

Hibridaciones intra e interespecíficas: avances en la obtención de variabilidad genética del Programa de Mejoramiento de Álamo de INTA

Intra and interspecific hybridizations: progress in obtaining genetic variability Poplar Breeding Program of INTA

Monteverde, María Silvana¹ y Cortizo, Silvia²

¹ Consultor Proyecto PMSRN BIRF 7520 AR. Cátedra de Genética y Mejoramiento Vegetal FCA-UCU. Cátedra Genética UADER.

smonteverde@correo.inta.gov.ar

² INTA EEA Delta del Paraná. Cátedra de Genética, FAUBA.

cortizo.silvia@inta.gov.ar

Resumen

El Programa de Mejoramiento Genético de Álamo de la E.E.A. Delta del Paraná- INTA, ha desarrollado un esquema de hibridaciones intra e interespecíficas con el objetivo de ampliar la base genética de la población de mejora y a partir de ella obtener clones de rápido crecimiento, buena forma, tolerantes a enfermedades, amplia adaptabilidad y madera de calidad apropiada a los usos de la región utilizando un proceso de selección multietapa. 11.294 individuos fueron obtenidos entre 2006 y 2013 a partir de 20 combinaciones distintas de *Populus deltoides* y *P. x canadensis* e instalados en bancos de progenie. Empleando como criterio de selección a las variables crecimiento, forma y sanidad durante dos años consecutivos se seleccionaron 280 genotipos que fueron multiplicados e instalados en bancos clonales. De ellos 34 clones experimentales que presentaron además buena respuesta a la propagación agámica fueron incorporados a la red de ensayos comparativos del 2013.

Palabras claves: *Populus deltoides*, *P. x canadensis*, hibridación, variabilidad genética

Abstract

The Poplar Breeding Program of the EEA Delta del Paraná - INTA, has developed a scheme of intra and interspecific hybridizations in order to broaden the genetic base of the breeding population and to obtain clones of fast growth, good form, resistance to diseases, wide adaptability and wood of appropriate quality to the common uses in the region through of a multi-stage selection process. 11,294 individuals were obtained between 2006 and 2013 from 20 different combinations of *Populus deltoides* and *P. x canadensis* and installed in progeny banks. Using as a selection criterion the variables growth, shape and health for two consecutive years 280 genotypes were selected, propagated and installed in clone banks. 34 experimental clones that also showed wood ability for agamic propagation were incorporated to the network of comparative trials of 2013.

Key words: *Populus deltoides*, *P. x canadensis*, hybridization, genetic variability

Introducción

Los álamos de la sección *Aigeiros*, en la que se destacan las especies *Populus deltoides* Marsh. y *P. nigra* L., se caracterizan por 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. Se estima que ocupan más del 90% de la superficie de álamo cultivado en el mundo (Thielges, 1985; Dillen *et al.*, 2010; Cortizo, 2011). En Argentina, existen aproximadamente 40.500 hectáreas de plantaciones de álamos en macizo y 23.500 bajo sistemas agroforestales, distribuidas principalmente en las regiones del Delta del Paraná, Cuyo y el valle del Río Negro, que proveen alrededor de 350.000 toneladas/año de madera en rollo para consumo

(Cortizo y Monteverde, 2012). El Delta del Paraná es la región más importante cultivada con Salicáceas, con una superficie implantada de álamo de 14.508 hectáreas (Borodowski *et al.*, 2014), y su madera se destina principalmente para aserrado, debobinado y triturado. En la actualidad, las plantaciones comerciales están constituidas principalmente por cuatro clones de *P. deltoides*: 'Australiano 129/60', 'Australiano 106/60', 'Stoneville 67' y 'Carabelas INTA'; y un clon de *P. x canadensis*, 'Ragonese 22 INTA'. Sin embargo, se hace necesario continuar con la generación de material mejorado que asegure la adaptabilidad, productividad y sostenibilidad del recurso forestal (Cortizo, 2006).

En la década de 1960, se introdujo a nuestro país una importante variedad de clones de *P. deltoides* (Alonzo, 1987; Piussan, 1995; Ragonese, 1993), y en el año 1961 la E.E.A. Delta del Paraná inició un plan de mejoramiento de álamo, basado en la introducción y obtención de nuevos genotipos con adaptación local con el objetivo de obtener clones mejorados y establecer poblaciones base con amplia diversidad genética que permitan dar continuidad al Programa a fin de afrontar los nuevos desafíos interpuestos por los patógenos, la industria y el cambio climático global. Al ser un género exótico, la población base se constituyó por introducciones de semillas provenientes de árboles plus de *P. deltoides* seleccionados en poblaciones naturales y clones de *P. deltoides* y *P. x canadensis* producto de programas de mejora de Italia, EEUU y Australia. En 1987 se comenzó a realizar cruzamientos controlados para incrementar la variabilidad genética y poder realizar selecciones más eficientes que en las poblaciones de fecundación libre utilizadas hasta ese entonces (Alonzo, 1988), aunque este proceso recién logró continuidad a partir del año 2006.

Materiales y Métodos

Para el procedimiento de los cruzamientos controlados se adaptó el protocolo descrito por Stanton y Shuren (2001).

Los clones de *P. deltoides* y *P. x canadensis* empleados como progenitores en los cruzamientos a partir del año 2006 incluyeron los masculinos: "2-82", 'Catfish 2', 'Carabelas INTA', "IC 562/47" ("R-9"), 'Stoneville 67', "Stoneville 109", 'Ragonese 22 INTA' y 'Alton'; y los femeninos: 'Australiano 106/60', 'Australiano 129/60', "20-82", "21-82", "89-82", "149-82", "150-82" y "41-70". Todos seleccionados dentro de la base de material genético del Programa y priorizando características tales como crecimiento, sanidad, tolerancia a estrés abiótico y/o calidad de madera. Variables de relevancia para la adaptabilidad y productividad del álamo en la región y que además forman parte de los criterios de selección del Programa de Mejoramiento de INTA.

Durante la etapa de dormancia de las yemas y previo a antesis, entre finales de mayo y principios de julio, se coleccionaron ramas floríferas de la parte superior de la copa de árboles adultos. Antes de la recolección, se evaluó el estado de madurez sexual de los árboles elegidos, pues si bien los álamos de la sección *Aigeiros* florecen a partir de los 3 o 4 años si el árbol proviene de semilla (Pauley, 1950) y de los 6 años si proviene de estacas, estas yemas pueden ser insuficientes o de calidad inadecuada para la realización de cruzamientos hasta que el árbol tiene entre 10 y 15 años (Schereiner, 1974; Cortizo y Monteverde, 2013). Las varas floríferas recolectadas se acondicionaron en el invernáculo de la E.E.A. Delta del Paraná de INTA. Las masculinas se pusieron con agua en baldes de 20 litros debidamente identificados. Durante todo el período se mantuvieron con aireador para la oxigenación del agua, luz artificial (lámparas mezcladoras de 160 W) y estufas por 24 horas para acelerar la maduración de los amentos. Quincenalmente se revisó el material para eliminar ramas en mal estado, se realizó una poda de la sección basal y se renovó el agua. Las femeninas fueron tratadas con hormona enraizante (ácido indol butírico 0.15% en polvo) y ubicadas en envases provistos de dos cámaras separadas por un disco de plexiglás con orificios de diferentes tamaños. Estos envases poseen una mezcla de tierra turba y perlita en la parte superior en donde se desarrollarán las raíces y un preservante que contiene sacarosa, un bactericida y un agente acidificante con función antifúngica, en la parte inferior que nutrirá a la rama y evitará su desecación hasta la emisión de raíces. Este preservante fue renovado quincenalmente. Para favorecer el enraizamiento de las varas, factor limitante en el establecimiento de *P. deltoides*, se elevó la temperatura del suelo a 21-24°C con calentadores eléctricos durante las dos primeras semanas. Los baldes fueron regados periódicamente y fertilizados a razón de 13 gr/balde con un fertilizante de liberación gradual (NPK: 16-8-12 (2-5)). La recolección de polen se realizó de manera escalonada a medida que los amentos iban madurando, mediante vibración manual de los amentos dentro de frascos asépticos. Luego era tamizado con un tamiz de 150 micrones, colocado en un tubo rotulado con tapa de algodón, secado con silica-gel y almacenado en heladera para su utilización durante el año de recolección. Finalizada la etapa de polinización se traspasaba el polen a tubos *ependorf* debidamente identificados para conservarlo para su utilización a largo plazo en freezer a -18°C. Previo a su uso se le realizó un test de viabilidad.

Los amentos femeninos inmaduros fueron aislados para evitar contaminaciones y examinados periódicamente para determinar el momento en que se encontraban receptivos (estigma de color verde claro y extendido más allá del perianto y/o inflorescencias libres de escamas) para llevar a cabo el esquema de cruzamientos previsto. La polinización se realizó al menos dos veces al día durante el período receptivo, con un pincel de cerda fina. Una vez que el aumento del tamaño de las cápsulas se hizo notorio se retiró el aislamiento. Las ramas femeninas fueron podadas en varias oportunidades durante el ciclo para regular el número de amentos por rama y generar una buena relación fuente-destino para el llenado de los granos. La cosecha de las cápsulas se realizó de manera escalonada a medida que comenzaban a abrirse. Las semillas recolectadas se limpiaron de los filamentos de algodón utilizados en la dispersión natural de la especie y se colocaron en placas de Petri con agua durante 24 horas para su germinación. Las plántulas obtenidas se sembraron superficialmente en bandejas de plástico con tierra y una delgada capa de arena de río sobre la superficie, que fueron introducidas sobre una bandeja de mayor tamaño con agua de forma de mantener una buena hidratación del sustrato. Cuando las plántulas tenían de 2 a 3 hojas verdaderas expandidas se repicaron a macetas de 12 cm de diámetro con tierra para siembra y repique para que desarrollen un buen sistema radicular. Las plántulas que no dieron hojas verdaderas fueron eliminadas en esta etapa. Al finalizar el período estival las plantas que se desarrollaron satisfactoriamente en macetas fueron traspasadas a un umbráculo para su rusticación y luego trasplantadas a campo durante el período de reposo, distanciadas a 1 x 1 metro constituyendo los bancos de progenie en donde fueron evaluadas por un período de 2 a 4 años según el caso. Las plantas seleccionadas en esta primera etapa en base a crecimiento, sanidad y forma, fueron clonadas e instaladas en bancos clonales para un nuevo ciclo de evaluación y multiplicación utilizando un *mulching* de plástico negro para favorecer el crecimiento y el control de malezas. En ambos casos, previo a la plantación, el suelo se roturó con dos pasadas de rastra de discos, dos con rotovacter y finalmente se terminó con una pasada de rastra de dientes. Es de destacar que las estrategias de evaluación y selección en álamo difieren de las normalmente utilizadas en la mayoría de las especies de árboles debido a la cantidad de semillas que pueden ser generadas y a la facilidad de propagación agámica de la progenie la cual permite captar el total de los componentes de la variación genética (Riemenschneider *et al.*, 2001).

Resultados y conclusiones

Entre 2006 y 2013 se han obtenido 11.294 individuos procedentes de 20 cruzamientos diferentes (Tabla 1), lo que ofrece una mayor variabilidad genética en la población base del Programa donde realizar las futuras etapas de selección. La cantidad de semillas obtenidas fue muy variable a través de los años y al igual que en otros programas (Stanton y Villar, 1996) dependió fundamentalmente del buen establecimiento de las varas femeninas en invernáculo. El aborto de amentos ya fecundados fue la principal causa de pérdida y estuvo relacionado a la falta de un buen sistema de raíces funcionales capaces de mantener a las varas durante el largo período de maduración de los mismos (entre 8 a 10 semanas), tal es el caso del clon "21-82". El desarrollo del sistema radicular se ve limitado porque las varas utilizadas para la realización de cruzamientos suelen tener más de tres años de edad. Asimismo, algunos clones como el 'Ragonese 22 INTA' y el "Alton" presentaron altos niveles de esterilidad por lo cual no se pudo obtener descendencia. Se encontraron además problemas de incompatibilidad temporal en la fecha de maduración de los amentos (por ejemplo 'Australiano 129/60' o 'Carabelas INTA'), algunos de los cuales fueron resueltos al ajustar el protocolo de conservación de polen a largo plazo.

Tabla 1. Número de genotipos obtenidos para las distintas combinaciones de álamos.

Table 1. Number of genotypes obtained for different combinations of poplars.

♀ \ ♂	Alto	atfis	arabelas	RAGON INTA	RAGON	at	at
Australiano	956	607	-	84	388	190	-
Australiano	763	-	1292	91	628	-	197
Alto	-	-	117	-	2279	-	70
Alto	72	-	1289	-	-	-	1305
Alto	123	-	5	-	-	-	-
Alto	-	546	-	-	-	292	-



Los individuos obtenidos se encuentran instalados en el campo experimental de la E.E.A. Delta del Paraná en bancos de progenie. Utilizando como base este material y después de dos años de selección en base a las variables habilidad de propagación vegetativa, crecimiento, sanidad y forma, se obtuvieron 280 genotipos fueron multiplicados y establecidos en bancos clonales. Este material pasó por una segunda etapa de selección, teniendo en cuenta, además de los criterios aplicados en los bancos de progenie, la capacidad de multiplicación agámica, dado que este atributo tiene mayor impacto en el rendimiento que la productividad en volumen del fuste individual cuando las tasas caen por debajo del 90% (Chambers y Borralho, 1997). Se obtuvieron así 34 clones experimentales que superaron los umbrales mínimos del Programa y se instalaron en una red de ensayos en cinco campos de productores locales bajo distintas condiciones de manejo en parcelas monoárbol con al menos cinco repeticiones por sitio.

El número de clones de la nueva red de ensayos se encuentra dentro de los límites recomendados para reducir al mínimo el riesgo de fallas debido a condiciones ambientales atípicas y la evolución de la virulencia de patógenos de la mayoría de los programas clonales (Libby, 1982).

Bibliografía

- Alonzo, A. 1987. Estado actual del mejoramiento de Salicáceas en la Argentina. Actas del Simposio sobre Silvicultura y Mejoramiento genético de especies forestales. Bs. As. CIEF. Tomo I: 157-171.
- Alonzo A. 1988. Informe Año 1987: Programa Árboles Forestales-INTA.
- Borodowski E.D., Signorelli, A. y Battistella, A. 2014. Salicáceas en el Delta del Paraná: situación actual y perspectivas. Jornadas de Salicáceas 2014-4to Congreso Internacional de las Salicáceas en Argentina. La Plata: 13 pp.
- Chambers P.G.S. and Borralho N.M.G. 1997. Importance of survival in short-rotation tree breeding programs. Can J For Res 27: 911-917.
- Cortizo, S. 2006. Mejoramiento genético del álamo. Jornadas de Salicáceas 2006. Buenos Aires: 102-106.
- 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: 14 pp.
- Cortizo, S. and Monteverde, S. 2012. Overview of poplar breeding program in Argentina. Abstracts 24th Session of the International Poplar Commission (IPC), Dehradun, India. 16 pp.
- Cortizo, S. y Monteverde, S. 2013. Programa de mejoramiento de álamo del INTA. Selección de genotipos en poblaciones obtenidas mediante cruzamientos controlados. 4to. Congreso Forestal Argentino y Latinoamericano, Iguazú, Misiones, Argentina.
- Dillen, S., Rood, S.B., and Ceulemans, R. 2010. Growth and Physiology. Ed: S. Hansson et al.. Genetics and Genomics of Populus: Plant Genetics and Genomics: Crops and Models 8. Springer Science: 39-63.
- Libby, J. 1982. What is a safe number of clones per plantation? Ed: Heybroek M, Stephan BR, von Eissenberg J. Resistance to diseases and pests in forest trees. Proceedings of the Third International Workshop on the Genetics of Host-Parasite Interactions in Forestry. Centre for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen. Netherlands: 342-360.
- Pauley, S.S. 1950. Flowering habits in Populus. Abstract in Genetics, Menasha. Volume 35: 684.
- Piussan, C. 1995. Mejorar para competir. Campo y tecnología. INTA. Año IV, N°19: 56-58.
- Ragonese, A.E. 1993. Fitotécnica de Salicáceas en el Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias. INTA. Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria. Tomo XLVII N°2: 35 pp.
- Riemenschneider DE, Stanton B, Vallée G and Périnet P. 2001. Poplar breeding strategies. Ed: Dickmann DI, Isebrand G, Eckenwalde E, Richardson J. Poplar culture in North America. NRC Research Press, Ottawa, Ontario, Canada: 43-76.
- Thielges, B. 1985. Breeding poplars for disease resistance. FAO Forestry paper N° 56. Roma. Italy. 66pp.
- Schreiner E. 1974. Populus L. Poplar. En: Seeds of Woody Plants in the United States. Technical coordinator: Schopmeyer CS. US dep. Agric. Agricultural Handbook: 645-655.
- Stanton B. Shuren R. 2001. Controlled breeding procedures: a manual of method and techniques for breeding eastern cottonwood: 1-31.