

# **Biological control perspectives in the pine forest (*Pinus* spp.), an environmentally friendly alternative to the use of pesticides**

## **Perspectivas del control biológico en pinares (*Pinus* spp.), una alternativa ambientalmente viable al uso de plaguicidas**

**Luis Martín Gutiérrez-Flores**, Posgrado en Ciencias Ambientales, <sup>1</sup>Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Ciudad Universitaria, C.P. 72570, Puebla, Puebla, México; <sup>1</sup>**Lucía López-Reyes**, Laboratorio de Microbiología de Suelos; **Enrique Hipólito-Romero**, Centro de Eco-Alfabetización y Diálogo de Saberes, Universidad Veracruzana, Campus USBI, Col. Emiliano Zapata, Xalapa, Veracruz, México; <sup>1</sup>**Eduardo Torres-Ramírez**, Laboratorio de Bioinorgánica Aplicada, Centro de Química; <sup>1</sup>**Elsa Iracena Castañeda-Roldán**, Laboratorio de Patogenicidad Microbiana; <sup>1</sup>**Amparo Mauricio-Gutiérrez\***.

\* Corresponding author: amg2510@hotmail.com

Received: May 26, 2022.

Accepted: August 23, 2022.

Gutiérrez-Flores LM, López-Reyes L, Hipólito-Romero E, Torres-Ramírez E, Castañeda-Roldán EI and Mauricio-Gutiérrez A. 2022. Biological control perspectives in the pine forest (*Pinus* spp.), an environmentally friendly alternative to the use of pesticides. Mexican Journal of Phytopathology 40(3): 401-424.

DOI: <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2205-5>

First DOI publication: August 31, 2022.

Primera publicación DOI: 31 de Agosto, 2022.

**Abstract.** Forests are important for their economic, ecological, and social contribution to humanity. However, there is a decrease in the forest mass due to different causes such as fire, intensive agriculture, overgrazing, air pollution, and the presence of pests and diseases of fungal origin. A practice to deal with diseases caused by fungi has

**Resumen.** Los bosques son importantes por la contribución económica, ecológica y social a la humanidad. Sin embargo, existe disminución de la masa forestal debido a diferentes causas como el fuego, la agricultura intensiva, sobrepastoreo, contaminación atmosférica y la presencia de plagas y enfermedades de origen fúngico. Una práctica para atender a las enfermedades causadas por hongos ha sido la aplicación de fungicidas de amplio espectro, con consecuencias negativas al ambiente. El control biológico es una alternativa para el manejo de enfermedades en especies de pinos. Debido a la necesidad de conservar la diversidad de especies de pino, en esta revisión se abordan temas relevantes a la importancia de los bosques en el mundo, las enfermedades en *Pinus* spp., el control fúngico por agentes químicos y biológicos, haciendo referencia a diferentes mecanismos de control biológico y los biofungicidas más estudiados como *Trichoderma*

been the application of broad-spectrum, fungicides with negative consequences on the environment. Biological control is an alternative for disease management in pine species. Due to the need to conserve the diversity of pine species, this review addresses issues relevant to the importance of forests in the world, diseases in *Pinus* spp., fungal control by chemical and biological agents, referring to different biological control mechanisms and the most studied biofungicides such as *Trichoderma* sp. and *Bacillus* sp. in *Pinus* spp. The various scientific reports on the biological control of fungi in different pine species places it as a promising option in reducing the pathogenicity and incidence of fungal diseases with less negative effects on the environment than synthetic pesticides of chemical origin. Therefore, this review aims to transmit information on biological control in pine trees as a friendly alternative for the recovery of forests.

**Keywords:** Forest health, biocontrol, conservation, fungal diseases.

Forests are natural assets with high environmental value due to their contribution to ecosystems and society. They provide raw materials such as wood and products for food medicine, and fuel. They also provide ecosystem services such as soil erosion protection, oxygen generation, carbon sequestration, regulation of global climatic conditions and biodiversity preservation (FAO, 2011; FAO, 2018). Furthermore, 75% of the freshwater available on the planet comes from hydrographic basins associated with forests (Springgay, 2019). In addition, agroforestry activities provide recreational and tourist activities that can be turned into a source of income (Balvanera, 2012; Brown and Verschuren, 2018).

An estimated 1000 million people throughout the world depend on forest ecosystems for their

sp. y *Bacillus* sp. en *Pinus* spp. Los diversos reportes científicos sobre el control biológico de hongos en diferentes especies de pino, lo coloca como una opción prometedora en la disminución de la patogenicidad e incidencia de las enfermedades fúngicas con menos efectos negativos al ambiente como lo hacen los plaguicidas sintéticos de origen químico. Por lo que, esta revisión tiene como objetivo difundir información sobre el control biológico en plantas de pino como una alternativa amigable para la recuperación de los bosques.

**Palabras clave:** Sanidad forestal, biocontrol, conservación, enfermedades fúngicas.

Los bosques son bienes naturales de alto valor ambiental por su aporte a los ecosistemas y a la sociedad, al proveer materias primas como madera y productos para alimentos, medicamentos, dendroenergía; además de servicios ecosistémicos como protección de la erosión del suelo, generación de oxígeno, sumidero de carbono, regulación de condiciones climáticas del planeta y preservación de la biodiversidad (FAO, 2011; FAO, 2018). Por otro lado, el 75% del agua dulce disponible en el planeta, proviene de cuencas hidrográficas asociadas a los bosques (Springgay, 2019). Adicionalmente, las actividades agroforestales proporcionan espacios recreativos y turísticos como una fuente de ingresos (Balvanera, 2012; Brown y Verschuren, 2018).

Se calcula que alrededor de 1000 millones de personas en el mundo, dependen de estos ecosistemas para su subsistencia como fuente directa o indirecta al proporcionar más de 580 000 millones de dólares al año de ingresos laborables, y 8000 millones de dólares de productos forestales no maderables (FAO, 2018; FAO y UNEP, 2020). Sin embargo, debido al uso intensivo y no sustentable de los bosques existe disminución forestal ocasionada

subsistence as a direct or indirect source of income. Forests provide more than 580 000 million dollars a year of labor income, as well as 8000 million dollars of non-timber forest products (FAO, 2018; FAO and UNEP, 2020). However, the intensive and unsustainable use of forests, which is associated with fires, intensive agriculture, overgrazing, atmospheric pollution, and the presence of pests and diseases, has caused them to decline (Ken *et al.*, 2020).

In Mexico, despite the efforts made by the forestry sector, only a low proportion of the forested area is subjected to diagnosis and timely detection of pests and diseases. Pesticides, which are applied indiscriminately to keep the phytosanitary conditions below the economic threshold, are another great cause of adverse effects. Most of these products are highly toxic chemical formulations that should be used under pest incidence monitoring and integrated forest systems to avoid affecting the balance of ecosystems. The use of new technologies, such as biological control agents, that are safer and more effective than traditional methods of pest control should be more widely promoted. Until now, these technologies have been little used by the forestry sector (Villacide and Corley, 2012; Flores-Villegas *et al.*, 2019). The present work is a review of the current knowledge on the phytopathogenic agents associated with the main forestry diseases and the biological control agents that have been used to control them.

**Diseases of *Pinus* spp.** Pine Forest diseases are alterations of forest health associated with the interaction between pathogens, susceptible trees, and a favorable environment. Fungal diseases are one of the main causes of the decrease in forest biomass in Mexico (Gutiérrez-Flores *et al.*, 2020). The presence of diseased *Pinus* spp. trees favors

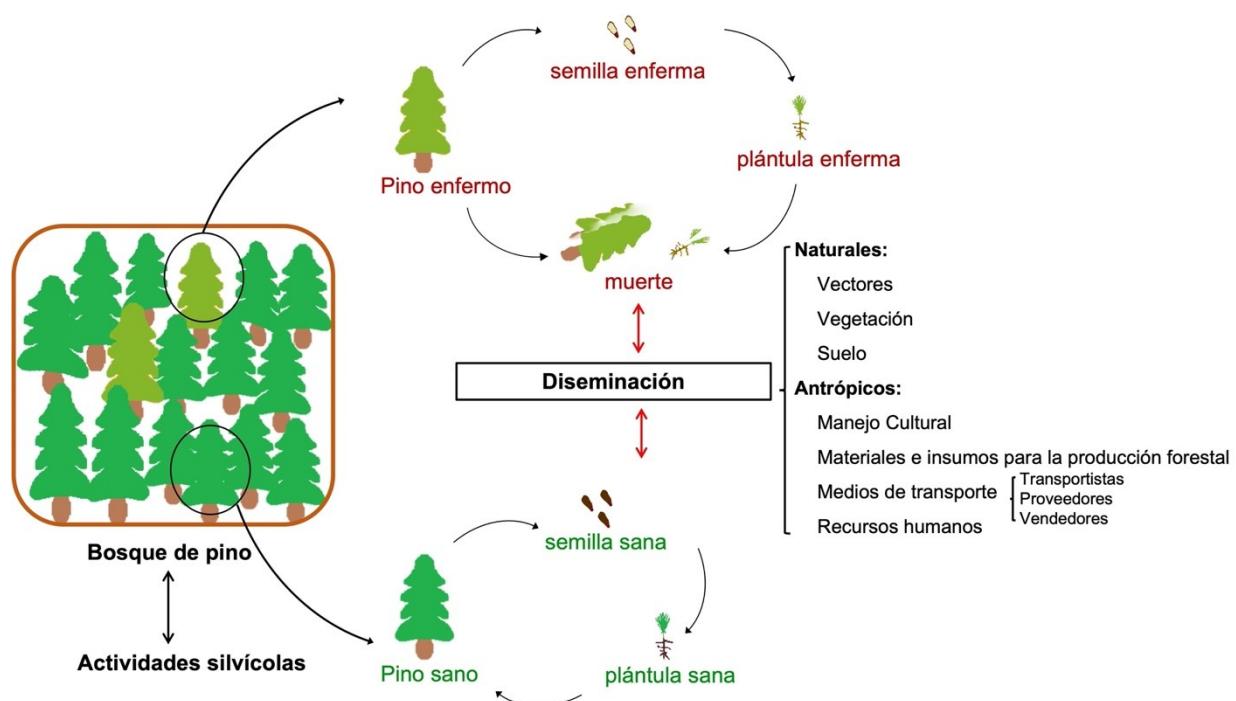
por explotaciones indiscriminadas y condiciones adversas como el fuego, agricultura intensiva, sobrepastoreo, contaminación atmosférica, y presencia de plagas y enfermedades (Ken *et al.*, 2020).

En el caso de México, a pesar de los esfuerzos realizados por el sector forestal, existe una baja proporción de la superficie arbolada sujeta al diagnóstico y detección oportuna de las plagas y enfermedades, en comparación con la superficie establecida. Otro de los efectos adversos son los plaguicidas, al aplicarse de forma indiscriminada con el esfuerzo de mantener el estatus fitosanitario por debajo del umbral económico. Además, estos productos en su mayoría son formulaciones químicas de alta toxicidad y su uso debe de integrarse bajo un monitoreo de incidencia de plagas e implementar un manejo integrado de la población forestal que permita su conservación sin afectar el equilibrio de los ecosistemas. Aunado a ello, la implementación de nuevas tecnologías seguras y efectivas que los métodos tradicionales, como es el uso de agentes de control biológico de enfermedades debe de implementarse a mayor escala, ya que esta área ha sido poco abordada en el sector forestal (Villacide y Corley, 2012; Flores-Villegas *et al.*, 2019). Es por ello, el interés de esta revisión, conocer los agentes fitopatógenos asociados a las principales enfermedades en los forestales y los agentes de control biológico que se han implementado para el control de las mismas.

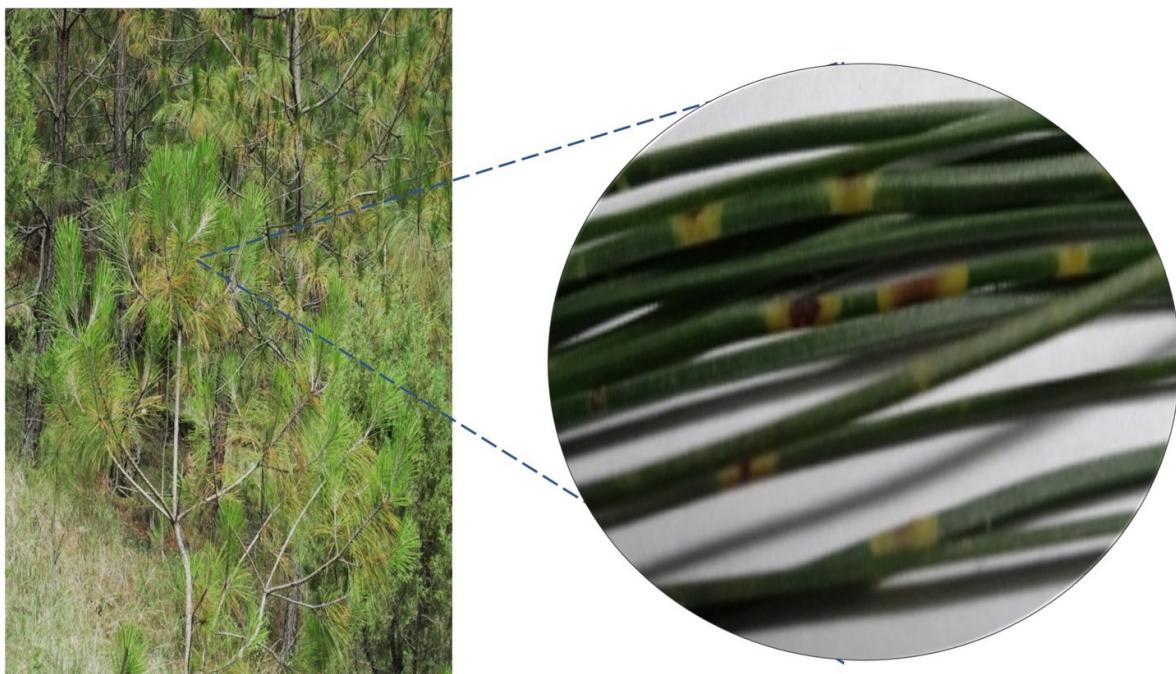
**Enfermedades en *Pinus* spp.** Las enfermedades en bosques de pino, son alteraciones a la salud forestal asociadas a la interacción de un patógeno, un árbol susceptible y ambiente favorable. Las enfermedades fúngicas son una de las causas principales de la disminución de la biomasa boscosa en México (Gutiérrez-Flores *et al.*, 2020). La presencia de árboles de *Pinus* spp. enfermos favorece la diseminación del patógeno en el ecosistema, a través

the dissemination of pathogens in the ecosystem through natural and anthropic factors (Figure 1). Phytopathogenic fungi attack different parts of pine trees, causing various diseases (Belén *et al.*, 2011). In *Pinus patula*, for example, fungal infection causes the needles to fall. The damage starts from the needles and spreads to the branches, stems and sometimes even the roots, causing the tree to die and the forest population to decrease (Figure 2). This disease is mainly associated with pathogens such as *Alternaria alternata* and *Meria laricis*, but there are also reports of its association with the genera *Annulohypoxylon*, *Botryosphaeria*, *Curvularia*, *Daldinia*, *Diplodia*, *Lophodermium*, and *Myrmaecium* in different pine species such as *P. arizonica*, *P. cembroides*, *P. patula*, and *P. pseudostrobus* from different places such as throughout the world as Canada, China, USA, and Mexico, among others (Table 1) (Guo *et al.*, 2008;

de factores naturales y antrópicos (Figura 1). Los hongos fitopatógenos atacan diferentes partes de los árboles de pino ocasionando varias enfermedades (Belén *et al.*, 2011). Por ejemplo, en *Pinus patula* ha causado la caída de acículas, el daño inicia desde las acículas extendiéndose a ramas, tallos y en ocasiones hasta la raíz, generando la muerte del árbol lo que provoca una disminución de la población forestal (Figura 2). Esta enfermedad está asociada a patógenos como *Alternaria alternata* y *Meria laricis* principalmente, también se señalan a los géneros de *Annulohypoxylon*, *Botryosphaeria*, *Curvularia*, *Daldinia*, *Diplodia*, *Lophodermium* y *Myrmaecium* en distintas especies de pino como *P. arizonica*, *P. cembroides*, *P. patula*, y *P. pseudostrobus* de diferentes sitios como Canadá, China, EUA, México, entre otros (Cuadro 1) (Guo *et al.*, 2008; Cram *et al.*, 2012; Marmolejo-Monciváis, 2018; Gutiérrez-Flores *et al.*, 2020). La disponibilidad



**Figure 1. Dissemination of pathogens associated with diseases in pine forest.**  
**Figura 1. Forma de diseminación de patógenos asociados a enfermedades en bosque de pino.**



**Figure 2.** Symptoms associated with phytopathogenic fungi. The symptoms observed in *Pinus patula* trees are foliage yellowing, needle drop, yellow lesions and central wood necrosis.

**Figura 2.** Síntomas asociados a hongos fitopatógenos. Los síntomas se observan en amarillamiento del follaje, caída de acículas y lesiones de color amarillo y en el centro necrosis en árboles de *Pinus patula*.

Cram *et al.*, 2012; Marmolejo-Monciváis, 2018; Gutiérrez-Flores *et al.*, 2020). The availability of nutrients in the soil also contributes to needle drop (Gutiérrez-Flores *et al.*, 2020).

*Diplodia sapinea* is an opportunistic pathogen with a worldwide distribution that mainly affects *P. patula* and *P. sylvestris*. It has been associated with dieback, a disease in which diseased needles initially turn yellow, then red, brown or gray, and branch deformation results in needle death, with cankers on stems, branches and buds (Ospina *et al.*, 2011; Cram *et al.*, 2012; Gutiérrez-Flores *et al.*, 2020; Larsson *et al.*, 2021). Other pathogens such as *Fusarium circinatum* cause pine pitch canker, in which the needles wither and change from yellow to reddish until dry, and the shoots are defoliated,

de nutrientes en el suelo también contribuyen a la caída de acículas (Gutiérrez-Flores *et al.*, 2020).

Por otro lado, *Diplodia sapinea* es un patógeno oportunista de distribución mundial que afecta principalmente a *P. patula* y *P. sylvestris*; y ha sido asociado a la muerte descendente en donde las acículas enfermas al inicio tienen una apariencia de color amarillo, luego de rojo a marrón o gris, con deformación de ramas dando como resultado de la muerte de la acícula, chancros en tallos, ramas y yemas (Ospina *et al.*, 2011; Cram *et al.*, 2012; Gutiérrez-Flores *et al.*, 2020; Larsson *et al.*, 2021). Otros patógenos como *Fusarium circinatum* ocasiona el chancre resinoso del pino, donde las acículas se marchitan y cambian de color amarillo a rojizo hasta secarse, y quedar los brotes defoliados

**Table 1. Fungi reported national and internationally that are associated with the main diseases present in *Pinus* spp.**  
**Cuadro 1. Hongos reportados nacional e internacionalmente que se asocian con las principales enfermedades presentes en especies de *Pinus* spp.**

Patógeno fúngico	Enfermedad	Hospedante	Distribución	Referencia
<i>Alternaria alternata</i>	Caída de acículas	<i>Pinus</i> sp. <i>P. arizonica</i> <i>P. cembroides</i> <i>P. patula</i> <i>P. pseudostrobus</i>	China México	Guo <i>et al.</i> , 2008 Marmolejo-Monciváis, 2018 Gutiérrez-Flores <i>et al.</i> , 2020
<i>Annulohypoxylon stygium</i>	Caída de acículas	<i>P. patula</i>	México	Gutiérrez-Flores <i>et al.</i> , 2020
<i>Botrytis cinerea</i>	Moho Gris	<i>P. massoniana</i>	Suecia	Capieau <i>et al.</i> , 2004
<i>Botryosphaeria dothidea</i>	Caída de acículas Muerte regresiva	<i>Pinus</i> sp. <i>P. patula</i>	México Sudáfrica	Marsberg <i>et al.</i> 2017 Gutiérrez-Flores <i>et al.</i> , 2020
<i>Ceratocystis</i> sp.	Mancha azul en trozas	<i>P. patula</i> <i>P. radiata</i> <i>P. tropicalis</i>	Colombia	Guerra <i>et al.</i> , 2004 Osorio, 2007 Ospina <i>et al.</i> , 2011
<i>Cronartium quercuum</i>	Roya de agallas	<i>Pinus</i> sp.	EUA	Cram <i>et al.</i> , 2012
<i>Cronartium quercuum</i> f. sp. <i>fusiforme</i>	Oxidación fusiforme	<i>Pinus</i> sp.	EUA	Cram <i>et al.</i> , 2012
<i>Curvularia</i> sp. <i>C. lunata</i> <i>C. pseudobrachyspora</i> <i>C. spicifera</i> <i>C. trifolii</i>	Caída de acículas	<i>P. patula</i>	México	Gutiérrez-Flores <i>et al.</i> , 2020
<i>Cylindrocarpon</i> sp.	Pie negro	<i>Pinus</i> sp.	EUA	Cram <i>et al.</i> , 2012
<i>Daldinia</i> sp. <i>D. eschscholtzii</i> <i>D. fissa</i> <i>D. petriniae</i>	Caída de acículas Chancrosis	<i>P. patula</i> <i>P. sylvestris</i>	España México	Stadler <i>et al.</i> 2014 Sanz-Ros <i>et al.</i> 2015 Gutiérrez-Flores <i>et al.</i> , 2020
<i>Diplodia sapinea</i>	Caída de acículas Muerte descendente	<i>Pinus</i> sp. <i>P. patula</i> <i>P. sylvestris</i>	Colombia EUA México Suecia	Ospina <i>et al.</i> , 2011 Cram <i>et al.</i> , 2012 Gutiérrez-Flores <i>et al.</i> , 2020 Larsson <i>et al.</i> , 2021
<i>Dothistroma</i> sp.	Banda roja	<i>Pinus</i> sp. <i>P. contorta</i> <i>P. ponderosa</i> <i>P. nigra</i> <i>P. radiata</i>	México Suiza	Cibrán, 2007 Cram <i>et al.</i> , 2012 Queloz <i>et al.</i> , 2014 Alenezi <i>et al.</i> , 2015
<i>Fusarium</i> sp. <i>F. oxysporum</i> <i>F. solani</i>	Fusariosis vascular	<i>Pinus</i> sp. <i>P. patula</i> <i>P. pseudostrobus</i>  <i>Pinus</i> sp. <i>P. greggii</i> <i>P. massoniana</i>	Colombia México	Ospina <i>et al.</i> , 2011 Robles-Yerena <i>et al.</i> , 2016
<i>F. circinatum</i>	Chancre resinoso del pino	<i>P. nigra</i> <i>P. pinaster</i> <i>P. pinea</i> <i>P. radiata</i> <i>P. sylvestris</i> <i>P. tadea</i>	Chile China EUA España México	Cram <i>et al.</i> , 2012 Carrasco <i>et al.</i> , 2016 Martínez-Álvarez <i>et al.</i> , 2016 Flores-Pacheco, 2017 Iturritxa <i>et al.</i> , 2017 García-Díaz <i>et al.</i> , 2019 Yu y Luo, 2020

**Table 1. Continue.**  
**Cuadro 1. Continúa.**

Patógeno fúngico	Enfermedad	Hospedante	Distribución	Referencia
<i>Lecanosticta acicola</i>	Banda marrón	<i>Pinus</i> sp. <i>P. mugo</i> <i>P. sylvestris</i>	Guatemala México Polonia Turquía	van der Nest <i>et al.</i> , 2019 Oskay <i>et al.</i> , 2020 Raitelaityté <i>et al.</i> , 2020
<i>Lophodermium</i> sp. <i>L. indianum</i> <i>L. seditiosum</i>	Caída de acículas Chancrosis	<i>P. ayacahuite</i> <i>P. montezumae</i> <i>P. patula</i> <i>P. sylvestris</i>	Escocia México Polonia Rusia	Reignoux <i>et al.</i> 2014 Behnke-Borowczyk <i>et al.</i> , 2018 Gutiérrez-Flores <i>et al.</i> , 2020 Sheller <i>et al.</i> , 2020
<i>Meria laricis</i>	Caída de acículas	<i>Pinus</i> sp.	Cáñada EUA	Cram <i>et al.</i> , 2012
<i>Mycosphaerella</i> sp.	Banda roja de la acícola	<i>Pinus</i> sp. <i>P. patula</i>	Colombia EUA	Ospina <i>et al.</i> , 2011 Cram <i>et al.</i> , 2012
<i>Myrmecium rubricosum</i>	Caída de acículas	<i>P. patula</i>	México	Gutiérrez-Flores <i>et al.</i> , 2020
<i>Passalora sequoiae</i>	Moho de la hoja	<i>Pinus</i> sp.	EUA	Cram <i>et al.</i> , 2012
<i>Pestalotiopsis funerea</i>	Tizón del follaje	<i>Pinus</i> sp.	EUA	Cram <i>et al.</i> , 2012
<i>Phoma eupyrena</i>	Phomosis	<i>Pinus</i> sp.	EUA	Cram <i>et al.</i> , 2012
<i>Phomopsis juniperovora</i> <i>P. lokoyae</i>	Phomosis	<i>Pinus</i> sp.	EUA	Cram <i>et al.</i> , 2012
<i>Phytophthora cinnamomi</i>	Muerte de raíces	<i>P. radiata</i>	Chile	Ahumada <i>et al.</i> , 2013
<i>Phytophthora</i> sp.	Volcamiento o pudrición de la raíz	<i>Pinus</i> sp. <i>P. patula</i>	Colombia EUA	Ospina <i>et al.</i> , 2011 Cram <i>et al.</i> , 2012
<i>Rhizoctonia</i> sp.				
<i>Ophiostoma</i> sp. <i>O. pulvinisporum</i> <i>O. pluriannulatum</i>	Mancha azul de la madera	<i>P. leiophylla</i> <i>P. teocote</i>	México	Moreno-Rico <i>et al.</i> , 2015

frequently causing crown dieback and eventually leading to the death of the tree. This pathogen is widely distributed in various countries, including Mexico. Therefore, it affects a wide variety of pine species (Cram *et al.*, 2012; Carrasco *et al.*, 2016; Martínez-Álvarez *et al.*, 2016; Flores-Pacheco, 2017; Iturritxa *et al.*, 2017; García-Díaz *et al.*, 2019; Yu and Luo, 2020). The genus *Lophodermium* is present in forests of Mexico, Europe and Asia. It has been associated with the species *Pinus ayacahuite*, *P. patula*, *Pinus montezumae*, and *P. sylvestris*. Infected needles develop brown spots with yellow margins, ending with tissue death (Cibrián *et al.*, 2007; Reignoux *et al.*, 2014;

con la probabilidad de estrangular el ápice de crecimiento y muerte del árbol; este patógeno se encuentra ampliamente distribuido en diversos países incluido México por lo que afecta a una gran variedad de especies de pinos (Cram *et al.*, 2012; Carrasco *et al.*, 2016; Martínez-Álvarez *et al.*, 2016; Flores-Pacheco, 2017; Iturritxa *et al.*, 2017; García-Díaz *et al.*, 2019; Yu y Luo, 2020). El género *Lophodermium* está presente en bosques de México, Europa y Asia; y se ha asociado a las especies de *Pinus ayacahuite*, *P. patula*, *Pinus montezumae*, y *P. sylvestris*; donde las acículas infectadas desarrollan manchas pardas con márgenes amarillos, finalizando con la muerte del tejido (Cibrián *et al.*,

Behnke-Borowczyk *et al.*, 2018; Gutiérrez-Flores *et al.*, 2020; Sheller *et al.*, 2020). Other fungal genera that have been reported to affect *Pinus* spp. are *Botrytis*, *Ceratocystis*, *Cylindrocarpon*, *Cronartium*, *Curvularia*, *Daldinia*, *Dothistroma*, *Mycosphaerella*, *Lecanosticta*, *Phytophthora*, *Pythium*, and *Rhizoctonia* (Figure 3). These fungi trigger different pathologies such as gray mold, regressive death, blue spot, blackfoot, blight, etc. (Table 1) (Ospina *et al.*, 2011; Cram *et al.*, 2012; Moreno-Rico *et al.*, 2015; van der Nest *et al.*, 2019; Gutiérrez-Flores *et al.*, 2020; Oskay *et al.*, 2020; Raitelaityté *et al.*, 2020).

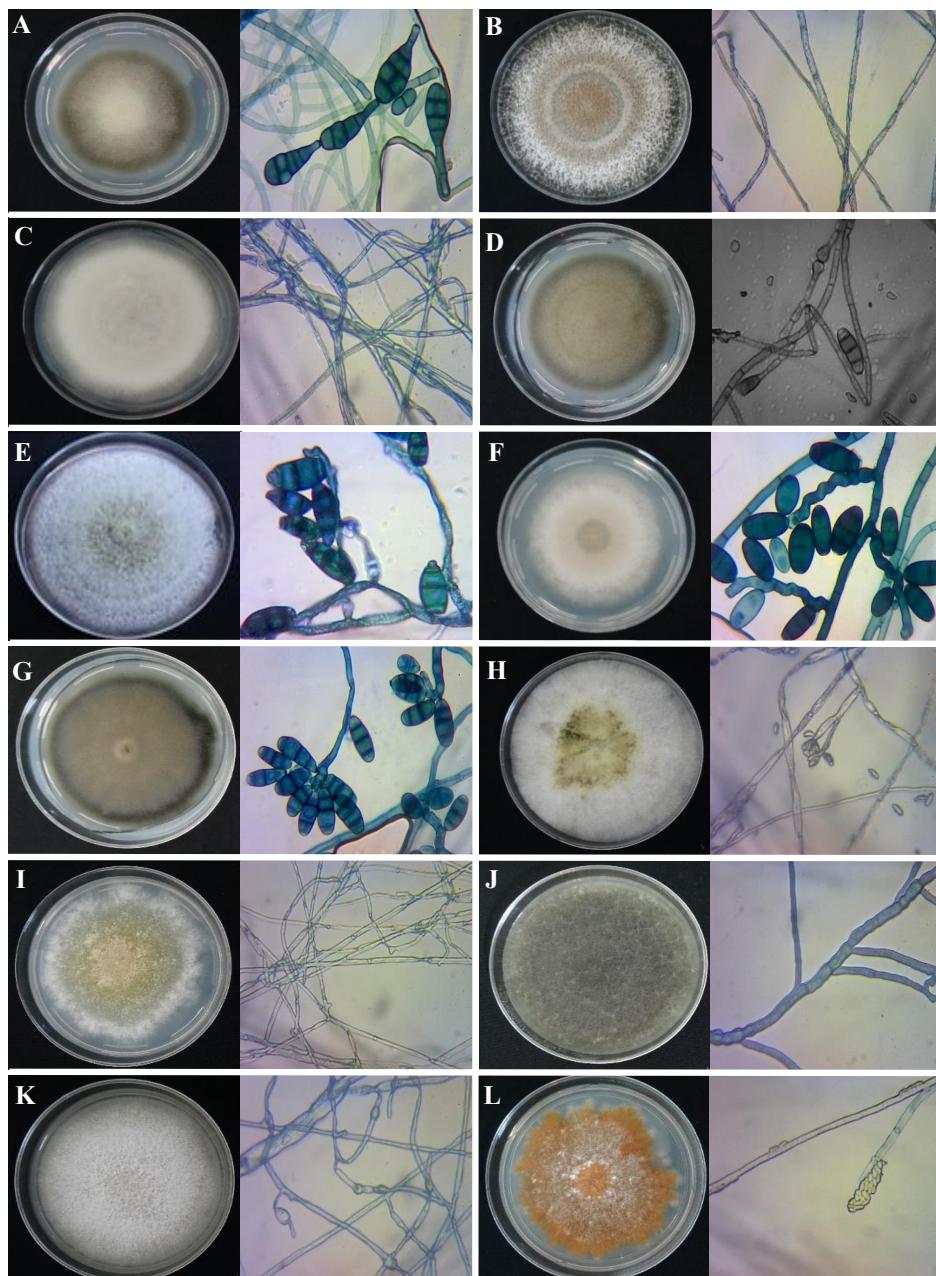
The phytopathogenic fungi associated with *Pinus* spp. are difficult to identify, due to the relationship between their life cycles, the phenological development of the host, and the presence of environmental factors that makes them behave as saprophytes and mutualists (Gutiérrez-Flores *et al.*, 2020). The great diversity of fungal agents that cause foliar loss and death in *Pinus* spp. throughout the world has elicited concern and interest among the scientific community and society in general (Gutiérrez-Flores *et al.*, 2020; Larsson *et al.*, 2021). This phytosanitary situation has driven the search for ways to manage and control diseases of fungal origin using synthetic molecules and biological agents (Adusei-Fosu and Rolando, 2018; Kang *et al.*, 2019).

**Importance of pesticides.** Pesticides are anthropogenic substances or mixtures of substances with broad-spectrum activity and environmental persistence that are intended to prevent, destroy or control crop pests (Narváez-Valderrama *et al.*, 2012; del Puerto-Rodríguez *et al.*, 2014). The dispersion of pesticide chemicals among plants depends on the physicochemical properties of pesticides, their formulation and presentation, climatic conditions, geological characteristics, forms of application

2007; Reignoux *et al.* 2014; Behnke-Borowczyk *et al.*, 2018; Gutiérrez-Flores *et al.*, 2020; Sheller *et al.*, 2020). Otros géneros que se han reportado han sido *Botrytis*, *Ceratocystis*, *Cylindrocarpon*, *Cronartium*, *Curvularia*, *Daldinia*, *Dothistroma*, *Mycosphaerella*, *Lecanosticta*, *Phytophthora*, *Pythium* y *Rhizoctonia* asociados a *Pinus* spp., (Figura 3) donde desencadenan diferentes patologías como moho gris, muerte regresiva, mancha azul, pie negro, tizones, etc. (Cuadro 1) (Ospina *et al.*, 2011; Cram *et al.*, 2012; Moreno-Rico *et al.*, 2015; van der Nest *et al.*, 2019; Gutiérrez-Flores *et al.*, 2020; Oskay *et al.*, 2020; Raitelaityté *et al.*, 2020).

Los hongos fitopatógenos asociados a *Pinus* spp. son difíciles de identificar, debido a la interrelación entre sus ciclos de vida, el desarrollo fenológico del hospedero, y los factores ambientales; hace que se comporten como saprófitos y mutualistas (Gutiérrez-Flores *et al.*, 2020). Lo que ha originado preocupación e interés de la comunidad científica y la sociedad, sobre la gran diversidad de agentes fúngicos que causan la pérdida foliar, y muerte de árboles de *Pinus* spp. en los continentes Africano, Americano, Asiático y Europeo (Gutiérrez-Flores *et al.*, 2020; Larsson *et al.*, 2021); ante esta situación fitosanitaria se ha indagado sobre el manejo y control de enfermedades de origen fúngico a base de moléculas sintéticas de origen químico y agentes de origen vivo (Adusei-Fosu y Rolando, 2018; Kang *et al.*, 2019).

**Importancia de los plaguicidas.** Los plaguicidas son sustancias o mezcla de sustancias antrópicas destinadas a prevenir, destruir o controlar cualquier plaga, con medios de acción de amplio espectro y que comúnmente son persistentes en el ambiente (Narváez-Valderrama *et al.*, 2012; del Puerto-Rodríguez *et al.*, 2014). Su dispersión de los químicos en la planta depende de sus propiedades fisicoquímicas, las condiciones climáticas, las características



**Figure 3.** Most frequent fungi associated with *Pinus patula* de Tetela de Ocampo, Puebla, México. A. *Alternaria alternata* M1AAR1; B. *Annulohypoxylon stygium* T1R1; C. *Botryosphaeria dothidea* M7MtPpA-CH3 (2); D. *Curvularia lunata* M1MtPpA-AA; E. *C. pseudobrachyspora* M41MtPpA-CHR1; F. *C. spicifera* M21MtPpA-AAR2; G. *C. trifolii* M2MtPpA-AA; H. *Daldinia eschscholtzii* T5R2; I. *Daldinia* sp. M3MtPpA-CHR2 (2); J. *Diplodia sapinea* M3MtPpA-CH; K. *Lophodermium indianum* M1MtPpA-PDAR1; and L. *Myrmecium rubricosum* M1MtPpA-PDA ((Modified by Gutiérrez-Flores et al., 2020).

**Figura 3.** Hongos más frecuentes asociados a *Pinus patula* de Tetela de Ocampo, Puebla, México. A. *Alternaria alternata* M1AAR1; B. *Annulohypoxylon stygium* T1R1; C. *Botryosphaeria dothidea* M7MtPpA-CH3 (2); D. *Curvularia lunata* M1MtPpA-AA; E. *C. pseudobrachyspora* M41MtPpA-CHR1; F. *C. spicifera* M21MtPpA-AAR2; G. *C. trifolii* M2MtPpA-AA; H. *Daldinia eschscholtzii* T5R2; I. *Daldinia* sp. M3MtPpA-CHR2 (2); J. *Diplodia sapinea* M3MtPpA-CH; K. *Lophodermium indianum* M1MtPpA-PDAR1; y L. *Myrmecium rubricosum* M1MtPpA-PDA (Modificado de Gutiérrez-Flores et al., 2020).

and transport processes (Ramírez and Lacasaña, 2001). Pesticides can be classified according to their use as insecticides, fungicides, herbicides, bactericides, etc.; They are also classified based on their chemical composition into organochlorines, organophosphates, carbamates, pyrethroids, bipyridyl compounds, inorganic salts, etc (Ferrer, 2003; Serra *et al.*, 2020). The excessive and irrational use of these chemical products is an important problem not only because their residual persistence in the environment and the resistance that pest organisms can generate against them, but also because they can get into human bodies through drinking water, air, soil, and indirectly, through the biological chain of food. This can cause several health problems, including genetic mutations, hormonal alterations and endocrine modifications (Tobón-Marulanda *et al.*, 2010; Ortiz *et al.*, 2014; Bravo *et al.*, 2020).

**Fungal control by chemical agents.** Fungicides have been widely used to control fungi and are classified according to their characteristics, including their chemical or biological origin. Chemical fungicides have been applied as foliar sprays to control phytopathogenic fungi in forest species. In Mexico, fungicides used in forestry have also been used in agriculture. These include Azoxystrobin, Chlorothalonil, Fosetyl-Al, Calcium Phosphite, Copper Phosphite, Potassium Phosphite, Mancozeb, Metalaxyl-Chlorothalonil, and Propiconazole (Table 2). These function as residual or contact protectants that control or prevent the spread of fungi to healthy hosts when applied correctly (Adusei-Fosu and Rolando, 2018). Table 2 lists some fungicides with systemic action, Azoxystrobin (strobilurins), Fosetyl-Al (organophosphate), Metalaxil (acylalanines), and Propiconazole (triazoles), as well as fungicides with protective and healing activity, Chlorothalonil

geológicas, de la formulación y presentación del producto, formas de aplicación y procesos de transporte (Ramírez y Lacasaña, 2001). Los plaguicidas, pueden clasificarse en función de su empleo como insecticidas, fungicidas, herbicidas, bactericidas, etc.; también se clasifican con base a su composición química en organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretroides, compuestos bipyridílicos, sales inorgánicas, entre otros (Ferrer, 2003; Serra *et al.*, 2020). La importancia del uso excesivo e irracional de estos productos químicos, no solo radica en la residualidad de estos en el medio ambiente, resistencia que puede generar en las plagas, sino, también porque puede llegar al hombre directamente a través del agua potable, aire, suelo, e indirectamente, a través de la cadena biológica de los alimentos con expresión de daños a la salud de la población, como mutaciones genéticas, alteraciones hormonales y modificaciones endocrinas (Tobón-Marulanda *et al.*, 2010; Ortiz *et al.*, 2014; Bravo *et al.*, 2020).

**Control fúngico por sustancias químicas.** Los fungicidas se han utilizado ampliamente para el control de hongos, y son clasificados de acuerdo a las características de los productos, entre ellos, por su naturaleza como químicos y biológicos. Para el control de hongos fitopatógenos en especies forestales, se han aplicado fungicidas químicos como aerosoles foliares. En México, los fungicidas que utilizan para los forestales también se encuentran documentados para uso agrícola como el Azoxystrobin, Clorotalonil, Fosetyl-Al, Fosfato de Calcio, Fosfato de Cobre, Fosfato de Potasio, Mancozeb, Metalaxil-Clorotalonil y Propiconazol (Cuadro 2). Estos funcionan como protectantes, residuales o de contacto para controlar o prevenir la propagación de los hongos a hospederos sanos y proteger contra nuevas infecciones si su aplicación es correcta (Adusei-Fosu y Rolando, 2018). En el Cuadro 2 se

**Table 2. Main chemical fungicides recommended for forestry use in Mexico.**  
**Cuadro 2. Principales fungicidas químicos recomendados para uso forestal en México.**

Ingrediente activo: concentración (%)	Actividad <sup>z</sup>	Grupo químico	Intervalo entre aplicaciones (días)	Dosis para uso forestal en 100 L
Azoxystrobin: (23)	Sistémico, protector y curativo	Estrobilurinas	7-14	0.20-0.40 L
Clorotalonil: (52-54)	Protector y curativo	Cloronitrilos	7-10	1.75-2.6 L
Fosetyl-Al: (80)	Sistémico	Organofosforados	10-14	200-300 g
Fosfato de calcio: (25)	Inductor de defensa, y aporta nutrientes	Oxisal	7-14	0.25 L
Fosfato de cobre: (40)	Inductor de defensa, y aporta nutrientes	Oxisal	20-25	0.25 L
Fosfato potásico: (70)	Inductor de defensa, y aporta nutrientes	Oxisal	7-10	0.250 L
Mancozeb: (30-80)	Protector no sistémico	Ditiocarbamatos	7-10	250-300 g
Metalaxil: (9), Clorotalonil: (72)	Sistémico, protector y curativo	Acilaninas, Cloronitrilos	10-14	400-1000 g
Propiconazol: (26)	Sistémico, protector y curativo	Triazoles	7-10	0.5 L

<sup>z</sup>Dictionary of Agrochemical Specialties (DEAQ, 2022); Federal Commission for the Protection against Sanitary Risks. / <sup>z</sup>Diccionario de Especialidades Agroquímicas (DEAQ, 2022); Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS, 2019).

(chloronitriles), and Mancozeb (dithiocarbamates), that must be applied before the fungal infection to prevent the development of new lesions (DEAQ, 2022). It is important to know which fungi affect forest trees because there are many tree diseases that are natural (old age) and cyclical ecological phenomena, and most of them are untreatable with fungicides (Adusei-Fosu and Roland, 2018).

Fungicides are classified as highly dangerous since they can cause harmful effects in humans such as contact dermatitis, chronic skin diseases, visual disturbances, and pulmonary edema, sometimes with lethal consequences. This is often the result of not complying with the criteria established by the United Nations Organization (UN) for the use and commercialization of fungicides (Speck-Planche *et al.*, 2012; FAO and WHO, 2016). Some fungicides authorized for use in Mexico by the Federal Commission for the Protection against Sanitary Risks (COFEPRIS) include Azoxystrobin, Chlorothalonil, Fosetyl-Al, Mancozeb, Metalaxyl-Chlorothalonil, and Propiconazole (COFEPRIS, 2019). However, Chlorothalonil is on the list of

mencionan algunos fungicidas que actúan de forma sistémica: Azoxystrobin (estrobilurinas), Fosetyl-Al (organofosforado), Metalaxil (acilaninas) y Propiconazol (triazoles); o bien que actúan como fungicidas de protección y curación: Clorotalonil (cloronitrilos) y Mancozeb (ditiocarbamatos) que deben aplicarse antes de la infección fúngica para evitar el desarrollo de nuevas lesiones (DEAQ, 2022). Por otro lado, es importante conocer los hongos asociados a los forestales, ya que existen muchas enfermedades de los árboles como fenómenos ecológicos naturales (vejez en árboles) y cílicos, y en su mayoría son intratables con el uso de fungicidas (Adusei-Fosu y Rolando, 2018).

Los fungicidas están clasificados como altamente peligrosos y pueden causar afectaciones en el ser humano como dermatitis de contacto, enfermedades crónicas de la piel, alteraciones visuales, edema pulmonar y daño letal; esto al no cumplir con los criterios establecidos por la Organización de las Naciones Unidas (ONU) para su uso y comercialización (Speck-Planche *et al.*, 2012; FAO y WHO, 2016). Algunos se encuentran autorizados

extremely dangerous substances for human health (NJ Health, 2017) due to its carcinogenic properties and the fact that it is highly toxic to fauna, posing a serious environmental risk (Reglinski and Dick, 2005; Ortiz *et al.*, 2014).

Unfortunately, there is a lack of information about the characterization and effective use of chemical fungicides in pine trees. Not enough is known about the physiological, biochemical and molecular modes of action of these products, the procedures that should be followed to avoid the development of resistance to chemical molecules in disease-causing agents, their effects on the soil microbiota, the application dose, or the time, place and methods with which to apply them (Adusei-Fosu and Rolando, 2018).

**Fungal control by biological agents.** Biological fungicides, also known as biofungicides (Heydari and Pessarakli, 2010; Liu *et al.*, 2021) or biocontrol agents, are formulations developed from bacteria or fungi that are designed to control and/or eradicate pathogenic fungi. These products have been used as an alternative method to reduce the damage caused by pathogenic fungi while generating little or no environmental contamination and without generating resistance in the targeted fungi (Guédez *et al.*, 2008; Heydari and Pessarakli, 2010).

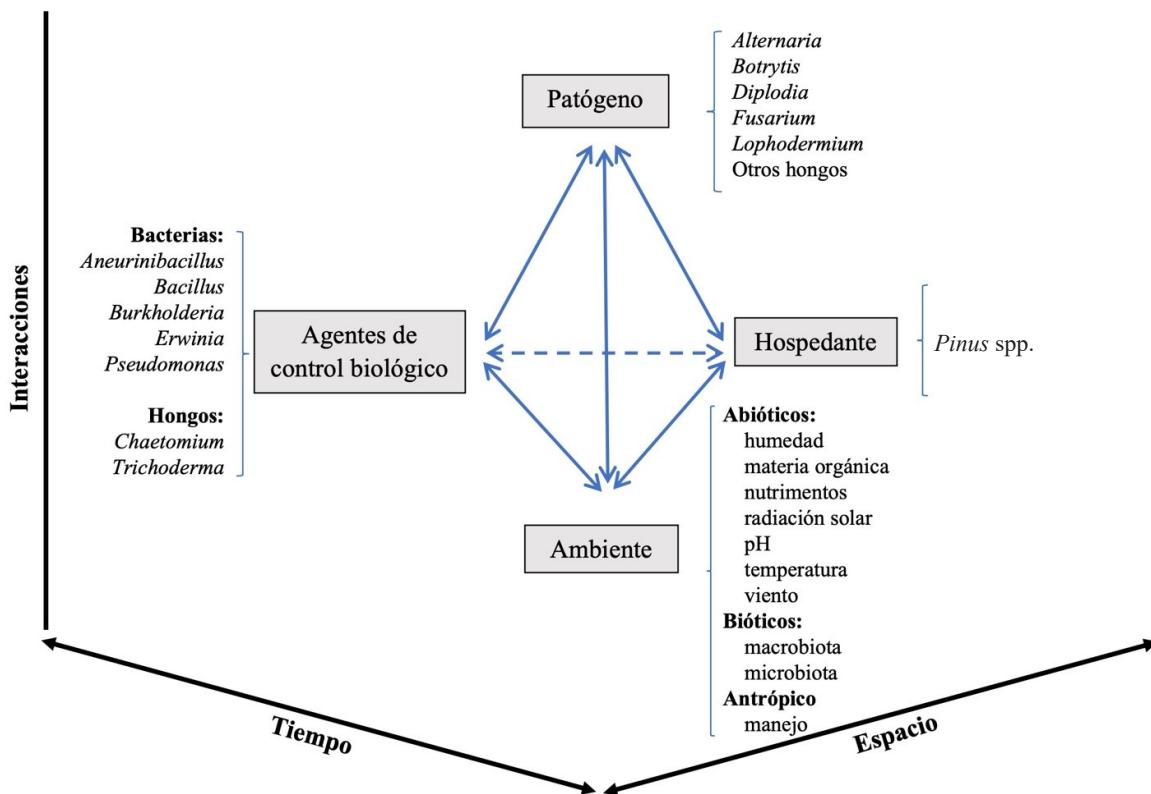
The biological control of fungi and also involve the participation of an antagonist organism, an agent or a combination of biological agents that can interfere with the physiological processes of pathogenic parasites (Legrand *et al.*, 2017). The efficient use of biological control agents affects various interactions between the biological control agent, the pathogen, the host, and the environment, among others. It can be effective in reducing the incidence of pathogenic fungi among forest populations (Figure 4).

por la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) como: Azoxystrobin, Clorotalonil, Fosetyl-Al, Mancozeb, Metalaxil-Clorotalonil y Propiconazol (COFEPRIS, 2019). Sin embargo, el Clorotalonil se encuentra en la lista de substancias extremadamente peligrosas para la salud (NJ Health, 2017) ya que es carcinógeno, y de alta toxicidad para la fauna por lo que representa un riesgo ambiental (Reglinski y Dick, 2005; Ortiz *et al.*, 2014).

Desafortunadamente se carece de suficiente información sobre la identificación y el uso efectivo de los fungicidas químicos en árboles de pino. Entre estos, los modos de acción fisiológico, bioquímico y molecular; así como los mecanismos para evitar el desarrollo de resistencia en los agentes causantes de enfermedades a las moléculas químicas, efectos sobre la microbiota del suelo, dosis de aplicación, tiempo, lugar y métodos de aplicación de los fungicidas (Adusei-Fosu y Rolando, 2018).

**Control fúngico por agentes biológicos.** Por otra parte, los fungicidas biológicos son formulaciones desarrolladas a partir de bacterias u hongos, destinados al control y/o erradicación de hongos patógenos, conocidos también como biofungicidas (Heydari y Pessarakli, 2010; Liu *et al.*, 2021), o agentes de biocontrol. Estos productos se han utilizado como una alternativa para disminuir los daños causantes por patógenos, con bajos o nulos problemas de contaminación ambiental y de generar resistencia en los hongos (Guédez *et al.*, 2008; Heydari y Pessarakli, 2010).

En el control biológico de hongos interviene otro organismo llamado antagonista, el cual es un agente o mezcla de agentes biológicos, con potencial para interferir en cualquiera de los procesos vitales fisiológicos del parasitismo de los patógenos (Legrand *et al.*, 2017). La eficiencia del uso



**Figure 4. Interactions that play a role in biological control (Adaptado de Mora-Aguilera *et al.*, 2017).**  
**Figura 4. Interacciones involucradas en el control biológico (Adaptado de Mora-Aguilera *et al.*, 2017).**

The interest in biological control has increased in recent decades due to its advantages over traditional fungal control methods (Table 3), mainly due to the indiscriminate use of chemical products, which has led pathogens to develop resistance (Gepp *et al.*, 2012; Yang *et al.*, 2019). The increasing commitment to environmental conservation has promoted the development of sustainable and comprehensive methods to reduce the excessive use of agrochemicals. Biological control agents have shown to be effective in reducing the inoculum load of the pathogen. Antagonist organisms are involved in different mechanisms that may act together against pathogens, such as competition for space and nutrients, parasitism, production of secondary metabolites (antibiotics, lytic enzymes and volatile

de agentes de control biológico involucra diversas interacciones basadas en el sistema epidemiológico entre el agente de control biológico, patógeno, hospedante, ambiente, entre otros; y en consecuencia puede ser efectivo al reducir la incidencia del hongo en una población forestal (Figura 4).

El interés por el control biológico ha aumentado en las últimas décadas por las ventajas que tiene sobre los métodos tradicionales (Cuadro 3); debido principalmente a que el uso indiscriminado de productos químicos ha ocasionado resistencia a los patógenos (Gepp *et al.*, 2012; Yang *et al.*, 2019). Actualmente, existe un mayor compromiso por la conservación del ambiente lo que ha promovido el desarrollo de prácticas sustentables e integrales con el fin de reducir el uso excesivo de los agroquímicos.

**Table 3. Advantages and disadvantages of the use of biological control agents for fungal management.**

**Cuadro 3. Ventajas y desventajas del uso de agentes de control biológico para manejo de hongos.**

Ventajas	Desventajas
Mayor especificidad	Ignorancia sobre el método
Baja resistencia de las plagas al control biológico	Falta de apoyo económico
Sustitución parcial o total a los plaguicidas sintéticos de sustancias químicas	Falta de personal especializado
Relación coste/beneficio mayor	Antagonistas susceptibles a plaguicidas
Evita plagas secundarias	No provee una supresión inmediata
Escaras intoxicaciones	Poca investigación toxicológica
Amigable con el ambiente	Sobrevivencia y adaptabilidad

Source: Guédez *et al.* (2008); Holmes *et al.* (2016). / Fuente: Guédez *et al.* (2008); Holmes *et al.* (2016). / Fuente: Guédez *et al.* (2008); Holmes *et al.* (2016).

compounds), and induced systemic resistance in plants (Hernández-Lauzardo *et al.*, 2007; Martínez *et al.*, 2013).

Some microorganisms secrete secondary metabolites that aid in biological control. These compounds are not directly involved in the growth, development or reproduction of pathogens, but can interfere indirectly with their growth and/or activities. An example of this metabolic action is the production of antibiotics. Some microorganisms produce and secrete one or more antibiotic compounds (Liu *et al.*, 2021). The production of lytic enzymes that can hydrolyze a wide variety of polymeric compounds, such as chitin, proteins, cellulose, hemicellulose and DNA, is associated with the control of pathogens (Vargas-Hoyos and Gilchrist-Ramelli, 2015).

Another biocontrol mechanism is mycoparasitism, in which the antagonist acts as a mycoparasite, with the pathogen as the host (Steyaert *et al.*, 2003). An example of mycoparasitism (attack of a fungus by another fungus) is the genus *Trichoderma*, which is widely used as biological control agent (Alfiky and Weisskopf, 2021) against a variety of phytopathogenic fungi.

Es por ello, que se debe buscar efectividad de los agentes de control biológico para reducir la carga de inoculo del patógeno. Estos antagonistas pueden tener varios mecanismos que actúan de manera conjunta; como la competencia por espacio y nutrientes, el parasitismo, producción de metabolitos secundarios (antibióticos, enzimas líticas y compuestos volátiles), y la resistencia sistémica inducida en plantas (Hernández-Lauzardo *et al.*, 2007; Martínez *et al.*, 2013).

Por otro lado, existen microorganismos que secretan metabolitos secundarios que colaboran en el control biológico, estos compuestos no están directamente involucrados en su crecimiento, desarrollo o reproducción, pero pueden interferir con el crecimiento y/o actividades de algún patógeno. Un ejemplo de esta acción metabólica, es la producción de antibióticos; algunos microrganismos producen y secretan uno o más compuestos con antibióticos (Liu *et al.*, 2021). Por otra parte, la producción de enzimas líticas que pueden hidrolizar una amplia variedad de compuestos poliméricos, como quitina, proteínas, celulosa, hemicelulosa y ADN, están relacionados al control de patógenos (Vargas-Hoyos y Gilchrist-Ramelli, 2015).

Pathogenic fungi can also be managed through induced systemic resistance (ISR), a promising non-chemical strategy for effective disease management (Meena *et al.*, 2020). It is an infection-activated plant response that is enhanced by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) such as *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Gluconacetobacter*, *Pseudomonas*, and *Bacillus*. These bacteria represent a biological alternative for pathogen control and ecosystem conservation (Choi *et al.*, 2014; Guo *et al.*, 2015; Moreno-Reséndez *et al.*, 2018). However, the systemic resistance response can be limited by stress conditions affecting the plant such as water deficiency, causing alterations in the signals associated with the containment of the pathogen (Arango-Velez *et al.*, 2016). In conifers, the systemic resistance response works through lignification induced by the inoculation of pathogens, as is the case with the fungi *Sphaeropsis sapinea* and *Diplodia scrobiculata* in *Pinus nigra* (Bonello and Blodgett, 2003; Blodgett *et al.*, 2007).

Nutrient competition is another mechanism that can be used to control pathogenic fungi. It is a proven biocontrol method when the growth of antagonist organisms causes the depletion of nutrients and/or the invasion of the space available for pathogens, thereby reducing their growth rate and incidence (Guerrero-Prieto *et al.*, 2011; van Lenteren *et al.*, 2018). An example of this mechanism is the bacterium *Serratia marcensces* strain PWN146, isolated from *Pinus pinaster* specimens with wilting symptoms. The genome of this bacterium contains genes associated with the production of siderophores, heavy metal transporters that are involved in the sequestration and transport of iron. The genome also contains genes related to the biosynthesis of antibiotics, such as the *igrB* gene (gramicidin), *tycC* (tyrocidine), *ppsDE* (plipastatin), and *srfAD* (surfactin), enzymes that degrade the cell wall (Chitinase Class I) and a toxin

Otro mecanismo de biocontrol es el micoparasitismo, donde el antagonista actúa como micoparásito y el patógeno es el hospedero (Steyaert *et al.*, 2003). Ejemplo de micoparasitismo (ataque de un hongo por otro hongo), es el uso del género *Trichoderma* el cual es ampliamente utilizado como agente de control biológico (Alfiky y Weisskopf, 2021) para una diversidad de hongos fitopatógenos.

Otra forma de manejar los patógenos, es la resistencia sistémica inducida (RSI), es una de las estrategias no químicas prometedoras para el manejo efectivo de las enfermedades y es adquirida después de un estímulo (Meena *et al.*, 2020). Esta respuesta es potenciada por rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) como *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Gluconacetobacter*, *Pseudomonas* y *Bacillus* durante la interacción planta-microorganismo; y representan una alternativa biológica para el control de patógenos, y conservación de ecosistemas (Choi *et al.*, 2014; Guo *et al.*, 2015; Moreno-Reséndez *et al.*, 2018). Sin embargo, la respuesta sistémica se puede ver limitada por condiciones de estrés en la planta como la deficiencia hídrica; lo que provoca alteración en las señales involucradas en la contención de un patógeno (Arango-Velez *et al.*, 2016). La respuesta sistémica en coníferas, a partir de la lignificación inducida, se ha documentado como resultado de la inoculación de patógenos como el hongo *Sphaeropsis sapinea* y *Diplodia scrobiculata* en *Pinus nigra* (Bonello y Blodgett, 2003; Blodgett *et al.*, 2007).

Otra manera de controlar a los hongos, es por competencia de nutrientes, probado como método de biocontrol cuando el crecimiento de los antagonistas genera el agotamiento de los nutrientes y/o la invasión del espacio disponible para los agentes patógenos y por lo tanto, reducen su tasa de crecimiento y su incidencia (Guerrero-Prieto *et al.*, 2011; van Lenteren *et al.*, 2018). Un ejemplo de este mecanismo es la bacteria *Serratia marcensces* cepa

with insecticide activity (cytolytic delta-endotoxin cyt1Aa type-1Aa) (Vicente *et al.*, 2016).

The biological control of fungi is a method widely used in the agricultural sector. It has also been proposed for the management of forest diseases as an alternative to the use of chemical agents that can help conserve and recover forests that have been lost or degraded by disease. Table 4 shows some examples of biological control agents against fungi affecting pine trees. The most widely studied biofungicides are species belonging to *Trichoderma* and *Bacillus*.

**Trichoderma.** Biofungicides based on the genus *Trichoderma* are considered highly effective. They

PWN146 aislada de *Pinus pinaster* con síntomas de marchitamiento, las secuencias de su genoma mostraron genes relacionados con la producción de sideróforos para el secuestro y transporte de hierro, transportadores de metales pesados, genes involucrados en la biosíntesis de antibióticos como el gen *igrB* de gramicidina, *tycC* de tirocidina, *ppsDE* de plipastatina, y *srfAD* de surfactina. Así, como enzimas que degradan la pared celular (quitinasa Clase I) y una toxina para insectos (*cyt1Aa* de endotoxina-delta citolítica tipo-1Aa) (Vicente *et al.*, 2016).

El control biológico de hongos ha sido ampliamente utilizado en el sector agrícola, y se ha propuesto también para el manejo de las enfermedades

**Table 4. Use of biological control agents for the control of fungi that cause diseases in *Pinus* spp.**

**Cuadro 4. Uso de agentes de control biológico para el control de hongos causantes de enfermedades en *Pinus* spp.**

Agente de Biocontrol	Patógeno	Planta	Aplicación	Referencia
<b>Hongos</b>				
<b>a. Trichoderma</b>				
<i>T. harzianum</i>	<i>Fusarium circinatum</i>	<i>P. greggii</i>	Invernadero	García-Díaz <i>et al.</i> , 2019
<i>T. koningiopsis</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>P. massoniana</i>	<i>In vitro</i> Invernadero	Yu y Luo, 2020
<i>T. harzianum</i> <i>T. polysporum</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>P. sylvestris</i>	<i>In vitro</i> Vivero	Capieau <i>et al.</i> , 2004
<i>T. virens</i> , <i>T. atrobrunneum</i>	<i>Armillaria</i> spp.	Robles y abetos	<i>In vitro</i> Campo	Chen <i>et al.</i> , 2019
<b>b. Otro</b>				
<i>Chaetomium</i> , <i>Alternaria</i>	<i>F. circinatum</i>	<i>P. nigra</i> <i>P. pinaster</i> <i>P. pinea</i> <i>P. radiata</i> <i>P. sylvestris</i>	<i>In vitro</i> Campo	Martínez-Álvarez <i>et al.</i> , 2016
<b>Bacterias</b>				
<b>a. Aneurinibacillus</b>				
<i>Aneurinibacillus migulanus</i>	<i>Dothistroma septosporum</i>	<i>P. contorta</i>	<i>In vitro</i>	Alenezi <i>et al.</i> , 2015
<b>b. Bacillus</b>				
<i>B. pumilus</i>	<i>Sphaeropsis sapinea</i>	<i>P. massoniana</i>	<i>In vitro</i> Invernadero	Dai <i>et al.</i> , 2021
<i>B. simplex</i>	<i>Heterobasidion annosum</i> <i>Armillaria mellea</i>	<i>P. radiata</i>	<i>In vitro</i> Invernadero	Mesanza <i>et al.</i> , 2016
	<i>F. circinatum</i>	<i>P. radiata</i>	<i>In vitro</i> Invernadero	Iturritxa <i>et al.</i> , 2017
<i>B. subtilis</i>	<i>Fusarium sambucinum</i>	<i>P. elliottii</i>	<i>In vitro</i> Invernadero	Maciel <i>et al.</i> , 2014
	<i>F. circinatum</i>	<i>P. taeda</i>	<i>In vitro</i>	Soria <i>et al.</i> , 2012

work by producing enzymes (chitinases, b-1,3 glucanases and proteases), antibiotics (6-pentyl-a-pyrone), volatile compounds, siderophores, and acid indole-3-acetic acid. They also promote plant growth (Michel-Aceves *et al.*, 2004; Infante *et al.*, 2009; Rios-Velasco *et al.*, 2016; Ruiz-Cisneros *et al.*, 2018; Illa *et al.*, 2020; Yu and Luo, 2020). Another mechanism associated with *Trichoderma* involves chemotropism induced by the existence of a chemical gradient of amino acids and/or sugars, recognition (physical interaction by specific binding to the host surface), penetration and finally, mycoparasitism of the host cell wall by the action of lytic enzymes. (Steyaert *et al.*, 2003; Alfiky and Weisskopf, 2021). Some studies show that strains of *Trichoderma* sp. isolated from forest plants have the ability to biocontrol pathogenic fungi of the genus *Armillaria*, which causes root rot (Chen *et al.*, 2019). Commercial products such as Binab® TF.WP, formulated with strains of *Trichoderma harzianum* and *T. polysporum*, have been used as fungicides and have been as effective as the chemical fungicide (tolylfluanine 50% p/p) recommended against *Botrytis cinerea*. They have also reduced needle damage in *P. sylvestris* by up to 94% in growth chambers and by 57% under nursery conditions (Capieau *et al.*, 2004). *T. harzianum* (PHC®) reduces the incidence of the disease caused by *F. circinatum* in *P. greggii* seedlings by up to 22% (García-Díaz *et al.*, 2019). *T. koningiopsis* inhibits the growth of *F. oxysporum* (*in vitro*) by up to 78.6% and decreases the incidence of the disease by 50% in *P. massoniana* while promoting seedling growth (Yu and Luo, 2020).

**Bacillus.** It is the most exploited bacterial genus for the production of biofungicides due to its versatility in terms of biological control mechanisms. Members of this genus can produce volatile compounds, antibiotics (bacillomycin, iturins, phenycins, fengycins, subtilins,

forestales, como alternativa al combate químico para conservar y recuperar bosques que se han perdido o degradado por las enfermedades. Algunos ejemplos de agentes de control biológico de hongos en árboles de pino se muestran en el Cuadro 4, con los biofungicidas más estudiados que corresponden a *Trichoderma* y *Bacillus* principalmente.

**Trichoderma.** Algunos biofungicidas están basados en el uso del género *Trichoderma*, y se consideran de alta efectividad al producir enzimas (quitinasas, b-1,3 glucanasas y proteasas), antibióticos (6-pentil-a-pirone), compuestos volátiles, sideróforos, ácido indol-3-acético; y promover el crecimiento vegetal (Michel-Aceves *et al.*, 2004; Infante *et al.*, 2009; Rios-Velasco *et al.*, 2016; Ruiz-Cisneros *et al.*, 2018; Illa *et al.*, 2020; Yu y Luo, 2020). Otro de sus mecanismos implica un quimiotropismo ocasionado por un gradiente químico de aminoácidos y/o azúcares, reconocimiento (interacción física por uniones específicas de superficie del huésped), penetración y finalmente, el micoparasitismo de la pared celular del huésped por la acción de enzimas líticas (Steyaert *et al.*, 2003; Alfiky y Weisskopf, 2021). Algunas investigaciones demuestran que cepas de *Trichoderma* sp. aisladas del bosque, tienen la capacidad de biocontrolar hongos patógenos del género *Armillaria*, que causa podredumbre en la raíz de árboles forestales (Chen *et al.*, 2019). Se han utilizado productos comerciales como Binab® TF.WP formulado por cepas de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma polysporum*, igual de efectivo que el fungicida químico recomendado (tolilfluanina 50% p/p) contra *Botrytis cinerea*, también reduce el daño en acículas hasta 94% en cámaras de crecimiento y 57% bajo condiciones de vivero en *P. sylvestris* (Capieau *et al.*, 2004). *T. harzianum* de PHC®, reduce hasta el 22% la incidencia de la enfermedad ocasionada por *F. circinatum* en plántulas de *P. greggii* (García-Díaz *et al.*, 2019); y *T.*

surfactins), lytic enzymes (chitinases and b-1,3-glucanases), siderophores (Bacillibactin), and toxins (d-endotoxins). They also have the ability to promote plant growth (Villarreal-Delgado et al., 2017; Jiménez-Delgadillo et al., 2018; Kang et al., 2019; Ocegueda-Reyes et al., 2020; Dai et al., 2021). Some studies have shown that these bacteria can induce a systemic resistance response in plants by eliciting molecules (lipopeptides, phytohormones, and volatile compounds). They also activate the synthesis of salicylic acid, ethylene, jasmonic acid and abscisic acid, which regulate the defense system of different crop plants (Villarreal-Delgado et al., 2017; Vinod and Sabah, 2018). *B. subtilis* has demonstrated its ability to control fungi, inhibiting up to 18.7% of the *in vitro* growth of *F. sambucinum*, and providing greater vigor and growth to *P. elliottii* seedlings (Maciel et al., 2014). The secondary metabolites produced by *B. subtilis* represent an efficient fungicide alternative. They inhibit 50% of the growth of *F. circinatum* isolated from *P. taeda* (Soria et al., 2012). Biocontrol methods have managed to reduce the high incidence and severity of *F. circinatum* infection in *P. radiata* and *P. muricata* (Gordon et al., 2006). In addition, *B. simplex* is capable of biocontrolling *Heterobasidion annosum* and *Armillaria mellea* *in vitro*. It also reduces by 55% the infection incidence of *H. annosum* and by 46.9% the infection incidence of *A. mellea* in *P. radiata* seedlings (Mesanza et al., 2016). *B. simplex* also has antagonistic activity against *F. circinatum* (17%) *in vitro* and reduces *P. radiata* lesions by up to 22% in two-year-old trees grown in greenhouses (Iturritxa et al., 2017). *B. pumilus* isolated from *P. massoniana* can biocontrol 85% of the damage caused by *Sphaeropsis sapinea* *in vitro* and 90% under greenhouse conditions due to the production of secondary metabolites that damage the mycelium and delay spore germination (Dai et al., 2021).

*kongiopsis* inhibe hasta 78.6% el crecimiento de *F. oxysporum* (*in vitro*) además, disminuye al 50% la incidencia de la enfermedad y promueve el crecimiento de plántulas de *P. massoniana* (Yu y Luo, 2020).

***Bacillus*.** Es el género bacteriano más explotado para la producción de biofungicidas debido a su versatilidad de mecanismos de control biológico, como la producción de compuestos volátiles, antibióticos (bacilomicina, iturinas, fenicinas, fengicinas, subtilinas, surfactinas), enzimas líticas (quitinasas y b-1,3-glucanasas), sideróforos (Bacillibactina), toxinas (d-endotoxinas); además de la capacidad de promoción del crecimiento vegetal (Villarreal-Delgado et al., 2017; Jiménez-Delgadillo et al., 2018; Kang et al., 2019; Ocegueda-Reyes et al., 2020; Dai et al., 2021). Algunos estudios han demostrado que estas bacterias, pueden inducir respuesta sistémica en plantas por moléculas elicitoras (lipopéptidos, fitohormonas y compuestos volátiles), y activa la síntesis de ácido salicílico, etileno, ácido jasmónico y ácido abscísico que regulan el sistema de defensa de diferentes cultivos agrícolas (Villarreal-Delgado et al., 2017; Vinod y Sabah, 2018). *B. subtilis* ha demostrado su capacidad como control de hongos, inhibe hasta 18.7% el crecimiento *in vitro* de *F. sambucinum*, y proporciona mayor vigor y crecimiento a las plántulas de *P. elliottii* (Maciel et al., 2014). Los metabolitos secundarios producidos por *B. subtilis* representan una alternativa, ya que inhiben 50% el crecimiento de *F. circinatum* aislado de *P. taeda* (Soria et al., 2012). El biocontrol ha logrado disminuir la alta incidencia y severidad de la infección por *F. circinatum* en *P. radiata* y *P. muricata* (Gordon et al., 2006). Además, *B. simplex* a nivel *in vitro* es capaz de biocontrolar a *Heterobasidion annosum* y *Armillaria mellea*, también reduce la incidencia de infección al 55% de *H. annosum* y 46.9% de *A. mellea* en plántulas de *P. radiata* (Mesanza et al.,

## CONCLUSIONS

Pine forests are ecosystems of great importance due to the ecological, economic, and social benefits they provide. The global forest biomass has been reduced by several factors such as excessive logging and the conversion of forests into agricultural or residential areas. In addition, forests face biotic problems such as fungal diseases that spread through natural and anthropogenic factors. Therefore, it is important to have a comprehensive understanding of the various fungi that have been reported to infect pine species (*Alternaria*, *Botrytis*, *Ceratocystis*, *Cylindrocarpon*, *Cronartium*, *Curvularia*, *Daldinia*, *Diplodia*, *Dothistroma*, *Fusarium*, *Meria*, *Mycosphaerella*, *Lecanosticta*, *Lophodermium*, *Phytophthora*, *Pythium*, and *Rhizoctonia*, among others). It is also important to know the different factors involved in plant fungal infections, such as the host, environmental conditions, management, and anthropogenic influences.

In Mexico, the forestry sector has made excessive use of chemical products to control fungi; however, these products are registered for agricultural and non-forestry use. Given the recent interest in reducing the use of agrochemicals, the use of biological control agents is promoted as a friendly alternative for the recovery of forests with no negative ecological impact. These products can be implemented in urban areas since they pose no danger to people or animals that interact with forests.

The information documented in the present work shows that *Trichoderma* sp. and *Bacillus* sp. are the most studied biofungicides associated with *Pinus* spp. The use of these agents helps maintain and conserve forest resources. Further research is needed to promote the use, management and conservation of forests with biological methods that allow to control phytopathogenic species.

2016). *B. simplex in vitro* también presenta actividad antagónica en *F. circinatum* (17%), y disminuye hasta 22% las lesiones en árboles de dos años de *P. radiata* a nivel invernadero (Iturritxa *et al.*, 2017). Por otro lado, *B. pumilus* aislada de *P. massoniana* puede biocontrolar el 85% de la afectación causada por *Sphaeropsis sapinea* a nivel *in vitro* y 90% bajo condiciones de invernadero, debido a la producción de metabolitos secundarios que dañan al micelio y retrasan la germinación de esporas (Dai *et al.*, 2021).

## CONCLUSIONES

Los bosques de pino son ecosistemas de gran importancia por los beneficios ecológicos, económicos, y sociales que nos brindan; sin embargo, se ha reducido esta biomasa boscosa por varios factores como la tala inmoderada, la conversión de bosques en áreas agrícolas o habitacionales. Adicionalmente, los bosques se enfrentan ante problemas de tipo biótico como enfermedades fúngicas que se propagan a través de factores naturales y antrópicos. Por ello, es importante tener una comprensión integral de los diversos hongos que se han reportado en especies de pino (*Alternaria*, *Botrytis*, *Ceratocystis*, *Cylindrocarpon*, *Cronartium*, *Curvularia*, *Daldinia*, *Diplodia*, *Dothistroma*, *Fusarium*, *Meria*, *Mycosphaerella*, *Lecanosticta*, *Lophodermium*, *Phytophthora*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, entre otros) como causantes de enfermedades; conocer los diferentes factores que interaccionan en este sistema como el hospedero, las condiciones ambientales, manejo, así como la influencia antropogénica del hombre sobre la incidencia y severidad de estos hongos.

En México el sector forestal ha usado de forma excesiva los productos químicos para el control de hongos, no obstante, estos productos tienen registro para uso agrícola y no forestal. Ante la preocupación

## ACKNOWLEDGEMENT

To the National Council of Science and Technology (CONACYT) for the Doctoral Scholarship in Environmental Sciences awarded to Luis Martín Gutiérrez Flores (Scholarship No. 742331). To the Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrados (VIEP) of the Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP), for the financial support of the research project: "Diagnosis of the fungal disease of *Pinus patula* from Tetela de Ocampo, Puebla and proposal for biocontrol" (100155588-VIEP 2017-2020).

## LITERATURA CITADA

- Adusei-Fosu K and Rolando CA. 2018. Chemical control -review of control methods and fungicides. Ministry for Primary Industries Biosecurity. New Zealand Technical Paper No. 2019/24. Wellington, New Zealand. 31p. <http://www.mpi.govt.nz/news-and-resources/publications/>
- Ahumada R, Rotella A, Slippers B and Wingfield MJ. 2013. Pathogenicity and sporulation of *Phytophthora pinifolia* on *Pinus radiata* in Chile. Australasian Plant Pathology 42: 413-420. <https://doi.org/10.1007/s13313-013-0212-4>
- Alenezi FN, Fraser S, Belka M, Doğmuş TH, Heckova Z, Oskay F, Belbahri L and Woodward S. 2015. Biological control of *Dothistroma* needle blight on pine with *Aneurinibacillus migulanus*. Forest Pathology 46(5): 555–558. <https://doi.org/10.1111/efp.12237>
- Alfiky A and Weisskopf L. 2021. Deciphering *Trichoderma*-plant-pathogen interactions for better development of biocontrol applications. Journal of Fungi 7(1): 61. <https://doi.org/10.3390/jof7010061>
- Arango-Velez A, El Kayal W, Copeland CCJ, Zaharia LI, Lusebrink I and Cooke JEK. 2016. Differences in defense responses of *Pinus contorta* and *Pinus banksiana* to the mountain pine beetle fungal associate *Grosmannia clavigera* are affected by water deficit. Plant, Cell and Environment 39(4): 726–744. <https://doi.org/10.1111/pce.12615>
- Balvanera P. 2012. Los servicios ecosistémicos que ofrecen los bosques tropicales. Ecosistemas 21(1-2): 136–147. <http://www.revistaecosistemas.net/index.php/ecosistemas/article/view/33>
- Behnke-Borowczyk J, Kwaśna H and Kulawinek B. 2018. Fungi associated with *Cyclaneusma* needle cast in Scots pine in the west of Poland. Forest Pathology 49(2): e12487. <https://doi.org/10.1111/efp.12487>
- Belen M, Errasti A y Villacide J. 2011. Patagonia y su asociación con plagas entomológicas Manejo Integrado de Plagas Forestales. Ediciones Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Argentina. 14p.
- Blodgett TJ, Eyles A and Bonello P. 2007. Organ-dependent induction of systemic resistance and systemic susceptibility in *Pinus nigra* inoculated with *Sphaeropsis sapinea* and *Diplodia scrobiculata*. Tree Physiology 27(4): 511–517. <https://doi.org/10.1093/treephys/27.4.511>
- Bonello P and Blodgett TJ. 2003. *Pinus nigra-Sphaeropsis sapinea* as a model pathosystem to investigate local and systemic effects of fungal infection of pines. Physiological and Molecular Plant Pathology 63(5): 249–261. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2004.02.002>
- de reducir la aplicación de agroquímicos, se buscar fomentar el uso de agentes de control biológico como alternativa amigable para la recuperación de los bosques sin generar un impacto negativo. Además, estos productos se pueden implementar en áreas urbanas donde no se tendría peligro para las personas o animales que interactúan con los bosques.
- La información documentada en este trabajo muestra a *Trichoderma* sp. y *Bacillus* spp. como los biofungicidas más estudiados en *Pinus* sp. cuya aplicación hace factible el mantenimiento y la conservación de los recursos forestales. Sin embargo, se requiere ampliar las investigaciones en esta área poco estudiada con el fin de contribuir al uso, manejo y conservación de los forestales con un enfoque más biológico para manejar especies fitopatógenas, partiendo de la comprensión de la salud de los forestales y los subsistemas que interactúan con ellos.

## AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la Beca de Doctorado en Ciencias Ambientales otorgada a Luis Martín Gutiérrez Flores (No. de Beca 742331). A la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado (VIEP) de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP), por el apoyo económico del proyecto de investigación: "Diagnóstico de la enfermedad fúngica de *Pinus patula* de Tetela de Ocampo, Puebla y propuesta de biocontrol" (100155588-VIEP 2017-2020).

~~~~~ Fin de la versión en Español ~~~~

- Bravo N, Grimalt JO, Mazej D, Tratnik JS, Sarigiannis DA and Horvat M. 2020. Mother/child organophosphate and pyrethroid distributions. Environment International 134(2020): 105264. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105264>
- Brown S and Verschuuren B. 2018. Cultural and spiritual significance of nature in protected and conserved areas: The ‘deeply seated bond’. Pp:1-13. In: Brown S and Verschuuren B (eds.). Cultural and Spiritual Significance of Nature in Protected Areas: Governance, Management and Policy. Routledge. London. 334p. <https://doi.org/10.4324/9781315108186-1>
- Capieau K, Stenlid J and Stenström E. 2004. Potential for biological control of *Botrytis cinerea* in *Pinus sylvestris* seedlings. Scandinavian Journal of Forest Research 19(4): 312–319. <https://doi.org/10.1080/02827580310019293>
- Carrasco A, Sanfuentes E, Durán A y Valenzuela S. 2016. Cancro resinoso del pino: ¿una amenaza potencial para las plantaciones de *Pinus radiata* en Chile?. Gayana Botánica 73(2): 369-380. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-66432016000200369>
- Chen L, Bóka B, Kedves O, Nagy VD, Szucs A, Champramary S, Roszik R, Patocska Z, Münsterkötter M, Huynh T, Indic B, Vágvölgyi C, Sipos G and Kredics L. 2019. Towards the biological control of devastating forest pathogens from the genus *Armillaria*. Forests 10(11): 1013. <https://doi.org/10.3390/f10111013>
- Choi HK, Song GC, Yi HS and Ryu CM. 2014. Field Evaluation of the Bacterial Volatile Derivative 3-Pentanol in Priming for Induced Resistance in Pepper. Journal of Chemical Ecology 40(2014): 882–892. <https://doi.org/10.1007/s10886-014-0488-z>
- Cibrián TD, Alvarado-Rosale D y García-Díaz SE. 2007. Enfermedades forestales en México/Forest Diseases in Mexico. UACH; Conafor-Semarnat, México; Forest Service USDA, EUA; NRCAN Forest Service, Canadá y Comisión Forestal de América del Norte, COFAN, FAO. Chapingo, México. 587p.
- COFEPRIS. Comisión Federal para Protección contra Riesgos Sanitarios. 2019. Consulta de Registros Sanitarios de Plaguicidas, Nutrientes Vegetales y LMR. <http://siipris03.cofepris.gob.mx/Resoluciones/Consultas/ConWebRegPlaguicida.asp> (consulta, septiembre 2020).
- Cram MM, Frank MS and Mallams KM. 2012. Forest Nursery Pests. Agriculture Handbook 680, USDA Forest Service. Washington, DC, USA. 202p. <https://www.fs.usda.gov/treesearch/pubs/54434>
- Dai Y, Wu XQ, Wang YH and Zhu ML. 2021. Biocontrol potential of *Bacillus pumilus* HR10 against *Sphaeropsis* shoot blight disease of pine. Biological Control 152(2021): 104458. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104458DEAQ.2022>. Diccionario de Especialidades Agroquímicas. 32th Edición. PLM. Cd. de México, México. 1178p. <https://www.agroquimicos-organicosplm.com/>
- del Puerto RAM, Suárez TS y Palacio EDE. 2014. Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. Revista Cubana de Higiene y Epidemiología 52(3): 372–387. <http://scielo.sld.cu/pdf/hie/v52n3/hig10314.pdf>
- FAO and UNEP. 2020. The State of the World’s Forests 2020. FAO and UNEP. Roma. 224p. <https://doi.org/10.4060/ca8642en>
- FAO and WHO. 2016. International Code of Conduct on Pesticide Management. Guidelines on highly hazardous pesticides. FAO and WHO. Roma. 37p. [www.fao.org/publications](http://www.fao.org/publications)
- FAO. 2011. FAO state of the world’s forests. In Forestry Chronicle. 9th Edición. Vol. 80, Issue 2. FAO. Roma. 164p. <http://www.fao.org/3/i2000e/i2000e.pdf>
- FAO. 2018. The state of the world’s Forest. FAO. Roma. 118p. <https://doi.org/10.1016/b0-12-145160-7/00156-3>
- Ferrer A. 2003. Intoxicación por plaguicidas. Anales del Sistema Sanitario de Navarra 26:155–171. <https://doi.org/10.4321/s1137-66272003000200009>
- Flores-Pacheco JA. 2017. Chancro resinoso del pino (*Fusarium circinatum*) historia, evolución, dispersión y estrategia de manejo. Nexo Revista Científica 30(1): 19-42. <http://dx.doi.org/10.5377/nexo.v30i01.5170>
- Flores-Villegas MY, González-Laredo RF, Pompa-García M, Ordaz-Díaz LA, Prieto-Ruiz JA y Domínguez-Calleros PA. 2019. Uso de plaguicidas y nuevas alternativas de control en el sector forestal. Foresta Veracruzana 21(1): 29–38. <https://www.redalyc.org/jatsRepo/497/49759430007/html/index.html>
- García-Díaz SE, Aldrete A, Alvarado-Rosales D, Cibrián-Tovar D and Méndez-Montiel JT. 2019. *Trichoderma harzianum* Rifai as a biocontrol of *Fusarium circinatum* Nirenberg & O'Donnell in seedlings of *Pinus greggii* Engelm. ex Parl. in three substrates. Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente 25(3): 353–367. <https://doi.org/10.5154/r.chscfa.2018.12.088>
- Gepp V, Vero S, Cassanello ME, Romero G, Silvera E, González P, Rebellato J, Ferreira Y y Bentancur O. 2012. Resistencia a fungicidas en *Botrytis cinerea* en el Uruguay. Agrociencia Uruguay 16(1): 97–107. [http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2301-15482012000100012](http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2301-15482012000100012)
- Gordon TR, Kirkpatrick SC, Aegeuter BJ, Wood DL and Storer AJ. 2006. Susceptibility of Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii*) to pitch canker, caused by *Gibberella circinata* (anamorph = *Fusarium circinatum*). Plant Pathology 55(2): 231–237. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2006.01351.x>
- Guédez C, Castillo C, Cañizales L and Olivari R. 2008. “Biological control” a tool for sustaining and sustainable development. Academia 7(13): 50–74. <http://erevistas.saber.ula.ve/index.php/academia/article/view/6030>
- Guerra C, Cruz H, Vila I, Duarte A y López MO. 2004. Principales hongos que afectan a *Pinus tropicalis* Morelet en Cuba. Fitosenidad 8(2): 9-12. <https://www.redalyc.org/pdf/2091/209117836001.pdf>
- Guerrero-Prieto VM, Blanco Pérez AC, Guigón López C, Tamayo Urbina CJ, Molina Corral FJ, Berlanga Reyes DI, Carvajal Millan E y Ávila Quezada GD. 2011. Competencia por Nutrientes; Modo de Acción de *Candida oleophila* Contra *Penicillium expansum* y *Botrytis cinerea*. Revista Mexicana de Fitopatología 29(2): 90–97. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmf/29n2/v29n2a1.pdf>
- Guo LD, Huang GR and Wang Y. 2008. Seasonal and tissue age influences on endophytic fungi of *Pinus tabulaeformis* (Pinaceae) in the Dongling Mountains, Beijing. Journal

- of Integrative Plant Biology 50(8): 997–1003. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2008.00394.x>
- Guo S, Li X, He P, Ho H, Wu Y and He Y. 2015. Whole-genome sequencing of *Bacillus subtilis* XF-1 reveals mechanisms for biological control and multiple beneficial properties in plants. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology 42(6): 925–937. <https://doi.org/10.1007/s10295-015-1612-y>
- Gutiérrez-Flores LM, Mauricio-Gutiérrez A, Carcaño-Montiel MG, Portillo-Manzano E, Gómez-Velázquez L, Sánchez-Alonso P and López-Reyes L. 2020. Fungi associated with sick trees of *Pinus patula* in Tetela de Ocampo, Puebla, Mexico. Archives of Phytopathology and Plant Protection 53(13-14): 591-611. <https://doi.org/10.1080/03235408.2020.1778241>
- Hernández-Lauzardo AN, Bautista-Baños S, Velázquez-Del Valle MG y Hernández-Rodríguez A. 2007. Uso de Microorganismos Antagonistas en el Control de Enfermedades Postcosecha en Frutos. Revista Mexicana de Fitopatología 25(1): 66–74. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmf/v25n1/v25n1a9.pdf>
- Heydari A and Pessarakli M. 2010. A review on biological control of fungal plant pathogens using microbial antagonists. Journal of Biological Sciences 10(4): 273–290. <https://doi.org/10.3923/jbs.2010.273.290>
- Holmes L, Mandjiny S and Upadhyay D. 2016. Biological Control of Agriculture Insect Pests. European Scientific Journal 12 (SPECIAL edition): 216–225. <https://core.ac.uk/download/pdf/236413921.pdf>
- Illa C, Pérez AA, Torassa M y Pérez MA. 2020. Efecto de biocontrol y promoción del crecimiento en maní por *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis* en condiciones controladas y campo. Revista Mexicana de Fitopatología 38(1): 119-131. <http://dx.doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1910-6>
- Infante D, Martínez B, González N y Reyes Y. 2009. Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. Revista Protección Vegetal 24(1): 14–21. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1010-27522009000100002](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522009000100002)
- Iturritxa E, Trask T, Mesanza N, Raposo R, Elvira-Recuenco M and Patten CL. 2017. Biocontrol of *Fusarium circinatum* infection of young *Pinus radiata* Trees. Forests 8(2): 32. <https://doi.org/10.3390/f8020032>
- Jiménez-Delgadillo R, Valdés-Rodríguez SE, Olalde-Portugal V, Abraham-Juárez R y García-Hernández JL. 2018. Efecto del pH y temperatura sobre el crecimiento y actividad antagonista de *Bacillus subtilis* sobre *Rhizoctonia solani*. Revista Mexicana de Fitopatología 36(2): 256-275. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1711-3>
- Kang X, Guo Y, Leng S, Xiao L, Wang L, Xue Y and Liu C. 2019. Comparative transcriptome profiling of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* in wheat roots in the absence and presence of biocontrol *Bacillus velezensis* CC09. Frontiers in Microbiology 10: 1474. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01474>
- Ken S, Sasaki N, Entani T, Ma HO, Thuch P and Tsusaka TW. 2020. Assessment of the local perceptions on the drivers of deforestation and forest degradation, agents of drivers, and appropriate activities in Cambodia. Sustainability 12(23): 9987. <https://doi.org/10.3390/su12239987>
- Larsson R, Menkis A and Olson A. 2021. *Diplodia sapinea* in Swedish forest nurseries. Plant Protection Science 57(1): 66-69. <https://doi.org/10.17221/68/2020-PPS>
- Legrand F, Picot A, Cobo-Díaz JF, Chen W and Le Floch G. 2017. Challenges facing the biological control strategies for the management of Fusarium Head Blight of cereals caused by *F. graminearum*. Biological Control 113(2017): 26–38. <https://doi.org/10.1016/j.biocntrol.2017.06.011>
- Liu X, Cao A, Yan D, Ouyang C, Wang Q and Li Y. 2021. Overview of mechanisms and uses of biopesticides. International Journal of Pest Management 67(1): 65–72. <https://doi.org/10.1080/09670874.2019.1664789>
- Maciel CG, Walker C, Muniz MF and Araújo MM. 2014. Antagonism of *Trichoderma* spp. and *Bacillus subtilis* (UFV3918) to *Fusarium sambucinum* in *Pinus elliottii* Engelm. Revista Árvore 38(3): 505–512. <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622014000300013>
- Marmolejo-Monciváis JG. 2018. Distribución vertical de hongos en hojas de tres especies de pinos en Nuevo León, México. Revista Mexicana de Ciencias Forestales 9(50): 379–399. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v9i50.253>
- Marsberg A, Kemler M, Jami F, Nagel JH, Postma-Smidt A, Naidoo S, Wingfield MJ, Crous PW, Spatafora JW, Hesse CN, Robbertse B and Slippers B. 2017. *Botryosphaeria dothidea*: a latent pathogen of global importance to woody plant health. Molecular Plant Pathology 18(4): 477–488. <https://doi.org/10.1111/mpp.12495>
- Martínez B, Infante D y Reyes Y. 2013. *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. Revista de Protección Vegetal 28(1): 1–11. <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v28n1/rpv01113.pdf>
- Martínez-Álvarez P, Fernández-González RA, Sanz-Ros AV, Pando V and Diez JJ. 2016. Two fungal endophytes reduce the severity of pitch canker disease in *Pinus radiata* seedlings. Biological Control 94(2016): 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.biocntrol.2015.11.011>
- Meena M, Swapnil P, Divyanshu K, Kumar S, Harish, Tripathi YN, Zehra A, Marwal A and Upadhyay RS. 2020. PGPR-mediated induction of systemic resistance and physiochemical alterations in plants against the pathogens: Current perspectives. Journal of Basic Microbiology 60(10): 828–861. <https://doi.org/10.1002/jobm.202000370>
- Mesanza N, Iturritxa E, Patten CL. 2016. Native rhizobacteria as biocontrol agents of *Heterobasidion annosum* s.s. and *Armillaria mellea* infection of *Pinus radiata*. Biological Control 101: 8–16. <https://doi.org/10.1016/j.biocntrol.2016.06.003>
- Michel-Aceves AC, Otero-Sánchez MA, Rebollo-Domínguez O y Lezama-Gutiérrez R. 2004. Producción y actividad antibiótica del 6 pentil-a-pirona de *Trichoderma* spp., sobre especies de *Fusarium*. Revista Mexicana de Fitopatología 22(1):14-21. <https://www.redalyc.org/pdf/612/61222103.pdf>
- Mora-Aguilera G, Cortez-Madrigal H and Acevedo-Sánchez G. 2017. Epidemiology of entomopathogens: Basis for rational use of microbial control of insects. Southwestern Entomologist 42(1): 153-169. <https://doi.org/10.3958/059.042.0116>
- Moreno-Reséndez A, Carda Mendoza V, Reyes Carrillo JL, Vásquez Arroyo J y Cano Ríos P. 2018. Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: una alternativa de

- biofertilización para la agricultura sustentable. Revista Colombiana de Biotecnología 20(1): 68–83. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v20n1.73707>
- Moreno-Rico O, Sánchez-Martínez G, Marmolejo-Monsiváis JG, Pérez-Hernández K y Moreno-Manzano CE. 2015. Diversidad de hongos Ophiostomatoïdes en pinos de la sierra Fría de Aguascalientes, México, asociados con *Dendroctonus mexicanus*. Revista Mexicana de Biodiversidad 86(2015): 1-8. <http://dx.doi.org/10.7550/rmb.46751>
- Narváez-Valderrama JF, Palacio Baena JA y Molina-Pérez FJ. 2012. Persistencia de plaguicidas en el ambiente y su ecotoxicidad: Una revisión de los procesos de degradación natural. Gestión y Ambiente 15(3): 27–38. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=169424893002>
- NJ Health, State of New Jersey Department of Health. 2017. Hazardous Substance. <https://www.nj.gov/health/workplacehealthandsafety/right-to-know/hazardous-substances/> (consulta, junio 2022).
- Ocegueda-Reyes MD, Casas-Solís J, Virgen-Calleros G, González-Eguiarte DR, López-Alcocer E y Olalde-Portugal V. 2020. Aislamiento, identificación y caracterización de rizobacterias antagónicas a *Sclerotium cepivorum*. Revista Mexicana de Fitopatología 38(1): 146-159. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1911-2>
- Ortiz I, Avila-Chávez MA y Torres LG. 2014. Plaguicidas en México: usos, riesgos y marco regulatorio. Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal 5(1): 26–46. <https://doi.org/10.7603/s40682-014-0003-9>
- Oskay F, Laas M, Mullett M, Lehtijärvi A, Doğmus-Lehtijärvi HT, Woodward S and Drenkhan R. 2020. First report of *Lecanosticta acicula* on pine and non-pine hosts in Turkey. Forest Pathology 50(6): e12654. <https://doi.org/10.1111/efp.12654>
- Osorio MO. 2007. *Ceratocystis pilifera*, hongo causante de mancha azul en madera de *Pinus radiata*. Bosque 6(2): 116-119. <https://doi.org/10.4206/bosque.1985.v6n2-07>
- Ospina PCM, Hernández RRJ, Rincón EA, Sánchez OFA, Urrego MJB, Rodas PCA, Ramírez CCA y Riaño HNM. 2011. El *Pinus patula*. *Pinus patula* Schiede and Deppe in Schlecht. & Cham. Guías silviculturales para el manejo de especies forestales con miras a la producción de madera en la zona andina colombiana. Editorial Blanecolor S. A. S. Manizales, Colombia. 104p. <https://www.cenicafe.org/es/publications/pinus.pdf>.
- Queloz V, Wey T and Holdenrieder O. 2014. First record of *Dothistroma pini* on *Pinus nigra* in Switzerland. Plant Disease 98(12): 1744. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-14-0630-PDN>
- Raitelaityté K, Markovskaja S, Paulauskas A, Hsiang T and Oszako T. 2020. First molecular detection of *Lecanosticta acicula* from Poland on *Pinus mugo*. Forest Pathology 50(2): e12589. <https://doi.org/10.1111/efp.12589>
- Ramírez JA y Lacasaña M. 2001. Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. Archivos de Prevención de Riesgos Laborales 4(2): 67–75. [http://sistemamid.com/panel/uploads/biblioteca/2014-05-01\\_11-59-0899004.pdf](http://sistemamid.com/panel/uploads/biblioteca/2014-05-01_11-59-0899004.pdf)
- Reglinski T and Dick M. 2005. Biocontrol of forest nursery pathogens. New Zealand Journal of Forestry 50(3): 19–26. [http://www.nzjf.org.nz/free\\_issues/NZJF50\\_3\\_2005/CD6F47DA-12F9-4F5A-9914-BEABE49C0054.pdf](http://www.nzjf.org.nz/free_issues/NZJF50_3_2005/CD6F47DA-12F9-4F5A-9914-BEABE49C0054.pdf)
- Reignoux SNA, Green S and Ennos RA. 2014. Molecular identification and relative abundance of cryptic *Lophodermium* species in natural populations of Scots pine, *Pinus sylvestris* L. Fungal Biology 118(9-10): 835–845. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2014.07.002>
- Rios-Velasco C, Caro-Cisneros JN, Berlanga-Reyes DI, Ruiz-Cisneros MF, Ornelas-Paz JJ, Salas-Marina MA, Villalobos-Pérez E y Guerrero-Prieto VM. 2016. Identificación y actividad antagónica *in vitro* de *Bacillus* spp. y *Trichoderma* spp. contra hongos fitopatógenos comunes. Revista Mexicana de Fitopatología 34(1): 84-99. <http://dx.doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1507-1>
- Robles-Yerena L, Leyva-Mir SG, Cruz-Gómez A, Camacho-Tapia M, Nieto-Ángel D y Tovar-Pedraza JM. 2016. *Fusarium oxysporum* Schltl. y *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. causantes de la marchitez de plántulas de *Pinus* spp. en vivero. Revista Mexicana de Ciencias Forestales 7(36): 25-36. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-11322016000400025&script=sci\\_abstract&tlang=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-11322016000400025&script=sci_abstract&tlang=es)
- Ruiz-Cisneros MF, Ornelas-Paz JJ, Olivas-Orozco GI, Acosta-Muñiz CH, Sepúlveda-Ahumada DR, Pérez-Corral DA, Rios-Velasco C, Salas-Marina MA y Fernández-Pavía SP. 2018. Efecto de *Trichoderma* spp. y hongos fitopatógenos sobre el crecimiento vegetal y calidad del fruto de jitomate. Revista Mexicana de Fitopatología 36(3): 444-456. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1804-5>
- Sanz-Ros AV, Müller MM, San Martín R and Diez JJ. 2015. Fungal endophytic communities on twigs of fast and slow growing Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in Northern Spain. Fungal Biology 119(10): 870–883. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2015.06.008>
- Serra AA, Bittebière AK, Mony C, Slimani K, Pallois F, Renault D, Couée I, Gouesbet G and Sulmon C. 2020. Local-scale dynamics of plant-pesticide interactions in a northern Brittany agricultural landscape. Science of the Total Environment 744(2020): 140772. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140772>
- Sheller MA, Shilkina EA, Ibe AA, Razdorozhnaya TY and Sukhikh T. 2020. Phytopathogenic fungi in forest nurseries of Middle Siberia. iForest 13(6): 507-512. <https://doi.org/10.3832/ifor3507-013>
- Soria S, Alonso R and Bettucci L. 2012. Endophytic Bacteria from *Pinus taeda* L. as Biocontrol Agents of *Fusarium circinatum* Nirenberg & O'Donnell. Chilean Journal of Agricultural Research 72(2): 281–284. <https://doi.org/10.4067/s0718-58392012000200018>
- Speck-Planche A, Kleandrova VV, Luan F and Cordeiro MNDS. 2012. Predicting multiple ecotoxicological profiles in agrochemical fungicides: A multi-species chemoinformatic approach. Ecotoxicology and Environmental Safety 80: 308–313. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.03.018>
- Springgay E. 2019. Forest as Nature-based solutions for water. Unasylva 70(1): 3–13. <http://www.fao.org/3/ca6842en/CA6842EN.pdf>
- Stadler M, Læsøe T, Fournier J, Decock C, Schmieschek B, Tichy HV and Persoh D. 2014. A polyphasic taxonomy of *Daldinia* (Xylariaceae). Studies in Mycology 77(1): 1–143. <https://doi.org/10.3114/sim0016>

- Steyaert JM, Ridgway HJ, Elad Y and Stewart A. 2003. Genetic basis of mycoparasitism: A mechanism of biological control by species of *Trichoderma*. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science 31(4): 281–291. <https://doi.org/10.1080/01140671.2003.9514263>
- Tobón-Marulanda FA, López-Giraldo LA y Paniagua-Suárez RE. 2010. Contaminación del agua por plaguicidas en un área de Antioquia. Revista de Salud Pública 12(2): 300–307. <https://doi.org/10.1590/s0124-00642010000200013>
- van der Nest A, Wingfield MJ, Ortiz PC and Barnes I. 2019. Biodiversity of *Lecanosticta* pine-needle blight pathogens suggest a Mesoamerican Centre of origin. IMA Fungus 10: 2. <https://doi.org/10.1186/s43008-019-0004-8>
- van Lenteren JC, Bolckmans K, Köhl J, Ravensberg WJ and Urbaneja A. 2018. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. BioControl 63: 39–59. <https://doi.org/10.1007/s10526-017-9801-4>
- Vargas-Hoyos HA y Gilchrist-Ramelli E. 2015. Producción de enzimas hidrolíticas y actividad antagonista de *Trichoderma asperellum* sobre dos cepas de *Fusarium* aisladas de cultivos de tomate (*Solanum lycopersicum*). Revista Mexicana de Micología 42: 9–16. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmm/v42/v42a3.pdf>
- Vicente CSL, Nascimento FX, Barbosa P, Ke HM, Tsai IJ, Hirao T, Cock PJA, Kikuchi T, Hasegawa K and Mota M. 2016. Evidence for an Opportunistic and Endophytic Lifestyle of the *Bursaphelenchus xylophilus*-Associated Bacteria *Serratia marcescens* PWN146 Isolated from Wilting *Pinus pinaster*. Microbial Ecology 72(3): 669–681. <https://doi.org/10.1007/s00248-016-0820-y>
- Villacide J y Corley J. 2012. Introducción a la teoría del control biológico de plagas. INTA, Cambio Rural. Cuadernillo No. 15 Serie Técnica: Manejo integrado de plagas forestales. Vol. 15. Río Negro, Argentina. [https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-control\\_biolgico\\_de\\_plagas.pdf](https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-control_biolgico_de_plagas.pdf)
- Villarreal-Delgado MF, Villa-Rodríguez ED, Cira-Chávez LA, Estrada-Alvarado MI, Parra-Cota FI y De los Santos-Villalobos S. 2017. El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. Revista Mexicana de Fitopatología 36(1): 95–130. <http://dx.doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1706-5>
- Vinod K and Sabah A. 2018. Plant Defense against Pathogens: The Role of Salicylic Acid. Research Journal of Biotechnology 13(12): 97–103. <https://www.researchgate.net/publication/329244822>
- Yang LN, He MH, Ouyang HB, Zhu W, Pan ZC, Sui QJ, Shang LP and Zhan J. 2019. Cross-resistance of the pathogenic fungus *Alternaria alternata* to fungicides with different modes of action. BMC Microbiology 19(1): 205. <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1574-8>
- Yu C and Luo X. 2020. *Trichoderma koningiopsis* controls *Fusarium oxysporum* causing damping-off in *Pinus massoniana* seedlings by regulating active oxygen metabolism, osmotic potential, and the rhizosphere microbiome. Biological Control 150: 104352. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104352>