

## EL NEMÁTODO DEL PINO: ENEMIGO SILENCIOSO CAUSANTE DE GRAVES PÉRDIDAS ECONÓMICAS Y AMBIENTALES A NIVEL MUNDIAL

Adrián López-Villamor

Grupo VIOR. Misión Biológica de Galicia, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)

### RESUMEN

El control del nemátodo del pino ha pasado de depender de insecticidas y nematicidas a enfoques más sostenibles, como trampas de feromonas para capturar el vector, programas de mejora genética para desarrollar pinos más resistentes y estrategias biológicas basadas en microorganismos beneficiosos, como micorrizas. Estas alternativas han demostrado fortalecer las defensas naturales de los árboles y reducir el impacto de la infección.

Investigaciones recientes han explorado nuevas soluciones, incluyendo tanto el uso de elicitadores como bacterias endófitas que activan los mecanismos de defensa del pino y aumentan la resistencia a patógenos. No obstante, el principal desafío sigue siendo la aplicación de estas estrategias a gran escala y su viabilidad a largo plazo.

La propagación del nemátodo del pino resalta la necesidad de mantener una vigilancia constante sobre la sanidad forestal, especialmente ante la creciente amenaza de especies invasoras favorecida por el cambio global. La protección de los bosques requiere un enfoque integrado que combine investigación científica, estrategias de control efectivas y el respaldo de políticas ambientales que garanticen la sostenibilidad de los ecosistemas forestales.

### 1. ¿QUÉ ES EL NEMÁTODO DE LA MADERA DEL PINO Y QUÉ PROVOCA ESTE ORGANISMO?

El nematodo del pino, cuyo nombre científico es *Bursaphelenchus xylophilus* es un gusano de pequeñas dimensiones que no suele pasar de 1 mm de longitud, siendo considerado una amenaza importante para los ecosistemas forestales y una plaga cuarentenaria por la Organización Europea y Mediterránea para la Protección de las Plantas (EPPO, 2025). Por lo tanto, cuando entra en un país nuevo la primera opción es de erradicación de las especies infectadas y si no se consigue con esta estrategia, la región o país pasa a convertirse en zona de contención de la enfermedad. Este nemátodo se desarrolla en el interior de la madera de muchas de las especies del género *Pinus* pero también afecta a otras especies de coníferas, siendo el agente causal de la enfermedad del marchitamiento del pino. El signo externo más aparente por el cual se manifiesta la enfermedad es el marchitamiento general y amarillamiento de las acículas, dando la apariencia de ser cortado por la base o haber sufrido un estrés extremo por sequía. En pocos meses después de la infección, se produce la muerte del árbol. Sus acículas que adquieren primero un color amarillo y posteriormente marrón pardo pueden permanecer en el árbol hasta un año.

El ciclo del nemátodo es complejo y precisa de un vector para transmitirse de un árbol a otro. Los vectores de este patógeno son casi en exclusiva las especies del género *Monocamus*, un género de escarabajos (coleópteros) cuya distribución mundial se sitúa en el hemisferio norte, desde zonas templadas hasta semitropicales. Como se mencionó anteriormente el ciclo del nematodo de pino no es

sencillo y presenta dos fases bien diferenciadas, la primera es una fase fitófaga en la cual se alimenta directamente de los tejidos del árbol y finalmente, cuando este muere, se inicia posteriormente la fase micófaga, en la cual se alimenta de hongos (Futai, 2013). En condiciones naturales, *B. xylophilus* infecta los árboles a través de heridas causadas por los escarabajos del género *Monochamus* que se alimentan de las acículas tiernas (hojas de los pinos) y de la corteza de estas ramitas, iniciándose de esta forma la etapa fitófaga. Una vez que entra dentro del árbol el nemátodo se empieza a reproducir y a desplazar a través de los conductos resiníferos causando daños en estos canales por estrés oxidativo (Kuroda, 2008).

Los pinos, para contrarrestar los efectos dañinos causados por el nemátodo, por un lado, comienzan a cerrar algunos de estos canales resiníferos, para evitar la distribución del patógeno y, por otro lado, activan diversas enzimas antioxidantes, produciendo diferentes compuestos secundarios como fenoles, flavonoides y carotenos (Tuladhar et al., 2021), que ayudan a la planta a combatir este estrés oxidativo. Toda esta respuesta desencadenada por el nemátodo provoca un decaimiento y una necrosis foliar visible (amarillamiento), conduciendo en su final a la muerte del árbol infectado. Uno de los factores climáticos clave que afecta al nemátodo en esta fase fitófaga y a su vector, es la temperatura. Las temperaturas elevadas ( $\geq 25^\circ \text{C}$ ) junto con un déficit hídrico, durante la primavera-verano, favorecerán la intensidad y dispersión de dicha enfermedad.

Una vez que muere el árbol, empiezan a invadir los tejidos una serie de hongos descomponedores de la materia orgánica muerta, llamados hongos saprófitos, siendo *Botrytis cinerea* uno de los principales que aparece. Cuando se llega a este punto el nemátodo entra en la siguiente fase denominada micófaga, en la cual pasa de alimentarse de los tejidos vivos de la planta, al micelio de los hongos. Al mismo tiempo, el vector del nemátodo (*Monochamus*) se ve atraído por los compuestos volátiles liberados por estos árboles moribundos donde se aparea y tras reproducirse, la hembra realiza la puesta sobre la corteza, practicando para ello un pequeño orificio. La eclosión se produce a las dos semanas y la larva se introduce debajo de la corteza, donde va excavando galerías, mientras se va alimentando e introduciéndose cada vez más en la madera. En el mes de septiembre tras completar su desarrollo, la larva realiza un agujero hacia el exterior, que luego tapona con fibras de madera. Posteriormente entra en fase de pupa en el interior de estas galerías, donde permanecerá durante todo el invierno. En esta fase de pupa se liberan secreciones químicas que actúan de atrayentes para el nemátodo (quimiotaxis), el cual entra dentro de la pupa y se instala en las traqueidas (órganos respiratorios). A finales de primavera-inicio del verano, comienzan a emerger los adultos al exterior por el agujero que previamente había realizado durante el estado larvario, reiniciándose de esta forma el ciclo de dispersión del nemátodo.

La interacción entre estos dos organismos es una relación mutualista, obligatoria para el nematodo ya que necesita del escarabajo para su transporte y dispersión. Para el escarabajo sin embargo es facultativa, ya que se ve beneficiado de la muerte del arbolado provocado por el nematodo, causando un incremento del material donde realizar la ovoposición.

## **2. ORIGEN DEL *B. XYLOPHILUS*, SU DISTRIBUCIÓN MUNDIAL Y ESPECIES QUE AFECTA**

Se cree que el nemátodo de la madera del pino es originario de Norteamérica, teniendo una amplia distribución tanto en Canadá como en Estados Unidos (Ryss et al., 2005) y llegando hasta México (Dwinell, 1993). Las especies de coníferas norteamericanas (concretamente pinos) se consideran resistentes o al menos tolerantes al nematodo ya que no causan daños importantes sobre ellas, siendo el *Pinus taeda* uno de los principales hospedadores. Sin embargo, las especies exóticas del género *Pinus* plantadas en América del Norte sí que son susceptibles al *B. xylophilus*, especialmente en las zonas más cálidas del sur de los Estados Unidos (EPPO, 2025).

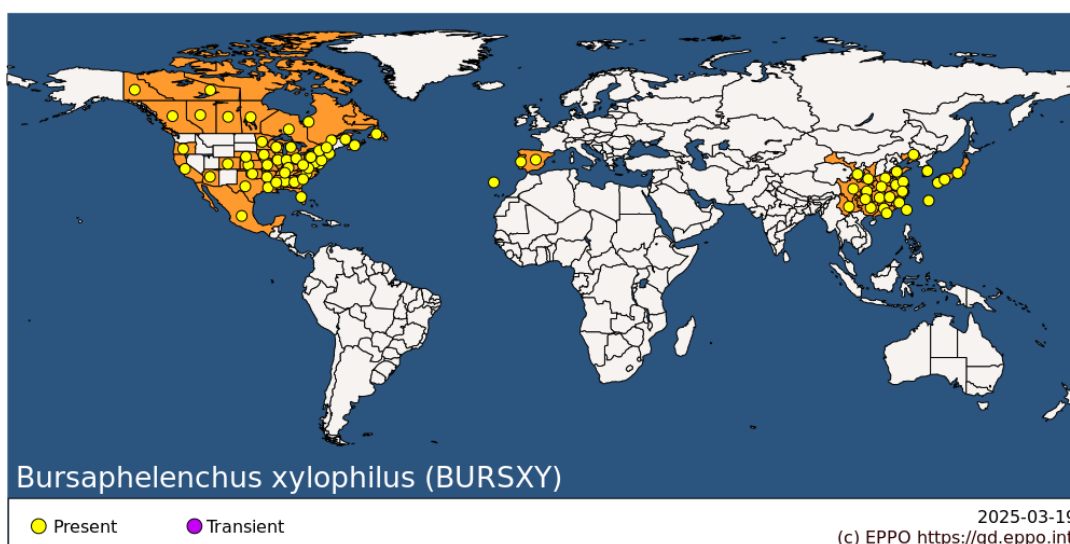
Fue introducido en la isla de Kyushu, al sur de Japón, presumiblemente por madera de construcción infectada, exportada de Norteamérica. Allí se encontró con variedades mucho más sensibles, convirtiéndose en una de las plagas forestales más perjudiciales del país, donde aún ocasiona grandes pérdidas en la actualidad, en diferentes especies de pinos autóctonos de Japón y de otras partes

del suroeste asiático (*P. densiflora*, *P. thunbergii* y *P. luchuensis*). La enfermedad se detectó en 1913 pero el nemátodo no fue asociado como el causante del marchitamiento del pino hasta 1972. Los síntomas y daños hasta entonces eran atribuidos a la acción de insectos perforadores del género *Monochamus*. Posteriormente fue introducido en China (incluido Taiwán) y en Corea, donde se detectó en la segunda mitad de la década de 1980.

### 3. ENTRADA EN EUROPA, ESPECIES E IMPORTANCIA ECONÓMICA DEL PINO MARÍTIMO

En 1999, se detectó por primera vez en Europa, concretamente en la península de Setúbal (Portugal), en un bosque de pino marítimo (*Pinus pinaster*) (Vicente et al., 2012), descubriéndose que esta especie es muy susceptible a esta enfermedad. Aunque se especula que la entrada se produjo unos años antes a través de la importación de madera o de algún vector (escarabajo) infectado con el nemátodo procedente de China. Incluso se apunta a que pudo estar relacionado con la construcción de los pabellones e infraestructuras para la exposición universal de 1998 de Lisboa, época en la que fue necesaria la importación de gran cantidad de materiales de países extranjeros (Fig. 1).

Figura 1. Distribución mundial del *Bursaphelenchus xylophilus*



El nemátodo también se ha detectado en otras especies de pino presentes en la Península Ibérica como son el pino negral (*Pinus nigra*), una especie autóctona europea que se distribuye por el sur del continente y el pino de Monterrey (*Pinus radiata*), una especie exótica procedente del oeste de Estados Unidos y ampliamente distribuida tanto en Portugal como en España, en las plantaciones forestales para la obtención de madera ((Inácio et al., 2015). Posteriormente, en 2009 se detectó en la Isla de Madeira (Portugal).

En España, el nemátodo se detectó por primera vez en octubre de 2008 en la Sierra de Dios Padre, situada en la Comunidad Autónoma de Extremadura. Las Autoridades españolas declararon erradicado este brote (de un único árbol infestado) el 16 de enero de 2013. Desde ese primer caso, se han erradicado otros dos brotes en Valverde del Fresno (Comunidad Autónoma de Extremadura) y en Sancti-Spiritus (Comunidad Autónoma de Castilla y León). A pesar de esos intentos de erradicación, en España actualmente hay tres zonas demarcadas: La primera de ellas en As Neves (Pontevedra), en la Comunidad Autónoma de Galicia, en la que fue detectada el primer brote en 2010. La segunda en Lagunilla (Salamanca) cuya zona demarcada afecta a las Comunidades Autónomas de Castilla y León y Extremadura, siendo detectado el brote en 2018. La tercera en Sierra de la Malvana (Valverde del Fresno, Cáceres), afectando a las mismas comunidades anteriormente citadas y cuyo brote se detectó en 2019 (Abelleira et al., 2011) ([www.mapa.gob.es](http://www.mapa.gob.es)) (Fig. 2).

Figura 2. Distribución España *Bursaphelencus xylophilus* (www.mapa.gob.es)



El género *Pinus* es el más utilizado en plantaciones forestales industriales en todo el mundo (Mbabazi, 2011). El pino marítimo (*P. pinaster*) es un componente clave de la industria maderera y se puede encontrar en varios países de Europa occidental, como Portugal, España, Francia y en algunos países del norte de África (Chupin et al., 2015) (Fig. 3). Concretamente en Portugal, según el último inventario del Bosque Nacional, el pino marítimo ocupa el 23% de la superficie forestal del continente y generó un Valor Añadido Bruto de 1.030 millones de euros y un valor de exportación de 1.475 millones de euros, lo que representa el 3,3% de las exportaciones nacionales de dicho país (ICFN, 2019).

Figura 3. Distribución *Pinus pinaster* (www.edu.forestry.es)



En España, los pinares de pino marítimo ocupan 1.373.000 ha, lo que representa un 7,5% de la superficie forestal. Los principales usos de esta especie son las plantaciones forestales para el uso en la industria maderera, sobre todo en el norte de la Península Ibérica, siendo Galicia el referente en el sector forestal, ya que el 50% de la madera que se corta en España procede de esta comunidad. La riqueza de los bosques en esta zona está cifrada en 43.000 millones de euros, de los cuales el 20% corresponden a coníferas como el pino (Conselleria de medio rural, Xunta de Galicia). Otro de los principales aprovechamientos forestales es la extracción de la trementina, compuesta principalmente por resina. Mediante la destilación de ésta última, se obtiene el aguarrás o esencia de trementina, que es un líquido volátil, casi incoloro y de intenso olor, que se emplea como disolvente de pinturas y para fabricar compuestos aromáticos sintéticos y algunos desinfectantes. El residuo generado tras la destilación se denomina colofonia, con la que se fabrican barnices, adhesivos y otros productos químicos.

A pesar de que el uso de este pino para la extracción de la trementina ha disminuido con el paso del tiempo, en algunas regiones castellanas y en Portugal, está aumentando su producción gracias a la

aparición de nuevas técnicas de extracción de resina y a la mejora genética aplicada a conseguir un aumento de la producción de esta resina por parte las plantas mejoradas. Por otro lado, se están incorporando otras zonas para la producción de resina, en las que no era tan tradicional este uso, como es el caso de Galicia (Márquez et al., 2023). El pino marítimo, además de estos dos usos principales tiene otros menores como la recogida de las piñas, que son muy apreciadas para encender fuego porque arden con facilidad. La corteza, que se empleaba tradicionalmente para curtir las pieles, en la actualidad se usa también en jardinería para evitar el crecimiento de malas hierbas y mantener humedad en el suelo. Finalmente, otro de los usos actuales de este pino, es la realización de plantaciones destinadas a zonas de recreo y a protección del suelo.

A pesar de la importancia económica y social del pino marítimo, en los últimos años se observa con preocupación, una fuerte reducción de la producción e importantes pérdidas de superficie y volumen, debido a los incendios forestales y también a la propagación del nematodo de la madera del pino (sobre todo en Portugal) (Abad Viñas et al., 2016).

#### **4. LUCHA CONTRA EL NEMÁTODO DEL PINO Y RESPUESTA DE LAS PLANTAS A LOS PATÓGENOS**

Debido al grave deterioro de los bosques de pino en todo el mundo causado por el nematodo, se han realizado muchos esfuerzos para contener la progresión de esta enfermedad. Los primeros métodos de control contra la enfermedad del marchitamiento del pino se basaron por un lado en aplicaciones tanto aéreas como terrestres de insecticidas para eliminar los insectos vectores del nematodo y por otro, en la inyección de nematicidas en los pinos (Lee et al., 2003; Vicente et al., 2012). Este último método, sin embargo, está cada vez más cuestionado y restringido, debido a sus efectos nocivos para el medio ambiente y la salud humana, así como a los efectos indeseables en organismos no objetivo (Park et al., 2007). El método de control al que se tiende en la actualidad se basa en el uso de trampas de feromonas dirigidas al insecto vector *Monochamus galloprovincialis* (especie presente en la Península Ibérica y la que actúa como vector en nuestra región) (Álvarez et al., 2016) y el desarrollo de programas de mejora vegetal, para buscar e implementar tolerancia contra esta enfermedad (Carrasquinho et al., 2018; Menéndez-Gutiérrez et al., 2018). Sin embargo, estos enfoques tienen un alto costo, requieren mucho tiempo y han demostrado un éxito limitado en plantaciones más antiguas (Carrasquinho et al., 2018).

Ante esta situación, surge la necesidad de explorar estrategias más sostenibles y menos invasivas para el control de la enfermedad, como el uso de hongos ectomicorrízicos (agentes biológicos). Las micorrizas son uno de los tipos de simbiosis más comunes en la naturaleza, y su estudio es de gran interés para la agricultura, debido a los beneficios que aportan a los cultivos, mejorando la absorción de agua y nutrientes. La palabra "micorriza" proviene del griego *mycos*, que significa hongo, y *rhizos*, que significa raíz, y describe la relación cooperativa entre un hongo y una planta, en la que ambos se benefician. En el caso de las ectomicorrizas, los hongos no penetran en las células de la planta, sino que forman una red de hifas que envuelven las raíces, creando lo que se conoce como "manto micorrízico".

Este tipo de simbiosis es especialmente frecuente en bosques, donde los hongos ectomicorrízicos establecen una relación estrecha con árboles y arbustos, favoreciendo su crecimiento y resistencia (Chu et al., 2019). Por otro lado, la resistencia de las plantas a los patógenos involucra un complejo mecanismo de defensa en el que intervienen diversos genes y rutas metabólicas implicadas en la resistencia. En los estudios más recientes, se está investigando también la activación de estas rutas mediante el uso de elicitadores. Estos son sustancias que activan las defensas naturales de las plantas, desencadenando una respuesta en sus vías de defensa. Los elicitadores, que pueden ser de origen natural o sintético, imitan las señales que las plantas reciben cuando están siendo atacadas por patógenos como hongos, bacterias o insectos. Al ser detectados por las plantas, provocan una serie de reacciones químicas en ellas que refuerzan sus defensas, aumentando su resistencia ante posibles daños. De este modo, los elicitadores ayudan a proteger las plantas de enfermedades sin recurrir a pesticidas químicos, lo que los convierte en una herramienta prometedora para la agricultura sostenible (López-Villamor et al., 2022).

Las plantas presentan principalmente dos vías de resistencia contra los patógenos. Una es la resistencia sistémica adquirida (SAR, por sus siglas en inglés) que es un mecanismo de defensa natural de las plantas que se activa cuando la planta está siendo atacada por patógenos biotróficos y hemibiotróficos. Los patógenos biotróficos son como "inquilinos" que invaden la planta, pero en lugar de matarla de inmediato, viven dentro de ella alimentándose de sus nutrientes, mientras que los hemibiotróficos son un tipo de patógeno intermedio. Al principio, actúan como biotróficos, sin embargo, a medida que se van desarrollando, pueden llegar a ser necrotrofos causando daños o incluso la muerte de la planta (Klessig et al., 2018; Tripathi et al., 2019). Esta respuesta SAR no se limita al punto de ataque, sino que se extiende por toda la planta, proporcionando una protección duradera frente a futuras infecciones. El proceso se activa a través de señales químicas que recorren la planta, siendo su principal mediador el ácido salicílico. Queda así en la planta una especie de "memoria inmunológica", que le permite defenderse de manera más eficiente si vuelve a enfrentarse a un patógeno similar.

La otra vía es la resistencia sistémica inducida (ISR, por sus siglas en inglés), que es como una especie de "vacuna" que las plantas pueden activar cuando se exponen a ciertos patógenos o incluso a ciertos agentes no patógenos. Se trata de un mecanismo de defensa que permite a la planta prepararse para futuros ataques, no solo en el área donde ocurrió el primer contacto con el patógeno, sino en toda ella. La ISR está asociada a patógenos necrotrofos e insectos herbívoros y es mediada por el ácido jasmónico (JA) y el etileno (ET) (Bari & Jones, 2009; Kolosova & Bohlmann, 2012).

Estas investigaciones que estudian los mecanismos de defensa representan alternativas prometedoras frente al uso de pesticidas. Aunque aún se encuentran en fase de desarrollo, podrían ofrecer un avance significativo en el manejo de la enfermedad.

## **5. LA COMPLEJIDAD DE LAS INTERACCIONES ENTRE EL NEMÁTODO Y SU HUÉSPED. ALTERNATIVAS SOSTENIBLES CONTRA LA MARCHITEZ DEL PINO**

Desde la llegada del nemátodo de la madera del pino (*Bursaphelenchus xylophilus*) a la Península Ibérica, investigadores de Portugal y España han impulsado diversos proyectos para comprender mejor esta plaga y desarrollar estrategias sostenibles de control. Una de estas iniciativas fue el proyecto POINTERS, llevado a cabo entre 2018 y 2021 por la Universidade Católica Portuguesa, la Universidade de Coimbra y la Misión Biológica de Galicia (CSIC). Su objetivo fue profundizar en las interacciones entre el nemátodo y el pino para identificar alternativas ecológicas que reduzcan el impacto de la enfermedad.

Los estudios se centraron en dos áreas clave: la proteómica y la metabolómica. La proteómica permitió analizar las proteínas expresadas durante la infección, revelando alteraciones en las respuestas inmunológicas del pino, en particular en proteínas relacionadas con el estrés oxidativo y la defensa celular. Por otro lado, la metabolómica identificó cambios en el perfil de compuestos como fenoles, terpenos y ácidos grasos, conocidos por su papel en la resistencia de las plantas a patógenos (Rodrigues et al., 2024).

Uno de los enfoques más prometedores explorados en POINTERS fue el uso de elicitadores, sustancias que estimulan las defensas naturales del pino y de las que ya he hablado más arriba. Se probó la aplicación de estos compuestos en *Pinus pinaster*, observando que, además de inducir respuestas defensivas, influían en la comunidad bacteriana asociada a los árboles, favoreciendo microorganismos beneficiosos. Sin embargo, los resultados sugieren que, aunque efectivos, los elicitadores deben combinarse con otras estrategias de manejo para garantizar un control duradero de la enfermedad en los bosques.

Otro hallazgo clave fue el papel del ácido jasmónico (AJ), una fitohormona fundamental en la respuesta defensiva de las plantas, a la que también se hace referencia en párrafos anteriores. Se evaluó la aplicación de metil jasmonato, un derivado del AJ, en distintas especies de pinos con diferentes niveles de resistencia al nemátodo (López-Villamor et al., 2022). Los resultados mostraron que esta fitohormona

modula la expresión de genes relacionados con la defensa y la producción de metabolitos protectores, aunque su acción no es exclusiva y se encuentra en interacción con otras vías hormonales. Estos avances resaltan la complejidad de las interacciones entre el nemátodo y su huésped, y abren nuevas perspectivas para el control sostenible de la marchitez del pino.

Como continuación y complemento de los estudios previos sobre la interacción entre *Bursaphelenchus xylophilus* y su huésped, entre 2022 y 2024 se desarrolló el proyecto BIOBAP en la Misión Biológica de Galicia, con financiación de la Xunta de Galicia. Este trabajo se centró en un enfoque innovador: el papel de las bacterias endófitas en la resistencia de los pinos al nemátodo.

Las plantas conviven generalmente con una compleja microbiota compuesta por virus, bacterias y hongos (Chialva et al., 2022). Entre estos microorganismos, las bacterias endófitas, que habitan en los tejidos vegetales sin causar daño, pueden desempeñar un papel clave en la defensa contra patógenos dañinos (Ownley et al., 2004). Su capacidad para producir fitohormonas y activar mecanismos de resistencia ha despertado gran interés en la lucha contra enfermedades que afectan el xilema y el floema, como el marchitamiento del pino (Rabiey et al., 2019).

En BIOBAP se exploró la relación entre la microbiota endófitas y la resistencia al nemátodo en diferentes especies de pinos, comparando árboles sanos e infectados, tratados o no con metil jasmonato. Se buscaba identificar bacterias con potencial para inhibir el crecimiento del nemátodo y mejorar la resistencia de especies susceptibles como el pino marítimo (*P. pinaster*).

Los resultados fueron prometedores. Se aislaron doce cepas bacterianas, algunas de las cuales mostraron una notable capacidad para frenar el desarrollo del nemátodo en ensayos de laboratorio y en plántulas infectadas. Además, ciertas cepas no solo ofrecieron protección contra la enfermedad, sino que también estimularon el crecimiento del pino, lo que sugiere un doble beneficio ecológico.

Estos hallazgos refuerzan la idea de que la microbiota vegetal puede ser una herramienta clave en la lucha contra el marchitamiento del pino. En lugar de depender exclusivamente de pesticidas, el uso de bacterias beneficiosas se presenta como una alternativa sostenible y respetuosa con el medio ambiente. A medida que se profundiza en el estudio de estas interacciones, se abren nuevas perspectivas para el desarrollo de estrategias de biocontrol que fortalezcan la salud de los bosques y contribuyan a su conservación en un contexto de cambio global.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- Abad Viñas, R., Caudullo, G., Oliveira, S., & de Rigo, D. (2016). *Pinus pinaster in Europe: distribution, habitat, usage and threats*.
- Abelleira, A., Picoaga, A., Mansilla, J. P., & Aguin, O. (2011). Detection of *Bursaphelenchus xylophilus*, causal agent of pine wilt disease on *Pinus pinaster* in Northwestern Spain. *Plant Disease*, 95(6), 776.
- Álvarez, G., Gallego, D., Hall, D. R., Jactel, H., & Pajares, J. A. (2016). Combining pheromone and kairomones for effective trapping of the pine sawyer beetle *Monochamus galloprovincialis*. *Journal of Applied Entomology*, 140(1–2), 58–71.
- Bari, R., & Jones, J. D. G. (2009). Role of plant hormones in plant defence responses. *Plant Molecular Biology*, 69(4), 473–488.
- Carrasquinho, I., Lisboa, A., Inácio, M. L., & Gonçalves, E. (2018). Genetic variation in susceptibility to pine wilt disease of maritime pine (*Pinus pinaster* Aiton) half-sib families. *Annals of Forest Science*, 75(3), 85.
- Chialva, M., Lanfranco, L., & Bonfante, P. (2022). The plant microbiota: Composition, functions, and engineering. *Current Opinion in Biotechnology*, 73, 135–142.
- Chu, H., Wang, C., Li, Z., Wang, H., Xiao, Y., Chen, J., & Tang, M. (2019). The dark septate endophytes and ectomycorrhizal fungi effect on *Pinus tabulaeformis* carr. seedling growth and their potential effects to pine wilt disease resistance. *Forests*, 10(2), 140.

- Chupin, L., Maunu, S. L., Reynaud, S., Pizzi, A., Charrier, B., & Bouhtoury, F. C.-E. (2015). Microwave assisted extraction of maritime pine (*Pinus pinaster*) bark: Impact of particle size and characterization. *Industrial Crops and Products*, *65*, 142–149.
- EPPO. (2025). *European and Mediterranean Plant Protection Organization*.
- Futai, K. (2013). Pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. *Annual Review of Phytopathology*, *51*(1), 61–83.
- ICFN. (2019). *6º Inventário Florestal Nacional*. <http://www2.icnf.pt/portal/florestas/ifn/ifn6>
- Inácio, M. L., Nóbrega, F., Vieira, P., Bonifácio, L., Naves, P., Sousa, E., & Mota, M. (2015). First detection of *Bursaphelenchus xylophilus* associated with *Pinus nigra* in Portugal and in Europe. *Forest Pathology*, *45*(3), 235–238. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/efp.12162>
- Klessig, D. F., Choi, H. W., & Dempsey, D. A. (2018). Systemic acquired resistance and salicylic acid: past, present, and future. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, *31*(9), 871–888.
- Kolossova, N., & Bohlmann, J. (2012). Conifer defense against insects and fungal pathogens. In *Growth and defence in plants* (pp. 85–109). Springer.
- Kuroda, K. (2008). Physiological incidences related to symptom development and wilting mechanism. In *Pine wilt disease* (pp. 204–222). Springer.
- Lee, S. M., Chung, Y. J., Lee, S. G., Lee, D. W., Choo, H. Y., & Park, C. G. (2003). Toxic effects of some insecticides on the Japanese pine sawyer, *Monochamus alternatus*. *Journal of Korean Forestry Society*.
- López-Villamor, A., da Silva, M., & Vasconcelos, M. W. (2022). Evaluation of plant elicitation with methyl-jasmonate, salicylic acid and benzo (1, 2, 3)-thiadiazole-7-carbothioic acid-S-methyl ester for the sustainable management of the pine wilt disease. *Tree Physiology*, *42*(12), 2596–2613.
- Márquez, M. L., Lopez-Villamor, A., & Arregui, R. Z. (2023). Efectos colaterales del aprovechamiento resinero sobre el crecimiento, la reproducción y la sanidad de las masas. *Foresta*, *86*, 40–45.
- Mbabazi, J. (2011). *Ecosystem goods and services from plantation forests*. Taylor & Francis.
- Menéndez-Gutiérrez, M., Alonso, M., Toval, G., & Díaz, R. (2018). Testing of selected *Pinus pinaster* half-sib families for tolerance to pinewood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*). *Forestry: An International Journal of Forest Research*, *91*(1), 38–48.
- Ownley, B. H., Pereira, R. M., Klingeman, W. E., Quigley, N. B., Leckie, B. M., Lartey, R. T., & Caesar, A. J. (2004). *Beauveria bassiana*, a dual purpose biocontrol organism, with activity against insect pests and plant pathogens. *Emerging Concepts in Plant Health Management. Research Signpost, India*, 255–269.
- Park, I.-K., Kim, J., Lee, S.-G., & Shin, S.-C. (2007). Nematicidal activity of plant essential oils and components from ajowan (*Trachyspermum ammi*), allspice (*Pimenta dioica*) and litsea (*Litsea cubeba*) essential oils against pine wood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*). *Journal of Nematology*, *39*(3), 275.
- Rabiey, M., Hailey, L. E., Roy, S. R., Grenz, K., Al-Zadjali, M. A. S., Barrett, G. A., & Jackson, R. W. (2019). Endophytes vs tree pathogens and pests: can they be used as biological control agents to improve tree health? *European Journal of Plant Pathology*, *155*(3), 711–729.
- Rodrigues, A. M., da Silva, M. N., Vasconcelos, M., & António, C. (2024). Metabolomics of *Pinus* spp. in Response to Pinewood Nematode Infection. In *Monitoring Forest Damage with Metabolomics Methods* (pp. 389–419). <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9781119868750.ch13>
- Tripathi, D., Raikhy, G., & Kumar, D. (2019). Chemical elicitors of systemic acquired resistance—Salicylic acid and its functional analogs. *Current Plant Biology*, *17*, 48–59.
- Tuladhar, P., Sasidharan, S., & Saudagar, P. (2021). 17 - Role of phenols and polyphenols in plant defense response to biotic and abiotic stresses. In S. Jogaiah (Ed.), *Biocontrol Agents and Secondary Metabolites* (pp. 419–441). Woodhead Publishing. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822919-4.00017-X>
- Vicente, C., Espada, M., Vieira, P., & Mota, M. (2012). Pine wilt disease: a threat to European forestry. *European Journal of Plant Pathology*, *133*(1), 89–99.