

## La tuberculosis del olivo: Diagnóstico, epidemiología y control

■ R. PEÑALVER, A. GARCÍA, A. FERRER, M.M. LÓPEZ

**L**a tuberculosis del olivo causada por *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* es una enfermedad muy extendida por todas las zonas de producción españolas y que causa pérdidas importantes no bien evaluadas. Para su control se considera necesario: a) poner a punto nuevos métodos de diagnóstico sensibles y específicos basados en la serología y/o en técnicas moleculares, que permitan la producción de material libre de esta bacteria, b) estudiar el ciclo biológico de la enfermedad en nuestras condiciones y c) evaluar la sensibilidad de las variedades de olivo de interés en España y aconsejar para la plantación en zonas endémicas de tuberculosis aquellas variedades de menor sensibilidad.

El olivo puede ser afectado por un reducido número de bacterias fitopatógenas, entre las que se encuentran algunas de amplio espectro de huéspedes como *Agrobacterium tumefaciens* y otras que lo tienen como huésped principal como *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*.

La tuberculosis o roña del olivo causada por la bacteria *P. savastanoi* pv. *savastanoi* (GARDAN *et al.*, 1992), antes denominada *P. syringae* pv. *savastanoi* o subsp. *savastanoi*, es una enfermedad bacteriana estudiada desde hace mucho tiempo. Su etiología fue descrita por primera vez en Italia y está citada en prácticamente todos los países que cultivan olivo. Pese a su elevada incidencia, a lo característico de los síntomas que causa y a las elevadas pérdidas económicas que produce, son escasos los trabajos de puesta a punto de métodos de detección o que permitan conocer el ciclo de la enfermedad en distintas ecologías. Tampoco está bien establecida la sensibilidad varietal o los métodos de control más adecuados.

### Sintomatología

Los síntomas característicos de la tuberculosis del olivo son bien conocidos. El más común es la aparición de tumores, de forma redondeada y con tamaño variable, entre pocos mm y varios cm de diámetro. Los tumores aparecen en tronco, ramas, tallos y brotes y con mucha menor frecuencia en las hojas. Estos síntomas son debidos a la producción de la fitohormona ácido 3-indol acético (AIA) por la bacteria. Se han descrito también manchas en fruto de 0.2-3 mm de diámetro atribuidas a *P. savastanoi* pv. *savastanoi*. Esta bacteria puede estar presente de forma latente como endófito en el interior de la planta o como epífita en distintos órganos y desencadenar la formación del tumor sólo cuando las condiciones sean favorables.

La importancia de las pérdidas causadas por la tuberculosis del olivo es difícil de evaluar, por los numerosos factores que influyen en la mayor o menor gravedad de los síntomas que causa pudiendo originar muerte de ramas y un debilitamiento progresivo del árbol de difícil valoración. Según Schroth *et al.* (1973), que realizaron una evaluación de pérdidas en California, esta



**Foto 1. Típicos tumores en ramas producidos por *P. savastanoi* pv. *savastanoi*.**

bacteriosis es responsable de importantes reducciones en la cosecha. Los olivos con infecciones moderadas produjeron un 28% menos que los que mostraban infecciones ligeras. Ade-

más, los frutos recogidos de ramos afectados pueden contener sustancias que les proporcionen olores y sabores desagradables (SCHROTH *et al.*, 1968). En España, datos recientes de Cuesta y Delgado (1995) colocan a la tuberculosis como la tercera enfermedad productora de pérdidas en olivo en España, tras el repilo (*Cycloconium oleaginum*) y la lepra (*Cloeosporium olivarium*) con el agravante de las dificultades del control químico de las bacteriosis. Las pérdidas causadas en España por la tuberculosis, han sido evaluadas por dichos autores en 37.822 Tm anuales.

### Diagnóstico

Los métodos de detección e identificación de *P. savastanoi* pv. *savastanoi*, que podrían servir para su diagnóstico en material vegetal con o sin síntomas, no han sido muy estudiados. Los métodos clásicos de aislamiento e identificación, ya fueron descritos en España hace años (BELTRA 1956; ROMERO Y CALLAO, 1969) y más recientemente se han puesto a punto distintos medios selectivos (VARVARO Y FERULLI 1983; AZAD Y COOKSEY, 1995) cuya efectividad para el aislamiento se está estudiando en las condiciones españolas.

Las técnicas serológicas han sido empleadas por distintos autores para la identificación de *P. savastanoi* pv. *savastanoi* (ROMERO Y CALLAO, 1969) y se han descrito anticuerpos monoclonales de esta bacteria (CASANO *et al.*, 1987) pero no se encuentran disponibles comercialmente. Ello aconsejó la preparación en el IVIA de antisueros que permitieran poner a punto técnicas serológicas de elevada sensibilidad y especificidad. Se han obtenido seis antisueros preparados con cepas de distintos orígenes y huéspedes. Se ha estudiado su especificidad en ELISA indirecto frente a una colección de cepas de *P. savastanoi* pv. *savastanoi* y con cepas de flora saprofita de olivo. La tasa de parentesco entre la distintas cepas de *P. savastanoi* pv. *savastanoi* fue muy similar, indicando que se trata de una especie serológicamente homogénea. Se ha seleccionado uno de los antisueros para ser utilizado en la detección serológica de esta bacteria ya que no ha mostrado reacciones cruzadas con bacterias saprófitas aisladas de olivo. Se está poniendo a punto un método ELISA con estos anticuerpos específicos y con una etapa de enriquecimiento previo en medio semiselectivo para aumentar la sensibilidad de la detección (LOPEZ *et al.*, 1997).

Las técnicas moleculares de detección como la PCR no habían sido aplicadas a *P. savastanoi* pv. *savastanoi* y tienen gran interés por su elevada sensibilidad y especificidad. La producción de AIA por dicha bacteria es esencial para la formación de tumores en olivo y se han diseñado iniciadores específicos capaces de amplificar secuencias del gen *iaaL*, que está implicado en una posterior metabolización del AIA en la bacteria. Mediante el uso de estos iniciadores se obtuvieron amplificadores con el ADN de una colección de cepas de esta bacteria aisladas de diversos países y huéspedes. No se obtuvo ningún producto de PCR a partir del ADN de cepas de flora saprofita de olivo. Se ha puesto a punto un protocolo de PCR simple y que permite ser utilizado de forma rutinaria en el análisis de muestras vegetales. Se están aplicando estos reactivos serológicos y moleculares a la detección de *P. savastanoi* pv. *savastanoi* en muestras de olivo con y sin síntomas. Con ello se pretende poner a punto métodos sensibles y específicos para el diagnóstico y la detección de esta bacteria que resultan necesarios para la puesta en marcha de un programa de certificación del olivo.

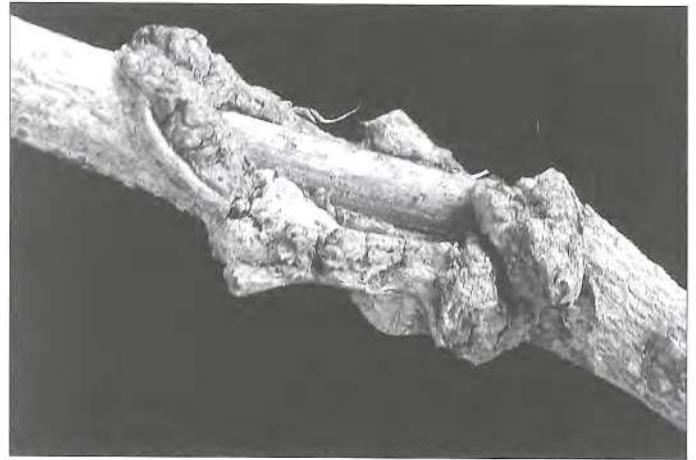


Foto 2. Chancro con tumores en rama, producido por *P. savastanoi* pv. *savastanoi*.

### Epidemiología

El conocimiento de la epidemiología de esta bacteriosis es imprescindible para realizar un control adecuado de la misma y determinar el tipo de material vegetal que debe analizarse en los procesos de certificación. *P. savastanoi* pv. *savastanoi* había sido descrita como epífita en distintos órganos de las plantas de olivo, especialmente en las hojas (ERCOLANI, 1971; VARVARO Y FERULLI, 1983; EROCOLANI 1987). Las bacterias transportadas por el agua, se introducen en los tejidos por heridas provocadas por causas meteorológicas (heladas, viento, granizo) u operaciones del cultivo (poda, recogida de frutos) y lesiones de insectos y otra causas. Se dispone de información sobre las poblaciones bacterianas en distintas épocas y países pero son escasos los estudios realizados en España que confirmen o no los de otras áreas. Esta información es necesaria tanto por su aplicación a los métodos de detección, como para la utilización de métodos eficaces de control. Los datos obtenidos hasta el momento sugieren que en nuestras condiciones la bacteria se conserva en las ramas más que en las hojas (GARCÍA DE LOS RÍOS *et al.*, 1996; LÓPEZ *et al.*, datos no publicados).

### Control

La lucha contra esta enfermedad se considera que debe ser esencialmente preventiva, utilizando variedades poco sensibles, limitando las heridas y reduciendo las poblaciones epífitas de la bacteria (PROTTA, 1995). La información sobre la sensibilidad varietal no es muy completa. No obstante, existen observaciones sobre la distintas variedades realizadas en varias colecciones españolas (CABALLERO, 1996, comunicación personal; BARRANCO *et al.*, 1997), pero que no han sido confirmadas mediante ensayos específicos. En países que han dedicado más esfuerzos a estudios sobre esta bacteria, como en Italia, se dispone únicamente de datos genéricos (PROTTA, 1995). Además la información procedente de distintas zonas no es coincidente en muchos casos, lo que puede ser debido a la variabilidad existente entre los diversos clones de cada variedad y o factores bióticos y abióticos que localmente pueden influenciar la infección (PROTTA, 1995). Los ensayos recientes realizados en España sugieren la elevada sensibilidad de las variedades Arbequina, Arbusana, Manzanilla, Borriolenca, Blanqueta, Empeltre, Frantoio, Hojiblanca, Leccino, Palomar, Picual y Villalonga, y como algo menos sensible aparece Cornicabra (GARCÍA, 1997).

Ante la elevada sensibilidad de la mayoría de las variedades se aconseja la poda de las ramas afectadas, eliminándose así los tumores y reduciendo con ello el inóculo potencial, y la desinfección de las heridas de poda y de los instrumentos utilizados. Los tratamientos químicos tienen sólo una mediana eficacia, pero se aconsejan los productos cúpricos, como preventivos o en plantaciones muy afectadas. Pueden utilizarse en primavera y otoño y cuando hay riesgo elevado de infecciones tras heladas, granizo u otros accidentes causantes de heridas.

La utilización de material vegetal certificado libre de *P. savastanoi* pv. *savastanoi*, el conocimiento del ciclo de la bacteria en las condiciones españolas y el uso de variedades menos sensibles, podrán contribuir de manera muy importante en un futuro próximo a disminuir la incidencia de esta bacteriosis.

### Agradecimientos

Se agradece la colaboración de Jorge Pinochet, de Agromillora Catalana, S.A. y de las oficinas comarcales de la Conselleria de Agricultura de la Generalidad Valenciana.

## BIBLIOGRAFÍA

- AZAD H.R., COOKSEY D.A., 1995. *A semiselective medium for detecting epiphytic and systemic populations of Pseudomonas savastanoi from oleander*. Phytopathology 85, 740-745.
- BARRANCO, D., FERNANDEZ-ESCOBAR, R., RALLO, L. 1997. *El cultivo del olivo*. Ed. Mundi Prensa
- BELTRA R. 1956. *Nueva técnica para la identificación de Pseudomonas savastanoi*. Microbiología Española 9, 293-313.
- CASANO F.J., HUNG S.Y., WELLS J.M. 1987. *Differentiation of some pathovars of Pseudomonas syringae with monoclonal antibodies*. Bulletin OEPP 17, 173-179.
- CUESTA M.J., DELGADO A. 1995. *Estudio y evaluación de las plagas y enfermedades del olivo (Olea europea sativa) en la cuenca del río Guadajoz*. Cuadernos de Fitopatología. 46, 144-150.
- ERCOLANI G.L. 1987. *Colonizzazione dell'filloplano dell'olivo da cellule mobili o non mobili di Pseudomonas syringae pv. savastanoi in inoculi atomizzati o aerosolizzati*. Annali di Microbiologia ed Enzimologia 37, 115-126
- ERCOLANI G.L. 1971. *Presenza epifitica di Pseudomonas savastanoi su olivo in Puglia*. Phytopathologia Mediterranea 10, 130-132
- GARCÍA, A. 1997. *Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi, agente causal de la tuberculosis del olivo: caracterización y sensibilidad varietal*. Trabajo Final de Carrera. EUITA Valencia
- GARCÍA DE LOS RÍOS, J.E. et al. 1996. *Evolución de las poblaciones epifíticas patógenas y saprófitas sobre Olea europea L. en función de las condiciones ambientales*. VIII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Fitopatología, 90.
- GARDAN L., BOLLET C., GHORRAH M.A., GRIMONT F., GRIMONT P.A.D. 1992. *DNA relatedness among the pathovar strains of Pseudomonas syringae subsp. savastanoi Janse (1982) and proposal of Pseudomonas savastanoi sp. nov.* International Journal of Systematic Bacteriology 42: 4, 606-612.
- LÓPEZ M.M., GORRIS M.T., LLOP P., CUBERO J., VICEDO B., CAMBRA M. 1997. *Selective enrichment improves the isolation, serological and molecular detection of plant pathogenic bacteria*. pp 117-122 en Diagnosis and identification of plant pathogens, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht
- PROTTA U. 1995. *Le malattie dell'olivo*. Informatore Fitopatologico 12, 16-26.
- ROMERO P., CALLAO V. 1969. *Técnica estandarizada para el aislamiento e identificación del agente etiológico de la tuberculosis del olivo*. Microbiología Española 22, 219-231.
- SCHROTH M.N., HILDEBRAND D.C., O'REILLY H.J. 1968. *Off-flavor of olives from trees with olive knot tumors*. Phytopathology. 58, 524-525.
- SCHROTH M.N. 1973. *Quantitative assessment of the effect of the olive knot disease on olive yield and quality*. Phytopathology 63, 1064-1065.
- VARVARO L., FERRULLI M. 1983. *Sopravvivenza di Pseudomonas syringae pv. savastanoi (Smith) Young et al. sulle foglie di due varietà di olivo (Olea europea L.)*. Phytopathologia Mediterranea 22, 1-4).