



7º CONGRESO FORESTAL ESPAÑOL

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

26 - 30 junio 2017 | Plasencia
Cáceres, Extremadura

7CFE01-484

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 procedencias europeas de *Pinus sylvestris* frente *Fusarium circinatum*

Flores-Pacheco, J.A. ^{1, 2}, Muñoz-Adalia, E.J. ^{1,}, Martínez-Álvarez, P. ^{1,}, Martín García, J. ¹, Woodward, S. ³, Diez, J.J. ¹.

¹ Instituto Universitario de Investigación en Gestión Forestal Sostenible (iuFOR), Universidad de Valladolid-INIA, Avda. Madrid, 44, 34001, Campus "La Yutera", Palencia, España.

² Facultad de Recursos Naturales y Medio Ambiente, Bluefields Indian & Caribbean University- BICU, Apartado postal N° 88, Avenida Universitaria, Bluefields, Nicaragua.

³ Institute of Biological and Environmental Sciences, University of Aberdeen, Cruickshank Building, St. Machar Drive, Aberdeen.

✉ Correspondencia: juan18asdrubal@gmail.com

☎ Teléfono: + (34) 979-108-432

RESUMEN

El hongo *Fusarium circinatum* Nirenberg & O'Donnell, causante del chancro resinoso del pino, es actualmente la enfermedad más importante de masas de coníferas silvestres y comerciales a nivel mundial. Ha tenido una expansión global en los últimos años amenazando a países donde aún no se conoce su presencia. En este estudio describimos la acción patogénica pre-germinación y post-emergencia por medio de pruebas de patogenicidad con procedencias europeas de *Pinus sylvestris* y *Pinus radiata*. Estas procedencias fueron inoculadas vía sustrato en tres concentraciones esporales (50, 10³ y 10⁶ esporas ml⁻¹) midiendo el porcentaje de germinación y el tiempo de supervivencia. Se utilizaron las pruebas chi-cuadrado (X²) y el estimador de supervivencia de Kaplan-Meier (P=0.95). Demostramos que en relación a la concentración esporal utilizada, hay diferencias significativas en el tiempo de mortalidad, variando también la susceptibilidad de las procedencias, destacando en susceptibilidad las procedencias de Austria, Reino Unido, Grecia y España. Esto indica que la diversidad geográfica de los hospederos no es un limitante para la expansión de la enfermedad, a la vez se confirma la alta patogenicidad para el género *Pinus*. La variabilidad climática puede favorecer la expansión de la enfermedad en zonas libre del patógeno.

Palabras claves

Patogenicidad, resistencia, distribución, supervivencia, expansión.

1. Introducción

La enfermedad del Chancro Resinoso del Pino, es una grave patología forestal que es causada por el hongo ascomicete *Fusarium circinatum*, principalmente sobre las especies del género *Pinus*, y sobre *Pseudotsuga menziesii* (Mirb) (NIRENBERG Y O'DONNELL, 1998), aunque se sabe de la susceptibilidad de *Picea abies* (Flores-Pacheco, et al. Datos no publicados). La enfermedad afecta con más virulencia la especie de *Pinus radiata* D. Don, que es la conífera más plantada en todo el mundo (CRITCHFIELD, 1966). La enfermedad fue detectada por primera vez en el sureste de Estados Unidos de América (EEUU) sobre *Pinus virginiana* Mill (HEPTING AND ROTH, 1946), aunque se cree que el patógeno es endémico tanto de ahí como de México (DWINELL, 1985; GUERRA-SANTOS, 1998). Desde entonces se ha extendido por gran parte de la geografía mundial. En muchos casos a causa de las prácticas de manejo forestal intensivo (DWINELL, 1985). Así, hasta el momento el patógeno se ha detectado en Haití donde afectaba a *Pinus occidentalis* (GEORGE ET AL., 1946). Sin embargo, no fue hasta 1986 cuando su expansión se aceleró ganando importancia en las plantaciones nativas e industriales de pino a nivel mundial con mayor énfasis en *Pinus radiata* (GORDON ET AL., 1996). En el año 1987 se registró la primera infección en Asia, específicamente en Japón (EUROPEAN UNION, 2011) sobre *Pinus luchuensis*. En el mismo año se detectó en México afectando a *Pinus radiata* (SCHWEIGKOFER ET AL., 2004). Desde entonces se ha detectado en 19 especies de pino en la zona central de México (ÁLVAREZ-LOAYZA & TERBORGH, 2013). El Ministerio de

Agricultura y Montes de Nueva Zelanda (ITURRITXA ET AL., 2011) con fecha de 29 de abril de 2010 ha declarado la detección de material vegetal procedente de Canadá infectado *F. circinatum* (MITCHELL ET AL., 2013). La enfermedad es reportada en Sudáfrica por PORTER ET AL., (2009), a pesar que se conoce de posibles afectaciones desde 1994. En este reporte se confirma que *Fusarium circinatum* es el causante de la pudrición radicular en *Pinus patula* y *Pinus radiata*, siendo este el más susceptible, se observó esta sintomatología y daños en campo y en viveros.

En los últimos años su expansión ha continuado por diversas áreas del mundo, tales como Chile (WINGFIELD, ET AL., 2002, THWAITES ET AL., 2005), España (LANDERAS ET AL., 2005), Portugal (BRAGANÇA ET AL., 2009), Italia (CARLUCCI ET AL., 2007), Corea del Sur (LEE ET AL., 2009), Uruguay (ALONSO & BETTUCCI, 2009) y Colombia (STEENKAMP et al., 2012). Se reportó el ingreso del patógeno en Nueva Zelanda y el inicio de su caracterización epidemiológica para las especies de *Pinus* locales (MEASON & MASON, 2014). El último reporte confirmado se tiene en Brazil (PFENNING et al., 2014). Esta enfermedad estaba dentro de la lista A1 de la EPPO (European Plant Protection Organization) hasta el momento en que se detectó en España y Francia (actualmente erradicado), pasando entonces a aparecer dentro de la lista de cuarentena A2 (plagas presentes en alguna región de la EPPO) (MEDITERRANEAN, 2009).

Basado en lo dicho anteriormente, presentamos un estudio en el que empleamos diecinueve procedencias de europeas de *Pinus sylvestris* y una de *Pinus radiata*, que funciona como control por su conocida susceptibilidad a la enfermedad, en el cual evaluamos la susceptibilidad de las diferentes procedencias de estas especies a *Fusarium circinatum*, por medio de su acción pre-germinación y post-emergencia en semillas y plántulas, respectivamente. Estimamos la virulencia a través de la tasa de la mortalidad, en relación al tiempo, de la utilización de tres concentraciones esporales del patógenos en las distintas procedencias. Esto nos permite conocer el potencial de expansión del hongo por territorio europeo en relación a la diversidad geográfica de los hospedantes. Nuestra hipótesis se centra en la posibilidad identificar una procedencia de *Pinus sylvestris* resistente o con elevada tolerancia a *Fusarium circinatum*, con lo que se ampliarían las opciones de manejo de la enfermedad.

2. Objetivos

- ✓ Evaluar el grado de patogenicidad de *Fusarium circinatum* en *Pinus sylvestris* por medio de la evaluación de mortalidad en pre-germinación y post-emergencia.
- ✓ Estimar la virulencia de *Fusarium circinatum* en base a la velocidad y tasa de mortalidad en *Pinus sylvestris*.
- ✓ Estudiar el efecto de la dosis del inoculo de *Fusarium circinatum* en distintas procedencias europeas de *Pinus sylvestris*.

3. Metodología

El micelio del hongo *Fusarium circinatum* (aislado FcCa6), se sembró en PDA (Patata - Dextrosa - Agar). Posteriormente se preparó 1 litro de PDB Scharlau® (Potato Dextrose Broth). A la solución se agregarán 24 gramos de PDB por litro de agua destilada, sometida a un ciclo de autoclave a 120° C por 20 minutos en matraz Erlenmeyer de un litro de capacidad. Una vez que la solución alcanza temperatura ambiente (aproximadamente 24° C) se cortan 5 trozos de PDA con micelio de aproximadamente 5 mm diámetro depositándolos en 1 litro de PDB. Se colocó el matraz Erlenmeyer en el agitador orbital a 180 ciclos por minuto durante 24 horas continuas. Pasado este tiempo se procedió al conteo de esporas con un hemocitómetro ajustando la suspensión a tres concentraciones,

50, 10^3 , 10^6 esporas ml^{-1} . Para ajustar las suspensiones a las concentraciones deseadas se adicione agua destilada esterilizada (MARTÍNEZ-ÁLVAREZ *et al.*, 2014). Para el establecimiento del ensayo se utilizan bandejas de germinación de 96 alveolos de 36 cc cada uno. Se colocó una semilla por alveolo. El control se establece con igual cantidad de semillas. Cada alveolo es inoculado con 100 μl suspensión esporal (CABEZA ET AL., 2006). Las bandejas inoculadas se mantuvieron en condiciones controladas a 25° C de temperatura con un fotoperiodo de 16 horas luz, 60% humedad relativa y con régimen de riego semanal con agua destilada estéril.

El análisis estadístico de la supervivencia de las plántulas de *Pinus sylvestris* y *Pinus radiata* frente a las distintas dosis inoculadas de *Fusarium circinatum* se llevó a cabo mediante el estimador no paramétrico de Kaplan-Meier (K-M). Utilizando el paquete estadístico “Survival” implementado sobre el programa “R” (R-DEVELOPMENT-CORE-TEAM, 2013). Con las curvas de funciones de supervivencia que fueron calculadas usando la función “survit”. La prueba estadística para determinar diferencias entre dos o más curvas de supervivencia se calcularon con la función Test survival differences.

4. Resultados

Pre-germinación

Al realizar la prueba de pre-germinación con la concentración esporal de 50 esporas ml^{-1} de *Fusarium circinatum* (Figura 1 A). En esta concentración la procedencia más susceptible al patógeno procedente de Reino Unido (BA) que tuvo una germinación de 48% ($p=0.02$), en comparación al control correspondiente que tuvo una germinación de 78.95%. En una segunda fase de la evaluación se utilizó una concentración esporal 10^3 esporas ml^{-1} (Figura 1 B), se confirmó la mayor susceptibilidad de la procedencia de Grecia (GR1) con un 23% de germinación ($p=0.001$), respecto a su control que registro un 63% de germinación. Con el fin de conocer el efecto de concentraciones elevadas del inóculo de *Fusarium circinatum*, utilizamos una concentración de 10^6 esporas ml^{-1} (Figura 1 C), lo cual brindó datos similares a los ya descritos. En orden de sensibilidad se mantuvieron en el siguiente orden las procedencias, North Central - Glen Afric de Reino Unidos (GA) con 50% de germinación ($p=0.007$), la procedencia de Turquía (TU2) con 56% ($p=0.008$), de germinación y la polaca (PO1) con el 57% de germinación ($p=0.007$). Esto, en relación al control correspondiente para cada procedencia evaluada.

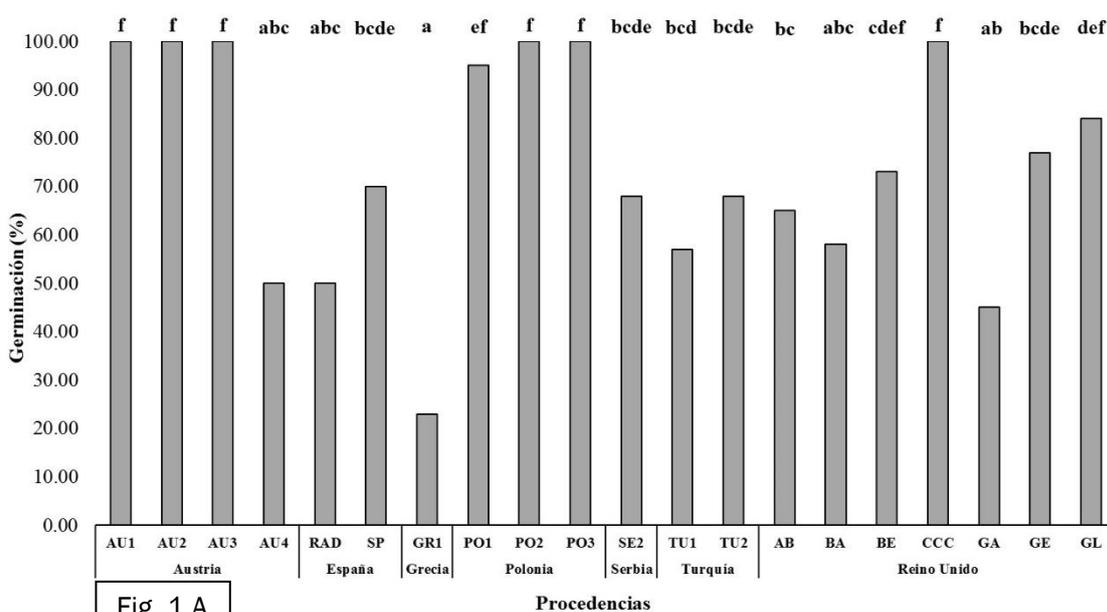


Fig. 1 A

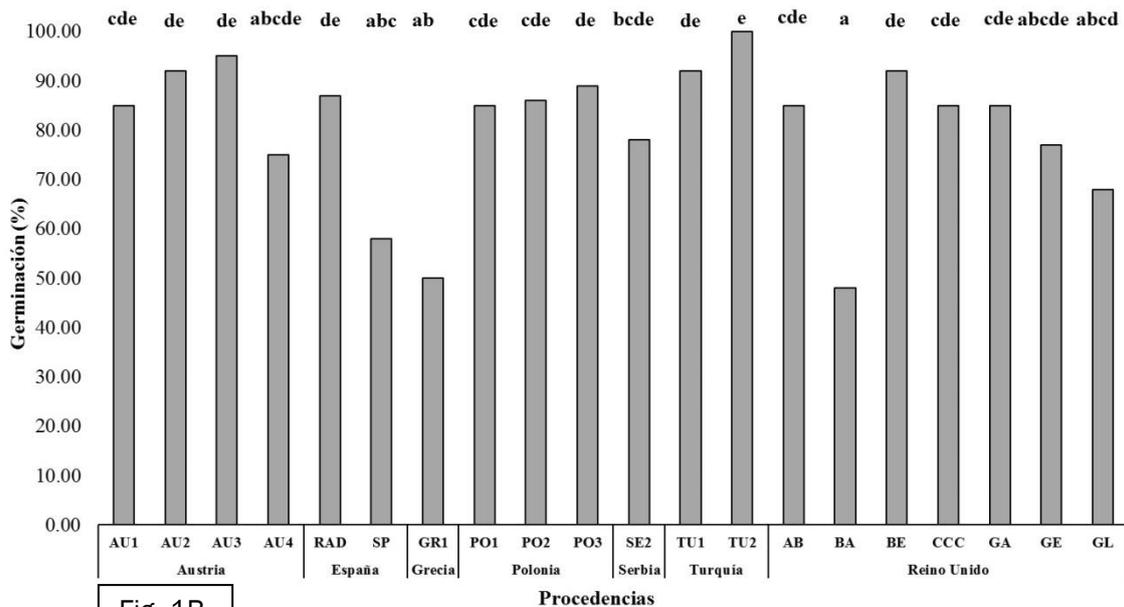


Fig. 1B

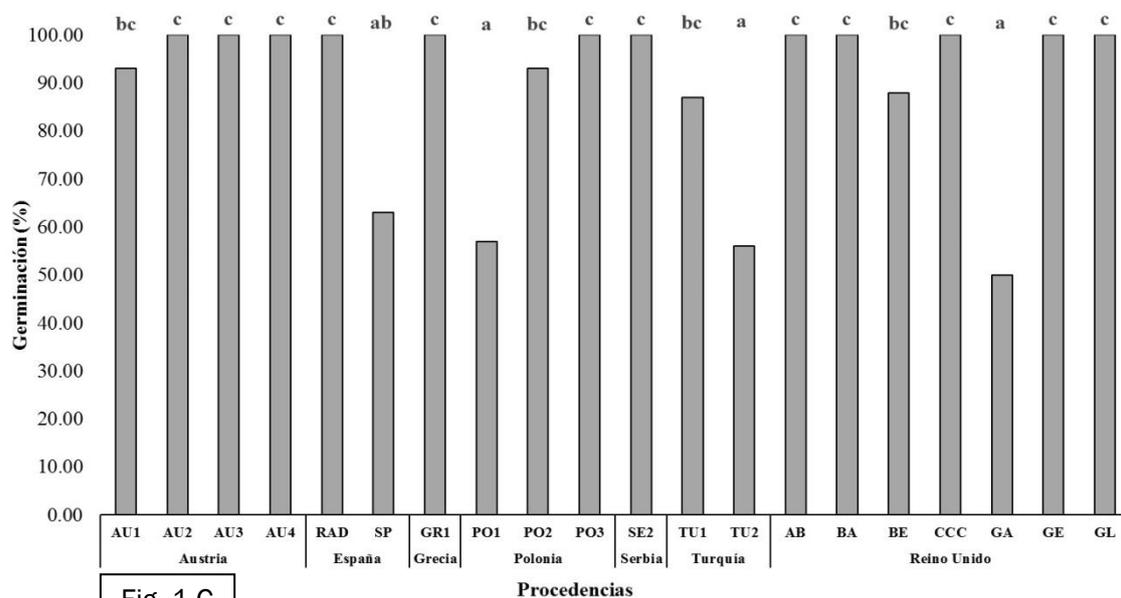


Fig. 1 C

Figura 1. Efecto pre-germinativo en la reducción de la germinación en semillas de *Pinus sylvestris* y *Pinus radiata* inoculadas con *Fusarium circinatum* **A)** 50 esporas ml⁻¹; **B)** 10³ esporas ml⁻¹; **C)** 10⁶ esporas ml⁻¹. Las procedencias se diferencian y ordenan por bloques de origen. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa (χ^2 = prueba chi-cuadrado, $P=0.95$) entre procedencias comparadas con semillas control. Se grafica utilizando los valores de la media.

Post-emergencia

Para la concentración esporal de 50 esporas ml⁻¹ (Tabla 1), se encuentra que las procedencias de *Pinus sylvestris* más susceptibles son las pertenecientes a Austria, AU1 – AU4 (p =0.001), que murieron entre los días 32 - 35 posterior a la inoculación del hongo. En el caso de la concentración esporal de 10³ esporas ml⁻¹ el tiempo de muerte de las plantas se reduce a 15 días. Las procedencias más destacadas en cuanto a la susceptibilidad son AU1 con muerte de las plantas entre los 5-14 días (p=0.001), PO1 con 3-12 días (p =0.001), TU2 con 3-12 días (p=0.001) y *Pinus radiata* (Rad) de España con 2-14 días (p=0.001), desde la inoculación. En medida que se aumentó la concentración esporal, se reduce el tiempo, así pues, al usar la concentración de 10⁶ esporas ml⁻¹ se redujo el tiempo a 12 días de sobrevivencia.

Tabla 1. Sobrevivencia post-emergencia para cada procedencia de plántulas *Pinus sylvestris* y *Pinus radiata* para la inoculación con suspensión esporal de *Fusarium circinatum* a 50 esporas ml⁻¹; 10³ esporas ml⁻¹ y 10⁶ esporas ml⁻¹. Se utiliza el estimador no paramétrico de Kaplan-Meier (K-M, P=0.95) para la supervivencia en función del tiempo (días) en relación a la probabilidad de muerte de las plántulas.

Código	Especie	50 esporas ml ⁻¹		10 ³ esporas ml ⁻¹		10 ⁶ esporas ml ⁻¹	
		X ²	Significación	X ²	Significación	X ²	Significación
AU1	<i>P. sylvestris</i>	18.150	**	20.880	**	19.100	**
AU2	<i>P. sylvestris</i>	15.200	ns	3.200	**	8.160	**
AU3	<i>P. sylvestris</i>	15.200	**	17.140	**	16.970	**
AU4	<i>P. sylvestris</i>	17.110	**	10.830	**	12.920	**
AB	<i>P. sylvestris</i>	1.000	ns	7.400	**	14.230	**
BA	<i>P. sylvestris</i>	0.000	ns	6.070	**	11.910	**
BE	<i>P. sylvestris</i>	0.000	ns	10.580	**	32.000	**
CCC	<i>P. sylvestris</i>	1.000	ns	10.200	**	112.150	**
GA	<i>P. sylvestris</i>	0.000	ns	7.540	**	19.710	**
GE	<i>P. sylvestris</i>	1.000	ns	9.770	**	12.090	**
GL	<i>P. sylvestris</i>	1.100	ns	11.510	**	29.110	**
GR1	<i>P. sylvestris</i>	1.000	ns	4.660	**	12.030	**
PO1	<i>P. sylvestris</i>	0.007	ns	26.700	**	19.210	**
PO2	<i>P. sylvestris</i>	0.005	ns	15.550	**	29.000	**
PO3	<i>P. sylvestris</i>	0.013	ns	23.670	**	3.010	**
SE2	<i>P. sylvestris</i>	1.000	ns	17.230	**	10.090	**
TU1	<i>P. sylvestris</i>	1.000	ns	9.620	**	21.030	**
TU2	<i>P. sylvestris</i>	1.000	ns	21.890	**	17.630	**
SP	<i>P. sylvestris</i>	1.000	ns	10.010	**	10.580	**
RAD	<i>P. radiata</i>	31.000	**	19.710	**	20.240	**

* = Diferencia significativa $\alpha = 0.05$; ** = Diferencia significativa $\alpha = 0.01$; ns = Sin diferencia significativa.

5. Discusión

Hemos comprobado la susceptibilidad de veinte procedencias y dos especies del género *Pinus* a *Fusarium circinatum* en semillas, efecto de pre-germinación, y en plántulas, efecto post-emergencia, al inocular al sustrato, con tres concentraciones esporales del hongo. Con ello, no solo demostramos que existen diferencias significativas en cuanto a la susceptibilidad al ser relacionada con la concentración del inoculo y la procedencia del género *Pinus*, sino también, con el tiempo requerido por el hongo para inducir la muerte de la plántula. Estudios previos en procedencias y especies americanas, europeas y asiáticas del género *Pinus* han encontrados diferencias sustanciales en la susceptibilidad a *Fusarium circinatum* (HODGE & DVORAK, 2007). La mayor parte de esta información está basada en pruebas de laboratorio realizadas con inoculaciones artificiales con distintos métodos y concentraciones, sin embargo, en su mayoría estudian las mismas interacciones interespecíficas de la planta ante el patógeno a fin de evaluar su susceptibilidad (SWART & WINGFIELD, 1991; GORDON *et al.*, 1998; GORDON *et al.*, 2006; ROUX *et al.*, 2007a).

Coincidiendo con lo publicado por ITURRITXA *et al.* (2013) nuestros resultados sitúan a *Pinus radiata* como la especie más susceptible al hongo en estudio, con un tiempo de muerte directamente relacionado con la cantidad de esporas inoculadas. Estos datos son coherentes con los reportes de campo de las zonas afectadas en España, en los rodales donde co-existen más de una especie de *Pinus*, prevalece que es *Pinus radiata* la más afectada al ser comparada con *Pinus pinaster* y *Pinus nigra*, que a pesar de estar infectadas, presentan menor severidad de la afectación (ITURRITXA *et al.*, 2012; PÉREZ-SIERRA *et al.*, 2007; MARÍNEZ-ALVAREZ *et al.*, 2014). Otros investigadores han reportado una considerable variación en la susceptibilidad dentro del género (CORRELL *ET AL.*, 1991, DWINELL, 1985) estas diferencias en los resultados podría explicarse por las diferencias en las técnicas de inoculación utilizadas y/o la variabilidad en el muestreo genético, indicio de la existencia de heredabilidad de la susceptibilidad al patógeno (VIVAS *ET AL.*, 2012).

Tomando como referencia estos y otros tantos estudios sumados el hecho que *Fusarium circinatum* afecta en diversos grados a todo el género *Pinus*, y con mayor severidad a *Pinus radiata* que a la fecha es la conífera más ampliamente sembrada en España y el mundo con aproximadamente 4 millones de hectáreas (DONOSO *ET AL.*, 2015), se evidencia la importancia de explorar la posibilidad de la inducción o focalización de protección a la planta por medio de respuestas físico-químicas y/o protección con otros agentes (hongos y bacterias) antagónicos – endófitos y micovirus causantes de hipovirulencia (MUÑOZ-ADALIA *ET AL.*, 2016). La totalidad de las plantas utilizadas en este estudio han muerto, sin embargo, es interesante mencionar la aparición de plantas asintomáticas que dieron positivo en la presencia del patógeno al realizar el re-aislamiento de partir de tejido vegetal (acículas, tallo y raíz) infectado. En otros estudios se ha dado este comportamiento permitiendo conocer la capacidad de latencia del hongo dentro de la planta (BARROWS-BROADDUS, DWINELL, 1985). Esta característica apunta a una mayor peligrosidad de lo considerado en cuanto a la diseminación del patógeno, que debido a que, al no presentar sintomatología, se dificulta su diagnóstico, incrementando el riesgo de manejo inadecuado de residuos vegetales vivos y/o muertos infectados, pues lo convierte en vía de dispersión, que puede variar en sus dimensiones desde lo local hasta la extensión a nuevos territorios.

6. Conclusiones

1. Se ha confirmado la acción patogénica del chancro resinoso del pino (*Fusarium circinatum*) tanto en semillas (pre-germinación) y plántulas (post-emergencia) causando la muerte de estas por pudrición de la semillas y anillamiento del cuello del tallo, respectivamente.
2. La totalidad de las procedencias de *Pinus sylvestris* evaluadas son susceptibles al hongo evaluado. Las procedencias más sensibles, indistintamente de la concentración esporal utilizada, son Ab (Reino Unido) y AU2 (Austria).

3. No se ha identificado resistencia y/o tolerancia a *Fusarium circinatum* según la diversidad geográfica de las procedencias de *Pinus sylvestris* evaluadas.

7. Bibliografía

- A. CARLUCCI, L. COLATRUGLIO, AND S.F. 2007. First Report of Pitch Canker Caused by *Fusarium circinatum* on *Pinus halepensis* and *P. pinea* in Apulia (Southern Italy). *Plant Dis* 91:1683.
- ÁLVAREZ-LOAYZA, P.C.; & TERBORGH, J.W. 2013. Patología de plantas en bosques tropicales. *El Bosque* 98–107.
- BARROWS-BROADDUS, J., DWINELL, L.D. 1985. Branch Dieback and Cone and Seed Infection Caused by *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* in a Loblilly Pine Seed Orchard In South Carolina. *Phytopathology* 75 N°. 10:1104–1108.
- CABEZA, A.; SANTAMARIA, O.; ALVES-SANTOS, F.M.; et al. 2006. Control Biológico de *Fusarium circinatum* Mediante el Hongo Antagonista *Trichoderma viride*. *XIII Congr la Soc Española Fitopatol 18 - 22 septiembre 2006* 134.
- CORRELL, J.C.; GORDON, T.R.; MCCAIN, A H.; et al. 1991. Pitch Canker Disease in California - Pathogenicity, Distribution, and Canker Development on Monterey Pine (*Pinus radiata*). *Plant Dis.* 75:676–682.
- CRITCHFIELD, W.; & LITTLE, E. 1966. Geographic distribution of pines of the world. *USDA For Serv* 991:1–97.
- DONOSO, A.; RODRIGUEZ, V.; CARRASCO, A.; et al. 2015. Relative expression of seven candidate genes for pathogen resistance on *Pinus radiata* infected with *Fusarium circinatum*. *Physiol Mol Plant Pathol* 92:42–50.
- DWINELL, L.D. 1985. Pitch Canker: A Disease Complex of Southern Pines. *Plant Dis.* 69 (3):207–276.
- EUROPEAN UNION 2011. COMMISSION IMPLEMENTING DECISION of 11 April 2011 concerning the non-inclusion of dichlobenil in Annex I to Council Directive 91/414/EEC. *Off J Eur Union* 54:14–15.
- GORDON, T.R.; KIRKPATRICK, S.C.; AEGERTER, B.J.; et al. 2006. Susceptibility of Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii*) to pitch canker, caused by *Gibberella circinata* (anamorph = *Fusarium circinatum*). *Plant Pathol* 55:231–237.
- GORDON, T.R.; OKAMOTO, D.; STORER, A.J.; & WOOD, D.L. 1998. Susceptibility of five landscape pines to pitch canker disease, caused by *Fusarium subglutinans* f. sp. *pini*. *HortScience* 33:868–871.
- GORDON, T.R.; STORER, A. J.; & OKAMOTO, D. 1996. Population structure of the pitch canker pathogen, *Fusarium subglutinans* f. sp. *pini*, in California. *Mycol Res* 100 (7):850–854.
- GUERRA-SANTOS, J.J. 1998. Pitch canker on Monterey pine in Mexico. In T. R. Devey, M.E.; Matheson, A.C.; Gordon (Ed.), Current and potential impacts of pitch canker in radiata pine. Proceedings of the IMPACT Monterey Workshop, Monterey, California. *USA 30 Novemb to 3 December* 112:58–61.

- HEPTING, G.H.; & ROTH, E.R. 1946. Pitch canker, a new disease of some southern pines. *J For* 44:742–744.
- HODGE, G.R.; & DVORAK, W.S. 2007. Variation in pitch canker resistance among provenances of *Pinus patula* and *Pinus tecunumanii* from Mexico and Central America. *New For* 33:193–206.
- ITURRITXA, E.; GANLEY, R.J.; RAPOSO, R.; et al. 2013. Resistance levels of Spanish conifers against *Fusarium circinatum* and *Diplodia pinea*. *For Pathol* 43:488–495.
- ITURRITXA, E.; GANLEY, R.J.; WRIGHT, J.; et al. 2011. A genetically homogenous population of *Fusarium circinatum* causes pitch canker of *Pinus radiata* in the Basque Country, Spain. *Fungal Biol* 115:288–295.
- ITURRITXA, E.; MESANZA, N.; ELVIRA-RECUENCO, M.; et al. 2012. Evaluation of genetic resistance in *Pinus* to pitch canker in Spain. *Australas Plant Pathol* 41:601–607.
- LANDERAS, E.; GARCÍA, P.; FERNÁNDEZ, Y.; et al. 2005. Outbreak of Pitch Canker Caused by *Fusarium circinatum* on *Pinus spp.* in Northern Spain. *Plant Dis* 89:1015–1015.
- LEE, Y.S.; KIM, J.; LEE, S.G.; et al. 2009. Effects of plant essential oils and components from Oriental sweetgum (*Liquidambar orientalis*) on growth and morphogenesis of three phytopathogenic fungi. *Pestic Biochem Physiol* 93:138–143.
- MARTÍNEZ-ÁLVAREZ, P.; PANDO, V.; & DIEZ, J.J. 2014a. Alternative species to replace Monterey pine plantations affected by pitch canker caused by *Fusarium circinatum* in northern Spain. *Plant Pathol* 63:1086–1094.
- MARTÍNEZ-ÁLVAREZ, P.; VAINIO, E.J.; BOTELLA, L.; et al. 2014b. Three mitovirus strains infecting a single isolate of *Fusarium circinatum* are the first putative members of the family Narnaviridae detected in a fungus of the genus *Fusarium*. *Arch Virol* 159:2153–2155.
- MEASON, D.F.; & MASON, W.L. 2014. Evaluating the deployment of alternative species in planted conifer forests as a means of adaptation to climate change - Case studies in New Zealand and Scotland. *Ann For Sci* 71:239–253.
- MEDITERRANEAN, E.A. 2009. ORGANISATION EUROPEENNE ET MEDITERRANEENNE POUR LA PROTECTION DES PLANTES. 20.
- MITCHELL, R.G.; WINGFIELD, M.J.; HODGE, G.R.; et al. 2013. The tolerance of *Pinus patula* ?? *Pinus tecunumanii*, and other pine hybrids, to *Fusarium circinatum* in greenhouse trials. *New For* 44:443–456.
- MUÑOZ-ADALIA, E.J.; FLORES-PACHECO, J.A.; MARTÍNEZ-ÁLVAREZ, P.; et al. 2016. Effect of mycoviruses on the virulence of *Fusarium circinatum* and laccase activity. *Physiol Mol Plant Pathol* 94:8–15.
- NIRENBERG, H.I.I.; & O'DONNELL, K. 1998. New *Fusarium* species and combinations within the *Giberella Fujikuroi* species complex. *Mycologia* 90:434–458.
- PÉREZ-SIERRA, A.; LANDERAS, E.; LEÓN, M.; et al. 2007. Characterization of *Fusarium circinatum* from *Pinus spp.* in northern Spain. *Mycol Res* 111:832–839.
- PFENNING, L.H.; DA SILVA COSTA, S.; PEREIRA DE MELO, M.; et al. 2014. First report and characterization of *Fusarium circinatum*, the causal agent of pitch canker in Brazil. *Trop Plant Pathol* 39:210–216.

- PORTER, B.; WINGFIELD, M.J.; & COUTINHO, T.A. 2009. Susceptibility of South African native conifers to the pitch canker pathogen, *Fusarium circinatum*. *South African J Bot* 75:380–382.
- R-DEVELOPMENT-CORE-TEAM 2013. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing.
- ROUX, J.; EISENBERG, B.; WINGFIELD, M.J.; et al. 2007. Testing of selected South African *Pinus* hybrids and families for tolerance to the pitch canker pathogen, *Fusarium circinatum*. *New For* 33:109–123.
- SCHWEIGKOFER, W.; O'DONNELL, K.; & GARBELOTTO, M. 2004. Detection and quantification of airborne conidia of *Fusarium circinatum*, the causal agent of pine pitch canker, from two California sites by using a real-time PCR approach combined with a simple spore trapping method. *Appl Environ Microbiol* 70:3512–3520.
- STEENKAMP, E.T.; RODAS, C.A.; KVAS, M.; & WINGFIELD, M.J. 2012. *Fusarium circinatum* and pitch canker of *Pinus* in Colombia. *Australas Plant Pathol* 41:483–491.
- SWART, W.J.; & WINGFIELD, M.J. 1991. Biology and control of *Sphaeropsis sapinea* on *Pinus* species in South Africa. *Plant Dis* 75:761–766.
- THWAITES, J.M.; FARRELL, R.L.; DUNCAN, S.M.; et al. 2005. Survey of potential sapstain fungi on *Pinus radiata* in New Zealand. *New Zeal J Bot* 4305:653–663.
- VIVAS, M.; ZAS, R.; & SOLLA, A. 2012. Screening of maritime pine (*Pinus pinaster*) for resistance to *Fusarium circinatum*, the causal agent of pitch canker disease. *Forestry* 85:185–192.
- WINGFIELD, M.J.; JACOBS, A.; COUTINHO, T.A.; et al. 2002. First report of the pitch canker fungus, *Fusarium circinatum*, on pines in Chile. *Plant Pathol* 51:397–397.