

La grafiosis de los olmos: situación actual

Luis Gil

ETS de Ingeniería de Montes, Forestal y del Medio Natural.
Universidad Politécnica de Madrid

En 1979, con la introducción y posterior expansión de la enfermedad de la grafiosis agresiva de los olmos, se produjo la muerte de millones de olmos. En 1986 se inició el Programa de Mejora Genética de los Olmos Ibéricos, que se localizó en el Centro Nacional de Mejora Genética Forestal (CNMGF) de Puerta de Hierro (Madrid). En 2013 se catalogaron cinco *Ulmus minor* tolerantes a la grafiosis. En otra línea de trabajos se demostró que *Ulmus laevis* era un olmo autóctono en la Península, uno de sus refugios durante las glaciaciones. En la actualidad se trabaja en una segunda generación de clones, obtenida de un ensayo de cruzamientos controlados que mejora la tolerancia de los parentales, así como en la búsqueda de nuevos genotipos en campo y en inocular plantas *in vitro* para priorizar genotipos candidatos antes de su evaluación en parcelas de inoculación para comprobar su tolerancia a la enfermedad. La búsqueda de una vacuna es otra de las líneas de trabajo.

INTRODUCCIÓN

En 1978 entra en España una segunda pandemia de la enfermedad del olmo holandés (DED), denominada grafiosis agresiva (*Ceratocystis novo-ulmi*), que provocó la mortandad de los olmos supervivientes de la primera introducción (Pajares y Gil, 1985), causando alarma social por ser árboles de referencia en sus lugares. Cientos de miles de olmos de grandes dimensiones murieron por toda la geografía española, sobre todo por la abundancia de un genotipo, denominado clon 'Atinio' (Gil *et al.*, 2004), con más de 2000 años de antigüedad. Este clon fue introducido por el hispanorromano Columela cuando los viñedos eran plantaciones de olmos a los que se unían cepas trepadoras. Este uso se abandonó al usar cepas bajas, pero por su frondosidad y crecimiento el clon alcanzó gran difusión por toda España, llegando a suponer cerca del 60 % de nuestros olmos en los años

en que apareció la grafiosis agresiva. Su valor ornamental, su adaptación a los suelos compactos y su capacidad de soportar sequías estivales hicieron que los olmos tuvieran una estrecha relación con el hombre. Su presencia era general, como señalaba el agrónomo Herrera (1515) en su *Agricultura General*:

[...] son los alamos negros de dos maneras, unos que suben altos y derechos, y otros que se estienden en ramas, quales los suele aver en plazas de Iglesias, y otros lugares, mayormente en las aldeas, y aun allí se juntan los labradores, a mentir los días de fiestas [...]

La mortandad llevó al ICONA a establecer en 1986, junto con la ETSI Montes de Madrid, un programa para el mejoramiento genético de los olmos frente a la enfermedad de la grafiosis, aún activo gracias al apoyo de las sucesivas administraciones forestales.

Los resultados permitieron un mejor conocimiento de la biología de los agentes implicados y de su relación con el hombre (Gil y García-Nieto, 1990; Fuentes-Utrilla et al., 2004), y que dos especies, apenas conocidas por las generaciones actuales y en peligro de extinción, cuenten con un futuro prometedor.

EL PROGRAMA “MEJORAMIENTO GENÉTICO DE LOS OLMOS FRENTE A LA ENFERMEDAD DE LA GRAFIOSIS”: PRIMEROS RESULTADOS.

Tras la expansión de la grafiosis las olmedas silvestres quedaron reducidas a un rebrote periódico de raíz, hasta que la cepa se agota por el ataque reiterado de hongos e insectos. Cuando un ejemplar alcanza ciertas dimensiones el patógeno se expande por los vasos conductores del olmo y mata su parte aérea, quedando con frecuencia vivo el sistema radical, que inicia un nuevo rebrote. Algunos olmos monumentales que no son tolerantes, como el clon ‘Atinio’, han conseguido escapar a la enfermedad, como la olmeda de Mari Pinar plantada en la carretera paralela al río Segura en el año 1902 y con alturas de 30 m en 2011, o el olmo de plaza de Navajas (Castellón) (Figura 1).

Después de 30 años, en 2013, se catalogaron los primeros olmos resistentes (Tabla 1), bajo la categoría de “material base para la producción de material forestal de reproducción cualificado” (BOCM nº 302, de 20 de diciembre de 2013 y BOE nº 34 del 8 de febrero de 2014), lo que supuso un impulso al programa y su continuidad.

Una consecuencia derivada fue demostrar que otra especie de olmo, *Ulmus laevis*, era autóctona (Fuentes-Utrilla et al., 2014). La especie había pasado inadvertida para los botánicos, que lo identificaban como *U. minor* o lo consideraban introducido para su uso ornamental (Navarro y Castroviejo, 1993). La confusión la motivaba una morfología similar, sólo diferenciable si están presentes flores y frutos, así como por su ecología, por ser exclusiva de suelos silíceos con un nivel freático permanente, mientras que el olmo común es indiferente edáfico. *Ulmus laevis* es sensible a

Tabla 1: Caracterización de los cinco clones que se mostraron tolerantes a la grafiosis. Resultado derivado de la comparación con uno tolerante y otro sensible en los años de la inoculación. Ensayos realizados en parcelas situadas en el Centro Nacional de Mejora Genética Forestal de Puerta de Hierro (Madrid).

Nombre del clon (y nº de ramets inoculados)	Año de inoculación	Porcentaje de marchitamiento de copa a los 60 días de la inoculación (media ± error estándar)		
		Clon seleccionado	Sapporo	Control susceptible
Ademuz (N=10)	2008	11,1 ± 7,0	48,1 ± 9,9	89,2 ± 4,05
	2009	17,5 ± 4,6	21,4 ± 6,7	87,1 ± 3,1
Majadahonda (N=6)	2008	13,1 ± 7,8	48,1 ± 9,9	89,2 ± 4,05
	2009	19,1 ± 5,3	21,4 ± 6,7	87,1 ± 3,1
Dehesa de la Villa (N=10)	2009	12,0 ± 5,6	18,1 ± 6,9	81,3 ± 5,5
	2010	15,2 ± 6,9	0,0 ± 8,6	99,0 ± 6,7
Dehesa de Amanuel (N=12)	2011	1,4 ± 4,9	31,7 ± 4,9	86,7 ± 4,9
	2012	1,7 ± 5,4	11,0 ± 5,4	80,0 ± 6,3
Retiro (N=7)	2011	14,0 ± 5,2	31,7 ± 4,9	86,7 ± 4,9
	2012	6,2 ± 5,8	11,0 ± 5,4	80,0 ± 6,3



Figura 1: Olmo de la plaza del ayuntamiento antiguo de Navajas (Castellón). Es un ejemplar del clon “Atinio”, que fue plantado en 1636 y, pese a no ser resistente a la enfermedad, se mantiene vigoroso y es el orgullo del pueblo. Fue declarado árbol del año en 2019.

la grafiosis pero escapa a la enfermedad por no ser detectado por los coleópteros transmisores, siendo la península ibérica uno de sus refugios durante las glaciaciones. El olmo de Cortelazor (Huelva) (Figura 2) es de esta especie.

La capacidad de producir material de ambas especies permitió que en 2014 se concediera un proyecto Life+ para la plantación de 12.000 ejemplares de *Ulmus minor* y *U. laevis* en la provincia de Madrid, en colaboración con los ayuntamientos de San Sebastián de los Reyes y Aranjuez. El material se produjo en el CNMGF de Puerta de Hierro, en el que se localizan las parcelas de conservación, los bancos clonales y las plantaciones experimentales, incluidas las de inoculación de la enfermedad. El proyecto ha ido acompañado de una página web «Olmos vivos», que difunde los trabajos y solicita información de olmos no detectados por el programa.

El proyecto, gracias a las numerosas personas y medios implicados, ha

permitido que España lidere la obtención de olmos autóctonos tolerantes y el conocimiento científico del género en Europa. Pero, ante todo, ha logrado recuperar la especie en su ambiente natural, y que vuelva a ser un árbol urbano, pues sobrepasan el centenar los pueblos y ciudades que han vuelto a tener olmos en sus plazas y paseos.

Como trabajos prácticos continúa la búsqueda de nuevos olmos candidatos (Figura 3) para aumentar el número y la diversidad genética de los olmos tolerantes. Los individuos recolectados, como semillas, estaquillas o yemas, tras su propagación pasan a parcelas de inoculación, en las que, tras cuatro años, sus vasos alcanzan las dimensiones adecuadas para ser sensibles al patógeno y son inoculados (Solla y Gil, 2002). En la base del tronco se inyecta una dosis elevada de esporas del hongo. La inoculación se realiza durante dos años consecutivos y se valora el porcentaje de defoliación del olmo. Como controles (Tabla 1) se sitúan un olmo resistente

(‘Sapporo Autumn Gold’) y un genotipo sensible. Los clones a evaluar, con al menos seis copias o “ramets”, se sitúan al azar en la parcela para recoger la posible variabilidad edáfica. Para calificarlos como tolerantes su defoliación ha de ser inferior al 30 %, y el control sensible debe superar un 70 %. De cumplirse ambas condiciones se inician los trámites para calificarlo como material cualificado. La comparación con el ‘Sapporo Autumn Gold’ valora el grado de resistencia. El control sensible indica que las condiciones ambientales han sido adecuadas para la expresión de la enfermedad. Cuando el olmo ensayado sólo tiene una copia y se muestra resistente es obligada su propagación vegetativa, hasta obtener el mínimo necesario de seis réplicas para comprobar su tolerancia.

En 2008-09 (Tabla 1) se obtuvieron los primeros genotipos tolerantes que como brinzales ya la habían mostrado en 2003, pues procedían de semillas recolectadas años antes. Todos los



Figura 2: En la plaza del olmo de Cortelazor, el ejemplar centenario es un *Ulmus laevis* de 5,2 m de perímetro. Su copa reducida se debe a reiteradas podas para mantener en equilibrio su estructura hueca. La Sierra de Aracena en la provincia de Huelva es la que contiene la población más numerosa de esta especie, con más de 600 ejemplares.

clones obtuvieron porcentajes inferiores al clon resistente ‘Sapporo Autumn Gold’, al menos en el primer año, pues este genotipo responde siempre con un marchitamiento menor al año siguiente, por formar, tras el contacto con el hongo, sustancias antifúngicas.

En 2016 se inocularon las progenies obtenidas por cruzamientos controlados (Figura 4) entre los clones resistentes. El resultado fue una numerosa descendencia con mayores tolerancias que sus parentales. Los genotipos con marchitamientos inferiores al 30 % lo habían mostrado en solo una posición de la parcela, por ser brinzales, por lo que se mantienen en la parcela para su seguimiento y observar su evolución. Al final se seleccionarán los mejores genotipos por porcentaje de tolerancia, crecimiento y morfología. Los seleccionados se clonarán, para establecer una parcela de inoculación en la que cada genotipo tenga un mínimo de seis copias. Este tipo de ciclos de mejora supone un periodo de más de 12 años.

No es posible disminuir los plazos para los ensayos, por lo que se pretende reducir el número de candidatos y solo llevar a parcelas de inoculación los que tengan mayores probabilidades de ser resistentes. Para ello se hace una valoración previa con plántulas de un mes procedentes del cultivo *in vitro* (Figura 5). En un medio que contiene el genotipo a evaluar y el hongo se incorpora malondialdehído, sustancia que actúa como evaluador del estrés debido a la inoculación del hongo (Martin et al., 2019). Plantas controles, crecidas en ausencia del hongo, muestran cuál es el nivel normal de malondialdehído en contacto con un olmo y se utiliza como referencia para evaluar la respuesta en los que sí han sido inoculados. Se ha observado que en olmos tolerantes la respuesta es similar a la del control, mientras que muestra diferencias estadísticamente significativas respecto al control en olmos sensibles. La respuesta se manifiesta en los genotipos tolerantes elongando su tallo y formando hojas nuevas (Figura 6a), lo que no ocurre en los olmos sensibles a la grafiosis (Figura 6b). Este ensayo permite llevar a las parcelas de inoculación genotipos con una mayor pro-



Figura 3: Localización en la provincia de Jaén de olmos vivos de gran tamaño junto a ejemplares muertos. Estos genotipos han sido incluidos en el programa para ensayar su resistencia a la enfermedad.



Figura 4: Clon resistente en el que se han aislado ramas mediante bolsas para ser utilizado como progenitor femenino. Se le introducirá polen de otro genotipo resistente. En la progenie resultante se seleccionarán aquellos individuos que posean resistencias mayores que la de sus parentales, buen crecimiento y forma.

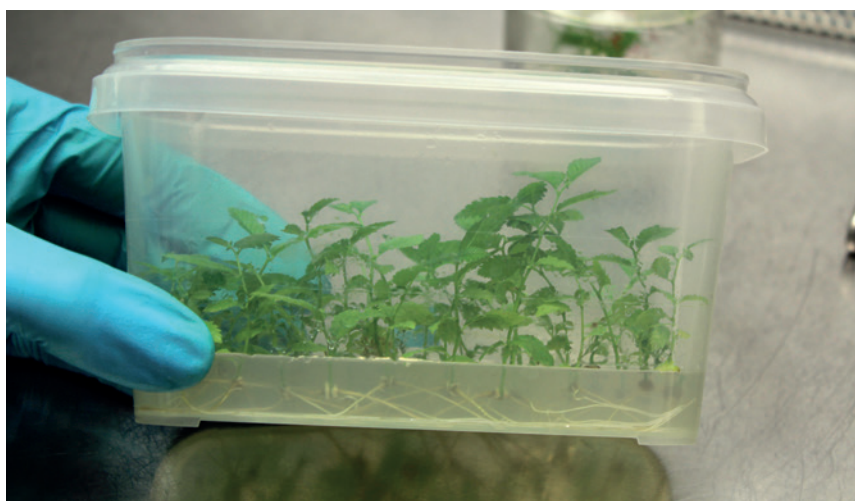


Figura 5: Cultivo *in vitro* de un genotipo. En un medio de crecimiento y en condiciones de esterilidad se han propagado yemas, cuyos tejidos proliferan y forman tallos a los que, posteriormente, se le añaden sustancias de enraizamiento. Posteriormente, se individualizan los pies obtenidos, logrando nuevas réplicas del genotipo, o se utilizan en otro tipo de estudios.

babilidad de que se muestre tolerantes cuando se inoculan en su cuarto y quinto año.

Por último, se trabaja con la obtención de una posible vacuna que permita el tratamiento de olmos monumentales que no son tolerantes y no se han visto afectados por la enfermedad. Esta procedería del empleo de endófitos simbiotes obtenidos en genotipos sensibles a la enfermedad, que no hayan enfermado de grafiosis. Los endófitos aislados se colocan en un medio de cultivo compartido con el patógeno. Se han seleccionado aquellos endófitos que impiden el crecimiento del hongo de la grafiosis, pues éste ve impedido su desarrollo por la presencia del simbiote (Figura 7). Pero son necesarios otros ensayos realizados en olmos para validar su utilidad general en diferentes genotipos, a los que no les debe afectar negativamente, y muestren que el endófito permanece en años sucesivos.



Figura 7: Para la obtención de una posible vacuna, en un mismo medio de cultivo se sitúan el hongo de las grafiosis y un endófito simbiote obtenido de un olmo. En el ejemplo, un inóculo de la grafiosis, a la izquierda, no crece al estar en contacto con un endófito, situado a la derecha, que muestra capacidad antibiótica frente al patógeno de los olmos.

REFERENCIAS

- Fuentes-Utrilla P, Venturas M, Hollingsworth PM et al. 2014. Extending glacial refugia for a European tree: genetic markers show that Iberian populations of white elm are native relicts and not introductions. *Heredity* 112 (2): 105–113.
- Gil L, Fuentes-Utrilla P, Soto A et al. 2004. English elm (*Ulmus procera*) is a 2,000-year-old Roman clone. *Nature* 431: 1035–1035.
- Gil L, García-Nieto ME. 1990. Paleobotánica e historia de los olmos en la península Ibérica. En: Gil L. (Ed.). *Los olmos y la grafiosis en España*, pp. 29–65. ICONA, Madrid.
- Herrera GA. 1513. *Agricultura General. Corregida según el texto original de la primera edición publicada en 1513 por el mismo autor y adicionada por la Real Sociedad Económica Matritense*, 1818, tomo II, Madrid, Imprenta Real.
- Martin JA, Sobrino-Plata J, Coira B et al. 2019. Growth resilience and oxidative burst control as tolerance factors to *Ophiostoma novo-ulmi* in *Ulmus minor*. *Tree Physiol.* 39(9): 1512–1524.
- Navarro C, Castroviejo S. 1993. *Ulmus* L. En: Castroviejo S et al. (Eds.). *Flora iberica* 3: 245–246. Real Jardín Botánico, CSIC, Madrid.
- Pajares J, Gil L. 1985. *La grafiosis de los olmos*. Hojas Divulgadoras del MAPA, 19/85 HD, Madrid.
- Solla A, Gil, L. 2002. Xylem vessel diameter as a factor in resistance of *Ulmus minor* to *Ophiostoma novo-ulmi*. *For. Pathol.* 32: 123–134.

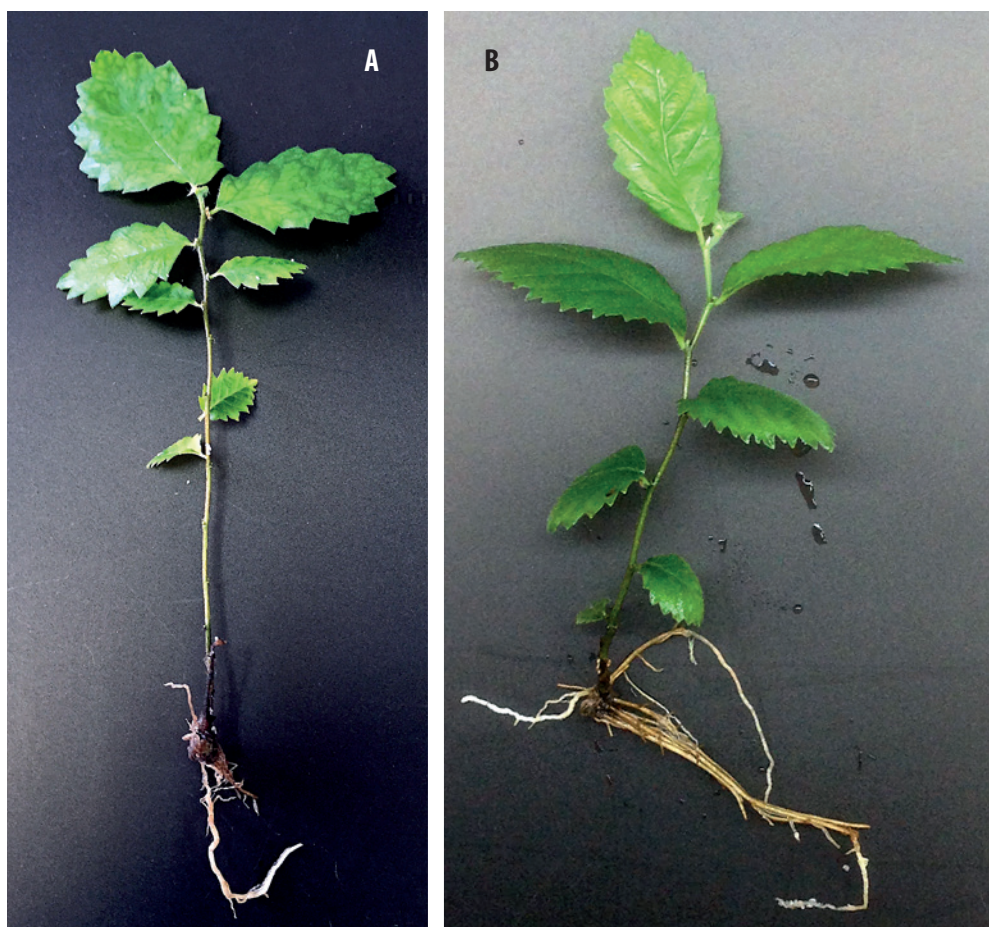


Figura 6: Aspectos de plántulas de un genotipo resistente (A) y otro susceptible (B) obtenidas mediante cultivo in vitro y crecidas en presencia del hongo. La planta resistente elonga su tallo y forma nuevas hojas, lo que no ocurre en el genotipo sensible a la enfermedad. Al tiempo se han evaluado los niveles de malondialdehído en plantas controles, resistentes y sensibles, siendo similares en los controles y en el genotipo resistente, pero no en el sensible.