Caracterización morfológica y del crecimiento en su primer año de cinco clones de olmo resistentes a la grafiosis

Jesús Rodríguez Calcerrada[1], Clara Martínez Arias[1], Juan Sobrino Plata[1], David Medel[1], Natalie Aguirre[1], Tania Domínguez[1], Carlos Magro[1], Carmen Collada[1], Luis Gil[1], Juan A. Martín[1]

[1] Grupo de Investigación en Genética, Fisiología e Historia Forestal. E. T. S. I. de Montes, Forestal y del Medio Natural. Universidad Politécnica de Madrid

Tras más 30 años de investigación sobre la grafiosis al amparo del Programa Español de Conservación y Mejora de los Recursos Genéticos de los Olmos Ibéricos, en el año 2014 se registraron, por su tolerancia a la grafiosis, siete clones de *Ulmus minor* Mill. (olmo común) en el Registro Nacional de Materiales de Base para la producción de material forestal de reproducción cualificado. El deseo de recuperar el protagonismo de esta especie está suscitando el interés de administraciones locales y entidades privadas y particulares, que demandan este material para su plantación en las riberas y plazas en las que los olmos crecían en siglos pasados. El éxito de las plantaciones depende de muchos factores, destacando la adecuación de los lugares de plantación a las características de cada clon. En este trabajo se presentan algunas características morfológicas de cinco clones de olmo común resistentes a la grafiosis propagados in vitro y cultivados durante un periodo vegetativo sin limitaciones de luz, agua o nutrientes, con el fin de proporcionar unas indicaciones para la elección de los clones según el lugar de plantación, que podrán ser mejoradas en el futuro.

Palabras clave: Grafiosis; restauración de riberas; calidad de planta.

LA INVESTIGACIÓN COMO RESPUESTA A LA OBLIGACIÓN SOCIAL DE CONSERVAR UNA ESPECIE EN PELIGRO

Los ataques del hongo *Ophiostoma ulmi* en la primera mitad del siglo XX y de *O. novo-ulmi* en la segunda mitad han ido acabando con la mayoría de olmedas europeas. La germinación de las esporas del hongo y su posterior desarrollo en el xilema provoca una sobreproducción de tilosas y gomas por parte del árbol que, junto con otras sustancias segregadas por el propio hongo, bloquean los vasos del xilema y causan la desecación de la copa, en mayor o menor tiempo de acuerdo con la época de la entrada

del hongo, siendo muy rápida si se produce al comienzo de la primavera. A la degradación, y a menudo completa desaparición, de las olmedas, se fue sumando la inexorable pérdida de los grandes olmos que engalanaban las plazas y las calles de muchas localidades (Fotografía 1). La transmisión del hongo a través de las raíces de los árboles a otros contiguos y, sobre todo, de los barrenillos del olmo (escarabajos del género *Scolytus*) era tan rápida y eficaz que incluso llegó a plantearse si las especies de olmo europeas –*Ulmus minor*, *U. laevis* y *U. glabra*– corrían peligro de extinción. Sin embargo, la gran capacidad de rebrote de los olmos permitió su persistencia en muchas localidades, aunque con portes reducidos, ya que sufren ciclos de enfermedad de forma recurrente que, con el tiempo, acabarán eliminándolos. Surgieron planes de conservación, entre cuyos objetivos figuraba la promoción de genotipos resistentes a la grafiosis a partir de cruces controlados con especies asiáticas resistentes como *U. pumila*. En España, el programa de conservación y mejora del olmo pronto se orientó hacia la identificación y propagación de genotipos autóctonos que no habían manifestado síntomas de la enfermedad, y que por ello, eran candidatos a ser resistentes (Martín et al., 2012). Durante décadas se recogieron estacas y semillas de miles de árboles. Este material se propagaba vegetativamente (ramets) para, a los cuatro

Olmo común en la localidad de Socovos (Albacete) en el verano de 2016

David Medel

años de edad, inocularles en la base del tallo una suspensión de esporas de *Ophiostoma novo-ulmi* y evaluar el grado de daño a partir del porcentaje de defoliación de la copa.

Para que un clon sea calificado como resistente es necesario que sus ramets presenten una defoliación similar o inferior a la de un clon comercial resistente utilizado como referencia, que en el programa del olmo ha sido el clon 'Sapporo Autumn Gold', híbrido entre las especies asiáticas *U. pumila* y *U. davidiana* var. *japonica*. La resistencia se verifica tras dos años sucesivos de inoculación en los que los ramets de los clones que se ensayan se comparan, también en la misma parcela, con un clon susceptible, que debe mostrar a su vez una defoliación de al menos el 70 % de su copa. Estos criterios, además de otros de carácter estético, han sido satisfechos hasta ahora por siete genotipos de olmo común, que han sido registrados en 2014 por el Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (MAPAMA) en el Registro Nacional de Materiales de Base para la producción de Material Forestal de Reproducción cualificado (Martín et al., 2015).

LA EXPANSIÓN DE LOS CLONES RESISTENTES EN EL FUTURO

La disponibilidad de este material vegetal ofrece una oportunidad para recuperar la presencia del olmo en los cauces fluviales, sotos y pueblos de España (Fotografías 2-4). La demanda de estos clones resistentes a la grafiosis se extiende a otros países, como Reino Unido, Holanda e Italia, interesados en restaurar las olmedas con material genético autóctono europeo. La recuperación del olmo será lenta. Se desconoce la forma en que las perturbaciones ambientales a las que inevitablemente se enfrentarán las plantas –sequías, inundaciones u olas de calor, cada vez más frecuentes– afectarán a su resistencia frente a *Ophiostoma novo-ulmi*, o a la posibilidad de que aumente la virulencia del hongo. No obstante, la disponibilidad de clones autóctonos resistentes a la grafiosis supone un primer paso hacia la recuperación de la especie. La reproducción de estos individuos en el campo supondrá la aparición de nuevos genotipos cuya resistencia podría ser en algunos casos superior a la de sus progenitores. Con el tiempo, las nuevas generaciones de olmo común resistentes podrían extenderse, facilitando la restauración de sus antiguos territorios de forma natural.

Por el momento, es necesario asegurar el mayor éxito posible de las plantaciones que se hagan. Para ello es importante disponer de planta de calidad. El cultivo de la planta antes de su trasplante condiciona su capacidad para crecer y sobrevivir en condiciones desfavorables o tras perturbaciones, como puede ser la defoliación por insectos o herbívoros. Además, es importante adecuar los lugares de plantación a los requerimientos ecológicos del material vegetal. Los olmos son especies ligadas a la presencia de agua en el suelo, aunque a diferencia de otras especies de ribera más exigentes en humedad, como fresnos o alisos, son relativamente tolerantes a sequías no demasiado intensas; por ello, pueden crecer en sotos y vagua-

Plantación de olmos resistentes realizada en el municipio de Aranjuez (Madrid) en la primavera de 2017 con el objetivo de restaurar la vegetación de la ribera del río Tajo. En la fotografía del centro, plantación de olmos resistentes en un parque del municipio de Aranjuez (Madrid)

das donde la capa freática del suelo desciende durante el verano. También son capaces de crecer en zonas temporalmente inundadas, sobre todo *Ulmus laevis*. A la hora de decidir los lugares de plantación de los olmos, es necesario atender a las necesidades generales de la especie, pero también a las características morfológicas de cada uno de estos clones. La biomasa que alcanza un clon y cómo queda repartida entre sus órganos, o la relación entre la altura y el diámetro del tallo principal, pueden aportar una información relevante sobre sus necesidades ecológicas y, por tanto, útil para elegir uno u otro clon según la zona donde se pretendan plantar (Villar Salvador, 2003). Esta información también puede ser de gran interés para las plantaciones en núcleos de población, teniendo en cuenta que muchas de las solicitudes de estos clones están encaminadas a reponer los olmos centenarios que dominaban las plazas o bordeaban las avenidas de los cascos urbanos, y que, por tanto, pueden necesitar podas de formación.

CULTIVO DE LAS PLANTAS

Este artículo tiene como objetivo dar a conocer algunas características morfológicas de cinco clones de olmo común resistentes a la grafiosis, de interés para seleccionar sus lugares de plantación más apropiados. Se trata de los clones 'Ademuz' (procedente de Valencia), 'Dehesa de Amaniel' (Madrid), 'Dehesa de la Villa' (Madrid), 'Majadahonda' (Madrid) y 'Retiro' (Madrid). En la actualidad los clones se localizan en las sedes de Puerta de Hierro (Madrid), Valsaín (Segovia) y Alaquàs (Valencia), de la Red de Centros Nacionales de Recursos Genéticos Forestales del MAPAMA.

El material de estudio se obtuvo a partir de la propagación *in vitro* de tejido vegetativo de cada clon. A partir de hojas o yemas cultivadas en un medio solido de agar con dosis de nutrientes y fuentes de carbono apropiadas se produjeron 200 plantas que, tras cinco semanas en cultivo *in vitro*, se trasplantaron a bandejas forestales de 0,2 dm^3 y 15 cm de profundidad, en las que permanecieron en un invernadero para evitar daños por heladas en invierno. En febrero se trasplantaron de nuevo a envases de 5 dm^3 y 30 cm de profundidad en un sustrato de arena y turba (en proporción de volumen 1:3) enriquecido con fertilizante de liberación lenta, manteniéndolos durante el periodo vegetativo de 2017 en condiciones óptimas de riego, realizado por aspersión y con aporte extra con manguera cada dos o tres días durante el verano, y bajo una malla de sombreo de un 40 % de intensidad para evitar el exceso de irradiación en verano. La densidad de cultivo fue de 10 plantas/m^2.

ALTURA, DIÁMETRO Y ESBELTEZ

Transcurrido el primer periodo vegetativo, las plantas superaron en general un metro de altura, y un centímetro de diámetro en la base del tallo, excepto las correspondientes al clon 'Majadahonda"" (Figura 1). Este clon tiene una forma de crecimiento particular (Fotografía 5), ya que crece ramificado desde la base, como los restantes, pero a diferencia de ellos las ramas alcanzan una longitud importante en relación a la del

La educación ambiental es un factor importante en la recuperación de la especie

tallo principal. La menor dominancia apical del clon “Majadahonda” podría ser un factor a tener en cuenta a la hora de plantarlo en calles y plazas, ya que podría exigir más podas de formación. Por el contrario, el clon ‘Ademuz’ posee una dominancia apical muy marcada (Fotografía 5).

El índice de esbeltez, resultante de dividir la altura (en cm) por el diámetro en la base (en mm), varió entre 8,8 en el clon ‘Majadahonda’ y 11,9 en el clon ‘Dehesa de Amaniel’, con valores intermedios en el resto de clones. El índice de esbeltez es un parámetro estudiado en los viveros forestales por su importancia en el desarrollo de las plantas una vez establecidas en el campo; sin embargo, los valores idóneos varían entre especies y ambientes de plantación. Aunque el clon ‘Dehesa de Amaniel’ tiene un mayor crecimiento en altura que en diámetro, bajo las condiciones de este estudio las diferencias no parecen relevantes como para hacer pensar en un peor desarrollo en campo.

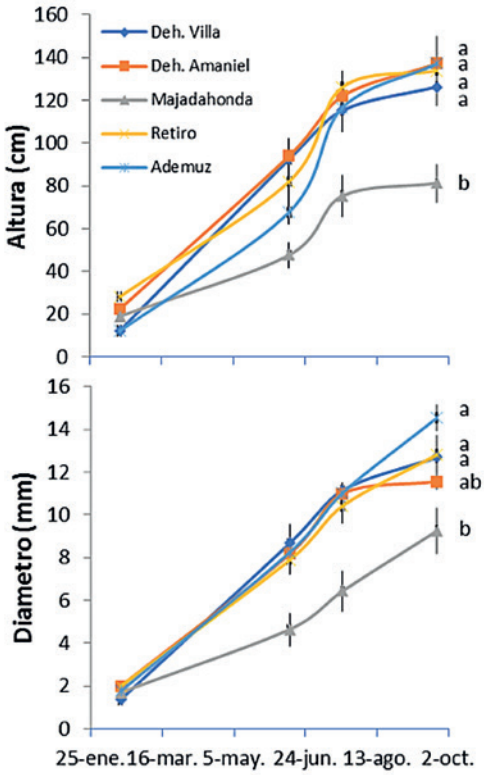
CRECIMIENTO Y DISTRIBUCIÓN DE BIOMASA ENTRE ÓRGANOS

Con el fin de evaluar la distribución de biomasa entre los órganos de la planta se realizaron dos cosechas, una a los cinco meses del transplante al último envase, y otra, a los siete, al término del periodo vegetativo, antes de la caída de hojas, secando por separado en una estufa el conjunto de hojas, tallos y raíces de cada planta (cinco por clon, excepto para el clon ‘Ademuz’ del que solo se disponía de tres plantas en la segunda cosecha).

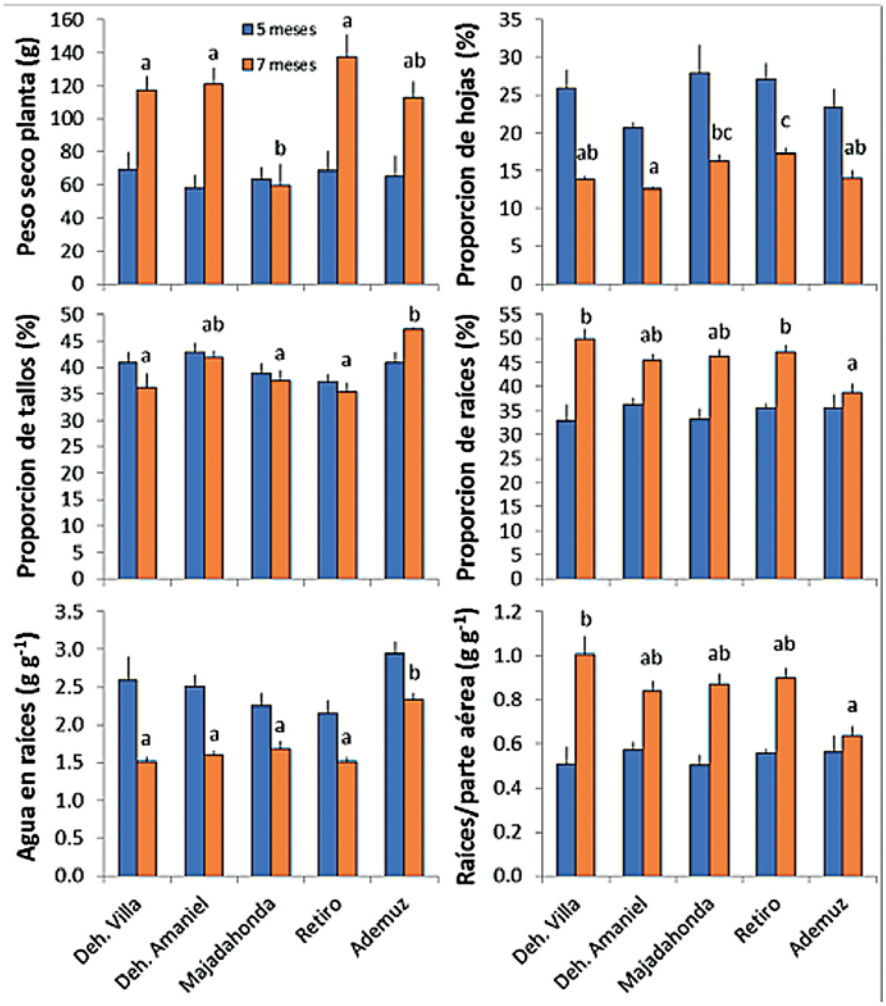
Los clones que mayor acumulación de biomasa presentaron transcurrido el periodo vegetativo fueron ‘Retiro’, ‘Dehesa de la Villa’ y ‘Dehesa de Amaniel’. En consonancia con los valores de altura y diámetro, el clon ‘Majadahonda’ presentó una acumulación de biomasa considerablemente menor que el resto, 59 g de materia seca frente a 123 g de media en los tres clones anteriores. Estos resultados pueden reflejar unas condiciones de cultivo menos favorables para este clon. Sin embargo, al no observarse un desarrollo defectuoso durante el cultivo, es más probable que estos resultados reflejen diferencias genéticas entre clones.

También el reparto de biomasa entre órganos varió entre clones. El clon ‘Dehesa de la Villa’ destacó por una proporción de raíces elevada; ‘Dehesa de Amaniel’, por la pequeña proporción de hojas y la elevada proporción de tallos; ‘Retiro’, por su elevada proporción de raíces y hojas, y ‘Ademuz’, por una alta proporción de biomasa en los tallos, sobre todo en el tallo principal (Figura 2, Fotografía 5). En consonancia, con estos resultados, el cociente entre la biomasa radical y aérea fue mayor en el clon ‘Dehesa de la Villa’; menor, en ‘Ademuz’”, e intermedio, en los otros clones.

Todas estas diferencias están potencialmente relacionadas con el arraigo y la supervivencia de las plantas en distintas condiciones ambientales. La exigencia hídrica de los olmos hace que las plantaciones en el campo con estos clones se tengan que realizar cerca de cauces de agua, ambientes competitivos donde es importante que los individuos que se planten tengan un buen tamaño y una tendencia a crecer rápidamente. En este sentido, el clon ‘Majadahonda’, por su menor altura y biomasa, sería más vulnerable a la competencia con otras plantas, y estaría expuesto a la



Valores medios y error estándar de la altura y diámetro en la base del tallo principal de cinco clones de Ulmus minor autorizados por su resistencia a la grafiosis como material de base para la producción de Material Forestal de Reproducción Cualificado. Letras diferentes indican clones significativamente diferentes tras un test de comparación de medias “Tukey HSD”



herbivoría durante más tiempo que los otros clones, requiriendo mayores cuidados de desbroce de vegetación y protección frente a herbívoros. El clon 'Retiro', por el contrario, gracias a la elevada proporción de hojas y raíces crece rápidamente durante el periodo vegetativo, y puede ser un buen candidato para asegurar un arraigo rápido tras su plantación en ambientes de ribera donde la competencia por la luz y los nutrientes del suelo sea alta. También los clones 'Dehesa de Amaniel' y 'Ademuz' muestran una tendencia a invertir el carbono asimilado en producir tallos, que puede favorecerles en la competencia por la luz con otras plantas. Sin

Valores medios y error estándar de variables morfológicas de cinco clones de U. minor autorizados por su resistencia a la grafiosis como material de base para la producción de Material Forestal de Reproducción Cualificado. La proporción de cada órgano se calculó a partir del cociente entre el peso seco de cada órgano y el peso seco de la planta. El agua en las raíces se calculó como la diferencia entre el peso fresco y el peso seco de las raíces, dividido por su peso seco. La parte aérea en la última figura hace alusión a la suma de biomasa seca de hojas y tallos. Letras diferentes indican clones significativamente diferentes tras un test de comparación de medias "Tukey HSD". Se realizaron dos cosechas a los cinco y siete meses tras el transplante en los envases definitivos.

Imágenes de plantas propagadas in vitro y cultivadas en envases de 5 dm³ durante siete meses pertenecientes a los cinco clones de U. minor autorizadospor su resistencia a la grafiosis como material de base para la producción de Material Forestal de Reproducción Cualificado

Tania Domínguez

La web del Life+ Olmos Vivos permite la participación ciudadana en la búsqueda de ejemplares de olmos resistentes a la enfermedad

embargo, esta inversión parece hacerse a costa de la biomasa invertida en las hojas, lo que podría reducir su potencial de crecimiento. El elevado cociente de biomasa radical y aérea de 'Dehesa de la Villa', con un valor próximo a la unidad, podría implicar una cierta ventaja en situaciones de baja disponibilidad de agua en el suelo, o tras la desaparición de la parte aérea producida por herbívoros. En ocasiones, sin embargo, un cociente entre biomasa radical y área elevado no favorece el desarrollo en campo en ambientes con sequía (Villar Salvador, 2003). El establecimiento de una planta depende de la regulación ambiental de numerosos factores fisiológicos, además de los factores morfológicos expuestos anteriormente, lo que exige ser precavidos a la hora de proponer un clon para un determinado lugar de plantación.

Además, los patrones de distribución de biomasa no fueron constantes a lo largo del periodo vegetativo. Las diferencias entre clones en la proporción de hojas y tallos fueron similares a los cinco y siete meses del transplante en febrero, pero no fue así en el caso de la proporción de raíces y del cociente entre biomasa radical y aérea. Llama la atención la diferencia de estas dos últimas variables entre las dos cosechas realizadas, separadas tan solo por dos meses. Cabe también destacar que entre la primera y la segunda cosecha las plantas crecieron considerablemente menos en altura y diámetro que en biomasa, a excepción del clon 'Majadahonda'". Aunque es posible que esto se deba a que las plantas seleccionadas entre fechas fueran distintas, también es posible que a medida que el periodo vegetativo llega a su fin, las plantas destinen una mayor proporción del carbono asimilado a través de la fotosíntesis a lignificar los tejidos formados previamente y a acumular sustancias de reserva, de cara al mantenimiento de sus tejidos leñosos en invierno y al crecimiento en la primavera siguiente, algo que sería consistente con una mayor inversión en raíces. Una explicación alternativa es que el riego entre mediados de julio y septiembre, cuando se realizaron ambas cosechas, no compensase la alta evapotranspiración de esos meses. Así, el contenido de agua en las raíces (en relación a su peso seco) fue menor en la segunda cosecha (Figura 2). Un aporte de agua insuficiente podría haber favorecido el crecimiento radical en la última parte del periodo vegetativo.

EL FUTURO

La búsqueda de olmos resistentes continúa entre los ejemplares supervivientes que crecen dispersos por gran parte de España. A través de la web del proyecto LIFE+ Olmos Vivos (www.olmosvivos.es), que coordina el grupo de investigación en Genética, Fisiología e Historia Forestal de la Universidad Politécnica de Madrid (www.gfhforestal.com), el público puede colaborar en esta tarea indicando la localización de individuos, que podrían llegar a sumarse a los siete resistentes ya catalogados. El avance en las técnicas de detección precoz del grado de tolerancia a *Ophiostoma novo-ulmi* y de propagación vegetativa, como la embriogénesis somática, es también fundamental. La investigación sobre la forma en que las condiciones ambientales y la existencia de ciertos hongos simbiontes pueden afectar a la tolerancia de los olmos a *Ophiostoma novo-ulmi* contribuirá a seguir avanzando en el camino hacia la recuperación de la especie, algo impensable hace tan solo unas décadas.

AGRADECIMIENTOS

A los diferentes ministerios que han albergado a la Administración Forestal del Estado, y que desde 1986 han apostado por la conservación del olmo en España, y en particular, al personal del Centro Nacional de Recursos Genéticos Forestales de Puerta de Hierro, pues son los que mantienen las plantaciones y parcelas de ensayo necesarias para la comprobación de la resistencia a la grafiosis. También a las administraciones de la Comunidad de Madrid y General del Estado, que han aprobado proyectos de investigación sobre los olmos. A los revisores del manuscrito original de este artículo por sus minuciosas aportaciones. Al ministerio de Economía, Industria y Competitividad por la financiación recibida para este trabajo a través del proyecto AGL2015-66925-R MINECO/FEDER, UE, y a la Comisión Europea por co-financiar el proyecto LIFE13 BIO/ES/000556 LIFE Elm.

REFERENCIAS

Martín JA, Collada Collada C, Venturas M, Domínguez Palacios J, Miranda García-Rovés E, Díez Rodríguez J, Iglesias Sauce S, Gil Sánchez L. 2012. El programa español del olmo: 25 años de mejora e investigación frente a la grafiosis. *Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales* 36: 127–140.

Martín JA, Solla A, Venturas M, Collada C, Domínguez J, Miranda E, Fuentes P, Burón M, Iglesias S, Gil L. 2015. Seven *Ulmus minor* clones tolerant to *Ophiostoma novo-ulmi* registered as forest reproductive material in Spain. *iForest – Biogeosciences and Forestry* 8: 172–180.

Villar Salvador P. 2003. Importancia de la calidad de planta en los proyectos de revegetación. En: Rey-Benayas JM, Espigares Pinilla T, Nicolau Ibarra JM (Eds.). *Restauración de ecosistemas mediterráneos*. Universidad de Alcalá-Asociación Española de Ecología Terrestre, Madrid.