



7º CONGRESO FORESTAL ESPAÑOL

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

26 - 30 junio 2017 | Plasencia
Cáceres, Extremadura

7CFE01-494

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

© Sociedad Española de Ciencias Forestales

Respuesta defensiva de *Pinus radiata* frente a *Tomicus piniperda* y *Fusarium circinatum*

LOMBARDERO M. J.^{1*}, SOLLA A.^{2,3}

¹ Departamento de Producción Vegetal y Proyectos de Ingeniería, Escuela Politécnica Superior, Universidad de Santiago de Compostela, Campus de Lugo, Campus universitario s/n, 27002, Lugo, España (* mariajosefa.lombardero@usc.es).

² Ingeniería Forestal y del Medio Natural, Universidad de Extremadura, Av. Virgen del Puerto 2, 10600 - Plasencia, Cáceres, España (asolla@unex.es).

³ Institute of Dehesa Research (INDEHESA), Universidad de Extremadura, España.

Resumen

Tomicus piniperda (Coleoptera, Scolytidae) es un potencial vector de *Fusarium circinatum* en las masas forestales de *Pinus radiata* allí donde las tres especies coexisten. El insecto realiza mordeduras de alimentación en los ramillos de árboles sanos, momento en el que podría transmitir la enfermedad, si previamente estuvo en contacto con árboles enfermos. En este trabajo se analiza la respuesta defensiva de *P. radiata* ante un ataque de ambas especies por separado y simultáneamente, a través del análisis de la fracción de resina total no volátil. Se inocularon 20 plantas juveniles con el hongo, en otras 20 se enjauló el insecto y en 20 más se enjauló el insecto y seguidamente se inocularon con el hongo en el orificio de entrada. Los resultados muestran que la respuesta defensiva de *P. radiata* es mayor frente a *F. circinatum* que frente a *T. piniperda* cuando ambas especies entran en la planta por separado. Sin embargo la respuesta defensiva tiende a reducirse cuando ambas especies son inoculadas simultáneamente. Asimismo la lesión ocasionada por *F. circinatum* es significativamente mayor cuando el hongo se inocula aisladamente que cuando ambas especies entran conjuntamente a la planta. Los resultados sugieren que la respuesta defensiva del árbol al insecto contribuye a reducir el establecimiento y avance del patógeno.

Palabras clave

Tomicus piniperda, *Fusarium circinatum*, *Pinus radiata*, respuesta defensiva, terpenos

1. Introducción

Fusarium circinatum es el hongo causante de la enfermedad del chancro resinoso de los pinos. Puede atacar a un número elevado de coníferas y constituye una amenaza para las plantaciones de pinos en todo el mundo (WINGFIELD et al., 2008). Está presente en Estados Unidos, México, Japón, Corea del Sur, Sudáfrica y algunos países de centro y Sudamérica como Haití, Chile, Colombia, Uruguay y Brasil (EPPO, 2005). En Europa se ha citado en España (LANDERAS et al., 2005), Italia (CARLUCCI et al., 2007), Portugal (BRAGANÇA et al., 2009) y Francia (EPPO, 2006). En España se citó por primera vez en 2005 (LANDERAS et al., 2005) y constituye una amenaza para los pinares del Noroeste de la Península Ibérica siendo *Pinus radiata* una de las especies más sensibles a esta enfermedad (VILJOEN et al., 1995). El hongo causa chancros resinosos en el tronco y en las ramas gruesas que merman la productividad de la especie y con el tiempo pueden llegar a causar anillamiento y matar el árbol.

Las coníferas poseen un sistema defensivo complejo y responden a los ataques de insectos y patógenos mediante barreras físicas (FRANCESCHI, 2005), acumulando terpenos y fenoles (KELPZIG et al. 1995; ERBILGIN et al., 2006), aumentando el flujo de resina (LOMBARDERO et al., 2006) o acumulando proteínas defensivas (EKRAMODDOULLAH et al., 2000). Una de las respuestas más claras de *P. radiata* ante la colonización de *F. circinatum* es la fuerte exudación de resina visible en ramas y troncos y de la que proviene el nombre común de la enfermedad de chancro resinoso del

pino. Esta abundancia de resina exudada es debida, en parte, al incremento en el número de canales resiníferos traumáticos que aparecen en la planta, inducidos a consecuencia de la entrada del patógeno (MARTIN-RODRIGUES et al., 2013). La resina contenida en estos canales traumáticos puede ser más eficiente que la resina contenida en los canales resiníferos constitutivos porque la composición de terpenos es diferente y porque contiene más fenoles (NAGY et al., 2000; KROKENE et al., 2003). Aun así algunos autores sugieren que el incremento de canales resiníferos por parte de la planta podría ser, en realidad, inducido por el hongo en su beneficio, para aprovechar el almidón de sus paredes epiteliales y alimentarse (MARTÍN-RODRIGUES et al., 2013).

Aparte de la aparición de canales resiníferos traumáticos, otra respuesta clara de la planta a la presencia del hongo es una reacción de defensa más severa a nivel local, en el tejido que está directamente en contacto con el patógeno y se conoce como reacción hipersensible, manifestándose como un área de lesión necrótica en el tejido de la planta donde se acumulan terpenos, fenoles y otros compuestos defensivos. La reacción hipersensible representa un mecanismo muy eficaz para circunscribir al patógeno en el tejido infectado (RYALS et al., 1996).

La dispersión del hongo en campo se realiza a través de esporas que son transportadas por el viento y el agua, pero también por insectos que emergen de los árboles afectados y colonizan árboles sanos (STORER et al., 2004). En Norteamérica se ha asociado la transmisión de este hongo a escolítidos representantes del género *Pityophthorus* (STORER et al., 2004). En España se han citado varias especies de este mismo grupo de insectos en los que se ha observado el hongo foréticamente asociado como *Pityophthorus pubescens*, *Hylurgops palliatus*, *Ips sexdentatus*, *Hypothenemus eruditus*, *Hylastes attenuatus* y *Orthotomicus erosus* (ROMÓN et al., 2007). Todas estas especies están asociadas a estados de debilidad de la planta por lo que de producirse su transmisión sería de plantas enfermas a plantas debilitadas por algún motivo. Sin embargo BEZOS et al. (2015) sugiere la posibilidad de que *Tomicus piniperda* L. puede transmitir la enfermedad a árboles sanos cuando este escolítido realiza mordidas de alimentación en los ramillos de árboles sanos para completar su maduración (LÄNGSTRÖM, 1983).

Tomicus piniperda es un insecto nativo de Europa que causa daños generalmente en árboles debilitados en los que el insecto excava sus galería de reproducción en el floema, cortando la circulación de la savia y causando la muerte del árbol. Durante este proceso el insecto puede transmitir hongos del azulado que contribuyen a devaluar la madera. Asimismo cuando los individuos juveniles completan su desarrollo, suben a los ramillos de árboles sanos a realizar mordeduras de alimentación, perforando una galería en el interior de los mismos. Esto hace que los ramillos se rompan con facilidad por efecto del viento, reduciendo la capacidad de fotosíntesis y dando lugar a malformaciones de los mismos (BAKKE, 1968). Si el insecto emerge de un árbol afectado por *F. circinatum* podría estar transmitiendo la enfermedad a un árbol sano durante este proceso, convirtiéndose en un vector primario (BEZOS et al., 2015).

La mayoría de los estudios sobre respuestas defensivas de las plantas hacia un agente patógeno se realiza tras el ataque de un único patógeno o con plantas afectadas por un organismo que luego es atacado por otro (HATCHER, 1995). Pocos estudios analizan la entrada simultánea de dos patógenos tal y como ocurre con organismos vectores como el que nos ocupa. La respuesta defensiva de la planta puede complicarse si los atacantes son especies diferentes y si la respuesta a uno puede verse modificada por la respuesta al otro (STOUT et al., 2006).

2. Objetivos

Los objetivos de este trabajo son:

- Estudiar la respuesta defensiva de *P. radiata* ante *T. piniperda* y *F. circinatum* analizando la fracción de resina total no volátil

- Determinar si la respuesta defensiva de la planta se modifica cuando ambos organismos entran juntos, tal y como ocurriría en campo si el insecto se comportara como un vector primario.

3. Metodología

Se seleccionaron 100 plantas de *P. radiata* de dos años de edad mantenidas en maceta con el mismo sustrato y en las mismas condiciones ambientales. Las plantas se dividieron aleatoriamente en 5 grupos, que fueron sometidos a los siguientes tratamientos: (1) 40 plantas se enjaularon con una pareja de *T. piniperda*, permitiéndoles perforar el ramillo; (2) 20 plantas fueron inoculadas en el tallo terminal depositándose 1 µl de una disolución conteniendo 10 esporas de *F. circinatum* por µl de agua, tras hacerse una pequeña punción de aprox. 1 mm de profundidad con una aguja; (3) 20 plantas fueron inoculadas de manera similar al tratamiento 2, pero añadiendo agua esterilizada sin las esporas del hongo; (4) 20 plantas fueron perforadas por el insecto (tratamiento 1) e inoculadas del mismo modo que en el tratamiento 2, salvo que la solución se depositó en el orificio de entrada a pocos minutos de que el insecto penetrase en el interior; y (5) 20 plantas se dejaron como control sin ningún tipo de inoculación o perforación. Los insectos fueron recolectados en una masa de *P. radiata* cercana a la ciudad de Lugo. Todos los insectos utilizados en el ensayo fueron esterilizados previamente con una solución White modificada (KOPPER et al., 2003) y enjuagados con varios lavados en agua estéril, sumergiendo a los insectos unos segundos. La cepa de *F. circinatum* (MAT-2) fue aislada en Cantabria en 2011 y su virulencia en planta fue previamente comprobada (VIVAS et al., 2014).

Al cabo de seis semanas se procedió a procesar las muestras, midiendo primero la lesión necrótica producida en el tallo a consecuencia del avance del hongo en aquellas plantas sometidas a inoculaciones de *F. circinatum*. Se midieron también las posibles lesiones necróticas causadas por las heridas realizadas al inocular el agua estéril y las que pudieran ocasionarse por el insecto.

A continuación se procedió a cuantificar la fracción de resina total no volátil, también conocida como diterpenos, del tallo. Para ello se eliminaron las acículas y se cortaron los ramillos afectados seleccionando una sección de similar tamaño en todas las plantas que incluyese lesión necrótica y floema sano a partes iguales. Para obtener la concentración media de resina, expresada en mg g⁻¹ de peso seco del ramillo, se siguió el método propuesto por SAMPEDERO et al. (2011). Se cortó un gramo de material vegetal fresco intacto de cada muestra en secciones muy pequeñas y los compuestos de la resina fueron sometidos a una doble extracción con n-hexano durante 24 horas. El material vegetal fue recuperado por filtración y secado en estufa a 70 °C durante 48 horas. Tras la evaporación del extractante el residuo de la masa de resina no volátil se determinó gravimétricamente con una balanza de precisión. El contenido total de resina se estimó sumando los dos residuos obtenidos en cada filtración, obteniéndose el peso total de la resina por peso seco de material vegetal.

Resultados

4.1 Lesión necrótica

La lesión necrótica se vio claramente afectada por los tratamientos ($F_{2,52} = 16,49$, $P < 0,001$; Figura 1). La lesión más grande se produjo cuando *F. circinatum* fue inoculado aisladamente en la planta, seguida por la lesión causada por el tratamiento en que ambos organismos fueron inoculados conjuntamente. El tamaño de la lesión fue significativamente menor cuando se hizo una inoculación sólo con agua estéril, y no se observó lesión en las plantas perforadas por el insecto (Figura 1). Hubo diferencias significativas en las longitudes de las lesiones entre los dos tratamientos que llevan *Fusarium* ($F_{1,35} = 7,38$; $P = 0,01$) resultando una lesión significativamente mayor cuando el hongo es inoculado aisladamente que cuando el hongo y el insecto entran juntos en la planta (Figura 1).

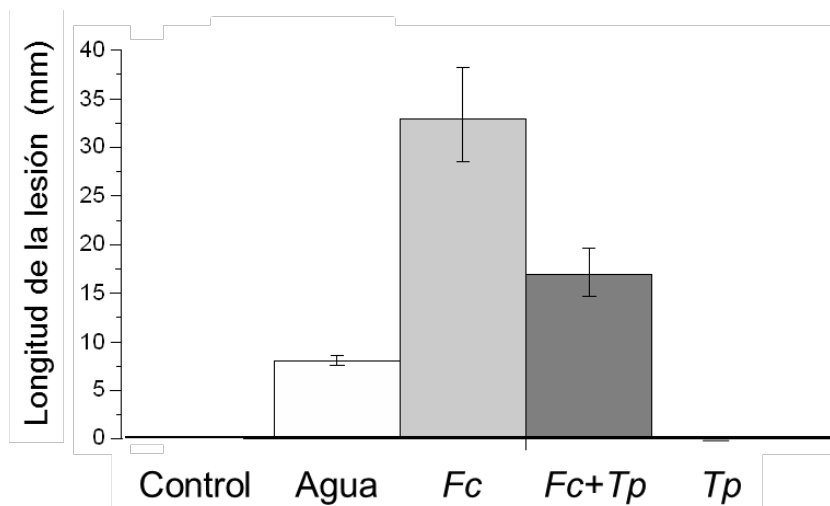


Figura 1. Longitud de la lesión necrótica causada en la planta tras los distintos tratamientos combinados con *Fusarium circinatum* (Fc) y *Tomicus piniperda* (Tp). Datos: Media \pm ES

4.2 Fracción no volátil de resina

Pinus radiata mostró una elevada respuesta defensiva ante *F. circinatum* en cuanto a la producción de diterpenos (Figura 2). La concentración de diterpenos fue significativamente más alta en las plantas inoculadas con *F. circinatum* aisladamente ($F_{4,84} = 18.70$; $P < 0.001$; Figura 2). Esta concentración tiende a disminuir cuando *F. circinatum* y *T. piniperda* están juntos, aunque sigue siendo significativamente mayor que en las plantas son inoculadas sólo con *T. piniperda*. Aun así el insecto no es invisible para la planta ya que la concentración de diterpenos en las plantas atacadas sólo por *T. piniperda* es también significativamente mayor que las plantas inoculadas con agua estéril o las plantas control, no existiendo diferencias entre estas últimas (Figura 2).

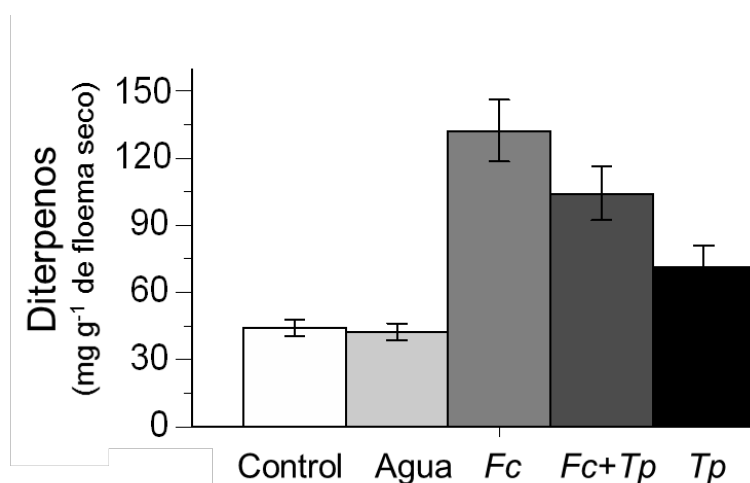


Figura 2. Concentración de terpenos en el tallo tras 6 semanas tras los distintos tratamientos combinados con *Fusarium circinatum* (Fc) y *Tomicus piniperda* (Tp). Datos: Media \pm ES

4. Discusión

Los resultados relativos al tamaño de la necrosis del tallo indican que *F. circinatum* tuvo menos dificultades de colonizar los tejidos de la planta cuando entró sólo, a través de la punción, que cuando entró a través de la herida generada por el insecto. Dicho de otro modo, los resultados sugieren que la planta tuvo menores dificultades para contener al patógeno cuando este fue inoculado ante la presencia previa del insecto. Es posible que la respuesta defensiva inicial contra la perforación del insecto, manifestada en parte por el exudado típico de resina que se produce en el brote, haya dificultado la infección o ralentizado la posterior colonización de tejidos por parte del hongo dando como resultado una lesión necrótica menor. En trabajos anteriores realizados con otros organismos se ha observado una respuesta similar pero cuando el hongo era inoculado varios días después del insecto (MOUTTET et al., 2011). Esta reducción en el tamaño de la lesión sugiere la existencia de una interacción indirecta entre ambos agentes dañinos, de modo que la presencia de un primer agente atacante aumenta la capacidad de la planta de resistir a un segundo agente patógeno, incluso de naturaleza diferente. Los avances en el conocimiento del sistema defensivo de las plantas han demostrado que las interacciones en un escenario de ataques múltiples son complejas (PIETERSE et al., 2012). Interacciones indirectas pueden ocurrir por ejemplo cuando ambos atacantes estimulan distintas rutas metabólicas implicadas en defensa (ROBERT-SELANIANZ et al., 2011). Sin embargo éste no parece ser nuestro caso ya que los hongos necrótrofos y los insectos masticadores tienden a ser regulados por la misma ruta metabólica (GLAZEBROOK, 2005; PIETERSE & DICKE, 2007).

La respuesta de la planta frente al insecto parece menor que la respuesta al hongo, ya que la concentración de diterpenos fue significativamente menor ante el insecto que ante el hongo (Figura 2). Este hecho podría deberse al tiempo transcurrido desde el daño hasta la toma de muestras. Estudios previos muestran que la respuesta defensiva inducida frente a daños mecánicos o ataques de insecto desaparece al cabo de unas pocas semanas de producirse el daño (RUEL et al., 1998). Sin embargo LOMBARDERO et al. (2006) muestran valores elevados de resina 55 días después de haberse producido una inoculación con hongos Ophiostomatales; en el presente estudio trascurrieron 6 semanas hasta la toma de muestras para darle tiempo al hongo a desarrollarse. En todo caso, la concentración de diterpenos, máxima ante la presencia individual del patógeno, no ha sido eficaz para interrumpir la colonización del patógeno.

Las plantas inoculadas con ambos organismos a la vez muestran no sólo una concentración menor de diterpenos sino una lesión necrótica menor, probablemente a consecuencia de una interacción indirecta entre la respuesta de la planta al insecto y la actividad del hongo que pudo verse mermada. Ante heridas en la peridermis, las plantas desplazan carbohidratos desde los tejidos próximos a la lesión, que se acumulan como almidón en las células cercanas a la herida (SOLLA et al., 2002), donde se consumen y utilizan para restaurar los tejidos dañados. Es posible que esta inversión de carbohidratos por parte de la planta para restaurar la peridermis implique un perjuicio para el patógeno. Este efecto podría ser más patente en condiciones de campo cuando la fuerte resinación que caracteriza a los ataques de este insecto en brotes de pinos (ROMANYK y CADAHÍA 1992) entra en contacto con el exoesqueleto del insecto donde presumiblemente viaja el hongo (BEZOS et al., 2015), ya que en este proceso podría reducirse la cantidad de inóculo como ocurre en otros sistemas (VEYSEY et al. 2003). Esto unido al hecho de que *P. radiata* no es el árbol preferido por *T. piniperda* en su fase de copas (LOMBARDERO et al. 2008) sugiere la necesidad de realizar estudios más completos, en campo, acerca del papel que puede jugar el potencial vector *T. piniperda* en la dinámica de la enfermedad comparado con la trasmisión por viento o agua. Aun así consideramos de gran importancia mantener los niveles de población de *T. piniperda* bajos en zonas donde la enfermedad está presente dado que su actividad en los ramillos causa un número elevado de heridas en la planta que podrían actuar como vías de entrada del hongo por otros medios.

5. Conclusiones

El desarrollo de *F. circinatum* en *P. radiata* es diferente cuando se inocula individualmente que cuando se inocula conjuntamente con el potencial insecto vector. El avance del hongo es menor cuando ambos organismos entran en la planta que cuando se inocula aisladamente, lo cual podría tener implicaciones en la dinámica de la enfermedad en condiciones de campo, posiblemente favoreciendo al árbol.

6. Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el proyecto de la Xunta de Galicia: “10MRU291017PR. Patrones de resistencia de *Pinus pinaster* e *P. radiata* fronte a pragas. Implicacións para a xestión forestal nun clima cambiante”

7. Bibliografía

BAKKE, A. 1968. Ecological studies on bark beetles (Coleoptera: Scolytidae) associated with Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in Norway with particular reference to influence of temperature. *Meddelelser fra det Norske Skogforsoksvesen* 21:447–602.

BEZOS, D.; MARTINEZ-ALVAREZ, P.; DIEZ, J.J.; FERNANDEZ, M.M.; 2015. The pine shoot beetle *Tomicus piniperda* as a plausible vector of *Fusarium circinatum* in northern Spain. *Ann. For. Sci.* 72, 1079-1088

BRAGANÇA, H.; DIOGO, E.; MONIZ, F.; AMARO, P.; 2009. First report of pitch canker on pines caused by *Fusarium circinatum* in Portugal. *Plant Disease* 93: 1079

CARLUCCI, A.; COLATRUGLIO, L.; FRISULLO, S.; 2007. First report of pitch canker caused by *Fusarium circinatum* on *Pinus halepensis* and *P. pinea* in Apulia (Southern Italy). *Plant Disease* 91, 1683

EKRAMODDOULLAH, A.K.M.; YU, X.S.; STURROCK, R.; ZAMANI, A.; TAYLOR, D.; 2000. Detection and seasonal expression pattern of a pathogenesis-related protein (PR-10) in Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) tissues. *Physiol. Plant.* 110(2):240-247.

EPPO; 2005. Data sheets on quarantine pests *Gibberella circinata*. *OEPP/EPPO Bulletin* 35, 383–386

EPPO; 2006. 2006/104. Premier signalement de *Gibberella circinata* en France. (http://archives.eppo.int/EPPORreporting/2006/Rsf-0605.pdf?utm_source=archives.eppo.org&utm_medium=int_redirect).

ERBILGIN, N.; KROKENE, P.; CHRISTIANSEN, E.; ZENELI, G.; GERSHENZON, J.; 2006. Exogenous application of methyl jasmonate elicits defenses in Norway spruce (*Picea abies*) and reduces host colonization by the bark beetle *Ips typographus*. *Oecologia* 148(3):426-436.

FRANCESCHI, V.R.; KROKENE, P.; CHRISTIANSEN, E.; KREKLING, T.; 2005. Anatomical and chemical defenses of conifer bark against bark beetles and other pests. *New Phytol.* 167, 353–375

GLAZEBROOK, J.; 2005. Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. *Ann. Review Phytopath.* 43, 205-227

HATCHER, P.E.; 1995. 3-way interactions between plant-pathogenic fungi, herbivorous insects and their host plants. *Biol. Reviews* 70, 639-694

KLEPZIG, K.D.; SMALLEY, E.B.; RAFFA, K.F.; 1995. *Dendroctonus valens* and *Hylastes porculus* (Coleoptera: Scolytidae): vectors of pathogenic fungi (Ophiostomatales) associated with red pine decline disease. *Great Lakes Entomol.* 28, 81–87

KOPPER, B.J.; KLEPZIG, KIER D.; RAFFA, K.F. 2003. Effectiveness of modified White's solution at removing ascomycetes associated with the bark beetle *Ips pini*. *For Pathol* 33 (2003) 237–240

KROKENE, P.; SOLHEIM, H.; KREKLING, T.; CHRISTIANSEN, E.; 2003. Inducible anatomical defense responses in Norway spruce stems and their possible role in induced resistance. *Tree Physiol* 23, 191-197

LANDERAS, E.; GARCÍA, P.; FERNÁNDEZ, Y.; BRAÑA, M.; FERNÁNDEZ-ALONSO, O.; MÉNDEZ-LODCS, S.; PÉREZ-SIERRA, A.; LEÓN, M.; ABAD-CAMPOS, P.; BERBEGAL, M.; BELTRÁN, R.; GARCÍA-JIMÉNEZ, J.; ARMENGOL, J.; 2005 Outbreak of pitch canker caused by *Fusarium circinatum* on *Pinus* spp. in Northern Spain. *Plant Disease* 89: 1015

LÅNGSTRÖM, B. 1983. Life cycles and shoot-feeding of the pine shoot beetles. *Studia Forestalia Suecica* 163:1–29

LOMBARDERO, M.J.; AYRES, M.P.; AYRES, B.D.; 2006. Effects of fire and mechanical wounding on *Pinus resinosa* resin defenses, beetle attacks, and pathogens. *For. Ecol. Manag.* 225, 349-358

LOMBARDERO, M.J.; VAZQUEZ-MEJUTO, P.; AYRES, M.P.; 2008. Role of plant enemies in the forestry of indigenous vs. nonindigenous pines. *Ecol. Appl.* 18, 1171–1181

MARTIN-RODRIGUES, N.; ESPINEL, S.; SANCHEZ-ZABALA, J.; ORTIZ, A.; GONZALEZ-MURUA, C.; DUNABEITIA, M.K.; 2013. Spatial and temporal dynamics of the colonization of *Pinus radiata* by *Fusarium circinatum*, of conidiophora development in the pith and of traumatic resin duct formation. *New Phytol.* 198, 1215-1227

MOUTTET, R.; BEAREZ, P.; THOMAS, C.; DESNEUX, N.; 2011. Phytophagous arthropods and a pathogen sharing a host plant: Evidence for indirect plant-mediated interactions. *PLoS ONE* 6, e18840.

NAGY, N.E.; FRANCESCHI, V.R.; SOLHEIM, H.; KREKLING, T.; CHRISTIANSEN, E.; 2000. Wound-induced traumatic resin duct development in stems of Norway spruce (Pinaceae): Anatomy and cytochemical. *Am. J. Bot.* 87, 302-313

PIETERSE, C.M.J.; DICKE, M.; 2007. Plant interactions with microbes and insects: from molecular mechanisms to ecology. *Trends Plant Sci.* 12, 564-569

PIETERSE, C.M.J.; VAN DER DOES, D.; ZAMIOUDIS, C.; LEON-REYES, A. VAN WEES, S.C.M.; 2011. Hormonal Modulation of Plant Immunity. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 28, 489–521

ROMANYK, N.; CADAHÍA, D.; 1992. Plagas de insectos en las masas forestales españolas, Mundi-Prensa.

ROMON, P.; ITURRONDOBEITIA, J.C.; GIBSON, K.; LINDGREN, B.S.; GOLDARAZENA, A.; 2007. Quantitative association of bark beetles with pitch canker fungus and effects of verbenone on their semiochemical communication in Monterey pine forests in Northern Spain. *Environ. Entomol.* 36, 743-750

- ROBERT-SEILANIANTZ,A.; GRANT,M.; JONES, J.D.G; 2011. Hormone Crosstalk in Plant Disease and Defense: More Than Just JASMONATE SALICYLATE Antagonism. *Annu. Rev. Phytopathol.* 49, 317-43
- RUEL, J.J.; AYRES, M.P.; LORIO, P.L.; 1998. Loblolly pine responds to mechanical wounding with increased resin flow. *Can. J. Forest Res.* 28, 596-602
- RYALS, J. A.; NEUENSCHWANDER, U.H.; WILLITS, M.G.; MOLINA, A.; STEINER, H.Y.; HUNT, M.D.; 1996. Systemic acquired resistance. *Plant Cell.* 8, 1809-1819
- SAMPEDRO, L.; MOREIRA, X.; ZAS, R.; 2011. Resistance and response of *Pinus pinaster* seedlings to *Hylobius abietis* after induction with methyl jasmonate. *Plant Ecol.* 212, 397-401
- SOLLA, A.; TOMLINSON, F.; WOODWARD, S.; 2002. Penetration of *Picea sitchensis* root bark by *Armillaria mellea*, *Armillaria ostoyae* and *Heterobasidion annosum*. *For. Pathol.* 32, 55-70
- STORER, A.J.; WOOD, D.L.; GORDON, T.R.; 2004. Twig beetles, *Pityophthorus* spp. (Coleoptera: Scolytidae), as vectors of the pitch canker pathogen in California *Can. Entomol.* 136, 685-693
- STOUT, M.J.; THALER, J.S.; THOMMA, B.P.H.J.; 2006. Plant-mediated interactions between pathogenic microorganisms and herbivorous arthropods. *Ann. Review Entomol.* 51, 663-689
- VEYSEY, J.S.; AYRES, M.P.; LOMBARDERO, M.J.; HOFSTETTER, R.W.; KLEPZIG, K.D.; 2003. Relative suitability of Virginia pine and loblolly pine as host species for *Dendroctonus frontalis* (Coleoptera : Scolytidae). *Environ. Entomol.* 32, 668-679
- VILJOEN, A.; WINGFIELD, M.J.; KEMP, G.H.J.; MARASAS, W.F.O.; 1995 Susceptibility of pines in South Africa to the pitch canker fungus *Fusarium subglutinans* f.sp. *pini*. *Plant Pathol.* 44, 877-882
- VIVAS, M.; MARTIN, J. A.; GIL, L.; SOLLA, A.; 2012. Evaluating methyl jasmonate for induction of resistance to *Fusarium oxysporum*, *F. circinatum* and *Ophiostoma novo-ulmi*. *Forest Systems* 21, 289-299
- VIVAS, M.; NUNES, C.; COIMBRA, M. A.; SOLLA, A.; 2014. Maternal effects and carbohydrate changes of *Pinus pinaster* after inoculation with *Fusarium circinatum*. *Trees* 28, 373-379
- WINGFIELD, M.J.; HAMMERBACHER, A.; GANLEYC, R.J.; STEENKAMP, E.T.; GORDON, T.R.; WINGFIELD, B.D.; COUTINHO, T.A.; 2008. Pitch canker caused by *Fusarium circinatum* – a growing threat to pine plantations and forests worldwide. *Austral. Plant Path.* 37, 319-334