

Investigación sobre los nódulos caulinos del olea europea. Nuestra metodología.—Nuestros datos y su interpretación

por

Camilo Torras Casals (1)

I. INTRODUCCION

En el presente trabajo, tan sólo poseemos datos de olivares de la provincia de Barcelona, aunque consultando bibliografía sobre el particular vemos que en toda España, en Italia, Francia y en todas partes donde generalmente se cultiva el olivo, se observan los fenómenos que pasamos a describir.

Sobre las ramas jóvenes del olivo aparecen a menudo tubérculos, primero pequeños, de superficie lisa, verdosos, de pocos milímetros de tamaño (de 1 a 3 mm.), que crecen con relativa rapidez hasta conseguir los 10 ó 15 milímetros de diámetro, haciéndose a su vez duros y leñosos; luego se agrietan profundamente tanto, que a veces les da un aspecto como si hubiesen estallado. (Véanse al fin del trabajo algunas fotografías que dan idea de los nódulos en el mismo olivo.) A nuestro parecer, esto se debe a que su crecimiento es más bien marginal y casi nunca se efectúa por la parte central; de aquí el aspecto de cráter que toman. Excepcionalmente llegan a alcanzar el tamaño de una nuez; generalmente, cuando esto ocurre, su forma es muy irregular. También en ramas que ya tienen muchos años se observan fenómenos como estos, pero en los últimos parecen más bien restos de lo que un día fueron—tubérculos—, no quedando más que una cicatriz suberosa. En las ramas que padecen el ataque, además de estos fenómenos de hiperplasia se observan, no siempre, también fenómenos de atrofia desde la agalla para arriba; por tanto, con menos vegetación, escasa producción de flores e incompleta maduración de frutos, ennegreciéndose éstos prematuramente y arrugándose su pericarpio. Jamás hemos comprobado que la

(1) Memoria galardonada con un Segundo Premio en el Concurso ordinario de la Academia del año 1946.

enfermedad haya amenazado la vida del árbol, de modo que sus estragos se circunscriben a la producción de la rama y da un aspecto desagradable al olivo. La parte de ramas que hemos visto que a veces se atrofiaban, termina por secarse.

II. LITERATURA

A) ¿QUÉ SE HA DICHO DE ESTA ENFERMEDAD?

Arcangeli fué el primero que descubrió una bacteria en los tubérculos del olivo, y la llamó *Bacterium Oleae*. Trevisan la clasificó en el género *Bacillus*, no considerando este organismo como patógeno. Comes y Prillieux, y especialmente Sevastano y Smith, revelaron claramente la naturaleza bacteriana y patógena de la enfermedad.

Según Schiff, esas bacterias son alargadas, cilíndricas, con extremos redondeados, midiendo de 1,5 a 4,5 μ de largo por 0,8 μ de ancho; dice que son aerobias motiles que se encuentran generalmente aisladas, pero que en los cultivos pueden formar cadenas cortas.

Savastano aisló una bacteria fácilmente cultivable en gelatina y en agar-agar, produciendo colonias diáfanas, circulares, amarillentas. La temperatura apropiada para el cultivo está entre los 32° y 38°. En verano, la bacteria fundía la gelatina, mientras que en invierno, no.

Según Schiff, en cultivos a 37° se puede obtener la formación de esporas, que parece no se forman en la naturaleza.

Según posteriores estudios, las formas aisladas por Savastano y Schiff-Giorgini no son los verdaderos agentes productores de la enfermedad. La forma descrita por el primero corresponde en gran parte al *Ascobacterium Luteum* (Babés), que no es el microorganismo productor de la hiperplasia, pero frecuentemente se encuentra acompañando al verdadero agente patógeno. Dicho *Ascobacterium Luteum* fué encontrado por Peglión en la tuberculosis del *Nerium Oleander*, del que tampoco es la causa.

El *Bacillus Oleae* que descubrió Schiff tampoco es la causa verdadera de la tuberculosis del olivo.

Erwin F. Smith, en 1905, estudió y comprobó que las bacterias descritas por los autores que hemos mencionado no eran, como hemos visto, la verdadera causa de la enfermedad, sino que era una bacteria con varios flagelos no reunidos en filamentos, que no funden la gelatina ni producen esporas, y sus colonias son blancas, con los bordes muy definidos. (Forma de Smith, que él mismo llamó *Bacterium Savastanoi*.)

Petri, en 1907, experimentando con todas las especies descritas, sólo pudo reproducir la enfermedad cuando inoculaba la forma de Smith.

B) CAUSAS QUE FAVORECEN EL DESARROLLO DEL B. SAVASTANOI

SOBRE LA OLEA EUROPEA.

Savastano divide las causas en dos grupos: 1.º Causas ocasionales que dependen del ambiente externo. 2.º Causas constitucionales que dependen de la planta en sí (resistencia varietal).

Las causas ocasionales se han subdividido en externas, meteóricas y traumáticas. Entre las primeras se consideran la fertilidad del suelo, riegos y abonado excesivo, y todas aquellas condiciones que pueden contribuir a hacer los tejidos demasiado ricos en jugos, por tanto, menos resistentes a las acciones parasitarias.

Entre las causas meteóricas, las heladas, la humedad y el granizo, que pueden producir grietas y resquebrajaduras en la epidermis del tronco, además de crear un ambiente favorable para el desarrollo de la enfermedad.

Son causas traumáticas las podas excesivas y fuera de tiempo, así como la nada aconsejable práctica del vareo en la cosecha de las aceitunas, y también podemos incluir los desperfectos ocasionados por animales.

Y son causas constitucionales la natural predisposición a la enfermedad de las distintas variedades del olivo, siendo algunas de ellas predisuestas al azote, que suelen coincidir con las de fruto mayor o más productivas.

Las variedades más atacadas son las siguientes: En nuestra provincia (Barcelona) es la Vera. En cambio, no son atacadas la Arbequina y la Becaruda. Según Hidalgo Tablada, es muy perjudicada por la enfermedad la variedad denominada «Lechín» (*Olea ovalis* Clem), y según Navarro, «El cornezuelo» (*Olea Europaea Ceraticarpa* Clem), y en la región central de España, *Olea Odorata*. En Italia, según Savastano, son las variedades Amara, Acinina, Ritunnella, Baresano, Cellina, Cornolara, Pasola, Correggiola y la Gentile.

C) TRABAJOS MICROSCÓPICOS.

En la Memoria formulada por D. Leandro Navarro en 1898 encontramos lo siguiente:

«*Ligero estudio de las diversas formas de la enfermedad.*—Dijimos que se distinguían varias formas de tubérculos, según la variedad de los tejidos atacados. Una de estas formas es la denominada por el profesor Moschetini «tuberculosis cortical», por no haberla encontrado afectando al tejido leñoso. Aparece al principio, dice este autor italiano, una pequeña mancha oscura, la cual se hincha lentamente, afectando una forma lenticular desecada, lisa o con pequeñas desigualdades. Sigue creciendo el tubérculo,

forman en él hendiduras y lóbulos, que terminan en una cavidad situada en la parte central y toma un color verde ceniciento.

Comienza a desarrollarse la enfermedad en la zona herbácea, en la que aparece un centro de bacterias, formándose una «Hiperplasia» patológica alrededor de este centro, y las células pierden su forma poligonal y redondeada, haciéndose irregulares. La capa suberosa, que al principio permanece extraña a esta invasión, cede al fin, hendiéndose de un modo muy variable.

A veces, la invasión de las bacterias afecta a la parte del «liber» de los hacecillos fibro-vasculares, después a la zona generatriz, y entonces la afección se denomina «tuberculosis libero-leñosa», que es la más frecuente, pudiendo distinguirse, para facilitar su estudio, tres periodos. En el primero nótase una simple hiperplasia, las células se ven esparcidas, confusas, disformes y con un espesor menor del normal de sus paredes, no conservando la disposición en arco, que puede observarse en las células de las secciones horizontales de los tubérculos. En el segundo período, los grupos de las células sclerenquimatosas se disocian en otras más pequeñas, presentándose en grupos más o menos esferoidales, y finalmente, en el tercer período se llega a la uniformidad casi total del tejido, y alguna vez se encuentran núcleos diseminados en este tejido, de los que se ha hablado en el segundo período.

En la parte leñosa de la planta suceden las cosas de un modo muy semejante, y también pueden distinguirse tres fases en la afección. En la primera, comparando el tejido leñoso sano con el enfermo, nótase una hiperplasia en los elementos, prevaleciendo las células sobre las fibras, retuércense los radios celulares y se nota una ligera «hipertrofia» en los elementos. En la segunda fase, la hiperplasia y la hipertrofia se acentúan, los vasos se engruesan y sus elementos se desarticulan. Las fibras se acortan, confundiendo con las células del parénquima, y las puntuaciones se acentúan.

También aquí existe formación de algunos núcleos de fibras, que se distinguen de los «liberianos» por estar formados de células con puntuaciones que no se ven en estos núcleos.

En la tercera fase, el tejido conviértese en un parénquima uniforme de células grandes, de paredes delgadas, siendo imposible distinguir los caracteres de cada elemento.

Llégame al máximo de degeneración, o sea de la formación del tejido enfermo.

No pudiendo seguir con el estudio de la enfermedad en la «zona generatriz», ni con el desarrollo de la colonia bacteriana y desecación de los tubérculos, ni siendo posible dar idea de las diversas formas de tuberculosis denominada yemal, ni de la que se desarrolla en los bordes de las heridas y cortes dados en la poda.»

Según E. F. Smith, en olivos inoculados en 1910 observó numerosos tubérculos, que se desarrollaban a uno, dos y tres pies distantes del punto de inoculación, en un período de siete meses, tanto bajando como subiendo, en el sentido hacia el extremo del brote; él cree más probable que sea en este segundo sentido, o sea, siguiendo la corriente de la transpiración.

Asegura haber observado en el olivo un canal de infección que une el tubérculo primario con el que él llama secundario. Este canal, dice, es un paso estrecho en el seno del leñoso, en que los tejidos son desorganizados y la bacteria está presente, tanto, que es posible verla sin teñirla. Además, sospecha de la existencia de canales similares en la corteza, sin que los haya observado.

Supone el mismo Smith que los canales de infección son una cadena de células de las mismas que forman el tumor, y dice haberlo visto entre la médula y la madera, y finalmente afirma, apoyándose en muchas observaciones y experimentos, esta teoría de los canales y tumores secundarios. Se funda en observaciones de Schiff-Giorgini para apoyar la teoría de la metástasis en la enfermedad del olivo.

Savastano ya había señalado con anterioridad el desarrollo de dos clases de tumores, unos superficiales y otros en los tejidos profundos.

Según Teodoro Ferraris, seccionando un tumor joven se observan células variadas, algunas de paredes muy engrosadas; en distintos sitios se ven lagunas formadas por destrucción de paredes celulares, que están llenas de zooglias de bacterias. Seccionando un tumor viejo observa tejidos leñosos irregulares, formados por nódulos de células lignificadas, de paredes gruesas, así como en otros sitios hay extratos suberosos, que se van disgregando al llegar a la periferia y a las grandes lagunas, y cerca de las pequeñas ve él células repletas de bacterias.

D) HIPÓTESIS FORMULADAS SOBRE LA FORMACIÓN DE LA HIPERPLASIA.

E. F. Smith escribe en 1911:

«Mi actual hipótesis, en cuanto al mecanismo del desarrollo del tumor, es como sigue: Por las heridas que no han dañado las células más allá de las posibilidades de recuperarse, la bacteria halla una entrada a la célula, dentro de la cual se multiplica rápidamente durante un corto tiempo; su ulterior crecimiento está mermado por la aparición de un ácido, al que es muy sensible. Su primer efecto es impedir que crezca la bacteria, y en consecuencia, no puede haber muchas bacterias en una misma célula, y a veces aquéllas toman formas de involución (mazas e isgriegas), y finalmente mueren muchas de ellas; pero la concentración del ácido no es suficiente para destruir totalmente la bacteria y el núcleo de la célula cobijadora se divide,

ya bajo el estímulo directo del ácido, ya bajo la influencia de endotoxinas bacteriales, que ahora han sido liberadas, es decir, se han puesto en contacto con los núcleos de las células por difusión a través de las membranas de las bacterias muertas. Durante la división de la célula, las bacterias pasan a la célula hija, en donde, bajo nuevas condiciones (medio no ácido), se multiplican rápidamente durante corto tiempo, y se repite todo el proceso, que acaba con la división de la nueva célula. De esta manera se desarrolla el tumor primario.

En la obra de Ferraris, hablando de la génesis de las bacterio-cecidas, se distinguen dos casos: Primero, la bacteria estimula los elementos sujetos a su influencia, llevándolos a la multiplicación excesiva: con esto da origen a una producción patológica, que él llama por *exceso*; y segundo (que es el caso del olivo), los elementos que se alteran bajo la influencia de la bacteria degeneran y se disgregan, dejando en su lugar lagunas más o menos evidentes. Los tejidos vecinos son después asiento de una hiperplasia por los nuevos tejidos que se forman, se alteran los elementos liberarios y los vasos se hinchan, se ablandan y son destruidos por la bacteria. Estas son bacterio-cecidas *por defecto*, como la del B. Savastanoy Smith, cuyos tubérculos presentan lagunas en su interior, en sustitución a tejidos destruidos por la bacteria.

P. Sorauer, en su obra *Handbuch der Pflanzenkrankheiten*, que es un resumen de las investigaciones hechas hasta 1908, hace hincapié, al hablar de las transformaciones que sufren los tejidos, en la lignificación de muchos elementos alrededor de las lagunas centrales, dando origen a los elementos celulares pequeños del leño traumatizado.

El es quien llamó a la enfermedad «krebsknoten» (nódulo canceroso). No habla en ninguna parte de suberización.

III. EXPOSICION DE DATOS CON SU METODOLOGIA

A) MATERIAL.

El material, después de haberlo conseguido en el campo, necesita poca preparación, si bien es de aconsejar algunas precauciones para evitar que se desequie. Así, no debe cogerse tan sólo la parte estrictamente atacada, sino que es mejor cortar toda la ramita, suprimiéndole la parte foliar, por la cual se facilitaría la evaporación (se comprende que esto reza para las observaciones en fresco); que, además, dicha ramita se acondicionará tan pronto como sea posible en una vasija con agua dentro del laboratorio. Se procurará que en las muestras tomadas figuren nódulos de distinta edad, de suerte que se pueda seguir el desarrollo de la hiperplasia.

Los cortes en fresco presentan la dificultad principal de lo difícil que es obtener cortes suficientemente delgados, además de que por su consistencia leñosa es casi imposible cortarlos. Esto, sin embargo, se subsanó con reactivos ablandantes; se ensayó la lejía de potasa, pero no dió resultado satisfactorio; mucho mejor fué el alcohol y glicerina por partes iguales. El tiempo necesario de imbibición depende del grado de endurecimiento del nódulo, que, como sabemos, está en razón directa con su antigüedad.

Por este método hemos obtenido cortes transversales de tallos atacados con su hiperplasia, hechos a mano con la navaja, después de unos quince días de tratamiento con alcohol-glicerina. Además, se han usado fijadores para poder incluir el material y cortarlo con micrótopo.

B) TÉCNICA.

Se ha tenido en cuenta que los fijadores no sean preparados a base de formaldeídos, por razón de endurecer el material. Por eso nos abstuvimos de usar demasiado el formol, el Bouin y el Boule-C, por tener como ingrediente de su mezcla el formol. Ha servido perfectamente el líquido de Zenker.

Una vez fijados los nódulos jóvenes, se incluyen en celoidina, siguiendo la sistemática normal para dicha inclusión, y se cortan en el micrótopo de Gebrüder Frohmann, expofeso para las inclusiones en celoidina, obteniendo cortes de 14 micras.

Creemos que las inclusiones en parafina son imposibles, dado lo leñoso de nuestro material, como consta de muchas tentativas que se han hecho en vegetales leñosos.

C) TINCIONES.

Tinción: picrofucsina de Van Giesson.

Se han hecho cortes a mano de un nódulo y tallo ablandados en alcohol-glicerina y se han teñido por este colorante, cuyo resultado nos pone delante las figuras 1 y 2.

Se nota en estos cortes una zona alterada entre el primero y segundo año, pudiéndose admitir que sea éste el origen de la infección, y que de momento afectará poco al estado normal del tallo, por pasar un período de incubación, durante el cual el tallo crece normalmente. Un tiempo después se manifiesta la infección con toda su virulencia, y después de destruídos o alterados los vasos formados en primavera (fig. 1), se transmite a lo restante del leñoso del segundo año, formando una especie de cuello que atraviesa al periciclo, desembocando al nódulo naciente. Dicho cuello está

formado por elementos tan transformados, que toman forma fasciculada, más o menos fibrosa, haciendo desaparecer al cambium. En general, parece como si los elementos tendiesen a formar un tallo nuevo, disponiéndose a tomar una dirección perpendicular al eje del tallo enfermo, y longitudinal con respecto al nódulo.

Respecto a la parte modificada del leñoso, que hemos considerado punto de partida de las bacterias, que se propagarían por todo lo restante del leñoso del sector correspondiente, para interesar los tejidos corticales, que son los que se multiplican notablemente para formar el principal cuerpo de la hiperplasia, se nos ofrece, si por ventura sus elementos corresponden a los canales de la metástasis, que observó Shiff-Giorgini, y que más tarde describió Smith, ya que precisamente éste señala una zona del leñoso como la interesada en la transmisión, y los llamados canales de infección, formados por células seriadas del mismo nódulo. Nosotros no hacemos más que indicar la posibilidad de que coincida con estos canales la zona deformada que hemos observado en la madera primaveral al principio del segundo año. *

Otra cosa nos ha llamado la atención en el estudio del tallo portador del nódulo, y es que las fibras liberianas, que forman normalmente en el olivo un círculo cerrado a guisa de estuche, queda interrumpido por aquella especie de cuello que une el leño con el nódulo, y además por ser la parte más alterada por las bacterias; pero, cosa particular, en el corte que observamos, dicho estuche parece continuarse con la parte periférica del tallo, hasta encontrar los elementos modificados y suberizados de la región externa del tallo que toca al nódulo (fig. 1), de modo que aparece un aspecto de labio entre tallo y nódulo; en cambio, en el otro lado presenta el anillo fibroso perfecta interrupción, aunque también presenta un labio formado por elementos periféricos y corticales, sin interesar fibras del periciclo.

Dentro del mismo nódulo, las tan decantadas islas están llenas de elementos que por picrofucsina se tiñen de amarillo pálido; están, pues, lignificados (fig. 3). Todo esto, en un ancho campo de tejido parenquimatoso, debido seguramente a la multiplicación celular, gracias a la excitación hormonal o tóxica de las bacterias. En medio de este tejido, y como tendiendo a envolver las islas antes mencionadas, aparecen haces fibrosos (fig. 3), bien que la tinción no arguye constitución lignificada, sino más bien celulósica, lo cual nos dice que no pueden ser fibras derivadas del periciclo, sino células estiradas del parénquima celulósico.

DOBLE TINCIÓN.—HEMATOXILINA DELAFIELD Y EOSINA.

Es un nódulo joven, fijado en el Zencker, incluído en celoidina y cortado en el micrótomó de Gebrüder Frohmann, obteniendo cortes de 14 micras, que se han tratado siguiendo el método ordinario de la hematoxilina Delafield y Eosina.

Distinguiremos en su observación dos partes: el conjunto del nódulo y una mancha central o núcleo nodular en la parte periférica, de tejidos pardos, necrosados, que denotan sufrir una presión interna gracias al crecimiento rápido del nódulo; hacia el centro se acusa la presencia de unos tejidos bien delimitados, y sobre todo llama la atención la disposición de dichos tejidos alrededor de un núcleo nodular fuertemente teñido por la hematoxilina, que luego describiremos, porque, en efecto, por un lado especialmente, el tejido parenquimatoso se dispone en tal forma (fig. 4), que recuerda el tallo, dado que la serie de células parenquimatosas toman disposición radiada, recordando muy bien los radios medulares. Por el lado opuesto toman formas, por el contrario, haciculares. Hay que advertir que entre la periferia, bastante destruída, y la parte central, compuesta de elementos bastante bien conservados, hay un tejido de tránsito, con células vacías, pero de paredes bastante engrosadas, que se tiñen (estas paredes) más o menos por la hematoxilina. Sigue hacia el núcleo nodular una zona más clara, que contrasta mucho con el centro. En esta zona abundan células aisladas necrosadas, con un contenido negro, que son, a nuestro juicio, bacterias saprofíticas.

En la parte central, el núcleo nodular, muy teñido, como ya hemos dicho, por la hematoxilina, es lo que más interesa, porque es la parte especialmente invadida por las bacterias patógenas. Visto con gran aumento, aparece formado de células hinchadas de una cantidad extraordinaria de bacterias; el conjunto recuerda bastante el centro de los nódulos radiculares de las leguminosas. En nuestro caso, se distinguen los límites perfectamente de los elementos celulares, bien que las paredes son sumamente delgadas, como si las bacterias fuesen destruyendo sus capas. Los núcleos de estas células o no se ven o, si se ven, parecen deformados; sobre todo en muchas células que se ve un cuerpo alargado y oscuro, que recuerda el centro lleno de aire de los esclereidos, pero no lo son, como lo demuestra que entre dicho cuerpo y la pared celular hay una gran masa bacteriana. No dejan de existir en el núcleo nodular grumos de los que hemos señalado en el tejido parenquimatoso circundante, o sea de las células, que contiene microorganismos saprofíticos.

Apenas se puede dudar de que este núcleo nodular, tan destacable por su tinción y contenido, es el foco de la infección que ejerce su acción des-

tructora a su alrededor, donde los elementos celulares aparecen o vacíos del todo o casi vacíos, bien que muchas de las células conservan el núcleo, lo cual puede demostrar que éste es más resistente que el protoplasma, que parece haber desaparecido. Apenas merece ser advertido que muchos elementos están deformados.

TINCIÓN AZUL DE METILO ACETIFICADO.—Metodo de Hiltner. (Lafar, Hand-boock d. t. Mykologie, Bd. 3, pág. 40.)

Digamos, desde luego, que los elementos histológicos no aparecen tan claros como en la doble tinción de Hematoxilina-Eosina; pero así y todo, se confirma lo que en aquella ocasión se observó, sobre todo lo concerniente al núcleo nodular central, en el que se ve un tejido diferenciado, que indica modificación de la zona parenquimatosa, la que contiene algunas células henchidas de bacterias, si bien su tinción es más esfumada. Lo que se marca con fuerte intensidad son las células oscuras, llenas de microorganismos saprofíticos. Hay también algunas células con poros y traqueidas muy visibles, alguna de las cuales termina en punta.

TINCIÓN HEMATOXILINA HEIDENHAIN.

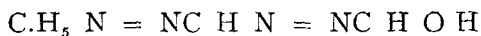
También fué probada la tinción férrica de Heidenhain, sin obtener de ella ningún resultado aprovechable, tiñendo de negro las paredes celulares, dando al conjunto un aspecto reticulado, sin que fuera posible ninguna observación importante.

PREPARACIÓN PASAJERA DEL CLORO-YODURO DE CINC.

Un corte de tallo y nódulo, fué teñido por cloro-yoduro de cinc, demostrando, en general, abundancia de suberina; pero los demás elementos no aparecían lo bastante claros para sentar sólidos criterios, pues las coloraciones típicas del reactivo (sobre la celulosa, etc.) no eran las más típicas.

TINCIÓN CON SUDÁN III.

Este colorante pertenece al grupo de los colorantes zoicos, y científicamente recibe el nombre de aminoazobencenoazo β naftol, y su fórmula es:



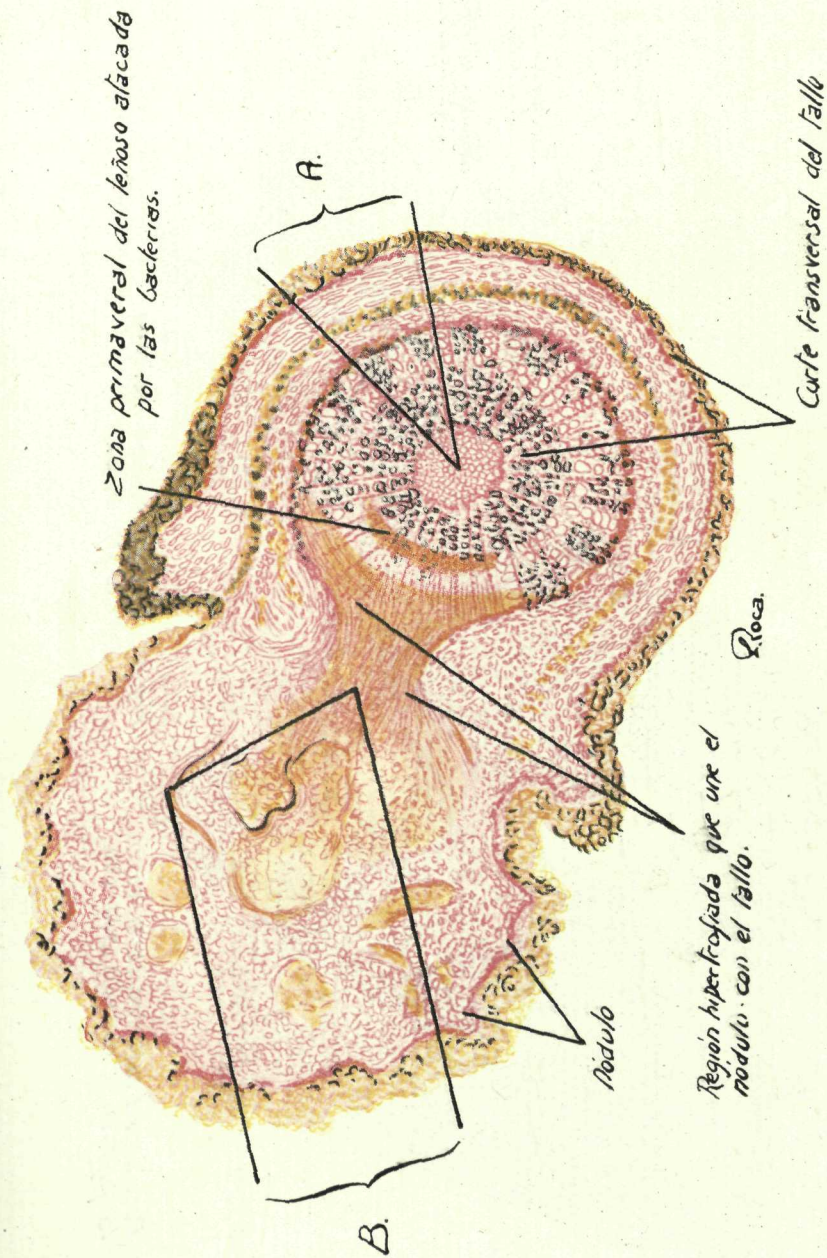


Fig. 1., Corte transversal del tallo interesando el nódulo.

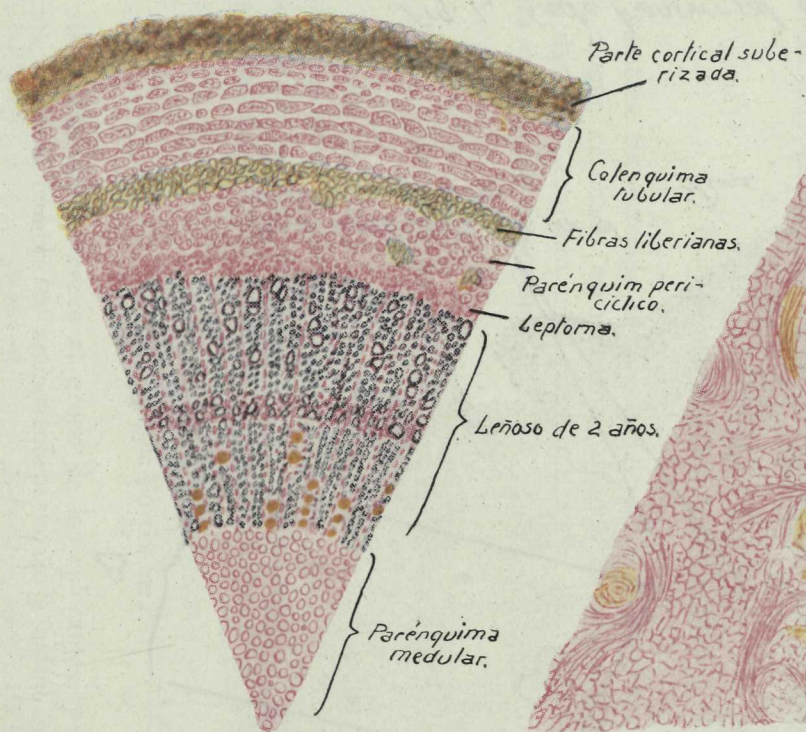


Fig 2., Porción del tallo indicado en la fig 1.-A Aumento 300-400

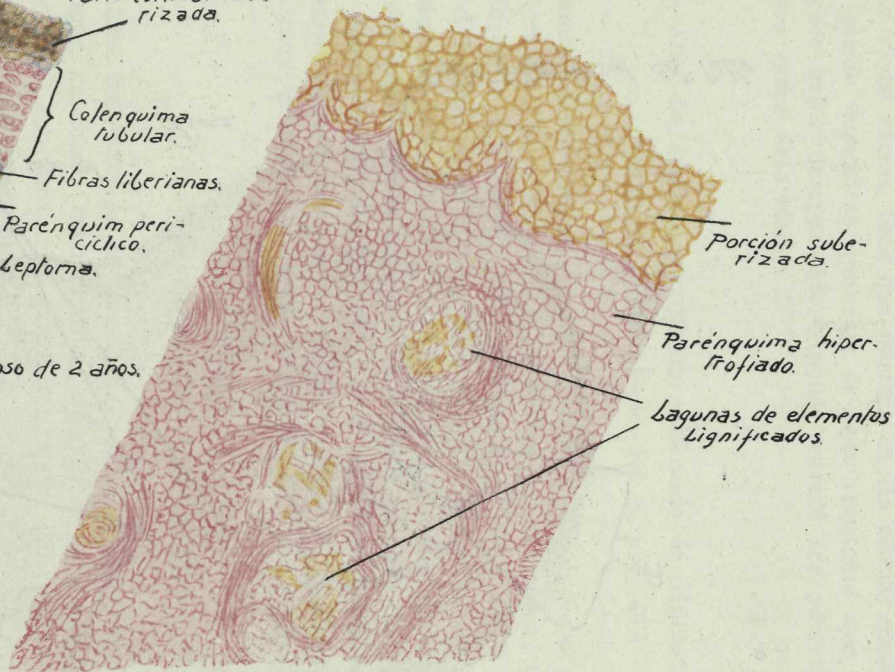


Fig. 3., Porción del nódulo indicada en la fig. 1, B.

Roca.
1945

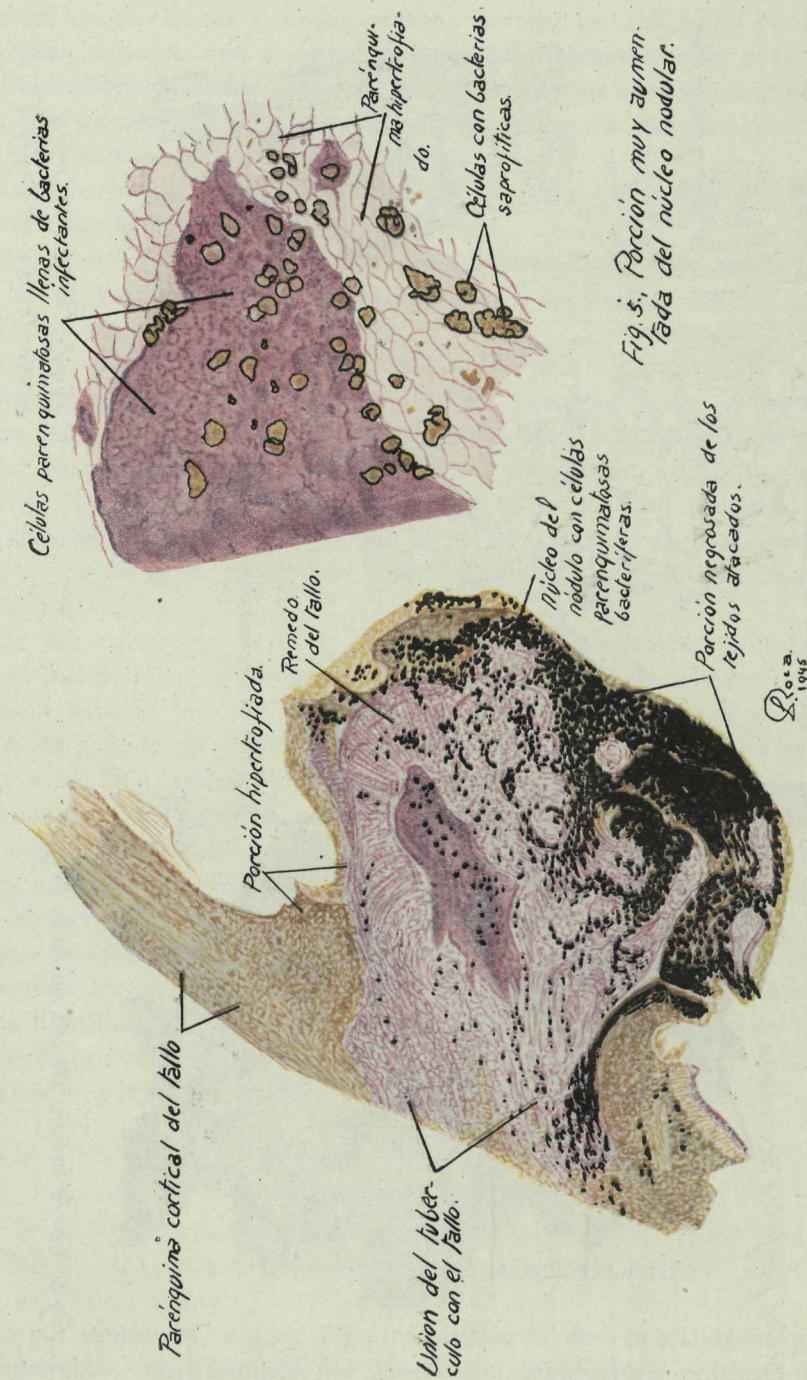


Fig. 5, Porción muy aumentada del núcleo nodular.

Fig. 4., Corte de un nódulo joven

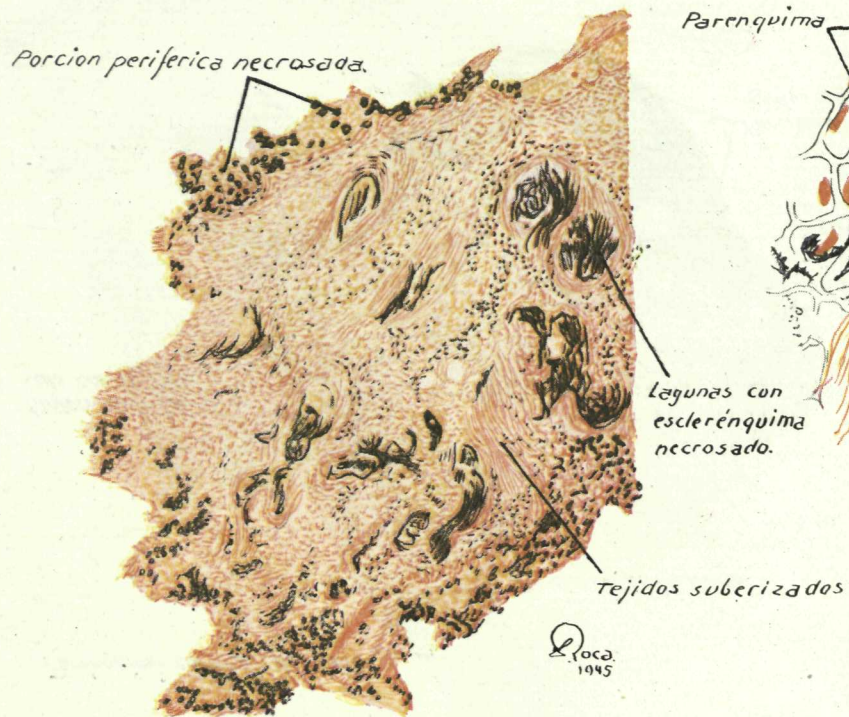


Fig 6. Corte medio de un nódulo viejo

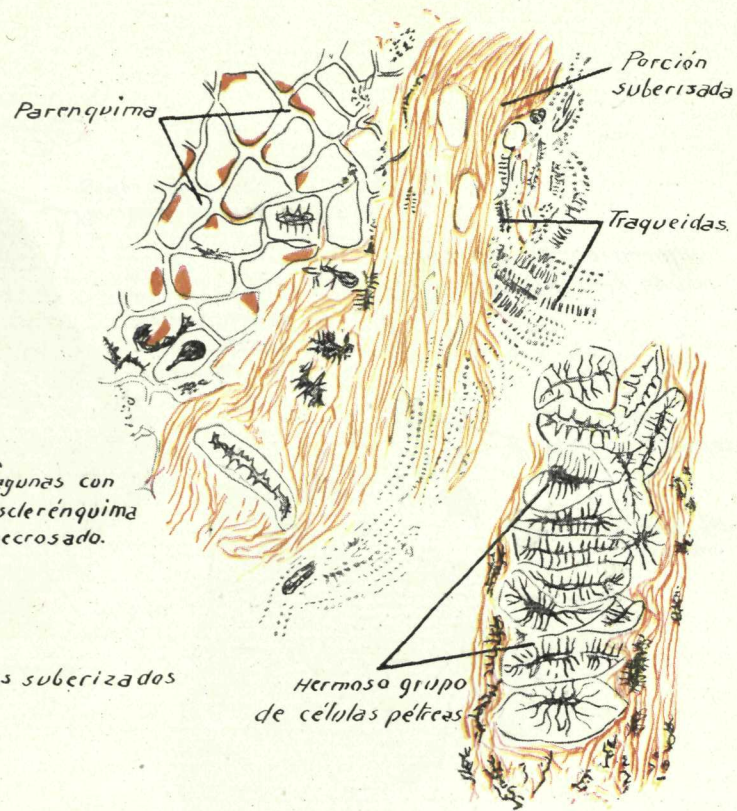


Fig 7. Porciones muy aumentadas de la fig. 6

Insoluble en agua, en las lejías alcalinas, pero soluble en ácido acético caliente, en el alcohol y en las grasas; de aquí su aplicación en Microscopía, pues si sobre una preparación húmeda colocamos unas gotas de solución alcohólica de Sudán III, este colorante, por su insolubilidad en al agua, sólo tiñe aquellos cuerpos que, siendo insolubles en ella, tengan la propiedad de disolverlo.

La suberina que constituye el corcho, es una substancia que puede modificar químicamente la membrana celular.

Según von Wisselingh, es una substancia de *naturaleza grasa* en las capas de la membrana por ella modificadas; no existe, según Strasburger (Lerbuch der Botanik), la celulosa.

Por lo dicho, hemos usado el Sudán III para el examen de la suberina existente en los nódulos del olivo. En un corte sagital de la parte cortical de un tallo, y pasando por el centro de un tubérculo, teñido por este colorante, hemos observado un principio de suberización periférica, que avanzaba de fuera hacia adentro, cual si fuera un minúsculo ritidoma, con algunos caracteres de éste, incluso, que la parte más externa se desprende poco a poco. En la parte interior se observan también pequeños focos de suberización naciente.

En los cortes a mano, de una hiperplasia envejecida, también teñidos por el Sudán III y observados a grande aumento, hemos visto que toda la parte de aspecto fibroso (figs. 6 y 7) se había suberizado por completo, dejando de cuando en cuando lagunas con células pétreas que no se colorearon; antes bien, presentaron en su interior un color negruzco, lo que hace suponer que su contenido es aéreo; por tanto, su función fisiológica parece ser puramente mecánica, como para sostener el tejido suberoso, cual la arena en el mortero o argamasa (fig. 7, b). Se han visto también otras lagunas con elementos necrosados y, variando el campo óptico, se han observado células pétreas más o menos isodiamétricas, que, en cuanto a coloración, presentan las mismas características que las otras; además, hemos visto vasos lignificados, con poros y traqueidas, y llama la atención un fragmento de parénquima, cuyas células tienen el protoplasma reducido a su mínima expresión, y algunas de ellas se transforman en esclereidos.

IV. PUNTOS DISCUTIBLES

1.º CONSTITUCIÓN DE LA HIPERPLASIA.

Como vimos ya, el Sr. Navarro distingue dos modalidades principales de tubérculo: una, llamada por Moschetini tuberculosis cortical, porque no afecta al tejido leñoso, afirma que la invasión empieza siempre por la zona herbácea del vegetal, y la otra, la llama tuberculosis libero-leñosa, que di-

vide la enfermedad en tres períodos; en el primero, las células son esparcidas, confusas y deformadas, sus paredes más delgadas, los *radios celulares* se retuercen e hipertrofian. En la segunda fase, sobre esos efectos se suma la desarticulación de todos los elementos, las fibras se acortan, confundándose con las células del parénquima, y en la tercera fase, el tejido se convierte en un parénquima uniforme, llegando al máximo de degeneración.

Desde luego, encontramos algo oscuro lo que dice este autor. Nos habla de radios celulares. Suponemos que quiere decir, o radios medulares, o vasos de parénquima, que es celular. También nos llama la atención la transformación de los elementos que propone, hasta el punto de decir que las fibras se confunden con el parénquima. Nosotros, por el contrario, hemos podido distinguir, en el seno del tejido enfermo, casi todos los elementos; lo que sí afirmamos, con el Sr. Navarro, que estaban en un máximo de degradación. Este autor no señala ninguna hipótesis sobre el proceso fisiológico de formación de la hiperplasia.

Según vimos, Teodoro Ferraris dice que los elementos atacados por la bacteria se disgregan y dejan en su lugar lagunas con restos de tejidos diversos. Seccionando un tumor joven, observa lagunas derivadas de la destrucción de paredes celulares, que están llenas de *zooglias de bacterias*. En los tumores viejos, ve leñoso muy irregular, células lignificadas de paredes muy gruesas y estratos suberosos.

También hemos observado nosotros lagunas o regiones con restos de tejidos diversos, casi siempre necrosados (fig. 6); en tumores jóvenes hemos visto bacterias (fig. 5), que llenaban células parenquimatosas, y no parece propio usar el término *zooglea*, pues no parecían unidas por una masa gelatinosa. Las células parenquimatosas conservan su estructura. En cuanto a las observaciones de Ferraris sobre el tumor viejo, casi coinciden totalmente con nuestros datos obtenidos, sobre todo por lo que toca a células pétreas y estratos suberosos.

2.º DISCUSIÓN SOBRE LAS HIPÓTESIS FORMULADAS ACERCA DE LA FORMACIÓN DEL NÓDULO.

Pasando a los datos de Erwin F. Smith, para ver en qué concuerdan con los nuestros, recordemos que decía: «Las bacterias se multiplican dentro de las células, apareciendo luego un ácido que actúa como retardatriz, no llegando a ser esterilizante; por tanto, no se destruyen totalmente las bacterias. Ya bajo la influencia de este ácido, ya bajo la influencia de las endotoxinas bacteriales, las células cobijadoras se multiplican, dando lugar a células nuevas, que pasan a ser habitadas por la bacteria.» No dice Smith cuál es el origen de este ácido.

Nosotros nos inclinamos a creer que este ácido es producido por la planta atacada, como reacción ante el microorganismo invasor, y no por la bacteria, entre otras razones, porque había que suponer que ésta se ataca a sí misma, puesto que sabemos que las bacterias no viven, generalmente, en medio ácido.

3.º METÁSTASIS DE LA ENFERMEDAD.

Al mismo Smith le llamó la atención la metástasis de la enfermedad. Sobre este particular, verificó experimentos con resultado positivo, llamando nódulo primario al producido por la inoculación directa, y nódulo secundario a los que aparecen en otros puntos, a unos centímetros generalmente, *siguiendo la corriente de la transpiración*. Asegura haber observado la existencia de canales de infección a lo largo del leñoso. La difusión de la enfermedad ya fué observada por Schiff-Giorgini.

Los canales de infección, dice, están formados por el seno del leñoso por células seriadas, que sirven de paso a las bacterias; por tanto, las contienen en su interior, en tal forma, que dice son visibles aun sin teñirlas. Nosotros hemos tomado en consideración todas estas observaciones de Smith y Schiff-Giorgini.

Se nos ofrece si la parte modificada del leñoso correspondiente a la zona de la madera primaveral (fig. 1) puede coincidir con esos canales de Smith; pero en tal caso, no estaría formado por células del mismo nódulo, sino por los mismos vasos leñosos modificados por la enfermedad, en los cuales no hay bacterias, según nuestras observaciones. Además, hemos hecho cortes de porciones de tallo internodular con el fin de estudiar las afirmaciones de Smith sobre canales de infección; pero no hemos hallado dato alguno que pueda convencernos de la existencia, pues no ha causado modificación notable en ninguna parte de las formaciones histológicas del vegetal. Así como tampoco presencia de bacterias.

Si fuese verdad lo que dice Smith sobre la metástasis de las bacterias del nódulo primario, no nos explicamos cómo no encontramos en todo el trayecto del tallo, entre un nódulo y otro, tejido enfermo. Esto no parece que se pueda explicar, sino admitiendo que en el mismo tallo hay sitios predispuestos, al mismo tiempo que otros refractarios, a la invasión. Esto sí se nos alcanzaría si supusiéramos que ciertas hormonas preparan el terreno a la infección secundaria.

4.º LIGNIFICACIÓN Y SUBERIZACIÓN DEL TEJIDO ENFERMO

Nos resta examinar detenidamente el tejido suberoso y los elementos lignificados de la hiperplasia, cuya presencia en ambas cosas señala Teodoro Ferraris. No hallamos en ninguna parte datos concretos acerca de la fina-

lidad que pueden tener estos trabajos suberosos, así como los elementos lignificados. Nosotros, tomando en consideración la tendencia que presentan estos tejidos a bloquear el parénquima que contiene la bacteria infectante (figura 4), así como la función fisiológica del tejido suberoso, hemos pensado que se trata, en su formación, de una defensa del vegetal atacado. A este respecto, si se nos preguntase qué fin puede tener la suberización de los tejidos modificados por la bacteria, nos inclinaríamos fácilmente a darle una significación fisiológica propia de su índole; así los elementos lignificados (figs. 6 y 7), sin duda, tienen un fin mecánico, al paso que el tejido suberoso podría servir como muro que impidiese nueva invasión del *Bacterium Savastanoy* (Smith), tanto procedente del nódulo infectado (barrera que impediría su salida hacia afuera), como nueva invasión externa (barrera contra el mundo externo). Y se comprende esta función limitante, porque, siendo el corcho de un tejido de células generalmente muertas y llenas a veces de aire, no ofrecen pasto para la nutrición y multiplicación bacteriana.

Esto está muy conforme con la función que dan los botánicos a las capas suberosas, que impiden la salida hacia afuera de todos los jugos y llevan consigo la muerte de los tejidos, constituyendo el ritidoma.

V. CONCLUSIONES

Para resumir en cortas sentencias el resultado de nuestras investigaciones y lo discutido acerca de su concordancia o discordancia con investigaciones de otros autores, pondremos algunas conclusiones que resuman bien lo que tenemos por más probable o cierto; pero antes queremos acentuar que nuestro trabajo no aspira a ser tal que resuelva definitivamente el problema, pero sí un elemento para la construcción científica sobre cuestiones tan interesantes para la agricultura. En su consecuencia, puede incitar para continuar las investigaciones, hasta dar con una solución definitiva.

Las conclusiones fruto de nuestro trabajo pueden expresarse como sigue:

1.^a Sobre la formación de la hiperplasia, nuestras investigaciones confirman la degeneración del tejido propuesto por Navarro y la existencia de tejido suberoso y esclerocios que encuentra Ferraris. En cambio, no confirman que el tejido parenquimatoso y los vasos se confundan, pues nosotros los distinguimos bien dentro del tejido degenerado, ni tampoco que las bacterias se presenten al estado de zooglea, ni que hayan desaparecido las paredes de las células cobijadoras.

2.^a Navarro dice que existen nódulos corticales y nódulos libero-leñosos. Sin negar la posibilidad de esto, hemos de confesar que no hemos visto más que nódulos que atacan a la vez a la corteza y a los vasos.

3.^a Nos inclinamos a admitir que el ácido de que nos habla Smith, sin fijar su origen, que ataca las bacterias, no proviene de ellas, sino más bien de la planta, como medio defensivo.

4.^a Acerca de la metástasis, de que también nos habla Smith, en la producción de nódulos secundarios, a juzgar por nuestras investigaciones, la creemos insostenible sin una hipótesis de la predisposición al ataque de ciertos puntos del vegetal.

5.^a Consideramos la metamorfosis de tejidos suberosos y lignificados, como defensa del vegetal contra nuevas invasiones externas e internas.

6.^a No hemos podido confirmar la existencia de los canales de infección que supone Smith, a no ser que por tales se entienda una alteración de los tejidos vasculares.

BIBLIOGRAFÍA.

RVDO. P. JAIME PUJULA: *Citología*. Casals. Caspe, 108. Barcelona, 1928.

— *Histología, embriología y anatomía microscópica vegetales*. Editorial Científico-Médica. Barcelona, 1921.

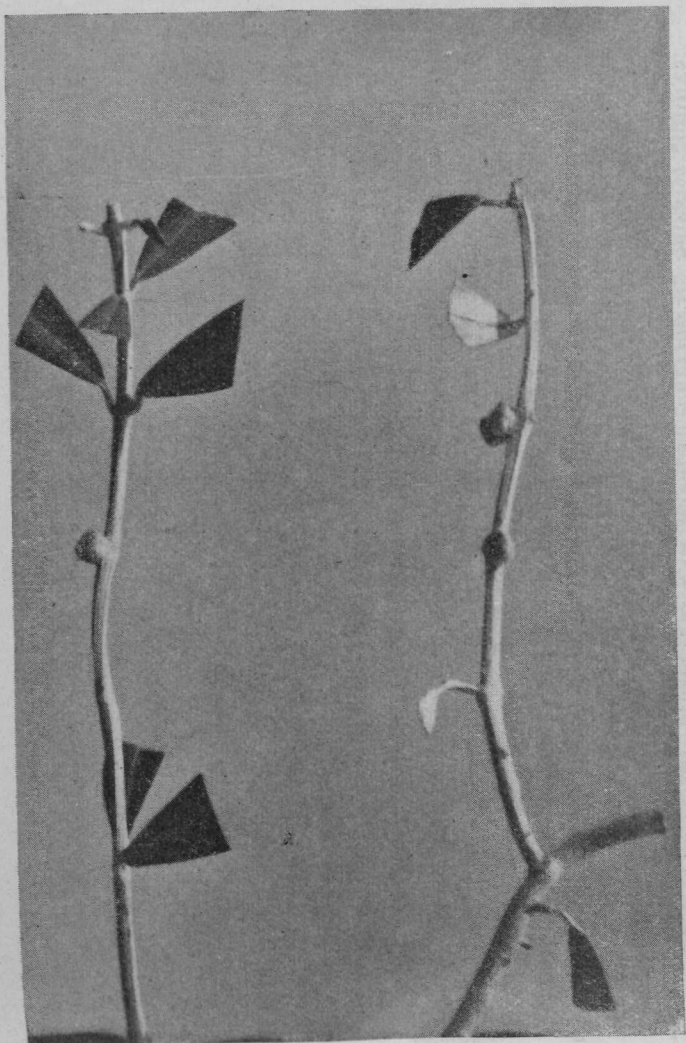
ERWIN F. SMITH: *Bacteria in Relation to Plant Diseases*. Vol. II. Carnegie Institution. Wáshington, D. C., 1911.

— *Crown Gall and Sarcoma*. U. S. Dept. Agr, Pl. Ind. Cire LXXXV, pág. 1, 4 jul. 1911. Ref. Bot. Centralblatt Bd. II, 1912, pág. 179.

— *Pflanzenkrebs versus Menschenkrebs*. Bot. Centralblatt. I Bd., 1913, pág. 184.

TEODORO FERRARIS: *Patología y terapéutica vegetales*. Salvat, editores. Barcelona, 1930.

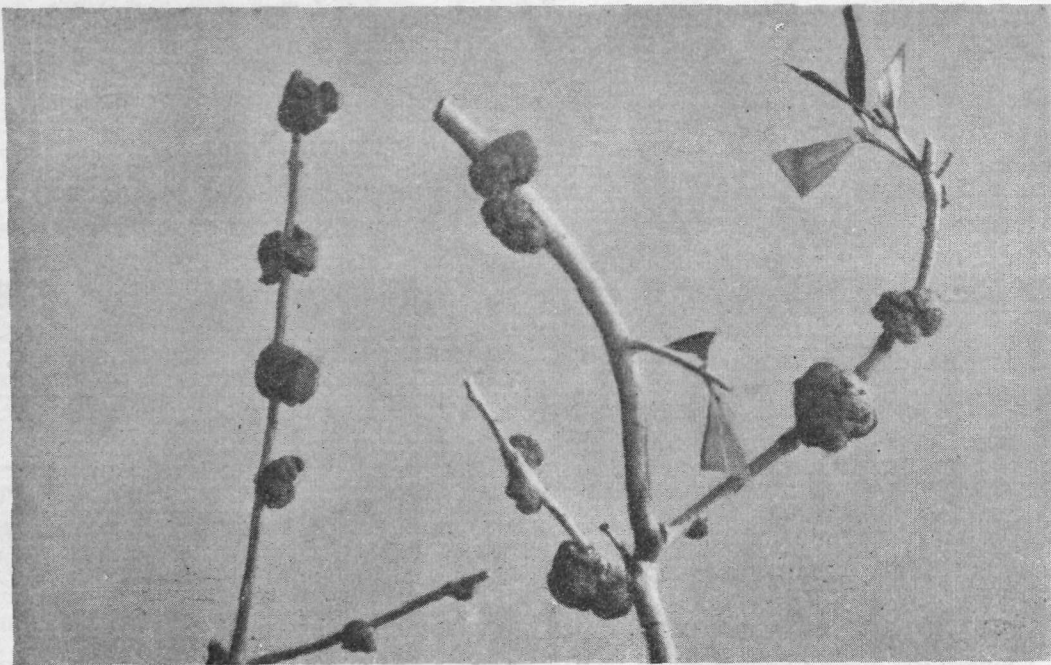
F SORAUER: *Handbuch der Pflanzenkrankheiten*. Dritte Auflage, 1908.



Nódulos jóvenes producidos por el B. Savastanoi.

(Obsérvase cómo se han producido en las heridas causadas por falta de la hoja).

(Clisé del autor).

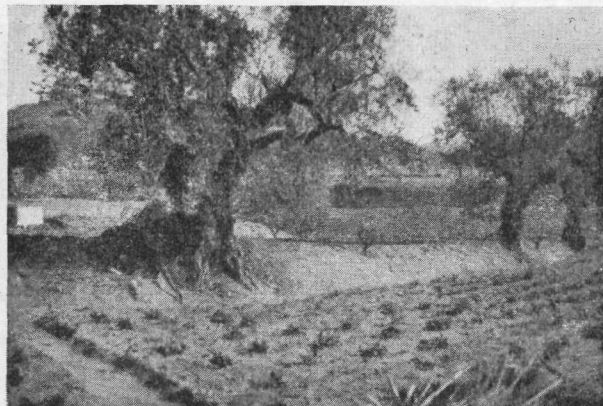


Nódulos viejos producidos por el *B. Savastanoi*.
(La ramita de la izquierda, se ha secado debido al fuerte ataque).

(Clisé del autor).



Véase el aspecto desvigorizado de las ramillas atacadas por el *B. Savastanoi* (Smith).



Olivos antiquísimos cuya longevidad no se ha resentido del azote.
(De estos olivos procede nuestro material).

(Clisés del autor).