

Detección de la grafiosis agresiva en la isla de Ibiza (Baleares)

M.^a GARCÍA ROTGER y J. ROMERO CASADO

Se ha detectado por primera vez en la isla de Ibiza (Baleares) la especie fúngica agresiva a los olmos *Ophiostoma novo-ulmi* (Ascomycetes). Hasta el momento sólo se había aislado la especie no agresiva *O. ulmi* y se presumía que las Baleares podrían constituir una reserva genética para los olmos europeos.

Se detallan las técnicas utilizadas para el aislamiento e identificación de las especies agresiva y no agresiva, así como la descripción de sus caracteres macro y microscópicos.

M.^a GARCÍA ROTGER: Fundació Illes Balears, Ctra. de Sóller, km 4, 07080 Palma de Mallorca. Baleares.

J. ROMERO CASADO: Consejería de Medio Ambiente y Pesca, C/ Foners, 10, 07006 Palma de Mallorca. Baleares.

Palabras clave: *Ophiostoma novo-ulmi*, *O. ulmi*, grafiosis, Ulmus, Baleares, España.

INTRODUCCIÓN

En MUÑOZ (1985) e IPINZA *et al.*, (1990) se relatan los estudios realizados referentes a la detección y expansión de la enfermedad de la grafiosis en Europa y más concretamente en España. A continuación resumimos brevemente los datos más importantes:

La primera detección de la grafiosis en los olmos fue hecha en Holanda (1919), y al poco tiempo, en Francia y Bélgica. En 1920 en el Servicio de Protección de los Vegetales de Wagenigen (Holanda) se hizo una descripción detallada de ella, SCHWARZ (1922) comprobó los postulados de Koch y se nombró como "la enfermedad holandesa del olmo". Se detectó su presencia en Austria (1926), en Inglaterra (1927) y por primera vez, en Norteamérica (1930), debido a que se transportó desde Europa Central en unos troncos infectados y rápidamente se extendió por toda el área de crecimiento del olmo.

Al poco tiempo apareció la enfermedad en Madrid (MARTÍNEZ, 1932), en Burgos y Portugal (1933); y en Canadá (1944). En

1970, como consecuencia de una grave epidemia, se descubrieron en Inglaterra dos cepas asociadas a la enfermedad: una altamente patógena denominada agresiva y otra menos patógena o no agresiva. Posteriormente se ha intentado demostrar (BRASIER y GIBBS, 1973, en BRASIER y GIBBS, 1975) que probablemente fue originada por la importación de troncos infectados de Norteamérica que contenían la cepa agresiva. Investigaciones posteriores indicaron que pudieran haber ocurrido dos epidemias simultáneas en Europa; una occidental a partir de fuentes norteamericanas, y la otra oriental. Se intentó averiguar las diferencias morfológicas y de patogenia entre los aislamientos americanos y asiáticos, llegándose a la conclusión de que eran dos razas diferentes y que ambas habían colonizado Europa independientemente. Las dos razas se denominaron NAN y EAN –Norteamericana y Euroasiática, respectivamente– (IPINZA *et al.*, 1990).

En 1980 quedó constancia por primera vez, de la presencia de la cepa agresiva en

España detectándose en San Sebastián, Santorcaz (Madrid) y Aracena (Huelva) (ROBREDO, 1980 en ROBREDO, 1985). En 1984 se realizó un trabajo mucho más amplio abarcando gran parte de la península (MUÑOZ, 1985) en el que se detectó la cepa agresiva en Madrid, Guadalajara, Avila, Segovia, Murcia y Toledo. La primera demostración científica de que el causante de la grafiosis en dichas localidades correspondía a la raza NAN (Norteamericana) de la cepa agresiva fue dada por MUÑOZ (1985) y por BRASIER (1988) (en IPINZA *et al.*, 1990).

La insularidad de las Baleares actúa como barrera geográfica a la entrada de patógenos, disfrutando así de una situación privilegiada y en conjunto, representa el lugar idóneo para controlar la enfermedad y para establecer una reserva genética de éste género en Europa (GIL, 1990).

En 1991 se realizaron unos aislamientos por la Dra. MUÑOZ de unas ramillas de *U. minor* correspondientes a la zona de S'Albufera (Mallorca) y remitidas al laboratorio de la Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica Forestal de la Universidad Politécnica de Madrid, donde se aisló la especie no agresiva *O. ulmi*.

En 1992 el equipo formado por CORREA, MARTÍNEZ AZAGRA y GARCÍA-NIETO realizaron un estudio fitosanitario de 74 poblaciones de olmo de Mallorca y Menorca, lo que representa prácticamente la totalidad de olmedas de ambas islas. Del total se realizaron 34 aislamientos en Mallorca y 4 en Menorca, correspondientes a las que presentaban peor aspecto fitosanitario. De este estudio resultaron dudosos los siguientes aislamientos: En Mallorca, S' Estorell, Sa Mola d'es Fangar (ésta última se eliminó por completo en el año 1994 a causa de la mortandad total de árboles) y la olmeda de la Albufera. En Menorca el estado general de las olmedas era bastante mejor que en Mallorca, a pesar de estar muy defoliadas por la galeruca (*Galerucella luteola* Mün.) incluso se sugirió la posibilidad de la ausencia de las cepas no agresivas (GIL, 1990; CORREA *et al.*, 1992).

Sin embargo, tampoco descartaron la ausencia de grafiosis agresiva en Baleares, ya que podría haber pasado desapercibida en el caso de una introducción reciente durante su muestreo en 1992.

En este estudio se han repetido los aislamientos de las olmedas de peor aspecto del anterior trabajo como S'Estorell y el canal Siurana de la Albufera a las que se les ha añadido por los mismos motivos la finca Alcoraya de Montuiri y se han añadido las de Ibiza. Los olmos de Sa Mola d'es Fangar fueron apeados en su totalidad antes de empezar este estudio, por lo que figuran en él. En Ibiza, hasta ahora no se había realizado ningún aislamiento debido a que hay muy pocas poblaciones de olmos. Al haber sido detectadas por los Servicios de la Consejería del Medio Ambiente, unas introducciones de madera procedente de zonas peninsulares (León, Cazorla, Jaén) sin descortezar se procedió al muestreo de la totalidad de las olmedas de la isla.

El objetivo del presente trabajo ha sido completar los estudios fitosanitarios anteriormente realizados y determinar la presencia o ausencia de la especie agresiva en ellos.

El hecho de que estuviera presente sería preocupante, porque estarían en peligro los olmos de las islas y por tanto la conservación de esta reserva natural de las especies *Ulmus minor* Mill., y la especie híbrida entre el *U. minor* y un bajo porcentaje de *U. glabra* Hudson denominado como *U. x hollandica*, que se encuentra en numerosos lugares de Mallorca (IPINZA, 1990).

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestreo en campo y observación de síntomas:

Para la toma de muestras se siguieron las sugerencias descritas por MUÑOZ (1985). Se recogieron muestras de brotes jóvenes de diámetro inferior a los 15 mm., con la corteza aún verde, que tuvieran zonas con hojas

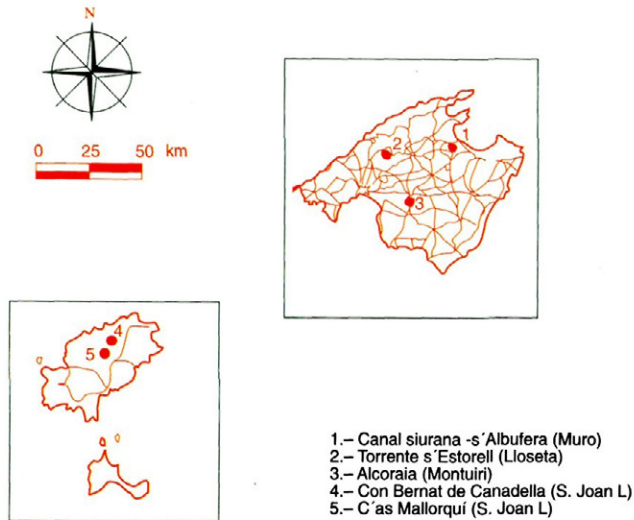


Fig. 1.- Puntos de muestreo de las islas de Mallorca e Ibiza durante 1995

desechadas y zonas con hojas turgentes y que no estuvieran excesivamente atacadas por los escolítidos para evitar así un enmascaramiento del patógeno por saprófitos que hubieran colonizado esas galerías. Se pudo comprobar en campo la presencia de grafiosis, porque al raspar superficialmente o al hacer un corte transversal en las ramas, mostraron vetas o el anillo de los haces vasculares necróticos.

Durante los meses de junio y julio de 1995, ajustándose a las recomendaciones de PAJARES y AZAGRA (1990), se realizó un muestreo complementario a los trabajos realizados en 1992, en diversos puntos de Mallorca e Ibiza (Fig. 1). De cada muestra se recogieron aproximadamente entre 10 y 15 varetas, de distintos puntos del árbol con posibles síntomas de grafiosis, de las siguientes olmedas:

Muestra núm. 1 (Mallorca): Olmeda que crece paralela al Canal Siurana de la Albufera de Alcudia de las especies *U. minor* Mill. y *U. x hollandica* Mill. (ALOMAR, *et al.*, 1992) (Fig 2). Está compuesta principalmente de árboles jóvenes con los bordes de las hojas secas, de donde se cogió la muestra, y unos pocos más vie-



Fig. 2.-Aspecto general de la olmeda del canal Siurana de la Albufera de Alcudia en enero de 1995



Fig. 3.—Olmeda del torrente de S'Estorell en el término municipal de Lloseta en enero de 1995. Los árboles centrales fueron eliminados



Fig. 4.—Típica curvatura a modo de gancho producida en las ramas de los olmos afectados de la zona más seca de la finca Alcoraya de Montuiri (octubre 95)

jos completamente secos sin galerías de escolítidos en el tronco.

Una vez descortezadas las ramas longitudinalmente se observaban puntos necróticos y pequeñas manchas aisladas y superficiales en algunas varetas, que no llegaban a dañar los haces vasculares. Transversalmente, no se vio ningún síntoma de la grafiosis.

Muestra núm. 2 (Mallorca): Olmeda del torrente de S'Estorell, correspondiente a la especie *U. minor* Mill., en el término municipal de Lloseta (Fig. 3). Era una olmeda que recorría todo el torrente, pero a raíz de la muerte de varios árboles fue saneada y reducido considerablemente el número de árboles que la formaban. En general la arboleda tenía color verde salpicado de manchas marrones correspondientes a ramas con hojas completamente desecadas, de color marrón y enrolladas, de donde se cogió la muestra.

En un análisis más detallado del anillo vascular se apreciaron líneas necróticas de color negro separadas medio mm. entre sí y a lo largo de toda la familia. Transversalmente, en algunas zonas de las ramas aparecía el anillo vascular con necrosis discontinuas, aunque en la mayoría de los cortes realizados apareció el anillo completamente necrótico.

Muestra núm. 3 (Mallorca): Olmeda de la especie *U. minor* Mill. de la finca Alcoraya en el macizo de Randa del término municipal de Montuiri. También está situada en un torrente. En esta olmeda hay dos zonas, una húmeda con árboles de mejor aspecto y una zona más seca con árboles debilitados, de donde se recogió la muestra que se describe a continuación. Las ramas más altas estaban muy defoliadas; en uno de los árboles presentaba curvaturas a modo de gancho o jota invertida (Fig. 4). En general,

el follaje tenía un aspecto ralo. Algunas hojas presentaban síntomas de marchitez y permanecían adheridas a las ramas. En ningún árbol se observó la presencia de galerías de escolítidos en el tronco. Las ramillas recogidas eran jóvenes, muy finas.

Al descortezar longitudinalmente aparecían esporádicamente algunas líneas necróticas gruesas de donde se realizó el aislamiento, porque la mayoría de las ramillas estaban sanas. Esta vetas se correspondían, en un corte transversal, con puntos necróticos aislados.

Muestra núm. 4 (Ibiza): Olmeda de la finca Ca'n Bernat de Canadella del término municipal de San Joan correspondiente a la especie *U. minor* Mill. Está originada a partir de un olmo plantado a principios de siglo. La olmeda estaba en buen estado con escasos marchitamientos de las hojas y una gran espesura del follaje del arbolado joven; sin embargo, observamos daños de *Galerucella luteola*.

La zona del cambium presentaba puntos y manchas difusas de color marrón oscuro. Los haces vasculares aparentemente estaban sanos.

Muestra núm. 5 (Ibiza): Olmeda de Ca's Mallorca, *U. x hollandica* Mill., del término municipal de San Joan. Pequeño rodal de olmos situado junto a una acequia (Fig. 5). La olmeda estaba en deficiente estado sanitario, con ejemplares fuertemente atacados de escolítidos. Del 80 al 90 % de las ramas estaban completamente defoliadas y casi la totalidad de las hojas que permanecían en el árbol estaban desecadas, con un color marrón atabacado.

Tras un análisis de los síntomas internos, una vez retirada la corteza, se vió que aparecían abundantes estrías necróticas que coalescían entre sí formando una capa. El haz vascular estaba completamente necrosado (color negro) en toda la muestra recogida.

Procesado de las muestras e identificación de los aislados:

Se siguió la metodología descrita por BRASIER (1981). De las ramas afectadas se



Fig. 5.— Olmos de Ca's Mallorca del término municipal de San Joan fuertemente defoliados con el 80-90% de las hojas restantes secas y enrolladas (enero de 1995)

separaron con un bisturí la corteza y la madera dejando a la vista las necrosis vasculares. De esta zona se cogían pequeños trozos y se sembraban en medio de aislamiento de malta agar (M. A.) (Difco) al 0,1 % al que antes de autoclavar (15 min a 121°C y 1,1 atm de presión) se había añadido 1g/l de cloranfenicol (Chloromycetin de Parke Davis).

Las placas así inoculadas se incubaron en oscuridad a 20°C y las distintas colonias se repicaron posteriormente a dos placas de M. A. al 2 %. Todas las placas se incubaron en oscuridad a 20°C durante un período preliminar de dos días, tras los cuales se señaló el crecimiento de las colonias sobre dos líneas perpendiculares marcadas en el reverso de la placa.

Una primera serie de placas se incubó a 20°C y la otra serie a 33°C, ambas en oscuridad, volviéndose a medir el radio de la colonia siete días después de la siembra. A partir

Cuadro 1. Descripción de los síntomas observados en campo

	Muestra 1 Canal Siurana de la albufera (Mallorca)	Muestra 2 S'Estorell de Lloseta (Mallorca)	Muestra 3 Finca Alcoraya de Montuiri (Mallorca)	Muestra 4 Ca Bernat de S. Joan (Ibiza)	Muestra 5 Ca's Mallorca de S. Joan (Ibiza)
N.º de árboles	860	120	14	300	40
N.º árboles muertos %	40 %	50 %	0 %	5 %	30 %
Follaje espeso	— (*)	+	—	+	—
Follaje ralo	+	—	+	—	+
Características morfológicas de las ramas					
Marchitez	+	+	+	+	+
Enrollamiento de las hojas					
sin defoliación	+	+	+	+	+
% de defoliación	0 %	5 %	5 %	5 %	80-90 %
Coloración de las hojas					
% de hojas verdes	15 %	75 %	55 %	90 %	5 %
% de hojas pardas	—	10 %	2 %	2 %	90 %
% de hojas amarillas	10 %	5 %	3 %	5 %	—
% de hojas verdes con los bordes secos	75 %	10 %	40 %	3 %	5 %
Presencia de escolítidos					
En el tronco	—	+	—	—	+
En ramas gruesas	+	+	+	—	+
En ramas delgadas	+	+	+	+	+

*: +/-; presencia / ausencia del carácter estudiado.

de la diferencia obtenida entre las observaciones del 2º y 7º días de 21 placas de aislamientos de Ca's Mallorca de San Joan (Ibiza), 8 de la finca Alcoraya de Montuiri (Mallorca) y 14 del torrente de S'Estorell en Lloseta (Mallorca), se obtuvo el crecimiento radial medio diario para cada muestra.

Posteriormente las colonias se colocaron en el laboratorio a temperatura ambiente (20 - 25 °C) y luz solar difusa durante 10 días al cabo de los cuales se observaron sus características culturales.

La terminología descriptiva que hemos utilizado es la siguiente: la fase conidial estudiada la hemos denominado *Sporothrix* clasificada por HOOG (1974) como estado

conidial de *Ophiostoma* y es una terminología que sigue aún vigente (IPINZA *et al.*, 1990; BRASIER, 1991); *Ophiostoma ulmi* (Buism.) Nannf. [syn. *Ceratocystis ulmi* (Buism.) Moreau] para el teleomorfo considerado como especie no agresiva y *Ophiostoma novo-ulmi*. Brasier como especie agresiva. Sin embargo, queremos hacer constar que no se ha trabajado más que con el anamorfo de estado conidial *Sporothrix*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los cuadros 1 y 2 se describen los síntomas externos, de la totalidad de la

Cuadro 2. Descripción de los síntomas internos observados en las ramillas

	Muestra 1 Canal Siurana de la albufera (Mallorca)	Muestra 2 S'Estorell de Lloseta (Mallorca)	Muestra 3 S'Alcoraya de Montuiri (Mallorca)	Muestra 4 Ca Bernat de S. Joan (Ibiza)	Muestra 5 Ca's Mallorquí de S. Joan (Ibiza)
Sección longitudinal					
Puntos necróticos	+	-	-	+	-
Manchas marrones dispersas	+	-	-	+	-
Estrías longitudinales de al menos 1 cm de largo separadas entre sí	-	-	+	-	-
Red de estrías longitudinales necróticas compactas	-	+	-	-	+
Sección transversal					
Puntos necróticos aislados / Anillo discontinuo	-	+	+	-	-
Anillo continuo	-	+	-	-	+
Médula ennegrecida	-	-	-	-	-

(*): +/-; Presencia / ausencia del carácter estudiado.

olmeda, observados en campo e internos observados en las ramillas, respectivamente.

De un total de 353 aislamientos realizados 21 fueron de *O. novo ulmi* (o especie agresiva) localizados en la olmeda de Ca's Mallorquí de San Joan (Ibiza) (muestra 5) y 22 de *O. ulmi* (o especie no agresiva) localizados en las muestras 2 y 3. En el Canal Siurana de la albufera de Alcudia (Mallorca) (muestra 1) y en Ca'n Bernat de Canadella en San Joan (Ibiza) (muestra 4) no se ha logrado aislar ninguna de las dos. El aspecto debilitado de los olmos de la Albufera de Mallorca (muestra 1) podía deberse a otros

daños ajenos a los producidos por la grafiosis o conjuntamente con ella, ya que se detectó en el estudio de 1992 (CORREA *et al.*, 1992), aunque en este de 1995 no se haya logrado aislar.

En el cuadro 3 se comparan las características de las colonias descritas por BRASIER (1981) y las aisladas en este trabajo. No han aparecido situaciones intermedias en los aislamientos. Se ha encontrado una correlación entre el aspecto de las colonias y su velocidad media de crecimiento; las aisladas en S'Estorell de Lloseta (muestra 2) y finca Alcoraya de Montuiri (muestra 3) presentaban características macroscópicas similares

Cuadro 3. Características morfológicas de las colonias

	O. ulmi (Brasier, 1981)	O. novo-ulmi RAZA NAN o Norteamericana (Brasier, 1981)	O. novo-ulmi RAZA EA o Euroasiática (Brasier, 1981)	Muestra 2 S'Estorrell de Lloseta O. ulmi	Muestra 3 Finca Alcoraya de Montuiri O. ulmi	Muestra 5 Ca's Mallorquí de San Joan O. novo-ulmi
Tasa de crecimiento (mm/día)	20°C (1.5)2.0-3.1(3.5) 33°C 1.1-2.8	3.2-4.8(5.%)0 0.1-0.5	3.1-4.4(4.8) 0(-0.1)	(1.75)2.3(2.87) (1.12)1.8-2.0(2.8)	(1.75)2.4(3.5) (1.3)1.9-1.9(3.75)	(4.15)4.6-5.1(5.8) (0)0.02-0.3(0.6)
Morfología	li, c, ce	fi, es	es, lo, i	lo, ce, r	lo, ce, r	ce, fi, es, i
Zonación diurna (2)	co, de	pe, fu	pe, fu	co, de/fu	co, de/fu	pe, fu

(1): li: liso, c: ceroso, fi: fibroso, es: estriado, ce: cespitoso, lo: lobulado, r: rgular, i: irregular.

(2): pe: petaloide, co: concéntrico, de: débil, fu: fuerte.

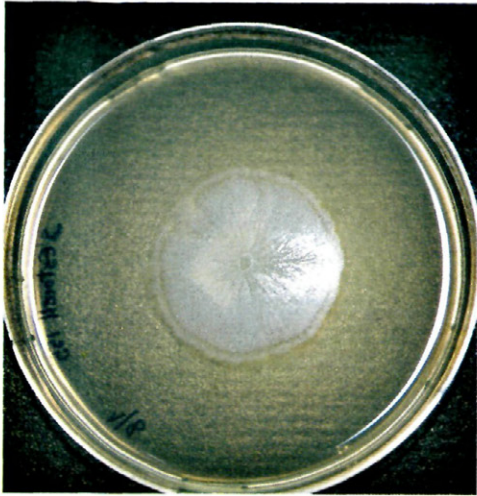


Fig. 6.-Morfología de la colonia de la especie no agresiva en 2% M. A.



Fig. 7.-Morfología de la colonia de la especie agresiva en 2% M. A.

a las de *O. ulmi* (Fig. 6), sin embargo; los aislados de Ca's Mallorquí de San Joan de Ibiza (muestra 5) se parecían a las descritas en *O. novo-ulmi* (Fig. 7)

Las especies no agresivas de S'Estorell de Lloseta (muestra 2) y finca Alcoraya de Montuiri (muestra 3) crecieron 1,75 - 3,5 mm. radiales diariamente. La morfología predominante ha sido la lobulada, cespitosa, con el margen de la colonia regular. La zonación miceliar es concéntrica.

Los aislamientos de la especie agresiva de Ca's Mallorquí de S. Joan (muestra 5) oscilan entre 4,15 - 5,8 mm. de crecimiento diario, radial. En ellas hay una mayor cantidad de micelio aéreo, pero con la misma apariencia cespitosa que en la especie no agresiva. La morfología cambia y adquiere una zonación miceliar petaloide a partir de la zona del inóculo. El margen de la colonia es irregular.

Para la identificación microscópica nos basamos en las descripciones de las especies *O. novo-ulmi* y *O. ulmi* (BRASIER, 1991). Ambas especies presentan hifas aéreas que miden de 1 a 6 μm . de diámetro; los conidióforos son en su mayoría laterales entre 10 - 30 (-50 μm) de longitud y las denticulas

conidiógenas entre 0,5 - 1 μm de longitud. Los conidios son holoblásticos, unicelulares, hialinos, de forma variable que puede ser desde redondo a elipsoide. Se caracterizan porque mengua su tamaño en la punta que incluso es ligeramente curvada (Fig. 10) (estado conidial de *Sporothrix*).

Los conidios miceliar están agregados en gotitas mucilaginosas. A su vez pueden reproducirse por gemación. A menudo coalescen agregados en una masa parecida a la levadura confiriendo una apariencia cerosa a las colonias (estado conidial de levadura).

En el cuadro 4 se resumen las dimensiones taxonómicas del anamorfo *Sporothrix* tomado de las distintas cepas. Es interesante ver que una de las diferencias entre las cepas agresivas y no agresivas radica en el grosor de las hifas sumergidas en el agar. BRASIER (1991) describió que la especie no agresiva presenta diámetros de hasta 10 μm y la especie agresiva superiores a 10 μm . En nuestras observaciones no se han encontrado los diámetros de hifas que describe BRASIER en su artículo: las hifas inmersas en el agar de la especie agresiva efectivamente son más grandes que las no agresivas, ya que casi miden el doble, pero los tamaños que hemos medido oscilan entre 2,7

Cuadro 4. Medidas microscópicas de especies agresivas y no agresivas aisladas en Baleares

		Muestra 2 (S'Estorell)			
		Aislamiento 136	Aislamiento 142	Aislamiento 152	Aislamiento 155
Medidas conidio	l	(2,4)4,0(6,4)	(2,8)4,1(6,4)	(2,4)4,1(6,4)	(2,8)4,3(5,6)
	a	(0,8)1,6(3,2)	(0,8)1,5(3,2)	(1,2)1,7(2,6)	0,8)2,1(3,2)
Medidas conidióforo	l	(8,8)17,2(44,8)	(7,2)23,6(56,8)	(6,4)14,4(36)	(5,6)15,2(56,8)
	a	(1,6)2,2(3,2)	(1,6)2,6(3,2)	(1,6)2,78(4)	(1,6)2,6(3,2)
Dimámetro hifa inmersa en agar		(1,6)3,2(4)	(1,6)2,9(4)	(1,6)3,5(5,6)	(1,6)2,7(4)
		Muestra 3 (Alcoraya)			
		Aislamiento 178	Aislamiento 183	Aislamiento 184	Aislamiento 188
Medidas conidio	l	(3,2)4,9(7,2)	(2)4,9(7,2)	(3,2)4,7(8,8)	(2,4)4,8(7,2)
	a	(1,6)2,4(4)	(0,8)2,17(4)	(1,6)2,0(3,2)	(1,6)2,3(3,2)
Medidas Conidióforo	l	(3,2)18,7(48)	(4,4)21,3(37,6)	(6,4)21,7(56,8)	(6,4)23,0(60)
	a	(2,4)2,8(3,2)	(1,6)2,8(4)	(1,6)2,8(4,8)	(1,6)2,7(4)
Diámetro hifa inmersa en agar		(2,4)3,2(4)	(2,4)3,7(4,4)	(1,6)3,3(4,8)	(1,6)3,2(4)
		Muestra 5 (Ca's Mallorca)			
		Aislamiento 215	Aislamiento 216	Aislamiento 236	Aislamiento 266
Medidas conidio	l	(2,4)4,3(8)	(2)4,25(7,6)	(2,4)3,9(5,6)	(2,4)4,3(7,2)
	a	(1,6)2,3(3,21)	(1,25)2,54(5)	(1,2)1,9(3,6)	(0,8)1,8(4)
Medidas conidióforo	l	(14,4)25,4(52)	(10)24,9(42)	(4,8)21,7(37,6)	(13,6)25,3(48)
	a	(1,6)2,5(4)	(1,6)2,27(4)	(1,6)2,4(4)	(1,6)2,6(4)
Diámetro hifa inmersa en agar		(5,2)7,3(10,4)	(3,2)6,4(8,8)	(4)6,4(8,8)	(4)7,1(9,6)

l: longitud; a: anchura

Valores mínimos, medios y máximos de 25 individuos para cada uno de los parámetros medidos de cada uno de los cuatro aislamientos de cada localidad (en μm .)

y 3,7 μm para *O. ulmi* y 6,4 a 7,1 μm para *O. novo-ulmi* (Figs. 3, 8 y 9), y coinciden más con la descripción de HOOG (1974), quien las describe como hifas hialinas ocasionalmente marrón pálidas, lisas o de paredes rugosas, normalmente delgadas, 1-2,5 (-3) μm de anchura, y mezcladas con hifas fuertemente septadas de una anchura de 3 - 8 μm .

Estas diferencias de diámetros de las hifas descritas por BRASIER y las descritas por nosotros podrían deberse, al igual que en las olmedas, a una diferencia en el estado hídrico de los árboles y consecuentemente de las hifas, como se cree ocurre en los conidios de *Pestalotiopsis sp* (GAMS, *com. pers.*).

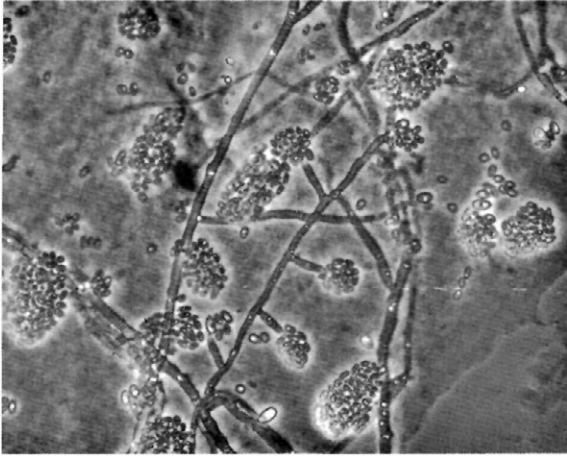


Fig. 8.—Aspecto del micelio y el estado conidial *Sporothrix* de un aislamiento de la especie no agresiva en Montuiri (Mallorca).

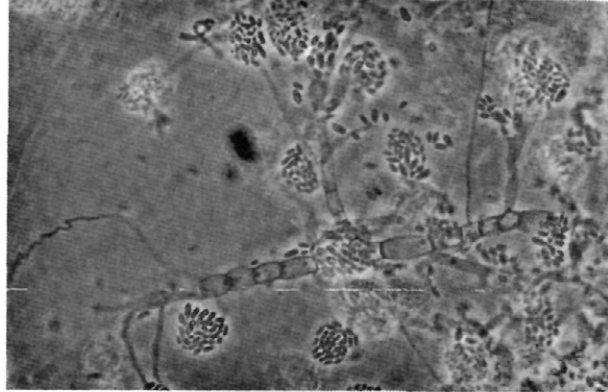


Fig. 9.—Grosor de las hifas sumergidas en el agar característico de la especie agresiva de S. Lorenzo (Ibiza).

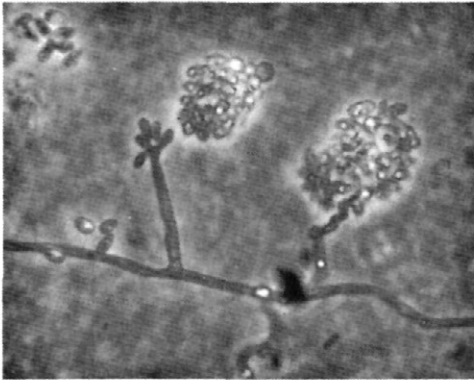


Fig. 10.—Conidiogénesis del anamorfo *Sporothrix* de un aislamiento de la especie agresiva de S. Lorenzo (Ibiza).



Fig. 11.—Galerías de escolítidos con larvas encontradas en el depósito de madera de Ca Negreta (Ibiza, Nov. 95)

Se ha estado estudiando, gracias al proyecto de mejora genética del olmo, del MAPA, el tipo de compatibilidad sexual (o tipo de unión) y a qué raza pertenecen las cepas aisladas durante este muestreo. Los resultados obtenidos, hasta el momento, han sido del tipo de unión B y la raza NAN (GARCÍA-NIETO, *com. pers.*).

Una vez detectada la presencia de madera de olmo sin descortezar e infestada de escolítidos vectores de grafiosis (Figs. 11 y 12) en varios puntos de la isla de Ibiza, unido a los resultados obtenidos en laboratorio de los ais-

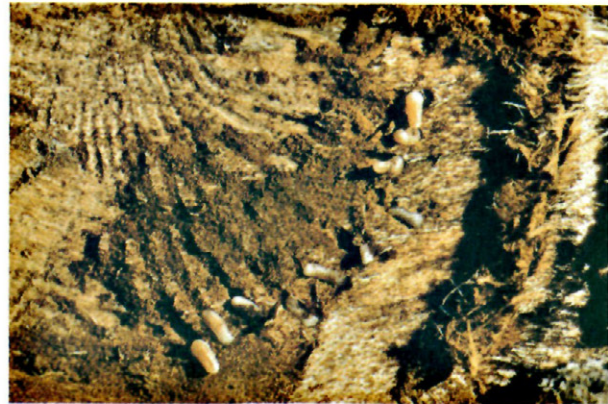


Fig. 12.—Mayor detalle de las larvas de escolíidos de la Ca Na Negreta (Ibiza, Nov. 95).

lamientos de Ca's Mallorca, se puede confirmar la instalación de *Ophiostoma novo-ulmi* BRASIER en Ibiza. Por ello, se procedió a la erradicación mediante apeo a ras de suelo y eliminación por fuego de todos los árboles que conformaban la olmeda.

AGRADECIMIENTOS

A la Fundació Illes Balears y a la Conselleria d'Agricultura y Pesca de la Comunidad Autónoma de las Islas Baleares por patrocinar conjuntamente este trabajo. Al Dr. José García Jiménez de la Escuela Técnica Superior de

Ingenieros Agrónomos de Valencia y al Dr. Enrique Descals del Instituto Mediterráneo de Estudios Avanzados (Centro Superior de Investigaciones Científicas - Universidad de las Islas Baleares) por sus tareas de revisión y dirección. A María Eugenia García Nieto del equipo del proyecto de mejora genética del olmo de Madrid por su amabilidad y por su interés en el trabajo empezado en este artículo. Y de un modo especial a María del Mar Peñalver (becaria de colaboración en los trabajos del laboratorio por la Fundació Illes Balears de Palma de Mallorca) que ha trabajado con rigurosidad y empeño en este proyecto

ABSTRACT

GARCÍA ROTGER, M., y ROMERO CASADO, J., 1996. Presence of the "Dutch elm disease" on Ibiza (the Balearic islands). *Bol. San. Veg. Plagas*, 22 (4): 791-803.

The fungal pathogen species *Ophiostoma novo-ulmi* (fungi Ascomycotina) has been detected in Ibiza (the Balearic islands). So far only the non-aggressive species *Ophiostoma ulmi* had been detected. It was presumed that the Balearic islands could constitute a genetic reserve for European elms.

The techniques used for the isolation and identification of the aggressive and non aggressive species are detailed and their characters macro and microscopic are described.

Key words: *Ophiostoma novo-ulmi*, *O. ulmi*, Dutch elm disease, Ulmus, Balearic islands, Spain.

REFERENCIAS

- ALOMAR, G.; GONZÁLEZ, J. M., y MASCARÓ, C., 1992: Notas florísticas de las islas Baleares (IV). En: *Boletín de la Sociedad de Historia Natural de las Islas Baleares*. 35: 67-71.
- BRASIER, C. M., 1981: Laboratory investigation of *Ceratocystis ulmi*. In: stipes RJ, Campana R (eds), *Compendium of Elm Diseases*. American Phytopathological Society, pp. 76-79.
- BRASIER, C. M., 1988: Rapid changes in genetic structure of epidemic populations of *O. ulmi*. *Nature*. 332 (6164): 538-541.
- BRASIER, C. M., 1991: *Ophiostoma novo-ulmi* sp. nov., causative agent of current Dutch elm disease pandemics. *Mycopathologia*. 115: 151-161.
- BRASIER, C. M., y GIBBS, J. N., 1975: Variations in *Ceratocystis Ulmi*: Significance of the aggressive and non-aggressive strains. In "Dutch elm disease" (Proceedings of the IUFRO Conference, Minneapolis - ST Paul September 1973). USDA Forest Service, Northeastern Forest Experiment Station, pp. 53-56.
- CORREA LIRÓ, J. E.; MARTÍNEZ DE AZAGRA, A., y GARCÍA-NIETO RIVERO, M. E., 1992: Estudio e inventario del olmo en Baleares. Ed. SE.FO.BA.S.A. e Ingeniería Agroforestal Medio-Ambiental S. A. (sin publicar).
- GIL, L., 1990 (Ed): "Los olmos en España y la enfermedad de la grafiosis". Mapa Icona Colecc. Técnica.
- HOOG, G. S. DE, 1974: The genera *Blastobotrys*, *Calcarisporium* and *Calcarisporella* gen. nov. *Stud. Mycol.* 7:1-84.
- IPINZA CARMONA, R., 1990: Algunos aspectos relevantes sobre la taxonomía de los olmos ibéricos en "Los olmos en España y la enfermedad de la grafiosis". Mapa Icona Colecc. Técnica.
- IPINZA, R.; MARTÍNEZ DE AZAGRA, A., SALVADOR, M. L., y CALONGE, F. D., 1990: Consideraciones micológicas y epidemiológicas de *Ceratocystis* (*Ophiostoma*)

- ulmi (Buis.) Moreua en "Los olmos en España y la enfermedad de la grafiosis". Mapa-Icona. Colecc. Técnica.
- MARTÍNEZ, J. B., 1932: "La grafiosis del olmo". Montes e industrias XIX. pp. 499-503. Madrid.
- MUÑOZ, C., 1985: La grafiosis del olmo en España: Nuevos aislamientos de la cepa agresiva. *Boletín de la Estación Central de Ecología*. Año XIV, N.º 27. *ICONA*. 14:65-76.
- PAJARES ALONSO, J. A., y MARTÍNEZ DE AZAGRA, A., 1990: Métodos y estrategias en el control de la grafiosis en "Los olmos en España y la enfermedad de la grafiosis" *ICONA. Col. Técnica*. pp. 166-201.
- ROBREDO, F., 1985: Las cepas agresivas de *Ceratocystis Ulmi*, causa de la desaparición de los olmos en España. *España Agrícola* N.º 83. pp. 36-42

(Aceptado para su publicación: 14 junio 1996).