilizado por el hongo para desarrollar pústulas desde la infección es de 1 semana, se dio por finalizado el ensayo a los 18 días dado que luego de esa fecha sin la protección de nuevas aplicaciones del fungicida, todas las plantas desarrollarán pústulas. La hoja utilizada para contabilizar el número de pústulas se correspondió con las hojas 6 a 7 en guías jóvenes o las hojas 11 a 23 en guías de mayor edad, numeradas en forma descendente a partir del ápice, tomando como hoja 1 a la hoja superior totalmente expandida. Estas hojas son las que normalmente desarrollan las nuevas infecciones en guías de 10 a 14 días de edad y de 26 a 33 días de edad respectivamente (Johnson y Kim 2005).

Dado que se manifestaron síntomas de toxicidad en la aplicación de cyproconazole utilizando la dosis recomendada por el fabricante se procedió a la evaluación visual de cambios morfológicos en hojas en desarrollo al momento de realizar la aplicación y se realizó un ensayo en el estaquero comercial con el clon “Stoneville 71” probando menores dosis de cyproconazole. Se utilizaron dosis de 22, 16, 10 y 6 gramos de principio activo por hectolitro en una única aplicación realizada en la primera quincena de enero y se mantuvo un control sin pulverizar.

Tabla 2.1 Principios activos, nombre comercial de los productos en el mercado local y dosis recomendadas por el fabricante para el control de la roya que fueron utilizadas en el ensayo realizado en los clones *P. deltoides* ‘Catfish 2’, ‘151-68’ y ‘Stoneville 71’

Principio activo	Marca comercial	Dosis
Tebuconazole	Folicur 43 % SC	25,8 g pa /hl
Cyproconazole	Alto 10	22,0 g pa /hl

Se realizó otro ensayo en el que se probaron diferentes fechas de aplicación utilizando como principio activo tebuconazole. En este ensayo se realizaron hasta tres aplicaciones del funguicida con una dosis fija de 25,8 gramos de principio activo por hectolitro (dosis recomendada por el fabricante) a partir de mediados de enero según se describe en la tabla 2.2. En los dos últimos ensayos descriptos se pulverizaron 100 plantas por cada uno de los tratamientos.

Tabla 2.2 Esquema de tratamientos del ensayo de esquemas de pulverización realizado con tebuconazole sobre el clon *P. deltoides* ‘Stoneville 71’ (P: pulverizado, NP: no pulverizado)

	15 de enero	5 de febrero	20 de febrero
Tratamiento A	P	NP	NP
Tratamiento B	NP	P	NP
Tratamiento C	NP	NP	P
Tratamiento D	P	P	P
Control	NP	NP	NP

Cuando se realizó la primera aplicación las plantas presentaban algunas pústulas aisladas en el tercio superior. Las plantas no tratadas el 15 de enero presentaban además marcados signos de necrosis en el tercio medio cuando se realizó la aplicación el 5 de febrero, mientras que las no tratadas en las dos primeras fechas presentaban altos niveles de defoliación en el tercio medio e inferior para la aplicación del 20 de febrero. El promedio de pústulas de la hoja más afectada sin signos de senescencia al aplicar los tratamientos en la segunda y tercer fecha fue de 52 pústulas/cm². En todos los casos, para evitar efectos de deriva durante el proceso de pulverización, se aisló espacialmente a las plantas correspondientes a cada tratamiento mediante mamparas plásticas construidas para tal fin.

La efectividad y la presencia de algún cambio en el tamaño y/o forma de las hojas como indicador de efectos no deseados del tratamiento fueron evaluados del mismo modo que en el ensayo anterior en una muestra de 30 plantas elegidas al azar dentro de cada parcela.

2.3. Resultados

2.3.1. Determinación del agente causal

Todas las uredosporas correspondientes a muestras tomadas de hojas de álamo de estaqueros y plantaciones del Delta del Paraná fueron ovadas u ovales a veces un poco piriformes, con el ápice redondeado y la base truncada, equinuladas con una importante área lisa en la región ecuatorial (Figura 2.2). A esta característica responde solamente *M. medusae*, ya que los híbridos inter-específicos *M. medusae-populina* (producto de cruzamiento entre *M. medusae* y *M. larici-populina*) y *M. x columbiana* (producto del cruzamiento entre *M. medusae* y *M. occidentalis*) poseen características intermedias a sus respectivos padres y por lo tanto las esporas de *M. medusae-populina* presentan además una región sin equinulaciones en la parte apical (Spiers y Hopcroft 1994, Cellerino 1999, Pei y Shag 2005), y las esporas de *M. x columbiana* frecuentemente, aunque no siempre, presenta esta región sin equinulaciones (Newcombe et al. 2000, Pei y Shag 2005).

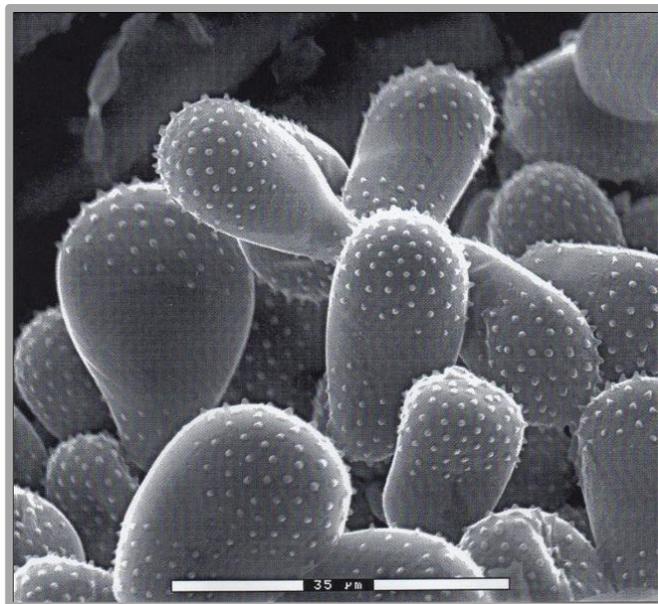


Fig. 2.2 Esporas equinuladas de *Melampsora medusae* con una región lisa en la zona ecuatorial

Por otro lado las uredosporas de *M. medusae* y *M. medusae-populina* tienen como hospedante telial a *P. deltoides* y a *P. xcanadensis*, especies e híbridos interespecíficos a los que pertenecen todos los genotipos plantados en el Delta del Paraná, no así *M. xcolumbiana* que desarrolla en los híbridos de *P. xgenerosa* que no se cultivan en la región. Las paráfisis asociadas a este tipo de esporas presentaron una pared de espesor uniforme como las descritas para *M. medusae* (Pei y Shag 2005).

En el arbolado urbano de las localidades cercanas a la zona núcleo forestal muestreadas se encontraron 3 tipos de esporas, una de las cuales presenta las características descritas en el párrafo anterior. Otro de los tipos de esporas encontradas, se obtuvo a partir de uredosoros desarrollados sobre las hojas de ejemplares de *P. nigra*. Estas son

elipsoides u oblongas, equinuladas con una región lisa en la zona apical (Figura 2.3). Estas esporas presentaron a su vez un pronunciado engrosamiento de la pared celular en la región ecuatorial que les otorga una figura en forma de hueso vistas al microscopio óptico, mientras que las paráfisis asociadas presentaron paredes más gruesas que las anteriores y con un engrosamiento en la región del ápice.

Entre las especies de *Melampsora* descritas, tres presentan equinulaciones con una región lisa en la zona apical, *M. larici-populina*, *M. alli-populina* y *M. multa*. De estas *M. larici-populina* es la única que presenta de manera constante un engrosamiento ecuatorial de la pared celular (Pei y Shag 2005, Pinon comunicación personal). Las esporas de *M. larici-populina* son en promedio más largas y levemente más angostas que las de *M. medusae* (Tabla 2.3). Por otro lado, es la especie de roya más ampliamente distribuida a nivel internacional y se presenta en casi todas las especies y todos los lugares en donde se desarrolla el álamo (Spiers y Hopcroft 1994, Cellerino 1999, Pei y Shag 2005).

El último tipo de uredosporas se encontró solamente en ejemplares de *P. alba* utilizado en nuestro país como planta ornamental. Este tipo de esporas son más redondeadas (Tabla 2.3) y totalmente equinuladas.

Tabla 2.3 Dimensiones de los tipos de esporas encontradas en Delta del Paraná y ciudades cercanas

	Dimensiones de las uredosporas ($\mu\text{m}=10^{-3}$ mm)			
	Longitud		Ancho	
	Media	Rango	Media	Rango
<i>M. medusae</i>	28,6	23,0 – 31,7	16,1	14,0 – 20,5
<i>M. larici- populina</i>	32,0	26,9 – 36,6	15,9	12,7 – 18,9
<i>M. populnea</i>	15,2	10,0 – 18,3	14,2	10,0 – 16,9

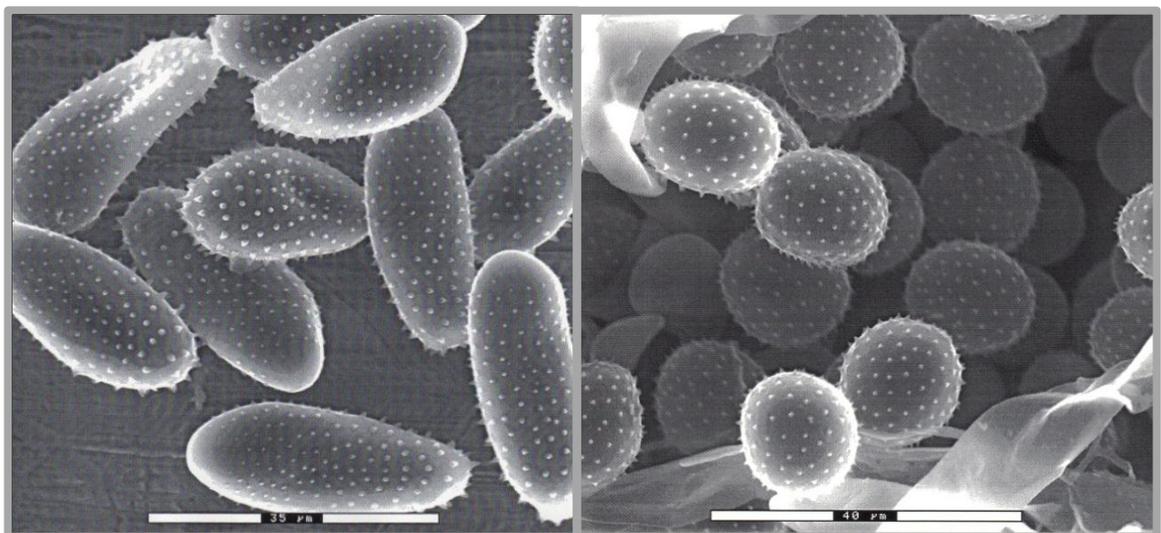


Fig. 2.3 Izquierda) Esporas equinuladas de *Melampsora larici-populina* con una región lisa en la zona apical. Derecha) Esporas totalmente equinuladas del complejo *M. populnea*

Hay cuatro especies que responden a estas características *M. larici-tremulae*, *M. magnusiana*, *M. pinitorqua*, *M. rostrupii* y dado que se distinguen únicamente por el hospedante alternativo algunos autores han adoptado el criterio de agruparlas bajo la denominación de *M. populnea* (Figura 2.3).

Algunos autores también han considerado a *M. aecidioides* y *M. pulcherrima* como parte de este complejo (Vialle et al. 2011) pero las dimensiones de las uredosporas de estas especies son mayores a las halladas en este estudio.

2.3.2. Tratamientos químicos para el control de la roya del álamo

Las primeras pústulas (signos de la enfermedad) comenzaron a manifestarse a principios de enero, llegando a su máxima expresión sobre fines del mismo mes (Figura 2.4). El nivel de infección se encontró asociado con las temperaturas registradas en la central meteorológica de la E.E.A. Delta del Paraná. Durante el mes de diciembre se registraron temperaturas moderadas (entre 15 y 20 °C) que permitieron el inicio de la enfermedad. En un principio el número de pústulas se incrementó lentamente posiblemente debido a una baja cantidad de inóculo, manteniéndose más o menos estable en los días siguientes, coincidiendo con un pico de altas temperaturas registrado durante la primera semana de enero. Durante la segunda semana de enero bajaron las temperaturas y se volvieron a dar las condiciones favorables para la infección, ahora con más esporas en el ambiente, lo cual condujo al pico de ataque observado hacia fines de enero. A partir de la segunda semana de febrero y hasta mediados de marzo, cuando las condiciones de humedad aumentaron, se registraron solamente dos días con temperaturas de alrededor de 20 °C y consecuentemente la intensidad del ataque cayó bruscamente.

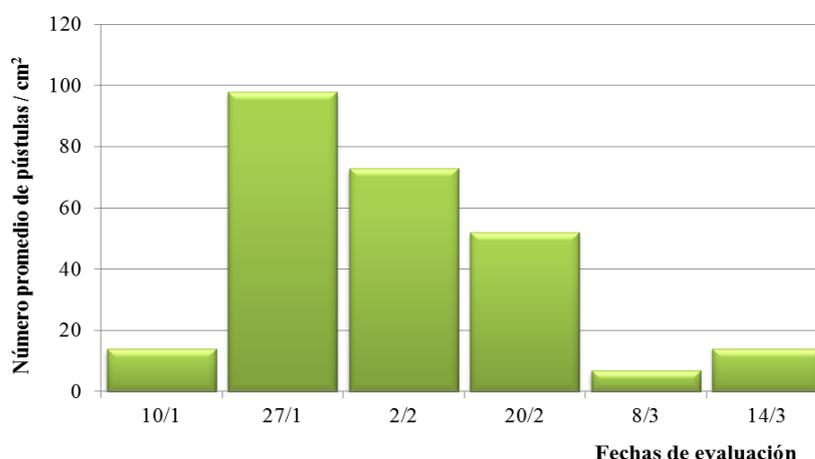


Fig. 2.4 Número promedio de pústulas por centímetro cuadrado de la hoja más atacada sin síntomas de necrosis de 10 plantas de los clones *P. deltoides* “151-68” y “Stoneville 71” a lo largo del ciclo estival

En cuanto al control de la roya del álamo mediante la aplicación de funguicidas, los resultados indican que ambos productos resultaron altamente efectivos en los tres clones evaluados (‘Catfish 2’, “151-68” y “Stoneville 71”) y presentaron tanto efectos

curativos como preventivos. Las plantas pulverizadas se mantuvieron sanas hasta los 18 días de la aplicación de los funguicidas, salvo en el clon ‘Catfish 2’ tratado con Tebuconazole en donde se contabilizaron solamente 23 pústulas por hoja en comparación con las 1045 registradas en los testigos (Tabla 2.4, Figura 2.5), este comportamiento resultó similar en los ensayos de dosis y esquemas de pulverización. Ambos productos fueron capaces de proteger las hojas existentes en el momento de la pulverización, siempre y cuando el grado de avance de la enfermedad no hubiera desencadenado el proceso de senescencia. También se logró una adecuada protección de las hojas expandidas durante las tres semanas posteriores a la aplicación.

Tabla 2.4 Número promedio de pústulas por hoja contabilizadas a los 18 días de inicio del ensayo en parcelas tratadas con funguicida y en el control sin tratar

Testigo sin pulverizar	Catfish 2		St. 71		151-68	
	Folicur	Alto 10	Folicur	Alto 10	Folicur	Alto 10
1045	23	0	0	0	0	0

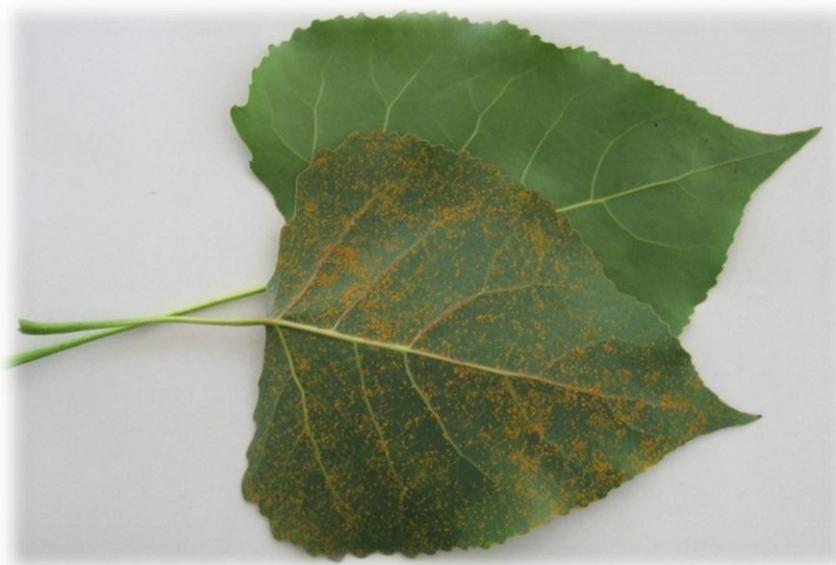


Fig. 2.5 Hoja de álamo no tratada con numerosas pústulas de roya en la cara abaxial al frente y tratada con funguicidas (sin síntomas de la enfermedad) atrás

Se observó una marcada reducción del crecimiento de las hojas en desarrollo durante la pulverización en el tratamiento con cyproconazole utilizando una dosis de 22,0 g pa /hl. Las hojas presentaban además un aspecto coriáceo e importantes ondulaciones en los bordes (Figura 2.6).

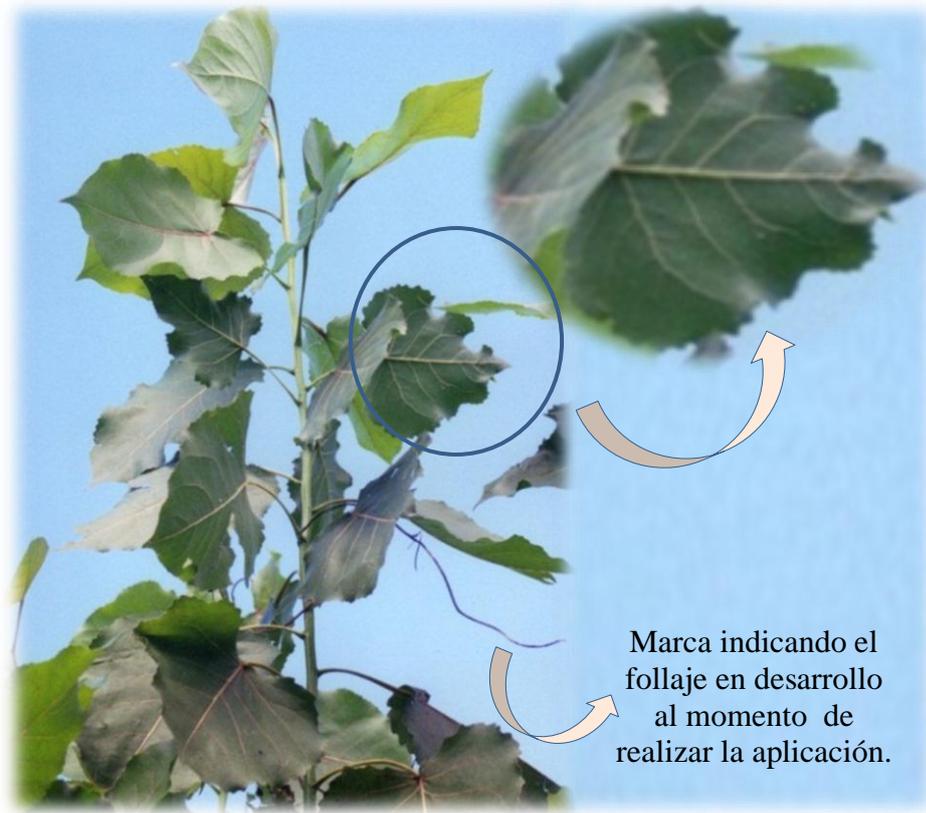


Fig. 2.6 Extremo apical de una guía de “Stoneville 71” en donde se destaca la presencia de hojas coriáceas con bordes ondulados y reducción de tamaño, compatibles con síntomas de toxicidad, observadas en los tratamientos de pulverización realizados con cyproconazole utilizando una dosis de 22.0 g pa /hl

Estas modificaciones morfológicas, compatibles con efectos de fitotoxicidad, no fueron observadas ni en las hojas que se encontraban totalmente expandidas ni en las desarrolladas con posterioridad a la aplicación. Tampoco se encontraron estos tipos de cambios morfológicos en el testigo. Este efecto fue corroborado en el ensayo de dosis con cyproconazole, en el cual también se observó que con 16 gramos de pa/hl estos síntomas eran menos marcados y desaparecían a dosis menores. En todos los casos se logró una reducción marcada del número de pústulas con respecto al testigo (Tabla 2.5).

Tabla 2.5 Número promedio de pústulas en la hoja más atacada sin síntomas de necrosis y presencia de síntomas de toxicidad en las hojas en desarrollo al momento de la aplicación evaluados a las 3 semanas del tratamiento de dosis de cyproconazole

g de pa/hl	Pústulas/cm ²	Toxicidad
22	0,4	Si
16	0,2	Si
10	1,2	No
6	1,1	No
Control	14.0	No

En el ensayo de fechas de aplicación se observaron importantes diferencias en el número de pústulas presentes a los 21 días de la primera fecha del tratamiento entre hojas totalmente expandidas de similar edad en plantas tratadas (3 pústulas /cm²) y no tratadas (73 pústulas/cm²). Estas diferencias entre hojas tratadas y no tratadas influyen directamente en el estado general de la planta, ya que mientras las plantas tratadas presentan un follaje verde oscuro, las plantas no tratadas comenzaron a amarillar y a defoliarse anticipadamente. Para la segunda fecha de aplicación también existieron diferencias entre las hojas de las plantas tratadas (sin pústulas) y no tratadas (99 pústulas/cm²). El aspecto general de las plantas dependió de si éstas habían recibido o no el tratamiento en la primer fecha. Las plantas que habían recibido dos tratamientos se mantuvieron sanas, mientras que las plantas que recibieron solamente el tratamiento de la segunda fecha se mantuvieron verdes solamente en el tercio superior de la planta, ya que no pudo evitarse la defoliación del tercio inferior y medio debido al avance de la enfermedad al momento de aplicación del tratamiento. Los resultados de la tercera aplicación no presentaron diferencias significativas entre el follaje tratado y el no tratado en donde se contabilizaron 4 y 7 pústulas/cm² respectivamente. Las plantas que recibieron tres pulverizaciones durante la temporada de crecimiento mantuvieron las hojas sanas mientras que los testigos sin tratar presentaron altos niveles de defoliación.

2.4. Discusión

Los resultados de los estudios morfológicos realizados en muestras de esporas y paráfisis de las hojas recolectadas en el Delta del Paraná indican que la especie difundida en las plantaciones y estaqueros comerciales y en los bancos clonales del Programa de Mejoramiento de Álamo del INTA es *M. medusae*, mientras que en la zonas aledañas al Delta se encuentran también *M. larici populina* y *M. populnea*.

Dada la presencia de *M. larici populina* en hojas de árboles de *P. nigra* establecidos en las cercanías del Delta no se puede descartar la ocurrencia ocasional de esta especie en la región, debido a que las esporas de la roya pueden ser difundidas por el viento a grandes distancias desde el árbol en donde se producen (Nagarajan y Singh 1990, Barrès et al. 2008) y que esta especie tiene como hospedante telial a álamos de la sección Aigeiros (*P. nigra*, *P. deltoides*, *P. fremontii*, *P. x canadensis*), Tacahamaca (*P. angustifolia*, *P. balsamifera*, *P. ciliata*, *P. koreana*, *P. laurifolia*, *P. maximowiczii*, *P. suaveolens*, *P. simonii*, *P. ussuriensis*, *P. trichocarpa*) y Leucoides (*P. lasiocarpa*, *P. wilsonii*) (Vialle et al. 2011) entre los que se encuentran los cultivados en el Delta. Por lo tanto estos árboles aislados constituyen un riesgo para el desarrollo de nuevas epifitias. Este no sería el caso de las esporas del complejo de *M. populnea* que parasitan árboles de *P. alba*, *P. trémula* y *P. canescens* que no se cultivan en la región.

Independientemente de la especie, la evolución de la enfermedad depende de la tolerancia de los genotipos utilizados, la virulencia del patógeno, las condiciones ambientales y el microclima a nivel del follaje (Frey et al. 2005, Toome et al. 2010). Las esporas que se depositan sobre las hojas de los álamos logran germinar y penetrar los estomas con temperaturas de alrededor de 20 °C y entre 2 y 12 horas de humedad sobre

las hojas (Pinon et al. 2006). Por lo tanto en veranos secos y calurosos el desarrollo de la enfermedad es limitado (Hsiang et al. 1993). Sin embargo, la falta de lluvias o las altas temperaturas máximas registradas durante la temporada estival no constituyen una limitante siempre que, al menos aún durante la noche, se alcancen las condiciones óptimas (Krzan 1980).

En el conteo de pústulas realizado en los clones *P. deltoides* “151-68” y “Stoneville 71” a lo largo del ciclo estival se observa que el pico de la enfermedad se dio entre fines de enero y principios de febrero coincidiendo con el desarrollo de las condiciones óptimas para la germinación e infección por parte de las esporas, garantizándose de este modo las infecciones naturales en los ensayos de control de roya con funguicidas.

Nuestros resultados indican que ambos funguicidas ensayados son efectivos en el control de la roya del álamo, lo cual concuerda con los resultados de Boudier (1992); Khan (1994), y May de Mio y Ruaro (2008). Para el caso del tebuconazole la dosis de 25.8 g de principio activo por hectolitro de agua, recomendada por el fabricante para otros cultivos, resultó también adecuada para el caso del álamo. Por otro lado, esta dosis resulta menor a la utilizada en los experimentos realizados en Brasil (May De Mio y Ruaro 2008) y en Italia (Giorcelli et al. 2012), lo cual resulta de gran importancia dado que el Delta es un humedal y este producto puede resultar tóxico para organismos acuáticos de acuerdo a los datos presentados en la hoja de seguridad del producto.

Para el caso del cyproconazole nuestros resultados indican que una dosis de 10 g de pa/hl resulta suficiente para controlar el desarrollo de la enfermedad sin provocar alteraciones morfológicas en las hojas y que dosis mayores del producto resultan tóxicas para las hojas en desarrollo. Este efecto no se encuentra documentado en la bibliografía. Los resultados obtenidos en el ensayo que combina diferentes fechas de pulverización indican que el momento de aplicación resulta de vital importancia para el control de la enfermedad durante el ciclo del cultivo. Los tratamientos realizados el 15 de enero y el 5 de febrero lograron controlar la enfermedad reduciendo sustancialmente el número de pústulas (73 a 3 y 99 a 0 pústulas por centímetro cuadrado respectivamente), evitando la defoliación anticipada y manteniendo las plantas en un estado saludable hasta el otoño. En cambio el tratamiento realizado el 20 de febrero no fue capaz de evitar el normal desarrollo de la enfermedad, el número de pústulas fue similar en ambos tratamientos y las plantas perdieron buena parte del follaje anticipadamente. Asimismo las pulverizaciones realizadas en una de las dos primeras fechas pero no en ambas no lograron evitar la caída del follaje no protegido, el cual se encontraba en el tercio inferior o en el tercio medio según la fecha de aplicación. Con respecto al intervalo entre pulverizaciones un período de tres semanas resultó adecuado para mantener las plantas libres de roya y evitar la defoliación anticipada. Este intervalo es mayor al propuesto por Giorgelli y Vietto (1995) pero concuerda con los resultados de Spiers (1975).

En base a estos resultados podemos sugerir que para lograr un efectivo control de la enfermedad se deben iniciar los tratamientos al principio de la temporada estival tan pronto como comienzan a observarse pequeñas manchas cloróticas sobre la superficie de las hojas, las cuales se corresponden con la posterior aparición de las pústulas sobre

la cara inferior. Dada la influencia de la temperatura y el rocío sobre el desarrollo de la enfermedad (Spiers 1978, Pinon et al. 2006) resultaría conveniente tener en cuenta los pronósticos meteorológicos para determinar la necesidad de nuevas pulverizaciones. Si el verano es seco y caluroso, con temperatura mínimas altas una pulverización temprana, realizada en el momento oportuno, puede ser suficiente para controlar la enfermedad. Sin embargo, si las temperaturas permanecen bajas (entre 15 y 20 °C) será necesario realizar más tratamientos. Esto es coincidente con los resultados obtenidos por Giorgelli y colaboradores (2012).

Reducir al mínimo el número de pulverizaciones necesarias para lograr el control de la enfermedad resulta de gran importancia no solamente por el costo de la misma, sino también para reducir los efectos negativos sobre el ambiente, lo cual es particularmente importante en un ambiente frágil como el humedal del Delta del Paraná.

2.5. Conclusiones

- La especie de roya ampliamente difundida en la zona núcleo del Delta del Paraná en donde se desarrolla esta tesis pertenece a la especie *M. medusae*.
- Existen otras especies de importancia económica, como *M. larici populina*, en áreas cercanas al Delta del Paraná capaces de atacar a las plantaciones.
- Los dos funguicidas sistémicos evaluados (tebuconazole y cyproconazole) son efectivos en el control de la roya del álamo.
- Las dosis de principio activo recomendadas son de 25,8 g/hl para el tebuconazole y de 10 g/hl para el cyproconazole, dosis mayores de este último producto resultan tóxicas para las hojas en desarrollo.
- Es necesario conocer la biología del patógeno y las condiciones del microclima en donde se desarrolla el follaje para lograr un efectivo control con el menor número de pulverizaciones.
- La primera aplicación debe realizarse cuando se detectan las primeras manchas cloróticas en hojas totalmente expandidas del tercio superior y debe repetirse cada tres semanas salvo que las condiciones para la infección de las esporas sean desfavorables.

CAPÍTULO 3 : EFECTO DE LA ROYA SOBRE LA DINÁMICA FOLIAR, LA FOTOSÍNTESIS Y LA RETRASLOCACIÓN DEL NITRÓGENO

3.1. *Introducción*

El crecimiento y la productividad de los árboles dependen en gran medida del área fotosintéticamente activa provista fundamentalmente por las hojas. La fecha de brotación en primavera y de entrada en reposo en otoño; el plastocrono; la tasa de expansión foliar, y la duración y eficiencia de la actividad fotosintética a lo largo de la estación de crecimiento afectan la cantidad de carbono que puede ser fijado y por ende el crecimiento del árbol (Van Volkenburgh y Taylor 1996). A su vez, las plantas están sometidas a una variada gama de tipos de estrés que interfieren sobre sus procesos fisiológicos, restringiendo el crecimiento y el desarrollo de las mismas (Kozlowski et al. 1991). Entre los efectos más notorios causados por muchos factores de estrés se encuentran la muerte y la abscisión prematura de las hojas.

Varios trabajos señalan que la roya provoca este tipo de daño en el álamo (May de Mio et al. 2006, Sivakumaran y McIvor 2010, Ostry y Juzwik 2012) y otras especies de importancia económica, ya sean herbáceas (de Jesus et al. 2001, Huang y Gill 2001, Adee et al. 2005, del Ponte et al. 2006) o leñosas (Bertrand 2000, Arguedas 2004, Martínez Revol 2004). La pérdida del follaje puede presentarse como un mosaico, ya que las hojas de una misma planta poseen un nivel de susceptibilidad que varía tanto espacial como temporalmente en función de la ontogenia foliar, siendo la transición ‘destino-fuente’ un punto clave de este proceso (Jones 1983, Schultz 1983, Whitam 1983, Coleman 1986). En el álamo la mayor susceptibilidad de las hojas a la roya se da cuando éstas se acercan a su máxima expansión, lo cual coincide con el momento de aproximación a la etapa de transición ‘destino-fuente’ (Coleman 1986). Estas hojas se ubican en la posición 6 de la guía dentro del rango definido en base al índice de plastocrono (del inglés Leaf Plastochron Index, LPI) (Larson y Gordon 1969, Larson y Isebrands 1971, Isebrand y Larson 1973, Dickmann et al. 1975, Ceulemans y Impens 1979, Dickson y Larson 1981). En estadios previos, los altos niveles de fenoles y proteínas (peroxidasas, quinasas, 1-3 glucanasas) presentes en el apoplasto (Gordon 1971, Dickson y Shive 1982, Schultz et al. 1982, Rhoades 1983, Johnson y Kim 2005) y la mayor deposición de pinocembrina sobre la superficie de la hoja (Curtis y Lersten 1974, Shain y Miller 1982, Johnson y Kim 2005) las protegerían del ataque del hongo. También la ausencia de ceras superficiales y de maduración de los estomas interfieren en la elongación de los tubos germinativos emitidos por las uredosporas (Manners 1993). Posteriormente, la susceptibilidad decrece a medida que se incrementa la edad de la hoja, posiblemente debido a un inadecuado contenido de nitrógeno y azúcares (Bell 1981, Mooney et al. 1983).

En sistemas biotróficos complejos que involucran a dos especies, un evento temprano durante la infección desencadena una respuesta genética bastante rápida en cada organismo que permite (reacciones compatibles) o impide (reacciones incompatibles) el crecimiento del patógeno y el desarrollo de la enfermedad (Agrios 2005, Hacquard et al. 2011). En reacciones compatibles, una vez establecida la infección y a medida que el hongo crece, se observa un cambio masivo en la expresión génica de las células del vegetal (Schenk et al. 2000), de modo tal que cantidades crecientes de carbono y

nitrógeno son metabolizados y dirigidos hacia las células del hongo (Mendgen y Hahn 2002, Panstruga 2003, Both et al. 2005, Rinaldi et al. 2007). Los genes relacionados con las rutas metabólicas de la defensa ante patógenos son pobremente inducidos y es probable que la pérdida de la actividad fotosintética o de la integridad de la membrana de los cloroplastos sean las señales que inicien el programa de senescencia foliar (Quirino et al. 2000).

La senescencia foliar no es simplemente un proceso degenerativo, sino más bien es un proceso de reciclado de nutrientes hacia las nuevas hojas y los tejidos de almacenamiento y/o reproductivos (Gan y Amasino 1997). La defoliación afecta por dos vías distintas el crecimiento: por un lado, la menor área foliar disminuye la interceptación de la luz y por ende la capacidad fotosintética del canopeo; por otro lado, en plantas enfermas la senescencia (y abscisión) de las hojas se puede producir con niveles más elevados de nutrientes que son retenidos por la biomasa fúngica, tal como se observó en trigo (van den Berg et al. 2007), disminuyendo la retranslocación de nutrientes a tejidos en crecimiento o tejidos de reserva (Silla y Escudero 2003). Sin embargo, y a pesar de que representa uno de los más importantes componentes de este patosistema, la defoliación ha recibido poca atención aun cuando se encuentra altamente correlacionada con el nivel de infección (Hamelin et al. 1993, May de Mio y Ruaro 2008).

Asimismo, si bien se ha reportado la represión de genes asociados a la fotosíntesis (Miranda et al. 2007, Azaiez et al. 2009) no se han reportado mediciones de fotosíntesis en plantas de álamo infectadas por roya (Major et al. 2010).

El presente capítulo tiene por objetivos evaluar el efecto de la roya del álamo sobre 1) la dinámica foliar y la actividad del aparato fotosintético, y su persistencia temporal y 2) la redistribución de nitrógeno (N) desde las hojas senescentes en plantas infectadas.

La hipótesis a contrastar son 1) la roya afecta la dinámica foliar (disminuye la duración de las hojas y aumenta el número de hojas caídas) de manera diferencial según el genotipo: los clones más ramificados compensan mejor la caída de hojas causada por la roya a través de una mayor tasa de formación de nuevas hojas y 2) la infección por roya reduce la fotosíntesis de las hojas enfermas y 3) las hojas infectadas por roya caen con mayores niveles de nitrógeno.

3.2. *Materiales y métodos*

3.2.1. *Generalidades del ensayo*

Este estudio se realizó en un ensayo instalado sobre un terreno protegido por un dique total en la E.E.A. Delta del Paraná (Lat.: 34° 10' 31" S, Long.: 58° 51' 43" O) (Fig. 3.1).

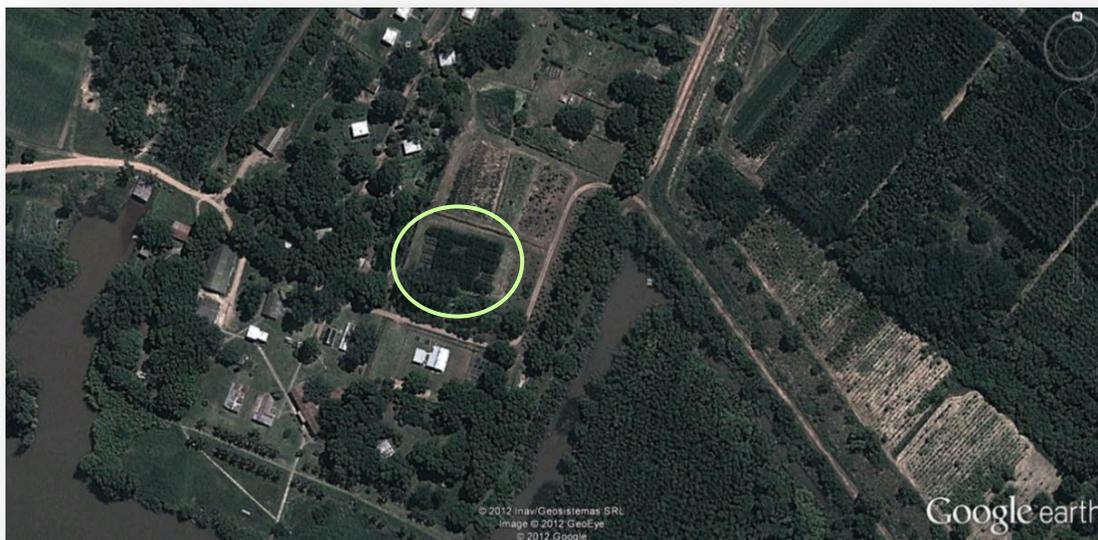


Fig. 3.1 Vista parcial de la E.E.A. Delta del Paraná-INTA indicando el lugar de instalación del ensayo

Para determinar las características del suelo se realizó una calicata y se tomaron muestras en cada una de las capas encontradas. Las muestras fueron enviadas al Laboratorio Nacional de Investigaciones y Servicios de N-15 (CONICET-Universidad Nacional del Sur) para su análisis.

De acuerdo con las claves para la taxonomía de suelos desarrolladas por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (Soil Survey Staff 2010), el suelo pertenece al orden de los entisoles, suborden aquente y al gran grupo de los endoquentes. Las características químicas y texturales corresponden a un perfil típico del Bajo Delta del Paraná (Tabla 3.1, Fig. 3.2). Los niveles de fertilidad son aceptables para el crecimiento de especies forestales, aunque la capacidad de intercambio catiónico (CIC) y las concentraciones de nitrógeno (N) y de fósforo disponible son bajas. En todo el perfil el pH se encuentra dentro de los suelos moderadamente ácidos y sin limitaciones salinas.

Tabla 3.1 Características químicas y físicas del perfil de suelo donde se ubicó el ensayo (0-1 m)

Capa	Profundidad	MO (%)	N total (%)	P disponible (ppm)	CIC (me/100 g)	PH	CE (dS/m)	Clase textural
1	0-27	6,4	0,3	8,2	18,2	5,5	0,8	Franco limoso
2	27-41	5,1	0,3	1,3	16,4	5,9	0,6	Franco arcillo limoso
3	41-92	2,8	0,1	1,0	16,6	5,9	1,6	Franco limoso
4	92-100	0,5	0,0	2,3	9,4	6,0	3,1	Franco limoso



Fig. 3.2 Vista del perfil del suelo en donde se estableció el ensayo de 0-1 m de profundidad con las correspondientes capas (C) diferenciadas según color y textura

El lote había sido utilizado para la multiplicación de clones del Área de Mejoramiento de la E.E.A. Delta por varios años y luego abandonado, por lo cual fue necesario eliminar los tocones existentes, tarea que se realizó con un año de anticipación a la instalación del presente ensayo. Durante ese último año se realizaron dos pasadas con una rastra de discos, dos con un rotovacter y finalmente se terminó con una rastra de dientes. Una vez preparado el suelo se acondicionaron 27 parcelas (unidades experimentales) con un *mulching* de plástico negro de 100 μm de espesor. Entre parcela y parcela se dejaron calles de 4 metros de ancho para facilitar las tareas de pulverización.

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 *P. deltoides* Marsh ‘Australiano 106/60’, ‘I 72/51’ y ‘Stoneville 109’, cultivados en los estaqueros de la Asociación Cooperadora E.E.A. Delta del Paraná-INTA, que presentaban visualmente distinto comportamiento frente al ataque de *M. medusae*, agente causal de la roya del álamo en las plantaciones del Delta del Paraná. Los clones ‘I 72/51’ y ‘Stoneville 109’ son conocidos a nivel internacional como ‘Onda’ y ‘Bolivar Belle’ respectivamente.

Tanto el ‘Australiano 106/60’ como el ‘Stoneville109’ fueron introducidos al país por Guillermo Mosquera de la Compañía General de Fósforos Sudamericana S.A. en 1972 (Borodowski y Suarez 2004). El primero de ellos corresponde a una selección realizada dentro del Programa de Mejoramiento de la Universidad Nacional de Australia, a partir de una población de semillas proveniente de Texas (Pryor y Willing 1982); mientras que el segundo proviene de una plántula recolectada en un banco de arena del condado Bolivar en Mississippi (Lat.: 33° 47' N, 91° O) y seleccionada en la Southern Research Station del USDA Forest Service, ubicada en la localidad de Stoneville, Mississippi (Mohn et al. 1970).

El clon 'I 72/51' fue seleccionado en 1948, en la Unità di Ricerca per le Produzioni Legnose Fuori Foresta (ex-Istituto di Sperimentazione per la Pioppicoltura) de Casale Monferrato, Italia, a partir de semillas provenientes de un cruzamiento espontáneo de *P. deltoides* var *missouriensis*, enviadas por el Prof. Scout S. Pauley de la Universidad de Harvard (Barnéoud et al. 1982, Picco et al. 2007). Se introdujo al país en 1952 y fue rápidamente adoptado por los productores debido al excelente porte y a la calidad de su madera, pero debió abandonarse en la década del ochenta por los intensos ataques de roya (Borodowski y Suarez 2004).

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con 3 repeticiones para un arreglo factorial de los 3 clones ('Australiano 106/60', 'I 72/51' y "Stoneville 109") y 3 niveles de pulverización (1- Pulverizado durante los tres años, 2- No pulverizado el primer año-Pulverizado el segundo año-No pulverizado el tercer año y 3- No pulverizado durante los tres años del ensayo), de 40 plantas por parcela (10 filas x 4 hileras), separadas a 80 x 80 centímetros. Las combinaciones de tratamientos de pulverización fueron establecidas de modo tal que permitan estudiar el efecto acumulado de la roya sobre las variables estudiadas a través de las distintas temporadas de crecimiento, así como el efecto sobre el crecimiento de la siguiente temporada (rebrote) cuando se controla la enfermedad mediante pulverización con funguicida sólo un año, tal lo realizado en el tratamiento No pulverizado-Pulverizado-No pulverizado. Para la asignación de los tratamientos a las distintas parcelas se utilizó el programa Proc Plan del paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System) versión 9.2. Para el registro de datos correspondientes a las distintas variables bajo análisis se seleccionaron, en forma aleatoria dentro de estas parcelas experimentales, el número de plantas indicadas en cada sección, dado que algunas determinaciones requerían la destrucción del material experimental.

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. Las primeras aplicaciones se realizaron al final de diciembre ante la aparición de las primeras pústulas y las restantes con un intervalo de tres semanas a lo largo de cada estación de crecimiento. Durante la pulverización las parcelas fueron aisladas con mamparas de plástico construidas para tal fin (Fig. 3.3).

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 año, clon y nivel de pulverización. Se tomó este parámetro dado que la severidad resulta un mejor indicador del nivel de ataque que la incidencia (May De Mio et al. 2006).



Fig. 3.3 Vista general de la tarea de pulverización

3.2.2. Dinámica foliar

Para evaluar la dinámica foliar, todas las hojas correspondientes a las guías y las ramas de 4 plantas por parcela durante el primer año del ensayo y de 2 plantas por parcela durante el segundo año, fueron numeradas correlativamente desde la base hacia el ápice cada 15 días. Se contó el número de hojas totalmente expandidas y el número de hojas caídas (faltantes en guías y ramas) para cada intervalo de fechas estudiado, y se midió el largo y el ancho máximo de cada lámina foliar. Durante el tercer año se monitoreó la aparición y la caída de hojas en 2 plantas por parcela cada 15 días. Con estas variables se calculó el número de hojas presentes como número de hojas totalmente expandidas menos el número de hojas caídas para cada intervalo de fechas estudiado.

Para determinar el área foliar se dibujó, en papel de 75 gr/m², el contorno de 300 hojas elegidas al azar dentro de cada clon y nivel de pulverización durante el primer año. Las imágenes fueron recortadas y pesadas en una balanza de precisión Ohaus Explorter (Capacidad máxima = 150 g, Precisión = 0,1 mg). Las mediciones realizadas en 150 de estas hojas fueron utilizadas para ajustar una función, mediante análisis de regresión múltiple, para estimar el área foliar de cada clon y nivel de pulverización en base al largo y el ancho máximo de la hoja (Montgomery et al. 2002). En los casos en que no existían diferencias en las funciones obtenidas para los distintos niveles de pulverización al 5 % se ajustó una función por clon. Las funciones obtenidas (Tabla 3.2) se validaron con las 150 hojas restantes. En todos los casos se comprobó el cumplimiento de los supuestos necesarios para el análisis de regresión múltiple.

Tabla 3.2 Funciones de ajuste para la estimación del área foliar. L: largo de la lámina, A: ancho máximo, CME: Cuadrado Medio del Error, R²: Coeficiente de determinación expresado en porcentaje.

Clon	Función de ajuste	CME	R ²
Australiano 106/60	$(AF)^{1/2} = -0,20621 + 0,31162 L + 0,58099 A$	0,0724	99,58
I 72/51 Pulverizado	$(AF)^{1/2} = -0,10470 + 0,30997 L + 0,60344 A$	0,0699	99,30
I 72/51 No Pulverizado	$(AF)^{1/2} = -0,26494 + 0,30997 L + 0,60344 A$	0,0699	99,30
Stoneville 109	$(AF)^{1/2} = -0,02868 + 0,32406 L + 0,54709 A$	0,0721	99,37

A fin de poder contemplar la correlación a lo largo del tiempo (años y/o fechas) todas las variables relacionadas con la dinámica de las hojas fueron analizadas mediante modelos mixtos (Mc Culloch y Searle 2001). La estructura de covarianza de los datos fue elegida mediante el criterio de Akaike y en la mayoría de los casos el modelo autorregresivo de orden uno [AR (1)] resultó ser el más adecuado. Cuando se detectaron diferencias significativas en las interacciones, se efectuó un análisis de los tratamientos y las fechas evaluadas por cada clon y año del ensayo. Para detectar diferencias entre medias se utilizó la prueba de comparación de Tukey. Todos los análisis fueron realizados utilizando el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System) versión 9.2.

3.2.3. *Intercepción de la luz*

Para evaluar el efecto de la roya sobre la capacidad de interceptar la luz se midió la fracción de la radiación fotosintéticamente activa (RFA, 400-700 nm) interceptada por el dosel de los clones ‘Australiano 106/60’ e ‘I 72/51’ a diferentes alturas en parcelas pulverizadas y no pulverizadas durante una temporada de crecimiento. El clon “Stoneville 109”, como se explica posteriormente en los resultados, presentó problemas de toxicidad al tratamiento del funguicida y por esta razón no fue considerado.

Las mediciones fueron realizadas con un ceptómetro de la firma Cavadevices que integra el flujo de fotones por unidad de área recibido en un metro lineal.

Se evaluaron un total de 16 parcelas entre las 11 y las 14 horas de días calmos y despejados en 6 fechas, iniciando las mediciones antes de la aparición de las primeras pústulas en enero (Día Juliano 5) y finalizando al inicio de la defoliación otoñal en mayo (Día Juliano 130). El intervalo entre mediciones varió entre 15 y 30 días, con dos mediciones durante enero y una medición en cada uno de los meses subsiguientes. En cada parcela y a intervalos de 1 metro desde el suelo hasta alcanzar el límite superior del dosel, se realizaron 4 mediciones, distanciadas a 90° rotando el ceptómetro 360°. Estas últimas cuatro mediciones fueron promediados para estimar la luz incidente en las diferentes alturas consideradas.

Se evaluó además la luz incidente en áreas abiertas de los alrededores del ensayo, al iniciar, promediar y finalizar las tareas de registro de datos de las parcelas evaluadas, a fin de tener una estimación de la luz incidente sobre la plantación.

Para contemplar la correlación a lo largo del tiempo y de las alturas de medición se utilizó un modelo mixto. Con el objeto de hacer comparables las mediciones efectuadas en distintas fechas se las expresó en función de la radiación incidente sobre el cultivo para la fecha correspondiente.

Finalmente, para establecer la relación entre la luz incidente y el área foliar para las diferentes alturas entre los distintos clones y tratamientos, se estimó el área foliar acumulada desde el ápice hasta cada altura evaluada a través de las fechas estudiadas en dos plantas por parcela en cada una de las repeticiones de los tratamientos evaluados, tal como se describió en el punto 3.2.2. La relación entre ambas variables fue determinada por correlación. Asimismo, se calcularon las pendientes de regresión estimadas. Luego se compararon estas pendientes mediante análisis de regresión que incluye variables categóricas (clones, y tratamientos para cada uno de los clones).

3.2.4. Clorofila y fotosíntesis

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

Se determinó el área foliar y el peso seco de cada hoja. Con estos parámetros se calculó el peso foliar específico. A fin de determinar la concentración de clorofila se realizaron 6 mediciones distribuidas uniformemente en cada hoja con el SPAD-502 (Minolta). La concentración de clorofila se determinó también espectrofotométricamente luego de una extracción a partir de discos de 0,20 cm² con 1 ml de N-N-dimetilformamida. La concentración de clorofila se calculó según Inskeep y Bloom (1985).

Durante el pico del ataque de la roya del segundo año del ensayo se repitió la evaluación de clorofila con el SPAD-502 y se midió la fotosíntesis neta a saturación de luz (Asat) a una concentración de CO₂= 360 ppm con un sistema IRGA CIRAS-2 (PPSystems), utilizando muestras de hojas sanas y enfermas de los clones 'I 72/51' y 'Australiano 106/60'. La respiración en la oscuridad (R) se midió solamente en el clon 'I 72/51'. La tasa de transporte fotosintético de electrones (ETR) se evaluó con un medidor modulado de fluorescencia de la clorofila FMS2 (Hansatech) en hojas sanas y enfermas de ambos clones.

Finalmente al inicio del mes de diciembre del cuarto año de ensayo, cuando aún no se había presentado la enfermedad, se evaluó la concentración de clorofila con el SPAD-502 en una muestra de 30 hojas de los clones 'I 72/51' y 'Australiano 106/60' en parcelas que habían sido mantenidas sanas mediante pulverización y en plantas que habían presentado marcados síntomas de la enfermedad durante las tres temporadas consecutivas anteriores a la medición. Al igual que para las evaluaciones de interceptación de luz el clon "Stoneville 109" no fue considerado

Para detectar diferencias entre medias se utilizó la prueba de comparación de Duncan o Tukey. Todos los análisis fueron realizados utilizando el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System) versión 9.2.

3.2.5. Nitrógeno

Para evaluar en qué medida la roya afecta el reciclado del nitrógeno se determinó la concentración del mismo en hojas sanas y enfermas de los clones 'I 72/51' y 'Australiano 106/60' durante el verano cuando se encontraban aún verdes, en el otoño justo antes de la caída, así como en cepas y raíces durante el período de reposo en el invierno. Al igual que para las evaluaciones de intercepción de luz, clorofila y fotosíntesis, el clon "Stoneville 109" no fue considerado

A fin de estandarizar la edad de las hojas tomadas durante el verano, se muestrearon las ubicadas en la misma posición con respecto al ápice. Para garantizar la finalización del período de translocación de nutrientes en las hojas tomadas en el otoño se consideraron aquellas que habían formado la capa de abscisión y se desprendían de la guía ante la más leve presión sobre el pecíolo. En ambos casos las hojas fueron identificadas, medidas (largo y el ancho máximo de la lámina) y llevadas a peso seco.

Para muestras de cepas se tomó al azar una rodaja de la misma en parcelas pulverizadas y no pulverizadas de ambos clones.

Para las muestras de raíces se eligieron al azar 4 plantas por parcela y se tomaron 4 muestras de suelo a 20 cm de cada cepa, elegida en dos direcciones perpendiculares entre sí, con un cilindro de 8,5 cm de diámetro y 15 cm de largo. En cada muestra se descartaron los primeros 5 cm de suelo y se colectaron las raíces del resto del suelo. Dado que el sistema radical del género *Populus* se desarrolla entre los 5 y 20 cm de profundidad (Pregitzer y Friend, 1996), se esperaba que las muestras contuvieran una adecuada cantidad de raíces para realizar las evaluaciones previstas. Las raíces fueron lavadas, divididas en dos grupos (mayores a 5 mm y menores a 5 mm de diámetro) y llevadas a peso seco.

Las muestras de hojas tomadas durante el verano se enviaron para su análisis al Laboratorio de la Estación Experimental de Balcarce del INTA. El resto de las muestras fueron enviadas al Laboratorio Nacional de Investigaciones y Servicios de N-15 (CONICET-Universidad Nacional del Sur). Para la determinación del porcentaje de nitrógeno total se utilizó el método semi-micro Kjeldahl.

Los datos fueron analizados utilizando el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System) versión 9.2. Para la diferencia entre medias se empleó la prueba de Tukey.

3.3. Resultados

3.3.1. Evolución del ataque de roya

Las primeras pústulas comenzaron a manifestarse en la última semana de diciembre. La severidad de la enfermedad no solamente varió a lo largo del ciclo de crecimiento, sino también a través de los años y el genotipo empleado. El clon 'I 72/51' fue más atacado en enero, especialmente durante la segunda quincena, mientras que el 'Australiano 106/60' lo fue durante febrero. Durante el tercer año ambos clones fueron más atacados

que en las temporadas anteriores (Fig. 3.4). El “Stoneville 109” presentó niveles de ataques inferiores durante los tres años estudiados. Las parcelas tratadas con el fungicida se mantuvieron libres de pústulas durante todo el período vegetativo.

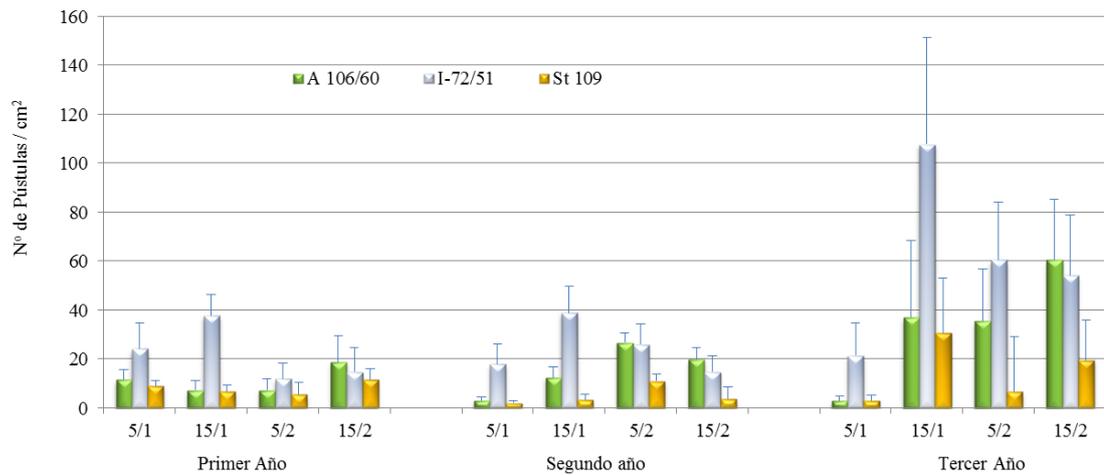


Fig. 3.4 Distribución del ataque de roya por clon durante tres temporadas consecutivas

3.3.2. Dinámica foliar

3.3.2.1. Número de hojas

En el análisis conjunto de la variable hojas desarrolladas durante el ciclo de crecimiento se detectó interacción entre clones y tratamientos ($F=4,68$; $P=0,0118$) y entre tratamientos a través de los años ($F=4,45$; $P=0,0115$), se decidió entonces realizar un análisis de los resultados por año, a fin de poder comparar el comportamiento de los distintos clones dentro de cada año. Este análisis no detectó interacción entre clones y tratamientos ni para el primer ni para el segundo año del ensayo ($F=0,31$; $P=0,5812$ y $F=1,3$; $P=0,2864$ respectivamente), no así para el tercer año en donde la respuesta al tratamiento dependió del clon considerado ($F=4,36$; $P=0,021$).

El número de hojas producidas por cada uno de los clones fue significativamente distinto (Figura 3.5) y no se observaron diferencias entre plantas sanas y atacadas por roya ni para el primer ($F=44,92$; $P<0,0001$ para clon y $F=0,67$; $P=0,4302$ para tratamiento) ni para el segundo ciclo de crecimiento ($F=43,41$; $P<0,0001$ para clon y $F=0,99$; $P=0,3953$ para tratamiento). Sin embargo durante el tercer ciclo de crecimiento, las plantas del clon ‘Australiano 106/60’ atacadas por roya, produjeron mayor número de hojas que las sanas ($F=13,45$; $P=0,0005$), debido principalmente a una importante proliferación de ramitas laterales en la parte media de la planta (Figura 3.6).

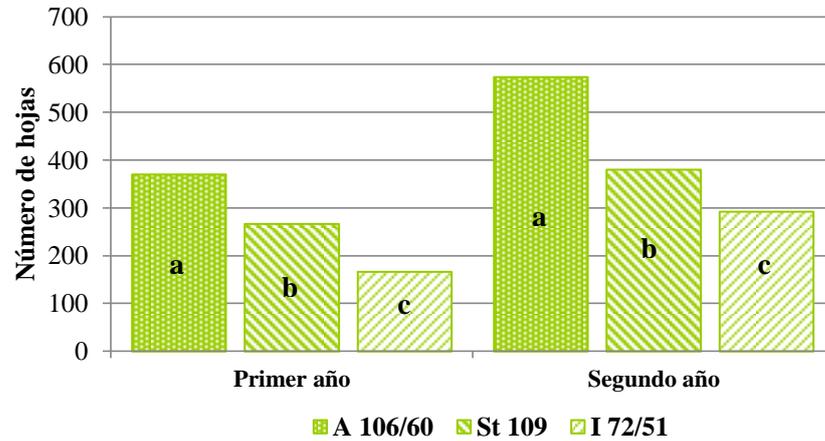


Fig. 3.5 Número total de hojas generadas por planta al final del primer y segundo ciclo de crecimiento para los clones ‘Australiano 129/60’, ‘Stoneville 109’ e ‘I 72/51’ considerando en conjunto plantas sanas y enfermas. Para cada año diferentes letras indican diferencias significativas ($P=0,05$, Tukey)

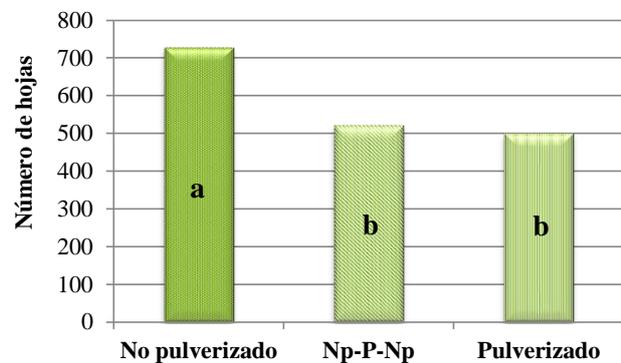


Fig. 3.6 Número total de hojas producidas por planta para el clon ‘Australiano 106/60’ durante el tercer ciclo de crecimiento. Diferentes letras indican diferencias significativas ($P=0,05$, Tukey)

Para la variable hojas caídas también se detectaron interacciones por lo cual se tomó el mismo criterio de partición que para la variable hojas nuevas. Para el segundo y el tercer año del ensayo se incorporó además, un análisis de las hojas caídas a intervalos de 15 días a partir del primero de enero. Este análisis permitió detectar interacciones entre clones, tratamientos y fechas ($F=1,45$; $P=0,0452$), y entre tratamientos, años y fechas ($F=1,93$; $P=0,0105$) por lo cual estos resultados se presentan por clon y año a través de las fechas evaluadas.

El total de hojas caídas hasta mediados de marzo del primer año, fecha de finalización de las evaluaciones, resultó ser significativamente mayor en parcelas no pulverizadas (con roya) que en parcelas pulverizadas ($F=65,37$; $P=0,0001$) (Figura 3.7) independientemente del clon considerado.

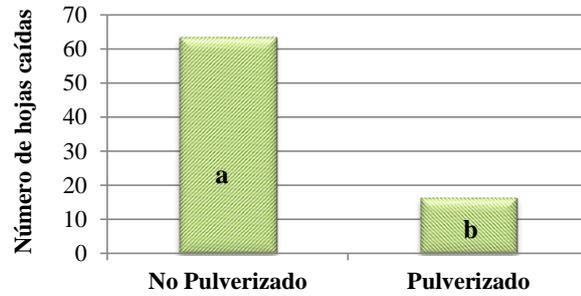


Fig. 3.7 Número total de hojas caídas por planta en parcelas pulverizadas (sin roya) y no pulverizadas (con roya) durante el primer ciclo de crecimiento. Diferentes letras indican diferencias significativas ($P=0,05$, Tukey)

Los clones ‘Australiano 106/60’ y ‘Stoneville 109’ perdieron en términos absolutos más hojas que el clon ‘I 72/51’ ($F=10,56$; $P=0,0023$). Sin embargo, el porcentaje de hojas caídas de los clones ‘Australiano 106/60’ e ‘I 72/51’ resultó similar, diferenciándose entre plantas sanas y enfermas pero no entre clones dentro de cada una de estas categorías. En cambio, el clon ‘Stoneville 109’ presentó el mismo porcentaje de hojas caídas entre plantas sanas y enfermas (Figura 3.8).

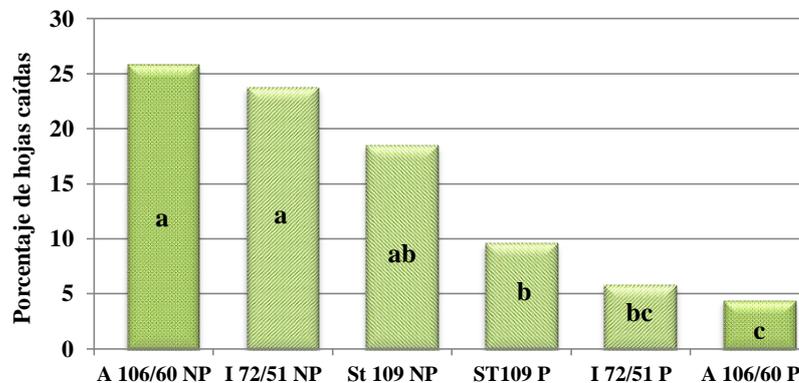


Fig. 3.8 Porcentaje de hojas caídas por planta hasta mediados de marzo en parcelas pulverizadas y no pulverizadas de los clones ‘Australiano 106/60’, ‘Stoneville 109’ e ‘I 72/51’ durante el primer ciclo de crecimiento. Diferentes letras indican diferencias significativas ($P=0,05$, Tukey)

Durante el segundo y tercer año el clon ‘Australiano 106/60’ perdió más hojas durante la primavera (antes de la aparición de roya) y en el otoño, que durante el resto de la temporada de crecimiento ($F=29,73$; $P<0,0001$ y $F=26,84$; $P<0,0001$ respectivamente), y no hubo diferencias entre parcelas pulverizadas y no pulverizadas ($F=0,71$; $P=0,8002$ y $F=1,19$; $P=0,299$ respectivamente).

El clon ‘I 72/51’ presentó diferencias en la cantidad de hojas caídas entre parcelas pulverizadas (sanas) y no pulverizadas (con roya) según la fecha analizada ($F=4,36$; $P<0,0001$ y $F=4,09$; $P<0,0001$ para el segundo y el tercer ciclo de crecimiento respectivamente). Las diferencias se dieron en primavera [hojas caídas totalizadas hasta el 1 de enero ($F=6,67$; $P=0,0027$ y $F=3,9$; $P=0,0267$ para el segundo año y tercer año respectivamente)] y en otoño [15 de abril ($F=9,04$; $P=0,0004$), 15 de mayo ($F=25,14$; $P<0,0001$) y 30 de mayo ($F=5,96$; $P=0,0048$) para el segundo año, y 30 de abril

($F=9,04$; $P=0,0004$), 15 de mayo ($F=27,28$; $P<0,0001$) y 30 de mayo ($F=3,93$; $P=0,0259$) para el tercer año]. Durante la primavera y hasta el primero de enero, antes del inicio de un nuevo ciclo de la enfermedad y de la aplicación de los tratamientos de pulverización correspondientes a dicho año, se cayeron más hojas de las plantas pulverizadas que de las no pulverizadas el año anterior. Por otro lado, durante el principio del otoño se cayeron más hojas de las plantas de parcelas no pulverizadas (con roya), mientras que durante mediados y fines del otoño se cayeron más hojas de las plantas pulverizadas (Tabla 3.3, Figura 3.9 y 3.10).

Tabla 3.3 Número de hojas caídas por planta en parcelas de 'I 72/51' con distintos tratamientos de pulverización para las fechas que presentaron diferencias significativas durante el segundo y el tercer ciclo de crecimiento. Diferentes letras indican diferencias significativas ($P=0,05$, Tukey)

2 ^{do} año de ensayo	Pulverizado	No pulverizado Pulverizado	No pulverizado
1 de enero	109 ab	70 c	90 bc
15 de abril	42 a	13 b	63 a
15 de mayo	87 a	97 a	13 b
31 de mayo	29 a	45 a	3 b
3 ^{er} año de ensayo	Pulverizado	No pulverizado Pulverizado No pulverizado	No pulverizado
1 de enero	85 ab	102 a	66 bc
30 de abril	53 b	66 b	91 a
15 de mayo	125 a	49 b	45 b
31 de mayo	35 a	10 b	1 b

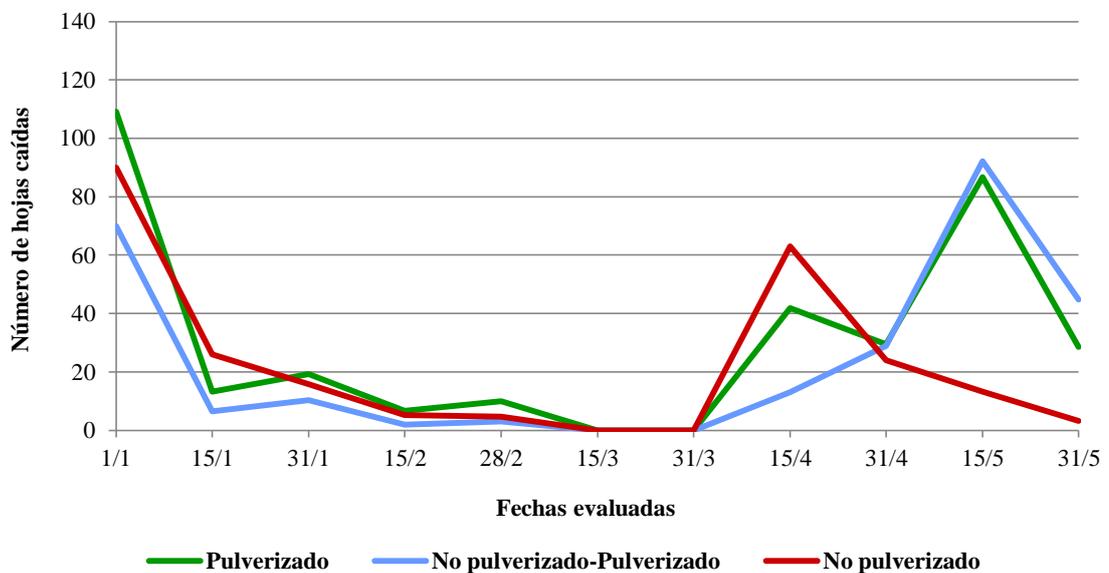


Fig. 3.9 Número de hojas caídas por planta en parcelas del clon 'I 72/51' pulverizadas, no pulverizadas-pulverizadas y no pulverizadas durante el segundo ciclo de crecimiento

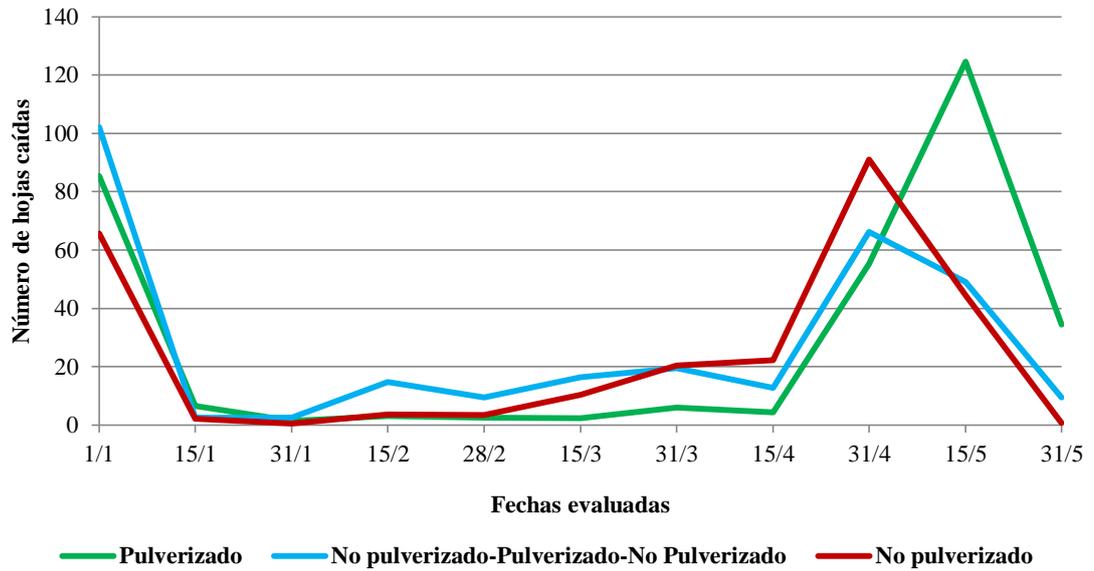


Fig. 3.10 Número de hojas caídas por planta en parcelas del clon ‘I 72/51’ pulverizadas, no pulverizadas-pulverizadas-no pulverizadas y no pulverizadas durante el tercer ciclo de crecimiento

El clon “Stoneville 109” presentó distinto comportamiento según el año considerado. Durante el segundo año, al igual que el clon ‘Australiano 106/60’, el “Stoneville 109” perdió más hojas durante la primavera y en el otoño que durante el resto de la temporada de crecimiento ($F=38,52$; $P<0,0001$) y no hubo diferencias entre parcelas pulverizadas y no pulverizadas ($F=1,31$; $P=0,2159$). En cambio, durante el tercer año, al igual que el ‘I 72/51’, el “Stoneville 109” presentó diferencias entre los tratamientos de pulverización según las fechas de evaluación ($F=5,94$; $P<0,0001$). En el mes de abril se observó una mayor caída de hojas en plantas de parcelas no pulverizadas ($F=22,35$; $P<0,0001$), mientras que en el mes de mayo las parcelas pulverizadas presentaron mayor caída de hojas [($F=20,44$; $P<0,0001$) ($F=4,22$; $P=0,0203$ para el 15 y 31 de mayo respectivamente) (Tabla 3.4).

Tabla 3.4 Número de hojas caídas por planta en parcelas de “Stoneville 109” con distintos tratamientos de pulverización para las fechas que presentaron diferencias significativas durante el tercer ciclo de crecimiento. Diferentes letras indican diferencias significativas ($P=0,05$, Tukey)

3 ^{er} año de ensayo	Pulverizado	No pulverizado	
		Pulverizado	No pulverizado
30 de abril	77 b	130 a	145 a
15 de mayo	123 a	60 c	83 b
31 de mayo	42 a	19 b	15 b

Al analizar el número de hojas presentes, correspondiente al balance entre el número de hojas totalmente expandidas y el número de hojas caídas a lo largo de la estación de

crecimiento, se detectaron interacciones entre clones, años y fechas ($F=1,69$; $P=0,0338$) y entre tratamientos, años y fechas ($F=1,67$; $P=0,0381$), por lo cual estos resultados se presentan también por clon y año a través de las fechas evaluadas.

En el ‘Australiano 106/60’ la cantidad de hojas presentes por planta varió a lo largo de la estación de crecimiento pero no se detectaron diferencias entre tratamientos [($F=26,91$; $P<0,0001$), ($F=0,57$; $P=0,9175$), y ($F=37,42$; $P<0,0001$), ($F=0,85$; $P=0,6442$) para fecha y tratamiento durante el segundo y tercer año del ensayo respectivamente] (Figura 3.11 y 3.12).

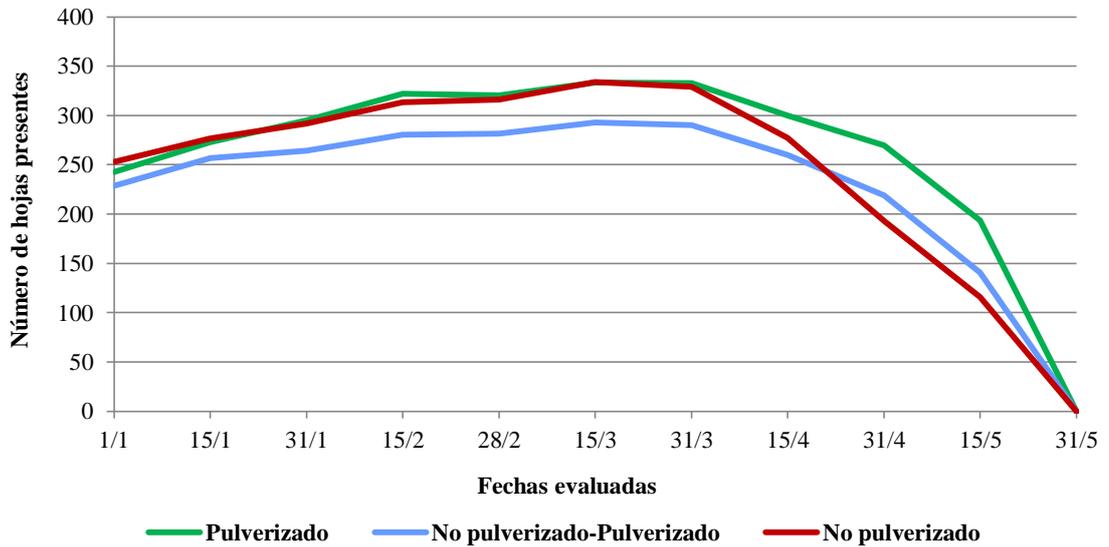


Fig. 3.11 Número de hojas presentes por planta en parcelas del clon ‘Australiano 106/60’ pulverizadas, no pulverizadas-pulverizadas y no pulverizadas durante el segundo año de ensayo

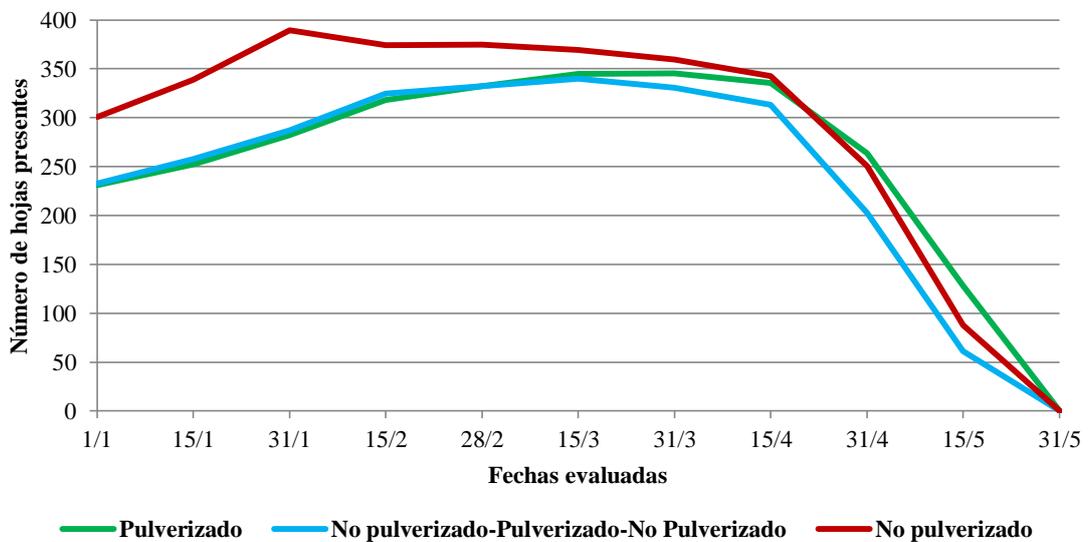


Fig. 3.12 Número de hojas presentes por planta en parcelas del clon ‘Australiano 106/60’ pulverizadas, no pulverizadas-pulverizadas-no pulverizadas y no pulverizadas durante el tercer año de ensayo

En cambio el clon 'I 72/51' presentó distinto comportamiento entre los tratamientos según la fecha considerada ($F=4,58$; $P<0,0001$). Durante el segundo año se encontraron diferencias entre los tratamientos desde la primera fecha evaluada y hasta mediados de otoño [1 de enero ($F=5,13$; $P=0,0094$), 15 de enero ($F=7,42$; $P=0,0015$), 31 de enero ($F=7,49$; $P=0,0014$), 15 de febrero ($F=8,03$; $P=0,0009$), 28 de febrero ($F=7,55$; $P=0,0014$), 15 de marzo ($F=8,19$; $P=0,0008$), 31 de marzo ($F=8,19$; $P=0,0008$), 15 de abril ($F=17,63$; $P<0,0001$) y 30 de abril ($F=16,16$; $P<0,0001$)]. Durante este período las plantas de las parcelas con dos años de pulverización presentaron una cantidad de hojas similar a las de las parcelas pulverizadas solamente durante el segundo año del ensayo y mayor a las plantas de las parcelas no pulverizadas (Tabla 3.5, Figura 3.13).

Para el tercer año se encontraron diferencias entre parcelas pulverizadas y no pulverizadas desde el mes de febrero y hasta el mes de abril [28 de febrero ($F=3,64$; $P=0,0334$), 15 de marzo ($F=7,21$; $P=0,0018$), 31 de marzo ($F=10,84$; $P=0,0001$), 15 de abril ($F=14,36$; $P<0,0001$) y 30 de abril ($F=22,22$; $P<0,0001$)]. Durante este año, las plantas que recibieron el tratamiento combinado (Np-P-Np) presentaron una cantidad de hojas similar a las no pulverizadas e inferior a las de plantas pulverizadas (Tabla 3.5, Figura 3.14).

Tabla 3.5 Número de hojas presentes por planta en parcelas del clon 'I72/51' con distintos tratamientos de pulverización para las fechas que presentaron diferencias significativas durante el segundo y tercer ciclo de crecimiento. Diferentes letras indican diferencias significativas ($P=0,05$, Tukey)

2 ^{do} año de ensayo	Pulverizado	No pulverizado Pulverizado	No pulverizado
1 de enero	186 a	150 a	117 b
15 de enero	191 a	156 a	106 b
31 de enero	187 a	163 a	103 b
15 de febrero	192 a	171 a	105 b
28 de febrero	184 a	171 a	102 b
15 de marzo	187 a	179 a	104 b
31 de marzo	187 a	179 a	104 b
15 de abril	145 a	166 a	41 b
30 de abril	115 a	137 a	17 b
3 ^{er} año de ensayo	Pulverizado	No pulverizado Pulverizado	No pulverizado
28 de febrero	215 a	167 b	186 b
15 de marzo	222 a	155 b	179 b
31 de marzo	218 a	138 b	159 b
15 de abril	214 a	125 b	136 b
30 de abril	159 a	58,7 b	45 b

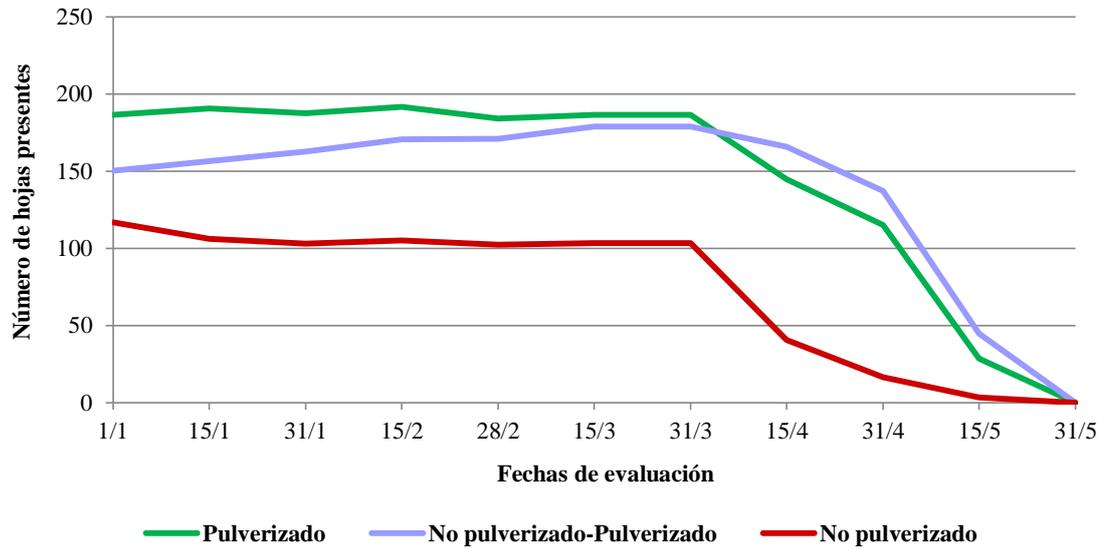


Fig. 3.13 Número de hojas presentes por planta en parcelas del clon 'I 72/51' pulverizadas, no pulverizadas-pulverizadas y no pulverizadas durante el segundo ciclo de crecimiento

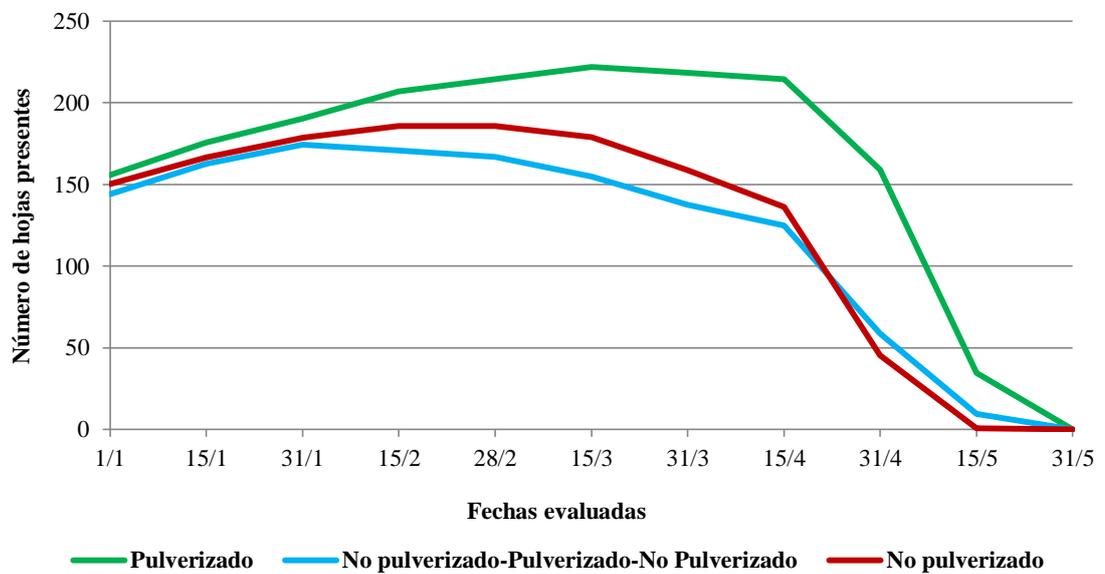


Fig. 3.14 Hojas presentes por planta en parcelas del clon 'I 72/51' pulverizadas, no pulverizadas-pulverizadas-no pulverizadas y no pulverizadas durante el tercer ciclo de crecimiento

El clon "Stoneville 109" presentó un comportamiento similar al del clon 'Australiano 106/60' para el segundo año del ensayo, con variaciones de la cantidad de hojas durante la estación de crecimiento ($F=51,71$; $P<0,0001$) pero sin llegar a diferenciarse entre los tratamientos ($F=1,23$; $P=0,3666$). Sin embargo, el tratamiento pulverizado presentó mayor cantidad de hojas que los otros dos tratamientos ($F=10,1$; $P=0,0002$) durante el tercer año (Tabla 3.6).

Tabla 3.6 Número de hojas presentes por planta en parcelas de “Stoneville 109” con distintos tratamientos de pulverización para las fechas que presentaron diferencias durante el tercer ciclo de crecimiento. Diferentes letras indican diferencias significativas ($P=0,05$, Tukey)

3 ^{er} año de ensayo	Pulverizado	No pulverizado	No pulverizado
		Pulverizado	No pulverizado
30 de abril	165 a	77 b	98 b

3.3.2.2. Área foliar

Para la variable área foliar producida durante el ciclo anual de crecimiento, a diferencia con lo ocurrido para número de hojas desarrolladas para el mismo período, se detectó interacción entre clones y tratamientos ($F=7,22$; $P=0,0019$), entre clones a través de los años ($F=9,21$; $P<0,0001$) y entre tratamientos a través de los años ($F=7,6$; $P=0,0008$). Al igual que en los casos anteriores se realizan los análisis por clon y año.

Durante el primer año del ensayo se encontraron diferencias significativas entre tratamientos solamente para los clones ‘I 72/51’ ($F=22,12$; $P=0,0005$) y “Stoneville 109” ($F=27,72$; $P=0,0002$) (Tabla 3.7), mientras que no hubo diferencias para el clon ‘Australiano 106/60’ ($F=1,51$; $P=0,2428$). Para el caso de los clones ‘I 72/51’ y “Stoneville 109” este resultado no es coincidente con el obtenido para número de hojas y se debe a diferencias en el tamaño de las mismas. Las hojas infectadas por roya del clon ‘I 72/51’ fueron de menor tamaño que las sanas ($F=85,39$; $P<0,0001$ y $F=98,37$; $P<0,0001$ para largo y ancho máximo respectivamente), en cambio en el clon “Stoneville 109” las hojas de menor tamaño fueron las pulverizadas ($F=12,61$; $P=0,0004$ y $F=24,06$; $P<0,0001$ para largo y ancho máximo respectivamente), lo cual podría deberse a una menor tolerancia del clon al funguicida. Este tipo de efecto no se había manifestado en los tratamientos realizados con tebuconazole al momento de definir el producto y la dosis. Sin embargo, es uno de los posibles tipos de daños secundarios no deseables que pueden darse durante los tratamientos (Tabla 3.8).

Tabla 3.7 Área foliar desarrollada por planta para los clones “Australiano 106/60”, ‘I 72/51’ y “Stoneville 109” con distintos tratamientos de pulverización para el primer ciclo de crecimiento. Diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos de un mismo clon ($P=0,05$, Tukey).

	Área foliar (cm ²)		
	Australiano 106/60	I 72/51	Stoneville 109
Pulverizado	42.387 a	41.569 a	30.421 b
No pulverizado	45.233 a	30.677 b	42.615 a

Tabla 3.8 Ancho máximo y largo de las láminas foliares de las plantas de los clones ‘I 72/51’ y ‘Stoneville 109’ con distintos tratamientos de pulverización para el primer ciclo de crecimiento. Diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos de un mismo clon ($P=0,05$, Tukey).

	Largo (cm)		Ancho (cm)		Cantidad de hojas evaluadas
‘I 72/51’ Pulverizado	16,29	a	16,15	a	1.874
‘I 72/51’ No Pulverizado	15,04	b	14,92	b	1.878
“Stoneville 109” Pulverizado	13,84	b	11,96	b	2.799
“Stoneville 109” No Pulverizado	14,26	a	12,49	a	3.611

Durante el segundo año del ensayo solamente se detectaron diferencias en el área foliar producida por el clon ‘I 72/51’ ($F=10,21$; $P=0,002$). En este año las plantas sanas superaron tanto a las plantas enfermas como a las que recibieron el tratamiento con fungicida solamente durante una temporada (Tabla 3.9).

En el tercer año se observaron diferencias en el clon ‘Australiano 106/60’ y, al igual que para la producción de nuevas hojas, las plantas de parcelas no pulverizadas generaron mayor área foliar que las correspondientes a las de parcelas que recibieron al menos un tratamiento de pulverización (Tabla 3.9).

Tabla 3.9 Área foliar generada por planta para los clones ‘I 72/51’ y ‘Australiano 106/60’ con distintos tratamientos de pulverización para el segundo y tercer año del ensayo respectivamente. Diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos de un mismo clon ($P=0,05$, Tukey)

	Área foliar (cm ²)		
	Pulverizado	No pulverizado-Pulverizado	No pulverizado
‘I 72/51’ Segundo año del ensayo	70.856 a	50.830 b	38.742 b
‘Australiano 106/60’. Tercer año del ensayo	74.875 b	77.923 b	108.940 a

Para la variable área foliar perdida, al igual que en el caso del número de hojas caídas, se detectaron interacciones entre clones, tratamientos y fechas ($F=2,05$; $P=0,0004$) y entre tratamientos, años y fechas ($F=2,99$; $P<0,0001$). Sin embargo para esta variable, y a diferencia de lo encontrado para número de hojas caídas, también se detectó interacción entre clones, años y fechas ($F=2,99$; $P<0,0001$).

El clon ‘Australiano 106/60’ perdió más área foliar durante la primavera (antes de la aparición de roya) y en el otoño (defoliación otoñal) que durante el resto de la temporada de crecimiento ($F=21,53$; $P<0,0001$ y $F=28,1$; $P<0,0001$ respectivamente), y pese a que se observó una mayor defoliación en las plantas no pulverizadas en abril del

segundo año del ensayo y en febrero del tercer año, no se detectaron diferencias significativas entre parcelas pulverizadas y no pulverizadas ni para el segundo ni tercer año respectivamente ($F=0,99$; $P=0,4869$ y $F=1,07$; $P=0,4077$).

En el clon 'I 72/51' el área foliar perdida presentó un comportamiento similar al del número de hojas caídas, con diferencias significativas entre parcelas pulverizadas y no pulverizadas durante el segundo ($F=4,84$; $P<0,0001$) y tercer ciclo de crecimiento ($F=4,09$; $P<0,0001$), tanto en primavera [hasta el 1 de enero ($F=4,93$; $P=0,0111$) y ($F=3,90$; $P=0,0267$) respectivamente] como en otoño [15 de abril ($F=7,38$; $P=0,0016$), 15 de mayo ($F=35,71$; $P<0,0001$) y 30 de mayo ($F=5,17$; $P=0,0091$), y 30 de abril ($F=3,77$; $P=0,0298$), 15 de mayo ($F=27,28$; $P<0,0001$) y 30 de mayo ($F=3,93$; $P=0,0259$) respectivamente] (Tabla 3.10, Figura 3.15 y 3.16).

Tabla 3.10 Área foliar perdida (cm^2) por planta en parcelas del clon 'I 72/51' con distintos tratamientos de pulverización para las fechas que presentaron diferencias durante el segundo y tercer ciclo de crecimiento. Diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos para cada fecha ($P=0,05$, Tukey)

		Área foliar (cm^2)			
2 ^{do} año de ensayo	Pulverizado	No pulverizado- Pulverizado	No pulverizado		
1 de enero	16.042 a	8.673 b	9.332 b		
15 de abril	8.624 a	1.888 b	12.296 a		
15 de mayo	23.500 a	22.984 a	1.814 b		
31 de mayo	7.201 a	9.130 a	246 b		
3 ^{er} año de ensayo	Pulverizado	No pulverizado- Pulverizado- No pulverizado	No pulverizado		
1 de enero	23.134 bc	27.697 ab	17825 c		
30 de abril	15.001 c	17.938 bc	24.670 ab		
15 de mayo	33.752 a	13.329 b	12.064 b		
31 de mayo	9.352 a	2.575 b	203 b		

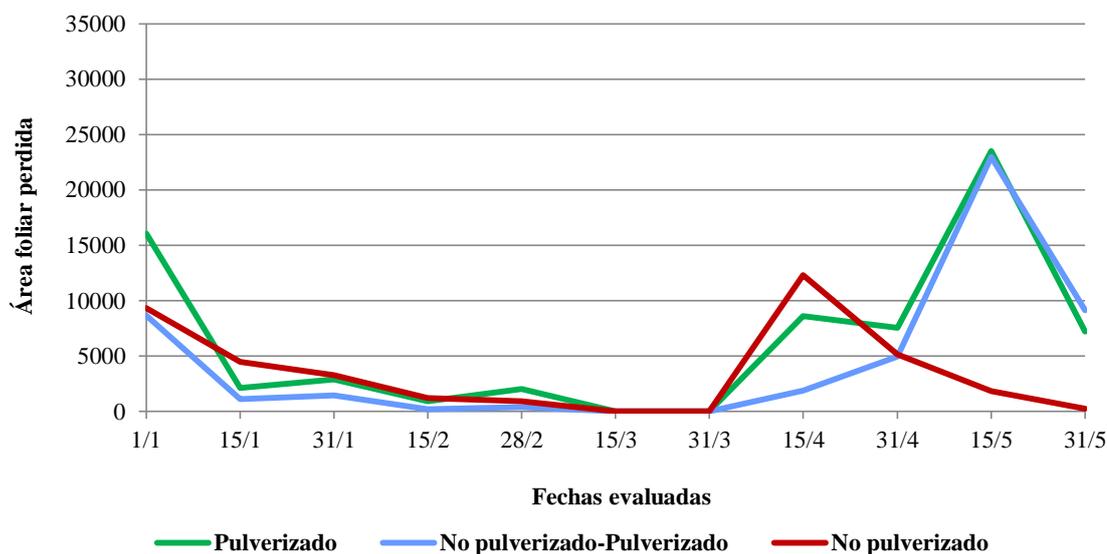


Fig. 3.15 Área foliar perdida (cm^2) por planta en parcelas del clon 'I 72/51' pulverizadas, no pulverizadas-pulverizadas y no pulverizadas durante el segundo ciclo de crecimiento

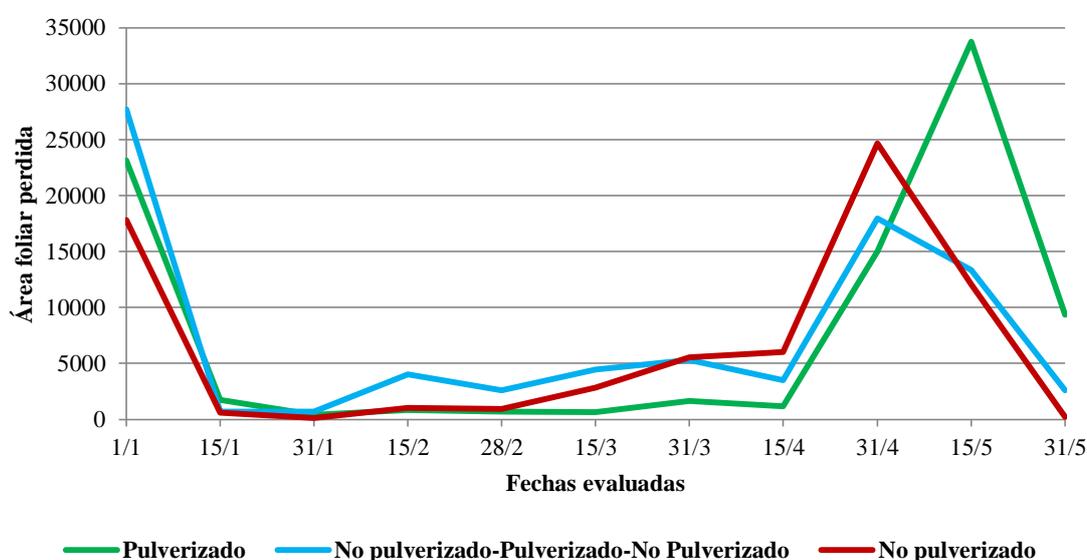


Fig. 3.16 Área foliar perdida (cm^2) por planta en parcelas del clon 'I 72/51' pulverizadas, no pulverizadas-pulverizadas-no pulverizadas y no pulverizadas durante el tercer ciclo de crecimiento

Es interesante destacar que para esta variable las diferencias entre los tratamientos son de mayor magnitud que para el número de hojas, debido a que la misma contempla además las diferencias en el tamaño de hoja reportadas en la tabla 3.8.

El clon "Stoneville 109" presentó distinto comportamiento entre tratamientos de pulverización según la fecha considerada tanto para el segundo como para el tercer año ($F=2,06$; $P=0,0183$ y $F=5,25$; $P<0,0001$). Las parcelas no pulverizadas (enfermas) presentaron una mayor pérdida de área foliar el 30 de abril ($F=12,13$; $P<0,0001$ y $F=22,46$; $P<0,0001$ para el segundo y tercer año respectivamente), mientras que las de parcelas pulverizadas lo hicieron el 15 de mayo para ambos años [$F=5,64$; $P=0,0059$ $F=20,54$; $P<0,0001$ respectivamente) y el 30 de mayo solamente para el tercer año

(F=4,24; P=0,0194). Las parcelas con tratamientos combinados perdieron un área foliar similar a las parcelas pulverizadas y menor que las no pulverizadas para el 30 de abril del segundo año y semejante al de las parcelas no pulverizadas durante el tercer año (Tabla 3.11, Figura 3.17 y 3.18), coincidiendo el comportamiento con el tratamiento recibido el segundo año independientemente del tratamiento del año anterior. Mientras que para mayo del segundo año las plantas de tratamientos combinados no logran diferenciarse de las de los otros dos tratamientos durante el segundo año y presentan una menor pérdida de área foliar que las correspondientes a las plantas pulverizadas.

Tabla 3.11 Área foliar perdida por planta en parcelas de “Stoneville 109” con distintos tratamientos de pulverización para las fechas que presentaron diferencias significativas durante el segundo y tercer ciclo de crecimiento. Diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos para cada fecha (P=0,05, Tukey)

Área foliar (cm ²)			
2 ^{do} año de ensayo	Pulverizado	No pulverizado-Pulverizado	No pulverizado
30 de abril	8.252 b	8.518 b	18.963 a
15 de mayo	17.057 a	13.748 ab	8.989 b
3 ^{er} año de ensayo	Pulverizado	No pulverizado-Pulverizado	No pulverizado
30 de abril	10.063 b	16.974 a	18.843 a
15 de mayo	16.083 a	7.824 c	10.758 b
31 de mayo	5.499 a	2.195 b	1.980 b

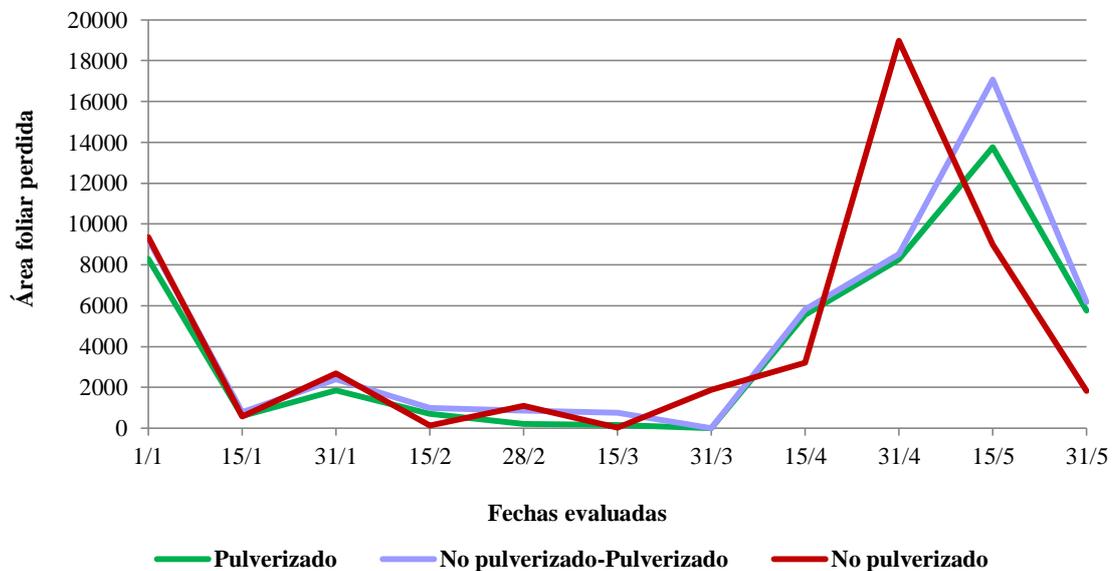


Fig. 3.17 Área foliar perdida (cm²) por planta en parcelas del clon “Stoneville 109” pulverizadas, no pulverizadas-pulverizadas y no pulverizadas durante el segundo ciclo de crecimiento

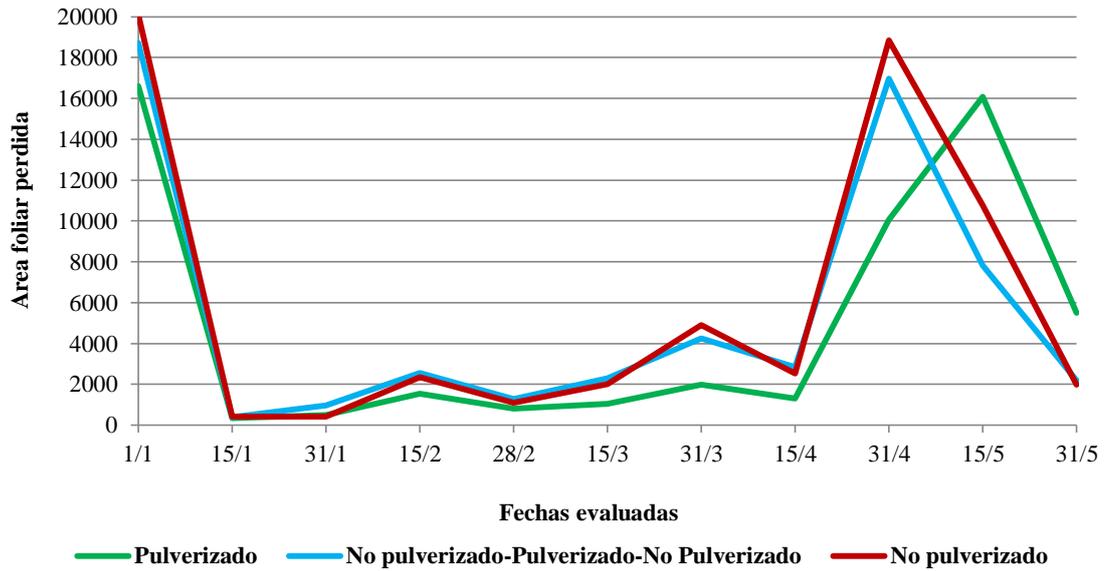


Fig. 3.18 Área foliar perdida (cm²) por planta en parcelas del clon “Stoneville 109” pulverizadas, no pulverizadas-pulverizadas-no pulverizadas y no pulverizadas durante el tercer ciclo de crecimiento

Finalmente para la variable área foliar por planta, que considera el balance entre el área foliar producida y perdida a través del ciclo de crecimiento, se detectaron interacciones entre clones, tratamientos y fechas ($F=1,09$; $P=0,0015$) y entre tratamientos, años y fechas ($F=2,54$; $P=0,0004$) como en la variable número de hojas, y también entre clones, tratamientos y fechas ($F=2,86$; $P<0,0001$).

El clon ‘Australiano 106/60’ presentó diferencias de área foliar a través de la estación de crecimiento ($F=30,25$; $P<0,0001$ y $F=37,42$; $P<0,0001$ para el segundo y tercer año respectivamente) pero no entre tratamientos ($F=0,75$; $P=0,7581$ y $P=0,85$; $F=0,6442$ respectivamente) (Figura 3.19 y 3.20).

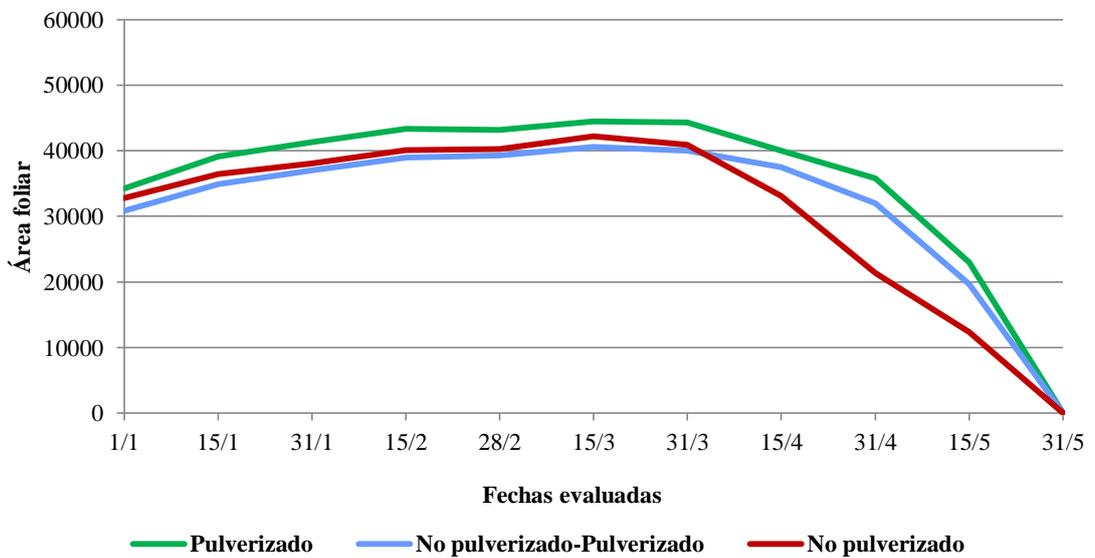


Fig. 3.19 Área foliar por planta (cm²) en parcelas del clon ‘Australiano 106/60’ pulverizadas, no pulverizadas-pulverizadas y no pulverizadas durante la segunda estación de crecimiento

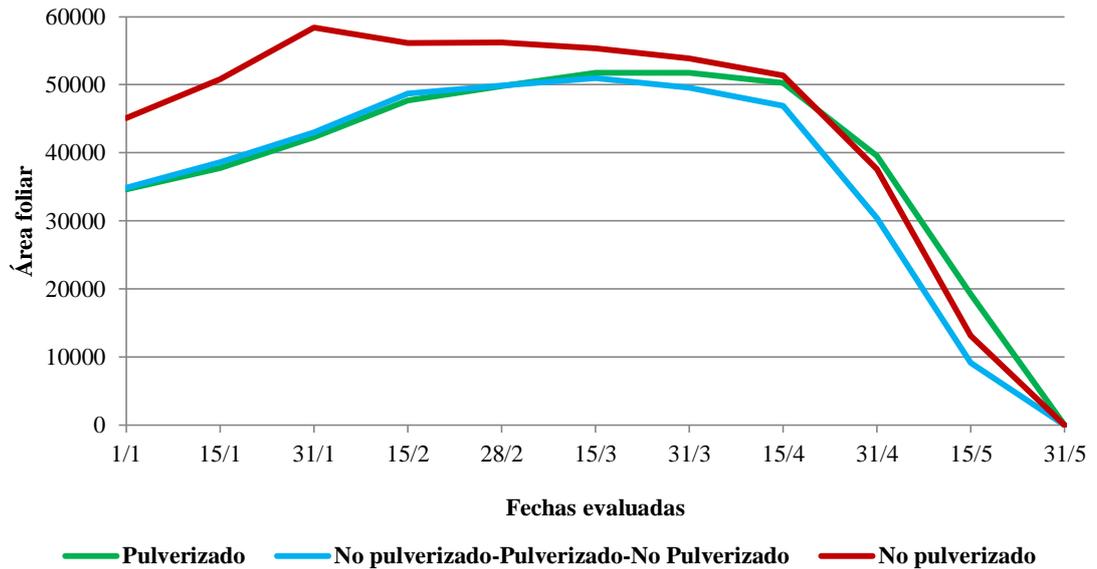


Fig. 3.20 Área foliar por planta (cm²) en parcelas del clon ‘Australiano 106/60’ pulverizadas, no pulverizadas-pulverizadas-no pulverizadas y no pulverizadas durante el tercer ciclo de crecimiento

Por su lado el clon ‘I 72/51’ presentó diferencias entre tratamientos según la fecha considerada ($F=5,42$; $P<0,0001$ y $F=3,92$; $P<0,0001$ para el segundo y tercer año del ensayo). Las diferencias en el área foliar fueron mayores en magnitud que para el número de hojas y se presentaron el 1 de enero ($F=13,68$; $P<0,0001$), el 15 de enero ($F=17,70$; $P<0,0001$), 31 de enero ($F=20,83$; $P<0,0001$), 15 de febrero ($F=23,03$; $P<0,0001$), 28 de febrero ($F=21,56$; $P<0,0001$), 15 de marzo ($F=22,3$; $P<0,0001$), 31 de marzo ($F=22,3$; $P<0,0001$), 15 de abril $F=33,92$; $P<0,0001$) y 30 de abril ($F=31,53$; $P<0,0001$) para el segundo año del ensayo y el 28 de febrero ($F=3,64$; $P=0,0334$), 15 de marzo ($F=7,21$; $P=0,0018$), 31 de marzo ($F=10,84$; $P=0,0001$), 15 de abril ($F=14,36$; $P<0,0001$) y 30 de abril ($F=22,22$; $P<0,0001$) para el tercer año (Tabla 3.12, Figuras 3.21 y 3.22).

Tabla 3.12 Área foliar por planta en parcelas de 'I72/51' con distintos tratamientos de pulverización para el segundo y tercer año del ensayo que presentaron diferencias durante la temporada de crecimiento. Diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos para cada fecha (P=0,05, Tukey)

2 ^{do} año de ensayo	Área foliar (cm ²)		
	Pulverizado	No pulverizado Pulverizado	No pulverizado
1 de enero	42.291 a	29.707 b	21.292 c
15 de enero	45.872 a	33.199 b	21.535 c
31 de enero	47.048 a	35.750 b	20.359 c
15 de febrero	48.150 a	37.336 b	20.076 c
28 de febrero	46.459 a	37.533 b	19.399 c
15 de marzo	46.860 a	38.962 b	19.496 c
31 de marzo	46.860 a	38.962 b	19.496 c
15 de abril	38.325 a	37.074 a	7.199 b
30 de abril	32.115 a	30.701 a	2.060 b
3 ^{er} año de ensayo	Pulverizado	No pulverizado Pulverizado	No pulverizado
28 de febrero	58.15 a	45.183 b	50.357 b
15 de marzo	60.139 a	41.975 b	48.527 b
31 de marzo	59.145 a	37.276 b	42.969 b
15 de abril	58.160 a	33.842 b	36.937 b
30 de abril	43.105 a	15.905 b	12.267 b

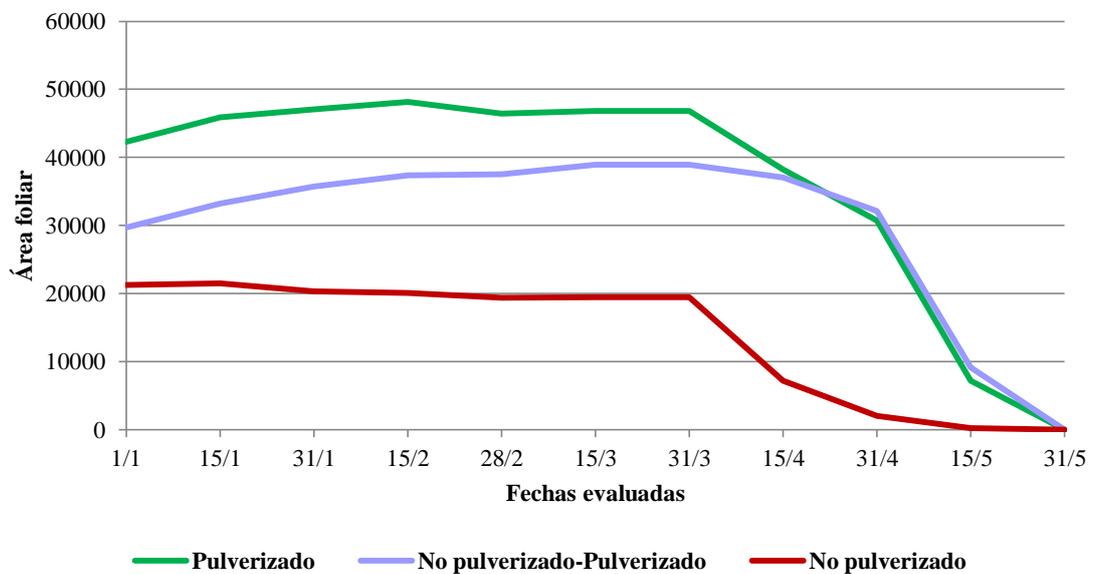


Fig. 3.21 Área foliar por planta (cm²) en parcelas del clon 'I 72/51' pulverizadas, no pulverizadas-pulverizadas y no pulverizadas durante el segundo ciclo de crecimiento

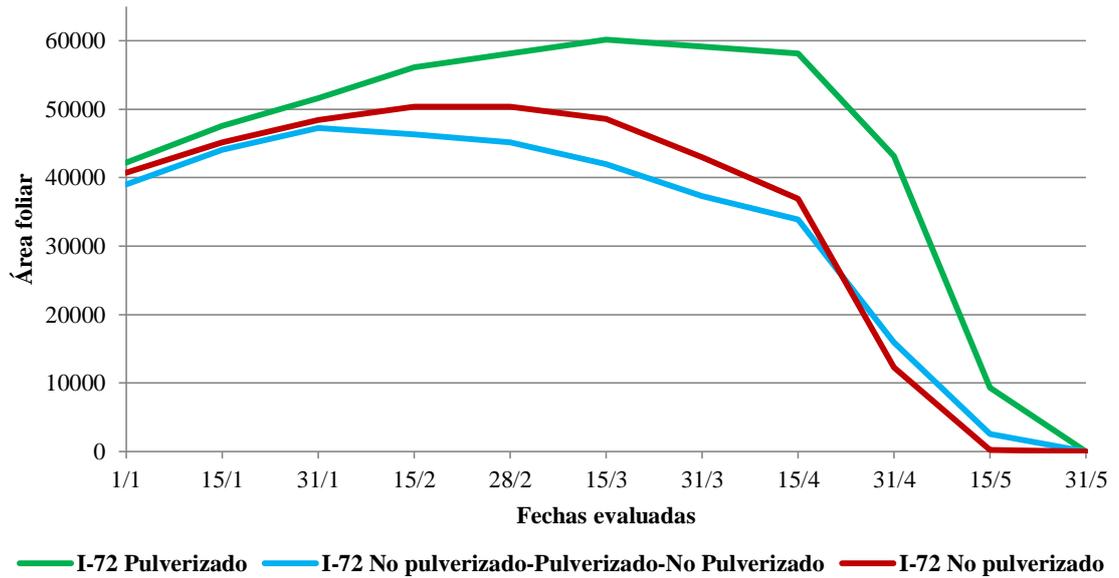


Fig. 3.22 Área foliar (cm²) por planta en parcelas del clon 'I 72/51' pulverizadas, no pulverizadas-pulverizadas-no pulverizadas y no pulverizadas durante el tercer ciclo de crecimiento

El clon "Stoneville 109" presentó diferencias en área foliar, al igual que en el número de hojas, solamente para la medición del 30 de abril ($F=3,79$; $P=0,0294$) en la cual las parcelas no pulverizadas tenían menos área foliar que las parcelas que habían tenido al menos un tratamiento de pulverización (Tabla 3.13, Figuras 3.23 y 3.24).

Tabla 3.13 Área foliar por planta (cm²) en parcelas de "Stoneville 109" con distintos tratamientos de pulverización para el tercer año del ensayo que presentaron diferencias durante la temporada de crecimiento. Diferentes letras indican diferencias significativas ($P=0,05$, Tukey)

3 ^{er} año de ensayo	Área foliar (cm ²)		
	Pulverizado	No pulverizado-Pulverizado No pulverizado	No pulverizado
30 de abril	21581 a	10.019 b	12.747 b

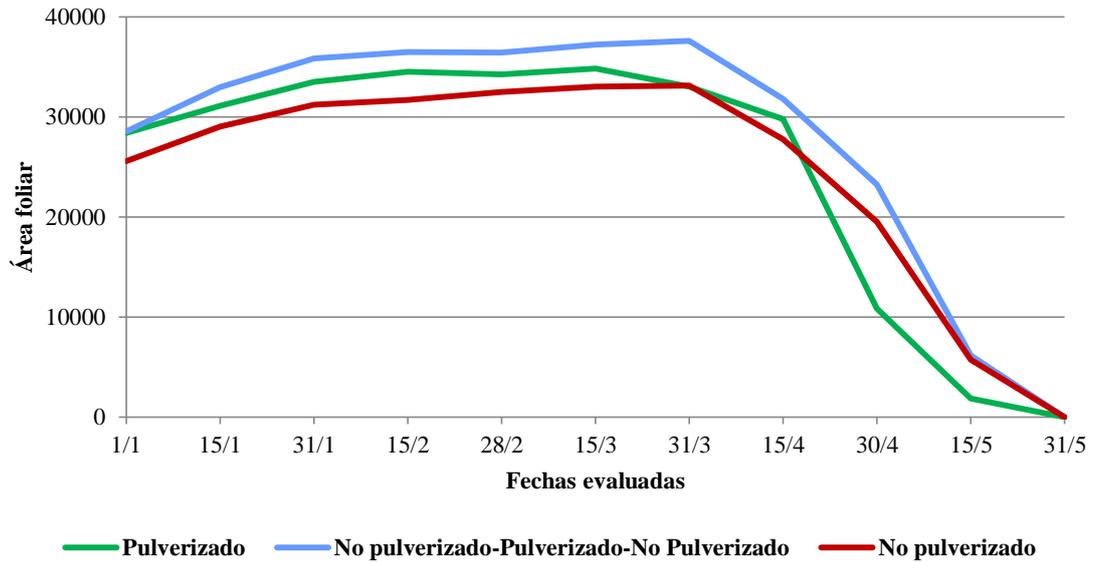


Fig. 3.23 Área foliar por planta (cm^2) en parcelas del clon “Stoneville 109” pulverizadas, no pulverizadas-pulverizadas y no pulverizadas durante el segundo ciclo de crecimiento

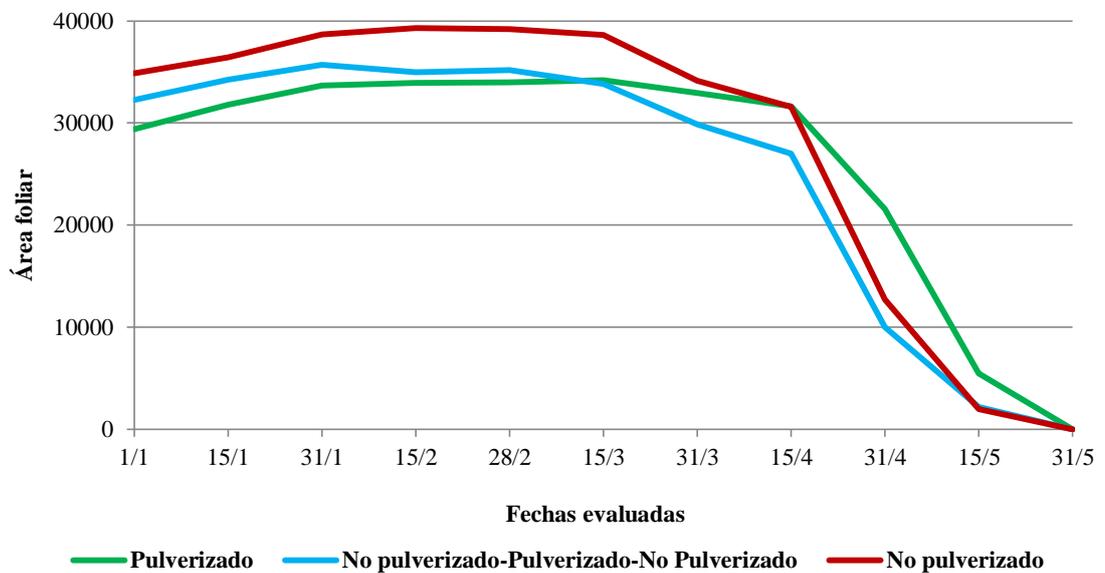


Fig. 3.24 Área foliar por planta (cm^2) en parcelas del clon “Stoneville 109” pulverizadas, no pulverizadas-pulverizadas-no pulverizadas y no pulverizadas durante el tercer ciclo de crecimiento

3.3.3. Intercepción de la luz

La radiación fotosintéticamente activa que llegó a la parte superior del dosel del cultivo al mediodía en días despejados en los que se realizaron las evaluaciones varió a lo largo de la temporada evaluada entre $1600 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para el mes de enero y $900 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para el mes de mayo.

Se observaron cambios en la transmisión de la radiación fotosintéticamente activa en función de la radiación incidente a lo largo de la temporada de crecimiento para los dos

clones considerados en estas mediciones ('Australiano 106/60' e 'I 72/51'), tanto en parcelas pulverizadas como no pulverizadas (Figura 3.25).

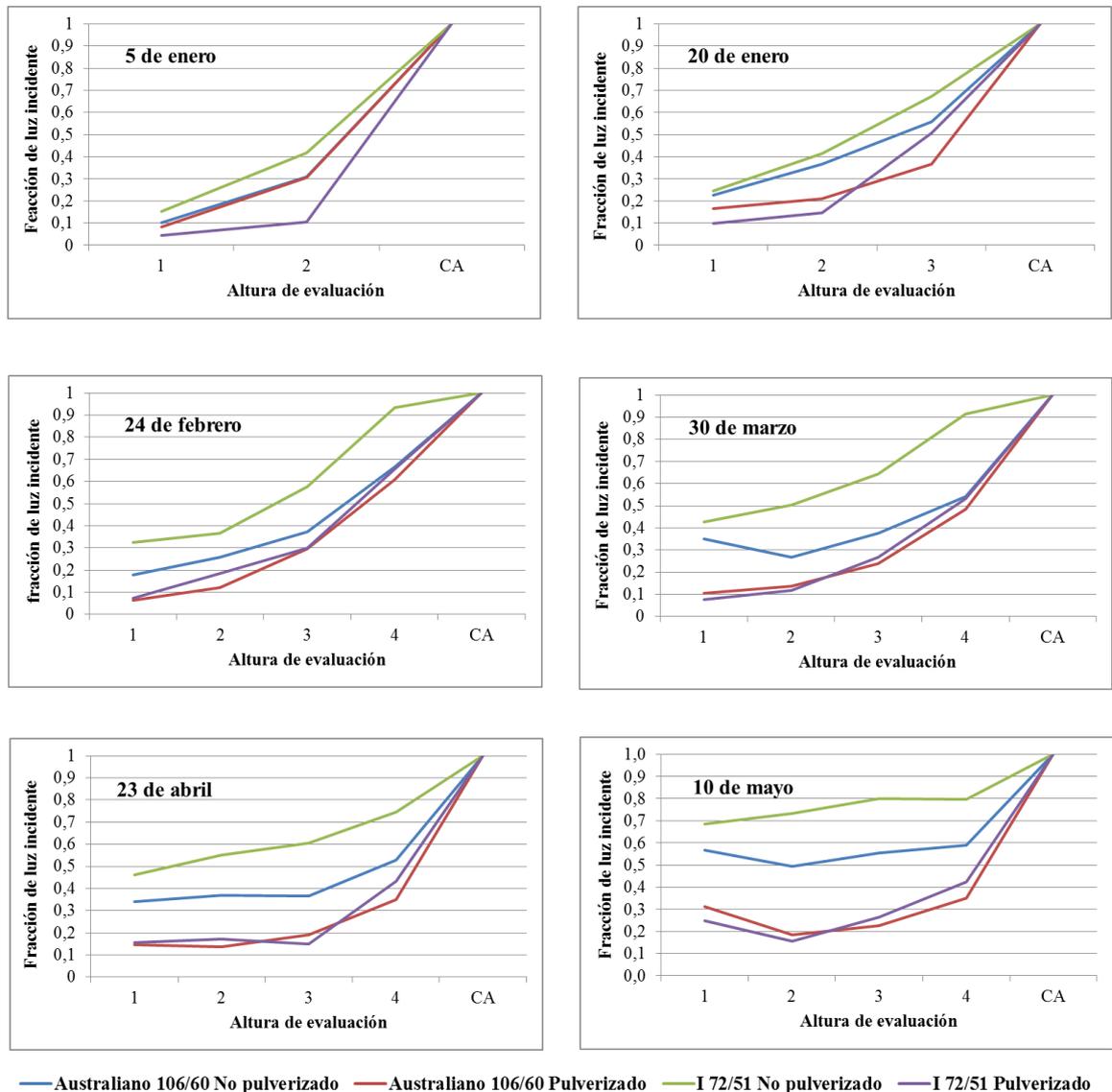


Fig. 3.25 Luz incidente a distintas alturas (m) dentro del canopeo en función de la luz incidente sobre el cultivo en parcelas pulverizadas y no pulverizadas de los clones 'I 72/51' y 'Australiano 106/60'. CA: medición efectuada en un sitio abierto, fuera del canopeo.

En las parcelas no pulverizadas, que al momento de realizar la medición habían perdido gran cantidad de hojas a causa de la enfermedad, se observó una mayor transmisión de luz incidente dentro del dosel que en las parcelas pulverizadas, pero la relación fue variando con la altura y el momento del año según el clon considerado ($F=5,33$; $P=0,0038$ para la interacción entre clones y alturas; $F=14,57$; $P<0,0001$ para la interacción entre tratamientos y fechas y $F=15,51$; $P<0,0001$ para la interacción entre alturas y fechas). Este efecto se manifestó en el clon 'I 72/51' aún antes del inicio de la enfermedad de la temporada de crecimiento evaluada (5 de enero) ($F=12,54$; $P=0,0041$)

debido a los efectos residuales del ataque producido el año anterior. A partir del 20 de enero, una vez iniciada la enfermedad, las plantas de las parcelas pulverizadas de ambos clones interceptaron mayor cantidad de radiación que las no pulverizadas ($F=18,29$; $P=0,0011$). Para esta fecha también se observó una menor radiación transmitida a los 3 metros de altura en el clon 'Australiano 106/60' que en el 'I 72/51' (0,4626 y 0,5906 respectivamente, $F=3,91$; $P=0,0034$), indicando una mayor intercepción de la luz incidente por parte del 'Australiano 106/60' hasta dicha altura.

Para el 24 de febrero las parcelas pulverizadas de ambos clones interceptaban una cantidad similar de radiación (75 %), mientras que las parcelas no pulverizadas del clon 'Australiano 106/60' interceptaban el 59 % de la radiación y las del clon 'I 72/51' sólo el 38 %. Estas diferencias son producto de cambios a los 3 ($F=7,23$; $P=0,011$) y los 4 metros de altura ($F=15,08$; $P=0,0005$).

A partir del mes de marzo las diferencias de transmisión de luz entre los clones fueron menos importantes y sólo se manifiestan diferencias significativas entre los tratamientos ($F=24,4$; $P=0,0003$) y entre las alturas de evaluación ($F=18,81$; $P<0,0001$).

En las mediciones de abril y mayo las parcelas pulverizadas interceptaban aún alrededor del 75% de la luz incidente mientras que las no pulverizadas interceptaban solamente un 50 y un 35 % respectivamente. Por lo tanto, si bien las parcelas no pulverizadas de ambos clones presentaron una mayor transmisión de la luz incidente, este efecto fue anterior y más marcado en el clon 'I 72/51' que en el 'Australiano 106/60' (Figura 3.26 y 3.27). Los cambios en las pendientes de las curvas que relacionan la radiación transmitida con la altura en el canopeo reflejan el progreso de la defoliación a lo largo del ciclo de crecimiento (Figura 3.25). Más allá de las fechas presentadas las plantas comenzaron a perder las hojas debido a la entrada en reposo invernal por lo cual no se realizaron más comparaciones.

Las variaciones en la transmisión de luz incidente observadas pueden ser explicadas en términos de los cambios del área foliar debido a la defoliación causada por la enfermedad. La relación entre estas variables no es lineal y por lo tanto para realizar comparaciones entre los distintos tratamientos se debió efectuar una transformación del área foliar. La variable transformada (logaritmo natural del área foliar) se encuentra altamente correlacionada con la fracción de la luz incidente a distintas alturas, siendo los coeficientes de correlación (r) encontrados de - 0,93, - 0,88, - 0,87 y - 0,79 para parcelas pulverizadas y no pulverizadas de los clones 'I 72/51' y 'Australiano 106/60' respectivamente. A pesar del alto grado de asociación encontrado entre estas variables, los cambios en la fracción de luz incidente pueden ser sólo parcialmente explicados por los cambios en el área foliar (Tabla 3.14).



Fig. 3.26 Plantas del clon 'I 72/51' correspondientes a parcelas pulverizadas que conservan gran parte del follaje (izquierda) y no pulverizadas con marcados signos de defoliación (derecha)



Fig. 3.27 Plantas del clon 'Australiano 106/60' correspondientes a parcelas pulverizadas que conservan buena parte del follaje (derecha) y no pulverizadas con mayores niveles de defoliación (izquierda.)

Tabla 3.14 Funciones de ajuste de la fracción de luz incidente en función del área foliar (AF).
CME: Cuadrado Medio del Error, R²: Coeficiente de determinación expresado en porcentaje

Clon	Función de ajuste	CME	R ²
Australiano 106/60 Pulverizado	LI = 0,4155 - 0,1592 ln (AF)	0,0116	49,92
Australiano 106/60 No pulverizado	LI = 0,4935 - 0,1113 ln (AF)	0,0249	28,24
I 72/51 Pulverizado	LI = 0,3790 - 0,2165 ln (AF)	0,0158	63,20
I 72/51 No pulverizado	LI = 0,5152 - 0,1527 ln (AF)	0,0163	66,46

Los clones estudiados en ausencia de la enfermedad interceptaron la luz de manera diferente (T= 1,908; P=0,0587) (Figuras 3.25 y 3.28) pero a su vez se comportaron de manera diferencial ante el ataque de la enfermedad. En el clon ‘I 72/51’ diferencias más pequeñas de área foliar produjeron mayores cambios en la radiación incidente transmitida en parcelas pulverizadas que en las no pulverizadas (T=2,499; P=0,0138) (Tabla 3.14 Figura 3.25 y 3.29), posiblemente debido a diferencias en la concentración de clorofila, el tamaño de las hojas o el ángulo de inserción de las hojas. Por otro lado no se detectaron diferencias significativas en las pendientes de las funciones de ajuste entre parcelas pulverizadas y no pulverizadas del clon ‘Australiano 106/60’ (T=1,437; P=0,1532) (Tabla 3.14 Figura 3.30). Dado que las diferencias de luz transmitida son pobremente explicadas por cambios en el área foliar en parcelas no pulverizadas (Tabla 3.14) se deberían considerar otros componentes como por ejemplo los antes mencionados para mejorar el ajuste del modelo.

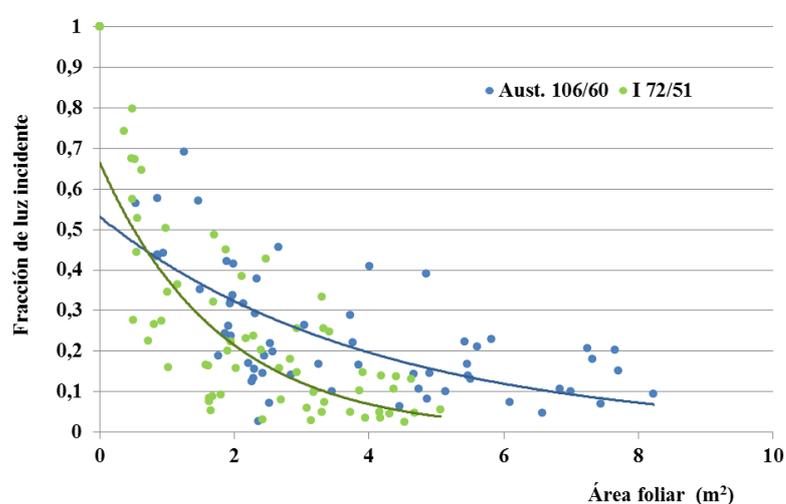


Fig. 3.28 Fracción de luz incidente transmitida en función del área foliar acumulada para plantas sanas de los clones ‘Australiano 106/60’ e ‘I 72/51’

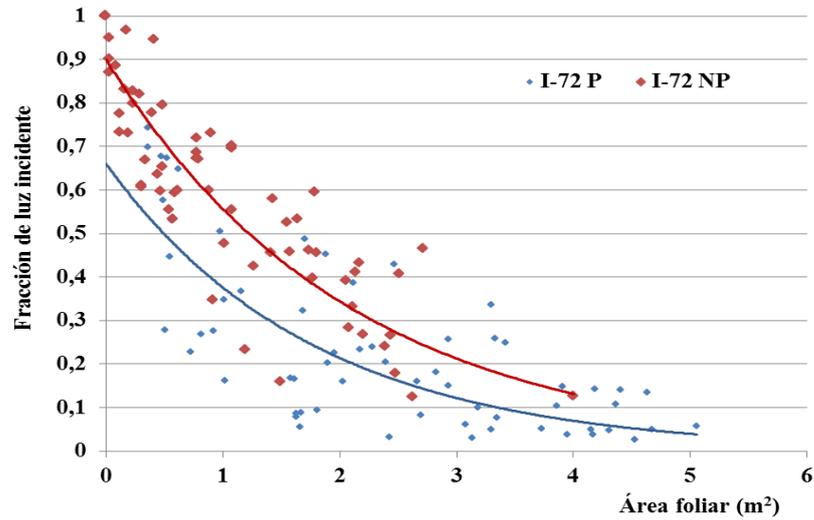


Fig. 3.29 Fracción de luz incidente transmitida en función del área foliar acumulada para parcelas pulverizadas (sanas) y no pulverizadas (enfermas) del clon 'I 72/51'

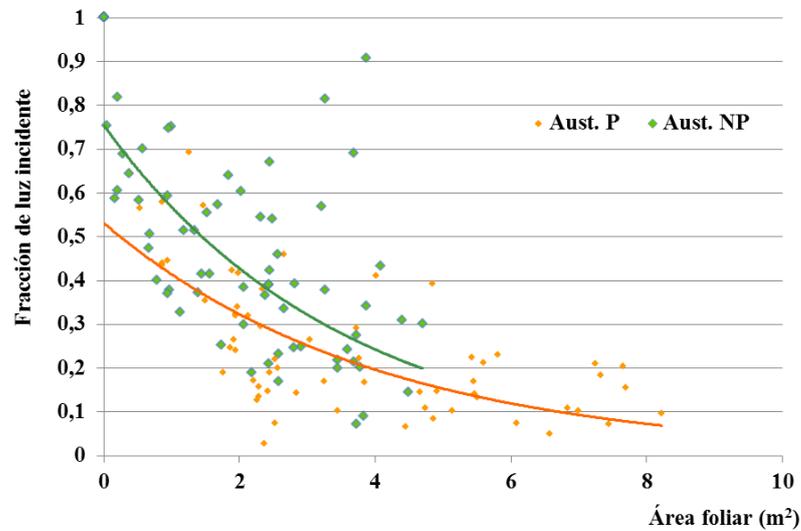


Fig. 3.30 Fracción de luz incidente transmitida en función del área foliar acumulada para parcelas pulverizadas (sanas) y no pulverizadas (enfermas) del clon 'Australiano 106/60'

3.3.4. Clorofila y fotosíntesis

No se encontraron diferencias significativas en el peso foliar específico (g de materia seca /cm² de hoja) entre plantas pulverizadas y no pulverizadas ($F=0,67$; $P=0,4197$).

Tanto las mediciones realizadas con el SPAD 502 (Minolta) como las determinaciones espectrofotométricas de extractos en N-N-dimetilformamida (DMF) mostraron que la roya afectó significativamente la concentración de clorofila en el clon 'I 72/51' pero no en el resto de los clones ($F=31,32$; $P=0,0001$) (Tabla 3.15) durante el primer año del ensayo.

Tabla 3.15 Determinación de la concentración de clorofila con SPAD 502 y espectrofotometría. Diferentes letras indican diferencias significativas (P=0,05, Tukey)

Clon	Clorofila en unidades de SPAD		μg de clorofila / cm^2	
	Pulverizado	No pulverizado	Pulverizado	No pulverizado
I 72/51	43,56 ab	33,80 c	57,7 a	22,8 c
A 106-60	39,70 bc	34,07 c	51,9 ab	31,6 bc
St 109	48,63 a	42,35 ab	68,4 a	44,4 abc

Sin embargo, en las mediciones de la concentración de clorofila realizadas con el SPAD 502 (Minolta) durante el pico de la enfermedad en la segunda temporada de crecimiento se detectaron diferencias significativas entre parcelas pulverizadas y no pulverizadas tanto para el clon 'I 72/51' y como para el clon 'Australiano 106/60' (Figura 3.31).

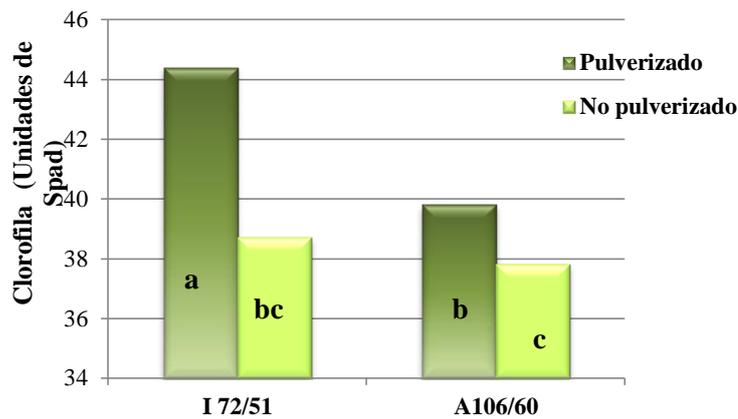


Fig. 3.31 Concentración de clorofila en unidades de SPAD para hojas sanas y enfermas de los clones 'I 72/51' y 'Australiano106/60' en la segunda estación de crecimiento. Diferentes letras indican diferencias significativas (P=0,05, Duncan)

Las diferencias en el contenido de clorofila entre plantas que se mantuvieron sanas y plantas que habían sufrido ataques de roya durante repetidos ciclos de crecimiento se mantuvieron durante la siguiente temporada de crecimiento, aun cuando no se habían producido nuevos ataques de roya (Figura 3.32). Para el clon 'I 72' estas diferencias se manifestaron también en el color de las hojas, siendo las sanas de un color verde más intenso que las correspondientes a las plantas que nunca habían recibido tratamientos de control de roya (Figura 3.33).

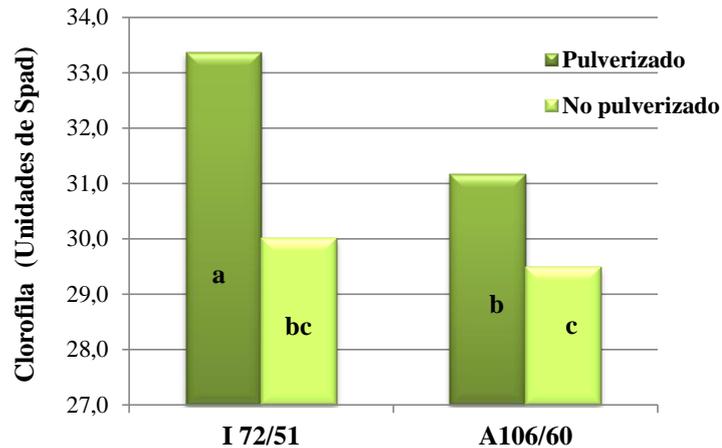


Fig. 3.32 Concentración de clorofila en unidades de SPAD para hojas sanas pertenecientes a plantas de los clones 'I 72/51' y 'Australiano 106/60' que se mantuvieron sanas o enfermas durante los 3 ciclos de crecimiento anteriores a la presente evaluación. Diferentes letras indican diferencias significativas ($P=0,05$, Duncan)



Fig. 3.33 Plantas sanas del clon 'I 72/51' que se mantuvieron sanas durante los 3 ciclos de crecimiento anteriores a la evaluación (izquierda) con hojas de color verde oscuro y plantas sanas que habían estado enfermas previamente (derecha) con hojas de color verde claro

Las hojas de plantas sanas del clon 'I 72/51' presentaron valores mayores de fotosíntesis neta a saturación de luz (A_{sat}) y mayor tasa de transporte fotosintético de electrones (ETR) que las hojas de plantas enfermas. En cambio, las hojas de plantas sanas y enfermas del clon 'Australiano 106/60' no presentaron diferencias significativas para estas variables relacionadas con la fotosíntesis (Figuras 3.34 y 3.35). La reducción de la fotosíntesis neta a saturación de luz (A_{sat}) observada en el clon 'I 72/51' se debe tanto a la mayor emisión de CO_2 (correspondiente a la respiración del hongo y de la planta) como a una menor tasa de asimilación del CO_2 (A_{gross}) (Tabla 3.16).

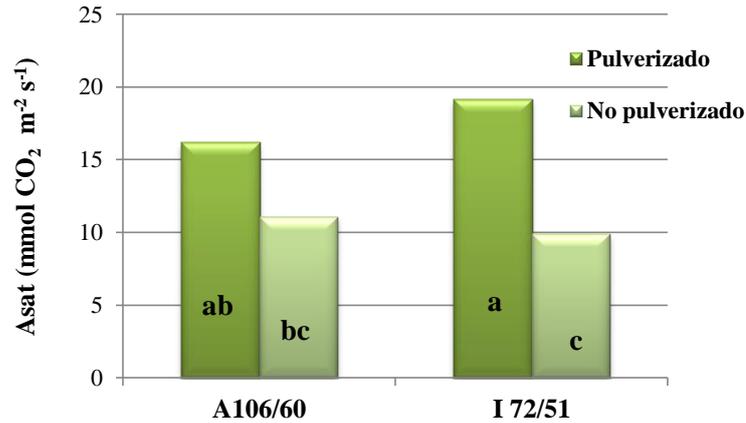


Fig. 3.34 Fotosíntesis neta a saturación lumínica Asat (μmol de $\text{CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) en hojas sanas y enfermas de los clones ‘Australiano106/60’ e ‘I 72/51’. Diferentes letras indican diferencias significativas ($P=0,05$, Tukey)

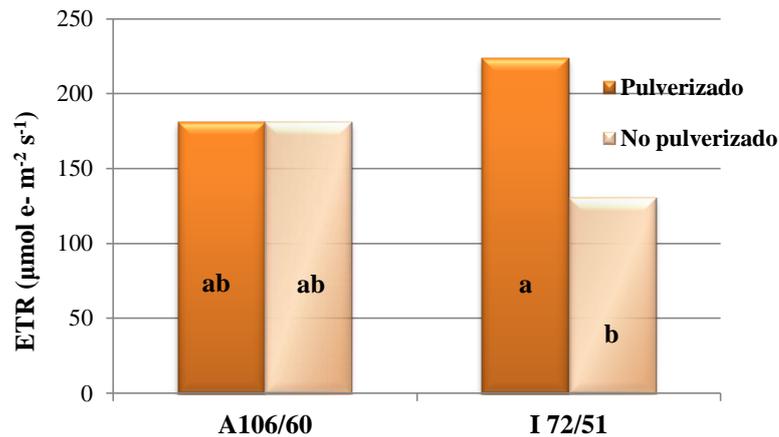


Fig. 3.35 Transporte fotosintético de electrones (ETR, μmol de electrones $\text{m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) en hojas sanas y enfermas de los clones ‘Australiano106/60’ e ‘I 72/51’. Diferentes letras indican diferencias significativas ($P=0,05$, Tukey)

Tabla 3.16 Fotosíntesis neta a saturación de luz (Asat), respiración (R) y fotosíntesis bruta (Agross) en hojas del clon ‘I 72/51’ con y sin ataque de roya. Diferentes letras indican diferencias significativas ($P=0,05$, Tukey)

	Asat ($\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{seg}^{-1}$)	R ($\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{seg}^{-1}$)	Agross ($\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{seg}^{-1}$)
Sin roya	17 b	3 a	20 b
Con roya	4 a	8 b	12 a

3.3.5. Nitrógeno

La cantidad de nitrógeno por gramo de materia seca en las cepas fue similar para ambos clones (‘I72/51’ y ‘Australiano 106/60’) y para los distintos tratamientos (Pulverizado y No pulverizado) ($F=0,41$; $P=0,5435$; $F=0,02$; $P=0,8906$). Sin embargo, la cantidad de nitrógeno por gramo de materia seca en raíces varió según el tratamiento considerado ($F=7,78$; $P=0,0064$) (Tabla 3.17).

Tabla 3.17 Porcentaje de nitrógeno total en cepas y raíces de plantas sanas y enfermas de ‘I 72/51’ y de ‘Australiano 106/60’. Diferentes letras indican diferencias significativas para las medias de los clones y de los tratamientos para cepas y para raíces (P=0,05, Tukey)

	Nt (%) en Cepas			Nt (%) en Raíces		
	Pulverizado	No Pulverizado	Media del clon	Pulverizado	No pulverizado	Media del clon
I 72/51	0,37	0,37	0,37 a	2,34	1,32	1,83 a
Australiano 106/60	0,28	0,38	0,33 a	2,38	1,31	1,85 a
Media del tratamiento	0,32 a	0,38 a		2,36 a	1,32 b	

El porcentaje de nitrógeno en hojas verdes infectadas por roya durante el momento de máxima expresión de la enfermedad fue significativamente menor al correspondiente a hojas sanas (F=6,01; P = 0,0305), independientemente del clon analizado (F=2,94; P=0,0912) (Tabla 3.18).

Tabla 3.18 Porcentaje de nitrógeno total en hojas sanas y enfermas de los clones ‘Australiano 106/60’ e ‘I 72/51’. Diferentes letras indican diferencias significativas para las medias correspondientes a los clones y los tratamientos (P=0,05, Tukey)

	Australiano 106/60	I 72/51	Media del tratamiento
Pulverizado (sin roya)	2,97	3,00	2,98 a
No pulverizado (con roya)	2,77	2,57	2,67 b
Media del clon	2,87 a	2,78 a	

Al finalizar la temporada de crecimiento se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de nitrógeno retenido en las hojas senescentes y próximas a caer, tanto entre clones como entre tratamientos. Las hojas pertenecientes al clon ‘I 72/51’ cayeron con mayor porcentaje de nitrógeno que las hojas correspondientes al clon ‘Australiano 106/60’ (F=16,66; P=0,0002). A su vez las hojas que habían sido atacadas por la enfermedad cayeron con un porcentaje de nitrógeno significativamente mayor que las hojas sanas (F=160,68; P=0,0001) (Tabla 3.19). En ninguno de los casos se detectaron efectos de interacción entre clones y tratamientos.

Tabla 3.19 Porcentaje de nitrógeno total en hojas senescentes sanas y en hojas senescentes que habían sido atacadas por roya de los clones ‘Australiano 106/60’ e ‘I 72/51’. Diferentes letras indican diferencias significativas para las medias correspondientes a los clones y a los tratamientos (P=0,05, Tukey)

	Australiano 106/60	I 72/51	Media del tratamiento
Pulverizado (sin roya)	0,82	0,92	0,87 b
No pulverizado (con roya)	1,20	1,38	1,29 a
Media del clon	0,99 b	1,13 a	

3.4. *Discusión*

3.4.1. *Dinámica foliar*

La cantidad de carbono que puede ser fijado y por ende el crecimiento de los árboles depende, entre otros factores, del área foliar, de su capacidad de intercepción de la radiación fotosintéticamente activa, de la duración del período vegetativo, de la duración y eficiencia de la actividad fotosintética y de la eficiencia del uso de los nutrientes (Van Volkenburgh y Taylor 1996, Silla y Escudero 2003, Confalone et al. 2009). Todos estos factores pueden ser afectados por distintos tipos de estrés (Kozlowski et al. 1991), entre los cuales se encuentra la roya. Las evaluaciones presentadas en este capítulo fueron diseñadas para poder entender el modo en que la roya afecta algunos de los factores antes mencionados.

El presente estudio se llevó a cabo bajo condiciones naturales y por ende los resultados se encuentran influenciados por la severidad de la enfermedad, la cual se encuentra determinada en gran medida por las condiciones ambientales, especialmente las correspondientes al microclima del cultivo (Pinon 1984). La germinación de las esporas depende de la temperatura, la humedad relativa y la humedad libre sobre la superficie de la hoja (Krzan 1980, Hameling et al. 1992, Pinon et al. 2006). Temperaturas entre 15–21°C y 8 horas de humedad libre sobre las hojas resultan óptimas para la infección y si bien estas condiciones se dan normalmente durante el verano en el Delta, fueron variables a lo largo de cada ciclo de crecimiento y de los años en los cuales se llevó a cabo el ensayo. En concordancia con las condiciones climáticas la severidad de la enfermedad varió durante cada ciclo de tratamiento, entre ciclos y entre los clones evaluados a lo largo del período estudiado (Figura 3.4). El clon ‘I 72/51’ fue más atacado en enero, mientras que el ‘Australiano 106/60’ lo fue durante el mes de febrero, tanto durante el primer como el segundo año, y ambos fueron más atacados durante el tercer año. El “Stoneville 109” fue menos afectado por la enfermedad que los otros dos clones, aunque durante el tercer año presentó niveles de severidad equivalentes a los del primer año para los otros dos clones estudiados. Este tipo de diferencias en el nivel de infección a lo largo de la temporada de crecimiento y entre clones fue observada previamente (Bacarcic comunicación personal) y también en Brasil (May De Mio et al. 2006), Chile (Rubio-Meléndez et al. 2011), Estados Unidos (Hamelin et al. 1993), Francia (Taris 1979, Pinon 1992), Italia (Giogelli et al. 1990).

Con respecto a la dinámica foliar, nuestros resultados indican que el número total de hojas producidas por cada uno de los clones depende fundamentalmente del genotipo y en general fue poco afectado por la enfermedad. El clon ‘I 72/51’ posee pocas hojas de relativamente de gran tamaño ubicadas sobre una guía principal en general sin brotes, mientras que el ‘Australiano 106/60’ posee muchas hojas de menor tamaño ubicadas en la guía principal y en los numerosos brotes que desarrolla tempranamente durante la estación de crecimiento (Figura 3.5) (Picco et al. 2007, Settepani et al. 2011). Finalmente el clon “Stoneville 109” presenta características intermedias.

La producción temprana de ramas silépticas, generadas a partir de yemas producidas durante la misma estación de crecimiento, define la estructura de la copa y es una

característica clonal variable (Ceulemans et al. 1990) gobernada genéticamente, a tal punto que esta variable es utilizada como descriptor a nivel nacional e internacional en la identificación clonal (UPOV 1981, INASE 2007).

En los clones con escasa o nula ramificación existe una muy baja influencia de la enfermedad en la producción total de hojas, debido a que la mayor parte de las mismas (entre 70 y 85 %) se forman antes del inicio del ataque de roya y, por lo tanto, la capacidad de modificar su producción para compensar pérdidas debidas a una situación de estrés se encuentra muy limitada. Por otra parte, el cese del crecimiento depende del genotipo, el fotoperiodo y la temperatura (Rohde et al. 2011) por lo cual, cualquier pérdida de hojas que se dé con posterioridad al momento de entrada en reposo de las yemas terminales no podrá ser compensada. Sin embargo, los clones capaces de producir ramas silépticas presentan una mayor capacidad de generar hojas nuevas a través de la estación de crecimiento. Esta característica, además de producir un recambio natural del follaje, permitiría compensar pérdidas generadas por distintas condiciones de estrés, lo cual otorga mayor plasticidad (Marron et al. 2006).

El reemplazo de hojas afectadas ante situaciones de estrés en álamo ha sido observado previamente (Guarnaschelli et al. 2013), pero en nuestro ensayo las parcelas no pulverizadas del clon 'Australiano 106/60' produjeron más hojas que las pulverizadas solamente durante el tercer año (Figura 3.6) para el cual la severidad del ataque de roya fue superior. La capacidad del 'Australiano 106/60' de producir ramas laterales, le otorga una ventaja en comparación con clones que presentan escasa ramificación, tal el caso del 'I72/51'. Este resultado coincide con las observaciones realizadas por May de Mio y colaboradores (2006) en años en donde la epidemia de roya fue más severa para algunos clones cultivados en Brasil.

A diferencia de lo que sucede con la formación de nuevas hojas, la vida media de las hojas, evidenciada a través del número de hojas caídas prematuramente en plantas afectadas por roya, está fuertemente influenciada por la enfermedad (Figuras 3.7, 3.9 y 3.10). La defoliación ha sido el daño más reportado en la bibliografía (Hameling et al. 1992, May de Mio et al 2006). Sin embargo, los trabajos citados realizaron una estimación de la cantidad de hojas perdidas en base a mediciones puntuales o a evaluaciones de área foliar, pero no han registrado periódicamente la caída de hojas y por lo tanto el presente estudio constituye un aporte novedoso para entender el efecto de la enfermedad sobre la dinámica foliar.

La caída anticipada de hojas en parcelas no pulverizadas (con roya) fue constante en el 'I 72/51' y varió a través de los años en los otros dos clones estudiados. En todos estos casos el pico de caída de hojas por árbol en parcelas no pulverizadas se dio principalmente en abril mientras que en las parcelas pulverizadas se dio en mayo.

Resulta interesante ver como las parcelas de 'I 72/51' que recibieron el tratamiento combinado (no pulverizado el primer año, pulverizado el segundo año y no pulverizado el tercer año) presentan una mezcla de comportamientos típicos de parcelas pulverizadas y no pulverizadas, respectivamente. Así por ejemplo, las plantas con tratamientos combinados presentaron una caída de hojas similar a las parcelas no pulverizadas durante el segundo año y a las pulverizadas durante el tercer año del

ensayo durante la primavera, y por el contrario presentaron una caída de hojas similar a las parcelas pulverizadas durante el segundo año y a las no pulverizadas durante el tercer año del ensayo durante el otoño (Figuras 3.9 y 3.10). Este comportamiento se debe a que durante la primavera, cuando las plantas no se encuentran expuestas al ataque de roya, pierden hojas basales por sombreado y por lo tanto su comportamiento se encuentra relacionado a efectos de arrastre del tratamiento del año anterior. Las plantas pulverizadas el año anterior rebrotan más vigorosamente y pierden más hojas en primavera por autosombreado dentro del canopeo. Durante el segundo año tanto las plantas no pulverizadas como las de tratamientos combinados provenían de cepas no pulverizadas previamente, que como veremos más adelante, brotaron con menos reservas produciendo hojas de menor tamaño que sombrearon menos a las hojas inferiores, probablemente reduciendo de esta manera su caída. En cambio en el otoño la caída de hojas estuvo altamente relacionada con la enfermedad y así las parcelas pulverizadas mantuvieron sus hojas durante más tiempo que las no pulverizadas y las de tratamiento combinado, independientemente del tratamiento recibido el año anterior, indicando que el fungicida solamente protege las hojas del año en que se realiza el tratamiento.

El número de hojas presentes (producidas menos caídas) en los distintos tratamientos a lo largo de la temporada de crecimiento fue variable entre clones. El ‘Australiano 106/60’ no presentó defoliación anticipada en respuesta a la presencia de roya en 2 de los 3 años evaluados, indicando que existen otras causas que definen más fuertemente la dinámica foliar. Contrariamente, el ‘I 72/51’ presentó diferencias en el número de hojas presentes entre tratamientos durante todo el ciclo de crecimiento en el segundo año del ensayo y en el otoño del tercer año (Figuras 3.13 y 3.14) que indican la incapacidad de compensar la caída de hojas por efecto de la roya. Finalmente el “Stoneville 109” presentó diferencias entre los tratamientos en el otoño del tercer año. Vale la pena señalar la ausencia de diferencias significativas en la cantidad de hojas presentes en las plantas del ‘I 72/51’ en parcelas tratadas con fungicidas y en las de tratamientos combinados, durante el verano y principios de otoño del segundo año debidas a la protección del fungicida. Estas diferencias se pierden al inicio del próximo ciclo, debido a que las plantas pulverizadas pierden más hojas que las no pulverizadas compensando el efecto de los tratamientos del año anterior, hasta la nueva aplicación del fungicida que conduce a nuevas diferencias en donde las parcelas pulverizadas tienen más hojas que las no pulverizadas y las del tratamiento combinado (Tabla 3.5).

Las diferencias en el número de hojas no siempre se ven reflejadas en el área foliar debido principalmente a la arquitectura de los distintos genotipos analizados. Las diferencias en número y en el tamaño de hojas presentadas por los distintos clones se compensan en alguna medida en la producción de área foliar. Sin embargo, el tamaño de la hoja no tiene la misma importancia en los efectos de la enfermedad, porque la pérdida de una hoja de gran tamaño tiene un impacto mayor en el área foliar presente y en la capacidad fotosintética total.

Las diferencias observadas en el área foliar generada entre los tratamientos y con respecto a los resultados encontrados para el número de hojas nuevas se deben a

diferencias en el tamaño de las hojas, las cuales son más chicas en parcelas no pulverizadas del ‘I 72/51’ y en parcelas pulverizadas del “Stoneville 109”.

La causa de la reducción del tamaño de las hojas del ‘I 72/51’ no pulverizado (Tabla 3.8) puede deberse a que el tamaño de las hojas de *P. deltoides* depende del número de divisiones celulares y del aumento de tamaño de las células que se produce de manera continua hasta que la hoja alcanza su madurez, incluso el ancho de su base va cambiando gracias a la permanencia de la actividad meristemática en la base de la misma (Van Volkenburgh y Taylor 1996). Este crecimiento depende de la exportación de carbono desde las hojas ya formadas (Dickson 1986) y por lo tanto la utilización de azúcar y nutrientes por parte del hongo (Mendgen y Hahn 2002, Newcombe et al. 2001, Panstruga 2003, Both et al. 2005, Rinaldi et al. 2007) reduce la normal transferencia de carbono hacia las hojas en formación, lo que conduciría finalmente a reducir el tamaño de las mismas.

Sin embargo, la reducción del tamaño de las hojas en el ‘Stoneville 109’ pulverizado sólo podría ser explicada por una menor tolerancia al fungicida. Estos síntomas no habían sido observados con anterioridad en las aplicaciones realizadas con tebuconazole y fue una de las razones para decidir su utilización. Sin embargo, las observaciones previas fueron realizadas en otros genotipos que si bien también poseían alta susceptibilidad a roya, no fueron incluidos en el presente estudio por presentar una arquitectura y comportamiento similar al ‘I 72/51’.

Durante el segundo año las plantas de parcelas pulverizadas de ‘I 72/51’ produjeron mayor área foliar que las de parcelas no pulverizadas y las que recibieron el tratamiento combinado (Tabla 3.9). En este caso además del efecto de competencia del hongo antes mencionado, debemos considerar la importancia de las reservas acumuladas en cepas y raíces durante el año anterior en el inicio del crecimiento de la nueva temporada (Fege 1983) las cuales, como se explicará en el Capítulo 4, se vieron afectadas negativamente por la enfermedad.

Se observaron algunas diferencias en el área foliar caída con las tendencias encontradas para el número de hojas caídas en el clon ‘I 72/51’ en primavera para ambos años y durante la segunda quincena de abril del tercer año (Figuras 3.15 y 3.16). Las diferencias entre tratamientos observadas en el segundo año del ensayo se debieron a la mayor pérdida de área foliar durante la primavera en las plantas pulverizadas en relación al resto de los tratamientos, por efecto combinado de sombreo y mayor tamaño de la hoja. En el tercer año del ensayo se sumó el efecto de acumulación de reservas del tratamiento combinado, gracias a la pulverización del año anterior, por lo que este tratamiento fue similar en el inicio de la primavera al que se mantuvo siempre libre de la enfermedad. A principios del otoño del tercer año el tratamiento combinado, aunque perdió un mayor número de hojas que el pulverizado (Tabla 3.3), no llegó a diferenciarse de éste en área foliar, debido a que poseía hojas de menor tamaño (Tabla 3.8).

El área foliar presente a lo largo del ciclo de crecimiento fue un claro reflejo del número de hojas presentes tanto para el clon ‘Australiano 106/60’ como para el “Stoneville 109”. Para el caso del ‘I 72/51’ se encontraron diferencias entre el número de hojas y el área

foliar presente durante el segundo año desde enero hasta fines de marzo para las plantas que recibieron el tratamiento combinado, las cuales presentaron una cantidad de hojas similar al de las plantas pulverizadas pero un área foliar intermedia, indicando que las pulverizaciones realizadas durante esa temporada de crecimiento no fueron suficientes para revertir el daño producido por la roya durante el año anterior pues, si bien se perdieron menos hojas, éstas fueron de menor tamaño.

3.4.2. Intercepción lumínica

La arquitectura de la copa determina la distribución y exposición de las hojas y la densidad de la canopia y de este modo la capacidad de la misma de interceptar la luz incidente (Halle et al. 1978, Broeckx et al. 2012). Por otro lado, como se discutió previamente, la roya afecta la cantidad y/o el tamaño de las hojas dentro del cultivo y por ende modificaría la capacidad de intercepción de luz.

En nuestro experimento se compararon dos clones con distinta arquitectura foliar en parcelas tratadas y no tratadas y por lo tanto se evaluó el efecto de la arquitectura de la copa y de la enfermedad sobre la intercepción de luz. Los resultados obtenidos indican cambios en la transmisión de la radiación fotosintéticamente activa a lo largo de la temporada de crecimiento para ambos clones, tanto en parcelas pulverizadas como no pulverizadas.

Estos cambios dependen de la interacción de ambos factores (estructura y sanidad). En las parcelas no pulverizadas, que perdieron gran cantidad de hojas a causa de la enfermedad, se observó una mayor transmisión de luz incidente dentro del dosel que en las parcelas pulverizadas, pero la relación fue variando a lo largo de las alturas y el momento del año según el clon considerado (Figura 3.25). Al principio del verano las parcelas pulverizadas del ‘Australiano 106/60’ transmitieron menos radiación que las pulverizadas del ‘I 72/51’ a los 3 metros de altura (0,4626 y 0,5906 respectivamente), indicando una mayor intercepción de la luz incidente por parte del ‘Australiano 106/60’ en la parte alta de la copa. Este resultado confirma la importancia de la arquitectura en la intercepción de luz ya que clones más ramificados y con hojas más pequeñas, como el ‘Australiano 106/60’, tienen mayor facilidad para ocupar los espacios entre plantas mejorando la intercepción de luz (Ceulemans et al. 1990). Sin embargo, esta diferencia se perdió a medida que avanzó la temporada y así ya para fines de abril ambos clones interceptaron una proporción similar de radiación (75 %) para dicha altura.

La diferencia en la intercepción de luz es más importante entre plantas enfermas de ambos clones (parcelas no pulverizadas), ya que mientras las parcelas no pulverizadas del ‘Australiano 106/60’ interceptaron entre un 50 y un 60 % de la radiación incidente, las del ‘I 72/51’ sólo interceptaron entre el 35 y el 40 %. Por otro lado, si bien las parcelas no pulverizadas de ambos clones presentaron una mayor transmisión de la luz incidente, este efecto es anterior y más marcado en el clon ‘I 72/51’ que en el ‘Australiano 106/60’. La mayor intercepción de luz en las plantas enfermas del ‘Australiano 106/60’, comparado con el ‘I 72/51’ probablemente contribuye al sostenimiento de mayores ritmos de crecimiento en las parcelas no pulverizadas de este clon.

Los altos valores de correlación observados entre el área foliar y la cantidad de luz interceptada a las distintas alturas evaluadas a través de la temporada de crecimiento indican que existe un alto grado de asociación entre estas variables. El área foliar explica mejor los cambios en la transmisión de luz incidente en el clon 'I 72/51' que en el 'Australiano 106/60', lo cual es el resultado de las diferencias en el nivel de defoliación de parcelas pulverizadas y no pulverizadas de ambos clones (Figuras 3.19 a 3.22). Sin embargo, una parte importante de los cambios en la transmisión de luz incidente no pueden ser explicadas en términos de los cambios del área foliar (Tabla 3.14) y por lo tanto la inclusión de otras variables mejoraría la estimación.

Así por ejemplo, las características de las hojas, en especial el contenido de clorofila y el contenido de nitrógeno, han sido consideradas como factores determinantes de la absorción de luz por parte de las hojas (Niinemets 2010). En nuestro ensayo ambas variables fueron reducidas por efecto de la enfermedad (Figura 3.31 y Tabla 3.18) y podrían explicar parte de las diferencias en la transmisión de luz incidente. Las variaciones en el contenido de clorofila fueron de mayor magnitud en el 'I 72/51' que en el 'Australiano 106/60' y por lo tanto otros efectos parecen tener mayor impacto en los cambios en la transmisión de la luz incidente en parcelas pulverizadas y no pulverizadas de este clon. Entre ellos, la dispersión del follaje es el factor de mayor importancia en la determinación de la absorción de luz por unidad de área de follaje (Valladares y Niinemets 2007) y es posible que los cambios en la arquitectura de la planta tales como los generados por la mayor producción de hojas sobre ramas silépticas en detrimento de las hojas sobre el eje principal observada en plantas no pulverizadas en el 'Australiano 106/60' (Figura 3.6) contribuyan en gran medida a modificar la densidad de la copa y así la intercepción de la luz incidente sin producir cambios importantes en el área foliar.

3.4.3. Fotosíntesis

La infección de los tejidos foliares por distintos tipos de patógenos conduce al desarrollo de áreas cloróticas y necróticas y a la reducción de la fotosíntesis (Berger et al. 2007). La reducción de la fotosíntesis en reacciones compatibles de hongos biotróficos ha sido reportada en *Arabidopsis* (Chou et al. 2000), cebada (Swarbrick et al. 2006), centeno (Scholes y Rolfe 1996), *Picea abies* (Berger et al. 2007) y *Plantago ovata* (Mandal et al. 2009). En el álamo se ha demostrado que genes relacionados con la fotosíntesis, incluyendo genes que codifican proteínas de los fotosistemas I y II y enzimas del ciclo de Calvin, son reprimidos entre 6 y 9 días después de la infección (Miranda et al. 2007, Azaiez et al. 2009). Este momento coincide con la finalización del ciclo de patogénesis y la formación de las uredosporas (Laurans y Pilate 1999). La represión de los genes relacionados con la fotosíntesis podría causar la pérdida de función de la maquinaria fotosintética en tejidos infectados, impidiendo el recambio de las proteínas codificadas por estos genes. Sin embargo, mediciones directas de la fotosíntesis y otros parámetros básicos del metabolismo durante la infección del patógeno no han sido reportados en este género (Major et al. 2010).

En nuestro ensayo las hojas pertenecientes a plantas enfermas del clon 'I 72/51' presentaron valores menores de fotosíntesis neta a saturación de luz (Asat) y menor tasa de transporte fotosintético de electrones (ETR) que las hojas de plantas sanas (Figura 3.34 y 3.35). La reducción de ETR indica que existen efectos deletéreos directos del patógeno sobre el aparato fotosintético, probablemente acelerando el programa normal de senescencia foliar (Quirino et al. 2000). La caída, de alrededor del 50 %, se debe tanto a la mayor emisión de CO₂ (correspondiente a la respiración del hongo y de la planta) como a una menor tasa de asimilación del CO₂ (A gross) (Tabla 3.16). Sin embargo, las hojas de plantas sanas y enfermas del clon 'Australiano 106/60' no presentaron diferencias significativas para estas variables, indicando la existencia de diferencias clonales en la respuesta de la fotosíntesis a la presencia de la roya, es decir, susceptibilidad en 'I 72/51', tolerancia en 'Australiano 106/60'. Es de destacar que estas respuestas diferenciales de la fotosíntesis a la infección por roya se asocian negativamente a la actividad fotosintética de las plantas sanas, por ejemplo, mayor en 'I 72/51' y menor en el 'Australiano 106/60'.

La reducción de la fotosíntesis está normalmente relacionada a la reducción de la clorofila y de componentes del aparato fotosintético (esto último, reflejado en el contenido de N foliar). En reacciones planta-patógeno compatibles, la integridad estructural de la célula es afectada por la invasión de las hifas del hongo (Lindenthal et al. 2005), y esto probablemente causa la disminución del contenido de clorofila y de proteínas fotosintéticas, y en última instancia el desmantelamiento de los cloroplastos.

En el presente ensayo la concentración de clorofila en hojas atacadas por roya fue afectada tanto en el clon 'I 72/51' como en el clon 'Australiano 106/60'. Este resultado es coincidente con la disminución de la concentración de nitrógeno encontrada en hojas enfermas durante la estación de crecimiento (Tabla 3.18). Aunque ambos clones presentaron una disminución en el contenido de clorofila (Tabla 3.15, Figs. 3.31 y 3.32) y N foliar (Tabla 3.19) en respuesta a la roya, éstas fueron más marcadas en el 'I 72/51', lo que probablemente explica la mayor reducción de la fotosíntesis en este clon.

Por otro lado, las diferencias en el contenido de clorofila entre plantas que siempre se habían mantenido sanas y plantas que habían sufrido intensos ataques de roya durante repetidos ciclos de crecimiento, se mantuvieron durante la siguiente temporada de crecimiento, aun cuando no se hubieran producido nuevos ataques de roya ni nuevas aplicaciones del fungicida (Figura 3.32). Estos efectos de "arrastre" serán abordados nuevamente en el Capítulo 4.

En base a los resultados de la presente investigación podemos confirmar que, al igual que en otras especies estudiadas (Scholes y Rofe 1996, Bassanezi et al. 2002, van den Berg et al. 2007), la roya afecta la concentración de clorofila y el contenido de N foliar. Sin embargo, el efecto de la enfermedad sobre la tasa de fotosíntesis es dependiente del genotipo considerado e involucra tanto represión de la fotosíntesis como un aumento de la actividad respiratoria.

3.4.4. Impacto de la roya sobre el reciclado de nitrógeno

Finamente abordaremos los efectos de la roya sobre el ciclo del nitrógeno, el elemento que más comúnmente limita el crecimiento del árbol (Pregitzer et al. 1990, Ericsson et al. 1992, Stanturf et al. 2001, Rennenberg et al. 2009). El nitrógeno puede ser almacenado en proteínas especiales de la corteza y parénquima xilemático de troncos y raíces (Cooke y Weih 2005), en las proteínas relacionadas con el Ciclo de Calvin y tilacoides en las hojas (Miranda et al. 2007) y su removilización está ligada a los eventos fenológicos del ciclo de crecimiento (Millard y Grelet 2010). Durante el verano alrededor de un 75% del nitrógeno se encuentra en las hojas, pero a medida que progresa la senescencia las proteínas de las hojas son degradadas y gran parte del nitrógeno es translocado hacia las raíces en donde se almacena durante el invierno (Pregitzer et al. 1990). Así por ejemplo, la cantidad de nitrógeno almacenado en las raíces durante el otoño puede llegar al doble del almacenado durante los meses de verano. En la primavera se reinicia el ciclo vegetativo con el desarrollo de nueva hojas a partir del nitrógeno almacenado en las raíces (Millard et al. 2006). Los tallos y las ramas son también un importante reservorio de nitrógeno pero, en un sistema como el implementado en este ensayo, son removidas anualmente y por lo tanto el nitrógeno almacenado en ellas se pierde, quedando disponible solamente el acumulado en las raíces y en la cepa.

Nuestros resultados indican que el reciclado del nitrógeno se redujo por el ataque de roya. Las hojas afectadas por la enfermedad cayeron con alrededor de un 50 % más de nitrógeno que las hojas sanas (Tabla 3.19), lo que sugiere una disminución concomitante (o probablemente mayor, ya que en estadios previos estas hojas tenían menores contenidos de N, Tabla 3.18) en la retranslocación del nitrógeno hacia los sitios de almacenamiento. Esta disminución de la cantidad de nitrógeno retranslocada, fue corroborada en las evaluaciones realizadas en las muestras de raíces provenientes de parcelas pulverizadas, las cuales poseen un 70 % más de nitrógeno en raíces que las no pulverizadas (Tabla 3.17). Estos resultados coinciden con los observados en plantas de trigo infectadas por roya en los que también se observó una reducción del contenido de N en tallo (van den Berg et al. 2007). Es posible que el N extra contenido en las hojas caídas de las plantas enfermas constituya, en parte, el N retenido en la biomasa fúngica. En cualquier caso, esta reducción en la re-utilización de N para el crecimiento puede tener efectos negativos en la temporada siguiente, como se verá en el capítulo siguiente.

3.5. Conclusiones

- El número de hojas producidas por cada clon depende fundamentalmente de su genotipo y es poco afectado por la enfermedad.
- La vida media de las hojas es significativamente reducida por el ataque de roya de manera diferencial según el clon considerado.
- La roya reduce el tamaño de las hojas en algunos clones.

- La intercepción de luz por parte de las plantas enfermas se reduce por el ataque de roya. La magnitud y el momento de la reducción dependen del genotipo.
- La fotosíntesis se reduce en las plantas enfermas de algunos genotipos.
- El contenido de clorofila y la concentración de N foliar se reducen en plantas atacadas por roya.
- La caída de las hojas se produce con niveles más elevados de nitrógeno en las plantas enfermas, probablemente debido a que una porción de este elemento es retenido por la biomasa fúngica.
- La retranslocación de N a tejidos de reserva es seriamente reducida por la acción de la biomasa fúngica.

CAPÍTULO 4 : EFECTO DE LA ROYA SOBRE EL CRECIMIENTO Y LA CALIDAD DE LA MADERA.

4.1. *Introducción*

En las plantaciones comerciales el rendimiento económico está determinado por la acumulación de materia seca en la parte del árbol que se cosecha, resultante principalmente de la conversión de la energía proveniente del sol a través del proceso de fotosíntesis (Dawson et al. 2005, Dillen et al. 2010). En el caso particular de los estaqueros y de algunos sistemas de producción de alta densidad utilizados frecuentemente para bioenergía, los cuales poseen un manejo similar al del material presentado en esta tesis, el material cosechable son las guías. Aun cuando las hojas, las cepas y las raíces en este tipo de sistemas no sean cosechadas, éstas tienen una importancia relevante en la determinación del rendimiento biológico. Por esta razón, para poder maximizar la producción y el retorno económico en sistemas de alta producción, es importante minimizar el efecto negativo de factores bióticos y abióticos sobre estos componentes (Dawson et al. 2005).

Pese a la importancia de las raíces en el crecimiento, en el acceso a los recursos del suelo y en la acumulación de reservas (Dillen et al. 2010), el efecto de la roya sobre el crecimiento y la acumulación de reservas en el sistema radical no ha sido suficientemente caracterizado. Solamente Spiers (1975) reportó que la infección por roya causa una importante reducción del peso de las raíces en *P. nigra* cv 'Sempervirens' y en *P. x canadensis* 'I-214'.

A diferencia de lo que sucede con las raíces, el efecto de la roya sobre la reducción del crecimiento de la parte aérea ha sido más ampliamente estudiado. Se ha reportado que la roya puede reducir el volumen de madera producida entre un 30% y un 60 % al final del ciclo de crecimiento, según el clon estudiado (Widin and Schipper 1981, May-de Mio et al. 2006, Benetka et al. 2011). Basados en la reducción del crecimiento anual y su posible influencia sobre la acumulación de reservas se postula una reducción del crecimiento del rebrote de la temporada siguiente al ataque de la enfermedad, aun cuando no se hayan producido nuevos ataques (Paillassa 1996), pero este efecto no ha sido probado.

Finalmente dado que la madera representa la culminación de una serie de complejos eventos fisiológicos y del desarrollo que son altamente sensibles a las señales del entorno (Groover et al. 2010), no es sorprendente que las variaciones de crecimiento se reflejen en las características de las fibras y en la densidad básica (Yanchuck et al. 1983). La densidad básica de la madera es la característica más valorada por la industria en la producción de madera de calidad y es además un componente de la ecuación económica cuando la madera se vende por peso. Se ha reportado que los clones atacados por roya suelen presentar también bajos valores de densidad básica (Steenackers et al. 1996, Cortizo et al. 2004). Teniendo en cuenta este comportamiento Steenackers y colaboradores (1996) postularon una reducción de la densidad básica a causa de una insuficiente formación de madera tardía y lignificación debido a la defoliación causada por la roya en sucesivas temporadas de crecimiento. Sin embargo, estas observaciones se basan en la comparación de diferentes genotipos y por lo tanto no constituyen una prueba fehaciente de que la roya modifica la densidad básica.

La presente sección tiene como objetivo cuantificar el efecto de la roya sobre el crecimiento del año, del rebrote de la primavera siguiente y la densidad básica de la madera.

La hipótesis a contrastar es que la roya reduce el crecimiento del año y disminuye el crecimiento del año siguiente (rebrote) debido a una menor acumulación de reservas y menor redistribución de nutrientes desde las hojas senescentes a las cepas afectando de igual modo la densidad básica de la madera

4.2. *Materiales y métodos*

Para evaluar la influencia de la roya sobre el crecimiento del año se cosecharon, durante el período de reposo de cada año, todas las guías producidas por las cepas de los clones ‘Australiano 106/60’, ‘Stoneville 109’ e ‘I 72/51’ bajo las distintas combinaciones de tratamientos de pulverización descritas en el punto 3.2.1. El corte se realizó entre dos y cinco centímetros sobre el punto de inserción de la guía a la cepa, a fin de garantizar el normal rebrote de la temporada siguiente. Las guías fueron clasificadas por largo a partir de los dos metros útiles (con un mínimo de 1,5 cm de diámetro en punta fina), en grupos separados cada medio metro, de acuerdo con las normas de comercialización del Vivero de la E.E.A. Delta del Paraná, y pesadas. El material constituido por guías de menor tamaño, secas o dañadas fue pesado aparte y agrupado en la categoría no comercial. Muestras de cada una de las categorías y tratamientos, correspondiente al material producido por una planta tomada al azar, fueron llevadas a peso seco. A partir de los datos de peso húmedo y peso seco de cada muestra, se calculó un coeficiente de corrección para cada categoría a fin de determinar el peso seco del total del material cosechado en la parcela correspondiente.

Para evaluar el efecto de la roya sobre el rebrote (Figura 4.1), en el mes de diciembre del segundo año del ensayo, antes de la manifestación de los primeros síntomas de un nuevo ciclo de la enfermedad, se cosecharon 2 plantas de los clones ‘Australiano 106/60’, ‘Stoneville 109’ e ‘I 72/51’, en cada una de las repeticiones pertenecientes a parcelas tratadas (sanas) y no tratadas (enfermas) durante el ciclo de crecimiento anterior.

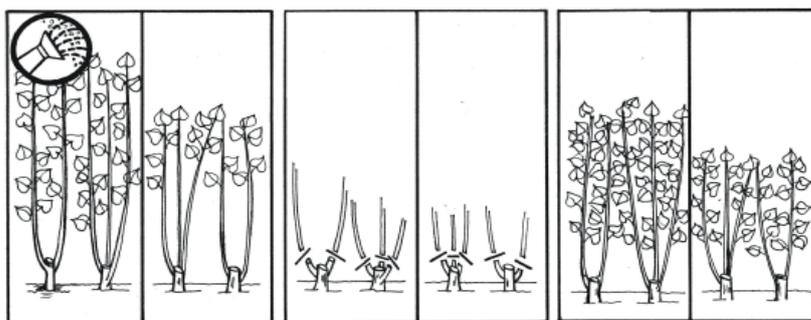


Fig. 4.1 Esquema de manejo del ensayo para la evaluación del rebrote. Las guías desarrolladas durante la temporada estival (los dos paneles de la izquierda) se cortan durante la temporada de reposo (los dos paneles del centro) y rebrota a partir de las cepas en la primavera siguiente (los dos paneles de la derecha). En cada par de paneles, izquierda: plantas pulverizadas, derecha: plantas no pulverizadas.

El material obtenido, individualizado por planta, fue dividido en láminas foliares, pecíolos y guías con sus ramas (en el caso de que estuvieran presentes) y llevado a estufa a 70 °C hasta que el peso se mantuvo constante.

Para evaluar el efecto de la roya sobre el crecimiento de las raíces se tomaron muestras de 4 plantas por parcela de los clones ‘Australiano 106/60’ e ‘I 72/51’ elegidas al azar durante el invierno del último año, en parcelas pulverizadas y no pulverizadas durante los tres ciclos anteriores de cultivo, siguiendo el protocolo descrito en la sección 3.2.5. Asimismo y con la finalidad de evaluar la influencia de la roya sobre la estructura del sistema radical, se descalzó una planta tomada al azar en cada una de las parcelas de cada tratamiento. En cada planta se contó el número de raíces principales y se midió el diámetro de las mismas en las proximidades del punto de inserción a la cepa.

Al igual que para las evaluaciones de intercepción de luz, fotosíntesis, nitrógeno y clorofila el clon “Stoneville 109” no fue considerado por presentar valores contradictorios para alguna de las variables analizadas, posiblemente debidos a los problemas de baja tolerancia al funguicida.

Para evaluar el efecto de la roya sobre la densidad básica se realizaron dos ciclos de evaluaciones sobre muestras de madera del clon ‘I 72/51’, dado que este clon, a diferencia de los otros dos clones estudiados, presentó cambios conspicuos en todas las variables analizadas. El primero de ellos se realizó sobre 100 muestras aleatorias correspondientes a una sección transversal (rodaja) extraída 20 cm del punto de inserción de guía a la cepa y a la altura de pecho en guías de año, y el segundo se realizó sobre 200 muestras aleatorias correspondientes a una sección transversal tomada a la altura de pecho en guías de dos años. En ambos casos las muestras fueron extraídas durante el período de reposo. Se consideraron dos grupos de muestras, uno correspondiente a plantas que habían sido mantenidas sanas siguiendo el mismo protocolo de pulverización descrito en el apartado 3.2 y el otro correspondiente a plantas sujetas al ataque de roya hasta el momento en que se tomaron las muestras.

Para obtener la densidad básica se utilizó la norma TAPPI T 258 om-94. Las muestras fueron identificadas, descortezadas y llevadas al laboratorio. Para cada muestra se determinó el volumen saturado y el peso anhidro luego de someterlas a estufa a 103 +/- 2 °C y se obtuvo el valor de densidad básica mediante el cociente entre el peso anhidro y el volumen saturado.

Todos los datos fueron analizados utilizando el programa estadístico SAS (Statistical Analysis System) versión 9.2. En todos los casos se comprobó el cumplimiento de los supuestos necesarios para el análisis de varianza. A fin de poder contemplar la correlación a lo largo de los años en el análisis de las variables ‘peso seco’ y ‘metros lineales de las guías’ al final de cada ciclo de crecimiento, se utilizó un modelo mixto para mediciones repetidas. La estructura de la matriz de covarianzas entre años fue elegida mediante el criterio de Akaike y correspondió al tipo ‘no estructurada’. Para el caso de la variable metros lineales se compararon solamente los tratamientos contrastantes (pulverizado y no pulverizado) a fin de evaluar la relevancia de incluir el tratamiento de pulverización como medida cultural en el esquema de producción de

estaqueros comerciales. Para detectar diferencias entre medias se utilizó la prueba de comparación de Tukey.

4.3. Resultados

4.3.1. Efecto de la roya sobre el crecimiento anual de las guías

El análisis del peso seco de las guías al final de cada ciclo de crecimiento detectó interacción entre clones y tratamientos ($F=10,22$; $P<0,0001$) y entre clones y años ($F=5,48$; $P=0,0013$), por lo cual se decidió realizar un análisis a través de los años.

Para el primer año del ensayo se encontraron diferencias significativas entre las parcelas pulverizadas y no pulverizadas para todos los clones ensayados. Sin embargo, se observó una interacción entre los clones y los tratamientos ($F=48,52$; $P<0,0001$), debida a que las parcelas pulverizadas de los clones ‘Australiano 106/60’ e ‘I 72/51’ produjeron más materia seca que las no pulverizadas ($F=31,87$; $P=0,0001$ y $F=89,25$; $P<0,0001$ respectivamente), mientras que las parcelas pulverizadas del clon “Stoneville 109” produjeron menos que las no pulverizadas ($F=15,62$; $P=0,00213$) (Tabla 4.1). El resultado encontrado en el “Stoneville 109”, tal como se mencionó en el apartado 3.3.2.2, podría deberse a una menor tolerancia de este clon al fungicida.

Para el segundo año del ensayo también se observó una interacción entre los clones y los tratamientos ($F=3,74$; $P=0,0265$). Si bien los tres clones presentaron diferencias entre tratamientos ($F=3,93$; $P=0,0425$ para el ‘Australiano 106/60’, $F=5,89$; $P=0,0129$ para el ‘I 72/51’ y $F=4,0$; $P=0,0405$ para el “Stoneville 109”), cada uno de ellos tuvo un comportamiento particular. En el caso del ‘Australiano 106/60’ las parcelas con dos años de pulverización presentaron una cantidad de materia seca similar a las parcelas que recibieron la pulverización solamente durante el segundo año y mayor a las no pulverizadas. En cambio, en el clon ‘I 72/51’ las parcelas con un sólo tratamiento de pulverización presentaron un comportamiento intermedio entre las pulverizadas los dos años y las no pulverizadas sin llegar a diferenciarse estadísticamente de ninguna de ellas. Finalmente en el clon “Stoneville 109” las parcelas de tratamientos combinados rindieron más que las pulverizadas mientras que las no pulverizadas presentaron un comportamiento intermedio sin llegar a diferenciarse estadísticamente de ninguna anteriores (Tabla 4.1).

Para el último año del ensayo no se detectó interacción entre clones y tratamientos ($F=1,69$; $P=0,2043$) sino efectos principales del clon ($F=21,25$; $P<0,0001$) y del tratamiento ($F=4,69$; $P=0,0262$). El ‘Australiano 106/60’ produjo más materia seca que los otros dos clones (Tabla 4.2) y las parcelas pulverizadas produjeron más materia seca que las no pulverizadas (Tabla 4.3), mientras que las plantas del tratamiento combinado, que presentaron un comportamiento intermedio, no se diferenciaron de ninguno de los otros dos tratamientos.

Tabla 4.1 Peso seco (kg) de las guías producidas por cepa de los clones ‘Australiano 106/60’, ‘I 72/51’ y “Stoneville 109” que recibieron distintos tratamientos de pulverización. Las evaluaciones se realizaron al final del primer y segundo ciclo de crecimiento. Para cada combinación de clon y ciclo de crecimiento diferentes letras indican diferencias significativas (P=0,05, Tukey)

	Peso seco (kg).		Peso seco (kg).		
	Primer ciclo de crecimiento		Segundo ciclo de crecimiento		
	Pulverizado	No Pulverizado	Pulverizado	No Pulverizado Pulverizado	No Pulverizado
‘Australiano 106/60’	0,808 a	0,515 b	1,711 a	1,638 a	1,242 b
‘I 72/51’	0,801 a	0,362 b	1,406 a	1,076 ab	0,816 bc
“Stoneville 109”	0,464 b	0,647 a	0,827 bc	1,257 a	0,934 ab

Tabla 4.2 Peso seco (kg) de las guías producidas por cepa de los clones ‘Australiano 106/60’, ‘I 72/51’ y “Stoneville 109” al final del tercer ciclo de crecimiento. Diferentes letras indican diferencias significativas (P=0,05, Tukey)

Clones	Peso seco (kg). Tercer ciclo de crecimiento
‘Australiano 106/60’	1,298 a
‘I 72/51’	0,920 b
“Stoneville 109”	0,828 b

Tabla 4.3 Peso seco (kg) de las guías producidas por cepa al final del tercer ciclo de crecimiento para los distintos tratamientos de pulverización. Diferentes letras indican diferencias significativas (P=0,05, Tukey)

Tratamientos	Peso seco (kg). Tercer ciclo de crecimiento
Pulverizado	1,122 a
No Pulverizado-Pulverizado- No Pulverizado	1,044 ab
No Pulverizado	0,881 bc

La producción de guías con destino comercial de los distintos clones, expresada en metros lineales, varió a través de los años (F=82,28; P<0,0001) y de manera diferencial entre los tratamientos según el clon analizado (F=5,88; P=0,0072).

La producción del ‘Australiano 106/60’ y del ‘I 72/51’ varió entre años (F=6,9; P<0,0001 y F=9,08; P=0,0131 respectivamente) (Tabla 4.4) y entre tratamientos (F=62,49; P=0,0275 y F=15,97; P=0,0008 respectivamente) (Tabla 4.5). En cambio, la producción del clon “Stoneville 109” varió solamente a través de los años del ensayo (F=29,51; P<0,0001) (Tabla 4.4).

Tabla 4.4 Metros lineales de guía con destino comercial obtenidos por planta de los clones ‘Australiano 106/60’, ‘I 72/51’ y ‘Stoneville 109’ en cada uno de los años del ensayo. Para cada clon diferentes letras indican diferencias significativas (P=0,05, Tukey)

	1 ^{er} Año	2 ^{do} Año	3 ^{er} Año
Australiano 106/60	2,49 c	4,73 b	5,87 a
I 72/51	3,23 c	4,96 b	6,08 a
Stoneville 109	2,77 c	4,70 b	6,29 a

Tabla 4.5 Metros lineales de guía con destino comercial obtenidos por planta y por año en parcelas pulverizadas y no pulverizadas de los clones ‘Australiano 106/60’, ‘I 72/51’ y ‘Stoneville 109’. Para cada clon diferentes letras indican diferencias significativas (P=0,05, Tukey)

	Pulverizado	No pulverizado
Australiano 106/60	4,69 a	4,03 b
I 72/51	5,40 a	4,12 b
Stoneville 109	4,36 a	4,81 a

La reducción en la producción de metros guías por efecto de la roya en el clon ‘Australiano 106/60’ fue menor que la experimentada por el clon ‘I 72/51’, alcanzando en promedio en valores de 16 y 31 % respectivamente, lo cual concuerda con los mayores valores de defoliación encontrados para el clon ‘I 72/51’ (Capítulo 3).

Sin embargo, al comparar la cantidad de materia seca producida con la cantidad de metros lineales podemos ver que no siempre una mayor cantidad de materia seca se transforma en una mayor cantidad de metros lineales con destino comercial. Esto fundamentalmente está dado por la diferencias en la distribución de materia seca destinada a la guía principal o a la generación de guías secundarias en la cepa o ramas en las guías, que luego no son aprovechadas en este sistema de producción (Tabla 4.6).

Tabla 4.6 Cantidad de materia seca (PS) y metros lineales (ML) de guías con destino comercial producidos por cada uno de los clones ensayados a través de los tres años del ensayo

	1 ^{er} Año		2 ^{do} Año		3 ^{er} Año	
	PS (kg)	ML	PS (kg)	ML	PS (kg)	ML
Australiano 106/60	0,58	2,49	1,52	4,73	1,33	5,87
I72/51	0,58	3,23	1,17	4,96	0,88	6,08
Stoneville 109	0,56	2,77	0,87	4,70	0,87	6,29

Durante los 3 años del ensayo el clon ‘Australiano 106/60’ produjo en promedio una cantidad significativamente menor de metros lineales de guías comerciales por kilo de materia seca producida que los clones ‘I 72/51’ y ‘Stoneville 109’ (F=25,99; P=0,0001)

(Tabla 4.7). Una de las razones de esta diferencia se debe a las particularidades de la arquitectura de las plantas de cada uno de los clones. Como fuera mencionado previamente, el clon ‘Australiano 106/60’ posee numerosas ramas silépticas mientras que los clones ‘I72/51’ y ‘Stoneville 109’ desarrollan pocas o ninguna rama sobre la guía principal. Estas diferencias en arquitectura fueron corroboradas en el ensayo a través de la evaluación del peso seco promedio de las ramas producidas a través de los años por los distintos clones estudiados ($F=39,57$; $P=0.0001$) (Tabla 4.8).

Tabla 4.7 Metros lineales por kilo de materia seca producido a través de los años por los clones ‘Australiano 106/60’, ‘I 72/51’ y ‘Stoneville 109’. Diferentes letras indican diferencias significativas ($P=0,05$, Tukey)

	ML/MS (m/kg)	
Stoneville 109	5,92	a
I72/51	5,88	a
Australiano 106/60	3,83	b

Tabla 4.8 Peso seco de las ramas por planta de los clones ‘Australiano 106/60’, ‘I 72/51’ y ‘Stoneville 109’. Diferentes letras indican diferencias significativas ($P=0,05$, Tukey)

	PS (kg)	
Australiano 106/60	0,098	a
Stoneville 109	0,018	b
I72/51	0,008	b

Las diferencias en la distribución de materia seca se manifiestan también si se compara la cantidad de materia seca y de metros lineales producidos en parcelas pulverizadas y no pulverizadas (Tabla 4.9, Figura 4.2) para las cuales el clon ‘I 72/51’ produjo 45 % y 62 % más metros lineales por kilo de materia seca que el clon ‘Australiano 106/60’ respectivamente.

Tabla 4.9 Cantidad de materia seca (PS) y los metros lineales (ML) producidos en parcelas pulverizadas y no pulverizadas de los clones ‘Australiano 106/60’ e ‘I72/51’ a través de los tres años del ensayo

	Pulverizado		No pulverizado	
	PS (kg)	ML	PS (kg)	ML
Australiano 106/60	1,34	4,69	0,94	4,04
I72/51	1,06	5,39	0,59	4,12



Fig. 4.2 Guías producidas por parcelas pulverizadas (izquierda) y no pulverizadas (derecha) del clon 'I 72/51' durante el tercer ciclo de crecimiento

4.3.2. Efecto de la roya sobre la biomasa de raíces

No se detectó interacción entre clones y tratamientos ($F=5,80$; $P=0,05$). El 'Australiano 106/60' produjo más biomasa de raíces que el 'I72/51' ($F=18,62$; $P=0,0026$). La roya redujo significativamente la masa de raíces en ambos clones ($F=20,59$; $P=0,0019$), lo cual queda evidenciado a través de las diferencias de peso seco de las muestras provenientes de plantas sanas y enfermas (Tabla 4.10).

Tabla 4.10 Peso seco (g) de raíces al final del ensayo en parcelas pulverizadas y no pulverizadas de los clones 'Australiano 106/60' e 'I 72/51'. Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias de tratamientos y de clones ($P=0,05$, Tukey)

	Pulverizado	No pulverizado	Media por clon
'Australiano 106/60'	3,15	1,42	2,28 a
'I 72/51'	1,47	0,67	1,20 b
Media del tratamiento	2,31 a	1,18 b	

Tanto el número de raíces por cepa como el diámetro promedio de las mismas se redujeron por el efecto de la enfermedad (Tabla 4.11, Figuras 4.3 a 4.5). Sin embargo, la variabilidad entre plantas y el bajo número de repeticiones no permitieron detectar diferencias significativas.

Tabla 4.11 Número y diámetro de las raíces en plantas sanas e infectadas por roya para los clones ‘Australiano 106/60’ e ‘I 72/51’. Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias del número y entre medias del diámetro de raíces para cada uno de los clones ($P=0,05$, Tukey)

	‘Australiano 106/60’		‘I 72/51’	
	Plantas pulverizadas	Plantas no pulverizadas	Plantas pulverizadas	Plantas no pulverizadas
Nº raíces	107 a	90 a	90 a	84 a
Diámetro medio	4,20 a	4,09 a	4,73 a	3,37 a



Fig. 4.3 Detalle del sistema radical de plantas descalzadas de ‘I-72/51’. Izquierda: plantas enfermas. Derecha: plantas sanas.

Las Figuras 4.4 y 4.5 muestran la distribución de las raíces de plantas enfermas y libres de roya de los clones ‘Australiano 106/60’ e ‘I 72/51’ agrupadas por clases diamétricas. En ellas se observa una leve tendencia a la producción de raíces de mayor diámetro en los tratamientos pulverizados que solamente resultó significativa para la clase de raíces mayores a 14 mm del clon ‘I 72/51’ ($F=8,53$; $P=0,0432$).

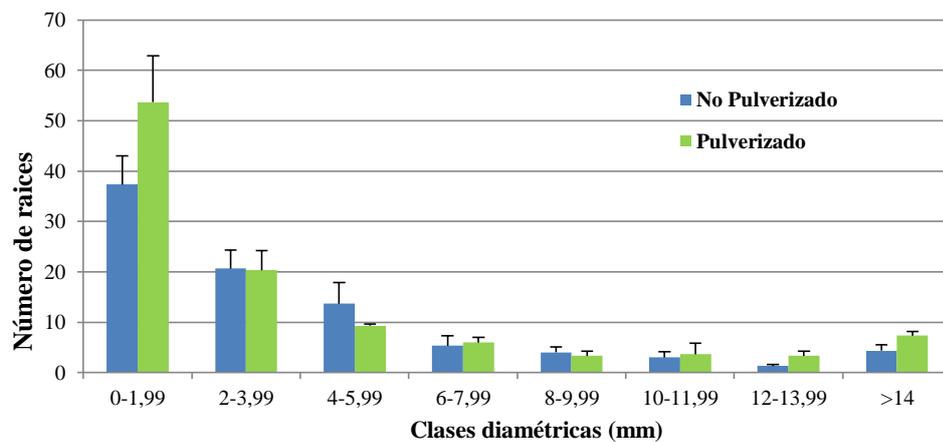


Fig. 4.4 Distribución de raíces por clases diamétricas en plantas pulverizadas y no pulverizadas de ‘Australiano 106/60’

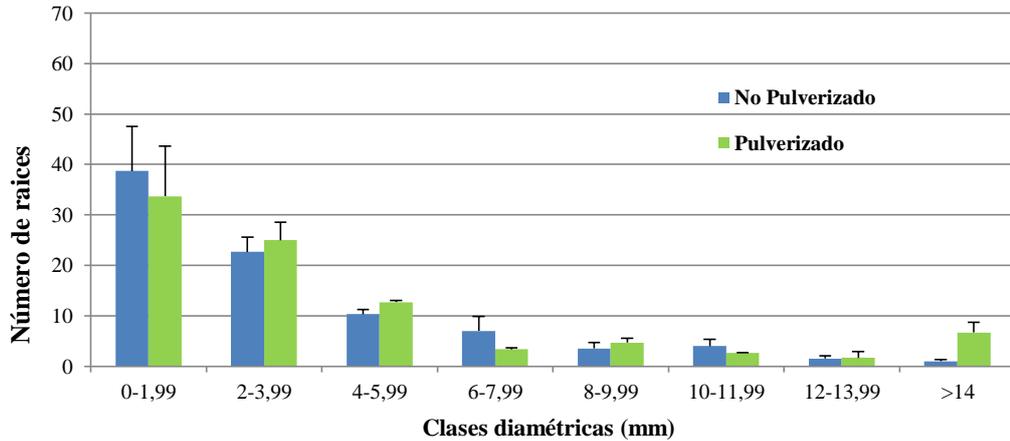


Fig. 4.5 Distribución de raíces por clases diamétricas en plantas pulverizadas y no pulverizadas de 'I 72/5'

4.3.3. Efecto de la roya sobre el crecimiento del rebrote de las guías

No se detectó interacción entre clones y tratamientos de pulverización recibidos por las plantas durante la temporada estival inmediatamente anterior al rebrote para ninguna de las variables analizadas [número de hojas ($F=2,75$; $P=0,1039$) y peso seco de las hojas ($F=0,48$; $P=0,6326$), pecíolos ($F=0,05$; $P=0,9471$), láminas foliares ($F=0,69$; $P=0,5525$) y guías con sus respectivas ramas ($F=1,40$; $P=0,2852$)] durante el rebrote de primavera. Todas estas variables presentaron diferencias significativas entre clones y entre tratamientos de pulverización.

El número total de hojas desarrolladas fue distinto según el clon analizado ($F=5,91$; $P=0,0163$). El 'Australiano 106-60' presentó mayor cantidad de hojas que el 'I 72/51', mientras que el "Stoneville 109" no logró diferenciarse de ninguno de los otros dos clones (Figura 4.6 a). Sin embargo, la cantidad de materia seca de las hojas resultó similar para todos los clones estudiados ($F=3,71$; $P=0,0558$) (Figura 4.6 b). Al separar el pecíolo de la lámina foliar se encontraron diferencias significativas para los pesos secos de ambos componentes de la hoja ($F=6,72$; $P=0,0110$ y $F=6,54$; $P=0,0120$ respectivamente). El clon "Stoneville 109" presentó mayor peso seco de pecíolos que el 'Australiano 106-60', mientras que el 'I 72/51' no logró diferenciarse de ninguno de los otros dos clones (Figura 4.6 c). En cambio para el peso seco de las láminas foliares el clon "Stoneville 109" mostró valores significativamente menores que el resto de los clones (Figura 4.6 d).

También se encontraron diferencias significativas en el peso de las guías y ramas producidas por las cepas de cada uno de los clones estudiados ($F=4,46$; $P=0,0357$). El 'Australiano 106-60' acumuló mayor cantidad de materia seca en guías y ramas que el "Stoneville 109", mientras que 'I 72/51' no se diferenció de ninguno de los otros dos clones (Figura 4.6 e).

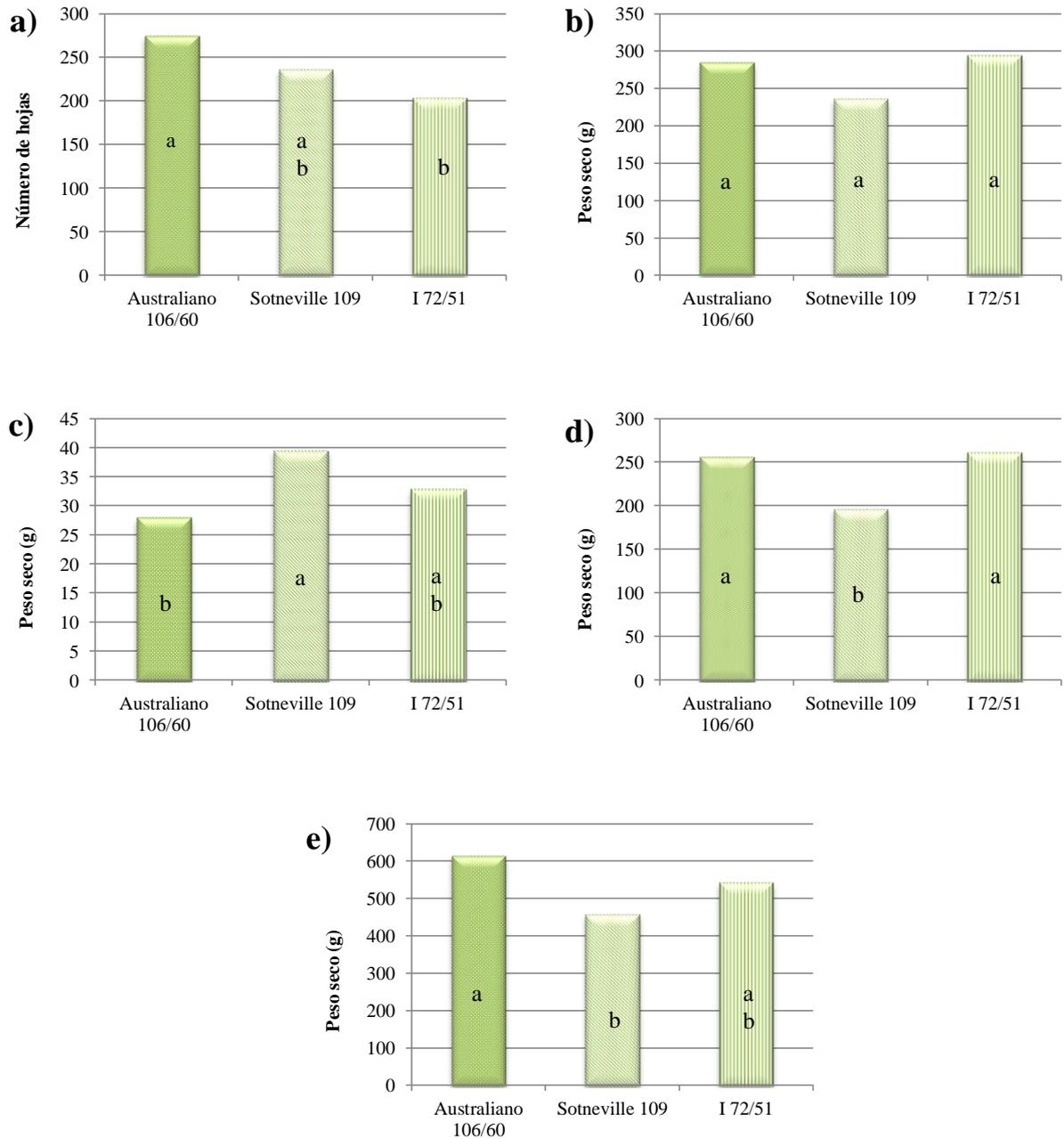


Fig. 4.6 a) Número de hojas, b) peso seco de las hojas, c) peso seco de los pecíolos, d) peso seco de las láminas foliares y e) peso seco de las guías y las ramas desarrolladas hasta el mes de diciembre del segundo año de ensayo (antes de un nuevo ciclo de la enfermedad) por las plantas sanas del clon 'Australiano 106', "Stoneville 109" e 'I 72/51' que provienen de cepas que se mantuvieron sanas o enfermas durante el verano del primer año del ensayo. Diferentes letras indican diferencias significativas entre las media clonales para cada una de las variables analizadas (P=0,05, Tukey)

Todas las variables analizadas sobre el rebrote de la siguiente temporada [número de hojas (F=12,88; P=0,0037), peso seco de las hojas (F=7,01; P=0,0212), peso seco de las láminas foliares (F=7,64, P=0,0171), peso seco de las guías y ramas (F=10,54; P=0,0070)] a excepción del peso seco de los pecíolos (F=3,06, P=0,1055) fueron

afectadas por la enfermedad de la temporada estival anterior (Figura 4.7 a-e), aun cuando no se produjeran nuevos ataques del patógeno.

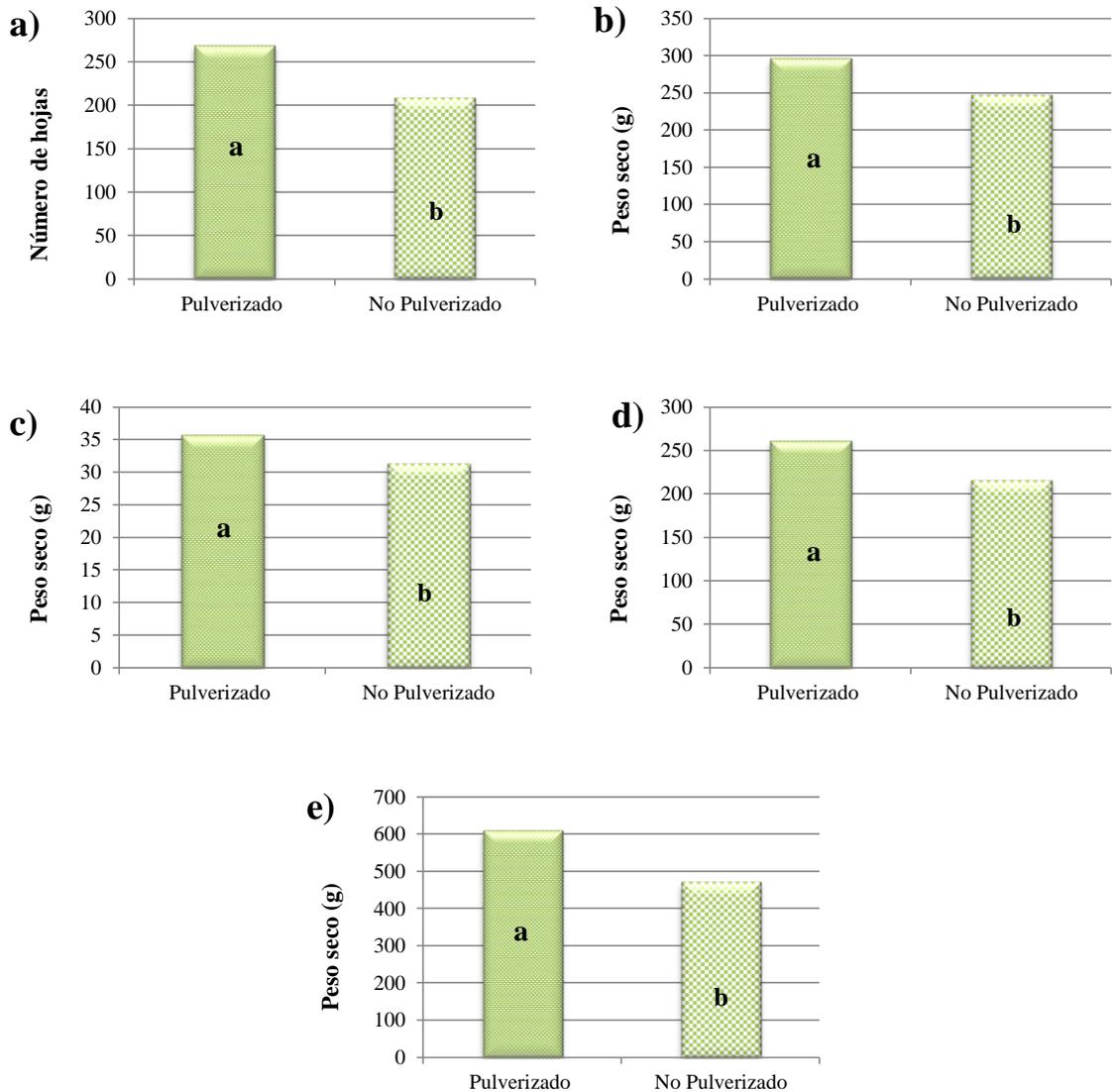


Fig. 4.7 a) Número de hojas, b) peso seco de las hojas, c) peso seco de los pecíolos, d) peso seco de las láminas foliares y e) peso seco de las guías y las ramas desarrolladas hasta el mes de diciembre del segundo año de ensayo (antes de un nuevo ciclo de la enfermedad) por las cepas de plantas que se mantuvieron sanas o enfermas durante el primer año del ensayo. Diferentes letras indican diferencias significativas entre las medias del tratamiento de pulverización para cada una de las variables analizadas ($P=0,05$, Tukey)

4.3.4. Efecto de la roya sobre la densidad de la madera

Para las guías de año, tanto en el caso de las muestras (“rodajas”) extraídas a 20 cm del punto de inserción de la guía a la cepa como las obtenidas a la altura de pecho, se puede observar una tendencia de disminución de la densidad básica de la madera en los

individuos que no fueron tratados (plantas enfermas) respecto de los que fueron tratados (plantas sanas), pero estas diferencias no fueron significativas ($F=0,88$; $P=0,3523$ y $F=1,79$, $P=0,1880$ respectivamente) (Tabla 4.12).

Tabla 4.12 Densidad básica de la madera (kg/m^3) de rodajas extraídas a distintas alturas en guías de año de plantas provenientes de parcelas pulverizadas y no pulverizadas durante dos años consecutivos

Altura de la muestra	Densidad (kg/m^3)	
	Plantas sanas	Plantas enfermas
0,20 m	325,3	321
1,30 m	303,6	295,8

Existe una buena correlación entre los valores de densidad básica obtenidos en la base de la guía respecto de los obtenidos a altura de pecho ($r=0,67$). Este resultado indica que la densidad tomada a una de las alturas es buen indicador de la densidad tomada a la otra altura y por lo tanto no se justifica la evaluación en ambas alturas.

A diferencia de lo encontrado para guías de año, para las guías de dos años se encontraron diferencias significativas ($F=26,61$; $P < 0,0001$) para esta característica. Las plantas que han sido mantenidas libres de la enfermedad durante dos años presentaron mayor densidad básica de la madera que las plantas que han sufrido repetidos ciclos de la enfermedad (Figura 4.12).

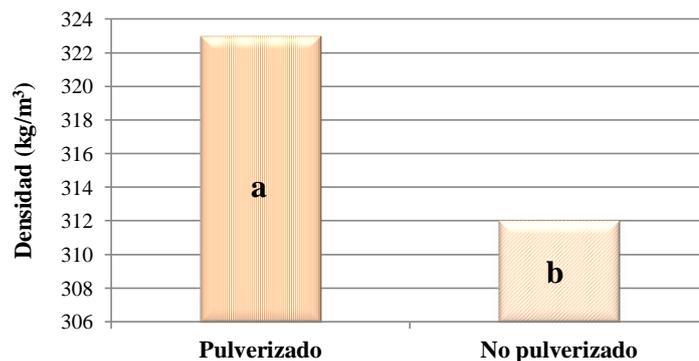


Fig. 4.8 Densidad de la madera en muestras de madera del clon 'I 72/51' tomadas a altura de pecho en guías de dos años de plantas pulverizadas y no pulverizadas

4.4. *Discusión*

La variación en la producción de guías observada a través de los años del ensayo (Tablas 4.1, y 4.4) resulta coincidente con la evolución normal del crecimiento de un estaquero, el cual va aumentando desde su instalación hasta el tercer año, y posteriormente se mantiene más o menos constante hasta el séptimo año (Stanturf et al. 2001). Sin embargo, esta tendencia general se vio afectada por las menores

precipitaciones registradas durante el tercer año, lo que podría explicar la menor cantidad de materia seca obtenida en comparación con el año anterior. Este comportamiento no se vio reflejado en la producción de metros lineales de guías con destino comercial que mantuvo la tendencia de aumento también para el tercer año (Tablas 4.1, 4.2 y 4.4). Las diferencias en las tendencias de incremento de peso seco y metros lineales esperadas para el tercer año, podría deberse al momento en que se produjo la sequía en relación a los patrones estacionales de asignación del carbono. De este modo las sequías primaverales, que coinciden con la primera parte de la temporada de crecimiento en donde la mayor parte de los fotosintatos producidos se mueve acropetalmente hacia el ápice (Vogelmann et al. 1982), afectaría más al crecimiento en altura; mientras que las sequías estivales, producidas cuando la mayor parte de las hojas están maduras y exportan los asimilados basípetamente, afectarían más al crecimiento radial y al almacenamiento de reservas. Finalmente cuando la yema apical entre en reposo (febrero-marzo) el crecimiento en altura cesa y solamente los fotosintatos son destinados hacia la parte baja de la guía y las raíces (Isebrands y Nelson 1983).

La roya afectó negativamente el crecimiento de las guías y las raíces durante la estación en que se produjo el ataque, y del rebrote de la siguiente temporada, aunque con distinta magnitud según el clon considerado. La reducción del contenido de materia seca de la parte aérea (guías) que puede ser atribuida a la enfermedad varió entre el 21 y el 55 %, dependiendo del clon y el año. Estos valores se encuentran entre los reportados en la bibliografía para clones de distintas especies del género *Populus* (Widin y Schipper 1981, Lemaire et al. 1998, Laureysens et al. 2005, May De Mio y Ruaro 2008).

El crecimiento del clon 'I 72/51' fue más afectado por la roya que el correspondiente al 'Australiano 106/60' (Tablas 4.1, 4.3 y 4.5), siendo la reducción promedio por planta a través de los años evaluados del 62 y 26 % para materia seca y del 31 y 16 % para metros lineales de guía para cada uno de los clones respectivamente. Las diferencias en la estructura de la planta y el mayor efecto detrimental de la roya sobre en la capacidad fotosintética en el clon 'I 72/51' (descriptas en el capítulo anterior) podrían explicar este comportamiento diferencial.

En cuanto a la estructura de la copa, el clon 'I 72/51' tiene hojas grandes y escasa ramificación [1 rama promedio por planta con un peso seco de 0,008 g (Tabla 4.8), sobre las que desarrolla alrededor de 4 hojas] mientras que el 'Australiano 106/60' posee hojas pequeñas y una ramificación más profusa [8 ramas promedio por planta que acumulan un peso seco total de 0,098 g (Tabla 4.8), con alrededor de 126 hojas]. Esta capacidad de producir ramas silépticas del 'Australiano 106/60' le permite mantener un alto nivel de recambio foliar, lo cual resulta favorable ante el ataque de roya, porque buena parte de las hojas enfermas son eliminadas por efecto del sombreado. A esto se suma que la pérdida de hojas de menor tamaño en las plantas enfermas del clon 'Australiano 106/60' produce un impacto menor en el área fotosintética total. Sin embargo, la presencia de abundantes ramas silépticas actúa desfavorablemente en la producción metros lineales de guía por kilo de materia seca, para la cual el clon 'I 72/51' posee mayor tasa de conversión que el 'Australiano 106/60' (Tabla 4.7).

Por otro lado, las plantas de 'I 72/51' poseen mayor actividad fotosintética que las del 'Australiano 106/60', pero la fotosíntesis en el clon 'I 72/51' declinó más marcadamente frente al ataque de la roya, no sólo por la reducción del área foliar sino también por la reducción de la concentración de clorofila y del N foliar (Figura 3.31, Tabla 3.18). Por el contrario las plantas sanas del clon 'Australiano 106/60' presentan una menor fotosíntesis, pero su actividad fotosintética se resiente menos ante el ataque del patógeno (Figura 3.34).

La menor caída de crecimiento por efecto de la roya experimentada por las plantas del 'Australiano 106/60' durante el primer año del ensayo podría ser una de las causas que permiten explicar la capacidad de recuperación de las plantas cuando se mantienen libres de la enfermedad durante la segunda temporada de crecimiento en los tratamientos combinados (Tabla 4.1).

Los resultados encontrados en el clon "Stoneville 109" resultaron contradictorios, posiblemente debido a un efecto de la reducción del crecimiento por la aplicación del fungicida en parcelas pulverizadas y de la roya en parcelas no pulverizadas. Estos efectos tuvieron diferentes grados de compensación según años y dado que el diseño del ensayo no permite su separación, no se pueden evaluar las consecuencias reales de la enfermedad en este clon.

Por lo antedicho, la roya afecta el crecimiento aéreo porque disminuye la capacidad fotosintética durante el desarrollo de la enfermedad y por lo tanto la capacidad de fijar y translocar carbono, tanto para continuar el crecimiento del año como para acumular reservas en la parte aérea y las raíces.

Las diferencias en biomasa radical de los clones 'Australiano 106/60' e 'I 72/51' (2,28 g para el 'Australiano 106/60' y 1,21 g para el 'I 72/51') soportan la idea de que el patrón de crecimiento de las raíces está determinado por el genotipo (Pregitzer et al. 1990, Rhodenbaugh y Pallardy 1993). Independientemente del clon analizado, la roya afectó significativamente al sistema radical lo cual queda claramente evidenciado a través de la reducción del peso seco de las mismas (2,31 g para las plantas sanas vs. 1,18 g para las plantas enfermas). Estos resultados coinciden con el comportamiento observado en otros géneros (Doodson et al. 1964; Paul y Ayres 1986) y en otras especies de álamo (Spiers 1975). En parcelas no pulverizadas tanto el número de raíces por cepa como el diámetro promedio de las mismas se redujo en presencia de la enfermedad, siendo esta reducción significativa para el rango de las raíces de mayor diámetro (Figura 4.3 y 4.5). Las raíces son órganos heterotróficos que consumen una importante porción del carbono producido por la planta, y su tasa de crecimiento positivamente relacionada con la tasa de crecimiento de la parte aérea (Elliasson 1968, Rhodenbaugh y Pallardy 1993). La cantidad de fotosintatos retranslocados desde las hojas hacia las raíces varía con el genotipo, la edad de la planta y a través de toda la temporada de crecimiento, alcanzando generalmente su máximo valor a partir de la entrada en reposo de la yema apical (Isebrand y Nelson 1983, Coleman et al. 1995, Pregitzer y Friend 1996). Asimismo, su crecimiento responde rápidamente a cambios en el suministro de fotosintatos. Así por ejemplo, la eliminación mecánica de las hojas produce cesación del crecimiento de las raíces dentro de las primeras 24 horas (Pregitzer et al. 1995).

Usualmente las plantas defoliadas compensan la pérdida de follaje destinando más carbono para la formación de nuevo follaje en detrimento de las raíces, resintiendo de tal manera el crecimiento radical (Bassman y Zwier 1993). En el presente ensayo la reducción porcentual en el peso seco de las raíces por efecto de la roya fue aún más importante que la observada para la parte aérea (Tablas 4.1, 4.3 y 4.10). De modo tal que, en plantas infectadas por roya, que pierden gran parte de su follaje (Figuras 3.7, 3.9), tanto la asimilación de carbono como su translocación hacia las raíces se encuentran muy modificadas. Estos resultados coinciden con los reportados por Hamelin et al. (1993) y probablemente la reducción de la disponibilidad de carbono sea la mayor limitación para el crecimiento de las raíces en plantas enfermas por roya.

La reducción del tamaño del sistema radical tiene un efecto negativo en el corto plazo, porque reduce la capacidad de adquirir los recursos de los cuales depende la planta en su conjunto, y en el largo plazo, porque disminuye la acumulación de reservas al final del período de crecimiento, de las cuales depende el rebrote en el inicio de la siguiente temporada de crecimiento (Telewski et al. 1996, Maurel et al. 2004). En efecto, en estos experimentos las plantas afectadas por roya rebrotaron con menor vigor en la siguiente temporada de crecimiento (Figura 4.7 e). La reducción de las reservas en las raíces es aún más importante en sistemas en donde la parte aérea se cosecha periódicamente como el utilizado en esta tesis, porque el carbono almacenado en cepas y raíces es la única fuente de energía para la formación y crecimiento inicial de las nuevas guías en la siguiente temporada de crecimiento.

No sólo las reservas de carbono se encuentran limitadas, sino que también se afecta la capacidad de almacenar nitrógeno, la cual constituye la principal limitante del rebrote de primavera (Cheg y Fuchigami 2002). La reducción del nitrógeno disponible no es solamente debida al menor tamaño del sistema radical sino también, como vimos en el capítulo anterior, a que la cantidad de nitrógeno almacenado por gramo de materia seca en las raíces de plantas atacadas por roya es significativamente menor que el correspondiente a plantas sanas (13,2 vs. 23,6 mg de N por gramo de materia seca de raíz, respectivamente, Tabla 3.17).

Las diferencias en la cantidad de raíces y la cantidad de nitrógeno por gramo de materia seca encontradas entre plantas sanas y enfermas, podrían explicar el menor crecimiento de la parte aérea (rebrote de las cepas) encontrado al inicio de la siguiente temporada de crecimiento en plantas recepadas, aún antes de que se observen los síntomas de un nuevo ataque del patógeno (Figura 4.7). La reducción del crecimiento del rebrote se evidencia a través de una reducción del peso de hojas (296,55 y 246,89 g para plantas sanas y enfermas respectivamente) y de las guías (607,97 y 469,31 g para plantas sanas y enfermas respectivamente).

Finalmente la densidad básica de la madera no fue afectada significativamente por la roya durante el primer ciclo de crecimiento pero sí durante el segundo (Figura 4.8). Las plantas que habían sido mantenidas libres de la enfermedad presentaron valores significativamente mayores a los correspondientes a las plantas que habían sufrido repetidos ciclos de ataque por roya (323 kg/m³ y 312 kg/m³ respectivamente). Esto sugeriría que la roya podría producir un daño acumulativo a través de los años.

Se ha reportado que los clones que presentan bajos rendimientos en ensayos clonales, suelen ser también susceptibles a roya y presentar bajos valores de densidad básica de la madera (Cortizo et al. 2004, Steenackers et al. 1996). Sin embargo, estas observaciones están basadas en comparaciones de diferentes genotipos y por lo tanto no constituyen una prueba directa del efecto detrimental de la roya sobre la densidad de la madera.

Por otro lado, varios autores indican que la densidad de la madera y el crecimiento se encuentran negativamente correlacionados (Pliura et al. 2005, Zhang y Li 2008) o no presentan ningún tipo de correlación (Zhang et al. 2003).

Los resultados de la presente investigación indican que la densidad de la madera en plantas sometidas a ciclos repetidos de ataque de roya es menor que la de plantas sanas del mismo clon, lo cual permite concluir que la roya modifica adversamente esta característica.

La reducción en la asimilación y translocación de carbono hacia los tallos en plantas enfermas podría conducir a la formación incompleta de los anillos de crecimiento, especialmente debido a una insuficiente formación de leño tardío y a una reducción del espesor de las paredes celulares lo cual en última instancia conduciría a reducir la densidad básica de la madera (Steenacker et al. 1996). Sin embargo, esta hipótesis requiere ser testada a través de estudios anatómicos de la madera.

La roya reduce el crecimiento de la parte aérea y la translocación de fotosintatos hacia las raíces, lo cual conduce a una reducción del sistema radical en plantas enfermas que a su vez limita la capacidad de explorar el suelo y adquirir agua y nutrientes durante la temporada de crecimiento lo cual finalmente repercute sobre el crecimiento anual. Esto, sumado a la menor retranslocación de nitrógeno debido a que las hojas enfermas caen con mayor cantidad de nitrógeno, reduce las reservas de carbono y de nitrógeno para iniciar el crecimiento y la capacidad de adquirir recursos desde el suelo al inicio de la temporada siguiente. Este efecto se exagera en los estaqueros, porque las plantas pierden las reservas acumuladas en los tallos, quedando disponibles sólo las de raíces y cepa. Consecuentemente, el crecimiento inicial es más lento en las plantas que se mantuvieron enfermas en la estación anterior, por lo que el efecto negativo de la roya de cada año se extiende más allá del período de crecimiento en el cual las plantas son afectadas por la enfermedad.

4.5. Conclusiones

- La roya afecta el crecimiento tanto de la parte aérea como de la radical.
- La reducción del crecimiento depende de la tolerancia a la enfermedad y la estructura de copa del genotipo.
- La reducción en la producción de materia seca es proporcionalmente mayor a la reducción de metros lineales de guía, siendo esta diferencia dependiente del genotipo analizado.

- Los efectos de la roya no solamente se manifiestan en el crecimiento del año sino también en el crecimiento del rebrote de la siguiente temporada. Por lo tanto las evaluaciones del impacto de la roya sobre la productividad deberían considerar más de una temporada de crecimiento.
- La roya no solamente afecta la cantidad de madera producida sino también su calidad, lo cual se evidencia a través de la reducción de la densidad básica.
- La reducción en la densidad básica de la madera se manifiesta luego de varios ciclos de ataque del patógeno.

CAPÍTULO 5 : CONCLUSIONES GENERALES.

Pese a la importancia de la roya en la producción de álamo, se encontraban pocos antecedentes de investigaciones realizadas en la región del Delta del Paraná (Fresa 1936, Marchionatto 1944, Ragonese y Rial Alberti 1973/74, Blanco 1977, Fernandez Valiela 1979). La mayor parte de ellos reportan la susceptibilidad de los clones en cultivo y dan cuenta de la importancia de los daños producidos por la roya pero ninguno realiza una cuantificación de los mismos. Asimismo, hasta mediados de la década de 1990 cuando las plantaciones del clon ‘Catfish 2’ fueron seriamente comprometidas por la enfermedad, preponderaba la idea de que la roya no constituía un problema serio para las plantaciones comerciales porque se manifestaba de manera tardía cuando ya se había completado más del 90 % del crecimiento del año (Borodowski 2009). Tampoco se conocía con certeza, antes del inicio de esta tesis, cuál era el agente causal de la última epifiticia ocurrida en la década de 1990, ni se disponía de medidas de control de la enfermedad que permitieran reducir los efectos perjudiciales de la misma hasta lograr el total recambio de las plantaciones por nuevos clones tolerantes o resistentes. Además, los efectos de la roya sobre la dinámica foliar y la fotosíntesis en clones de álamo con distinta arquitectura del canopeo y su relación con el crecimiento, la calidad y la acumulación de reservas no habían sido suficientemente caracterizados, ni localmente, ni a nivel mundial.

A lo largo de esta tesis se realizaron una serie de estudios y experimentos tendientes a aportar conocimientos que permitan entender de qué manera la roya modifica algunos procesos fisiológicos que conducen a la reducción del crecimiento y afectan la calidad de la madera del álamo, así como a determinar la especie *Melampsora* difundida en la región del Delta y a establecer un sistema de control mediante la aplicación de funguicidas que pueda utilizarse como medida alternativa a la resistencia genética.

De acuerdo con los resultados de las determinaciones morfológicas realizadas sobre uredosporas y paráfisis extraídas de muestras de hojas de álamo naturalmente infectadas recolectadas en estaqueros y plantaciones de la zona núcleo forestal del Delta del Paraná, donde se encuentra la mayor proporción de hectáreas cultivadas del género en la región, la especie de roya ampliamente difundida es *Melampsora medusae*. Se encontraron además otras dos especies de roya, *M. larici-populina* y *M. populnea* fuera de la zona productiva, de las cuales la primera por su capacidad de infectar a los álamos cultivados en el Delta resulta potencialmente peligrosa.

Se estableció que tanto el tebuconazole como el cyproconazole, disponibles en el mercado nacional para el control de roya en otros cultivos, son efectivos para mantener las plantas de álamo libres de roya. Estos funguicidas deben ser aplicados solamente como una alternativa para reducir o eliminar la enfermedad cuando no se disponga de otras alternativas más amigables con el ambiente. Asimismo, con la finalidad de evitar aplicaciones innecesarias se recomienda monitorear el tercio superior de las plantas tratando de visualizar si existen hojas con pequeñas manchas cloróticas sobre las cuales posteriormente se desarrollarán las pústulas o en su defecto si existen pústulas dispersas y si se esperan condiciones ambientales para el desarrollo de nuevas infecciones.

Una vez detectada la necesidad de aplicar el funguicida resulta muy importante lograr una alta cobertura por lo cual se deben utilizar pulverizadoras de tipo mochila a motor,

suspendidas o semisuspendidas al tractor o autopropulsadas y pastillas de cono hueco o cono lleno que permitan obtener un tamaño de gota entre 200-400 micrones. La pulverización se realiza mojando bien el follaje hasta punto de goteo a intervalos de 21 días desde la aparición de las primeras pústulas en dosis de 25,8 y 10 gramos de principio activo por hectolitro de agua respectivamente. Estos productos pueden producir toxicidad en algunos clones, por lo que es necesario verificar la presencia de síntomas de toxicidad en las hojas que se expandieron luego de la pulverización. Esta tarea puede ser realizada fácilmente marcando en las guías las hojas en expansión previo a la tarea de pulverización.

Una vez establecida la enfermedad la dinámica foliar se modifica de manera diferencial según el genotipo considerado. El desarrollo de nuevas hojas es una característica determinada principalmente por el genotipo y en términos generales resulta poco afectada por la enfermedad en especial en clones con baja capacidad de ramificación como el 'I 72/51'. Por el contrario, la vida media de las hojas está fuertemente influenciada por la roya, a tal punto que las plantas del clon 'I 72/51' que recibieron un tratamiento combinado (no pulverizado el primer año, pulverizado el segundo año y no pulverizado el tercer año) presentaron una caída de hojas similar a las parcelas pulverizadas durante el segundo año y a las no pulverizadas durante el tercer año del ensayo durante el otoño. La capacidad de producción de ramas silépticas del clon 'Australiano 106/60' minimizaron el impacto de la enfermedad sobre el follaje, debido a la mayor producción de hojas sobre estas ramas y a la eliminación de hojas por efecto de sombreo independientemente del grado de afección.

Las diferencias en la dinámica del número de hojas no siempre se reflejan en la dinámica del área foliar debido a un efecto de compensación entre el número y el tamaño de las hojas de los distintos clones. Esto queda claramente demostrado al comparar el comportamiento entre la dinámica del número hojas presentes y del área foliar en los tratamientos combinados del 'I 72/51' (Tablas 3.5 y 3.12) que presentan un número de hojas similar a las plantas pulverizadas y mayor al de las plantas no pulverizadas pero un área foliar intermedia desde el inicio de la temporada de crecimiento y hasta fines de marzo.

Por otro lado, la pérdida de una hoja de gran tamaño como las que posee el 'I 72/51' tiene un impacto mayor en el área foliar y en la capacidad fotosintética total que una hoja de menor tamaño como las del clon 'Australiano 106/60'.

Los cambios en el área foliar determinaron en gran medida las diferencias encontradas en la intercepción de luz a distintas alturas dentro del dosel. La capacidad de intercepción de luz fue seriamente reducida por la enfermedad pero la magnitud del cambio varió a través de las fechas según el genotipo analizado. Los clones más ramificados y con hojas más pequeñas, como el 'Australiano 106/60', tienen mayor facilidad para ocupar los espacios entre plantas mejorando la intercepción de luz que los clones con hojas más grandes y menos ramificados como el 'I 72/51'. Estos resultados indican que tanto la arquitectura como la sanidad de las plantas son importantes para la intercepción y aprovechamiento de la luz incidente, lo cual en última instancia define la cantidad de energía que puede ser transformada en fotosintatos mediante el proceso de

fotosíntesis. La mayor intercepción de luz en las plantas enfermas del 'Australiano 106/60' en comparación con las plantas enfermas del 'I 72/51' probablemente contribuya al sostenimiento de mayores ritmos de crecimiento en las parcelas no pulverizadas de este clon.

La fotosíntesis también fue afectada por la roya de manera diferencial en los clones analizados, las hojas pertenecientes a plantas enfermas del clon 'I 72/51' presentaron menores tasas de transporte fotosintético de electrones (ETR) y de asimilación del CO₂ (A gross) que las hojas de plantas sanas. La reducción de estos parámetros indicaría que existen efectos deletéreos directos del patógeno sobre el aparato fotosintético que probablemente aceleren el programa normal de senescencia foliar, lo cual podría explicar las altas tasas de defoliación observadas en el clon 'I 72/51'. Sin embargo, la concentración de clorofila y la concentración de nitrógeno, fue reducida en ambos clones indicando que el hongo también afecta al 'Australiano 106/60' aunque en menor medida. Además las hojas infectadas por roya caen con mayor porcentaje de nitrógeno que las hojas sanas lo que sugiere una disminución concomitante en la retranslocación del nitrógeno hacia los sitios de almacenamiento, lo cual fue corroborado en las evaluaciones de nitrógeno realizadas en las muestras de raíces provenientes de parcelas pulverizadas y no pulverizadas. Como consecuencia del deterioro del aparato fotosintético y la redistribución de nutrientes la roya afectó el crecimiento de las guías, las raíces y el rebrote de la siguiente temporada, aunque con distinta magnitud según el clon considerado.

El impacto de la roya en el crecimiento depende en gran medida de la estructura de la planta y de la eficiencia en la transformación de radiación incidente en materia seca. El clon 'I 72/51' tiene hojas grandes y escasa ramificación por lo cual la caída de hojas tiene gran impacto en el área foliar y en la intercepción de luz y no puede ser compensada con el desarrollo de nuevas hojas. Contrariamente el 'Australiano 106/60' posee hojas pequeñas y una ramificación más profusa con nuevas hojas que reemplazan las previas frecuentemente afectadas por la enfermedad, con lo cual puede reducir su efecto sobre el área foliar, aunque las nuevas hojas parecen interceptar la luz de manera menos eficiente, posiblemente por su inclinación. Otro parámetro involucrado en las diferencias la eficiencia de la intercepción de la luz es el contenido de clorofila el cual resulta significativamente menor en el 'Australiano 106/60'. A su vez las plantas sanas de 'I 72/51' tienen mayor actividad fotosintética que las del 'Australiano 106/60' pero su actividad fotosintética es muy susceptible al ataque de la roya. Por el contrario, las plantas sanas del 'Australiano 106/60' tienen menor tasa fotosintética pero su aparato fotosintético se resiente menos ante el ataque del patógeno. En base a lo antedicho, la reducción del crecimiento se debe a una reducción de la capacidad fotosintética durante el desarrollo de la enfermedad y consecuentemente de la capacidad de fijar y translocar carbono, tanto para continuar el crecimiento del año como para acumular reservas en tallos y raíces. La reducción del sistema radical limita la capacidad de explorar el suelo y adquirir agua y nutrientes durante esa temporada de crecimiento. Esto, sumado a la menor retranslocación de nitrógeno, debido a que las hojas enfermas caen con mayor cantidad de nitrógeno, reduce las reservas de carbono y de nitrógeno para iniciar el

crecimiento y la capacidad de adquirir recursos desde el suelo al principio de la nueva temporada. Este efecto no puede ser compensado por el control de la enfermedad con fungicidas durante la temporada siguiente.

Las diferencias en la partición de materia seca de los distintos genotipos se reflejan en la producción de metros lineales de guías. En este sentido algunas de las características que resultan favorables para minimizar el impacto de la roya en el crecimiento como, por ejemplo, la producción de ramas silépticas representan un desvío de fotosintatos a partes de la planta que no son cosechadas.

Finalmente la roya afecta la densidad básica de la madera, uno de los principales determinantes de la calidad, en plantas sometidas a ciclos repetidos de la enfermedad posiblemente debido a una insuficiente formación de leño tardío como consecuencia de la reducción en la asimilación y translocación de carbono hacia los tallos como consecuencia de la destrucción del aparato fotosintético y la posterior defoliación.

Contrastación de hipótesis

Las hipótesis que fundamentaron este trabajo son que:

1. *Melampsora medusae* es el agente causal de la roya del álamo en la región del Delta del Paraná y puede ser controlado mediante una correcta aplicación de fungicidas sistémicos.
2. La roya afecta la dinámica foliar (disminuye la duración de las hojas y aumenta el número de hojas caídas) de manera diferencial según el genotipo: los clones más ramificados compensan mejor la caída de hojas causada por la roya a través de una mayor tasa de formación de nuevas hojas.
3. La infección por roya reduce la fotosíntesis de las hojas enfermas.
4. Las hojas enfermas caen con mayores niveles de nitrógeno.
5. La roya reduce el crecimiento del año y disminuye el crecimiento del año siguiente (rebrote) debido a una menor acumulación de reservas y menor redistribución de nutrientes desde las hojas senescentes a las cepas afectando de igual modo la densidad básica de la madera.

Hipótesis 1: *Melampsora medusae* es el agente causal de la roya del álamo en la región del Delta del Paraná y puede ser controlado mediante una correcta aplicación de fungicidas sistémicos.

Esta hipótesis es aceptada completamente ya que en los muestreos realizados en el Delta del Paraná solamente se observó la presencia de *M. medusae* y la aplicación de fungicidas sistémicos, tales como el tebuconazole en dosis de 25,8 g de pa/hl de agua

hasta punto de goteo cada tres semana, permitió mantener las plantas libres de la enfermedad durante todo el ciclo de crecimiento.

Hipótesis 2: *La roya afecta la dinámica foliar (disminuye la duración de las hojas y aumenta el número de hojas caídas) de manera diferencial según el genotipo: los clones más ramificados compensan mejor la caída de hojas causada por la roya a través de una mayor tasa de formación de nuevas hojas.*

Esta hipótesis también es aceptada ya que, comparando los clones 'I 72/51' vs. 'Australiano 106/60', puede observarse que, independientemente de la roya, el clon 'Australiano 106/60' produce un mayor número de hojas en la temporada de crecimiento (Figura 3.5) y es el que experimenta menor pérdida de área foliar en respuesta a la enfermedad (Figuras 3.11 y 3.25). Sin embargo, esta mayor producción de hojas no responde únicamente a la enfermedad del año corriente, sino que es una respuesta a la infección ocurrida en los años anteriores.

Hipótesis 3: *La infección por roya reduce la fotosíntesis de las hojas enfermas.*

Esta hipótesis se acepta completamente. El intercambio neto de CO₂ a saturación lumínica disminuye marcadamente en las plantas enfermas. En parte esto es debido a un aumento de la respiración (presumiblemente respiración del hongo y de las células vegetales) pero también está relacionado con la degradación del aparato fotosintético [menor contenido de clorofila (Figura 3.31) y N foliar (Tabla 3.18)] y la consecuente pérdida de actividad fotosintética reflejado en la disminución del transporte fotosintético de electrones (Tabla 3.16).

Hipótesis 4: *Las hojas enfermas caen con mayores niveles de nitrógeno.*

Independientemente del clon analizado las hojas enfermas caen con mayores niveles de nitrógeno que las hojas sanas. (Tabla 3.19), posiblemente retenido en la masa fúngica.

Hipótesis 5: *La roya disminuye el crecimiento del año siguiente (rebrote) debido a una menor acumulación de reservas y menor redistribución de nutrientes desde las hojas senescentes a las cepas afectando de igual modo la densidad básica de la madera.*

Esta hipótesis se acepta completamente. La concentración porcentual de N (Tabla 3.17) y la biomasa de raíces (Tabla 4.10) indican que al finalizar una estación de crecimiento las plantas enfermas tienen menos reservas para iniciar el crecimiento de la siguiente temporada. De hecho, el crecimiento inicial en primavera fue menor en las plantas previamente infectadas en la temporada anterior (Figura 4.7 e). En plantas severamente afectadas por roya durante dos años consecutivos, como las del 'I 72/51', la densidad básica de la madera disminuye (Figura 4.8). Esto indica que existen marcados efectos deletéreos de la roya que son “arrastrados” de un ciclo al siguiente.

Implicancias prácticas de las investigaciones realizadas

Si bien la especie de roya actualmente difundida en la región del Delta del Paraná es *M. medusae*, la presencia fehaciente de *M. larici-populina* en ciudades cercanas a la zona núcleo forestal, constituye un peligro latente para las plantaciones de álamo. Las uredosporas son fácilmente diseminadas por el viento a grandes distancias y por lo tanto no podemos descartar que esporas de las especies encontradas en las cercanías del Delta lleguen con facilidad hasta las plantaciones comerciales. En sistemas complejos que involucran interacciones inter-específicas (Hospedante-patógeno) como las tratadas en esta tesis, las frecuencias alélicas de una población son traccionadas por las frecuencias alélicas de la otra población (selección dependiente de la frecuencia) y por lo tanto la incorporación a las plantaciones de clones susceptibles a las especies o razas de patógenos que se encuentran actualmente en muy bajas frecuencias puede determinar que éstas especies o razas actualmente no problemáticas se propagan rápidamente y generen nuevas epifitias. Este comportamiento ya ha sido registrado en la región cuando el álamo “criollo” (*P. nigra* cv. itálica) reemplazó al álamo “Carolino” (*P. deltoides* subesp. angulata cv. carolinensis) y se pasó de una epifitia producida por *M. medusae* en la década de 1920 a una nueva epifitia de *M. larici-populina* en la década de 1940. Por lo tanto, antes de realizar la difusión de nuevos clones debería chequearse también la susceptibilidad de los mismos a otras especies potencialmente virulentas.

A diferencia de lo ocurrido con las anteriores epifitias, hoy se dispone de un medio efectivo de control de roya mediante la aplicación de funguicidas sistémicos, lo cual permitirá en un futuro actuar rápidamente durante los primeros estadios de una nueva epidemia minimizando así los efectos perjudiciales de la enfermedad sobre el crecimiento y la calidad de la madera hasta tanto se identifiquen y difundan nuevos clones tolerantes. Para un efectivo control de la enfermedad se requiere efectuar inspecciones periódicas e iniciar las pulverizaciones cuando se detecten las primeras manchas cloróticas entre las hojas 6 a 23 numeradas en forma descendente a partir del ápice, tomando como hoja 1 a la hoja superior totalmente expandida. Las aplicaciones deberían repetirse cada tres semanas. Sin embargo, para evitar aplicaciones innecesarias y dado y dado que la germinación de las esporas y su penetración por los estomas depende de las condiciones ambientales, es conveniente realizar un seguimiento de las condiciones climáticas y del cultivo, de modo tal que si se no se detectan períodos con temperaturas moderadas (entre 15 y 20°C) acompañadas de altos valores de humedad que permitan mantener agua libre sobre la superficie de la hoja, ni nuevas infecciones (manchas cloróticas) en las hojas antes mencionadas, los tratamientos pueden espaciarse y aún suspenderse. La reducción del número de pulverizaciones no solamente redundará en la reducción de los costos de mantenimiento de las plantaciones, sino también en la minimización de los efectos perjudiciales sobre el ecosistema en especial sobre la población de especies acuáticas.

Dada la sensibilidad de algunos clones a la aplicación de estos funguicidas sistémicos, resulta de utilidad realizar un seguimiento de los cambios morfológicos en el follaje en desarrollo al momento de la aplicación del funguicida. Esto puede realizarse fácilmente

marcando sobre la guía, la posición de las hojas que aún se encuentran parcialmente enrolladas o no han alcanzado el tamaño final. De observarse algún cambio morfológico sobre las hojas marcadas, será recomendable cambiar de fungicida o realizar un ensayo de dosis a fin de determinar la mínima concentración del producto capaz de mantener las plantas sanas.

Disponer de un método de control de la roya con fungicidas resulta de especial utilidad para evitar pérdidas de crecimiento y calidad en plantaciones de alta densidad (18.000 plantas/ha) como las utilizadas para la propagación clonal en viveros o la obtención de biomasa con fines energéticos. Las altas densidades de plantación generan condiciones extraordinariamente favorables para el desarrollo de la enfermedad, dando lugar a profusas infecciones que podrían carecer de importancia en plantaciones comerciales con bajas densidades de plantación (230-280 plantas /ha) como las utilizadas para la obtención de rollizos especialmente para usos sólidos. Por otro lado, permitirían evitar que los viveros, que proveen materiales de plantación a distintas áreas productivas, realicen una diseminación involuntaria de esporas mantenidas en las irregularidades de la corteza de las guías y entre las yemas, por lo que es recomendable pulverizar el material de propagación con fungicidas antes de llevarlo al sitio de plantación.

Los resultados encontrados señalan la importancia de todos los factores que pueden ser afectados por la enfermedad, aun aquellos que resultan menos conspicuos y la necesidad de evaluar varios ciclos de la enfermedad para conocer el real impacto de la roya sobre el crecimiento y la calidad de la madera. Algunos daños como, por ejemplo, la modificación del reciclado del nitrógeno, impactan en el próximo ciclo de crecimiento, mientras que otros como, por ejemplo, la reducción de la densidad de la madera necesita más de un ciclo de roya para manifestarse.

Este concepto tiene importancia no sólo en el ámbito técnico-científico sino también en el productivo y por lo tanto debería ser transmitido a los extensionistas y productores locales a fin de desterrar la idea de que un ataque tardío de la enfermedad no impacta en el crecimiento. Como se ha comprobado en esta tesis la roya afecta la acumulación de reservas y por lo tanto sus efectos detrimentales trascienden el crecimiento anual. Asimismo, la acumulación de pequeños cambios en distintas variables que pueden individualmente parecer no significativos, conducen en conjunto a una disminución del crecimiento. Esto queda claramente demostrado en el clon 'Australiano 106/60' que redujo su crecimiento aun cuando en varias de las variables estudiadas las diferencias entre plantas sanas y enfermas no fueron significativas.

La resistencia horizontal ha sido propuesta por los mejoradores como una alternativa a la resistencia vertical frecuentemente superada por la co-evolución del patógeno que obligaba a continuos cambios de estrategias y a la elección de nuevas combinaciones de padres con otras fuentes de resistencia. Sin embargo, en el proceso de obtención de clones tolerantes no se han tenido en cuenta otras características que no estuvieran directamente involucradas en la relación hospedante-patógeno. A través de los resultados de esta tesis se puede ver que ciertos aspectos de la arquitectura de la copa, como la producción de ramas silépticas, el tamaño de las hojas, la eficiencia de interceptación de luz pueden ayudar a reducir el impacto de la roya.

Algunas de estas características que otorgan plasticidad, como la producción de ramas silépticas, puede resultar una carga en ausencia de la enfermedad pues compiten con la acumulación de materia seca en el fuste principal que es el retorno económico de la plantación. Estos impactos negativos podrían minimizarse a través de prácticas de manejo tales como el distanciamiento o la poda.

Nuevas líneas

Los resultados obtenidos permiten proponer algunas líneas de investigación futuras que podrían completar el trabajo iniciado en esta tesis.

Con respecto al agente causal sería conveniente desarrollar un conjunto de líneas tester que permitan determinar las razas presentes en la región y la estructura de la población del patógeno. Debido a la ausencia de hospedantes alternativos y al hecho de que las migraciones a largas distancias son eventos de baja frecuencia, es de esperar que la población de roya en el Delta posea pocos genotipos diferentes. Esto daría lugar a mayores desequilibrios de ligamiento debido a la naturaleza clonal de las poblaciones del hongo y disminuiría su potencial evolutivo sobre el hospedador asexual, en este caso el álamo, reduciendo al mismo tiempo el número de infecciones.

Disponer de un conjunto de líneas tester permitirían además, ir monitoreando en forma temprana la aparición de nuevas razas. Lo cual a su vez permitiría introducir rápidamente cambios en los programas de mejoramiento tendientes a seleccionar materiales tolerantes a las razas emergentes, así como incorporar mediante cruzamientos los genes de resistencia necesarios ante el nuevo escenario.

En cuanto a los funguicidas dado que no se dispone de productos específicos para el álamo sería conveniente ampliar los ensayos de dosis y sobre otros clones para poder definir mejor los posibles efectos adversos sobre el cultivo, tales como los encontrados en el clon “Stoneville 109”.

Por otro lado, repetir los ensayos realizados en otros clones susceptibles que posean arquitecturas parecidas a los incluidos en esta tesis, permitirían confirmar la importancia de esta característica en el desarrollo y las consecuencias de la enfermedad. Resulta necesario establecer un método más preciso que el recuento de pústulas para cuantificar la biomasa de hongo en las hojas y de este modo el verdadero nivel de infección, ya que la aparición de pústulas corresponde a la última etapa del proceso y puede estar limitada sin perjuicio del daño que ya se haya ejercido sobre el hospedante. Un método alternativo, basado por ejemplo en la determinación de los niveles de algún componente fúngico (como por ejemplo el ergosterol o la quitina) o en la cuantificación de los niveles de ADN correspondientes a algún gen específico del hongo, permitiría un monitoreo más exacto del progreso de la enfermedad o de las epifitias.

Finalmente la hipótesis de que la reducción en la asimilación y translocación de carbono hacia los tallos en plantas enfermas podría conducir a la formación incompleta de los anillos de crecimiento, especialmente debido a una insuficiente formación de leño tardío, y a una reducción del espesor de las paredes celulares, lo cual en última instancia conduciría a reducir la densidad básica de la madera, debería ser comprobada a través

de estudios anatómicos de la madera, posiblemente sobre muestras tomadas en plantas sana y enfermas del mismo genotipo en distintos momentos de la estación de crecimiento.

CAPÍTULO 6 : BIBLIOGRAFÍA

- Adee EA, Paul LE, Nafziger ED, Bollero G (2005) Yield loss of corn hybrids to incremental defoliation. *Crop Management*. doi:10.1094/CM-2005-0427
- Agrios G (2005) 'Plant Pathology' Fifth Edition (Elsevier Academic Press: London)
- Arguedas M (2004) La roya de la teca *Olivea tectonae* (Rac.): consideraciones sobre su presencia en Panamá y Costa Rica. *Kurú: Revista Forestal (Costa Rica)* 1:1-6
- Azaiez A, Boyle B, Levée V, Séguin A (2009) Transcriptome profiling in hybrid poplar following interactions with *Melampsora* rust fungi. *Mol Plant Microbe Interact* 22:190–200
- Bagyanarayana G (1998) The species of *Melampsora* on *Populus* (Salicaceae). In: Jalkanen R, Crane PE, Walla JA, Aalto T (eds) Proceedings of the First IUFRO Rusts of Forest Trees Working Party Conference. 2–7 August 1998, Saariselkä. Finnish Forest Research Institute, Research papers 712, Finland, pp 37–51
- Balatinecz J, Kretschmann D, Leclercq A (2001) Achievements in the utilization of poplar wood-guideposts for the future. *The Forestry Chronicle* 77(2):265-269
- Ball J, Carle J, Del Lungo A (2005) Contribución de álamos y sauces a la silvicultura sostenible y al desarrollo rural. *Unasyva* 221 (56):3-9
- Barnéoud C, Bonduelle P, Dubois JM (1982) Manuel de populiculture. AFOCEL (Association Foret-Cellulose). Paris
- Barrès B, Halkett F, Dutech C, Andrieux A, Pinon J, Frey P (2008) Genetic structure of the poplar rust fungus *Melampsora larici-populina*: evidence for isolation by distance in Europe and recent founder effects overseas infection. *Genetics and Evolution* 8(5):577–587
- Bassanezi RB, Amorim L, Bergamin Filho A, Berger RD (2002) Gas Exchange and Emission of Chlorophyll Fluorescence during the Monocycle of Rust, Angular Leaf Spot and Anthracnose on Bean Leaves as a Function of their Trophic Characteristics. *Journal of Phytopathology* 150(1): 37 - 47
- Bassman HH, Zwier JC (1993) Effect of partial defoliation on growth and carbon exchange of two clones of young *Populus trichocarpa* Torr. & Gray. *Forest Science* 139:419-431
- Bauer H, Plattne K, Volgger W (2000) Photosynthesis in Norway spruce seedlings infected by the needle rust *Chrysomyxa*. *Tree Physiology* 20: 211-216
- Bell AA (1981) Biochemical mechanisms of disease resistance. *Ann Rev Plant Physiol* 32:21-81
- Benetka V, Černý K, Pilařová P., Kozlíková K (2011) Effect of *Melampsora larici-populina* on growth and biomass yield of eight clones of *Populus nigra*. *Journal of forest Science* 57:41-49
- Berger S, Sinha AK, Roitsch T (2007) Plant physiology meets phytopathology: plant primary metabolism and plant–pathogen interactions. *Journal of Experimental Botany* 58:4019-4026

- Bertrand PF (2000) Roya (Rust). En: Ogawa JM, Zehr EI (eds) Plagas y Enfermedades De Los Frutales De Hueso. Mundi-Prensa Libros SA, España, pp 22-24
- Bier J (1939) *Septoria* canker of introduced and native hybrid of poplars. Canadian Journal of Research 17 (6): 195-204
- Blanco J (1977) Susceptibilidad y resistencia al ataque de roya en los alamares cultivados del Delta del Paraná. Folleto Técnico Forestal 50 (IFONA)
- Bonetto A (1986) The ecology of river systems. In: Davis BR, Walker KF (eds) The Paraná river system, Junk Publishing, Dordrecht, Holland, pp 541-554
- Bonetto A, Hurtado S (1999) Cuenca del Plata. En: Canevari P, Blanco DE, Bucher E, Castro G, Davidson I (eds) Los Humedales de la Argentina. Clasificación, Situación Actual, Conservación y Legislación, Wetlands International, Argentina, pp 33-72
- Bonfils C (1962) Los suelos del Delta del río Paraná. Factores generadores, clasificación y uso. Revista de Investigaciones Agrícolas XVI (3): 257-370
- Borodowski E (2009). Patrones de crecimiento estacional en clones de álamo en el Delta del Paraná y sus implicancias para el manejo. Actas Jornadas de Salicáceas 2009. http://64.76.123.202/new/0-0/forestacion/_archivos/_biblioteca/Borodowski1.pdf
- Borodowski E, Suárez R (2004) El cultivo de álamos y sauces: su historia en el delta del Paraná. SAGPyA Forestal 32: 5-13
- Borodowski E, Suarez R (2005) Caracterización forestal de la región del Delta del Paraná. Documento NEF Delta, Proyecto Forestal de Desarrollo-SAGPyA.
- Both MW, Csukai M, Stumpf MPH, Spanu PD (2005) Gene expression profiles of *Blumeria graminis* indicate dynamic changes to primary metabolism during development of an obligate biotrophic pathogen. Plant Cell 17: 2107–2122
- Boudier B (1992) Rust of Salicaceae: remarkable efficacy of tebuconazole and cyproconazole. Revue Horticulture 323: 29-30
- Bradshaw Jr. HD (1996) Molecular genetics of *Populus*. In: Stettler RF, Bradshaw Jr. HD, Heilman PE, Hinckley TM (Eds) Biology of *Populus* and its implications for management and conservation Part I. NRC Research Press, National Research Council of Canada, Ottawa, ON, Canada, pp. 183-199
- Brandán S, Corinaldesi L, Frisa C (2009) Sector Forestal. Año 2008, MAGyP. http://64.76.123.202/new/0-0/forestacion/_archivos/_estadisticas2/publicacion_2008.pdf
- Broeckx LS, Verlinden MS, Vangronsveld J, Ceulemans R (2012) Importance of crown architecture for leaf area index of different *Populus* genotypes in a high-density plantation. Tree Physiology 32: 1214-1226
- Burkart A (1957) Ojeada sinóptica sobre la vegetación del Delta del Río Paraná. Darwiniana 11, 457-561

- Cellerino GP (1999) Rusts caused by *Melampsora spp.* Review of poplar diseases. 8 pp. (FAO, Roma), <http://www.fao.org/docrep/004/ac492e/ac492e00.htm> 8/10/2102
- Cervera MT, Gusmao J, Steenackers M, Peleman J, Storme V, Vanden Broeck A, Van Montagu M, Boerjan W (1996) Identification of AFLP molecular markers for resistance against *Melampsora larici-populina* in *Populus*. *Theor. Appl. Genet.* 93:733-737
- Ceuleman R (1990) Genetic variation in functional and structural productivity determinants in poplar. Thesis Publisher, Amsterdam, The Netherlands.
- Ceuleman R, Impens I (1979) Study of CO₂ exchange process. Resistance to carbon dioxide and chlorophyll content during leaf ontogenesis in poplar. *Biol. Plant.* 21:302-306
- Ceuleman R, Stettler RF, Hinkley TM, Isebrand JG, Heilman PE (1990) Crown architecture of *Populus* clones as determined by branch orientation and branch characteristics. *Tree Physiology* 7:157-167
- Chastagner G, Newcombe G (1993) An overview of poplar uses and *Melampsora* leaf rust pathogens in the Pacific Northwest. Poplar leaf rust workshop. Washington State University.
- Chastagner G, Newcombe G, Stanley J, McQuarrie-Baker V (1993) Potential use of fungicides in the management of poplar leaf rust. Poplar leaf rust workshop. Washington State University.
- Cheng LL, Fuchigami LH (2002) Growth of young apple trees in relation to reserve nitrogen and carbohydrates. *Tree Physiol.* 22:1297–1303
- Chiva O, Zinno Y (1960) Uredosporas of the poplar leaf rust *Melampsora larici-poppulina* Kleb. As a source of primary infection. *Journal of the Japanese Forestry Society* 42 (11): 405-410
- Chou H, Bundock N, Rolfe S, Scholes J (2000) Infection of *Arabidopsis thaliana* leaves with *Albugo candida* causes a repro-gramming of host metabolism. *Molecular Plant Pathology* 1:99–113
- Clute WN (1943) Meaning of plant names XCII: willows and poplars. *American Botanist* 49(3):78-84
- Coleman JS (1986) Leaf development and leaf stress: increased susceptibility associated with sink-source transition. *Tree Physiology* 2: 289-299
- Coleman JS, Dickson RE, Isebrand JG, Karmosky DF (1995) Carbon allocation and partitioning in aspen clones varying in sensitivity to tropospheric ozone. *Tree Physiology* 15:593-604
- Confalone A, Lizaso JI, Ruiz Nogueira B, Lopez Cedrón FX, Sau F (2009) Growth, PAR use efficiency, and yield components of field-grown *Vicia faba* L. under different temperature and photoperiod regimes. *Field Crops Res.*, doi: 10.1016/j.fcr.2009.10.014
- Cooke JEK, Weih M (2005). Nitrogen storage and seasonal nitrogen cycling in *Populus*: bridging molecular physiology and ecophysiology. *New Phytologist* 167:19–30

- Cortizo S (2005) Roya del álamo en el Delta del Paraná. IDIA XXI. Forestales. Revista de información sobre investigación y desarrollo agropecuario 8, 139-142.
- Cortizo S (2011) Mejoramiento genético del álamo, una ciencia en apoyo a la producción forestal sostenible. Tercer Congreso Internacional de las Salicáceas en Argentina. Neuquén. Argentina. <http://www.minagri.gob.ar/new/0-0/forestacion/salicaceas/jornadas%20salicaceas%202011/Actas/Inicio.htm>
- Cortizo S, Mema V, Pathauer P (2004) Evaluación de clones de álamo en el Delta del Paraná. Actas de las 11^{as} Jornadas Técnicas Forestales y Ambientales. Eldorado. Misiones. Facultad de Ciencias Forestales. UNAM-E.E.A. Montecarlo. INTA
- Curtis JD, Lersten NR (1974) Morphology, seasonal variation and function of resin glands on buds and leaves of *Populus deltoides*. Amer. J. Bot. 61: 835-845
- Dawson MW, McCracken A, Carlisle D (2005) Short-rotation Coppice Willow Mixtures and Yield. In: Hao Pei M, McCracken AR (ed) Rust diseases of Willow and Poplars CAB International, pp 195-208
- de Jesus WC, do Vale FX, Coelho RR, Hau B, Zambolim L, Costa LC, Filho AB (2001) Effects of Angular Leaf Spot and Rust on Yield Loss of *Phaseolus vulgaris*. Phytopathology 91(11):1045-53
- Del Ponte E M, Godoy CV, Li X, and Yang XB (2006) Predicting Severity of Asian Soybean Rust Epidemics with Empirical Rainfall Models. Phytopathology 96 (7): 797-803
- Desprez-Loustau ML, Dupuis F, Viguie A (1992) Evaluation of single annual applications of sterol-inhibiting fungicides for control of pine twisting rust. Plant Disease 76(4): 376-382
- Dickmann DI (2001) An overview of the genus *Populus*. In: Dickmann DI, Isebrand JG, Eckenwalde JE, Richardson J (ed) Poplar culture in North America NRC Research Press, Ottawa, Ontario, Canada, pp 1-42
- Dickmann DI (2006) Silviculture and biology of short-rotation woody crops in temperate regions: Then and now. Biomass & Bioenergy 30: 696-705
- Dickmann DI, Gjerstad DH, Gordon JC (1975) Developmental patterns of CO₂ exchange, diffusion resistance and synthesis in leaves of *P. xeuroamericana*. In: Marcelle R, Junk W (eds) Environmental and Biological Control of Photosynthesis, The Hague, Holland, pp 171-182
- Dickmann DI, Kuzovkina J (2008) Poplars and willows, with emphasis on silviculturally important species. Poplars and willows in the world. Forest Resources Working Paper IPC/9-2', FAO, Rome, Italy pp 130
- Dickson RE (1986) Carbon and nitrogen allocation in trees. Annals of Forest Science 46:631s-647s
- Dickson RE, Larson PR (1981) ¹⁴C Fixation, metabolic labeling patterns and translocation profiles during leaf development in *Populus deltoides*. Planta 152: 461-470

- Dickson RE, Shive JB (1982) 14C Fixation, translocation and carbon metabolism in rapidly expanding leaves of *P. deltoides*. *Ann. Bot.* 50: 37-47
- Dietel P (1937) Uredinales uruguayenses novae vel criticae. *Revista Sudamericana de Botánica*. Montevideo 4(3-5): 80-82
- Dillen SY, Rood SB, Ceulemans R (2010) Growth and Physiology. In: Jansson S, Bhalerao RP, Groover AT (eds) *Genetics and Genomics of Populus: Plant Genetics and Genomics: Crops and Models 8*. Springer, Science, Nueva York, pp 39-63
- Doodson J K, Manners J G, Myers A (1964) Some effects of Yellow Rust (*Puccinia striiformis*) on the growth and yield of a spring wheat. *Annals of Botany* 111:459-472
- Dowkiw A, Bastien C (2004) Characterization of two mayor genes factors controlling quantitative resistance to *Melampsora larici-populina* leaf rust in hybrid poplars: strain-specificity, field expression, combined effects, and relationship with a defeated qualitative resistance gene. *Phytopathology* 94: 1358-1367
- Dowkiw A, Husson C, Frey P, Pinon J, Bastien C (2003) Partial resistance to *Melampsora larici-populina* leaf rust in hybrid poplars: genetic variability in inoculated excised leaf disk bioassay and relationship to complete resistance. *Phytopathology* 93:421-427
- Elliasson L (1968) Dependence of Root Growth on Photosynthesis in *Populus tremula*. *Physiologia Plantarum* 21:806-810
- Ericsson T, Rytter L, Linder S (1992) Nutritional dynamics and requirements of short rotation forests. In: Mitchell CP, Ford-Robertson JB, Hinckley T, and Sennerby-Forsse L (ed) *Ecophysiology of Short Rotation Forest Crops*. Elsevier Applied Science, London, pp 35-65
- Feau N, Mottet M, Périnet P, Hamelin R, Bernier L (2010) Recent advances related to poplar leaf spot and canker caused by *Septoria musiva*. *Canadian Journal of Plant Pathology* 32 (2): 122-134
- Fege AS (1983) Changes in *Populus* carbohydrate reserves during induction of dormancy, cold storage of cuttings, and development of young plants. Ph. D. thesis, University of Minnessota
- Fernandez Valiela M V (1979) Introducción a la Fitopatología. Colección científica del INTA. Volumen IV: Hongos y mycoplasmas.
- Fracassi NG (2005) Clasificación de uso de la tierra en el Bajo Delta Bonaerense. *Boletín Informativo RIAP-CRBAN*, Número Especial Delta del Paraná.
- Fresa RCA (1936) Determinación específica de la roya del álamo de Italia (*Populus nigra* var *italica*) en la región del Delta del Paraná (Argentina). *Rev. Argent. Agron.* 3(4): 258-259
- Frey P, Gérard P, Feau N, Husson C, Pinon J (2005). Variability and population biology of *Melampsora* rusts on poplars. In: Pei M, McCracken A (eds) *Rust diseases of willow and poplar*. Wallingford, U.K. Cab International. pp 63-72

- Gan S, Amasino RM (1997) Making sense of the senescence. Molecular genetic regulation and manipulation of leaf senescence. *Plant Physiol* 113:313-319
- Ganley RJ, Sniezko RA, Newcombe G (2008) Endophyte-mediated resistance against white pine blister rust in *Pinus monticola*. *Forest Ecology and Management* 255:2752-2760
- Giorcelli A, Gennaro M, Deandrea G, Chiarabaglio PM Giorcelli A, Gennaro M, Deandrea G, Chiarabaglio PM (2012) Effetti diretti e indiretti di trattamenti chimici contro le ruggini del pioppo. *Forest@9*: 158-165 [online 2012-06-26] URL: <http://www.sisef.it/forest@/contents/?id=efor0695-009>
- Giorcelli A, Vietto L (1995) Valutazione dell'efficacia di alcuni fungicide verso le ruggini dil pioppo. *Informatore Fitopatologico* 6: 69-62
- Giorcelli A, Vietto L, Anselmi N (1990) The *Melampsora* of cultivated poplars in Italy: species, physiological races, territorial incidence and clonal susceptibility. Working Party on diseases XXVI Session International Poplar Commission. FAO: 21 pp
- Gordon JC (1971) Changes in total nitrogen, soluble protein and peroxidase in the expanding leaf zone of eastern cottonwood. *Plant Physiol.* 47: 595-599
- Groover AT, Nieminen K, Helariutta Y, MansfieldSD (2010) Wood formation in *Populus*. In: Jansson S, Bhalerao RP, Groover AT (ed) *Genetics and genomics of Populus*, vol. 8, *Plant genetics and genomics: Crops and models*. Springer, New York, New York, USA, pp 201–224
- Guarnaschelli AB, Garau AM, Rosas I, Figallo T, Cortizo S (2013) Comparación del comportamiento frente a la sequía de dos clones de *Populus deltoides*. *Actas Cuato Congreso Forestal Argentino y Latinoamericano*. AFOA: 10 pp
- Hacquard S, Petre B, Frey P, Hecker A (2011) The Poplar-Poplar Rust Interaction: Insights from Genomics and Transcriptomics. *Journal of Pathogens* 2011. Article ID 716041, 11 pages.
- Halle F, Oldeman RAA, Tomlinson, PB (1978) *Tropical trees and forests: an architectural analysis*. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, New York
- Hamelin R, Shain L, Ferries R, Thielges B (1993). Quantification of disease progress and defoliation in poplar leaf rust eastern cottonwood pathosystem. *Phytopathology* 83:140-144
- Hamelin R, Shain L, Thielges B (1992). Influence of leaf wetness, temperature, and rain on poplar leaf rust epidemics. *Canadian Journal of Forest Research* 22:1249-1254
- Hiratsuka Y, Sato S (1982) Morphology and taxonomy of rust. In: Scott KJ, Charkravorty AK (ed) *The Rust Fungi*. Academic Press, London, pp 1-36
- Hsiang T, Chastagner GA, Dunlap JM, Stettler RR (1993) Genetic variation and productivity of *P. trichocarpa* and its hybrids. VI. Field susceptibility of seedlings to *Melampsora occidentalis* leaf rust. *Canadian Journal of Forest Research* 23 (3): 436-441

- Huang L, Gill BS (2001) An RGA-like marker detects all known Lr21 leaf rust resistance gene family members in *Aegilops tauschii* and wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 103 (6-7):1007-1013
- Hylander N, Jørstad I, Nanfeldt JA (1953) *Enumeratio Uredinearum Scandinavicarum*. *Opera Botánica* 1:1-102
- INASE (2007) Descriptor de álamo. http://www.inase.gov.ar/index.php?option=com_content&view=article&id=101&Itemid=148
- Inskeep WP, Bloom PR (1985) Extinction coefficients of chlorophyll a and b in N,N-dimethylformamide and 80% acetone. *Plant Physiology* 77:483-485
- Isebrand JG, Larson PR (1973) Anatomical changes during leaf ontogeny in *Populus deltoides*. *Amer. J. Bot.* 60:199-208
- Isebrands JG, Karnosky DF (2001) Environmental benefits of poplar culture. In: Dickmann DI, Isebrands JG, Eckenwalder JE, Richardson J (ed) *Poplar Culture in North America*. NRC Research Press, Ottawa, ON, Canada, pp 207-218
- Isebrands JG, Nelson ND (1983). Distribution of ¹⁴C-labeled photosynthates within intensively cultured *Populus* clones during the establishment year. *Physiol. Plant.* 59: 9-18
- Johnson J, Kim Y (2005) The role of leaf chemistry in *Melampsora medusae* infection of hybrid poplar: effects of leaf development and fungicide treatment. *Can. J. For. Res.* 35:763-771
- Jones CG (1983) Phytochemical variation, colonization, and insect communities: The case of bracken fern *Pfrridium aquilinum*. In: Denno RF and McClure MS (eds) *Variable Plants and Herbivores in Natural and Managed Systems*. Academic Press, New York, pp 513-538
- Kandus P (1997) Análisis de los patrones de vegetación a escala regional en el Bajo Delta bonaerense del río Paraná (Argentina). Tesis Doctoral. Universidad de Buenos Aires, Argentina.
- Kandus P, Minotti P (2010) Distribución de terraplenes y áreas endicadas del Delta del Paraná. En: Blanco D, Méndez FM (ed) *Endicamientos y Terraplenes del Delta del Paraná. Situación, efectos ambientales y marco jurídico*. Wetlands International- LAC Fundación Humedales. Buenos Aires. Argentina, pp 15-32
- Kandus P, Quintana R, Bó R (2006) *Patrones de paisaje y Biodiversidad del Bajo Delta del Río Paraná*. Mapa de ambientes. Pablo Casamajor Ediciones, Buenos Aires
- Khan SN (1994) *Studies on Melampsora leaf rust of Populus species*. Msc thesis, Dr Y S Parmar University of Horticulture and Forestry, Solan, India.
- Kirk PM, Cannon PF, David JC, Stalpers J A (2001) *Ainsworth y Bisby's dictionary of the fungi*. 9th ed. CABI, Wallingford, UK

- Kozłowski TT, Kramer PJ, Pallardy SG (1991) How woody plants grow. In: Mooney H (ed) The Physiological Ecology of Woody Plants. Academic Press: San Diego, California, pp. 1-29
- Krzan Z (1980) Effect of climatic factor on the development of the diseases caused by *Melampsora larici-populina*. Folia Forestalia 422:10-13
- Larson PR, Gordon JC (1969) Leaf development, photosynthesis and C¹⁴ distribution in *Populus deltoides* seedlings. Amer. J. Bot. 566: 1058-1066
- Larson PR, Isebrands, JG (1971) The Plastochron Index as Applied to Developmental Studies of Cottonwood. Canadian Journal of Forest Research 1:1-11
- LATINOCONSULT S.A. (1972) Estudio integral para el desarrollo del Delta Bonaerense. Ministerio de Economía. Dirección de Proyectos. Provincia de Buenos Aires.
- Laurans F, Pilate G (1999) Histological aspects of a hypersensitive response in poplar to *Melampsora larici-populina*. Phytopathology 89 (3):233-238
- Laureysens I, Pellis A, Willems J., Ceulemans R (2005) Growth and production of a short rotation coppice of poplar. III. Second rotation results. Biomass and Bioenergy 29: 10-21
- Lefèvre F, Goue-Mourier MC, Faivre-Rampant P, 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
- Lemaire H, Maugard F, Merzeau D (1998) Faut-il traiter les peupliers contre la rouille? Essais de traitements sur Luisa Avanzo. Aquitaine.Forêt-Entreprise 121:54-59
- Li HL (1996) The Weeping Willow and Lombardy poplar. In: Shade and Ornamental Trees: Their Origin and History. University of Pennsylvania Press, Philadelphia, USA, pp 37-55
- Lindenthal M, Steiner U, Dehne HW, Oerke EC (2005) Effect of downy mildew development on transpiration of cucumber leaves visualized by digital infrared thermography. Phytopathology 95: 233-240
- Lindquist JC (1982) Royas de la República Argentina y zonas limítrofes. Ediciones INTA. Colección Científica. Vol. XX. Tipenc SRL, Buenos Aires
- Livne A (1964) Photosynthesis in healthy and rust-affected plants. Plant Physiology 39:614-621
- Lucero GS, Pizzuolo PH, Riu NE, Hapon MV, Pérez Hurtado R (2011) Nueva especie de *Melampsora* sobre *Populus deltoides* Stoneville 70 en Mendoza, Argentina. Rev. FCA UNCUYO 43:231-236
- Major IT, Nicole MC, Duplessis S, Séguin A (2010) Photosynthetic and respiratory changes in leaves of poplar elicited by rust infection. Photosynth Res 104:41-48 Doi: 10.1007/s11120-009-9507-2

- Malvárez AI (1997) Las comunidades vegetales del Delta del Río Paraná. Su relación con factores ambientales y patrones del paisaje. Tesis Doctoral. Universidad de Buenos Aires, Argentina
- Malvárez AI (1995) Evaluación del Impacto Ambiental en el Desarrollo de la Hidrovía Paraguay-Paraná. Ecorregión Delta del Paraná. Diagnóstico de Vegetación y ambientes. Informe final. UNOPS/PNUD/BID/CIH, Buenos Aires
- Mandal K, Saravanan R, Maiti S, Kothari IL (2009) Effect of downy mildew disease on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in *Plantago ovata* Forsk. Journal of Plant Diseases and Protection 116:64–168
- Manners JG (1993) Principles of Plant Pathology. Cambridge University Press, Cambridge
- Marchionatto JB (1937) The effects of rust on the Poplar groves of the Delta. Int. Bull. Pl. Prot., xi (8):173-174
- Marchionatto JB (1944) Manual de las enfermedades de las plantas. Ed. Sudamericana, Buenos Aires
- Marron N, Bastien C, Sabatti M, Taylor G, Ceulemans R (2006) Plasticity of growth and sylleptic branchiness in two poplar families grown at three sites across Europe. Tree Physiology 26:935–946
- Martínez Revol M (2004) Efecto de la roya del Cafeto (*Hemileia vastatrix* B.) sobre variedades comerciales. Avances CIGET Pinar del Río Vol.6 N°.1
- Maurel K, Leite GB, Bonhomme M, Guilliot A, Rageau R, Pétel G, Sakr S (2004) Trophic control of bud break in peach (*Prunus persica*) trees: a possible role of hexoses. Tree Physiol. 2004:579-588
- May-De Mio L, Amorin L, Moreira L (2006) Progresso de epidemias e avaliação de danos da ferrugem em clones de álamo. Fitopatol. bras. 31:133-139
- May-De Mio L, Ruaro L (2008) Métodos de Avaliação da ferrugem do Álamo e eficiencia de funguicidas no seu controle. R. Árvore, Visçosa-MG 32:837-844
- Mc Culloch CE, Searle SR (2001) 'Generalized, Linear and Mixed Models' (John Wiley & Sons: New York)
- Mendgen K, Hahn M (2002) Plant infection and the establishment of fungal biotrophy. Trends Plant Sci 7:352–356
- Millard P, Grelet GA (2010) Nitrogen storage and remobilization by trees: ecophysiological relevance in a changing world. Tree Physiology 30: 1083–1095
- Millard P, Wendler R, Grassi G, Grelet GA, Tagliavini M (2006) Translocation of nitrogen in the xylem of field-grown cherry and poplar trees during remobilisation. Tree Physiol 26:527-536
- Miranda M, Ralph SG, Mellway R, White R, Heath MC, Bohlmann J, Constabel CP (2007) The transcriptional response of hybrid poplar (*Populus trichocarpa* x *P. deltoides*) to infection by *Melampsora medusae* leaf rust involves induction of flavonoid pathway

- genes leading to the accumulation of proanthocyanidins. *Mol Plant Microbe Interact* 20:816–831
- Mohn CA, Randall WK, MsKnight JS (1970) Fourteen Cottonwood Clones Selected for Midsouth Timber Production. U.S. Department of Agriculture. Forest Service Research Paper SO-62
- Montgomery D, Peck E, Vining G (2002) ‘Introducción al Análisis de Regresión Lineal’. (Duxbury Press, México)
- Mooney HA, Gulmon SL, Johnson ND (1983) Physiological Constraints on Plant Chemical Defenses. In: Hedin PA (ed) *Plant Resistance to Insects*. American Chemical Society, Washington, D.C. pp 21-36. doi: 10.1021/bk-1983-0208.fw001
- Morelet M, Pinon J (1973) *Darluca filum*, hyperparasite du genre *Melampsora* sur Peuplier et Saule. *Revue Forestiere Francaise* 25:378-379
- Mujica F (1979). Estudio ecológico y socioeconómico del Delta Entrerriano. Parte I. Ecología. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Paraná, Argentina.
- Nagarajan S, Singh DV (1990) Long-distance dispersion of rust pathogens. *Annual Review of Phytopathology* 28:139–153
- Newcombe G (1996) The specificity of fungal pathogens of *Populus*. In: Stettler HD, Bradshaw Jr. HD, Heilman PE, Hinckley TM (ed) *Biology of Populus and its implications for management and conservation*. Part I. NRC Research Press, National Research Council of Canada, Ottawa, ON, Canada, pp. 223-246
- Newcombe G, Bradshaw Jr. HD, Chastagner G A, Stettler R F (1996) A major gene for resistance to *Melampsora medusae* f. *sp.deltoidae* in a hybrid poplar pedigree. *Phytopathology* 86:87-94
- Newcombe G, Ostry M (2001) Recessive resistance to *Septoria* stem canker of hybrid poplar. *Phytopathology* 91(11):1081-1084
- Newcombe G, Ostry M, Hubbes M, Périnet P, Mottet MJ (2001) Poplar Diseases. In: Dickmann DI, Isebrand JG, Eckenwalder JE, Richardson J (ed). *Poplar Culture in North America*. Part A. NRC Research Press, National Research Council of Canada, Ottawa, ON, Canada, pp 249-276
- Newcombe G, Stirling B, McDonald S, Bradshaw Jr HD (2000) *Melampsora ×columbiana*, a natural hybrid of *M. medusae* and *M. occidentalis*. *Mycological Research* 104 (3): 261–274
- Newsome J (1964) *Pliny’s Natural History: A Selection from Philemon Holland’s Translation*. Oxford, England: Oxford Clarendon Press
- Niinemets Ü (2010) A review of light interception in plant stands from leaf to canopy in different plant functional types and in species with varying shade tolerance. *Ecol Res* 25: 693–714. Doi: 10.1007/s11284-010-0712-4

- Nischwitz C, Newcombe G (2004) The use of *Sphaerellopsis filum* for biological control of *Melampsora* species on *Populus* species. Abstracts of Proceedings of the 22^o Session International Poplar Commission. International Poplar Commission Working Paper IPC/2. Forest Resources Division, FAO, Roma
- Nischwitz C, Newcombe G, Anderson L (2005) Host specialization of the mycoparasite *Eudarlucica caricis* and its evolutionary relationship to *Ampelomyces*. *Micology Research* 109 (4): 421-428
- Ostry ME, Juzwik J (2012) Poplar Leaf Rusts Forest Nursery Pests-Hardwood Diseases, USDA Forest Service 27: 98-99
- Ostry ME, Nicholls TH (1982) A technique for trapping fungal spores. Research Note 283. North Central Forest Experiment Station, USDA Forest Service
- Ostry ME, Wilson LF, McNabb Jr. HS, Moore L (1989) A guide to Insect, Disease, and Animals Pests of Poplars. USDA For. Serv. Agric. Handbook 677, Washington
- Paillassa E (1996) Les roilles et le peuplier. Les cahiers techniques de l'objectif 1, Bulletin trimestriel N °2, Centre de Populiculture du Hainaut: 9-18
- Panstruga R (2003) Establishing compatibility between plants and obligate biotrophic pathogens. *Curr Opin Plant Biol* 6: 320–326
- Paul ND, Ayres P G (1986) The Effects of Nutrient Deficiency and Rust Infection on the Relationship Between Root Dry Weight and Length in Groundsel (*Senecio vulgaris* L.). *Annals of Botany* 57:353-360
- Pei M, Shang Y (2005) A brief summary of *Melampsora* species on *Populus*. In: Pei M, McCracken A (ed) Rust Diseases of Willow and Poplar. CABI Publishing: UK, pp 51-62
- Petray E (1998) Evolución de las Forestaciones realizadas con Salicáceas en la Provincia de Buenos Aires en el Contexto del Régimen de Promoción de Plantaciones Forestales. Dirección de Producción Forestal. SAGPyA, Argentina
- Picco F, Giorelli A, Castro G (2007) Chiave dicotomica per il riconoscimento in vivaio dei principali cloni di pioppo coltivati nell'Unione Europea. Vol II. CRA. Consiglio per la Ricerca e la sperimentazione in Agricoltura. Unità di Ricerca per le Produzioni Legnose Fuori Foresta. Litograf Editor. Città di Castello
- Pilipovic A, Orlovic S, Nikolic N, Galic Z (2006) Investigating potential of some poplar (*Populus* sp.) clones for phytoremediation of nitrates through biomass production. Environmental Applications of Poplar and Willow Working Party. 18-20 May 2006, Northern Ireland <http://www.fao.org/forestry/10720-0e35704feccf003b18624d9e69301dac.pdf>.
- Pincemin JM, Monlezun SJ, Zunino H, Cornaglia PS, Borodowski E (2007) Sistemas Silvopastoriles en el Delta del Río Paraná: Producción de materia seca y estructura de gramíneas templadas bajo álamos. APPA ALPA- Cusco, Perú.

http://www.produccionanimal.com.ar/produccion_y_manejo_pasturas/manejo%20silvo%20pastoril/82-Pincemin-silvopastoril.pdf.

- Pinon J (1984) Management of diseases of poplars. *European Journal of Forest Pathology* 14:415-425
- Pinon J (1992 a) Variability in the genus *Populus* in sensitivity to rusts. *Silvae Genetica* 41:25-34
- Pinon J (1992 b) Frequency and evolution of *Melampsora larici-populina* (Klebahn) races in North-Western France. *Ann. Sci. For.* 49:1-15
- Pinon J (1995) Présence en France d'une nouvelle race de *Melampsora larici-populina*, agent de la rouille foliaire des peupliers cultivés. *Rev. For. Fr.* 47:230-234
- Pinon J, Frey P (1997) Structure of *Melampsora larici-populina* populations on wild and cultivated poplar. *Eur. J. Plant. Pathol.* 103:159-173
- Pinon J, Frey P (1999) Breeding poplar for disease resistance as seen by pathologists. Abstracts of Proceedings of International Poplar Symposium II. IUFRO. INRA. Orleans, France
- Pinon J, Frey P (2005) Interactions between poplar clones and *Melampsora* populations and their implications for breeding for durable resistance. In: Pei M, McCracken A (ed) *Rust Diseases of Willow and Poplar*. CABI Publishing. UK, pp 139-154
- Pinon J, Frey P, Husson C (2006) Wettability of Poplar leaves influences dew formation and infection by *Melampsora larici-populina*. *Plant Disease* 90:177-184
- Pinon J, 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
- Pliura A, Yu Q, Zhang S, MacKay J, Périnet P, Bousquet J (2005) Variation in Wood Density and Shrinkage and Their Relationship to Growth of Selected Young Poplar Hybrid Crosses *Forest Science* 51(5): 472-482
- Prat M, Salomon J, Gentile E, Natenzon C (1998) El Delta del Paraná. Aspectos naturales y antrópicos. Bordeaux: Travaux du Laboratoire de Géographie Physique Appliquée.
- Pregitzer KS, Dickman DI, Hendrick R, Nguyen PV (1990) Whole-tree carbon and nitrogen partitioning in young hybrid poplars. *Tree Physiology* 7: 79-93
- Pregitzer KS, Friend AL (1996) The structure and function of *Populus* root Systems. In: Stettler RE, Bradshaw HD Jr, Heilman PE, Hinckley TM (ed) *Biology of Populus and its implications for management and conservation*, NRC Research Press, Ottawa, ON, Canada, pp 331-354
- Pregitzer KS, Zak DR, Kurtis PS, Kubiske ME, Teeri JA, Vogel CS (1995) Atmospheric CO₂, soil nitrogen and turnover of fine roots. *New Phytologist* 129:579-585
- Pryor LD, Willing RR (1982) *Growing and breeding poplar in Australia*. Canberra Publishing and Printing Co, Canberra

- Quintana RD, Bó RF (2010) Caracterización general de la región del Delta del Paraná. En: Blanco D, Méndez FM (ed) Endicamientos y Terraplenes del Delta del Paraná. Situación, efectos ambientales y marco jurídico. Wetlands International – LAC Fundación Humedales. Buenos Aires, pp 5-13
- Quirino BF, Noh Y, Himelblau E, Amasino RM (2000) Molecular aspects of leaf senescence. *Trends in Plant Science* 5:278-282
- Ragonese A, Rial Alberti F (1973/74) Resistencia de los cultivares de álamo de la Sección Aigeiros al ataque de roya (*Melampsora spp.*) IDIA. *Suplemento Forestal* 8:40-46
- Rennenberg H, Dannenmann M, Gessler A, Kreuzwieser J, Simon J, Papen H (2009) Nitrogen balance in forest soils: nutritional limitation of plants under climate change stresses. *Plant Biol.* 11:4–23
- Rhoades DF (1983) Herbivore population dynamics and plant chemistry. In: Denno RF, McClure MS (ed) *Variable Plants and Herbivores in Natural and Managed Systems*. Academic Press, New York, pp 155-220
- Rhodenbaugh EJ, Pallardy SG (1993) Water stress, photosynthesis and early growth patterns of cuttings of three *Populus* clones. *Tree Physiology* 13:213-226
- Riemenschneider RE, Stanton BJ, Vallée G, Périnet P (2001) Poplar breeding strategies. In: Dickmann DI, Isebrand JG, Eckenwalde JE, Richardson J (ed) *Poplar culture in North America*. NRC Research Press, Ottawa, ON, Canada, pp. 43-76
- Rinaldi C, Kohler A, Pascal Frey FD, Ningre N, Couloux A, Wincker P, Le Thiec D, Fluch S, Martin F, Duplessis S (2007) Transcript Profiling of Poplar Leaves upon Infection with Compatible and Incompatible Strains of the Foliar Rust *Melampsora larici-populina*. *Plant Physiology* 144:347-366
- Robert C, Bancal MO, Lannou C (2002) Wheat Leaf Rust Uredospore Production and Carbon and Nitrogen Export in Relation to Lesion Size and Density. *Phytopathology* 92:762-768
- Rohde A, Bastien C, Boerjan W (2011) Temperature signals contribute to the timing of photoperiodic growth cessation and bud set in poplar. *Tree Physiology* 31:472-482
- Rubio-Meléndez M, Zamudio F, Ramírez C (2011) Susceptibilidad de híbridos de *Populus spp.* al ataque de áfidos y roya en tres localidades de Chile. *BOSQUE* 32(2): 127-134
- SAS Institute Inc. (2004). *SAS OnlineDoc® 9.1.3*. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Schenk PM, Kazan K, Wilson I, Anderson JP, Richmond T, Somerville SC, Manners JM (2000) Coordinated plant defense responses in *Arabidopsis* revealed by microarray analysis. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 11655–11660
- Scholes J, Rolfe SA (1996) Photosynthesis in localized regions of oat leaves infected with crown rust (*Puccinia coronata*): quantitative imaging of chlorophyll fluorescence. *Planta* 199:573–58

- Schultz JC, Colletti JP, Isenhardt TM, Marquez CO, Simpkins WW, Ball CJ (2000) Riparian forest buffer practices. In: Garrett HE, Rietveld WJ, Fisher RF(ed) North American Agroforestry: an Integrated Science and Practice. American Society of Agronomy, Madison, WI, pp. 189–282
- Schultz, JC (1983) Habitat selection and foraging tactics of caterpillars. In: Denno RF and McClure MS (eds.) Variable Plants and Herbivores in Natural and Managed Systems. Academic Press, New York, pp 61-90
- Schultz JC, Nothnagle PJ, Baldwin IT (1982) Seasonal and individual variation in leaf quality of two northern hardwood tree species. *Amer. J. Bot.* 69:753-759
- Schweitzer DF (1979) Effects of foliage age on body weight and survival in Larvae of the Tribe Lithophanini (Lepidoptera: Noctuidae). *Oikos* 32 (3):403-408
- Settepani V, Riu N, Cortizo S (2011) Comportamiento de clones deltoides en vivero en la zona este de la Provincia de Mendoza, Argentina. *Actas de las Jornadas de Salicáceas 2011*: 3 pp
- Shain L, Miller JB (1982) Pinocembrin: an antifungal compound secreted by leaf glands of eastern cottonwood. *Phytopathology* 72:877-880
- Silla F, Escudero A (2003) Uptake, demand and internal cycling of nitrogen in saplings of Mediterranean *Quercus* species. *Oecologia* 136:28-36
- Silva Busso A, Amato S, Seoane N, Pittau M (2004) Aportes al conocimiento de la geología del subsuelo del Delta del Río Paraná. INA, Informe LHA 03-235-04
- Sivakumaran S, McIvor I (2010) National Poplar Rust Disease Survey 2009-2010. The New Zealand Institute for Plant & Food Research Limited. 4332 Poplar and Willow Breeding Programme pp 40-46. <http://www.mpi.govt.nz/portals/0/documents/environment/initi-funding/slmhcep/national-poplar-rust-disease-survey-2009-10.pdf>
- Soil Survey Staff (2010) Claves para la Taxonomía de Suelos. USDA-Natural Resources Conservation Service. Washington
- Spiers AG (1976) Fungicides for control of poplar leaf rust and effects of control on growth of *P. nigra* cv 'sepervirens' and *P. x euroamericana* cv. '214'. *N. Z. Journal of Experimental Agriculture* 4: 249-254
- Spiers, AG (1978) Effects of light temperature and relative humidity on germination of uredinio spores of and infection of poplars by *Melampsora larici populina* and *Melampsora medusae*. *New Zealand Journal of Science* 21(3): 393-400
- Spiers AG, Hopcroft DH (1988) Penetration and infection of poplar leaves by urediniospores of *Melampsora larici-populina* and *Melampsora medusae*. *New Zealand Journal of Botany* 26:101-111
- Spiers AG, Hopcroft DH (1990) Ultrastructural studies of interactions between resistant and susceptible poplar cultivars and the rust, *Melampsora medusae* and *Melampsora larici-populina*. *New Zealand Journal of Botany* 28:307-322

- Spiers AG, Hopcroft DH (1994) Comparative studies of the poplar rusts *Melampsora medusae*, *M. larici-populina* and their interspecific hybrid *M. medusae-populina*. *Mycological Research* 98 (8):889-903
- Stanton B (2009) The domestication and conservation of *Populus* genetic resources. In: 'Poplars and willows in the world'. Forest Resources Development Service Forest Management Division Forestry Department Working Paper IPC/9-4a FAO, Rome, Italy
- Stanturf JA, van Oosten C, Netzer DA, Coleman MD, Portwood CJ (2001) Ecology and silviculture of poplar plantations. In: Dickmann DI, Isebrands JG, Eckenwalder JE and Richardson J. (ed) *Poplar Culture in North America*. NRC Research Press, Ottawa, ON, Canada, pp 153–206
- Steenackers J, Steenackers M, Steenackers V, Stevens M (1996) Poplar diseases, consequences on growth and wood quality. *Biomass and Bioenergy* 10 (5/6):267-274.
- Steenackers M, Steenackers V, 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
- Steimel J, Chen W, Harrington TC (2005) Development and Characterization of microsatellite markers for poplar rust fungi *Melampsora medusae* and *Melampsora larici-populina*. *Molecular Ecology Notes* 5:484-486
- Swarbrick PJ, Schulze-Lefert P, Scholes JD (2006) Metabolic consequences of susceptibility and resistance in barley leaves challenged with powdery mildew. *Plant, Cell and Environment* 29:1061–1076
- Tabor G, Kubisiak N, Klopfenstein R, Hall R, Mc Nabb Jr. (2000) Bulked segregant analysis identifies molecular markers linked to *Melampsora medusae* resistance in *Populus deltoides*. *Phytopathology* 90:1039-1042
- Taris A (1979) Las enfermedades de los chopos. *Bol. Serv. Plagas* 5:13-24
- Telewski FW, Aloni R, Sauter JJ (1996) Physiology of Secondary Tissues of *Populus*. In: Stettler RE, Bradshaw HD Jr, Heilman PE, Hinckley TM (ed) *Biology of Populus and its implications for management and conservation, Part II, Chapter 13*, NRC Research Press, Ottawa, ON, Canada, pp 301-329.
- Thielges BA (1985) Breeding poplars for disease resistance. *FAO Forestry Paper* 56. Rome, Italy
- Thielges BA, Adams JC (1975) Genetic variation and heritability of *Melampsora* leaf rust resistance in eastern cottonwood. *Forest Science* 22: 278-282
- Thielges B, Sabdon A, Rousseau J, Prakash C (1989) Genetic variation and hereditabilities of growth rate and *Melampsora* leaf rust resistance in a mid-south population of *Populus deltoides* (Bartr). In: *Recent developments in poplar selection and propagation techniques*. Proc. IUFRO Working Party S2.02.10. Hann Münden, pp 142-145

- Toome M, Heinsoo K, Holm B, Luik A (2010) The influence of canopy density on willow leaf rust (*Melampsora epitea*) severity in willow short rotation coppice. *Biomass & Bioenergy* 34(8): 1201-1206
- UPOV (1981) Guidelines for the conduct of tests for distinctness, homogeneity and stability. http://www.upov.int/en/publications/tg-rom/tg021/tg_21_7.pdf
- Valladares F, Niinemets U (2007) The Architecture of Plant Crowns: From Design Rules to Light Capture and Performance. In: Pugnaire F, Valladares F (Eds) *Functional Plant Ecology*. Taylor and Francis, New York, 103-149
- van den Berg F, Robert C, Shaw MW, van den Bosch F (2007) Apical leaf necrosis and leaf nitrogen dynamics in diseased leaves: a model study. *Plant Pathology* 56:424-436
- Van Kraayenoord CWS, Laundon GF, Spiers AG (1974) Poplar rusts invade New Zealand. *Plant Disease Reporter* 58:423-427
- Van Volkenburgh E, Taylor G (1996) Leaf growth physiology. In: Stettler HD, Bradshaw Jr. HD, Heilman PE, Hinckley TM (ed) *Biology of Populus and its implications for management and conservation*. Part II. NRC Research Press, National Research Council of Canada, Ottawa, ON. Canada, pp. 283-299
- Vialle A, Frey P, Hambleton S, Bernier L, Hamelin R (2011) Poplar rust systematics and refinement of *Melampsora* species delineation. *Fungal Diversity* 50:227–248. Doi: 10.1007/s13225-011-0129-6
- Villar M, Lefèvre F, Bradshaw Jr. HD, Teissier Du Cros E (1996). Molecular genetics of rust resistance in poplars (*Melampsora larici-populina* Kleb/*Populus* sp.) by bulked segregant analysis in a 2 x 2 factorial mating design. *Genetics* 143:531-536.
- Vogelmann TC, Larson PR, Dickson RE (1982) Translocation pathways in the petioles and stem between source and sink leaves of *Populus deltoides* Bartr. ex Marsh. *Planta*, 156: 345–358
- Walker J (1975) *Melampsora medusae*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria N° 480. CAB International, Wallingford, UK.
- Wang X, Newman LA, Gordon MP, Strand SE (1999) Biodegradation of carbon tetrachloride by poplar trees: results from cell culture and field experiments. In: Leeson A, Allenman BC (ed) *Phytoremediation and Innovative Strategies for Specialized Remedial Applications*. Battelle Press, Columbus, OH, pp 133–138
- Whitham TG (1983) Host manipulation of parasites: Within-plant variation as a defense against rapidly evolving pests. In: Denno RF and McClure MS (eds) *Variable Plants and Herbivores in Natural and Managed Systems*. Academic Press, New York, pp 15-42
- Widin KD, Schipper Jr. AL (1981) Epidemiology and impact of *Melampsora medusae* leaf rust infection on yield of hybrid poplars in the north-central United States. *Eur. J. For. Path.* 11:438-448

- Wilkinson AG, Spiers AG (1976) Introduction of the poplar rusts *Melampsora larici-populina* and *M. medusae* to New Zealand and their subsequent distribution. *New Zealand Journal of Science* 19:195-198
- Wilson M, Helderson DM (1966) *The British Rust Fungi*. Cambridge University Press, Cambridge, UK
- Xu MQ (1998) Leaf rust of *Populus* section Leuce in China. In: Jalkanen R, Crane PE, Walla JA, Aalto T (ed) *Proceedings of the First IUFRO Rusts of Forest Trees Working Party Conference*. 2–7 August 1998, Saariselkä. Finnish Forest Research Institute, Research papers 712. Finland, pp 53–56
- Yanchuck AD, Dancik BP, Micko MM (1983). Intraclonal variation in wood density of trembling aspen in Alberta. *Wood and Fiber Science* 15:387-394
- Zhang Q, Li J (2008) Selection and Extension of New Poplar Varieties for Industrial Wood Plantation in China. *Proceedings of the 23rd Session of the International poplar Commission*. China: 234
- Zhang S, Yu Q, Chauret G and Koubaa A (2003) Selection for Both Growth and Wood Properties in Hybrid Poplar Clones. *Forest Science* 49: 1-8
- Zsuffa L, Giordano E, Pryor LD, Stettler RF (1996). Trends in poplar culture: some global and regional perspectives. In: Stettler RF, Bradshaw Jr. HD, Heilman PE, Hinckley TM (ed) *Biology of Populus and its implications for management and conservation*. NRC Research Press, Ottawa, Ontario, Canada, pp. 515-539