

## Nematodos asociados a madera y árboles de coníferas en pinares españoles

M. ARIAS, M. ESCUER, A. BELLO

Como consecuencia de la detección del nematodo de la seca de los pinos, *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner et Buhner) Nickle en la península de Setúbal (Portugal) se planteó el estudio de los nematodos asociados a madera de coníferas, con especial atención a las especies del género *Bursaphelenchus* en industrias madereras, Puntos de Inspección Fronteriza (PIFs) y árboles de coníferas en España. Los muestreos se realizaron mediante la coordinación del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación por las autoridades fitosanitarias de las Comunidades Autónomas. Se ha seguido para el estudio la normativa de la UE, habiéndose estudiado más de 6.000 muestras desde 1999 al 2003. Se han encontrado siete géneros de apfelénchidos, destacando ocho especies del género *Bursaphelenchus*: *B. eggersi* Rhüm (J. B. Goodey), *B. fungivorus* Franklin et Hooper, *B. hylobianum* (Korenchenko) Hunt, *B. leoni* Baujard, *B. mucronatus* Mamiya et Enda, *B. pinasteri* Baujard, *B. sexdentati* Rühm y *B. teratoespicularis* Kakuliya et Devdariani, pero en ninguna de las muestras se ha detectado la presencia de *B. xylophilus*. Se describen las características morfométricas de las especies encontradas, su distribución tanto en bosques como en aserraderos, indicando las especies vegetales en que aparecieron asociadas y procedencia de la madera importada, analizando los posibles riesgos fitosanitarios a que pueden dar lugar.

M. ARIAS, M. ESCUER, A. BELLO. Dpto Agroecología, CCMA, CSIC. Serrano 115 dpdo, 280012 Madrid. correo-e: maria.arias@cma.csic.es .

**Palabras clave:** *Bursaphelenchus*, aserraderos, PIFs, distribución, patogenicidad.

### INTRODUCCIÓN

*Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner et Buhner, 1934) Nickle, 1970, el nematodo que ocasiona la seca del pino ("pine wilt disease"), y sus insectos vectores, cerambícidos del género *Monochamus*, se encuentran en el sur de Corea, Taiwán, Japón y gran parte de China, donde han adquirido dimensiones de epidemia. Su aparición se relaciona con las temperaturas y el régimen de lluvias (GE y XU, 1999).

*B. xylophilus* y sus insectos vectores están incluidos en la lista A1 de organismos de cuarentena de la EPPO (OEPP/EPPO, 1986) y en el Anexo II (A) I de la Directiva

2000/29/CE, que consolida la Directiva 77/93/CEE y sus modificaciones posteriores, estableciendo las normas para prevenir su introducción en Europa, mediante regulaciones para la importación de madera de coníferas. Sin embargo, en Mayo de 1999 este nematodo se encontró en la Península de Setúbal, confirmándose posteriormente que *Monochamus galloprovincialis* Olivier es el insecto vector en Portugal (MOTA et al., 1999; SOUSA et al., 2001). Como consecuencia de estos hechos, en la Unión Europea se ha establecido la obligación de los Estados miembros de realizar muestreos anuales, de acuerdo con las sucesivas disposiciones legales que la Comisión europea ha ido apro-

bando desde el año 2000, la última de las cuales es la Decisión 2003/127/CE.

En España se vienen realizando estudios desde 1999, en bosques de coníferas e industrias madereras de todas las Comunidades Autónomas y en los Puntos de Inspección de Frontera (PIFs), coordinados por el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, en los cuales el Consejo Superior de Investigaciones Científicas participa en calidad de laboratorio nacional de referencia a través de un Convenio de colaboración suscrito entre ambos.

El trabajo recoge los resultados de los estudios realizados dentro del mencionado convenio y los proyectos de investigación AGL2001-3850-C02-02 y LIFE/001/1158/CE: QLRT-2001-00672, donde se han estudiado los nematodos asociados a madera de coníferas, se identifican las especies de *Bursaphelenchus*, indicando las características morfológicas que permiten su identificación, analizando su distribución y posible repercusión económica.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización de los muestreos se siguieron las pautas establecidas en el protocolo de la CE, en cumplimiento de la Decisión 2000/58/CE de 11 de enero de 2000, seleccionando como zonas de alto riesgo las áreas fronterizas con Portugal, aserraderos y fábricas madereras, masas próximas a puntos de manipulación de maderas, masas de coníferas próximas a los Puntos de Inspección Fronteriza (PIFs), así como entradas y vías de comunicación de alto riesgo.

La toma de muestras en fábricas, industrias de transformación maderera y aserraderos se realizó diferenciando entre la madera de procedencia nacional y la de importación, así mismo en el entorno se tomaron muestras de árboles caídos que presentaban síntomas de azuleo y/o agujeros de emergencia o de apariencia más o menos sana, realizando 5 tomas por árbol hasta un total de 150 g (30 g por toma). En las rutas de carretera que partían de las zonas de alto riesgo se inspeccio-

naron las masas de *Pinus* spp. en un radio aproximado de 5 km, tomando muestras en aquellas en que se observaron síntomas, así como en zonas que presentaban síntomas y no estaban emplazadas en los apartados anteriores, se tomaron muestras de 5 árboles siguiendo la misma metodología.

La muestra de madera se obtuvo con un berbiquí de 20 cm de diámetro, la de viruta y serrín se tomó de varios puntos de las pilas hasta un total de 150 g. Las muestras se recogieron en bolsas de plástico, debidamente identificadas para su envío al laboratorio, donde se incubaron a temperatura ambiente, unos 25°C, durante dos semanas antes de la extracción. Los nematodos se extrajeron por la técnica del embudo de Baermann modificada, para su estudio se fijaron en FA 4:1 y montaron en lacto fenol de Amman o en glicerina anhidra. La identificación de las especies se realizó bajo un microscopio Dialux con dispositivo interferencial Nomarsky.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las más de 6.000 muestras recogidas desde el año 1999 al 2003, el 47% corresponden a masas forestales, otro 47% se tomó en aserraderos, industrias madereras y su entorno, el 6% restante en los PIFs y su entorno. El 32% de las muestras procedentes de árboles corresponden a *Pinus halepensis* Miller, 30% de *P. pinaster* Ailton, el 38% *Pinus* spp., otras coníferas y asociaciones (*Abies alba* Miller, *P. pinea* L., *P. nigra* Arnold, *P. radiata* D. y *P. sylvestris* L.).

Las muestras de aserraderos corresponden en el 97% a madera nacional y el 3% restante procede de *P. nigra* y *P. sylvestris* de Francia y Ucrania, y *Pinus* sp. de Portugal. En el 82% de ellas no se identificó la especie de pino, el 12% eran de madera de *P. pinaster*, el 3% *P. sylvestris*, el 1,5% *P. nigra*, 1% *A. alba* y 0,5% *P. pinea*. De las muestras recogidas en los PIFs el 85% corresponde a madera importada de Estados Unidos, 3% de Brasil, 2% de Rusia, en torno al 1% procedía de Canadá y China, el resto era importada de Estonia, Japón, Sudáfrica y Taiwán.

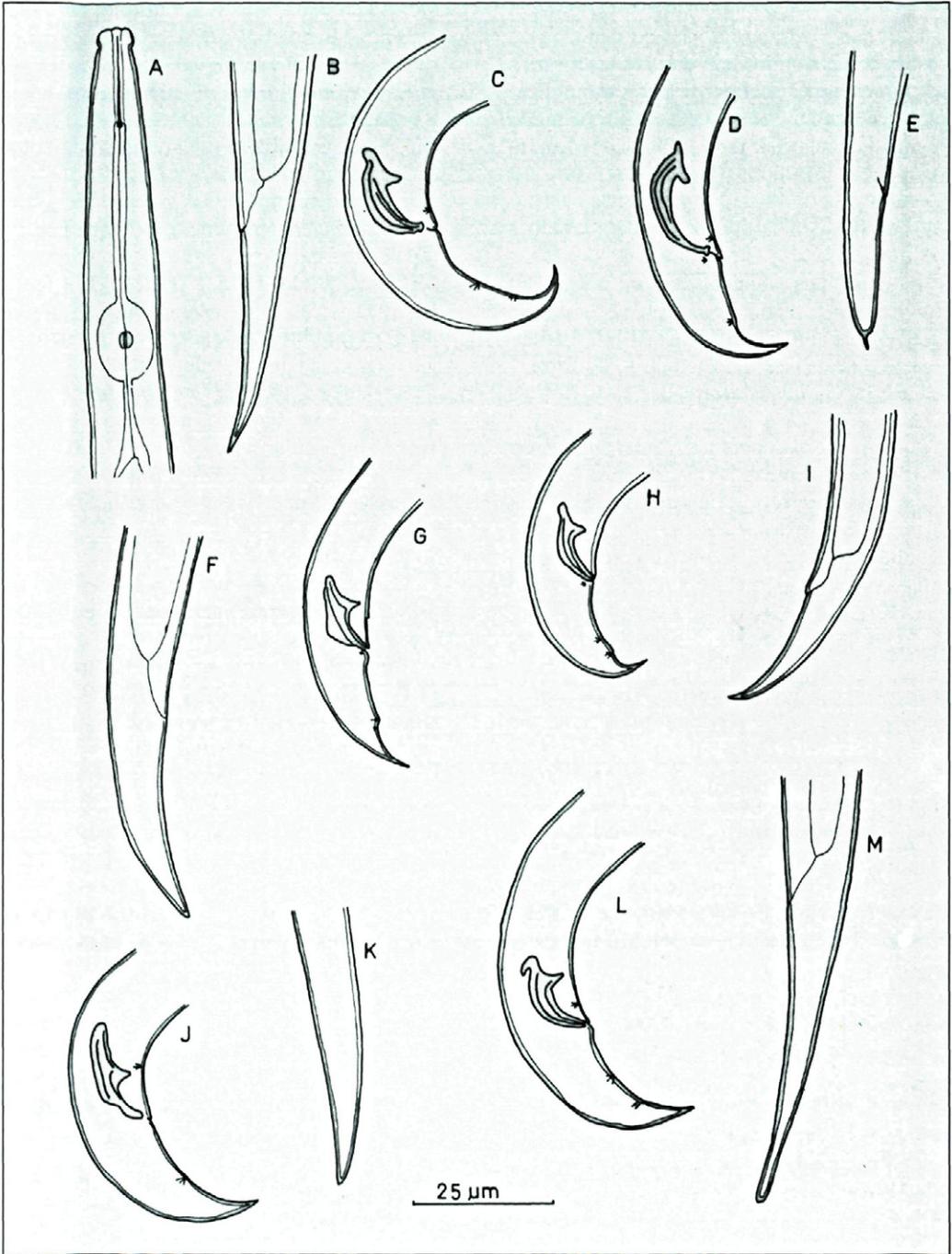


Figura 1: Características morfológicas de las especies. A: Regiones anterior de *B. hylobianum*. B-M regiones caudales de hembras y machos de B-C: *B. hylobianum*, D-E: *B. mucronatus*, F-G: *B. fungivorus*, H-I: *B. pinasteri*, J-K: *B. teratoespicularis*, y L-M: *B. leoni*.

El 43,6 % de las muestras corresponden a la comunidad autónoma de Galicia, los resultados obtenidos han dado lugar a varias comunicaciones a congresos y una publicación (ABELLEIRA *et al.*, 2003). En segundo lugar se encuentran las comunidades fronterizas con Portugal: Extremadura (9,6%), Castilla y León (8,2%) y Andalucía (7,4%), así como Valencia con un (6,6%) debido a las numerosas muestras aportadas desde los PIFs existentes en dicha región; les siguen Aragón (5%), País Vasco (3,7%), Madrid (3,6%), Cataluña (3,3%), Castilla-La Mancha y Baleares (2%), Cantabria, Navarra y La Rioja (1%), Asturias (0,9%) y Murcia (0,6%).

Solamente se encontraron nematodos en el 15% de las muestras (Fig.2), en el 68% de ellas aparecieron afelénquidos, que son nematodos mayoritariamente fungívoros con amplia distribución mundial y que suelen encontrarse en el suelo o sobre restos vegetales asociados a líquenes, a corteza de árboles o en las galerías originadas por insectos, pudiendo ser tanto nematodos fungívoros como depredadores, fitoparásitos y entomopatógenos, el 30% son rabdítidos, que son nematodos bacteriofágos que están asociados con la descomposición de la materia orgánica, y el resto tilénquidos. Los géneros más frecuentes dentro de los afelénquidos: son *Cryptaphelenchus* Fuchs (20%), con especies asociadas a insectos sin que parezca tener relación de parasitismo; *Bursaphelenchus* Fuchs (19%) de interés por estar asociados a bosques de coníferas; *Aphelenchoides* Fischer (17%) que incluye mayoritariamente especies miceliófagas y algunas parásitas de bulbos y partes aéreas de plantas; en menos del 10 % de las muestras aparecieron *Laimaphelenchus* Fuchs con especies fungívoras y depredadoras; *Ektaphelenchus* Fuchs (Skrjabin, Shikhobalova, Sobolev, Paramonov *et* Sudarikov) (6%) que pueden ser entomopatógenos; diplogastéridos (2%); el género *Seinura* Fuchs que incluye especies depredadoras apareció en el 0,8% y en el 0,4% del género *Aphelenchus* Bastian con especies fitoparásitas, miceliófagas e

incluso depredadoras y, por último, *Paraphelenchus* Mickoletzky que es saprófago. Los rabdítidos aparecieron en un 21% de las muestras, encontrándose cefalóbidos en el 9% y *Parasitorhabditis* spp. en el 4,5%, y en el 3 % se encontraron tilénquidos fungívoros de los géneros *Tylenchus* y *Dedalenus*.

Se han determinado las especies del género *Bursaphelenchus* por el riesgo que pueden representar para los bosques de coníferas. Se han encontrado ocho especies: *B. eggersi* Rühm, 1956 (J. B. Goodey, 1960); *B. fungivorous* Franklin & Hooper, 1962; *B. hylobianum* (Korenchenko, 1980) Hunt, 1993; *B. leoni* Baujard, 1980; *B. mucronatus* Mamiya & Enda, 1979; *B. pinasteri* Baujard, 1980; *B. sexdentati* Rühm, 1960, and *B. teratoespicularis* Kakuliya & Devdariani, sus características morfométricas se describen a continuación.

#### Características morfométricas de las especies de *Bursaphelenchus* encontradas

***Bursaphelenchus eggersi* Rühm, 1956 (J.B. Goodey, 1960) = *Aphelenchoides* (*Bursaphelenchus*) *eggersi* Rühm, 1956** se caracteriza por la presencia de tres incisuras en los campos laterales; el macho presenta una única papila caudal, un par de papilas preanales, otro par postanal situado en el centro de la región caudal y un par a la altura de la *bursa*, las espículas no muestran *cucullus*; la hembra presenta membrana vulvar y la región caudal curvada ventralmente. Las medidas de nuestros ejemplares (Cuadro 1) se corresponden con las de la descripción original de esta especie y con las poblaciones de ABELLEIRA *et al.* (2003), estando las medidas de nuestra poblaciones más próximas a las alemanas que a las citas españolas anteriores.

***Bursaphelenchus fungivorous* Franklin & Hooper, 1962 = *Huntaphelenchoides fungivorous* (Franklin & Hooper, 1962) Nickle, 1970 (Fig.1)** se caracteriza por tener cuatro incisuras laterales, el macho con una papila preanal, un par adanales, dos pares postana-

Cuadro 1. Medidas en  $\mu\text{m}$  de *Bursaphelenchus eggersi* y *B. hylobianum*

	<i>B. eggersi</i>		<i>B. hylobianum</i>	
	Macho	Hembra	Macho	Hembra
N	15	19	20	13
L	648 $\pm$ 31 (599-709)	677 $\pm$ 47 (591-746)	582 $\pm$ 59 (507-747)	641 $\pm$ 71 (549-844)
A	35 $\pm$ 2.3 (32-38)	35 $\pm$ 1.9 (33-39)	35 $\pm$ 8.1 (37-42)	37 $\pm$ 3.3 (34-44)
B	8.5 $\pm$ 0.5 (7.6-9.2)	8.6 $\pm$ 0.6 (7.7-10.2)	6.9 $\pm$ 0.8 (5.8-9.1)	7.5 $\pm$ 0.9 (6.7-10.1)
C	17 $\pm$ 1.2 (15-19)	17 $\pm$ 1.6 (14-20)	17 $\pm$ 2.6 (10-21)	14 $\pm$ 2. 9-16)
C'	2.9 $\pm$ 0.3 (2.3-3.4)	3.5 $\pm$ 0.4 (2.7-4.27)	2.6 $\pm$ 0.3 (2.10-3.60)	4.7 $\pm$ 0.8 (3.90-6.57)
V		69 $\pm$ 2.2 61-71		72 $\pm$ 1.6 (67-73)
L. cola	38 $\pm$ 2.6 (34-42)	41 $\pm$ 3 (36-47)	34 $\pm$ 7 (28-54)	48 $\pm$ 11 (40-78)
Estilete	16 $\pm$ 1.4 (14-19)	16 $\pm$ 1.7 (12-20)	14 $\pm$ 1.1 12-16	16 $\pm$ 2.9 (12-22)
Espícula	19 $\pm$ 1.8 (16-22)		20 $\pm$ 1.15 (18-22)	

les y una papila caudal en posición anterior a la *bursa*, las espículas son compactas y no presentan *cucullus*; la hembra no tiene membrana vulvar y muestra la región caudal alargada, adelgazada gradualmente y curvada hacia su parte ventral. La morfometría de nuestras poblaciones (Cuadro 2) coincide con la de la descripción original excepto la longitud del cuerpo menor.

***B. hylobianum* (Korenchenko, 1980) Hunt, 1993** = *Parasitaphelenchus hylobianum* Korachenko, 1980 (Fig.1) se caracteriza por la presencia de dos líneas laterales, las espículas son muy características con un gran *condylus* y *cucullus* con el *rostrum* que ventralmente no es muy apuntado, con una papila preanal, un par adanal y otro anterior a la *bursa* que es pequeña; la región caudal de la hembra se adelgaza gradualmente, presenta membrana vulvar pequeña y una rama postuterina de una longitud de alrededor el 50-75% de la distancia vulva-ano. La morfo-

metría de nuestros ejemplares (Cuadro 1) coincide con la encontrada por KORENCHENKO (1980) Y BRAASCH y BRAASCH-BIDASAK (2002). Es la primera cita de esta especie en *P. radiata*.

***B. leoni Baujard, 1980*** (Fig.1) se caracteriza por tener tres incisuras laterales, el macho presenta una y un par de papilas preanales, un par potsanal aproximadamente en el centro de la región caudal y un par a la altura de la *bursa*, las espículas no presentan *cucullus* y el *condylus* se encuentra curvado hacia su parte dorsal; la hembra presenta membrana vulvar y la región caudal es larga y fina. Las características morfométricas (Cuadro 3) de nuestros ejemplares coinciden con los encontrados por BAUJARD (1980).

***B.mucronatus Mamiya & Enda, 1979*** pertenece al grupo de *B. xylophillus*, caracterizado (Fig.1) por tener cuatro incisuras laterales, el macho posee una única papila prea-

Cuadro 2. Medidas en  $\mu\text{m}$  de *Bursaphelenchus fungivorus*

	Sierra de Cazorla (Jaén)		Parrullera (Granada)		Galazora (Huelva)	
	Macho	Hembra	Macho	Hembra	Macho	Hembra
n	13	6	2	2	3	1
L	453 ( 53 (345-544))	475 ( 31 (451-533))	485 (448-521)	442 (430-455)	560 (539-571)	560
a	32 ( 3 (28-38))	29 ( 3.5 (25-34))	27 (27-27)	27 (22-31)	33 (31-35)	28
b	7.2 ( 0.97 (5.5-9.1))	8.3 ( 0.7 (7.5-9.4))	6.8 (6.3-7.3)	6.2 (6.1- 6.4)	7.4	8.9 7.3-7.6
c	18 $\pm$ 2.1 (15 -21)	13 $\pm$ 0.9 (12-15)	17 (17-18)	11 (11-12)	18 (17-19)	14
C'	2.3 $\pm$ 0.3 (1.9-2.7)	4.9 $\pm$ 0.9 (4.3-6.8)	2.3 (2.2- 2.3)	4.3 (3.9-4.5)	2.6 (2.4-2.6)	2.5
V		74 $\pm$ 4.3 (70-82)		73		70
L. cola	25 $\pm$ 1.99 (22-28)	36 $\pm$ 1.7 (33-38)	28 (27-29)	39 (38-39)	32 (30-33)	40
Estilete	13 $\pm$ 0.8 (12-15)	14 $\pm$ 0.9 (12-15)	13 (12-13)	16 (14-18)	12 (11-13)	12
Espícula	15 $\pm$ 0.97 (14-17)		16 (16-17)		18 (17-19)	

Cuadro 3. Medidas en  $\mu\text{m}$  de *Bursaphelenchus leoni*.

	Palma de Mallorca (Mallorca)		Santa Eulalia (Ibiza)		Quintos de Mora (Toledo)	
	Macho	Hembra	Macho	Hembra	Macho	Hembra
n	27	15	30	6	9	10
L	573 $\pm$ 71 (485-852)	615 $\pm$ 79 (502-808)	726 $\pm$ 69 (674-804)	720 $\pm$ 38 (674-766)	538 $\pm$ 67 (470-665)	595 $\pm$ 57 (493-659)
a	37 $\pm$ 4.4 (30-47)	36 $\pm$ 2.5 (33-41)	39 $\pm$ 2.5 (37-42)	38 $\pm$ 1.8 (36-41)	40 $\pm$ 10.4 (29-66)	40 $\pm$ 6.5 (33-53)
b	7.8 $\pm$ 1.3 (6.1-12.4)	8.7 $\pm$ 1.8 (6.9-14.1)	9.3 $\pm$ 1.4 8.4-10.8	9.1 $\pm$ 1.1 (7.9-10.6)	7.3 $\pm$ 0.8 (6.5-8.7)	7.8 $\pm$ 0.8 (6.5-9.5)
c	17 $\pm$ 1.7 (14-21)	13 $\pm$ 1.99 (10-17)	19 $\pm$ 2.2 (17-22)	12 $\pm$ 1.1 (10-13)	16 $\pm$ 2.1 (11-18)	10 $\pm$ 1.3 (8-12)
c'	2.7 $\pm$ 0.3 (2.2-3.3)	4.9 $\pm$ 0.71 (3.5-6.1)	2.6 $\pm$ 0.2 (2.4-2.8)	5.7 $\pm$ 0.8 (4.8-6.7)	2.8 $\pm$ 0.4 (2.5-3.6)	6.7 $\pm$ 1.9 (5-11)
V		71 $\pm$ 1.3 (69-73)		72 $\pm$ 0.8 (71 -73)		69 $\pm$ 1.4 (67-71)
L. cola	25 $\pm$ 3.6 (33-54)	50 $\pm$ 5.6 (43-59)	38 $\pm$ 1.2 (37-39)	62 $\pm$ 4.5 58-70	34 $\pm$ 6 (29-48)	58 $\pm$ 8.7 (48-78)
Estilete	15 $\pm$ 1.8 (13-20)	17 $\pm$ 1.9 (14-21)	6 $\pm$ 82.4 (14-18)	17 $\pm$ 1.2 15-18	14 $\pm$ 1.5 (12-16)	15 $\pm$ 0.9 (14-16)
Espícula	17 $\pm$ 1.8 (13-21)		21 $\pm$ 0.7 (21-22)		17 $\pm$ 1.1 (16-20)	

**Cuadro 4. Medidas en  $\mu\text{m}$  de *Bursaphelenchus mucronatus***

	<i>P. sylvestris</i> , Sangüesa (Navarra)		<i>Pinus</i> spp. Puigreig (Barcelona)	
	Macho	Hembra	Macho	Hembra
n	6	15	12	15
L	464 $\pm$ 48 (403-521)	523 $\pm$ 79 (413-664)	625 $\pm$ 105 (474-835)	626 $\pm$ 89 (501-832)
A	41 $\pm$ 7.7 (34-54)	38 $\pm$ 6.5 (32-53)	44 $\pm$ 5.2 (34-51)	37 $\pm$ 2.9 (31-41)
B	7.4 $\pm$ 0.4 (6.8-7.8)	8.1 $\pm$ 1.01 (6.5-10.2)	9.1 $\pm$ 1.4 (7.3-12.1)	8.9 $\pm$ 1.1 (7.2-11.1)
C	19 $\pm$ 1.2 (18-21)	22 $\pm$ 2.6 (17-27)	24 $\pm$ 2.1 (21-28)	24 $\pm$ 3.6 (19-30)
c'	2.4 $\pm$ 0.2 (2.1-2.7)	3.2 $\pm$ 0.4 (2.3-3.8)	2.2 $\pm$ 0.17 1.9-2.41	3.1 $\pm$ 0.4 (2.5-3.9)
V		73 $\pm$ 1.6 (71-76)		74 $\pm$ 1.5 (72-77)
L. cola	24.4 $\pm$ 2.3 (22-28)	23.84 $\pm$ 3.25 (17-28)	26.41 $\pm$ 3.81 (23-37)	25.9 $\pm$ 3.2 (21-33)
Estilete	15.8 $\pm$ 1.1 (15-18)	16.1 $\pm$ 1.7 (12-18)	15.30 $\pm$ 2.01 (12-20)	15.7 $\pm$ 1.7 (13-19)
Espícula	22 $\pm$ 0.9 (21-23)		25 $\pm$ 3.5 (19-32)	

**Cuadro 5. Medidas en  $\mu\text{m}$  de *Bursaphelenchus pinasteri***

	<i>Pinus pinasteri</i> , Talayuela (Cáceres)		<i>Pinus pinea</i> Ronda (Málaga)	
	Macho	Hembra	Macho	Hembra
N	9	12	14	16
L	619 $\pm$ 68.2 (487-712)	623 $\pm$ 74.2 (512-762)	467 $\pm$ 41 (409-560)	536 $\pm$ 51 (451-632)
a	34 $\pm$ 4.2 (27-39)	32 $\pm$ 2.9 (29-40)	32 $\pm$ 4.5 (28-42)	32 $\pm$ 2.2 (28-37)
b	5.6 $\pm$ 0.5 (5-6)	5.6 $\pm$ 0.6 (5-6)	7 $\pm$ 0.6 (6-8)	8 $\pm$ 0.6 (7-9)
c	17 $\pm$ 1.8 (14-19)	18 $\pm$ 21.9 (15-22)	18 $\pm$ 1.4 (15-20)	19 $\pm$ 1.3 (17-22)
c'	2.3 $\pm$ 0.3 (1.7-2.7)	3.5 $\pm$ 0.4 (2.9-4.2)	2.5 $\pm$ 0.2 (2.2-2.8)	3.5 $\pm$ 0.4 (2.7-4.2)
V		72.2 $\pm$ 0.9 (71-74)		74.8 $\pm$ 0.74 (73-76)
L. Cola	36 $\pm$ 3.1 (32-43)	34 $\pm$ 3 (27-42)	27 $\pm$ 2 (23-31)	28 $\pm$ 3 (22-33)
Estilete	16 $\pm$ 0.6 (16-18)	16 $\pm$ 1.4 (13-18)	11 $\pm$ 0.7 (10-12)	12 $\pm$ 0.8 (11-14)
Espícula	18 $\pm$ 0.9 (17-20)		12 $\pm$ 0.7 (11-14)	

Cuadro 6. *Medidas en µm de Bursaphelenchus sexdentati*

	Cortes de Pallars (Valencia)		Irati (Navarra)		Cadalso de los Vidrios (Madrid)	
	Macho	Hembra	Macho	Hembra	Macho	Hembra
n	9	7	4	5	2	2
L	901 ± 158.6 (718-1162)	1027 ± 173.7 (1308-729)	532 ± 61.5 (496-624)	617 ± 64.7 (592-698)	613 (589-637)	597 (481-713)
a	55 ± 4.7 (49-63)	55 ± 4.6 (43-68)	34 ± 4.7 (16-44)	39 ± 5.5 (31-46)	44 (42-45)	41 (38-43)
b	11.5 ± 1.8 (9.5-12.8)	12.9 ± 1.8 (10.3-16.5)	7.8 ± 0.8 (7.3-9.1)	9.2 ± 1.1 (7.8-10.7)	8.9 (7.3-10.5)	9.6 (8.5-10.7)
c	26 ± 4.6 (22-35)	32 ± 4.8 (25-40)	22 ± 2.6 (19-25)	22 ± 1.9 (20-25)	21 (21-22)	21 18-23
c'	2.9 ± 0.4 (2.6-3.7)	2.9 ± 0.4 (2-3.5)	2.6 ± 0.2 (2.5-2.9)	3.2 ± 0.2 (2.7-3.4)	2.9	3.4 (3.3-3.2)
V		76 ± 1.7 (74-79)		72 ± 0.8 (71-73)		75 (72-78)
L. cola	36 ± 6.4 (28-48)	32 ± 3.3 (25-35)	25 ± 1.4 (23-27)	28 ± 1.9 (26-31)	29 (27-31)	29 (26-31)
Estilete	13 ± 0.4 (12-14)	15 ± 0.8 (15-25)	15 ± 2.2 (12-17)	15 ± 3.7 (10-19)	11 (11-12)	10 (8-12)
Espícula	15 ± 2.7 (11-18)		12 ± 0.8 (11-14)		14	14

Cuadro 7. *Medidas en µm de Bursaphelenchus teratospicularis*

	<i>Pinus halepensis</i>				<i>P. pinaster</i>	
	Santa Eulalia (Ibiza)		Palma de Mallorca		Andujar (Jaén)	
	Macho	Hembra	Macho	Hembra	Macho	Hembra
n	7	19	2	13	1	19
L	479 ± 88 (393-663)	513 ± 93 (455-749)	562.7 (485-641)	704 (628-559)	496	576 ± 19.5 (551-593)
a	32 ± 6.2 (28-45)	34 ± 3.7 (28-41)	36 (30-41)	50 (40-32)	33	38 ± 2.96 (35-42)
b	6.8 ± 1.2 (5.7-9.2)	7.4 ± 2.2 (6.1-11.8)	9.58 (6.2-11.9)	9.90 (8.8-11.3)	5.60	7.14 ± 0.83 (6.1-8.2)
c	17 ± 4 (14-25)	19 ± 4.2 (14-26)	22 (15-26)	24 (21-28)	14	
c'	3.2 ± 1.6 (2.3-6.8)	3.2 ± 0.5 (2.4-3.9)	2.7 (1.8-3.9)	3.3 (2.6-3.7)	2.6	
V		78 ± 2.8 (72-81)		78 (74-82)		79 ± 3.4 (76-84)
L. cola	28 ± 1.9 (26-32)	28 ± 3.8 (23-33)	30 (25-33)	27 (25-29)	36	
Estilete	16 ± 1.6 (15-19)	16.89 ± 1.5 (15-19)	15.7 (13-19)	16.7 (16-18)	18	18 ± 1.4 (17-20)
Espícula	13 ± 1.1 (12-15)		16 (15-17)		19	

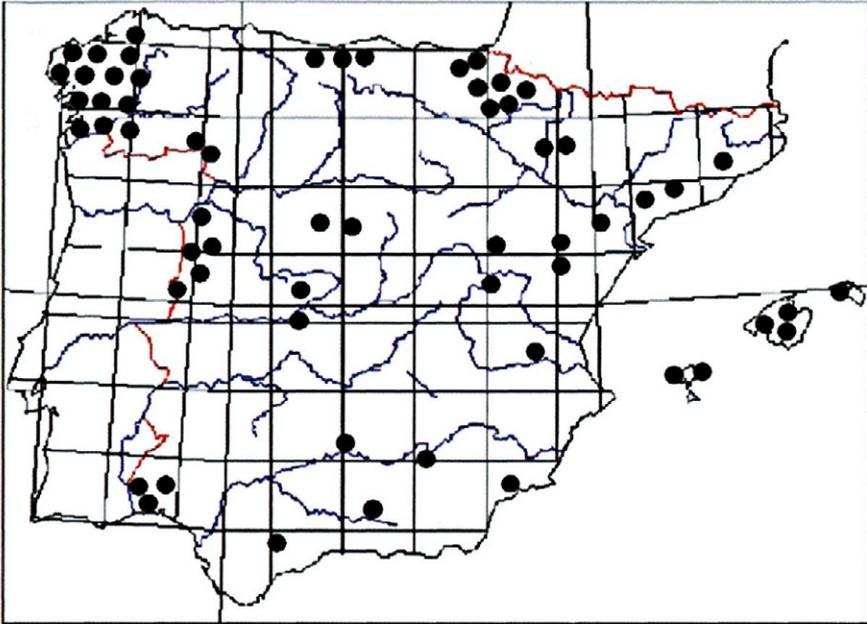


Figura 2. Distribución de las muestras donde aparecieron nematodos.

nal, un par adanal y dos pares postanales justamente delante de la *bursa*, las espículas son características con *cucullus* y la hembra presenta membrana vulvar grande. La morfometría de las poblaciones (Cuadro 4) españolas se encuentra dentro del rango establecido para esta especie en Europa (BRASCH, 2001).

***B. pinasteri* Baujard, 1980** (Fig.1) se caracteriza por tener tres incisuras laterales, el macho con una papila preanal, un par preo adanal, un par postanal a cierta distancia de la *bursa* y otro par a la altura de la *bursa*, las espículas aparecen más o menos curvadas y no presentan *cucullus*, la hembra muestra una pequeña membrana vulvar. La morfometría (Cuadro 5) de las poblaciones españolas coincide con la descripción original.

***B. sexdentati* Rühm, 1960** = *A. (Bursaphelenchus) sexdentati* Rühm, 1960 = *B. bakeri* Rühm, 1960 = *B. naujaci* Baujard, 1980 se caracteriza por tener cuatro incisuras

laterales, un papila preanal, un par adanal y dos pares postanales (uno anterior y otro posterior a la *bursa*), la *bursa* es relativamente grande, las espículas se encuentran curvadas y no presentan *cucullus*. Las características morfométricas (Cuadro 6) de nuestras poblaciones se encuentran dentro del rango de descripciones anteriores y de las poblaciones gallegas (ABELLEIRA *et al.*, 2003).

***B. teratoespicularis* Kakuliya & Devdariani, 1965** (Fig.1) se caracteriza por su tamaño medio, la presencia de tres o cuatro incisuras en los campos laterales que son poco patentes, el macho con un par de papilas preanales y otro anterior a la *bursa*, que es pequeña y ovalada, las espículas presentan un *condylus* extremadamente grande. Las características morfométricas (Cuadro 7) de las poblaciones españolas coinciden con descripciones previas, aunque el rango de medidas es más amplio que el de las poblaciones rusas.

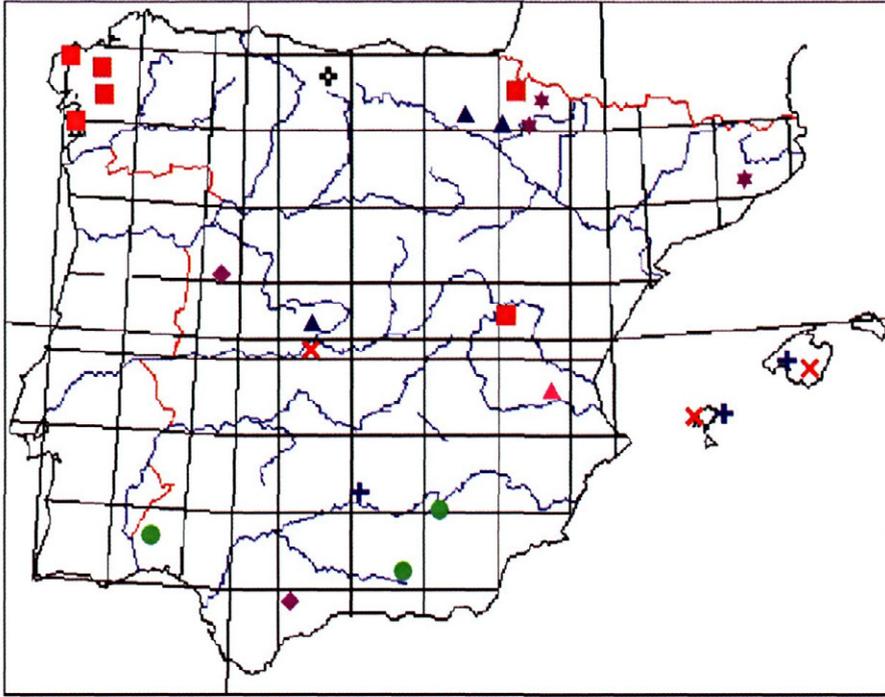


Fig. 3. Distribución de *Bursaphelenchus* spp. en bosque de coníferas en España. ■ *B. eggersi*, ● *B. fungivorus*, ⊕ *B. hylobianum*, ✕ *B. leoni*, ★ *B. mucronatus*, ◆ *B. pinasteri*, ▲ *B. sexdentati*, ⊕ *B. teratospicularis*

## Distribución en España de *Bursaphelenchus*

### 1. Bosques de coníferas (Fig. 3)

En las masas forestales se han encontrado las ocho especies de *Bursaphelenchus*, que se distribuyen en tres grupos de especies, uno que se localiza en el norte, en la región eurosiberiana de la península, que está constituido por *B. eggersi*, asociado a *Abies alba* en Garde (Navarra), *P. pinaster* en Tormón (Teruel) y a *P. pinaster* y *P. radiata* en Galicia (ABELLEIRA *et al.*, 2003); *B. hylobianum* a *P. radiata* en Toranzo (Cantabria) y *B. mucronatus* a *Phalepensis* en Javier, *P. nigra* en Lumbier, *P. sylvestris* en Sangüesa, Roncal y Salazar (Navarra) y *Pinus* spp. en Puig-Reig (Barcelona). El segundo grupo es de ambientes mediterráneos en el que se incluyen *B. fungivorus* que apareció asociado a *P.*

*pinaster* en Cazorla (Jaén) y Galaroza (Huelva) y *Pinus* spp. en Purullera (Granada); *B. leoni* a *Phalepensis* en Palma de Mallorca (Mallorca) y Santa Eulalia (Ibiza) y en *P. pinea* de Quintos de Mora (Toledo); *B. pinasteri* a *P. pinaster* en Talayuela (Cáceres) (ESCUER *et al.*, 2003) y *P. pinea* en Ronda (Málaga), y *B. teratospicularis* a *Phalepensis* en Palma de Mallorca (Mallorca) y Santa Eulalia (Ibiza) y *P. pinea* en Andújar (Jaén). Finalmente, *B. sexdentati* es una especie que está ampliamente distribuida, en Europa, apareció asociado a *Abies alba* de Garde y Roncal y *Pinus* sp en Irati (Navarra), a *P. pinaster* de Cortes de Pallars (Valencia), *P. pinea* de Cadarso de Los Vidrios (Madrid), y *P. sylvestris* de Altezana de la Rivera (País Vasco) (ESCUER *et al.*, 2004), también ha sido citada en *Pinus* sp. de Galicia (ABELLEIRA *et al.*, 2003).

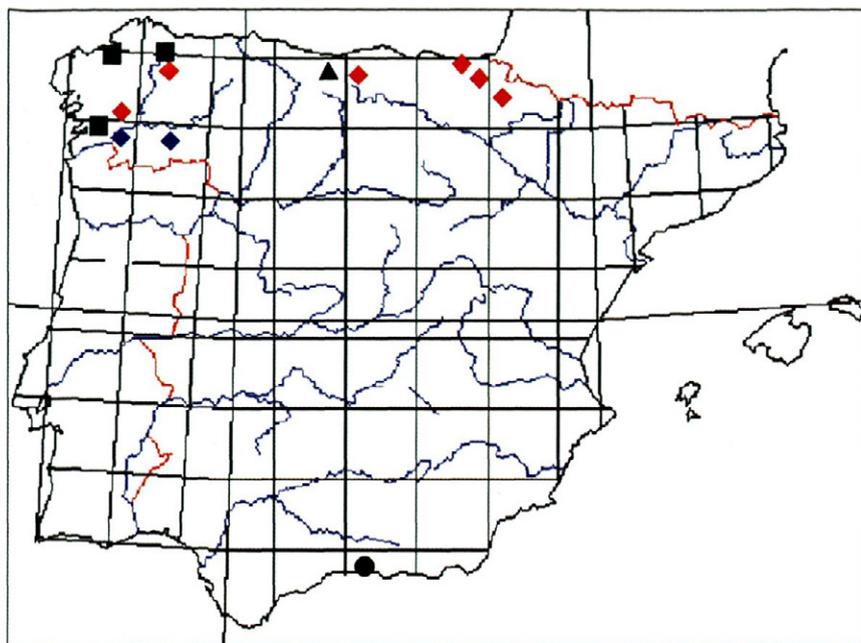


Figura 4. Especies de *Bursaphelenchus* spp. encontradas en aserraderos en España: ■ *B. eggersi*, ● *B. fungivorus*, ◆ *B. mucronatus*. Los símbolos negros corresponde a madera de origen español, rojo de importación y azul de procedencia desconocida.

## 2. Aserraderos e industrias madereras (Fig. 4).

En las muestras recogidas en aserraderos e industrias madereras se diferencian aquellas procedentes de madera nacional de las de importación y de las de procedencia desconocida.

**Madera nacional.** Se ha encontrado *B. eggersi* en aserraderos de Carballo (A Coruña), Mondoñedo (Lugo) y Villamarín (Ourense) (ABELLEIRA *et al.* 2003), *B. fungivorus* en Vélez Málaga (Málaga) en serrín de *P. pinaster*, y *B. sexdentati* en Corrales de Buelna (Santander) en serrín de *Pinus* spp.

**Madera importada.** En madera de importación se ha encontrado *B. mucronatus* en madera de *P. pinaster* procedente de Francia en un aserradero del País Vasco, en *P. sylvestris* de Ucrania en un aserradero de Rabad de (Lugo), en madera *Pinus* spp. procedente de Francia en Porriño (Pontevedra) (ABELLEIRA *et al.* 2003).

**Madera de procedencia desconocida (Fig.3).** Se ha encontrado *B. mucronatus* en serrín *Pinus* spp. en Corgomo (Ourense) y Tomiño (Pontevedra) (ABELLEIRA *et al.*, 2003), y en Güesa (Navarra), Cervera de Toranzo (Santander) y Rentería (San Sebastián).

**3. Puntos de Inspección de Fronteras.** En las muestras enviadas por los PIFs no se encontraron nematodos.

## Riesgos fitosanitarios

Desde el punto de vista fitopatológico hay que destacar que, en estudios experimentales, *B. mucronatus* ha mostrado patogenicidad en mayor o menor grado dependiendo del origen y virulencia de la cepa, llegando a causar el 70% de mortandad para *Larix decidua* Miller, *Pinus nigra*, *P. pinaster* y *P. sylvestris* (BRASCH *et al.*, 1999; CAROPPO *et al.*, 2000); sin embargo MAMIYA (1999) encuentra que en

plántulas de *P. densiflora* Sieb et Zuc. y *P. thunbergii* Parl. apenas causa problemas, a menos que las plantas presenten estrés por contaminación, en cuyo caso se produce un alto grado de mortandad. De cualquier modo este nematodo contribuye al marchitamiento de pinos en regiones con baja tasa de precipitación y temperaturas medias estivales entre 20-25 °C (BRAASCH *et al.*, 1999).

Experimentalmente *B. sexdentati* causa entre el 90% y el 100% de mortandad en plántulas de *Pinus nigra*, *P. pinaster* y *P. sylvestris* (SKARMOUTSOS y MICHALOPOULOS-SKARMOUTSOS, 2000) habiéndose encontrado en Cortejada (Ourense) asociada a árboles caídos próximos a un aserradero (ABELLEIRA *et al.*, 2003). *B. fungivorus* llega a causar un 70% de mortandad y un 20% de marchitamiento en *P. sylvestris* (CAROPPO *et al.*, 2000).

*B. leoni* se encontró asociado a árboles marchitos de *P. brutia* Tenore en Chipre (PHILIS, 1996), *P. radiata* en Surafrica y a *P. brutia*, *P. halepensis*, *P. nigra*, *P. pinaster* y *P. sylvestris* en Grecia, donde en estudios experimentales produce mortandades de plántulas del 55 % (SKARMOUTSOS Y MICHALOPOULOS-SKARMOUTSOS, 2000). Sin embargo una población suráfrica de esta especie, no mostró patogenicidad *Larix decidua*, *Picea abies* (L.) Karsten, *Pinus halepensis*, *P. nigra*, *P. pinaster* ni *P. sylvestris* (BRAASCH *et al.*, 1999).

## CONCLUSIONES

Se han encontrado nematodos en el 15 % de las muestras estudiadas, siendo el 19%

del género *Bursaphelenchus*, 49% otros aphelénchidos, 30% rhabdítidos y 2% tilénquidos.

El género *Bursaphelenchus* se encuentra representado por ocho especies, cuatro de ellas aparecieron solamente en bosques de coníferas: *B. hylobianum* en ambientes euro-siberianos asociada a *P. radiata* y *B. leoni*, *B. pinasteri* y *B. teratospicularis* en climas típicamente mediterráneos, sobre *P. halepensis*, *P. pinaster* y *P. pinea*, habiéndose encontrado *B. leoni* y *B. pinasteri* en las islas Baleares.

*B. mucronatus* se ha encontrado principalmente en aserraderos de madera importada, aunque también está asociado a *P. halepensis*, *P. nigra* y *P. sylvestris* en Navarra; *B. eggarsi* se localiza en Galicia sobre *P. pinaster* y *P. radiata*, y apareció una vez en Teruel, *B. fungivorus* en Andalucía sobre *P. pinaster* y *B. sexdentati* es el que presenta más ampliamente distribuido en la Península, asociado con *A. alba*, *P. pinea*, *P. pinaster* y *P. sylvestris*.

Desde el punto de vista fitopatológico se destaca la presencia de *B. mucronatus* y *B. sexdentati*, que han mostrado experimentalmente patogenicidad en plantulas de diferentes especies de coníferas, y *B. leoni* que se ha encontrado asociado a árboles enfermos.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen las valiosas sugerencias de D. J. M. Cobos y el apoyo técnico de A. García, R. Sanz, M.A. Rojo y C. Martínez.

## ABSTRACT

ARIAS M., M. ESCUER, A. BELLO. 2004. Nematodes associated to conifers wood in the Spanish pine forests. *Bol. San.Veg. Plagas*, **30**: 581-593.

Nematodes associated to pine wood with special reference to the genus *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner et Bührer) Nickle are studied in pine woodlands, wood industries and in the main wood importation entrances (PIFs) in Spain. The work is a consequence of the presence of pine wilt nematode (*B. xylophilus*) in the Setúbal peninsula (Portugal), in order to analyze the risk of introduction of pine wilt nematode in Spanish conifer woodlands. Samplings have been carried out by Ministry of Agriculture, Fisheries and Food coordination, by the phytosanitary authorities of the Autonomic Communities. Samplings, nematode extraction methods and species determination have been

done according to the rules of the EC. More than 6000 samples have been studied between the years 1999 to 2003. Eight Aphelenchidae genera and eight *Bursaphelenchus* species have been found: *B. eggersi* Rhüm (J. B. Goodey), *B. fungivorus* Franklin et Hooper, *B. hyllobianum* (Korenchenko) Hunt, *B. leoni* Baujard, *B. mucronatus* Mamiya et Enda, *B. pinasteri* Baujard, *B. sexdentati* Rühm y *B. teratoespicularis* Kakuliya et Devdariani, but the presence of *B. xylophilus* has not been detected. The morphometric characteristics and distribution of the species in conifer forests and sawmills are reported, remarks on their host plants and the possible phytosanitary risks of these nematodes are included.

**Key words:** *Bursaphelenchus*, sawmills, Custom Inspection Points, distribution, pathogenicity.

#### REFERENCIAS

- ABELLEIRA, A., M. ESCUER, M. ARIAS, J. P. MANSILLA. 2003. The genus *Bursaphelenchus* Fuchs (Nematoda: Aphelenchida) in North-west Spain. *Nematology* 5, 677-685.
- BAUJARD, P. 1980. Trois nouvelles especes de *Bursaphelenchus* (Nematoda, Tylenchida) et remarques sur le genre. *Rev. Nematol.* 3, 167-177.
- BRAASCH, H. 2001. *Bursaphelenchus* species in conifers in Europe: distribution and morphological relationships. *OEPP/EPPO Bulletin* 31, 127-142.
- BRAASCH, H., BRAASCH-BIDASAK, R. 2002. First record of the genus *Bursaphelenchus* Fuchs, 1937 in Thailand and description of *B.thailandae* sp. n. (Nematoda: Parasitaphelenchidae). *Nematology* 4, 853-863.
- BRAASCH, H., CAROPPO, S., AMBROGIONI, L., MICHALOPOULOS, H., SKARTMOUSOS, G., C. TOMICZEK, H. 1999. Pathogenicity of various *Bursaphelenchus* species and implications to European forest. In: K.Futai, K.Togasmi & I.T.Shokado (Eds). *Symposium on Sustainability of Pine Forest in Relation to Pine Wilt and Decline*. Tokio, Japan, 7-22.
- CAROPPO, S., CAVALLI, M., CONIGLIO, D., AMBROGIONI, L. 2000. Pathogenicity studies with various *Bursaphelenchus* populations on conifer seedlings under controlled and open air conditions. *Redia* 83, 61-75.
- ESCUER, M., M. ARIAS, A. BELLO. 2003. The genus *Bursaphelenchus* (Nematoda) in Spain. *Nematology Monographs and Perspectives* 1, 93-99.
- ESCUER, M., M. ARIAS, A. BELLO. 2004. Occurrence of the genus *Bursaphelenchus* Fuchs, 1937 (Nematoda: Aphelenchida) in the Spanish conifer forests. *Nematology* 6, 155-156.
- GE, M., F. XU. 1999. Studies on the relationships of occurrence of pine wood nematode (PWN) disease with environment and its control strategies. In: K.Futai, K.Togasmi & I.T.Shokado (Eds). *Sustainability of Pine Forest in Relation to Pine Wilt Decline*. Proc. Intern. Symposium, Tokyo, Japan, 27-28 October 1998. Kyoto, Japan: Shokado Shoten, 174-177.
- KORENCHENKO E.A. 1980. New species of nematodes from the family Aphelenchoididae, parasites of stem pests of the Dahurian larch (*Larix dahurica*). *Zoologicheskij Zhurnal*. 59, 1768-1780.
- MAMIYA, Y. 1999. Review on the pathogenicity of *Bursaphelenchus mucronatus*. In: K.Futai, K.Togasmi & I.T.Shokado (Eds). *Sustainability of pine forest in relation to pine wilt and decline*. *Proceedings of International Symposium*. Tokyo, Japan, 27-28 October. Kyoto, Japan: Shokado Shoten, 47-51.
- MOTA M.M., H. BRAASCH, M.A. BRAVO, A.C. PENAS, W. BURGERMEISTER, K. METGE, E. SOUSA. 1999. First report of *Bursaphelenchus xylophilus* in Portugal and in Europe. *Nematology*, 17, 727-734.
- OEPP/EPPO, 1986. *Bursaphelenchus xylophilus*. Data sheets on quarantine organisms No. 158, Bulletin OEPP/EPPO, 16, 55-60.
- PHILIS, J. 1996. An outlook on the association of *Bursaphelenchus leoni* with wilting pines in Cyprus. *Nematologia mediterranea* 24, 221-225.
- SKARMOUTSOS H, G. SKARMOUTSOS, H. MICHALOPOULOS-SKARMOUTSOS. 2000. Pathogenicity of *Bursaphelenchus sexdentati*, *Bursaphelenchus leoni* and *Bursaphelenchus hellenicus* on European pine seedlings. *For.Path.* 30, 149-156.
- SOUSA E., M.A. BRAVO, J. PIRES, P. NAVES, A.C. PENAS, L. BONIFACIO, M. MOTA. 2001. *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae) associated with *Monochamus galloprovincialis* (Coleoptera: Cerambycidae) in Portugal. *Nematology* 3, 89-91.

(Recepción: 24 mayo 2004)

(Aceptación: 19 julio 2004)