

PREFERENCIAS EN LA ALIMENTACIÓN Y PUESTA DE *MONOCHAMUS GALLOPROVINCIALIS* SOBRE DIVERSAS ESPECIES DE PINOS

Estela Sánchez Husillos¹, Gonzalo Álvarez Baz¹, Iñaki Etxebeste Larrañaga¹, Gema Pérez Escolar², Ana Martín Hernández² y Juan A. Pajares Alonso¹

¹Instituto de Universitario de Gestión Forestal Sostenible. Universidad de Valladolid-INIA. Avd. Madrid s/n. 34004-PALENCIA (España). Correo electrónico: estela.husillos@gmail.com

²Centro de Sanidad Forestal de Calabazanos. Junta de Castilla y León. Polígono industrial de Villamuriel de Cerrato s/n. 34190-VILLAMURIEL (Palencia, España).

Resumen

La transmisión de *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner & Bühner) Nickle a sus hospedantes en Europa sucede durante la alimentación de *Monochamus galloprovincialis* Olivier (Col.: Cerambycidae) en los ramillos de árboles sanos, o durante su puesta sobre árboles moribundos o muertos. Se realizaron experimentos de doble elección en laboratorio para conocer la aceptabilidad de *Pinus pinea* como hospedante para la alimentación de adultos, frente a *P. pinaster*, *P. halepensis*, *P. sylvestris*, *P. uncinata* y *P. nigra*. Se estudió además el potencial efecto disuasorio del limoneno. También se evaluó la preferencia en oviposición entre *P. pinaster*, *P. pinea* y *P. sylvestris* y se analizó la capacidad de reproducción de *M. galloprovincialis* en el pino piñonero. *P. pinea* resultó ser un hospedante aceptado, aunque *P. sylvestris* obtuvo la mayor preferencia de alimentación seguida por *P. pinaster*. Los ramillos con limoneno fueron consumidos igual que los controles, pero la cantidad de floema comido disminuyó según se incrementó la dosis de limoneno, sugiriendo un efecto inhibidor en la alimentación. Las hembras parecieron mostrar preferencia en la puesta hacia piñonero seguido de *P. sylvestris* y *P. pinaster*. Los estadios inmaduros de *M. galloprovincialis* completaron su desarrollo en trozas de pino piñonero hasta su emergencia como adultos.

Palabras clave: *Bursaphelenchus xylophilus*, Nematodo del pino, *Pinus pinea*, Limoneno, Oviposición, Supervivencia

INTRODUCCIÓN

En 1999 el nematodo del pino *B. xylophilus* fue declarado el agente causante del marchitamiento que comenzaba a extenderse entre los pinos de la Península de Setúbal (Portugal) (MOTA, 1999). Los primeros estudios realizados en Portugal demostraron que el vector era *Monochamus galloprovincialis* (Olivier) (SOUSA et al., 2001). Al igual que en Portugal, la introducción del nematodo en España pondría nues-

tros pinares en grave riesgo, ya que al menos tres de nuestras especies nativas de pinos son muy susceptibles a la enfermedad, y el carácter mediterráneo de la mayor parte de las masas proporciona las condiciones de temperatura estival requeridas para el desarrollo de la enfermedad (PÉREZ et al., 2008). Esto ha sido finalmente confirmado con la aparición de dos focos en nuestro país, en Extremadura (2008) y Galicia (2010) sobre *P. pinaster*. Los adultos de *M. galloprovincialis* son capaces de transportar y

transmitir el nematodo del pino durante su alimentación en los ramillos de los pinos sanos y durante su oviposición en los árboles debilitados o muertos recientemente (LINIT, 1990; LINIT et al., 1983; NAVES et al., 2006a; NAVES et al., 2007a; NAVES et al., 2007b). Los estudios realizados en Portugal sobre las preferencias en la elección de hospedante, mostraron que, además de la especie infectada en campo *P. pinaster*, también resultaron buenos hospedantes *P. sylvestris* y *P. halepensis*. Por el contrario, pese a que los adultos no lo rechazaron para su alimentación, *M. galloprovincialis* no se reprodujo sobre *P. pinea* (NAVES et al., 2006b). En otro estudio reciente, en el que se sometió a *M. galloprovincialis* a la elección entre *P. sylvestris* y *P. pinaster* en laboratorio, se apreció una preferencia tanto en alimentación como en puesta por el primero (KOUTROUMPA et al., 2009).

En Portugal la única especie infectada por el nematodo hasta ahora es *P. pinaster*, si bien hay abundante presencia de *P. pinea* en la zona afectada (NAVES et al., 2006a). Este hecho, junto con la ausencia de *M. galloprovincialis* reproduciéndose en este pino (NAVES et al., 2006b), ha conducido a sugerir que este pino no es hospedante de este insecto, apuntando además al alto contenido de limoneno, potencialmente disuasorio o tóxico, como su causa más probable.

En este estudio se evaluó la aceptabilidad de *P. pinea* como sustrato para la alimentación en comparación con otras especies de pino, además de comprobar el posible efecto fagodisuasorio del limoneno. Igualmente, se pretendió evaluar las preferencias relativas de las hembras de *M. galloprovincialis* en la selección de hospedante para la puesta entre varias especies de pino, así como comprobar si esta especie puede completar el desarrollo de una generación sobre piñonero.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los ensayos se realizaron en 2009 y 2010, con insectos emergidos a principios de verano en laboratorio de trozas colonizadas en campo en masas de *P. pinaster* en la provincia de Ávila. En las pruebas de alimentación se utilizaron insectos recién emergidos sin alimentación pre-

via, mientras que en los ensayos de oviposición se les alimentó con ramillos de *P. halepensis*.

Preferencia de alimentación entre *P. pinea* y otras especies de pinos

Se evaluó la preferencia de alimentación de *M. galloprovincialis* entre *P. pinea* y distintas especies de pino en experimentos de doble elección. Para ello se utilizaron ramillos de 15-20 cm x 1 cm de *P. halepensis*, *P. pinaster*, *P. uncinata*, *P. sylvestris* y *P. nigra* que se dispusieron verticalmente en pareja junto a otro de *P. pinea*, en tarros de cristal de 2 l. Las especies fueron obtenidas de clones procedentes del Vivero Forestal del Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino en Valsaín (Segovia). Cada especie de pino fue evaluada frente a pino piñonero en 10 réplicas, usando cinco insectos machos y cinco hembras. Los insectos se mantuvieron en alimentación durante 60 horas a 25°C. Tras su retirada, se observaron dos tipos de superficies de alimentación en los ramillos, que fueron considerados y analizados de forma diferenciada como áreas regular e irregularmente comidas, respectivamente. Para medir estas superficies, se envolvió cada ramillo en una lámina de film plástico sobre la que se señaló con rotulador indeleble el contorno de las superficies comidas que fueron posteriormente escaneadas para medirlas mediante el software de análisis digital de imágenes UTHSCSA ImageTool 3.0 (University of Texas Health Science Centre, S. Antonio, EE.UU.).

Preferencias de alimentación entre *P. pinea* y *P. pinaster* en estrecho contacto

Se llevó a cabo el mismo ensayo de doble elección descrito anteriormente, pero esta vez se utilizó un falso ramillo de 10 cm formado por dos mitades de 5 cm x 6-10 mm unidas mediante un filamento metálico insertado en ambas médulas, una mitad perteneciente a *P. pinea* y la otra a *P. pinaster*. Se mantuvo la mayor homogeneidad posible en el tamaño y las características de la corteza entre los ramillos de ambas especies. La procedencia de las muestras fue la misma que en el experimento anterior. Se emplearon 26 réplicas para el ensayo y el análisis de las áreas fue similar al descrito anteriormente.

Influencia del limoneno en la alimentación

Se evaluó un posible efecto disuasorio del limoneno aplicado en tres concentraciones diferentes sobre ramillos de *P. pinaster* de 5 cm x 6-10 mm, procedentes de clones del Vivero Forestal de Valsaín (Segovia). En cada réplica se emparejaron, un ramillo control tratado sólo con éter y otro tratado con limoneno disuelto en éter y aplicado tópicamente. Se testaron tres concentraciones diferentes, baja ($1 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$), media ($2 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) y alta ($3 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) de (+) limoneno (97%, Sigma, St. Louis, MO). La dosis baja fue determinada como próxima a la concentración natural del limoneno en los tejidos de floema de *P. pinea* (MACCHIONI et al., 2003). Se utilizó el mismo procedimiento para medir las superficies de alimentación.

Preferencias de puesta entre especies hospedantes

Se evaluó la preferencia de las hembras de *M. galloprovincialis* para realizar la puesta entre *P. pinaster*, *P. pinea* y *P. sylvestris*. Para ello llevaron a cabo dos series de experimentos de doble elección. En la primera serie (emparejamientos I a III) se determinó la preferencia de los insectos entre parejas de trozas cuyo grosor de corteza había tratado de igualarse, reduciendo el de las más gruesas de *P. pinaster*, y en la otra serie (emparejamientos IV y V) donde se dejó la corteza intacta. Se usaron trozas de 60 cm de largo, con diámetros (65-108 mm) y grosores de corteza (1,5-8,4 mm) similares dentro de cada pareja, dispuestas en una caja cerrada, con 15 repeticiones para cada combinación de dos especies. Se liberó en cada caja un macho y una hembra sexualmente maduros durante 4 a 7 días.

Reproducción de *M. galloprovincialis* en piñonero

Se dispusieron 15 trozas de 60 cm x 5-7 cm de *P. pinea* con un grosor de corteza medio de 3,9 mm en cajas cerradas. Se permitió realizar la puesta sobre dos trozas/caja a una pareja de *M. galloprovincialis* maduros durante 1 semana. Se contabilizó el número de mordeduras de puesta y se dejó evolucionar revisando semanalmente la actividad de cada larva sin alterarla durante las dos primeras semanas. A partir de la segunda semana no fue posible diferenciar la actividad

larvaria individualmente y se determinó para el conjunto de la troza.

Al cabo de seis meses se introdujeron las trozas en cámara fría a 5°C durante tres semanas para inducir la diapausa necesaria (KOUTROUMPA et al., 2008). Posteriormente se dejó evolucionar y se contabilizó el número de insectos adultos emergidos; tras 15 meses de la puesta se abrieron las trozas y se registraron las larvas que aún quedaban vivas en su interior.

Análisis estadístico

En los ensayos de alimentación se generó un vector de las diferencias entre los ramillos control (*P. pinea*) y los tratamientos (*Pinus sp*) para cada una de las dos variables de alimentación, regular e irregular, y se realizó un ANOVA factorial, siguiendo un ajuste mediante un modelo lineal generalizado. Donde se detectaron diferencias significativas entre los niveles del factor, se ejecutó el test *post hoc* Tukey HSD. Para evaluar las diferencias dentro de cada pareja *Pinus sp* vs *P. pinea*, se realizó un test *t* de Student para muestras pareadas. Se evaluó también una posible influencia del sexo y tamaño de los insectos en la cantidad de alimentación mediante un test de Welch. Por último se realizó un MANCOVA incorporando sexo y tamaño de los insectos. Para el estudio del efecto de la dosis del limoneno, se ajustó una Regresión Lineal Simple, mediante GLM, para cada una de las variables. Las diferencias entre los tratamientos se analizaron mediante un MANOVA tomando en cuenta los vectores de las diferencias para cada una de las dos variables primarias, mientras que para poder evaluar la respuesta teniendo en cuenta ambas variables conjuntamente de una forma multivariante, se empleó el test T^2 de Hotelling (LOCKWOOD, 1998). Los ensayos de oviposición tomaron el número de puestas exitosas (con huevo) y fallidas (sin huevo), estandarizadas según la superficie de cada troza, como las dos variables respuesta y se añadió el grosor de la corteza y diámetro como covariables. Estas dos variables se analizaron mediante ANCOVA tanto de forma independiente como integradas en forma de proporción (número de puestas exitosas sobre el total), bajo un modelo mixto. Se realizó también un análisis de la supervivencia durante el desarrollo de la generación con datos censura-

dos. Todos los análisis se realizaron utilizando el entorno y el lenguaje de programación estadística R (THE R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2010)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Preferencias de alimentación

En ambos bioensayos entre especies no se observó que hubiese diferencias significativas debidas al sexo de los insectos, ni a su tamaño usado en el mismo tratamiento, por lo que los datos de ambos sexos para cada ensayo se analizaron conjuntamente. Los análisis mostraron similares pautas de preferencia entre especies para ambas variables, alimentación regular y alimentación irregular, por lo que ambas pautas no parecieron significar comportamientos de *M. galloprovincialis* diferentes.

Los bioensayos mostraron tanto en el test de *t* Student como el Test de Hotelling que si bien *P. pinea* fue la especie menos comida en todos los emparejamientos, excepto con *P. uncinata*, las diferencias no fueron significativas salvo

frente a *P. sylvestris* (bioensayo 1) o frente a *P. pinaster* (bioensayo 2) (Tabla 1). Por tanto, el pino piñonero no fue rechazado de ninguna manera por los adultos de *M. galloprovincialis* para su alimentación. Esta preferencia por el pino silvestre también fue obtenida por NAVES (2006b) en experimentos de múltiple elección. Los resultados del ANOVA sobre el vector de diferencias mostraron que en el bioensayo 1 el comportamiento de *M. galloprovincialis* sólo difirió de forma significativa en alimentación irregular sobre *P. sylvestris* respecto a *P. nigra* y *P. pinaster*, cuando todos ellos se emparejaron a *P. pinea* en condiciones de laboratorio. En el bioensayo 2, *P. pinaster* también difirió en la cantidad de superficie regular comida ($p=0,02$).

Influencia del limoneno en la alimentación

No hubo diferencias en ninguno de los dos tipos de alimentación entre los ramillos control y los tratados con limoneno en cualquiera de sus dosis. Sin embargo, se observó que la cantidad de alimentación, en controles y en ramillos tratados, se redujo progresivamente según aumen-

Área media consumida \pm SEM (mm ²)								
	Especies (n)	Regular			Irregular			Hotelling's T ²
		Especie testada	<i>P. pinea</i>	<i>p</i> -valor <i>t</i> pareadas	Especie testada	<i>P. pinea</i>	<i>p</i> -valor <i>t</i> pareada	
Bioensayo1	<i>P. halepensis</i> (10)	64,55 \pm 20,24	36,95 \pm 17,48	0,42	44,36 \pm 16,76	38,65 \pm 14,32	0,83	0,53
	<i>P. nigra</i> (10)	63,31 \pm 36,54	53,79 \pm 25,90	0,85	55,67 \pm 16,00	85,07 \pm 49,41	0,62	0,82
	<i>P. pinaster</i> (9)	100,71 \pm 20,11	61,53 \pm 32,45	0,38	16,95 \pm 5,10	28,90 \pm 11,98	0,34	0,34
	<i>P. sylvestris</i> (8)	108,58 \pm 25,94	14,94 \pm 11,84	<0.01**	301,59 \pm 99,38	1,36 \pm 1,36	0,02*	<0.001***
	<i>P. uncinata</i> (10)	75,07 \pm 26,04	84,08 \pm 49,02	0,88	288,03 \pm 89,09	151,24 \pm 35,86	0,23	0,34
Bioensayo2	<i>P. pinaster</i> (9)	168,92 \pm 31,86	77,54 \pm 22,28	<0.01**	10,04 \pm 3,52	19,15 \pm 8,69	0,25	0,03*

Tabla 1. Área media comida regular e irregularmente en bioensayos 1 y 2 con *p* valores del test *t* student y T² de Hotelling. Significación: $p<0,1$ (*); $p<0,05$ (**); $p<0,01$ (***)

Área media consumida \pm SEM (mm ²)							
Dosis limoneno (n)	Regular			Irregular			Hotelling's T ²
	Ramillo test	Ramillo control	<i>p</i> -valor <i>t</i> pareadas	Ramillo test	Ramillo control	<i>p</i> -valor <i>t</i> pareadas	
1 mg·g ⁻¹ DW (26)	165,66 \pm 20,27	175,46 \pm 29,11	0,69	41,72 \pm 11,09	43,24 \pm 7,89	0,92	0,95
2 mg·g ⁻¹ DW (25)	158,76 \pm 25,38	119,28 \pm 23,30	0,24	37,22 \pm 9,05	42,78 \pm 14,27	0,72	0,48
3 mg·g ⁻¹ DW (26)	84,18 \pm 17,01	116,54 \pm 26,90	0,21	33,52 \pm 13,06	20,75 \pm 10,64	0,46	0,35

Tabla 2. Área media comida regular e irregularmente en bioensayo 3 con *p* valores del test *t* student y T² de Hotelling. Significación: $p<0,1$ (*); $p<0,05$ (**); $p<0,01$ (***)

taron las dosis de limoneno (Tabla 2). La correlación resultó significativamente negativa, aunque el ajuste fue bajo ($r^2=0,079$, $p<0,01$ para ramillos con limoneno y $r^2=0,02$, $p=0,11$ para ramillos control). Este hecho podría indicar un efecto fagodisuasor del limoneno en los adultos, que se manifestaría también en su alimentación sobre los ramillos control, toda vez que el limoneno, muy volátil, contaminaría la atmósfera de toda la arena experimental (tarro).

Preferencias de puesta entre especies hospedantes

***P. pinaster* vs *P. pinea*:** En el emparejamiento I, el ANCOVA mostró diferencias a favor del pino piñonero en el n° de puestas fallidas ($p<0,01$) pero no en el de puestas exitosas ($p=0,09$), aunque la proporción puestas con huevo con respecto al total fue similar ($p=0,32$). En el emparejamiento IV los resultados fueron similares y la proporción de huevos fue significativamente mayor en el pino resinero ($p<0,01$) (Figura 1).

***P. pinaster* vs *P. sylvestris*:** En el emparejamiento III el ANCOVA nuevamente mostró diferencias en el n° de puestas fallidas ($p<0,01$) pero no en el de puestas exitosas ($p=0,68$). Tampoco hubo diferencias en la proporción de puestas con

huevo ($p=0,05$). En el Emparejamiento IV ambas variables también resultaron significativamente mayores en el pino silvestre ($p<0,01$), pero la proporción de huevos fue mayor en el pino resinero ($p<0,01$) (Figura 1).

***P. pinea* vs *P. sylvestris*:** El ANCOVA mostró diferencias en el emparejamiento II tanto en las puestas exitosas ($p<0,01$) como en las fallidas ($p<0,01$) a favor del pino piñonero, la proporción de huevos fue mayor, pero no resultó significativamente diferente en el resinero ($p=0,15$).

Los resultados muestran claramente que las hembras de *M. galloprovincialis* no discriminaron negativamente a *P. pinea* como hospedante inadecuado para la reproducción frente a otros pinos. Sin embargo, si consideramos la proporción de huevos realmente depositados en las mordeduras de puesta, vemos que el pino piñonero obtuvo los valores más bajos respecto de las otras especies, aunque esto sólo fue significativo frente a *P. pinaster*, lo que podría indicar algún modo de no preferencia del pino piñonero por las hembras como substrato para la puesta. El pino silvestre fue preferido frente al resinero, un resultado también obtenido por KOUTROUMPA *et al.* (2009) y NAVES *et al.* (2006b)

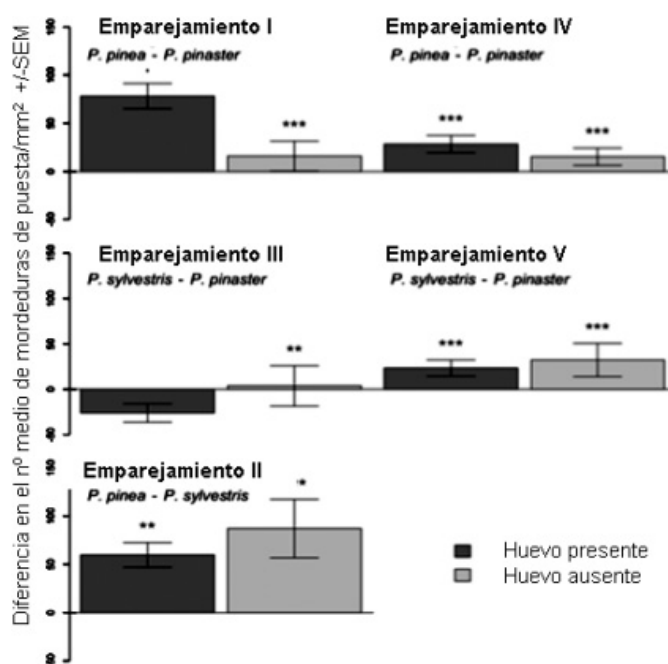


Figura 1. Gráficos del vector diferencias de las puestas exitosas y fallidas entre *Pinus pinea*, *P. pinaster*, *P. sylvestris* (1°- 2°) con su significación. Los asteriscos encima de las barras significan los niveles de significación entre cada tratamiento. Significación: $p<0,1$ (*); $p<0,05$ (**); $p<0,01$ (***)

Reproducción y desarrollo de la generación de *M. galloprovincialis* en piñonero

No pudo conocerse el número de huevos realmente depositados en las 269 mordeduras que realizaron las hembras, pero se observó la actividad de 60 larvas en ellas (15%) al cabo de una semana, una proporción de puesta que concuerda con otros resultados en *P. sylvestris* y *P. nigra* (AKBULUT et al., 2008). El 85% de estas larvas eclosionadas logró penetrar en el xilema tras varios meses, pero tan sólo el 23% llegó a emerger como adultos y un 11% de ellas se encontraban aún vivas en el xilema tras 14 meses desde el inicio del bioensayo. Estos resultados muestran que *M. galloprovincialis* puede completar el desarrollo de una generación en trozas de pino piñonero, contrariamente a lo indicado por NAVES et al. (2006b). En nuestro estudio no se dispuso de controles de otras especies de pinos que permitiesen comparar su supervivencia o productividad, pero el hecho de que casi una cuarta parte las larvas eclosionadas llegase a adulto permite considerar que el pino piñonero no resultó particularmente letal para este insecto. La aparición de larvas vivas en la madera después de más de un año también ha sido observada sobre pino resinero en nuestro país y podría no significar un retraso en el desarrollo debido al hospedante.

Agradecimientos

Agradecemos su colaboración a Gerardo Sánchez y a Salustiano Iglesias de la DG del Medio Natural y Política Forestal (MARM), y a Javier Gordo y a Daniel Álvarez de la Consejería de Fomento y Medio Ambiente de la Junta de Castilla y León. Este trabajo ha sido financiado en parte a través de un convenio de colaboración con el Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino.

BIBLIOGRAFÍA

- AKBULUT, S.; KETEN, A. & STAMPS, W.T.; 2008. Population dynamics of *Monochamus galloprovincialis* Olivier (Coleoptera: Cerambycidae) in two pine species under laboratory conditions. *J. Pest Sci.* 81(2): 115-121.
- KOUTROUMPA, F.A.; SALLE, A. & ROUX-MORABITO, G.; 2009. Feeding and oviposition preferences of *Monochamus galloprovincialis* on its main hosts *Pinus sylvestris* and *Pinus pinaster*. *Entomologia Hellenica* 18: 35-46.
- KOUTROUMPA, F.A.; VINCENT, B.; ROUX-MORABITO, G.; MARTIN, C. & LIEUTIER, F.; 2008. Fecundity and larval development of *Monochamus galloprovincialis* (Coleoptera Cerambycidae) in experimental breeding. *Ann. For. Sci.* 65(7): 11.
- LINIT, M.J.; 1990. Transmission of Pinewood Nematode Through Feeding Wounds of *Monochamus carolinensis* (Coleoptera: Cerambycidae). *J. Nematol.* 22(2): 231-236.
- LINIT, M.J.; KONDO, E. & SMITH, M.T.; 1983. Insects associated with the Pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda, Aphelenchoididae), in Missouri. *Environmental Entomology* 12(2): 467-470.
- LOCKWOOD, J.R.; 1998. On the statistical analysis of multiple-choice feeding preference experiments. *Oecologia* 116(4): 475-481.
- MACCHIONI, F.; CIONI, P.L.; FLAMINI, G.; MORELLI, I.; MACCIONI, S. & ANSALDI, M.; 2003. Chemical composition of essential oils from needles, branches and cones of *Pinus pinea*, *P. halepensis*, *P. pinaster* and *P. nigra* from central Italy. *Flavour and Fragrance Journal* 18(2): 139-143.
- MOTA M., B.H.; BRAVO, M.A.; PENAS, A.C.; BURGERMEISTER, W.; METGE, K. & SOUSA, E.; 1999. First report of *Bursaphelenchus xylophilus* in Portugal and in Europe. *Nematology* 1: 727-734.
- NAVES, P.; DE SOUSA, E.; & QUARTAU, J.A.; 2006a. Reproductive traits of *Monochamus galloprovincialis* (Coleoptera: Cerambycidae) under laboratory conditions. *Bull. Entomol. Res.* 96(3): 289-294.
- NAVES, P.M.; DE SOUSA, E.M. & QUARTAU, J.A.; 2006b. Feeding and oviposition preferences of *Monochamus galloprovincialis* for certain conifers under laboratory conditions. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 120(2): 99-104.

- NAVES, P.M.; CAMACHO, S.; DE SOUSA, E. & QUARTAU, J.A.; 2007a. Transmission of the pine wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* through oviposition activity of *Monochamus galloprovincialis* (Coleoptera: Cerambycidae). *Entomologica Fennica* 18(4):193-198.
- NAVES, P.M.; CAMACHO, S.; DE SOUSA, E.M. & QUARTAU, J.A.; 2007b. Transmission of the pine wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* through feeding activity of *Monochamus galloprovincialis* (Col., Cerambycidae). *J. Appl. Entomol.* 131(1): 21-25.
- PÉREZ, G.; DIEZ, J.J.; IBEAS, F.; PAJARES, J.A.; BRAVO, F.; JANDL, R.; LEMAY, V. & GADOW, K.; 2008. Assessing Pine Wilt Disease Risk Under a Climate Change Scenario in Northwestern Spain. *In: Managing Forest Ecosystems: The Challenge of Climate Change*: 269-282. Springer.