



7º CONGRESO FORESTAL ESPAÑOL

**Gestión del monte: servicios
ambientales y bioeconomía**

26 - 30 junio 2017 | Plasencia
Cáceres, Extremadura

7CFE01-472

Edita: Sociedad Española de Ciencias Forestales
Plasencia. Cáceres, Extremadura. 26-30 junio 2017
ISBN 978-84-941695-2-6

© Sociedad Española de Ciencias Forestales

Susceptibilidad de seis especies de coníferas al marchitamiento del pino causado por *Bursaphelenchus xylophilus*

DÍAZ, R.^{1,2}, SOUTULLO, P.¹, MOLINA, B.³, ALONSO, M.¹

¹ Centro de Investigación Forestal de Lourizán. Ctra. de Marín km 3.5, Pontevedra 36080, España.

² Departamento de Ingeniería de los Recursos Naturales y Medio Ambiente. Universidad de Vigo. 36310 Vigo, España.

³ Asociación Forestal de Galicia. Rúa do Vilar, nº 3, 15706 Santiago de Compostela.

Resumen

Bursaphelenchus xylophilus es un nematodo considerado organismo de cuarentena en la Unión Europea, pues causa la muerte de gran número de especies de coníferas, principalmente pinos. En España se detectó por primera vez en 2008 y hasta la actualidad se han declarado cinco positivos.

Se estudia la variación genética del grado de susceptibilidad al nematodo de dos especies de pino (*P. radiata* y *P. pinaster*) muy presentes en España, y en particular en Galicia, frente a otras especies de coníferas (*Pseudotsuga menziesii*, *Thuja plicata*, *Sequoia sempervirens* y *Cryptomeria japonica*) que debido, a su valor forestal, podrían considerarse especies alternativas para futuras plantaciones.

Plántulas de 2 años de edad de las seis especies fueron inoculadas en un invernadero del Centro de Investigación Forestal de Lourizán. Previo a la inoculación se tomaron datos de crecimiento y número de ramas. Durante las semanas siguientes a la inoculación se tomaron datos de la evolución de los síntomas dos veces por semana y al final del ensayo se contabilizaron los nematodos en un total de 8 plantas por especie.

Los resultados muestran diferencias significativas entre especies tanto para la supervivencia y sintomatología de los daños, como para la densidad de nematodos. Las coníferas no pertenecientes al género *Pinus* parecen ser resistentes o tolerantes a este nematodo, mientras que los dos pinos estudiados se muestran altamente susceptibles. La altura y el diámetro pueden estar relacionados con el grado de susceptibilidad. Estos resultados sugieren que alguna de estas especies no susceptibles podría emplearse en plantaciones futuras, en el caso en que la situación actual de la enfermedad se agravase.

Palabras clave

Tolerancia, densidad de nematodos, PWD, mortalidad, inoculación

1. Introducción

El nematodo de la madera del pino, *Bursaphelenchus xylophilus*, es el causante de la enfermedad conocida como el marchitamiento del pino (Pine Wilt Disease, en inglés) que afecta a gran número de coníferas provocando su marchitamiento hasta la muerte.

Nativo de Norteamérica, el nematodo se introdujo a principios del siglo XX en Japón, generando entre 1978 y 1981 pérdidas anuales de madera superiores a 2 millones de m³ (HOSHI, 2016). Posteriormente, el nematodo fue detectado en China (1982), en Taiwán (1985), y en la península de Corea (1988). En 1999, *B. xylophilus* se detectó por primera vez en Europa, en unas masas de *P. pinaster* ubicadas en Setúbal, Portugal (MOTA et al., 1999). En España el primer foco se detectó en 2008 en Extremadura, y, hasta la fecha, se han detectado dos más en Castilla León y otros dos en Galicia.

Dado que en toda Europa hay grandes extensiones de coníferas que pueden ser potenciales hospedantes de este nematodo, la Unión Europea incluyó a *B. xylophilus* en la lista EPPO A2 de organismos de cuarentena. Por este motivo, no se permite el transporte de madera con riesgo de infección entre los estados miembros y Portugal. Los focos detectados en España han sido sometidos a fuertes medidas de cuarentena (Directiva Europea 2000/29/CEE, Decisión 2015/226/EU).

En España las masas de *Pinus* spp. ocupan una enorme extensión y suponen un motor importante de la economía forestal. En particular, Galicia es la novena potencia forestal europea, liderando el sector a nivel nacional. El 40-50% de la madera que se corta en España procede de los montes gallegos, y aproximadamente la mitad de la misma procede de *P. pinaster* y *P. radiata* (CONFEMADERA-GALICIA, 2011).

Además de *P. pinaster* y *P. radiata*, especies de gran importancia forestal en Galicia, pero susceptibles al nematodo del pino, otras especies de coníferas americanas y asiáticas (*Pseudotsuga menziesii*, *Sequoia sempervirens*, *Thuja plicata* y *Cryptomeria japonica*) están demostrando tener un buen comportamiento en parcelas de campo en Galicia. Se trata de especies más exigentes en la calidad de estación y en la silvicultura a aplicar, pero que producen una madera en general de calidad superior y de mayor valor comercial en otros países, por lo que podrían ser candidatas para ser empleadas en futuras repoblaciones en caso de ser detectados más positivos en nuestra comunidad y comprobarse su tolerancia al nematodo.

2. Objetivos

La intención del presente trabajo es avanzar en el conocimiento de la tolerancia de distintas especies de coníferas al nematodo del pino, las cuales podrían ser empleadas como especies alternativas a las especies de pino que actualmente se emplean para la producción de madera, especialmente en el norte de España.

3. Metodología

El material vegetal empleado fueron plantas de 2 años de edad de seis especies de coníferas, dos muy empleadas en España para su aprovechamiento maderero (*Pinus pinaster* y *P. radiata*) y cuatro poco empleadas en España, pero sí en otros lugares del mundo y con buenos comportamientos en algunos ensayos llevados a cabo en el noroeste de España (*Cryptomeria japonica*, *Pseudotsuga menziesii*, *Sequoia sempervirens* y *Thuja plicata*).

El experimento se realizó en condiciones controladas de invernadero siguiendo un diseño de bloques completos al azar con 14 bloques, 6 especies y una planta inoculada por unidad experimental. Además, en tres de los bloques se añadió una planta control por especie. La inoculación se realizó el 19 de julio de 2016. La temperatura media diaria fue de 24°C, oscilando día-noche entre 28 y 19,5 °C. Las plántulas se regaron dos veces por semana mediante un sistema de riego por goteo.

En este ensayo se empleó la cepa gallega de *B. xylophilus* extraída del foco de As Neves (Pontevedra) en 2010 (ABELLEIRA et al. 2011). Los nematodos se multiplicaron en *Botrytis cinerea* sobre medio de cultivo PDA (Potato Dextrosa Agar). El día previo a la inoculación los nematodos se extrajeron empleando la técnica Baermann y se preparó una suspensión de nematodos con agua destilada. Las dosis empleadas para la inoculación fueron de 600 nematodos por planta para las plantas inoculadas (ABELLEIRA et al. 2013), mientras que las plantas control se inocularon únicamente con agua destilada. Las inoculaciones se realizaron según lo descrito en MENÉNDEZ et al. (en prensa).

En el ensayo se evaluaron variables tanto morfológicas como relacionadas con la enfermedad. Entre las variables morfológicas se midieron la altura total (**Ht**), en cm, y el diámetro en el cuello de la raíz (**Dc**), en mm, y el número total de ramas (**NR**) de todas las plantas el día antes de realizar las inoculaciones. Como variables relacionadas con la enfermedad se evaluaron los síntomas de daño y la densidad de nematodos. La sintomatología de daño (**D**) la registró un único observador dos veces por semana hasta el fin del ensayo (17 de octubre de 2016), siguiendo una escala de 7 valores (1: sin daños aparentes; 7: todas las acículas marchitas, de color marrón-pajizo; MENÉNDEZ et al. (en prensa). A partir de esta variable se calcularon el inicio (**IS**), fin (**FS**) y duración de los síntomas (**DS**), así como la supervivencia (**S**). El inicio y fin de los síntomas se estimaron como el número de días desde el momento de la inoculación, mientras que la duración se calculó, también en días, como la resta entre las dos variables anteriores ($DS=FS-IS$). Los primeros síntomas se consideró que ocurrían cuando éstos eran debidos claramente al nematodo, es decir al alcanzar el nivel 3, mientras que la muerte de la planta se consideró que sucedía en el nivel 6, cuando la planta ya no tiene posibilidad de reponerse. Una planta se consideró muerta (0) cuando los síntomas eran superiores al nivel 5 y viva (1) con valores iguales o inferiores a 5. La densidad de nematodos (**DN**) se estimó como el número de nematodos en la parte aérea por gramo de peso seco de la parte aérea. Para ello, casi al final del ensayo, tras 77 días tras la inoculación (DAI), se extrajeron los nematodos de las plantas inoculadas de 5 bloques según una modificación del método Baermann (EPPO 2013). También se comprobó la no presencia de nematodos en todas las plantas control incluidas en el ensayo.

Los análisis estadísticos de las variables morfológicas y de las de inicio, fin y duración de los daños se realizaron mediante un ANOVA, en el caso de las variables morfológicas con especie como único factor y en el resto de las variables, con especie y bloque como factores del modelo. Previo al análisis, las variables Ht y Dc se transformaron ($\log(x+1)$) para cumplir con los requisitos del ANOVA. Las variables síntoma de daños y supervivencia se analizaron mediante un ANOVA de medidas repetidas. En estos análisis, los factores bloque y su interacción con la especie se eliminaron del modelo por no ser significativos. Todos los ANOVAs se realizaron mediante el procedimiento Proc Mixed de SAS. En todos los análisis la especie se consideró factor fijo y, siempre que fue posible, se estimaron sus LSMeans. La densidad de nematodos se analizó mediante un análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis. La relación entre variables se estudió a nivel especie realizando un análisis de correlación de Spearman entre los LSMeans.

4. Resultados

Los caracteres morfológicos variaron significativamente entre especies (Tabla 1). Considerando la altura total, se diferencian 3 grupos: uno, el de mayor altura, formado por *P. pinaster* y *P. radiata*; un segundo grupo, de crecimiento intermedio, formado únicamente por *P. menziesii*, y un último grupo, formado por *C. japonica*, *S. sempervirens* y *T. plicata*. Si se tiene en cuenta la clasificación obtenida a partir de los diámetros del cuello de la raíz se obtienen cuatro grupos distintos, siendo el formado por *P. pinaster* y *P. radiata* el de mayor diámetro y el de *T. plicata* y *P. menziesii* el de menor. Por último, también se encontraron diferencias significativas en el número total de ramas, siendo *P. pinaster* la especie con menor número y *C. japonica* la de mayor.

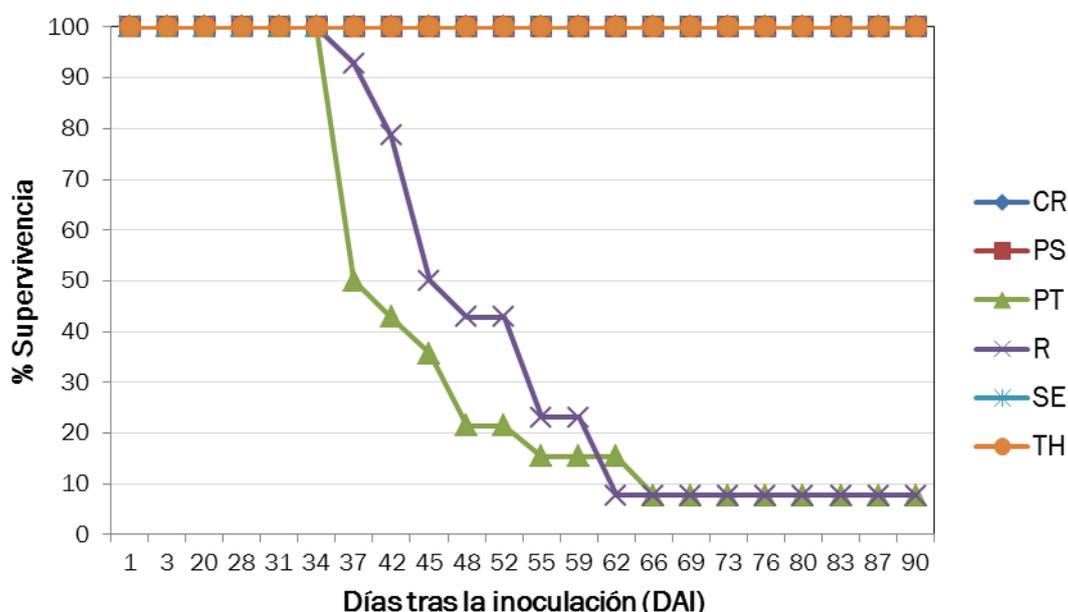
1
2
34 *Tabla 1. Análisis de varianza de las variables paramétricas y LSMeans de las especies estudiadas (letras distintas indican diferencias significativas).*

Variable	Especie		Fecha		Especie x Fecha		LSMeans											
	F*	p	F _{29,5}	p	F _{145,1824}	p	SE	CR	TH	PS	PT	R						
Htt	73.8	<.0001					77.6	a	77.7	a	72.2	a	99.1	b	127.6	c	132.6	c
Dct	196.7	<.0001					6.8	a	7.8	b	8.8	c	9.6	c	21.3	d	23.8	d
NR	7.1	<.0001					17.5	ab	25.0	d	19.1	b	23.1	cd	14.9	a	19.9	bc
D	368.2	<.0001	35	<.0001	12.2	<.0001	1.4	b	1.4	b	1.0	a	1.1	ab	5.6	c	5.5	c
S	262.6	<.0001	15	<.0001	7.4	<.0001	1.00	b	1.00	b	1.00	b	1.00	b	0.31	a	0.34	a
IS	0.1	0.696													30.5		31.5	
FS	1.2	0.291													47.4		51.2	
DS	1.3	0.267													16.7		19.7	

5 * F5,96 para Ht, Dc y NR; F5,78 para D y S; F1,22 para IS, FS y DS. Htt: altura total (Ht) transformada (log(Ht+1)), Dct: diámetro del cuello de la raíz (Dc) transformado
6 (log(Dc+1)), NR: número total de ramas, D: sintomatología de daños, S: supervivencia, IS, FS y DS: inicio, fin y duración de los síntomas. IS, FS y DS solo se estimaron para *P.*
7 *pinaster* y *P. radiata*, ya que en el resto no hubo mortalidad. Los LSMeans de Htt y Dct son de las variables sin transformar, pero las letras de significación proceden del
8 ANOVA de la variable transformada. Letras distintas indican grupos distintos. CR: *C. japonica*, PS: *P. menziesii*, PT: *P. pinaster*, R: *P. radiata*, SE: *S. sempervirens*, TH: *T.*
9 *plicata*.

10

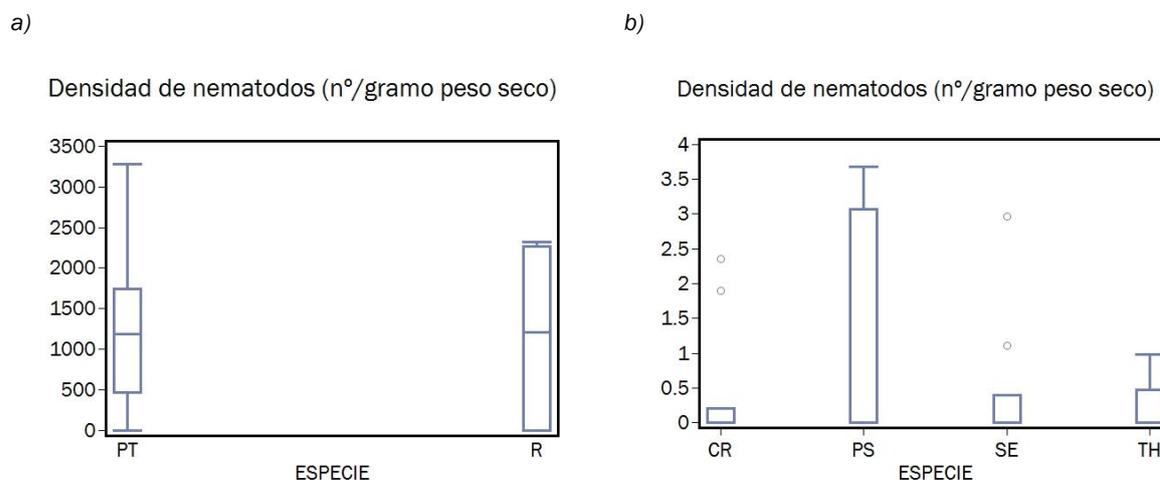
11 De los caracteres relacionados con la enfermedad, tanto la sintomatología de los daños como la
 12 supervivencia mostraron diferencias significativas entre especies (Tabla 1). Según la clasificación por
 13 supervivencia se pueden diferenciar claramente dos grupos: el formado por *P. pinaster* y *P. radiata*,
 14 con unos valores de LSM means para la supervivencia, según el análisis de medidas repetidas, del 31 y
 15 34% respectivamente, y el formado por el resto de las especies, con una supervivencia del 100%
 16 (Tabla 1). Sin embargo, si se tiene en cuenta la supervivencia real ésta llegó a un 8% para *P. pinaster*
 17 y *P. radiata* al final del ensayo (Figura 1). Si se tiene en cuenta la clasificación por la sintomatología de
 18 los daños, se podrían diferenciar tres grupos, puesto que el de mayor supervivencia se dividiría en
 19 dos, siendo *Thuja plicata* la única especie que no mostró ninguna sintomatología. En lo referente al
 20 inicio, fin y duración de los daños, estos solamente se pudieron estudiar en dos de las especies, *P.*
 21 *pinaster* y *P. radiata*, puesto que en el resto no hubo mortalidad, ni planta suficiente que alcanzase el
 22 estadio 3 o superior como para estimar IS. Como se observa en la Figura 1, el descenso de la
 23 supervivencia fue algo más rápido en *P. pinaster* que en *P. radiata*, sobreviviendo a los 42 DAI un
 24 43% de las plantas de *P. pinaster* frente al 79% de *P. radiata*, sin embargo, a los 66 DAI ambas
 25 especies tenían una supervivencia del 8%, la cual se mantuvo hasta el final del ensayo a los 90 DAI.
 26 Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre especies para el inicio, fin y duración
 27 de los síntomas, comenzando los daños de media a los 31 DAI, finalizando a los 49 y con una
 28 duración media de 18 DAI.
 29
 30



31
 32 *Figura 1. Evolución de la supervivencia a lo largo del periodo del ensayo. Ver acrónimos de especies en Tabla 1.*

33
 34 La densidad de nematodos en la parte aérea de las plantas casi al final del ensayo mostró
 35 diferencias significativas ($\chi^2=18,52$; g.l.=5; $p=0,0024$), diferenciándose *P. radiata* y *P. pinaster* (con
 36 medianas de 1486,4 y 953,9 nem/g peso seco) del resto de las especies (con medianas inferiores a
 37 0,2 nem/g peso seco) (Figura 2). Sin embargo, como era previsible, a nivel individual, se encontró una
 38 relación negativa entre la supervivencia y la sintomatología de los daños, así como positiva entre la
 39 altura total y el diámetro del cuello de la raíz (Tabla 2). Sin embargo, también se encontró una
 40 relación altamente significativa entre las variables de crecimiento, altura total y diámetro del cuello de
 41 la raíz, con la supervivencia (negativa) y la sintomatología de los daños (positiva). Estas mismas
 42 relaciones, aunque algo más débiles, se encontraron a nivel especie, ya que se detectó una relación

43 marginal entre el diámetro y, especialmente la altura, con la supervivencia y la sintomatología de
 44 daño.
 45



46 *Figura 2. Representación gráfica de la densidad de nematodos (mediana, percentiles 25 y 75, bajo y alto) en*
 47 *especies susceptibles (a) y en no susceptibles (b). Ver acrónimos de especies en Tabla 1.*

48

49 *Tabla 2 Correlaciones de Spearman entre variables, para valores individuales (encima de diagonal) y LSMeans por especie*
 50 *(debajo de diagonal).*

	S	D	NR	Htt	Dct
S		-0.93 ***	0.20	-0.78 ***	-0.85 ***
D	-0.85 *		-0.23	0.74 ***	0.76 ***
NR	0.51	-0.49		-0.05	-0.08
Htt	-0.78 a	0.78 a	-0.20		0.78 ***
Dct	-0.78 a	0.43	-0.09	0.77 a	

51 Niveles de significación: *** = $P < 0.001$; ** = $P < 0.01$; * = $P < 0.05$. Ver
 52 acrónimos de variables en Tabla 1.
 53

54 5. Discusión

55

56 En el presente trabajo se estudió la susceptibilidad de seis coníferas de interés forestal. Dos de
 57 ellas, *P. pinaster* y *P. radiata*, son especies habitualmente plantadas para su aprovechamiento
 58 maderero en España, especialmente en el norte, las cuales se usaron como control debido a que
 59 estudios previos mostraron su susceptibilidad al nematodo (MENÉNDEZ et al., en prensa). Las otras
 60 cuatro especies, *C. japonica*, *P. menziesii*, *S. sempervirens* y *T. plicata*, son especies poco empleadas
 61 en nuestro país, pero potencialmente interesantes para su aprovechamiento. De entre las especies
 62 estudiadas, solo se tiene constancia de que se hayan muerto en condiciones naturales de campo
 63 debido al nematodo del pino individuos de *P. pinaster* (ABELLEIRA et al., 2011), *P. radiata* (ZAMORA et
 64 al., 2015) y *P. menziesii* (MALEK AND APPLEBY, 1984). Esto podría significar que *C. japonica*, *S.*
 65 *sempervirens* y *T. plicata* sean resistentes o tolerantes al nematodo o que no sean hospedantes de
 66 los insectos vectores del mismo. LINIT (1988) apunta la existencia de al menos 24 insectos
 67 portadores de larvas *dauer* de *B. xylophilus*, algunos de los cuales tienen como hospedante *Pinus* sp.
 68 o *P. menziesii*, no citando en ningún caso *C. japonica*, *S. sempervirens* ni *T. plicata* como
 69 hospedantes. Sin embargo, podrían descubrirse nuevos vectores que se alimenten y/o se

70 reproducen en otros hospedantes si se extiende *B. xylophilus* por nuevas áreas como, por ejemplo,
71 Europa (NUNES DA SILVA et al., 2013).

72
73 Los resultados del presente trabajo muestran que únicamente plántulas de *P. pinaster* y *P.*
74 *radiata* murieron debido a su infección artificial con nematodo, presentando ambas especies una
75 supervivencia muy baja al final del ensayo (8%). Por el contrario, el resto de especies tuvo una
76 supervivencia del 100%, si bien los resultados muestran que *T. plicata* y *C. japonica* no mostraron el
77 más mínimo síntoma de marchitamiento, mientras que *S. sempervirens* y *P. menziesii* mostraron
78 síntomas muy ligeros. Además, la presencia de nematodos en algunos individuos de estas últimas
79 especies pasados más de dos meses desde la inoculación hace pensar que podrían ser empleadas
80 por *B. xylophilus* como repositorios temporales donde vivir durante varias semanas desde la infección
81 de la planta. Esto podría ser un problema para la erradicación de *B. xylophilus* en áreas donde existen
82 otras coníferas susceptibles. Sin embargo, las densidades bajas de nematodo suelen tener como
83 consecuencia bajas tasas de adquisición de éstos por parte de los vectores, por lo que sería difícil
84 que ocurriesen nuevas infecciones (FORGE AND SUTHERLAND, 1996). Otros estudios mostraron
85 también la susceptibilidad de *P. pinaster* y *P. radiata* en ensayos de inoculación artificial (ej. PHRAME,
86 2007). Otras especies, como *P. menziesii* y *T. plicata*, mostraron ser hospedantes, al menos en trozas
87 cortadas en laboratorio (FORGE AND SUTHERLAND, 1996), si bien cabe destacar que en *T. plicata* la
88 densidad de la población fue muy baja y no se desarrollaron larvas *dauer* de dispersión, que son las
89 necesarias para extender la enfermedad a otros árboles, introduciéndose en la tráquea de los nuevos
90 adultos cuando van a emerger de un árbol infectado (EVANS et al., 1996). De hecho, el género *Thuja*,
91 junto con *Taxus*, son los dos únicos géneros de coníferas que están exentos de aplicarles medidas de
92 control frente al nematodo y sus vectores (EPP0, 2012).

93
94 Nuestro trabajo muestra que la altura y, en menor medida el diámetro, están relacionados con
95 la susceptibilidad al nematodo. Resultados semejantes se obtuvieron en otro estudio en el que se
96 evaluaron familias de *P. pinaster* (datos no publicados), mientras que otros estudios no encontraron
97 ninguna relación (YAMANOBE, 2009). Si bien esta relación debería comprobarse con nuevos ensayos
98 y con un mayor número de especies que cubriesen todo el rango de variación de la susceptibilidad,
99 los compromisos que existen en numerosas ocasiones entre la resistencia a distintas enfermedades y
100 el crecimiento son bien conocidos (ej. HUOT et al., 2014).

101 102 6. Conclusiones

103
104 Las especies de pino estudiadas, *P. pinaster* y *P. radiata*, han vuelto a mostrar su
105 susceptibilidad al nematodo de la madera del pino, lo que apunta a la grave amenaza que corren gran
106 parte de nuestros pinares habitados por estas especies de pino y, como consecuencia a sus
107 ecosistemas y al sector forestal vinculado a los mismos. Por otro lado, el resto de las coníferas
108 estudiadas, *C. japonica*, *P. menziesii*, *S. sempervirens* y *T. plicata*, no se vieron afectadas por este
109 nematodo, por lo que podría llegar a plantearse su empleo para su aprovechamiento por la industria,
110 en el caso en que la situación actual se agrave hasta niveles comparables a los de otros países
111 afectados como es el caso de Japón (HOSHI, 2016).

112 113 7. Agradecimientos

114
115 Agradecemos a Ricardo Ferradás y Maribel Juncal, personal del CIF Lourizán, su trabajo de
116 apoyo realizado durante los ensayos. Este estudio ha sido financiado parcialmente por INDITEX y por
117 el Ministerio de Ciencia e Innovación a través del proyecto NEMOCONTROL (RTA2014-0042-C02-01).

118 119 8. Bibliografía

120

- 121 ABELLEIRA, A.; PICOAGA, A.; MANSILLA, J.P.; AGUÍN, O.; 2011. Detection of *Bursaphelenchus*
122 *xylophilus*, causal agent of pine wilt disease on *Pinus pinaster* in Northwestern Spain. Plant Dis 95:
123 776-776.
- 124 ABELLEIRA, A.; PICOAGA, A.; MANSILLA, J. P.; MOSQUERA, P.; DÍAZ, R.; TOVAL, G.; 2013. Ensayo de
125 inoculación de distintas concentraciones de *Bursaphelenchus xylophilus* aislado en Galicia sobre
126 *Pinus pinaster*. In MONTERO-GONZÁLEZ, G.; GUIJARRO-GUZMÁN, M. y col. (eds.): 6º Congreso Forestal
127 Español. Vitoria-Gasteiz: Sociedad Española de Ciencias Forestales.
- 128 CONFEMADERA-GALICIA, 2011. Informe de resultados de Confemadera-Galicia.
129 <http://www.pfcyl.es/documento/informe-de-resultados-2011-confemadera-galicia>.
- 130 EPPO; 2012. *Bursaphelenchus xylophilus* and its vectors: procedures for official control. Bulletin
131 OEPP/EPPO Bulletin 26: 199-249.
- 132 EPPO; 2013. PM 7/119 (1) Nematode extraction. EPPO Bulletin 43: 471-495.
- 133 EVANS, H.F.; MCNAMARA, D.G; BRAASCH, H.; CHADDOEUF, J.; MAGNUSSON, C.; 1996. Pest risk analysis
134 (PRA) for the territories of the European Union (as PRA area) on *Bursaphelenchus xylophilus* and its
135 vectors in the genus *Monochamus*. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 26: 199-249.
- 136 FORGE, T.A.; SUTHERLAND, J.R.; 1996. Population dynamics of the pine wood nematode,
137 *Bursaphelenchus xylophilus*, in excised branch segments of western North American conifers.
138 Fundam. Appl. Nematol. 19: 349-356.
- 139 HOSHI, H.; 2016. Pine wilt disease in Japan. IUFRO Pine Wilt Disease International Working Party
140 7.02.10.57-60.
- 141 HUOT, B.; YAO, J.; MONTGOMERY, B.L.; HE, S.Y.; 2014. Growth-defense tradeoffs in plants: a balancing
142 act to optimize fitness. Molecular plant 7(8): 1267-1287.
- 143 LINIT, M.J.; 1988. Nematode-vector relationships in the pine wilt disease system. Journal of
144 Nematology 20(2):227-235. 1988.
- 145 MALEK, R.B.; APPLEBY, J.E.; 1984. Epidemiology of pine wilt in Illinois. Disease distribution. Plant
146 Disease 68: 180-186.
- 147 MENÉNDEZ, M.; ALONSO, M.; JIMÉNEZ, E.; TOVAL, G.; MANSILLA, P.; ABELLEIRA, A.; ABELLEIRA-
148 SANMARTÍN, A.; DÍAZ, R.; en prensa. Degree of susceptibility to pinewood nematode (*Bursaphelenchus*
149 *xylophilus*) of six important *Pinus* spp. in Europe, and the American species *P. taeda*. European Journal
150 of Plant Pathology.
- 151 MOTA, M.; BRAASCH, H.; BRAVO, M.; 1999. First report of *Bursaphelenchus xylophilus* in Portugal and
152 in Europe. Nematology 1: 727-734.
- 153 NUNES DA SILVA, M.; LIMA, M.R.M.; VASCONCELOS, M.W.; 2013. Susceptibility evaluation of *Picea*
154 *abies* and *Cupressus lusitanica* to the pine wood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*). Plant
155 Pathology 62: 1398-1406.
- 156 PHRAME, 2007. PHRAME -Plant Health Risk and Monitoring Evaluation- Final Report. EU.
- 157 ZAMORA, P.; RODRÍGUEZ, V.; RENEDO, F.; SANZ, A. V.; DOMÍNGUEZ, J.C., PÉREZ-ESCOLAR, G.;
158 MIRANDA, J.; ÁLVAREZ, B.; GONZÁLEZ-CASAS, A.; MAYOR, E.; DUEÑAS, M.; MIRAVALLS, A.; NAVAS,
159 A.; ROBERTSON, L.; MARTÍN, A.B.; 2015. First report of *Bursaphelenchus xylophilus* causing pine wilt
160 disease on *Pinus radiata* in Spain. Plant Dis. 99, 1449-1449.