

El nematodo del pino, una permanente amenaza para nuestros pinares

Juan Pajares

Instituto Universitario de Investigación en Gestión Forestal
Sostenible. iuFOR. U. de Valladolid-INIA.

El marchitamiento del pino, causado por el nematodo invasor *Bursaphelenchus xylophilus* y transmitido por el insecto nativo *Monochamus galloprovincialis* amenaza gravemente nuestros pinares. Se han declarado en nuestro país seis focos de infección, tres de ellos aún activos, en los que se aplican planes de contingencia para su erradicación, que incluyen inspecciones, saneamiento de pies con decaimiento, trapeo del insecto vector y restricciones de cortas, labores selvícolas y movimientos de madera.

La mejora genética en busca de resistencia es una estrategia de manejo integrado a medio plazo; ya se ha iniciado en España un programa de mejora de *Pinus pinaster* frente al nematodo. No existen medidas a escala forestal frente al nematodo, aunque se han estudiado nematicidas y organismos nematófagos. Un sistema de trapeo efectivo es utilizado hoy sistemáticamente para el monitoreo y control del insecto vector. Una cepa del hongo entomopatógeno *Beauveria pseudobassiana* ha demostrado su aptitud para el control biológico del insecto vector y desarrollos recientes han mostrado que puede lograrse su aplicación operativa mediante técnicas de auto diseminación.

La amenaza de expansión de la enfermedad a medio plazo obliga a estrategias de contención que incluyan el manejo forestal para aumentar la resiliencia de las masas frente a la enfermedad. Debe avanzarse en el conocimiento de las condiciones forestales y de gestión que influyen en las poblaciones de los vectores. Las medidas de erradicación han evitado la expansión de la enfermedad y deben mantenerse y mejorarse mientras nos preparamos para la aplicación de la mejora genética y del manejo forestal.

EL MARCHITAMIENTO DEL PINO: EL NEMATODO DEL PINO Y SUS INSECTOS VECTORES

La enfermedad del marchitamiento del pino es un buen ejemplo de los procesos que ocurren cuando agentes virulentos invaden nuevos ecosistemas forestales, donde encuentran

hospedantes susceptibles y vectores apropiados. Esta enfermedad es el resultado de una compleja interacción entre un nematodo, un hospedante y un insecto vector. Otros organismos, como diversas bacterias asociadas al nematodo, podrían también formar parte de este complejo sistema.

El nematodo del pino o de la madera del pino (*Bursaphelenchus xylophilus*) puede vivir como saprófito sobre árboles muertos, como sucede en su área de origen, o dañar letalmente el parénquima y las células epiteliales de los canales resiníferos en los hospedantes susceptibles. Este nematodo requiere necesariamente de un insecto vector para su dispersión a nuevos hospedantes: exclusivamente especies de cerambícidos del género *Monochamus*, insectos secundarios que colonizan el floema y xilema de

pinos, o de partes de ellos, recién muertos o moribundos. En España se encuentran dos de estas especies, *M. sutor*, restringido a la zona pirenaica, y *M. galloprovincialis*, ampliamente distribuido por nuestros pinares y la única en que se ha demostrado su papel como vector de la enfermedad. Es una especie univoltina que oviposita en heridas de puesta realizadas en la corteza, y cuyas larvas se alimentan inicialmente del floema y luego del xilema, construyendo finalmente una cámara pupal en el interior de la ma-

dera donde se transforman en pupa y adulto. Una vez emergidos, los nuevos adultos se alimentan del floema de los ramillos jóvenes de árboles sanos para su maduración sexual y mantenimiento vital a lo largo de su vida, que transcurre de mayo a octubre (Fig. 1). Aunque es una especie secundaria, su papel como vector del letal *B. xylophilus* le ha conferido una singular relevancia como plaga.

El ciclo del nematodo incluye dos fases, una propagativa o de multiplicación con cuatro estadios larvarios



Figura 1. Adulto macho de *Bursaphelenchus xylophilus* (Centro de Sanidad Forestal de Calabazanos, Junta de Castilla y León) y ciclo vital de *Monochamus galloprovincialis*: hembra realizando la puesta, mordeduras de puesta, galería larvaria en el floema/xilema, larva en el xilema, orificio de emergencia del adulto, adulto alimentándose de ramillas de pino (Laboratorio de Sanidad Forestal, iuFOR)

(J_I a J_{IV}) antes de transformarse en adulto, y otra dispersiva con dos estadios, larva *dauer* J_{III} de resistencia y larva *dauer* J_{IV} para ser transportada por el vector. Todo el ciclo de infección y reproducción del nematodo está estrechamente vinculado a su insecto vector (Fig. 2). La larva *dauer* J_{IV} , se forma cuando éste se transforma en adulto dentro de su cámara de pupación y es llevada hasta un nuevo árbol, donde se introducirá durante la fase de alimentación del adulto de *Monochamus* en las ramillas de los árboles sanos susceptibles, que enfermarán, o durante la puesta en árboles moribundos o muertos. Una vez en el nuevo árbol, las larvas J_{IV} del nematodo mudarán a adultos y comenzarán a reproducirse (fase de multiplicación). Transcurrido un tiempo desde la infección, comienza la fase de

dispersión del nematodo, cuando sus larvas pasan al estadio *dauer* J_{III} , resistente a condiciones adversas, que se transformarán en *dauer* J_{IV} en las cámaras de pupación de los vectores que hayan colonizado el árbol cuando el insecto adulto esté formado, introduciéndose en él y siendo transportadas fuera del árbol al producirse la emergencia. Cuando los nuevos adultos se alimenten obligatoriamente en el floema de las ramillas en la copa de los pinos sanos, el nematodo abandonará entonces al vector y penetrará en el árbol por las mordeduras de alimentación, infectándolo y reproduciéndose en él si es susceptible. Como consecuencia, el árbol morirá en unas pocas semanas o meses, nuevos insectos se reproducirán sobre el árbol muerto y adquirirán los nematodos que serán nuevamente transmitidos.

EVOLUCIÓN HISTÓRICA Y SITUACIÓN ACTUAL

El nematodo del pino es nativo de Norteamérica donde, como resultado de su coevolución con los pinos nativos, estos presentan un alto grado de resistencia, si bien se han registrado infecciones en especies exóticas. Este patógeno ha ocasionado efectos catastróficos en el paisaje, en la genética de las especies hospedantes susceptibles y en la economía forestal allí donde se ha expandido. El nematodo del pino fue inicialmente introducido en los bosques de Japón a comienzos de siglo XX (1905), extendiéndose por todo el país y causando una alta mortandad sobre *Pinus densiflora* y *P. thunbergii*. Posteriormente, el nematodo se propagó por el sureste de China (1982), Taiwan (1983) y Corea (1988), afectando a centenares de miles de hectáreas de pinos y causando

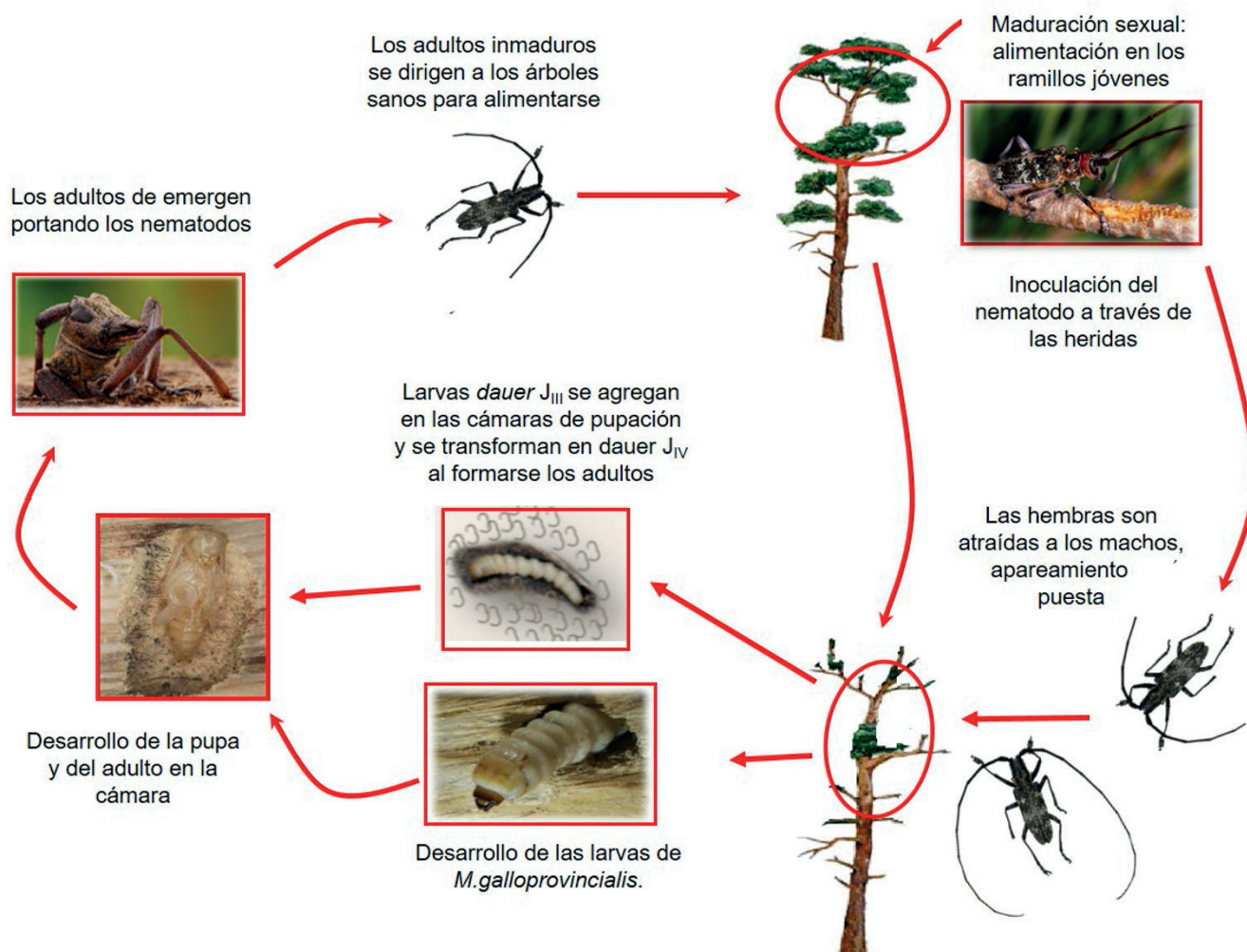


Figura 2. Ciclo de infección del nematodo del pino

la muerte a millones de árboles, especialmente de *Pinus koraiensis* y *P. luchuensis*. Actualmente siguen apareciendo nuevos focos y causando importantes pérdidas medioambientales en estos países asiáticos, aunque su ritmo se ha reducido fruto de los esfuerzos para su prevención y control. En 1998 la enfermedad fue detectada sobre *Pinus pinaster* en la bahía de Setúbal en Portugal, donde llegó a establecerse una zona demarcada superior a un millón de hectáreas. Pese a las medidas de erradicación establecidas, en 2008 todo el territorio continental portugués fue declarado zona infectada, apareciendo más tarde en Madeira. La Unión Europea declaró a *B. xylophilus* organismo de cuarentena, y ha obligado a los países miembros a la aplicación de planes de contingencia que incluyen inspecciones anuales periódicas para demostrar la ausencia del patógeno en su territorio.

El primer foco en España fue detectado en Villanueva de la Sierra (Cáceres) en 2008, a menos de 40 km de la frontera portuguesa. Desde entonces se han declarado en nuestro país otros cinco focos de infección del nematodo: As Neves (Pontevedra; 2010, ampliado en 2016 y 2018), Valverde del Fresno (Cáceres; 2012), Sancti-Spíritus (Salamanca; 2013), Lagunilla (Salamanca; 2018) y, el más reciente, nuevamente en Valverde del Fresno (2019) a 8 km del foco de 2012. De estos focos, todos ellos cercanos a la frontera con Portugal (el más lejano, Lagunilla, está a 70 km), únicamente se encuentran activos los de As Neves, Lagunilla y el último de Valverde del Fresno, mientras que los demás han sido declarados erradicados (Fig. 3). En nuestro país la especie afectada es *Pinus pinaster*, aunque también se han detectado pies infectados de *P. nigra* y de *P. radiata*. De las restantes especies de pinos de la península ibérica, *P. sylvestris* podría verse severamente dañada, ya que en Norteamérica se ha visto afectada y, además, ha resultado ser muy susceptible en diferentes ensayos de inoculación. Por el contrario, ni *P. pinea* ni *P. halepensis* se han visto infectadas hasta ahora en Portugal o en España y diferentes ensayos de inoculación han mostrado

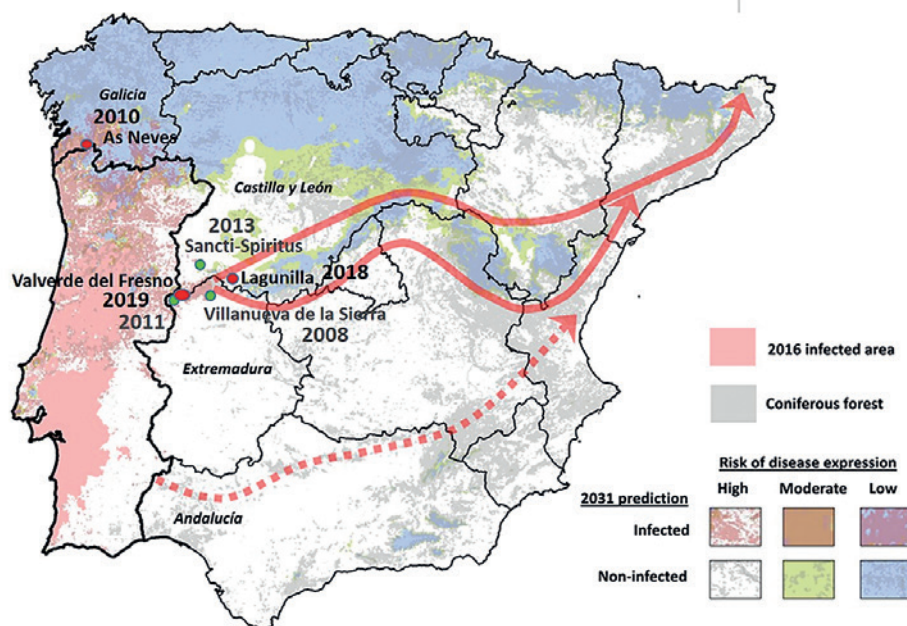


Figura 3. Focos del nematodo del pino (los focos activos aparecen en rojo) y predicción de la expansión del marchitamiento del pino en España (Modificado de De la Fuente et al., 2018).



Figura 4. Corta de erradicación a matarrasa de 3 km de radio alrededor del árbol infectado en el foco de Villanueva de la Sierra (Cáceres, 2008).

su escasa o nula susceptibilidad, por lo que son actualmente consideradas especies muy resistentes al patógeno.

Desde su aparición en Europa, la Unión Europea, a través de su comité fitosanitario permanente, ha ido elaborando y modificando distintas decisiones de la Comisión Europea para evitar la propagación de este organismo de cuarentena (vigente la Decisión de Ejecución de la Comisión 2012/535/UE) con varias modificaciones posteriores, mediante su erradicación, o su contención cuando no sea posible,

y cuyo cumplimiento obliga a los países miembros a través de sus planes de contingencia nacionales y autonómicos en el caso de España. Inicialmente, las medidas de erradicación implicaron la corta y destrucción de todos los árboles susceptibles en un radio de tres kilómetros alrededor del foco de Villanueva de la Sierra (Fig. 4). Posteriormente, la evidencia científica ha mostrado la inutilidad y el efecto contraproducente de tales cortas, por lo que la eliminación del arbolado susceptible fue reduciéndose a radios de

1500 m, 500 m y actualmente de 50-100 m alrededor del árbol o árboles infectados (Robinet et al., 2020). Los planes de contingencia, una vez que el nematodo ha sido detectado en un territorio, establecen una zona demarcada alrededor del foco, habitualmente de 20 km de radio, y las medidas específicas a aplicar se desarrollan en planes de acción, diseñados *ex profeso* y renovados anualmente, que incluyen inspecciones sistemáticas y dirigidas sobre las especies vegetales susceptibles en campo, en industrias de la madera o en materiales en circulación mediante el control de vehículos en carreteras en los límites de las zonas demarcadas. Además, se incide en el control del insecto vector mediante el saneamiento de pies con decaimiento y su trampeo masivo, así como en restricciones de cortas y todo tipo de labores selvícolas en el área demarcada y de movimientos de madera fuera de la misma (por ejemplo, sólo en 2019 en Castilla y León se analizaron 4.037 muestras de madera procedentes de 5.472 pies y 11.901 muestras de *M. galloprovincialis* procedentes de 108.036 capturados; Fig. 5).

El desarrollo de la enfermedad, además del patógeno, del insecto vector y de un hospedante susceptible, requiere la prevalencia de temperaturas suficientes, que un modelo ha establecido en un umbral de 19,14 °C para la temperatura media del verano (junio-agosto). Aunque los resultados de estos modelos implican que la enfermedad probablemente no se desarrollaría en los pinos silvestres sanos, especialmente en el centro y norte de Europa, la situación empeoraría sustancialmente bajo las condiciones previstas por el cambio climático de aumento de temperaturas y de estrés que favorecen la manifestación de la enfermedad (Gruffudd et al., 2016). Los modelos de expansión contemplan, sin embargo, un grave escenario para muchas masas de pinares en el centro, este y sur de Europa, como en la península ibérica, con pérdidas económicas estimadas en nuestro país en cerca de 12 mil millones de euros para el periodo 2008-2030. Se ha pronosticado la extensión de la enfermedad por dispersión natural del vector a Galicia en 2022 y a Castilla



Figura 5. Inspecciones en los planes de contingencia. Detección de pies con decaimiento desde helicóptero o desde tierra, toma de muestras de madera en árbol o en material en circulación. (Centro de Sanidad Forestal de Calabazanos, Junta de Castilla y León).

y León y Extremadura en 2026 (De la Fuente et al., 2018) (Fig. 3), si bien, gracias a la aplicación efectiva de los planes de contingencia, hasta la fecha la enfermedad continúa restringida a zonas próximas al país vecino.

MANEJO DE LA ENFERMEDAD

Las acciones para manejar la enfermedad pueden enfocarse sobre cualquiera de los tres principales organismos implicados: hospedante, patógeno y vector. La mejora genética en busca de resistencia al nematodo en los hospedantes susceptibles, un proceso que requiere de cierto tiempo, espacio y recursos económicos, es quizás la principal estrategia a largo plazo. Esta mejora fue iniciada a finales de la década de 1970 en los países asiáticos, donde ya se han obtenido clones

resistentes de *Pinus densiflora*, *P. thunbergii* (Japón) y *P. massoniana* (China). Aunque aún no se han seleccionado clones resistentes para las especies de pino europeas, estudios iniciados recientemente en España y Portugal han mostrado diferencias significativas en la susceptibilidad al nematodo de *P. pinaster* (Menéndez et al., 2018), lo que indica que la resistencia al nematodo es un carácter heredable. Estos trabajos están permitiendo avanzar en la obtención de pinos resistentes, en la determinación de los genes ligados a esta resistencia y en la búsqueda de métodos no destructivos para evaluar los materiales genéticos de una forma más rápida (Fig. 6).

Más allá del saneamiento de los árboles infectados, fundamento de los planes de contingencia para el



control de la enfermedad, el manejo a través de métodos dirigidos contra los otros dos componentes del sistema, patógeno y vector, es especialmente complejo. No existen actualmente disponibles medidas efectivas a escala forestal dirigidas directamente frente al nematodo. Se ha estudiado la inyección de nematicidas para proteger árboles individuales de gran valor y recientemente se ha planteado el control biológico del nematodo a través de organismos nematófagos, como el hongo endoparásito *Esteya vermicola* que ha obtenido resultados prometedores sobre plántulas de pino en China (Zhen et al., 2017) y una de cuyas cepas se encuentra patentada para su uso frente al nematodo. Un reciente proyecto se encuentra explorando actualmente esta nueva posibilidad de manejo en nuestro país (Fig. 6).

Sin duda, la opción actualmente más factible de manejo de la enfermedad del marchitamiento del pino de forma operativa se articula a través del insecto vector. El desentrañamiento de las señales químicas implicadas en la comunicación a distancia en *M. galloprovincialis*, y de otras especies del género, ha conducido a importantes desarrollos prácticos para el manejo de estos vectores. Un sistema de trapeo efectivo, consistente en un cebo altamente atractivo (Galloprotect 2D; Álvarez et al., 2016a) y en una trampa eficiente para capturar insectos vivos (Álvarez et al., 2015), está hoy disponible y es utilizado sistemáticamente para el monitoreo y control del insecto vector en los pla-



Figura 6. Arriba a la izquierda: Manejo integrado. Selección de plántulas de *P. pinaster* resistentes al NP (Fotografía de Centro de Investigación Forestal de Lourizán, Xunta de Galicia). Hifas de hongo nematófago estrangulando un nematodo (Fotografía de Centro de Sanidad Forestal de Calabazanos, Junta de Castilla y León). Hongo entomopatógeno sobre vector adulto (Laboratorio de Sanidad Forestal, iuFOR). Trapeo de *Monochamus galloprovincialis* con trampas de aleta cruzada y de embudos múltiples.

nes de contingencia (Fig. 6). El sistema no sólo es útil para la determinación de la presencia, distribución y fenología de los insectos vectores, sino que también permite la detección del nematodo en los insectos. Puede ser utilizado, además, para la reducción directa de las poblaciones del vector de forma operativa en zonas de alto riesgo, pues se ha encontrado que el 95 % de la población podría ser retirado con una densidad algo menor de una trampa/ha y se ha estimado que

con la mitad de trampas lograría conducirse a la población a su casi extinción local en unos años (Sánchez-Husillos et al., 2015).

Se han encontrado diversos agentes que podría ser utilizados para el control biológico de los insectos vectores, como algunos coleópteros e himenópteros parasitoides o nematodos entomopatógenos en Asia, aunque sus aplicaciones prácticas no han llegado a desarrollarse. Por otro lado, se ha observado que algunos hongos

entomopatógenos parecen ser los principales agentes bioreguladores de las poblaciones de estos insectos vectores, lo que les confiere un gran potencial como agentes de control biológico. Se han encontrado diversas cepas del hongo *Beauveria bassiana* muy virulentas sobre *M. alternatus* en Asia y una cepa de *B. pseudobassiana*, aislada sobre *M. galloprovincialis* en España, ha mostrado una alta virulencia frente al insecto vector, causando una mortalidad completa de los insectos adultos en ensayos de laboratorio (Álvarez et al., 2016b) (Fig. 6). La aplicación operativa de estos agentes biológicos en el medio forestal, sin embargo, encuentra importantes limitaciones, especialmente frente a los estadios larvales subcorticales. Se han propuesto diversos métodos para liberar a estos agentes, como la pulverización directa o la inoculación manual, pero no han resultado suficientemente efectivos.

La estrategia de auto diseminación, en particular las tácticas conocidas como “atrae e infecta”, pueden permitir la aplicación operativa de hongos entomopatógenos en las masas forestales. Estas tácticas requieren un sistema eficiente para “atraer” a los insectos hacia trampas o estaciones donde son capturados vivos, seguidamente “auto-infectados” con el agente biológico y “auto-liberados”, de forma que sean capaces de diseminar el organismo entomopatógeno entre su propia población. Estudios recientes han desarrollado un método práctico para la auto-diseminación de *B. pseudobassiana* entre la población del vector mediante estas tácticas, cuya efectividad fue testada en una masa forestal de pino resinero utilizando trozas como material hospedante. Los resultados mostraron que se redujo hasta la mitad la emergencia de nuevos adultos en las trozas tratadas, y hubo una menor supervivencia de la progenie larvaria en todas sus fases, lo que muestra que esta nueva herramienta podría ser útil en reducir la población de los insectos vectores a una escala forestal (Sacristán et al., 2017).

Es indudable que si contemplamos el escenario a medio plazo, más allá de la erradicación de los focos actuales o futuros, la amenaza permanente de

la expansión de la enfermedad obliga a abordar estrategias de contención que incluyan el manejo forestal. Las poblaciones de los insectos vectores, como especies secundarias incapaces de generar su propio material hospedante, excepto cuando transmiten el patógeno, dependerán de su disponibilidad en la masa, lo cual estará ligado a las características forestales (especies, edad, estructura, densidad, fragmentación) y de gestión (selvicultura, aprovechamientos), que pueden manejarse. Actualmente existe un gran desconocimiento de las condiciones forestales que influyen en la abundancia poblacional de estos insectos, y resulta imprescindible avanzar en este conocimiento. Por ejemplo, se ha encontrado que el pino piñonero resulta inadecuado como hospedante para *M. galloprovincialis* y que sus poblaciones están ausentes en las masas puras de este pino. La utilización de esta especie en mezcla con otros pinos susceptibles, como el resinero, podría aumentar la resiliencia de las masas frente a esta enfermedad al reducir la población del vector, como ha sido mostrado en un estudio reciente.

En conclusión, el marchitamiento del pino continúa representado una letal amenaza que se cierne sobre muchos de nuestros pinares.

La aplicación eficaz de medidas de erradicación, apoyadas en desarrollos científicos, muchos de ellos obtenidos en nuestro país, ha permitido que, tras más de una década desde su aparición, la enfermedad continúe restringida a zonas próximas al país vecino. Aunque existe una alta probabilidad de que en los próximos años se produzca una expansión de la enfermedad por el territorio peninsular, es imprescindible mantener la firme aplicación de los planes de erradicación y avanzar en el desarrollo de nuevos métodos de control, mientras nos preparamos para un escenario de contención donde la mejora genética y el manejo forestal constituyan nuevas herramientas.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha recibido financiación a través del proyecto *Development of improved methods for detection, control and eradication of pine wood nematode in support of EU Plant Health policy*, REPHRAME (RTA 2011-0069-C03, RTA2014-00042-C02-02 y RTA2017-00012-C02-00). Ha de destacarse la participación del Centro de Sanidad Forestal de Calabazanos (Junta de Castilla y León) y las aportaciones de A. Martín Hernández y R. Díaz Vázquez.

BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez G, Etxebeste I, Gallego D et al. 2015. Optimization of traps for live trapping of pine wood nematode vector *Monochamus galloprovincialis*. *J. Appl. Entomol.* 139: 618–626.
- Álvarez G, Gallego D, Hall DR et al. 2016a. Combining pheromone and kairomones for effective trapping of the pine sawyer beetle *Monochamus galloprovincialis*. *J. Appl. Entomol.* 140: 58–71.
- Álvarez G, Fernández-Bravo M, Pajares JA et al. 2016b. Potential of native *Beauveria pseudobassiana* strain for biological control of Pine Wood Nematode vector *Monochamus galloprovincialis*. *J. Invertebr. Pathol.* 132: 48–56.
- De la Fuente B, Saura S, Beck PSA. 2018. Predicting the spread of an invasive tree pest: The pine Wood nematode in Southern Europe. *J. Appl. Ecol.* 55: 2374–2385.
- Gruffudd HR, Jenkins TAR, Evans HF. 2016. Using an evapo-transpiration model (ETpN) to predict the risk and expression of symptoms of pine wilt disease (PWD) across Europe. *Biol. Invas.* 18: 2823–2840.
- Menéndez-Gutiérrez M, Alonso M, Taval G et al. 2018. Testing of selected *Pinus pinaster* half-sib families for tolerance to pinewood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*). *Forestry* 91: 38–48.
- Robinet C, Castagnone-Sereno P, Mota M et al. 2020. Effectiveness of clear-cuttings in non-fragmented pine forests in relation to EU regulations for the eradication of the pine wood nematode. *J. Appl. Ecol.* 57: 460–466.
- Sacristán A, Fernández-Bravo M, Quesada-Moragas E et al. 2017. Self-infection of Pine Wood Nematode vector *Monochamus galloprovincialis* with entomopathogenic fungus *Beauveria pseudobassiana* for biological control. Proceedings IUFRO WPs 7.03.05 y 7.03.10. Septiembre 2017, Thessalonica, Grecia.
- Sánchez-Husillos E, Etxebeste I, Pajares JA. 2015. Effectiveness of mass trapping in the reduction of *Monochamus galloprovincialis* Olivier (Col.: Cerambycidae) populations. *J. Appl. Entomol.* 139: 747–758.
- Zhen W, Yongan Z, Chunyan W et al. 2017. *Esteya vermicola* controls the Pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, in pine seedlings. *J. Nematol.* 49: 86–91.