

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

ESCOLA TÈCNICA SUPERIOR D'ENGINYERIA
AGRONÒMICA I DEL MEDI NATURAL



*Seguimiento de las plagas de **Tomicus destruens** y
Orthotomicus erosus y detección de
Botryosphaeriaceae, hongos patógenos asociados a
estos insectos, en los pinares de **Pinus halepensis**
de **La Pedrera** y **la Devesa del Saler** (Valencia)*

TRABAJO FIN DE GRADO EN INGENIERÍA FORESTAL Y DEL MEDIO
NATURAL

ALUMNO: Helena Osset Iborra

TUTOR ACADÉMICO: Prof. Dña. María Eugenia Rodrigo Santamalia

COTUTOR ACADÉMICO: Prof. D. Josep Armengol Fortí

Curso Académico: 2018/2019

VALENCIA, a 29 de Julio de 2019

Tipo de Licencia Creative Commons "Reconocimiento"



Resumen del TFG

Título del TFG: Seguimiento de las plagas de *Tomicus destruens* y *Orthotomicus erosus* y detección de Botryosphaeriaceae, hongos patógenos asociados a estos insectos, en los pinares de *Pinus halepensis* de La Pedrera y la Devesa del Saler (Valencia).

Resumen del TFG: *Tomicus destruens* y *Orthotomicus erosus* son dos especies de insectos pertenecientes a la subfamilia de los escolitinos, habitantes habituales de los montes. Estos coleópteros son considerados parásitos secundarios que no atacan árboles sanos y utilizan árboles debilitados como sustrato para reproducirse y aumentar su población. La escasez de lluvias de los últimos años está produciendo un debilitamiento generalizado de los pinares de la Comunidad Valenciana y, en consecuencia, un gran aumento de las poblaciones de estos insectos, convirtiéndolos en plagas.

Se han estudiado dos pinares de *Pinus halepensis*, uno situado en la pedanía de Massarrojos, conocido como La Pedrera, y el otro comprende la pinada de la Devesa del Saler. La Pedrera sufrió en los últimos años un importante ataque de *Tomicus destruens* y *Orthotomicus erosus* que obligó a cortar numerosos pies con presencia de estos insectos o con signos de ataque. Sin embargo, no se observaron daños en los pinos de la Devesa.

Para el seguimiento de los coleópteros forestales se instalaron trampas para insectos forestales tipo CROSSTRAP con colector seco y atrayentes cairomonales de *Tomicus destruens*. En este trabajo se ha estudiado comparativamente la abundancia y curva de vuelo de los coleópteros presentes en ambos pinares, a la vez que, con la captura de los coleópteros, se contribuía a disminuir el nivel de insectos.

La abundancia de *T. destruens* en la Pedrera fue muy alta, mientras que apenas se capturaron especímenes de este insecto en la Devesa. El volumen de capturas de *O. erosus* también fue elevado, aunque la diferencia con *T. destruens* no fue tan marcada como en la Pedrera. El nivel de capturas de estos dos insectos estuvo correlacionado con el nivel de daños en las dos zonas. La especie *Hylurgus micklitzi* fue bastante abundante y la única que registró un número de capturas muy similar para ambas zonas.

En general, el periodo de vuelo de los coleópteros forestales capturados (escolitinos y cerambícidos, principalmente) se produjo principalmente en primavera-verano e inicio de otoño. Sin embargo, el periodo de vuelo de *T. destruens* se produjo en otoño y primavera, estando ausente en finales de primavera y verano.

En las mismas trampas se capturaron e identificaron seis especies distintas de coleópteros depredadores de escolitinos, siendo las especies más destacadas *Thanasimus formicarius* y *Rhizophagus depressus*, y coincidiendo con la mayor abundancia de *T. destruens* y *O. erosus* en La Pedrera.

Ante la posibilidad de que los escolitinos fueran vectores de hongos patógenos que pudieran contribuir al decaimiento del pinar, se realizaron cultivos in vitro de hongos mediante la siembra de los insectos en medio de cultivo PDAS (patata, dextrosa, agar y estreptomocina). El trabajo se centró en determinar la presencia de hongos pertenecientes a la familia Botryosphaeriaceae y, más específicamente, de la especie *Sphaeropsis sapinea*. Este hongo causa diferentes síntomas, entre ellos la muerte de plántulas en vivero, desecación de brotes, chancros en los tallos y troncos, y azulamiento de la madera.

Los resultados confirmaron la presencia del hongo *Sphaeropsis sapinea* en la Pedrera, aunque solo en cuatro de los 545 insectos sembrados en medio de cultivo. Se obtuvieron colonias de este patógeno en las especies *Arhopalus ferus*, *Scobicia* sp., *Xyleborinus saxesenii* e *Hylurgus micklitzii*.

El conocimiento de los coleópteros plaga y su papel como vectores de enfermedades es importante a la hora de diseñar estrategias de control de estos insectos, que son plagas clave en los pinares de la Comunidad Valenciana.

Palabras claves: Scolytinae, monitoreo, hongos patógenos, *Pinus halepensis*

Autor del TFG: Helena Osset Iborra

Localidad y fecha: Valencia, 29 de Junio de 2016

Tutor académico: Prof. Dña. María Eugenia Rodrigo Santamalia

Cotutor académico: Prof. D. Josep Armengol Fortí

Licencia: Creative Commons “Reconocimiento”



Abstract

Title: Monitoring the infestation of *Tomicus destruens* and *Orthotomicus erosus*, and detection of Botryosphaeriaceae species, fungal pathogens associated with these insects, on the *Pinus halepensis* pine forest of Les Pedreres (Valencia)

Abstract:

Tomicus destruens and *Orthotomicus erosus* are two insect species pertaining to the Scolytinae subfamily, common inhabitants of the forests. These beetles are considered secondary parasites that don't attack healthy trees, and use weakened trees as a substrate to reproduce and increase their population. The drought of the last years is producing a generalized weakening of the pine forests of the Valencian Community and, consequently, a great increase of the populations of these insects.

The study area is a *Pinus halepensis* pine forest located in the district of Massarrojos (Valencia). In recent years this plot suffered an important attack of *Tomicus destruens* and *Orthotomicus erosus*, forcing to cut many trees with the presence of these insects or signs of their attack.

Five CROSSTRAP forest insect traps with dry receptacle and *Tomicus destruens* caïromonal attractant ECONEX brand were installed on the perimeter for monitoring the plague. In this work the abundance and flight curve of the bark beetles has been studied and, in addition, their capture contributed to reduce the pests level.

In view of the possibility that bark beetles were vectors of fungal pathogens that could contribute to the decay of the pine forest, in vitro fungal cultures by plating the insects in PDAS culture medium (potato, dextrose, agar and streptomycin) were made. The study focused on determining the possible presence of fungi belonging to the Botryosphaeriaceae family, and more specifically *Sphaeropsis sapinea*. This fungus causes different symptoms, among them the death of nursery seedlings, desiccation of shoots, stem and trunk cankers, and bluestaining of wood. In addition, certain factors such as insect pests and drought can induce special virulence and considerable damage.

The knowledge of the bark beetles plague and their role as vectors of diseases allows designing control strategies to these insects that are key pests in the pine forests of Valencian Community.

Keywords: Scolytinae, Monitoring, Phytopathogenic fungi, *Pinus halepensis*

Author: Helena Osset Iborra

Locality and date: Valencia; June 29th, 2016

Academic tutor: María Eugenia Rodrigo Santamalia

Academic cotutor: Prof. D. Josep Armengol Fortí

Licence: Creative Commons "Recognition"



Agradecimientos

A Eugenia y Josep, por animarme a realizar este TFG, por su paciencia y por su presencia en todas las fases de la realización de este trabajo.

A Adrián Sánchez Domingo y Beatriz Gutiérrez Villena, por ayudarme con la identificación de algunas de las especies muestreadas.

A mi padre y a mi madre, Juan Carlos y Helena, por apoyarme siempre y creer en mí más que yo misma.

A mi tío José Manuel, por la ilusión que siempre mostraste.

A mi pareja, Eleazar, por tu apoyo y tu amor incondicional.

A los grandes amigos que he tenido la fortuna de conocer durante la carrera, y con los que compartí risas, frustraciones y miles de horas de estudio, y con los que comparto hoy en día la ilusión de un mañana:

José María Martín Pardo, Sebastián Sirgado Vilata, María Ventura Orenge y Eva García Salvador

ÍNDICE

1. Introducción	1
1.1 Antecedentes	1
1.2 Biología e importancia forestal de <i>Tomicus destruens</i> y <i>Orthotomicus erosus</i>	1
1.2.1 <i>Tomicus destruens</i> Wollaston	1
1.2.2 <i>Orthotomicus erosus</i> Wollaston	4
1.3 Biología e importancia forestal de <i>Fusarium circinatum</i> y <i>Sphaeropsis sapinea</i>	6
1.3.1 <i>Fusarium circinatum</i> Nirenberg et O'Donnell	6
1.3.2 <i>Sphaeropsis sapinea</i> (Fr.) Dyko et Sutton	10
2. Justificación y Objetivos	13
3. Material y métodos.	14
3.1 Localización y descripción de las zonas de trabajo	14
3.2 Muestreo	15
3.3 Análisis entomológico	16
3.3.1 Seguimiento de las trampas en campo	16
3.3.2 Análisis de insectos en el laboratorio.....	16
3.4 Índices de biodiversidad.....	17
3.5 Análisis de la presencia de hongos fitopatógenos	18
3.5.1 Siembra en medio de cultivo.....	18
3.5.2 Repicado.....	19
3.5.3 Esporulación	19
3.5.4 Identificación molecular de hongos pertenecientes a la familia Botryosphaeriaceae	19
4. Resultados y Discusión	21
4.1 Análisis entomológico	21
4.1.1 Identificación y abundancia de coleópteros forestales y otros insectos capturados mediante las trampas de interceptación.	21
4.1.2 Análisis de la curva de vuelo de los coleópteros perforadores.....	27
4.1.3 Análisis de la curva de vuelo de los depredadores de Scolytinae.....	30
4.1.4 Análisis estadístico de la relación entre <i>Tomicus destruens</i> y el depredador <i>Thanasimus formicarius</i>	33
4.1.5 Análisis de la curva de vuelo de los cerambícidos	33
4.1.6 Análisis de la biodiversidad	35
4.2 Análisis de la presencia de hongos fitopatógenos	36

4.2.1 Obtención de colonias fúngicas	36
4.2.2 Identificación molecular de los hongos.....	38
5. Conclusión	39
6. Bibliografía	40
Anexo I – Fotografías de coleópteros capturados	43
Anexo II – Fotografías de los cultivos de hongos.....	54
Anexo III – Fotografías del pinar de la Pedrera	56

Índice de Figuras:

Figura 1: <i>Tomicus destruens</i> (Coleoptera: Scolytinae).....	2
Figura 2: Ciclo biológico de <i>Tomicus destruens</i> . Fuente: Gallego, 2006.....	3
Figura 3: Ejemplar macho de <i>Orthotomicus erosus</i> (Coleopter: Scolytinae).....	5
Figura 4: Micelio de <i>Fusarium circinatum</i> en medio PDA: a) anverso, b) reverso. Fuente: García-Serna, 2011.....	7
Figura 5: <i>Fusarium circinatum</i> en medio CLA: A) hifas circinadas; b) microconidios agrupados en falsas cabezas. Fuente: García-Serna, 2011.....	7
Figura 6: Conidióforos, macroconidios y microconidios de <i>F. circinatum</i> . Fuente: García-Serna, 2011.....	8
Figura 7: Ciclo biológico de <i>Fusarium circinatum</i> . Fuente: Mansilla et al., 2005.....	8
Figura 8: A) Picnidio de <i>Sphaeropsis sapinea</i> . B) Colonia de <i>Sphaeropsis sapinea</i> . Fuente: García-Serna, 2011.....	10
Figura 9: Ciclo de la enfermedad generada por <i>Sphaeropsis sapinea</i> . Fuente: García-Serna 2011.....	11
Figura 10: El pinar de La Pedrera. Límites de la parcela de trabajo y localización de las trampas	13
Figura 11: Localización de las trampas del pinar de la Devesa del Saler.....	14
Figura 12: A) Climograma de Almacera, B) Climograma de Silla. Fuente: RIVAS-MARTÍNEZ et al., 1996-2009.....	14
Figura 13: Distribución de los insectos en las placas Petri.....	18
Figura 14: Porcentaje de capturas de la subfamilia Scolytinae en los pinares de la Pedrera y de la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.....	22
Figura 15: Porcentaje de capturas de la familia Cerambycidae en los pinares de la Pedrera y de la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.....	22
Figura 16: Porcentaje de capturas de depredadores de escolitinos en los pinares de la Pedrera y de la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.....	23
Figura 17: Porcentaje de capturas de otros insectos de la familia Curculionidae en los pinares de la Pedrera y de la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.....	23
Figura 18: Porcentaje de capturas del orden Hymenoptera en la Pedrera y la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.....	24
Figura 19: Porcentaje de capturas del orden Diptera en los pinares de la Pedrera y de la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.....	24
Figuras 20: Curvas de vuelo de <i>Tomicus destruens</i> en los pinares de la Pedrera y de la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.....	26

Figuras 21: Curvas de vuelo de <i>Orthotomicus erosus</i> en los pinares de la Pedrera y de la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.....	27
Figuras 22: Curvas de vuelo de <i>Hylurgus micklitzi</i> en los pinares de la Pedrera y de la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.....	27
Figuras 23: Curvas de vuelo <i>Hylastes angustatus</i> en los pinares de la Pedrera y de la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.....	28
Figuras 24: Curvas de vuelo de <i>Xyleborinus saxesenii</i> en los pinares de la Pedrera y de la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.....	28
Figuras 25: Curvas de vuelo de <i>Crypturgus</i> spp. en los pinares de la Pedrera y de la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.....	29
Figura 26: Curva de vuelo de <i>Thanasimus formicarius</i> en el pinar de la Pedrera, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.....	29
Figura 27: Curva de vuelo de <i>Rhizophagus depressus</i> en el pinar de la Pedrera, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.....	30
Figura 28: Curva de vuelo de <i>Corticus pini</i> en la Pedrera, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.....	30
Figuras 29: Curvas de vuelo de <i>Aulonium ruficorne</i> en los pinares de la Pedrera y de la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.....	31
Figura 30: Curvas de vuelo de <i>Cryptolestes ferrugineus</i> en los pinares de la Pedrera y de la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.	31
Figura 31: Curva de vuelo de <i>Temnochila caerulea</i> en la Pedrera, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.....	31
Figura 32: Curva de vuelo de <i>Niphona picticornis</i> en la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.....	32
Figura 33: Curva de vuelo de <i>Arhopalus fesus</i> en los pinares de la Pedrera y de la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.....	32
Figura 34: Curva de vuelo de <i>Arhopalus syriacus</i> en los pinares de la Pedrera y de la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.....	33
Figura 35: Curva de vuelo de <i>Oxypleurus nodieri</i> en los pinares de la Pedrera y de la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.....	33
Figura 36: Curva de vuelo de <i>Monochamus galloprovincialis</i> en los pinares de la Pedrera y de la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.....	34
Figura 37: A) Conidios del cultivo de <i>Arhopalus fesus</i> . B) Conidios del cultivo de <i>Scobicia</i> spp. C) Conidios del cultivo de <i>Xyleborinus saxesenii</i> . D) Conidios del cultivo de <i>Hylurgus micklitzi</i>	36
Figura 38: <i>Tomicus destruens</i>	43
Figura 39: <i>Orthotomicus erosus</i> . A) Vista de perfil, B) Detalle de los dientes del declive elitral.	44
Figura 40: <i>Hylurgus micklitzi</i> . A) Vista en planta, B) Vista de perfil.....	45

Figura 41: <i>Xyleborinus saxesenii</i> . A) Vista en planta, B) Vista de perfil.....	46
Figura 42: <i>Crypturgus</i> sp. A) Vista de perfil, B) Vista en alzado.....	47
Figura 43: <i>Hylastes angustatus</i> . A) Vista de perfil, B) Vista en planta.....	48
Figura 44: <i>Thanasimus formicarius</i>	49
Figura 45: <i>Rhizophagus depressus</i>	49
Figura 46: <i>Aulonium ruficorne</i>	50
Figura 47: <i>Corticeus pini</i>	50
Figura 48: <i>Stromatium unicolor</i>	51
Figura 49: <i>Arhopalus syriacus</i>	51
Figura 50: <i>Monochamus galloprovincialis</i>	52
Figura 51: <i>Penichroa timida</i>	52
Figura 52: <i>Niphona picticornis</i>	53
Figura 53: Siembras de coleópteros en medio PDAS.....	54
Figura 54: Repicado de los cultivos de hongos en medio PDA.....	54
Figura 55: Posible micelio de <i>Sphaeropsis sapinea</i> : aspecto blanco y algodonoso.....	55
Figura 56: Cepa de <i>Sphaeropsis sapinea</i> procedente de <i>Arhopalus ferus</i> . A) anverso, B) reverso.....	55
Figura 57: Vista parcial del pinar de la Pedrera.....	56
Figura 58: Vista parcial del pinar de la Pedrera.....	56
Figura 59: Zona recreativa en el pinar de la Pedrera.....	57
Figura 60: Vista parcial del pinar de la Pedrera donde se observa uno de los paseos que atraviesan el pinar y una zona urbanizada próxima.....	57

Índice de Tablas

Tabla 1: Descripción de las trampas instaladas, de los atrayentes empleados y de las especies de <i>Pinus</i> spp. bajo las que se colocaron las trampas en la Devesa y en la Pedrera.....	15
Tabla 2: Capturas totales en los pinares de la Pedrera y de la Devesa, efectuadas entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.....	21
Tabla 3: Abundancia de otros especímenes capturados en los pinares de la Pedrera y de la Devesa entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.....	25
Tabla 4: Índices de biodiversidad de los pinares de la Pedrera y de la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.....	34
Tabla 5: Insectos seleccionados, de entre las capturas de los pinares de la Pedrera y de la Devesa del 27 de febrero al 1 de noviembre de 2016, para el cultivo de hongos.....	35
Tabla 6: Mediciones tomadas a una muestra de 20 conidios de cada uno de los aislados de Botryosphaeriaceae estudiados. Unidades en micrómetros (μm).....	37

1. Introducción

1.1 Antecedentes

La extrema sequía que se produjo en el año 2014 desencadenó un gran debilitamiento de la vegetación forestal en los montes de la Comunidad Valenciana, y ello propició la aparición de plagas y enfermedades oportunistas. Los pinares se vieron especialmente afectados por la plaga de insectos perforadores de la subfamilia Scolytinae (*Tomicus destruens* Wollaston, *Orthotomicus erosus* Wollaston e *Ips sexdentatus* Börner, principalmente), que causaron una elevada mortalidad. Así pues, la Conselleria de Infraestructuras, Territorio y Medio Ambiente declaró, a través de la ORDEN 25/2014 del 29 de octubre del 2014, la existencia de la plaga en múltiples municipios de las tres provincias, y que las actuaciones para el control de la plaga eran obligatorias, prioritarias y de utilidad pública para disminuir los daños de las plagas en dichos municipios. Además, ordenó que la Dirección General del Medio Natural y de las direcciones territoriales empleara a su personal técnico para la ejecución los trabajos en los montes gestionados por la Generalitat. Los propietarios de los montes, no gestionados por esta institución, debían ser asesorados sobre los trabajos que tenían que ejecutar. Los tratamientos obligatorios consistieron en la corta y descortezado o extracción del monte de los pies muertos o afectados por alguna de las plagas, y estos trabajos debían realizarse antes de la emergencia de la nueva generación de los insectos (DOGV Núm. 7431, 26/12/2014).

Por otra parte, en 2005 Landeras *et al.*, citaron por primera vez la presencia de la especie de hongo fitopatógeno *Fusarium circinatum* Nirenberg et O'Donnell (Familia Nectriaceae) en España, afectando a *Pinus* spp. La especie *Sphaeropsis sapinea* (Fr.) Dyko & B. Sutton también es un hongo fitopatógeno, de la familia Botryosphaeriaceae, que también afecta a los *Pinus* spp. Linnaeus y se encuentra ampliamente extendido en España (García-Serna, 2011). Por otro lado, en diversos trabajos y publicaciones científicas se menciona la capacidad de las especies *Tomicus piniperda* Linnaeus (muy similar a *T. destruens*), *O. erosus* e *Ips* spp. De Geer, entre otras, de contribuir a la diseminación de las especies *F. circinatum* y *S. sapinea*, que pueden causar infecciones severas en diversas especies de pinos (Bezós *et al.*, 2013 y 2015; Flores-Pacheco, 2017).

1.2 Biología e importancia forestal de *Tomicus destruens* y *Orthotomicus erosus*

Ambas especies pertenecen a la subfamilia Scolytinae (familia Curculionidae, orden Coleoptera) y son conocidos comúnmente como barrenillos o *bark beetles* (escarabajos de la corteza). Las larvas son las principales causantes de los daños al alimentarse del floema de *Pinus* spp., y también de *Abies* spp Miller. en el caso de *O. erosus*, creando galerías capaces de impedir la circulación de savia por el tronco y llegar a causar la muerte del pie afectado por estrangulamiento (JUNTA DE ANDALUCÍAa, JUNTA DE ANDALUCÍAAb).

1.2.1 *Tomicus destruens* Wollaston

Descripción y ciclo biológico

En la etapa adulta alcanza una longitud de entre 3 y 5,3 mm. La cabeza y el tórax son de color negro, y los élitros y las patas de color castaño (Fig. 1). Puede confundirse muy fácilmente con *Tomicus piniperda* debido a que sus diferencias morfológicas y de coloración son mínimas.

Su distinción se centra principalmente en la biología y área de distribución, siendo *T. piniperda* propio de cotas altas y climas fríos, y *T. destruens* de cotas bajas y climas más suaves, de ahí que algunos consideraran *T. destruens* como un ecotipo de *T. piniperda*. Sin embargo, a día de hoy se sabe que es “una especie válida y filogenéticamente diferenciada” (Gallego, 2006; JUNTA DE ANDALUCÍA; López *et al.*, 2007).



Figura 1: *Tomicus destruens* (Coleoptera: Scolytinae).

El ciclo biológico (Fig. 2) de *T. destruens* es de una sola generación anual, aunque pueden existir varias generaciones hermanas. Esto se ve favorecido por el clima más apacible de su área de distribución, pues al no ser necesaria la búsqueda de protección durante el invierno los adultos no cesan su actividad y la hembra puede realizar varias puestas. La hembra adulta inicia la galería y construye una cámara nupcial donde copula con el macho, y luego continúa la galería materna, que es vertical, rectilínea y de unos 20 cm de largo por 3 mm de ancho. Los huevos los deposita individualmente en pequeñas incisiones excavadas a ambos lados de la galería separadas 1 mm entre sí. Durante la construcción del nido el macho se encarga de sacar el serrín y de impedir la entrada de intrusos. Las puestas parciales se realizan desde octubre hasta abril, originando por lo general tres generaciones hermanas y en algunas ocasiones hasta el inicio de una cuarta. Durante este periodo los machos y las hembras pueden tener varios periodos de alimentación en las copas. Las larvas eclosionan unos días después de la puesta y empiezan a crear nuevas galerías, normalmente perpendiculares a la materna. Tras pasar por los cuatro estadios larvarios se transforman en pupa dentro de la pequeña cámara de pupación en la parte interior de la corteza. Finalizado el estado de pupa aún permanecen algún tiempo en esta cámara y luego surgen al exterior a través de unas aberturas perforadas en la corteza. La emergencia de los nuevos imagos se produce gradualmente entre mayo y junio. Esto se debe a que los individuos procedentes de las puestas de octubre tienen un desarrollo más lento y los de las puestas de primavera mucho más rápido. En el mes de junio se produce la ascensión de estos nuevos adultos a las copas, donde se alimentarán de la médula de las ramillas terminales para fortalecerse y alcanzar la maduración sexual (JUNTA DE ANDALUCÍA).

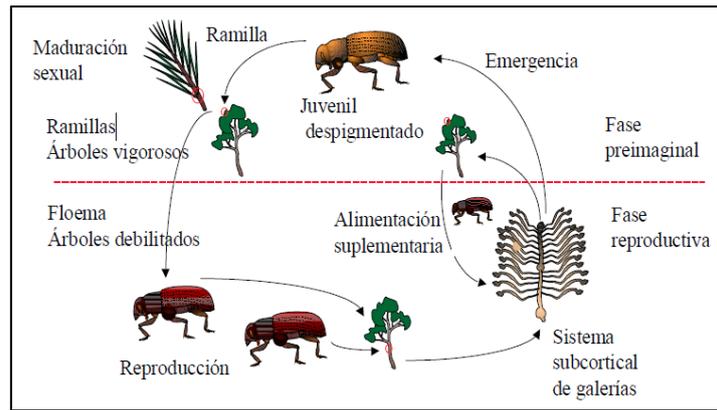


Figura 2: Ciclo biológico de *Tomicus destruens*. Fuente: Gallego, 2006.

Daños

T. destruens produce dos tipos de daños. Por un lado, realiza galerías subcorticales en los troncos y ramas gruesas, que pueden llegar a ser mortales si se corta por completo la circulación de savia. Y, en segundo lugar, crean galerías en las ramillas de las copas al alimentarse de la médula, y estas normalmente se secan y se tronchan cayendo al suelo. Sienten especial predilección por pies debilitados, incapaces de defenderse del ataque mediante el aumento de producción de resina. Los detectan gracias al α -pineno que producen los mismos pinos enfermos. Los pinares más susceptibles son los que se localizan sobre suelos pobres y poco profundos, con escasas precipitaciones y elevada densidad de pies. También es peligrosa la existencia en el monte de restos de madera sin descortezar, que suele proceder de trabajos culturales, principalmente durante la época de reproducción del insecto. Pueden reproducirse perfectamente sobre estos restos, aumentar considerablemente su población y amenazar repoblaciones sanas (JUNTA DE ANDALUCÍA).

Métodos de control

La Junta de Andalucía, en su ficha del insecto, explica de forma precisa qué medidas de control se deben emplear para combatir la plaga de *Tomicus destruens*. La Dirección General del Medio Ambiente de la Generalitat Valenciana también publicó en 2014 una serie de recomendaciones para el control de la plaga que asediaba la Comunidad Valenciana. Primeramente, mejor control que se puede realizar en zonas susceptibles es el de la población. Si la población no supera los niveles normales se evitarán ataques masivos y mortales a pies sanos. Es imprescindible evitar la presencia de pies debilitados, sobre todo por daños debidos al viento, nieve o incendios. Esto puede conseguirse mediante actuaciones selvícolas encaminadas a mejorar el estado de la masa, tales como claras y clareos. Por otra parte, también se debe evitar el aumento de la población debido a la colonización de los residuos recientes de aprovechamientos de madera.

Una vez producido el ataque, las formas de lucha principales son dos: la detección y eliminación de los pies infestados antes de la emergencia de las nuevas generaciones, y la colocación de pilas o puntos cebo. En el primer caso, las actuaciones son muy eficaces ya que los árboles infestados han actuado como atrayente, y la destrucción de los mismos antes de la emergencia de los nuevos adultos elimina una parte importante de la población. El principal problema es la detección de estos pies. Si el clima de la zona es muy frío la decoloración de las copas comienza en primavera, cuando la savia comienza a moverse, por lo que es muy probable

que los nuevos imagos ya hayan emergido y que la eliminación de árboles afectados no cumpla su objetivo de reducir la población del insecto. En estaciones templadas, el amarilleamiento se produce poco antes de las emergencias por lo que el tiempo de actuación es muy limitado. La detección es más factible en zonas cálidas pues el viraje de color se hace visible a finales de enero, teniendo al menos un mes para la localización y eliminación de los pies afectados.

La colocación de pilas o puntos cebo hace posible una óptima planificación, ya que los daños observados en los focos en primavera-verano permiten realizar la colocación de pilas cebo en otoño-invierno. El objetivo de estas pilas es atraer el mayor número posible de individuos mediante la colocación de grupos de árboles tronzados que irán renovándose para que resulten atractivos a los imagos. Antes de que la nueva generación emerja serán destruidos mediante descortezado de las trozas, quema, trituración o cualquier proceso que destruya las larvas que se desarrollan en su interior. Cabe mencionar que el empleo de organofosforados o piretroides sobre la pila cebo para impedir la salida de adultos se restringe bastante por la minuciosidad del tratamiento y la peligrosidad de la acción del producto sobre la fauna no objetivo.

Otra forma de lucha cada vez más en desuso es el ataque químico a la nueva generación de imagos cuando se dirigen a las copas para alimentarse. Sin embargo, alta especialización técnica, la dificultad del tratamiento y el impacto negativo sobre el medio ambiente hacen que su empleo no sea conveniente y se descarte.

Existen también otros dos métodos que pueden emplearse como alternativa y complemento de los métodos de control mencionados. Se trata por un lado del empleo de feromonas y kairomonas sintéticas atrayentes para la captura de adultos, y por otro lado la utilización de mecanismos naturales de control como los enemigos naturales, ya sean depredadores, parásitos o parasitoides. En este último caso cabe enfatizar que los enemigos naturales deben ser autóctonos y no deben introducirse especies exóticas debido al riesgo de provocar un desequilibrio en el ecosistema.

1.2.2 *Orthotomicus erosus* Wollaston

Descripción y ciclo biológico

Este Scolytinae es de menor tamaño que el anterior, oscilando entre 3 y 3,7 mm. Su coloración varía en función del grado de madurez en la edad adulta, siendo de color negro los individuos adultos maduros y de color canela los jóvenes que no han alcanzado totalmente la madurez. Dos de sus características más identificativas se encuentran en la parte posterior del abdomen ya que presenta un declive elitral que utilizan para retirar el serrín de las galerías, y que posee dientes triangulares más acentuados en el macho (Fig. 3) que en la hembra (JUNTA DE ANDALUCÍAa, López *et al.*, 2007).



Figura 3: Ejemplar macho de *Orthotomicus erosus* (Coleopter: Scolytinae).

Esta especie puede producir más de tres generaciones anuales si las temperaturas son favorecedoras. Además, es una especie polígama por lo que en aquellas zonas donde se experimenten elevadas temperaturas en verano, como la región mediterránea, presenta una gran capacidad reproductiva. El macho se encarga de la excavación del orificio de entrada y de la cámara nupcial. A partir de ésta, la hembra ya fecundada comienza a construir la galería materna paralelamente a las fibras del árbol. Es algo más sinuosa en comparación con la de *T. destruens* y no suele tener restos de resina alrededor. Los machos retiran el serrín de la galería materna empleando el declive elitral. Para evitar que el macho dañe los huevos, la hembra sella con detritus cada una de las celdillas en donde se encuentran. Al nacer las larvas comienzan a alimentarse del floema realizando galerías ondulantes. Cuando la larva alcanza la madurez excava una cámara de pupación en el xilema. Tras el periodo de maduración, el imago de la nueva generación emerge al exterior por un agujero que realiza en la corteza. La duración del periodo larvario es variable y depende de las condiciones ambientales. La maduración de la puesta y la de la pupa dura aproximadamente una semana, y la fase larvaria que se produce entre ambas se prolonga unos 20 días. En condiciones normales, esta etapa dura unos 35 días y en condiciones especialmente favorables puede completarse en 15 días. Los nuevos imagos salen dispuestos a comenzar el nuevo ciclo. Hacia el mes de septiembre, cuando las temperaturas empiezan a bajar, los adultos se agrupan en galerías donde pasan los meses de invierno. Las galerías de invierno son distintas y más irregulares que las del nido. En ocasiones el agrupamiento de estos insectos puede provocar el levantamiento de la corteza e incluso su desprendimiento, de ahí que también se los conozca como descortezadores. En primavera, cuando las condiciones de temperatura y humedad son las propicias, comienzan de nuevo su actividad (JUNTA DE ANDALUCÍAa).

Daños

Al igual que *T. destruens*, los principales daños los causan las larvas al alimentarse del floema, dificultando la circulación de los nutrientes. Por lo general, *O. erosus* también ataca a pies debilitados. En algunas ocasiones se ha detectado que puede colonizar árboles sanos, pero para que esto se produzca debe existir una población muy elevada del insecto. Los pinos afectados comienzan a amarillear en la parte superior de la copa hasta alcanzar las ramas más bajas. Continúa con un viraje de color hacia el rojo y finalmente la caída de las acículas. Este proceso dura aproximadamente un año. Además, en las grietas de la corteza se pueden apreciar restos de serrín que han retirado los machos de las galerías maternas. *O. erosus* es transmisor del hongo del azulado de la madera, por lo que además del daño directo que causa al árbol también se produce una depreciación de la madera debido a la disminución de la calidad (JUNTA DE ANDALUCÍAa).

Métodos de control

Las recomendaciones para el control de la plaga son muy similares a las de *T. destruens*. Sin embargo, los tratamientos químicos son menos eficaces debido a que el insecto pasa la mayor parte del ciclo protegido por la corteza del pino, por lo que las estrategias de control deben dirigirse al control poblacional. Por lo demás, como el aumento de la población se produce cuando hay gran cantidad de madera sobre la que desarrollarse (pies debilitados por la acción de otros Scolytinae, incendios, sequía, permanencia en el monte de restos de tratamientos selvícolas realizados en primavera-verano, etc.) las actuaciones más habituales incluyen la eliminación de los pies afectados y de sus restos antes de que emerja la nueva generación y también la colocación de puntos o pilas cebo. Los puntos cebo deben eliminarse a lo sumo 15 días después de la colonización para que no actúen como un punto de cría (JUNTA DE ANDALUCÍA).

1.3 Biología e importancia forestal de *Fusarium circinatum* y *Sphaeropsis sapinea*

Fusarium circinatum y *Sphaeropsis sapinea* son los agentes causales de las enfermedades denominadas “chancro resinoso del pino” y “marchitez de los brotes”, respectivamente, que destacan por su virulencia y/o extensión. Ambas pueden llegar a causar la muerte del árbol. *Sphaeropsis sapinea* suele actuar como saprófito, pero ciertos factores como la sequía, heridas y otros tipos de estrés medioambiental pueden desencadenar su carácter parásito y generar infecciones severas. Por su parte, *F. circinatum* se considera un parásito primario, que necesita colonizar a sus hospedantes para poder sobrevivir (García-Serna, 2011; Neiker Tecnalia y CONFEDERACIÓN DE FORESTALISTAS DEL PAÍS VASCO, 2007).

1.3.1 *Fusarium circinatum* Nirenberg et O’Donnell

Descripción y ciclo biológico

El hongo *F. circinatum* es originario de América del Norte y Central. Posee una elevada capacidad de diseminación y ya se ha citado en varios países de Europa, además de América, Asia o África. En España se detectó su presencia en pinares del norte del país y también en viveros, pero hasta la fecha no se ha encontrado en la Comunidad Valenciana. Dentro de las especies susceptibles de ser infectadas se encuentran muchas de las especies de pinos de la Península Ibérica y la especie *Pseudotsuga menziesii*. La virulencia de la infección varía según la especie, siendo *Pinus radiata* la más susceptible (García-Serna, 2011).

Morfológicamente, *F. circinatum* es difícil de distinguir de otras especies del complejo *Gibberella fujikuroi* Sawada, por lo que la manera más precisa de identificarlo es mediante el análisis molecular. En un medio de cultivo patata dextrosa agar (PDA), forma un micelio aéreo, lanoso, de color blanco que pasa a gris violáceo hacia el centro (Fig. 4). El hongo tiene un crecimiento radial de 4,7 mm/día a 20 °C. La esporulación se inicia al poco tiempo, con conidios formando falsas cabezas (Fig. 5-B), y conidióforos muy ramificados sobre el micelio aéreo y que se asocian con las hifas circinadas (enrolladas o curvadas) (Fig. 5-A). En un medio de cultivo con fragmentos de hojas de clavel y agar (Carnation leaf-piece Agar, o CLA), se observan macroconidios delgados, de paredes finas y tres o cuatro septos, y cuyos esporodocios son esponjosos y rosados. También se detectan microconidios (Fig. 6) ovalados y aseptados, que se producen en mono y polifálidas, unos tipos de células conidiógenas en forma de botella, y

también se pueden agrupar en falsas cabezas. Las hifas circinadas características de la especie se pueden observar en este medio pero más fácilmente en un medio especialmente pobre en nutrientes, como el medio SNA (Spezieller Nährstoffarmer Agar), que potencia el grado de curvatura de las hifas (García-Serna, 2011).

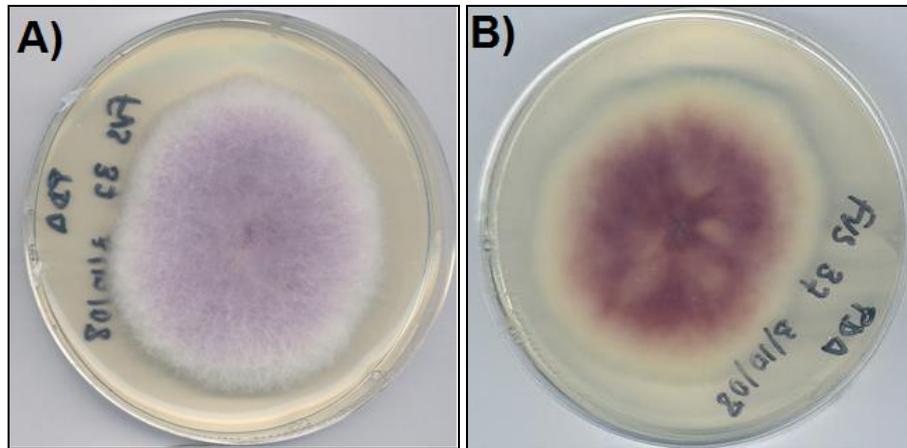


Figura 4: Micelio de *Fusarium circinatum* en medio PDA: a) anverso, b) reverso. Fuente: García-Serna, 2011.

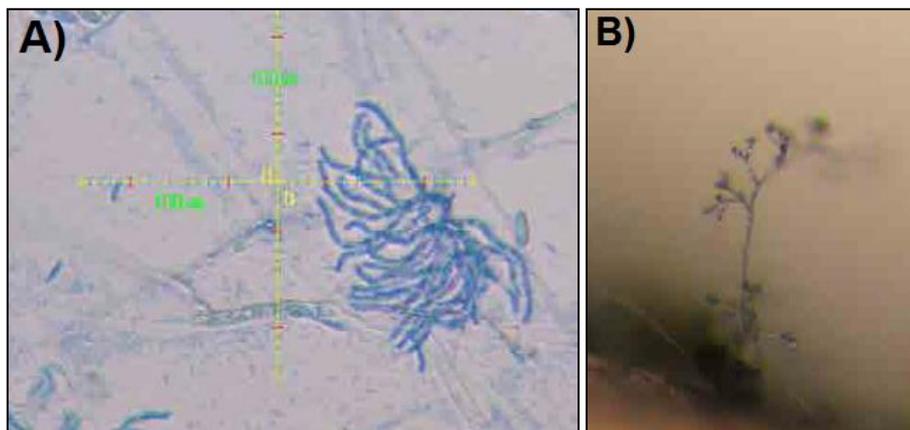


Figura 5: *Fusarium circinatum* en medio CLA: A) hifas circinadas; b) microconidios agrupados en falsas cabezas. Fuente: García-Serna, 2011.

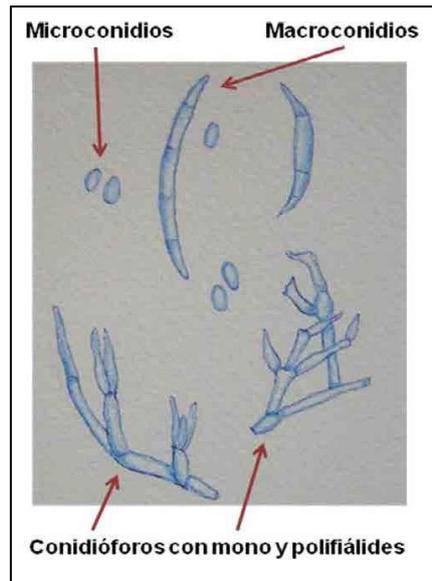


Figura 6: Conidióforos, macroconidios y microconidios de *F. circinatum*. Fuente: García-Serna, 2011.

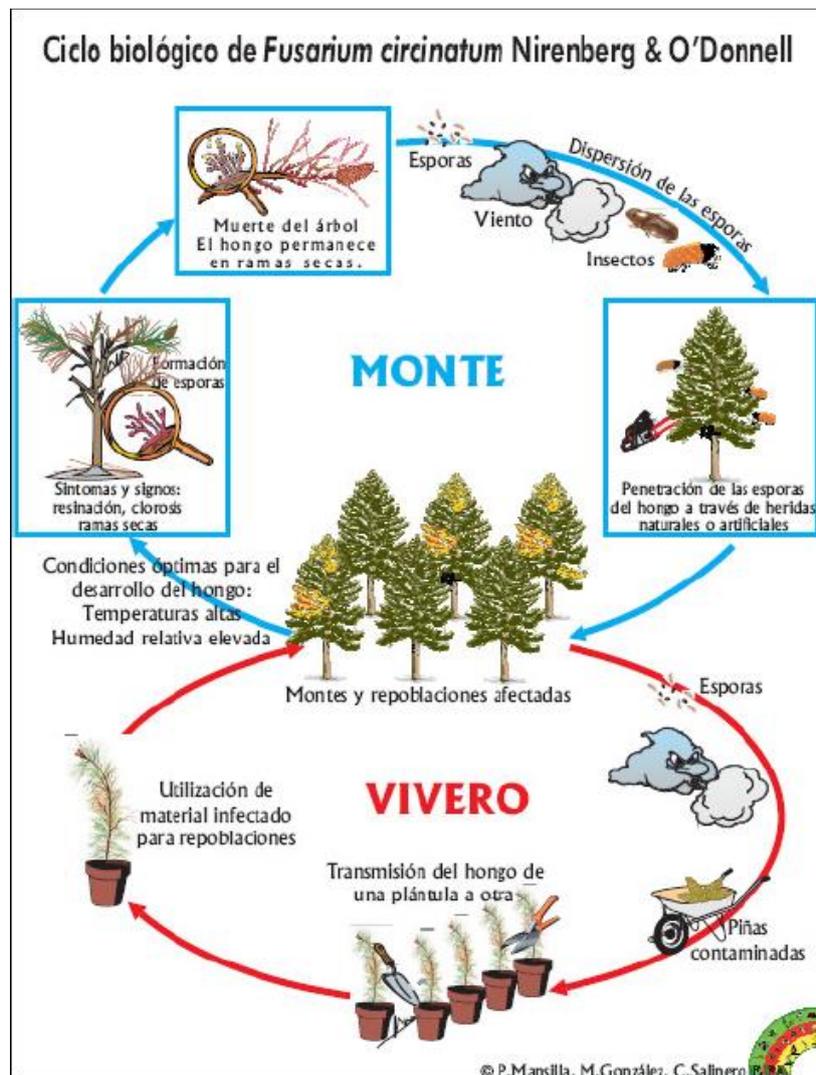


Figura 7: Ciclo biológico de *Fusarium circinatum*. Fuente: Mansilla *et al.*, 2005.

Fusarium circinatum no es capaz de infectar tejido sano, pero sí de colonizar al hospedador a través de heridas abiertas de cualquier tipo y, a partir de este punto de infección, puede extenderse por todo el árbol (García-Serna, 2011; GOBIERNO DE NAVARRA (sin fecha)).

El hongo se disemina principalmente a través del viento (Fig. 7), de insectos vectores perforadores del pino, como los pertenecientes a los géneros *Pityophthorus* Eichhoff, *Ips* De Geer y *Tomicus* Latreille, y de insectos perforadores de las piñas (anóbidos), pero también a través medios humanos: leña, madera, corteza de pino para jardinería, árboles de Navidad, material de acampada, calzado, maquinaria, vehículos, herramientas, etc. La lluvia también favorece su dispersión. Además, puede sobrevivir en el suelo y restos vegetales durante al menos 12 meses, y esto hace que también pueda actuar como patógeno de las raíces. La diseminación de *F. circinatum* se produce principalmente en los meses de primavera, verano y principio de otoño, aunque puede esporular todo el año. Cuando se alcanzan las condiciones óptimas de temperatura y humedad, las esporas germinan e inician la infección. Los síntomas suelen aparecer a finales de verano y otoño. Además, existen otros factores de riesgo que favorecen su propagación, como el estrés ambiental provocado por la sequía, un suelo empobrecido o un exceso de fertilización (García-Serna, 2011).

Daños

Inicialmente suele provocar la curvatura y muerte de brotes y ramas. Esto debilita al árbol, se reduce su crecimiento y se vuelve más susceptible a otros agentes patógenos. Las acículas primero se tornan amarillas, luego rojas y caen, dejando parte de la rama desnuda. También suelen aparecer exudados de resina en los puntos de infección. La punta de las ramas afectadas, ya sean secundarias, terciarias o el eje principal, se secan al inicio de la infección. En estados más avanzados de la enfermedad aparecen chancros resinosos en el tronco y ramas principales, y al levantar la corteza se puede apreciar que el tejido afectado está hundido y empapado de resina. Por su parte las piñas y las semillas también pueden deteriorarse y abortar. Cuando la infección es grave provoca una elevada mortalidad tanto en masas naturales como en repoblaciones y viveros (García-Serna, 2011; Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino).

Métodos de control

En monte, las actuaciones para el control de *F. circinatum* van encaminadas a la detección a través de revisiones periódicas, y la eliminación de los focos mediante la tala y destrucción *in situ*. El material infectado debe ser movido solo lo estrictamente necesario y las herramientas deben ser desinfectadas. En la zona afectada no se deben plantar especies de hospedadores, especialmente las más susceptibles, durante un mínimo de dos años. Es recomendable la realización de revisiones para detectar los brotes tempranamente. En cuanto a las semillas, es imprescindible evitar la recogida y transporte en zonas infectadas, aunque los árboles estén aparentemente sanos, y en su comercialización es obligatorio por ley realizar controles y garantizar su salubridad. La detección del patógeno implica el bloqueo del lote y su destrucción. Aún con todos estos controles, no se garantiza al 100% la no contaminación por *F. circinatum*, por lo que la semilla debe ser preparada antes de su siembra mediante algún tratamiento efectivo, como el tratamiento térmico. Por otra parte, la detección de plántulas infectadas en vivero también implica la destrucción de todo el lote. Es necesario pues mantener una higiene estricta y utilizar sustratos esterilizados (Gobierno de Navarra, 2011; García-Serna, 2011).

1.3.2 *Sphaeropsis sapinea* (Fr.) Dyko et Sutton

Descripción y ciclo biológico

Los picnidios de *S. sapinea* son negros y ovoides, con dimensiones que oscilan entre 330 μm y 675 μm de diámetro (Fig. 8-A). La pared es pluricelular y no existen conidióforos diferenciados, sino células conidiógenas que se forman a partir de las células del revestimiento interior de la pared del picnidio, como se muestra en la Figura 11. Los picnidios alcanzan la maduración total en 2 meses, y a partir de ahí dispersan los conidios. Los conidios pasan por tres etapas hasta alcanzar la maduración. En la primera etapa son transparentes y aseptados. En la segunda comienzan a oscurecerse, tomando un color parduzco. En la última etapa la pared se torna marrón oscuro y el interior más rojizo (Figura 8-B). La pared es lisa, con un extremo redondeado y el otro despuntado, y miden 30-45 μm de largo y 10-16 μm de ancho (García-Serna, 2011).

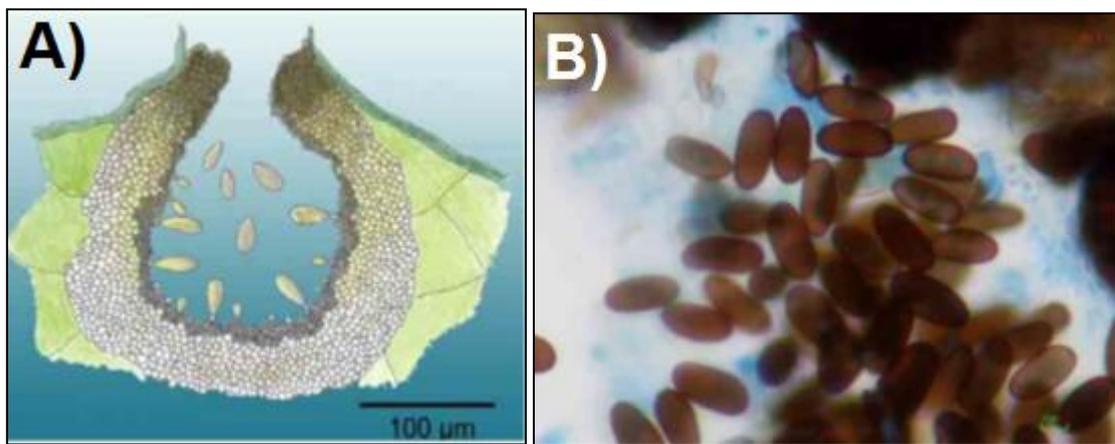


Figura 8: A) Picnidio de *Sphaeropsis sapinea*. B) Colonia de *Sphaeropsis sapinea*. Fuente: García-Serna, 2011.

Por otra parte, *S. sapinea* es un organismo muy variable tanto morfológicamente como en la patogenicidad de sus distintas cepas (Kay *et al.* 2002). En América del Norte y Central se han distinguido dos cepas, el tipo A y el tipo B. La primera muestra un micelio esponjoso, blanco al inicio y gris verdoso muy oscuro al final, que crece muy rápidamente en medio PDA y son patógenas de hospedantes tanto heridos como sanos. Los conidios del morfotipo A son lisos, al observarlos en el microscopio electrónico de barrido, y aseptados o poseen un solo septo, muy raramente hasta tres. Miden entre 27 μm y 45 μm de largo y de 10 μm a 19 μm de ancho. El tipo B tiene un micelio liso, pegado al medio, que inicialmente es blanco y luego negro, con un crecimiento lento en medio PDA y que solo pueden infectar hospedadores heridos. Sus conidios aparecen punteados por pequeñas depresiones circulares y poseen de uno a tres septos. Sus dimensiones van de 37,5 μm a 41,5 μm de largo y desde 13 μm a 15,5 μm de ancho. Sin embargo, en Sudáfrica se han encontrado más de dos morfotipos, por lo que la población de *Sphaeropsis sapinea* podría formar un continuo de variación en sus características, dificultando la clasificación en morfotipos concretos (García-Serna, 2011).

Los conidios de *S. sapinea* son la principal vía de dispersión, a través de agentes meteorológicos como la lluvia y el viento, o de insectos perforadores de la madera (Fig. 9). La etapa de esporulación suele extenderse de marzo a octubre. Los conidios se liberan durante toda la estación vegetativa pero, principalmente, cuando el tiempo es húmedo y cálido. Abundan en primavera y al inicio del verano, cuando los nuevos brotes del hospedador están creciendo y son más susceptibles a la infección. Ocasionalmente también puede infectar en

otoño. La fuente más importante de inoculación son las piñas maduras de dos años o más, donde se pueden observar los picnidios incluso cuando el árbol no presenta otros síntomas. La infección, que se produce a través de la elongación del tubo germinativo, también puede penetrar en acículas jóvenes, desarrollarse rápidamente y secar los brotes. Si el árbol presenta heridas y/o se encuentra debilitado por otros factores, como la sequía o un suelo empobrecido, el hongo puede extenderse y afectar a ramas o desecar la copa entera. Su difusión se ve favorecida por fenómenos atmosféricos como el granizo, viento o lluvia. Por otro lado, *S. sapinea* puede estar presente de forma asintomática en plantas aparentemente sanas y permanecer más de 400 días en el tejido infectado. Al actuar normalmente como saprófito también sobrevive en restos de podas, material muerto, piñas y madera, que son una fuente importante de dispersión. Estos restos, si no se eliminan en los viveros, también son una fuente inoculación que contamina las raíces de las nuevas plántulas. La venta y transporte de madera y semillas infectadas también favoreciendo el contagio de la enfermedad (García-Serna, 2011; GOBIERNO DE NAVARRA).

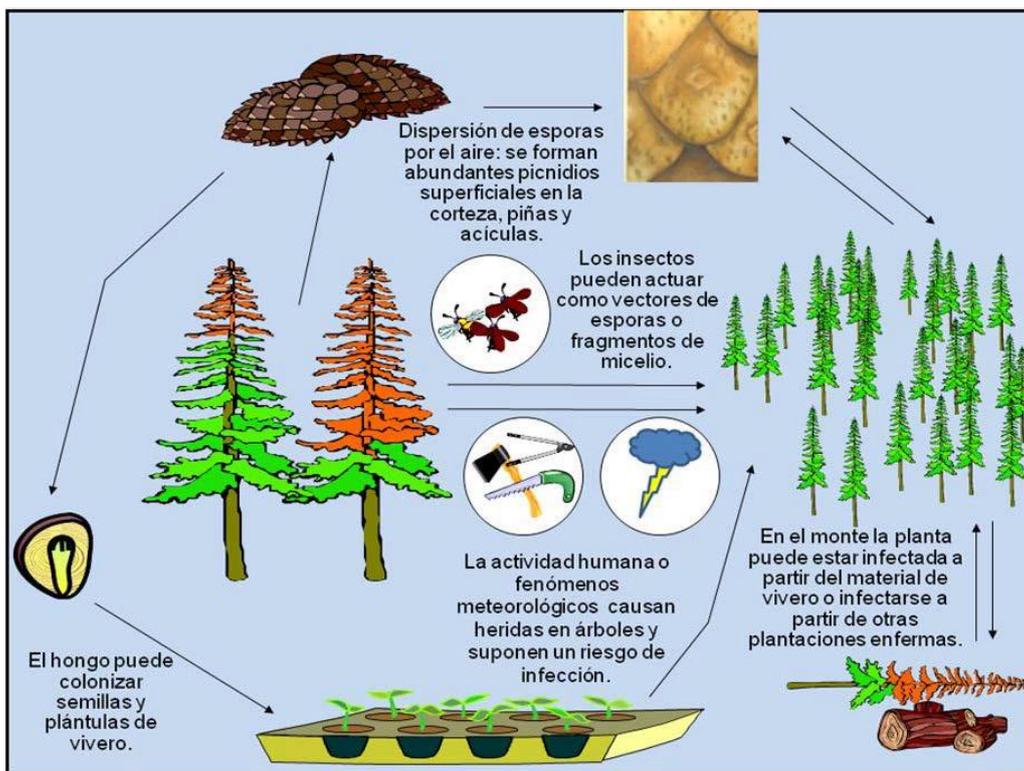


Figura 9: Ciclo de la enfermedad generada por *Sphaeropsis sapinea*. Fuente: García-Serna 2011.

Daños

Aunque la enfermedad se conozca comúnmente como “marchitez de los brotes”, el nombre no describe de forma completa los síntomas y daños que produce. La marchitez de los brotes es el síntoma más común. Se inicia con la aparición de gotas de resina en los brotes activos durante el desarrollo de las acículas. Más tarde se forman regueros de resina blanda sobre los brotes, acículas, troncos, ramas y piñas. Tras un tiempo las acículas comienzan a decolorarse y dejan de crecer, los brotes se curvan y el tejido leñoso adquiere un color rojizo. Cuando las acículas se secan permanecen en el árbol y al cabo de unas semanas aparecen los picnidios. Los brotes se van secando también y acaban muriendo, pero siguen en el árbol y el

hongo continúa esporulando sobre ellos. A partir de los brotes o yemas infectados, el hongo puede pasar a la médula y desplazarse a otros puntos de árbol. Si el hospedador se debilita por factores externos, el hongo puede pasar de la médula al cambium y a los tejidos corticales, la corteza se abre y se vuelve quebradiza, se produce hundimiento en los tejidos y exudaciones de resina formando los chancros. Éstos pueden extenderse hasta anillar completamente las ramas y secarlas. También produce azulado en la madera, con la consecuente pérdida de valor económico. Las plántulas y las semillas pueden verse afectadas por una disminución del crecimiento o de la germinación, desecación total o parcial y necrosis de tejidos (García-Serna, 2011).

Métodos de control

Sphaeropsis sapinea puede infectar pinos y otras coníferas bajo una amplia variedad de condiciones debido a su naturaleza oportunista. Esto dificulta establecer medidas de control efectivas. Además, el aumento de su diversidad podría implicar una mayor virulencia de las nuevas cepas y verse afectadas zonas en las que su comportamiento era principalmente saprófito. En semillas forestales su detección no tiene por qué suponer el rechazo de las mismas al tratarse de un hongo ampliamente extendido. En los viveros se debe mantener unas condiciones rigurosas de higiene y la retirada de plántulas dañadas que evitar nuevos focos. Esto se puede complementar con el control químico o biológico. En masas naturales, repoblaciones o plantaciones control químico resulta demasiado costoso, y también es inviable por sus implicaciones medioambientales. Así pues, las prácticas selvícolas deberán realizarse con especial cuidado, tratando de no dañar los árboles en pie durante las entresacas, reducir la intensidad de las podas para estresarlos lo menos posible, realizarlas con herramientas adecuadas y en épocas frías, cuando la esporulación es menor, y aplicar productos protectores y cicatrizantes. En plantaciones es muy recomendable la sustitución de especies de hospedantes especialmente susceptibles por otras más resistentes (García-Serna, 2011).

2. Justificación y Objetivos

Entre 2014 y 2016 la CV sufrió una importante sequía que produjo un gran debilitamiento de las masas forestales y, en particular de las pinadas, que son las masas forestales más abundantes. Este debilitamiento produjo severos ataques de coleópteros escolitinos, concretamente *Tomicus destruens* y *Orthotomicus erosus*, que fueron declarados plagas. Sin embargo, los daños en los pinos no se registraron en la Devesa del Saler por las particulares condiciones ecológicas de esta zona.

Aparte del efecto nocivo de factores abióticos como el estrés hídrico, los escolitinos son portadores en su cuerpo, de esporas de hongos que en algunos casos son fitopatógenos. Por ejemplo, *Tomicus piniperda* Linnaeus, *Pityophthorus pubescens* Marsham o *Hylurgops palliatus* Gyllenhal pueden inocular el patógeno *Fusarium circinatum* a través de las heridas que provocan al alimentarse. Otro hongo que puede ser dispersado por escolitinos es *Sphaeropsis sapinea*, que provoca la enfermedad conocida como “marchitez de los brotes”.

Por todo lo expuesto anteriormente se planteó el presente TFG, cuyos objetivos son:

1. Analizar la composición de especies de coleópteros perforadores comparando dos zonas, una fuertemente afectada por estrés hídrico (La Pedrera) y otra no afectada por la sequía, la pinada de la Devesa del Saler
2. Estudiar la abundancia de coleópteros perforadores en ambas zonas y analizar sus curvas de vuelo.
3. Analizar la presencia y abundancia de enemigos naturales en ambas zonas
4. Estudiar si los coleópteros más abundantes y dañinos eran potadores de algún hongo fitopatógeno.

3. Material y métodos.

3.1 Localización y descripción de las zonas de trabajo

El pinar de La Pedrera (Fig. 10), localizado en el arrabal NPR-9 “Massarrojos Nord”, se encuentra dominado por *Pinus halepensis* Miller. No presenta un estrato arbustivo muy abundante debido a la realización periódica de trabajos de limpieza de matorral. Estas actuaciones tienen su razón de ser en medidas de seguridad frente a incendios por la cercanía de varias urbanizaciones, como la de Santa Bárbara, y al uso recreativo de la zona. El estrato herbáceo es algo más abundante debido a que la separación entre los pinos y la escasez de matorral favorece la insolación del suelo. Algunas herbáceas tienen un interés botánico, como la cebolla marina y algunas orquídeas.

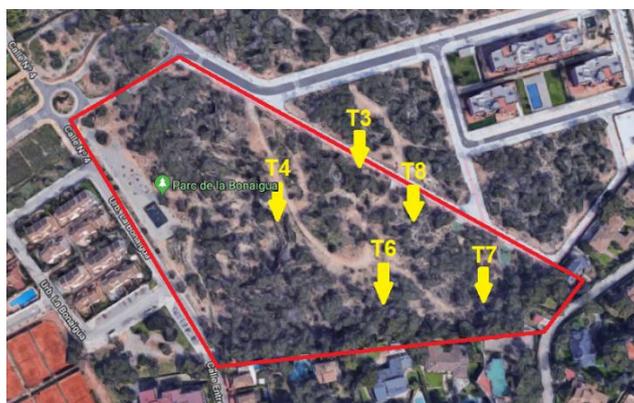


Figura 10: El pinar de La Pedrera. Límites de la parcela de trabajo y localización de las trampas.

La segunda zona de trabajo se centra en el pinar de la Devesa del Saler. Está dentro de los límites del parque natural de la Albufera, que tiene una extensión de 21.120 hectáreas y se encuentra a escasos 10 kilómetros de Valencia. Al encontrarse en un entorno con ciertas medidas de protección, los trabajos de limpieza de matorral se distancian más en el tiempo, a excepción de algunos merenderos y caminos, por lo que la densidad de árboles es mayor y el estrato arbustivo es muy abundante. Estas características de la masa favorecen la biodiversidad del parque, que es conocida tanto a nivel de flora como de fauna. Las trampas se instalaron a lo largo de toda la restinga con una distancia de separación de 2 km, exceptuando las tres últimas que se encuentran entre ellas a 1 km aproximadamente (Fig. 11).



Figura 11: Localización de las trampas del pinar de la Devesa del Saler.

Para estudiar el clima de cada zona se tuvo que recurrir a los climogramas de las estaciones más cercanas. La correspondiente a la Pedrera es la estación climática de Almacera, y la de la Devesa es la de Silla. En Almacera el periodo de aridez estival se prolonga de mayo a agosto, las precipitaciones totales son de 377 mm y se producen en un intervalo de tiempo más corto (Fig. 12-A). En Silla la sequía estival abarca los meses de mayo a septiembre, las precipitaciones totales son 522 mm (mayores que en Almacera) y se reparten en un espacio mayor de tiempo (Fig. 12-B). La curva de temperatura es muy similar en ambos casos, con una temperatura máxima de 29,6°C en Almacera y 31,2°C en Silla, y una temperatura mínima de 5,1° en ambas estaciones.

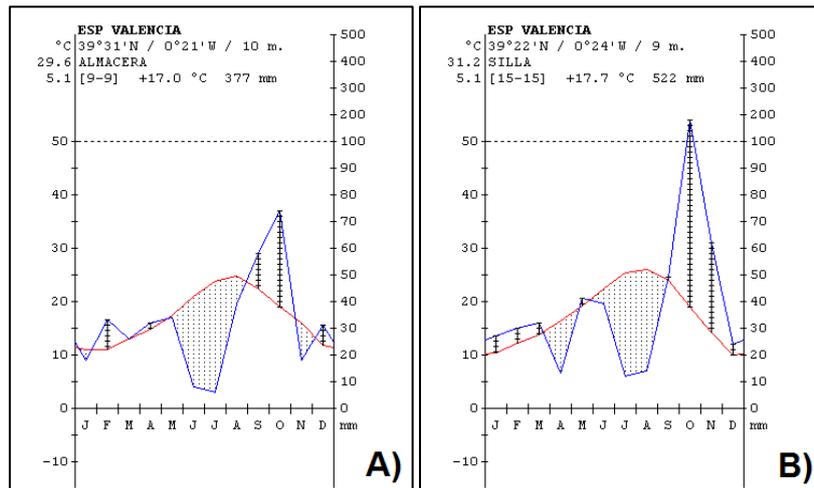


Figura 12: A) Climograma de Almacera, B) Climograma de Silla. Fuente: RIVAS-MARTÍNEZ *et al.*, 1996-2009.

3.2 Muestreo

Para el seguimiento de los coleópteros forestales, se utilizaron trampas de interceptación tipo multiembudo y crosstrap. Al final de la trampa se colocó un colector en el que se introdujo una pastilla insecticida, DDVP (vapon), para evitar que los insectos capturados se escaparan y que los depredadores que pudieran entrar no disminuyeran las capturas. Los colectores drenan el agua de lluvia a través de la rejilla situada en su base para evitar el lavado de hongos. Las pastillas de vapon se sustituían por otras nuevas cada cuatro meses.

Las trampas se cebaron con una cairomona atrayente de *T. destruens*, compuesta por α -pineno y etanol. Algunas trampas de la Devesa también fueron cebadas con feromona de *Ips sexdentatus*, que actúa de forma sinérgica a la cairomona. En la tabla 1 se describe con detalle el tipo de trampa, los atrayentes utilizados y la especie de pino bajo la que se instalaron. Los atrayentes se renovaban cada dos meses siguiendo las instrucciones de la casa comercial.

Tabla 1: Descripción de las trampas instaladas, de los atrayentes empleados y de las especies de *Pinus* spp. bajo las que se colocaron las trampas en la Devesa y en la Pedrera.

La Devesa				La Pedrera			
Trampa	Tipo	Atrayentes	Especie de pino	Trampa	Tipo	Atrayentes	Especie de pino
T 1	Multiembudo	α -pineno + etanol Feromona Ips	<i>Pinus pinea</i>	T 3	Crosstrap	α -pineno + etanol	<i>P. halepensis</i>
T 4	Crosstrap	α -pineno + etanol	<i>Pinus halepensis</i>	T 4	Crosstrap	α -pineno + etanol	<i>P. halepensis</i>
T 6	Multiembudo	α -pineno + etanol Feromona Ips	<i>P. halepensis</i>	T 6	Crosstrap	α -pineno + etanol	<i>P. halepensis</i>
T 8	Crosstrap	α -pineno + etanol	<i>P. halepensis</i>	T 7	Crosstrap	α -pineno + etanol	<i>P. halepensis</i>
T 9	Crosstrap	α -pineno + etanol	<i>P. halepensis</i>	T 8	Crosstrap	α -pineno + etanol	<i>P. halepensis</i>
T 10	Crosstrap	α -pineno + etanol Feromona Ips	<i>P. pinaster</i>				

La recogida de las muestras se realizaba aproximadamente una vez al mes, vaciando los colectores en botes exclusivos de cada trampa. Los botes eran identificados con el nombre de la zona de trabajo, el número de trampa y la fecha de recogida.

3.3 Análisis entomológico

3.3.1 Seguimiento de las trampas en campo

El muestreo se llevó a cabo desde el 1 de abril hasta el 1 de noviembre de 2016 y se realizó un seguimiento mensual de todas las trampas. Cada mes se vaciaban los colectores y se guardaban las capturas en botes de plástico identificados con el número de trampa. En el laboratorio se separaron las muestras de los restos vegetales (ramillas, acículas...). Seguidamente los insectos capturados se almacenaban en placas Petri con papel de filtro para absorber la humedad y retrasar la proliferación de hongos saprófitos. Sobre la tapa de las placas se colocó una etiqueta para anotar la zona de trabajo, número de trampa y fecha de recogida. Luego se conservaban en una nevera hasta su procesado.

3.3.2 Análisis de insectos en el laboratorio

La observación y clasificación de las muestras se realizó primeramente basándose en las características macroscópicas en cuanto a tamaño, color y forma. En un segundo examen visual y con la ayuda de claves de identificación y guías fotográficas se analizaron más detalladamente las características morfológicas y se identificaron todos los insectos hasta el nivel de especie siempre que fue posible. Los datos de las capturas de cada especie y fecha se organizaban en tablas, según cada zona de trabajo.

La identificación y clasificación taxonómica de los especímenes se realizó con la consulta de varios libros, claves taxonómicas y colecciones de insectarios del laboratorio y virtuales (LÓPEZ *et al.*, 2007; VIVES, 2001; ZHRADNÍK, 2001; NÚÑEZ *et al.*, 2016; DE JONG *et al.*, 2014; LERAUT, 2007; WATSON y DALLWITZ, 2003; GALLEGO *et al.*, 2015).

Para el posterior análisis de hongos se realizó una selección al azar de muestras de *T. destruens* y *O. erosus*. Éstas se guardaron en placas Petri con base de papel de filtro y se

etiquetaron con un código para indicar brevemente la especie, zona de trabajo y fecha de recogida en campo. También se escogieron algunas especies consideradas de interés:

- Escolitinos: *Hylurgus micklitzii* Wachtl, *Xyleborinus saxeseni* Ratzeburg y *Crypturgus* Erichson spp.
- Bostríquidos: *Scobicia* Lesne spp. y *Sinoxylon* Duftschmid spp.
- Cerambícidos: *Arhopalus fesus* Mulsant y *Oxypleurus nodieri* Mulsant.
- Depredadores: *Thanasimus formicarius* Linnaeus, *Corticus (Corticus) pini* Panzer, *Cryptolestes ferrugineus* Stephens y *Aulonium ruficorne* Olivier.
- Anóbidos: *Anobium punctatum* De Geer.

3.4 Índices de biodiversidad

Los métodos para medir de biodiversidad se escogieron del trabajo de Moreno (2001). La diversidad alfa se calculó mediante el índice de dominancia de Simpson (λ), el índice de Shannon-Wiener (H') y la equidad de Pielou (J'). El índice de Simpson se calcula con la fórmula:

$$\lambda = \sum p_i^2$$

Donde p_i es la abundancia proporcional de la especie i o, dicho de otra forma, el número de individuos de la especie i dividido entre el número total de individuos de la muestra. Está fuertemente ligado a la dominancia de especies y expresa la probabilidad de que dos individuos tomados al azar de una muestra sean de la misma especie. Es un índice inversamente proporcional a la biodiversidad. Toma valores entre 0 y 1, siendo 0 diversidad infinita y 1 diversidad inexistente. Así, cuanto más próximo a 1, mayor será la dominancia y menor la biodiversidad. El índice de Shannon-Wiener se obtiene con la fórmula:

$$H' = - \sum p_i \ln p_i$$

Expresa la uniformidad de los valores de importancia a través de todas las especies de la muestra. Mide en bits el grado promedio de incertidumbre en predecir a que especie pertenecerá un individuo escogido al azar de una colección. Asume que los individuos son seleccionados al azar y que todas las especies están representadas en la muestra. Adquiere valores entre cero, cuando hay una sola especie, y el logaritmo neperiano de S , cuando todas las especies están representadas por el mismo número de individuos. La equidad de Pielou se calcula bajo la fórmula:

$$J' = \frac{H'}{H'_{max}}$$

Donde $H'_{max} = \ln(S)$, siendo S es el número total de especies. Este índice ayuda a interpretar y comparar el índice de Shannon-Wiener de ambas zonas al medirse como la proporción entre la diversidad observada (H') y la máxima diversidad esperada ($H'_{max} = \ln(S)$). Toma valores entre 0 a 1, dando 1 cuando todas las especies son igual de abundantes.

La diversidad beta se calculó a través del valor de la complementariedad con la fórmula:

$$C_{ab} = \frac{U_{ab}}{S_{ab}}$$

$$U_{ab} = a + b - 2c$$

$$S_{ab} = a + b - c$$

donde a es el número de especies del sitio A, b el número de especies del sitio B, y c el número de especies presentes en ambos sitios.

U_{ab} es el número de especies únicas a cualquiera de los dos sitios, y S_{ab} es la riqueza total para ambos sitios combinados. En este índice la complementariedad toma valores desde cero, cuando en ambos sitios presentan la misma composición de especies, hasta uno, cuando las especies de ambos sitios son completamente distintas.

3.5 Análisis de la presencia de hongos fitopatógenos

3.5.1 Siembra en medio de cultivo

Se utilizó patata, dextrosa y agar al que se añadieron 0,5 g/L de sulfato de estreptomicina (PDAS), como medio de cultivo. La patata y la dextrosa aportan el alimento necesario para la proliferación de los hongos, aportando almidón y azúcares respectivamente. El agar es una sustancia gelatinosa que le da consistencia al medio de cultivo, y la estreptomicina es un antibiótico de acción bactericida. La estreptomicina es necesaria para evitar la proliferación bacterias en lugar de hongos.

Las placas Petri se identificaron con la fecha de la siembra, la especie de insecto a sembrar, la zona y la fecha de recogida de cada muestra en campo. La superficie de trabajo se esterilizaba con alcohol, y el material utilizado con la llama del quemador, para evitar la contaminación de las muestras y la presencia de ácaros (que se alimentan de hongos) que podrían deteriorar los cultivos.

La cantidad de insectos sembrados en cada placa varió en función del tamaño de los mismos (Fig. 13). Los insectos de mayor tamaño, como *Thanasimus formicarius* o *Arhopalus fesus*, se colocaron a razón de 3 ejemplares por placa. El resto de los insectos, de menor tamaño, se colocaron a razón de cinco ejemplares por placa. La disposición de los insectos siguió un patrón que permitía la máxima distancia entre ellos, y así reducir la posibilidad de contaminación entre colonias fúngicas.

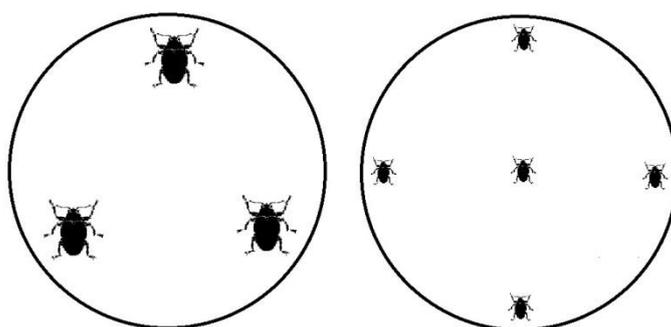


Figura 13: Distribución de los insectos en las placas Petri.

Siempre que fue posible se sembraron 10 especímenes de cada especie de Scolytinae por cada muestreo realizado. De las otras especies se sembraron 5 especímenes, también siempre que fue posible. La diferencia se debe a que el interés principal de este TFG son los escolitinos.

3.5.2 Repicado

Las placas se dejaron a temperatura ambiente protegidas de la luz. Pasados dos o tres días se revisó cada placa. Las colonias emergentes que presentaban características de la familia Botryosphaeriaceae (crecimiento muy rápido y color blanco al inicio) se repicaron directamente para que continuasen su crecimiento en solitario y evitar la contaminación entre colonias fúngicas. El resto de placas se dejó otros dos o tres días a la espera de que alcanzasen un tamaño suficiente para poder ser repicados cómodamente si el aspecto se asemejaba a Botryosphaeriaceae.

Con ayuda de un bisturí previamente esterilizado se cortó un pequeño fragmento rectangular en el borde del micelio. Este trozo se extrajo cuidadosamente y se transfirió a un medio de cultivo de patata, dextrosa y agar (PDA). En este caso el medio no contenía estreptomicina ya que en el primer cultivo había eliminado las bacterias.

3.5.3 Esporulación

Se realizó un cribado visual para desechar las colonias que no presentaban las características de la familia Botryosphaeriaceae: crecimiento rápido, textura algodonosa, color blanco al inicio y cambio gradual a color gris muy oscuro. Los cultivos que presentaron estas características fueron repicados una vez más en un medio pobre compuesto exclusivamente por agua y agar para inducir la esporulación, que es un mecanismo de supervivencia del hongo ante condiciones adversas.

Luego, el fragmento de micelio recién transferido se rodeó con pequeños fragmentos de acículas de pino estériles, previamente esterilizadas en un autoclave, que fueron sumergidos parcialmente en el medio de cultivo. La disposición de las acículas, muy próximas al micelio volcado, facilitó que el este alcanzase los fragmentos vegetales. En esta etapa los cultivos necesitan de un mayor control de las condiciones de temperatura y humedad por lo que se introdujeron en una incubadora a 25 °C y con un fotoperíodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad durante un mes. Finalizado este plazo se observó que sobre algunas acículas se formaron pequeños gránulos negros (picnidios). Con un bisturí esterilizado se extrajeron de cada cultivo algunos picnidios y se colocaron sobre un portaobjetos para poder observarlos en un microscopio óptico y realizar mediciones de 20 conidios por aislado.

3.5.4 Identificación molecular de hongos pertenecientes a la familia Botryosphaeriaceae

Extracción de ADN genómico

Se tomó una pequeña cantidad de micelio del cultivo con una punta de pipeta estéril, y se resuspendió en 20 µL de NaOH 25 mM en un tubo de PCR 200 µL. Esta suspensión se incubó a 100°C durante 15 min y 4°C durante 5 min en un termociclador Peltier Thermal Cycler-200 (MJ Research, Waltham, MA). Al finalizar, se le añadió 20 µL de agua (Chromasolv Plus; Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany). Para la amplificación por PCR se emplearon 2 µL del ADN.

Amplificación de la región de los espaciadores internos transcritos (ITS) y de un fragmento del gen que codifica para el factor de elongación de la transcripción 1α (TEF) por PCR

La PCR se realizó utilizando el kit HotBegan Taq DNA Polymerase (Canvax Biotech, Spain) y los cebadores ITS1 (TCCGTAGGTGAACCTGCGG)/ITS4(TCCTCCGCTTATTGATATGC) (White *et al.*,

1990) para ITS o EF1F (TGCGGTGGTATCGACAAGCGT)/EF2R (AGCATGTTGTCGCCGTTGAAG) (Jacobs *et al.*, 2004) para TEF. Las concentraciones finales de los reactivos en las reacciones se ajustaron a lo recomendado por el fabricante (Tampón "B" de PCR 1X, MgCl₂ 2.5 mM, dNTPs 0.8 mM, Taq polimerasa 1U y 0.4 μM de cada cebador). En las reacciones de PCR de los hongos a identificar se añadieron 2 μL del ADN genómico extraído, en la del control positivo 2 μL de ADN control y en la del control negativo 2 μL de de agua (Chromasolv Plus; Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany). La PCR se llevó a cabo en un termociclador Peltier Thermal Cycler-200 (MJ Research, Waltham, MA). El programa empleado consistió en un paso inicial de desnaturalización a 94°C durante 3 min seguido de 35 ciclos que incluían 3 pasos (desnaturalización a 94°C por 30 sec, unión del cebador al molde a 55°C por 60 sec y elongación a 72°C por 45 sec) y un paso de final de extensión a 72°C por 10 min. El resultado de la PCR se verificó por electroforesis en gel de agarosa (agarose D-1 Low EEO; Conda, Madrid, Spain) al 1.2% en tampón TBE (45 mM Tris-borate/1 mM EDTA) teñido con Realsafe (Durviz S.L, Spain).

Secuenciación y comparación con la base de secuencias del GenBank.

Los productos de PCR fueron secuenciados en las dos direcciones con cebadores usados en la amplificación por el servicio de secuenciación de la UPV-CSIC. Las secuencias obtenidas se editaron y ensamblaron con el programa Sequencher 5.0 (Gene Codes Corporation, Ann Arbor, MI USA). Las secuencias fueron comparadas con las presentes en la base de secuencias del GenBank utilizando el programa nBLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

4. Resultados y Discusión

4.1 Análisis entomológico

4.1.1 Identificación y abundancia de coleópteros forestales y otros insectos capturados mediante las trampas de interceptación.

En la tabla 2 está registrado el número total de capturas de ambas zonas durante el periodo de muestreo. En la Pedrera se capturaron aproximadamente 6700 especímenes, y 4900 en la Devesa. La especie más abundante de la Pedrera fue *Orthotomicus erosus*, seguido de cerca por *Tomicus destruens*, y en tercer lugar la especie *Hylurgus micklitzi*. Estas tres especies de Scolytinae representaban el 73,6 % de las capturas de la Pedrera: *O. erosus* el 31,8 %, *T. destruens* el 26 % e *H. micklitzi* el 15,8 %. Se aprecia visiblemente que estas tres especies de Scolytinae presentaron una clara dominancia al representar casi tres cuartas partes de las capturas totales de la Pedrera. En la Devesa, si exceptuamos a las hormigas, las capturas más abundantes pertenecieron a la especie *H. micklitzi* (22,2 %), y en un número casi idéntico a las de la Pedrera. *O. erosus* se encontraba en tercer lugar (11,1 %), mientras que *T. destruens* estuvo prácticamente ausente (0,1 %) en todo el periodo de trabajo.

Tabla 2: Capturas totales en los pinares de la Pedrera y de la Devesa, efectuadas entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.

Orden	Familia	Subfamilia	Especie	Pedrera	Devesa	
Araneae				27	64	
Coleoptera	Anobiidae	Anobiinae	<i>Anobium punctatum</i> De Geer	1	8	
	Bostrichidae	Bostrichinae	<i>Apate monachus</i> Fabricius	8	5	
			<i>Scobicia</i> Lesne sp.	24	14	
	Cerambycidae	Cerambycinae	<i>Penichroa timida</i> Ménériés	2	0	
			<i>Stromatium unicolor</i> Olivier	3	1	
				0	28	
		Lamiinae	<i>Niphona picticornis</i> Mulsant	0	28	
			<i>Monochamus galloprovincialis</i> Olivier	13	5	
			<i>Pogonocherus perroudi</i> Mulsant	68	1	
			<i>Deroplia troberti</i> Mulsant	0	2	
		Spondylidinae	<i>Arhopalus ferus</i> Mulsant	50	70	
			<i>Arhopalus syriacus</i> Reitter	146	25	
	<i>Oxypleurus nodieri</i> Mulsant		20	29		
	Cetoniidae	Cetoniinae	<i>Cetonia aurata</i> Linnaeus	0	9	
			<i>Oxythyrea funesta</i> Poda	4	1	
			<i>Protaetia (Netocia) cuprea</i> Fabricius	1	1	
			<i>Protaetia (Netocia) opaca</i> Fabricius	5	0	
	Cleridae	Clerinae	<i>Thanasimus formicarius</i> Linnaeus	93	0	
		Otros		1	0	
	Coccinellidae	Coccinellinae	<i>Myrrha</i> Mulsant sp.	7	2	
		Otros		4	0	
	Curculionidae	Scolytinae	<i>Crypturgus</i> Erichson spp.	334	61	
			<i>Chaetoptelius vestitus</i> Mulsant & Rey	0	43	
			<i>Hylastes angustatus</i> Herbst	68	28	
			<i>Hylurgus micklitzi</i> Wachtl	1070	1077	
			<i>Orthotomicus erosus</i> Wollaston	2148	540	
			<i>Tomicus destruens</i> Wollaston	1761	7	
			Cryphalini (Tribu)	49	0	
			<i>Xyleborinus saxeseni</i> Ratzeburg	118	27	
			<i>Xyleborus eurygraphus</i> Ratzeburg	1	0	
			Morfotipo 1	9	0	
			Morfotipo 2	113	9	
			Otros	9	3	
Dermestidae				<i>Anthrenus</i> Muller sp.	5	0
			Otros		0	2
Dryophthoridae		Rhynchophorinae	<i>Rhynchophorus ferrugineus</i> Olivier	0	19	
Elateridae		<i>Lacon punctatus</i> Herbst	45	49		
	Otros		0	2		
Histeridae	Abraeinae	<i>Teretrius (Neotepetrius) parasita</i> Marseul	0	4		
	Histerinae	<i>Cyllister filiformis</i> Erichson	35	3		
Laemphloeidae		<i>Cryptolestes ferrugineus</i> Stephens	5	1		
Melyridae			0	24		
Monotomidae	Rhizophaginae	<i>Rhizophagus (Eurhizophagus) depressus</i> Fabricius	63	0		
Staphylinidae			17	7		
Tenebrionidae	Alleculinae	<i>Isomira</i> Mulsant sp.	0	2		
	Diaperinae	<i>Corticeus (Corticeus) pini</i> Panzer	10	0		
	Otros		2	2		
Trogositidae	Trogositinae	<i>Temnochila caerulea</i> Olivier	1	0		
Zopheridae	Colydiinae	<i>Aulonium ruficorne</i> Olivier	5	3		
Dictyoptera	Blattellidae	Ectobiinae	<i>Ectobius (Ectobius) pallidus</i> Olivier	6	21	
	Isoptera (suborden)		16	0		
Diptera	Brachycera (suborden)		14	16		
	Nematocera (suborden)		1	305		
Hemiptera	Flatidae	Flatinae	<i>Metcalfa pruinosa</i> Say	1	0	
	Psyllidae		<i>Psylla</i> Geoffroy sp.	2	195	
	Cicadellidae			48	9	
	Cicadidae			13	0	
	Coccidae			1	1	
Pentatomidae			13	16		
Hymenoptera	Apidae			4	0	
	Siricidae			8	0	
	Vespidae			14	3	
	Formicidae			230	2051	
	Otros			5	2	
Isopoda	Oniscidea (Suborden)		0	8		
Lepidoptera			12	11		
Neuroptera	Chrysopidae		4	1		
Odonata			3	0		
Pseudoscorpiones	Garypidae	Garypinae	<i>Garypus beauvoisii</i> Audouin	3	0	
Psocoptera			4	43		
Scutigermorpha	Scutigeridae		11	0		

Como se observa en la Figura 14, las capturas de la Scolytinae fueron notablemente superiores en la Pedrera; fueron 5499 respecto de las 1781 de la Devesa. A excepción de la especie *H. micklitzi*, hubo bastante diferencia entre el número de capturas de ambas zonas en las especies más importantes. El porcentaje respecto de las capturas totales de cada zona muestra que no existe apenas diferencia entre las dos zonas en el caso de *Xyleborinus saxesenii*, *Hylastes angustatus* y *Chaetoptelius vestitus*. Esta diferencia se acentúa un poco en *Crypturgus* spp.

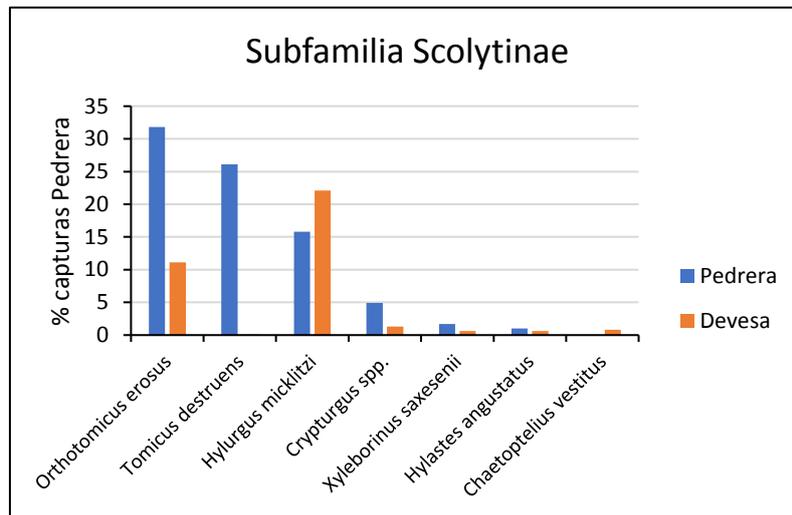


Figura 14: Porcentaje de capturas de la subfamilia Scolytinae en los pinares de la Pedrera y de la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.

La familia Cerambycidae representa el 4,5% de las capturas de la Pedrera y el 3,3% de la Devesa, por lo que fue más abundante en la Pedrera tanto en número como en porcentaje. La especie más numerosa de la Pedrera fue *Arhopalus syriacus*, y la de la Devesa *Arhopalus ferus*. En segundo lugar, se encuentran *Pogonocherus perroudi* y *Oxypleurus nodieri* respectivamente. Las capturas de *Stromatium unicolor*, *Penichroa timida* y *Deroplia troberti* fueron tan escasas que no alcanzaron el 0,05% (Fig. 15).

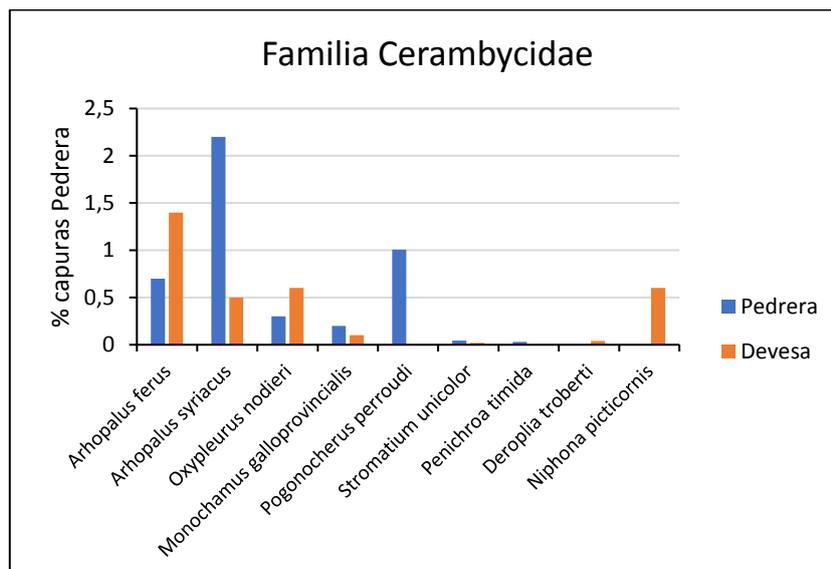


Figura 15: Porcentaje de capturas de la familia Cerambycidae en los pinares de la Pedrera y de la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.

En cuanto a los depredadores (Fig. 16), la Pedrera fue la zona con mayor abundancia, en la que representan el 2,6% de las capturas totales. En la Devesa están prácticamente ausentes (menos de 0,1%) en el periodo de trabajo. Las especies *Thanasimus formicarius*, *Rhizophagus depressus*, *Corticeus pini* y *Temnochila caerulea* sólo fueron capturadas en La Pedrera. *C. pini* y *T. caerulea* estuvieron casi ausentes, al contrario que *T. formicarius* y *R. depressus* que fueron bastante abundantes. Por su parte, *Aulonium ruficorne* y *Cryptolestes ferrugineus* fueron las dos únicas especies comunes en ambas zonas, aunque sus capturas fueron muy escasas y con poca diferencia entre una zona y otra.

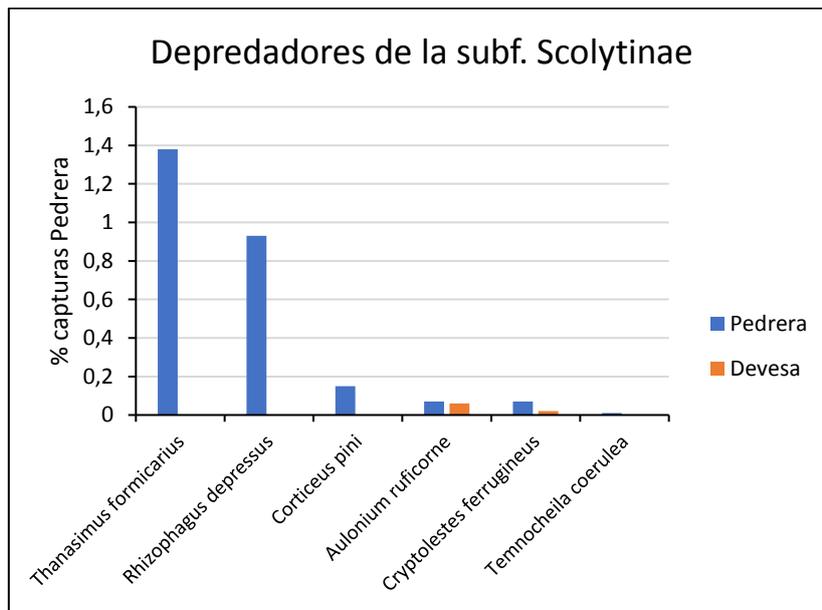


Figura 16: Porcentaje de capturas de depredadores de escolitinos en los pinares de la Pedrera y de la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.

El resto de la familia Curculionidae estuvo especialmente representada por un insecto muy abundante pendiente de identificación (Morfotipo 2). En la Figura 17 se observa que su presencia destacó en la Pedrera, representando a casi la totalidad de esta familia con el 1,7% de las capturas de esta zona. El resto de Curculionidae tuvo una representación menor 0,2%.

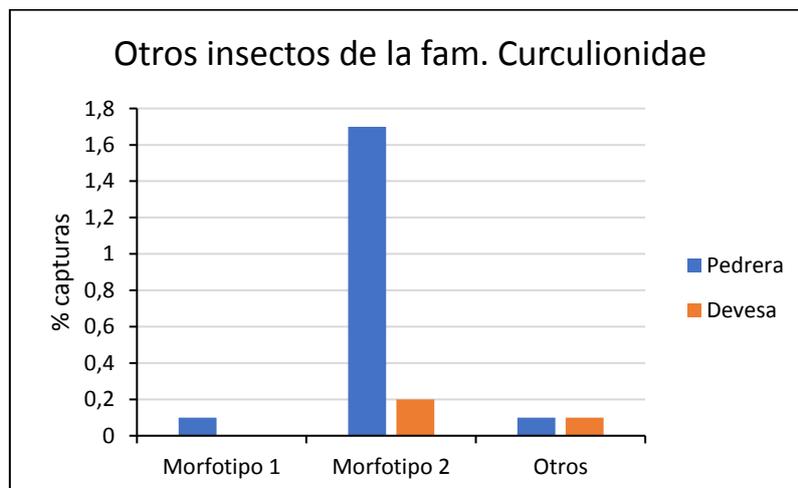


Figura 17: Porcentaje de capturas de otros insectos de la familia Curculionidae en los pinares de la Pedrera y de la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.

El orden Hymenoptera estuvo representado principalmente por la familia Formicidae (Fig. 18). En la Devesa esta familia fue la más numerosa: el 42,2% de las capturas totales. Las hormigas no se capturaron igual en todas las trampas, fue una trampa (T8) en la que fueron especialmente abundantes y en un momento del muestreo. Es posible que las hormigas descubrieran que dentro de la trampa había restos de insectos de los que podían alimentarse, y de ahí el elevado número de capturas. El resto de himenópteros capturados en la Devesa (Familia Vespidae y Otros) tuvieron un porcentaje menor de 0,06%. En la Pedrera esta familia no pasó desapercibida. Se hallaron 230 especímenes que representaban el 3,4%.

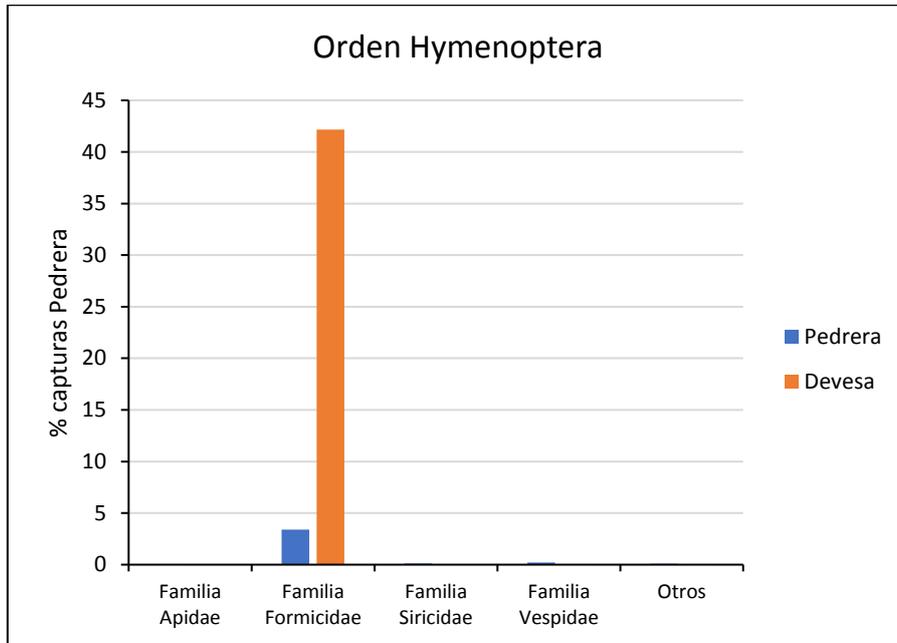


Figura 18: Porcentaje de capturas del orden Hymenoptera en los pinares de la Pedrera y de la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.

En cuanto a las capturas del orden Diptera (Fig. 19), la abundancia de mosquitos (suborden Nematocera) fue notable y natural en la Devesa, puesto que el Parque Natural de la Albufera es un importante humedal que favorece la reproducción de estos insectos. Se capturaron 305 ejemplares, el 6,3% del total. También tuvo unas capturas notables el género *Psila* sp. (4%). Por su parte, las moscas (suborden Brachycera) fueron escasas (menos del 1%) y se hallaron en una cantidad muy similar en ambas zonas.

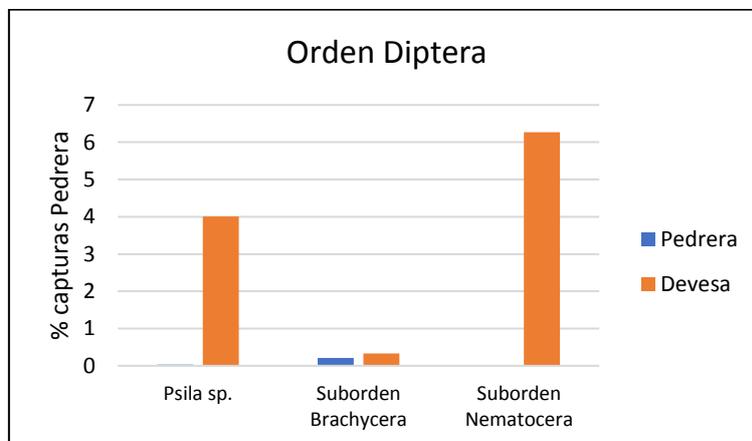


Figura 19: Porcentaje de capturas del orden Diptera en los pinares de la Pedrera y de la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.

Los siguientes especímenes, representados en la Tabla 3, tuvieron una representación menor al 1%, a excepción de orden Araneae con un 1,32%. En total, todas estas categorías encarnan el 4,9% de las capturas de la Pedrera, y el 6,81% en la Devesa.

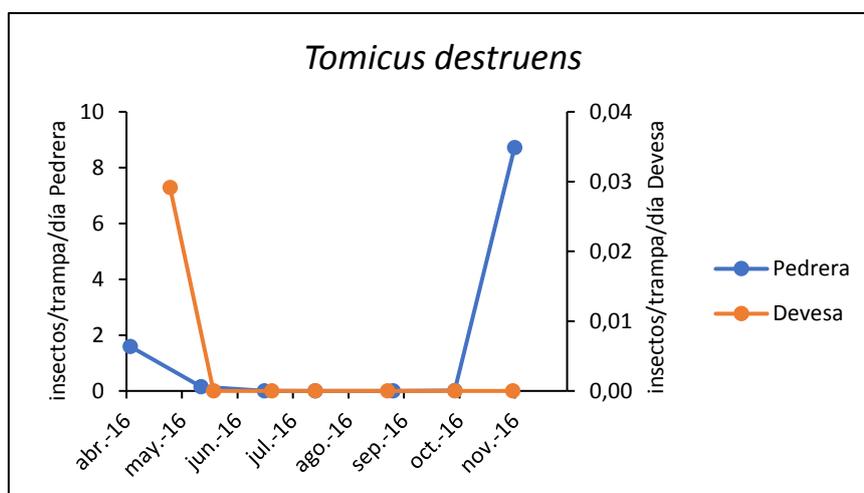
Tabla 3: Abundancia de otros especímenes capturados en los pinares de la Pedrera y de la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.

		% Pedrera	% Devesa
Familia Anobiidae	<i>Anobium punctatum</i>	0,01	0,16
	Otros	0,01	0,02
Familia Bostrichidae	<i>Apate monachus</i>	0,12	0,10
	<i>Scobicia</i> sp.	0,36	0,29
	Otros	0,00	0,04
Familia Coccinellidae	<i>Myrrha</i> sp.	0,10	0,04
	Otros	0,06	0,00
Familia Dermestidae	<i>Anthrenus</i> sp.	0,07	0,00
	Otros	0,00	0,04
Familia Elateridae	<i>Lacon punctatus</i>	0,67	1,01
	Otros	0,00	0,04
Familia Histeridae	<i>Cylister filiformis</i>	0,52	0,06
	<i>Teretrius parasita</i>	0,00	0,08
Familia Scarabaeidae	<i>Cetonia aurata</i>	0,00	0,19
	<i>Oxythyrea funesta</i>	0,06	0,02
	<i>Protaetia cuprea</i>	0,01	0,02
	<i>Protaetia opaca</i>	0,07	0,00
Familia Tenebrionidae	<i>Corticeus pini</i>	0,15	0,00
	<i>Isomira</i> sp.	0,00	0,04
	Otros	0,03	0,04
Orden Coleoptera	<i>Rhynchophorus ferrugineus</i>	0,00	0,39
	Familia Cleridae	0,01	0,00
	Familia Melyridae	0,00	0,49
	Familia Staphylinidae	0,25	0,14
Orden Dictyoptera	<i>Ectobius pallidus</i>	0,09	0,43
	Suborden Isoptera	0,24	0,00
Orden Hemiptera	<i>Metcalfa pruinosa</i>	0,01	0,00
	Familia Cicadellidae	0,71	0,19
	Familia Cicadidae	0,19	0,00
	Familia Coccidae	0,01	0,02
	Familia Pentatomidae	0,19	0,33
Clase Insecta	Familia Chrysopidae	0,06	0,02
	Orden Lepidoptera	0,18	0,23
	Orden Odonata	0,04	0,00
	Orden Psocoptera	0,06	0,88
Filo Arthropoda	<i>Garypus beauvoisii</i>	0,04	0,00
	Familia Scutigeridae	0,16	0,00
	Suborden Oniscidea	0,00	0,16
	Orden Araneae	0,40	1,32

4.1.2 Análisis de la curva de vuelo de los coleópteros perforadores

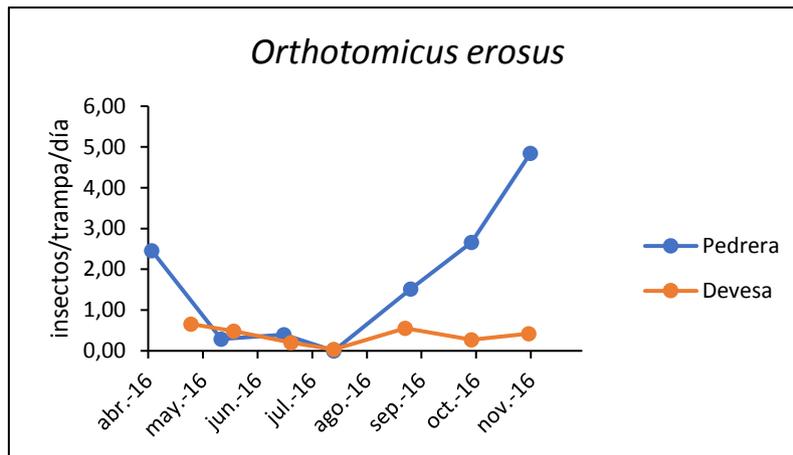
Aunque algunas curvas de vuelo presentan diferencias considerables entre una zona y otra, en general se puede apreciar una tendencia similar. En la Pedrera el número de capturas aumento bastante en el mes de octubre, mientras que en la Devesa las mayores capturas se registran hacia el mes de marzo. En ambas zonas se aprecia una disminución considerable de las capturas en los meses de verano. La curva de *Tomicus destruens* es un claro ejemplo del patrón descrito. La excepción la marca *Hylurgus micklitzi*, cuyas capturas aumentaron en esta estación. Es necesario mencionar que las fechas corresponden a la retirada de los colectores, por lo que las capturas contabilizadas se produjeron a partir de la fecha anterior. El primer colector de la Pedrera se instaló el 27 de febrero del 2016, así pues, las capturas del primer mes se iniciaron ese día y finalizaron el 3 de abril, cuando se recogió; en la Devesa las primeras capturas fueron entre el 16 de marzo y el 25 de abril.

Tomicus destruens. En la Figura 20 se observan dos periodos de vuelo, uno en abril y otro a finales de octubre. En los meses de verano, de junio a septiembre, las capturas fueron prácticamente nulas. En octubre se produjo un pico muy importante que alcanzó el máximo de capturas registrado en la Pedrera. En la Devesa, en la misma fecha, no se apreció un aumento en el número de insectos. Esto parece coincidir con los trabajos de Mendel *et al.* (1985), Monleón *et al.* (1996) y Gil y Pajares (1986): tras la desaparición estival, reaparecen en octubre cuando las temperaturas han empezado a bajar y se producen las primeras lluvias. La alimentación de brotes verdes de inicia a principios de agosto, alcanzando su máximo a principio de noviembre y termina a principios de marzo.



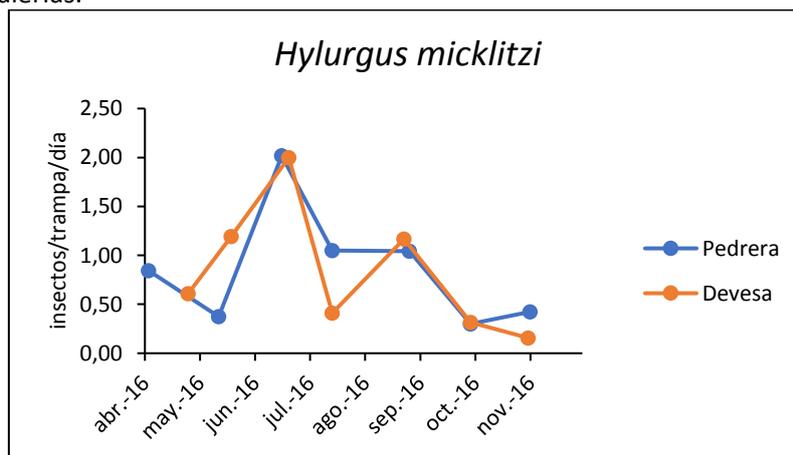
Figuras 20: Curvas de vuelo de *Tomicus destruens* en los pinares de la Pedrera y de la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.

Orthotomicus erosus. La curva de vuelo coincide en las dos zonas, aunque las capturas fueron mayores en la Pedrera (Fig. 21). Se observan dos periodos de vuelo con máximos en abril y octubre. Según Mendel *et al.* (1985 y 1991), las altas temperaturas afectan significativamente la emergencia y dispersión de *O. erosus*, por lo que está más activo durante los meses cálidos, coincidiendo también con la época de mayor estrés hídrico para la vegetación mediterránea. En invierno, de diciembre a febrero, hiberna en grupo bajo la corteza de árboles recientemente muertos que no hayan sido previamente infestados.



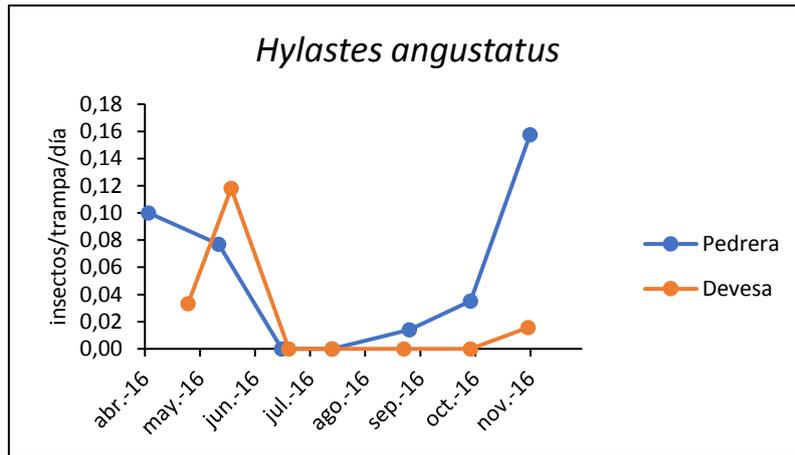
Figuras 21: Curvas de vuelo de *Orthotomicus erosus* en los pinares de la Pedrera y de la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.

***Hylurgus micklitzi*.** Las curvas de vuelo de este insecto son muy similares (Fig. 22). En ambas zonas se produjo un vuelo entre mayo y octubre, alcanzando el máximo a mediados de junio. Según Mendel *et al.* (1985), los adultos comienzan a volar en masa en septiembre, el vuelo sería máximo en octubre-noviembre y durante el invierno se introducirían en la corteza para excavar sus galerías.



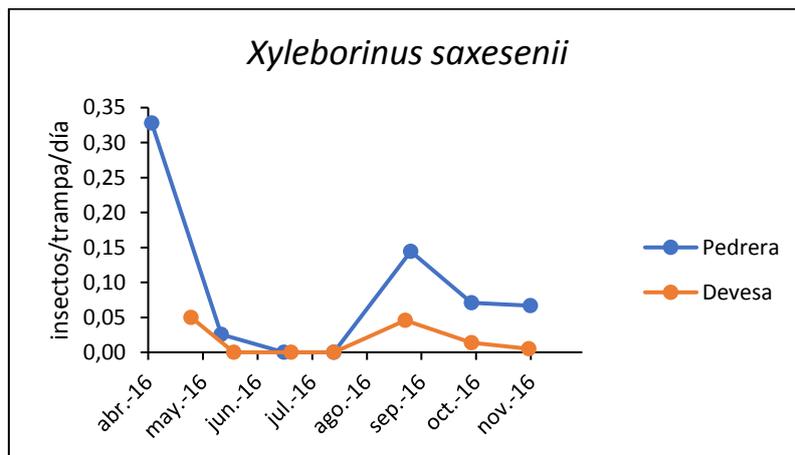
Figuras 22: Curvas de vuelo de *Hylurgus micklitzi* en los pinares de la Pedrera y de la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.

***Hylastes angustatus*.** Se puede observar que la curva de la Pedrera es algo más suave que la de la Devesa (Fig. 23). En ambas se produjo un máximo en abril-mayo y de nuevo a partir de octubre. La diferencia principal entre ambas zonas, a parte del número de insectos/trampa/día, fue el brusco aumento que se produjo en mayo en la Pedrera. Como menciona López *et al.* (2007), esta especie inicia la colonización en el mes de mayo hasta junio, y en julio se produce la emergencia, aunque a lo largo del verano también pueden surgir más individuos.



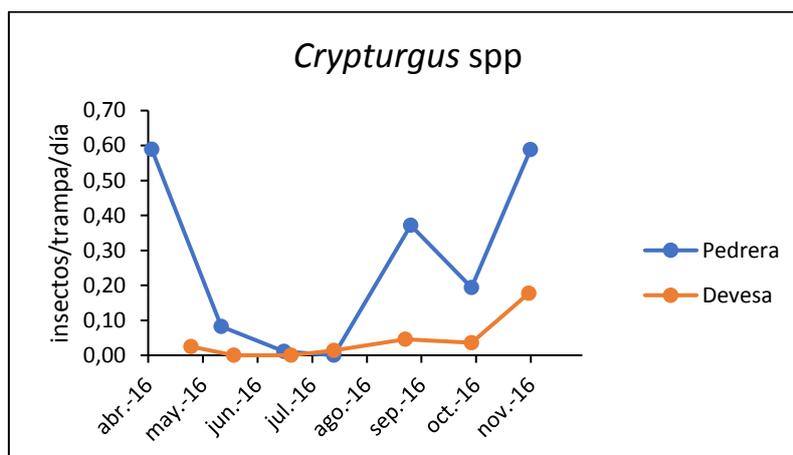
Figuras 23: Curvas de vuelo *Hylastes angustatus* en los pinares de la Pedrera y de la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.

***Xyleborinus saxesenii*.** La curva de vuelo en ambas zonas fue muy similar (Fig. 24). En mayo se produjo una brusca merma de las capturas que se prolongó hasta julio, y en agosto se observó un importante aumento para seguidamente volver a disminuir más gradualmente. Según López *et al.* (2007), esta especie inicia su vuelo y las primeras colonizaciones en marzo, y en junio-julio puede darse una segunda colonización, aunque con menor intensidad.



Figuras 24: Curvas de vuelo de *Xyleborinus saxesenii* en los pinares de la Pedrera y de la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.

Crypturgus spp. Las curvas de este coleóptero también siguieron un patrón similar, con máximos de vuelo en abril, agosto y octubre (Fig. 25).



Figuras 25: Curvas de vuelo de *Crypturgus spp.* en los pinares de la Pedrera y de la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.

4.1.3 Análisis de la curva de vuelo de los depredadores de Scolytinae

Como se observará a continuación, algunos depredadores presentan un vuelo similar a la mayoría de los Scolytinae capturados. Sin embargo, la ausencia o escaso número de capturas de algunos de los depredadores dificultan el análisis de la curva de vuelo y la comparación entre las zonas de trabajo.

Thanasimus formicarius. Este depredador es uno de los más estudiados. Tiene un gran impacto sobre las poblaciones de escolitinos debido a su elevada natalidad y voracidad. Empieza a volar al principio del año y comienza a buscar comida hacia verano (Kenis *et al.*, 2004). La Pedrera fue la única de las dos zonas donde se capturó, coincidiendo también con la zona de mayores capturas de *T. destruens* y *O. erosus*. Las máximas capturas en la Pedrera fueron en abril-mayo y a partir de octubre. Tuvo un vuelo similar a la de la mayoría de los Scolytinae, pero coincidió especialmente con el vuelo de *T. destruens* (Fig. 26). Según Dajoz (2001), la emergencia de los cléridos suele estar sincronizada con la de su hospedante en primavera, lo podría sostener el comportamiento de *T. formicarius* respecto de *T. destruens* en la Pedrera.

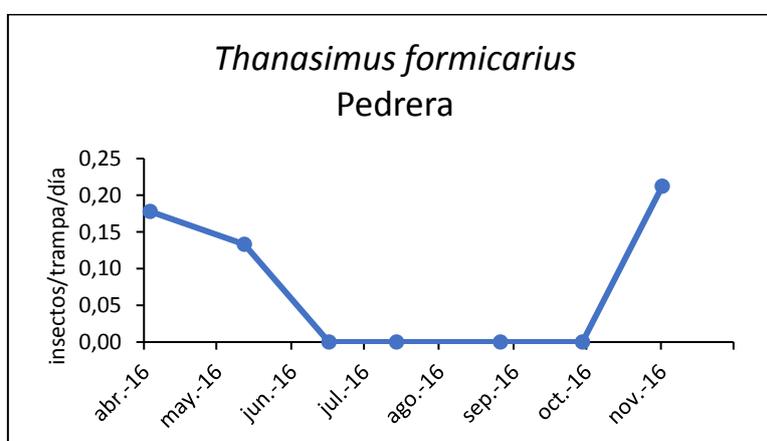


Figura 26: Curva de vuelo de *Thanasimus formicarius* en el pinar de la Pedrera, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.

Rhizophagus depressus. Este depredador, al igual que el anterior, también fue exclusivo de la Pedrera y presentó una curva similar a la anterior especie. Prácticamente solo hubo capturas en abril y octubre, y de mayo a septiembre fueron casi inexistentes (Fig. 27).

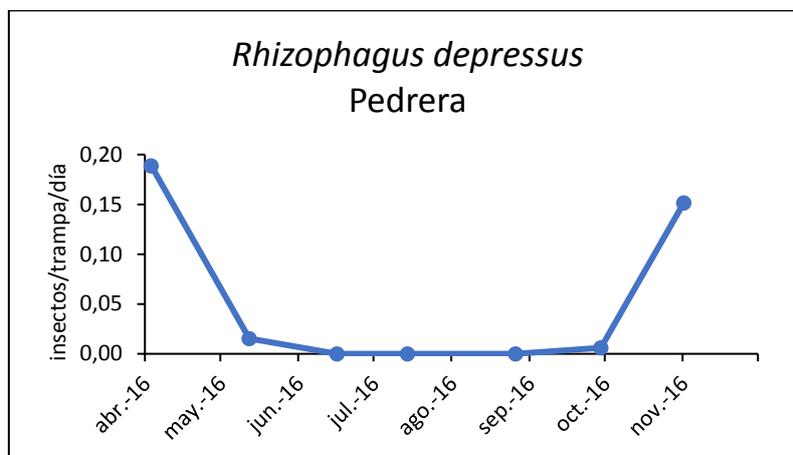


Figura 27: Curva de vuelo de *Rhizophagus depressus* en el pinar de la Pedrera, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.

Corticeus pini. En la curva de vuelo de este pequeño depredador indica que estuvo presente durante todo el periodo de trabajo, siendo más abundante en abril (Fig. 28).

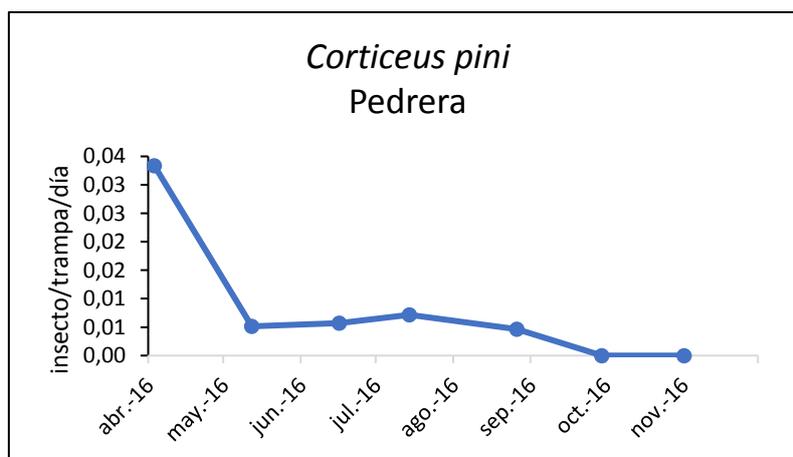
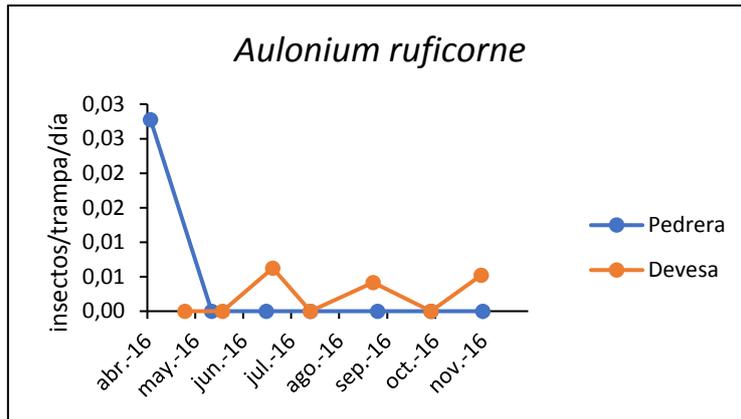


Figura 28: Curva de vuelo de *Corticeus pini* en la Pedrera, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.

Aulonium ruficorne. De este depredador apenas hubo capturas. Las cinco capturas de la Pedrera se encontraron en abril, mientras que las tres capturas de la Devesa se repartieron alternativamente en junio, agosto y octubre (Fig. 29). Según Mendel *et al.* (1990) este insecto depreda principalmente escolitinos en etapas inmaduras, sobre todo en verano, pero también suele hallarse en las galerías de *T. destruens* durante la primavera. Es posible que la escasez de *A. ruficorne* en las capturas de las zonas de trabajo se deba a que pase gran parte del tiempo cazando larvas y pupas bajo la corteza de los árboles.



Figuras 29: Curvas de vuelo de *Aulonium ruficorne* en los pinares de la Pedrera y de la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.

Cryptolestes ferrugineus. Otro caso depredador que está casi ausente, como el caso *Aulonium ruficorne*. En la Devesa solo se capturó un ejemplar en octubre. Las cinco capturas de la Pedrera se repartieron entre los meses de mayo, agosto y octubre (Fig. 30).

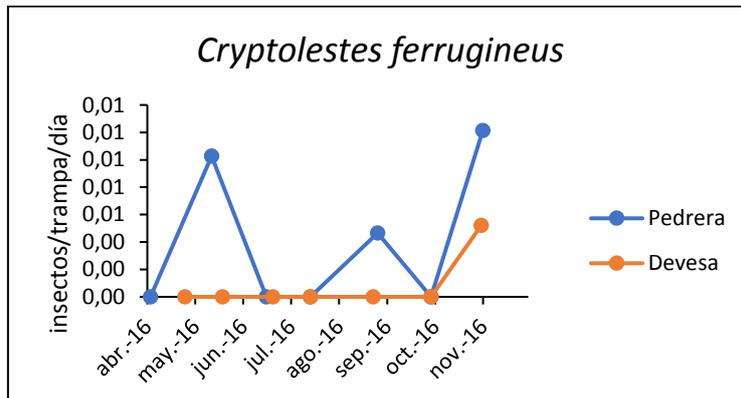


Figura 30: Curvas de vuelo de *Cryptolestes ferrugineus* en los pinares de la Pedrera y de la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.

Temnochila caerulea. De este depredador solo se capturó un ejemplar en la Pedrera en el mes de agosto (Fig. 31).

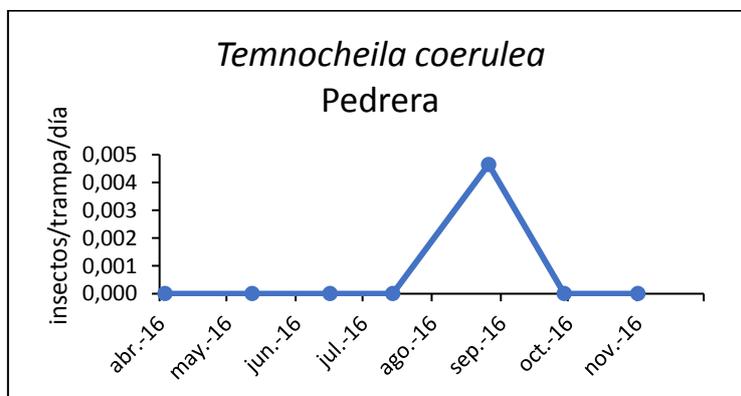


Figura 31: Curva de vuelo de *Temnochila caerulea* en la Pedrera, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.

4.1.4 Análisis estadístico de la relación entre *Tomicus destruens* y el depredador *Thanasimus formicarius*

Al comparar el vuelo de las especies *Tomicus destruens* y *Thanasimus formicarius* se observan grandes coincidencias (Fig. 17 y Fig. 23). Se ha realizado una correlación lineal entre las dos variables (*T. destruens* y *T. formicarius*). Los resultados del ANOVA no dan una relación estadísticamente significativa entre ambas variables ($f = 5,88$; g. l. = 1; $p = 0,0597$) al 95%. Sin embargo, el coeficiente de correlación obtenido entre ambas variables es de 0,75.

4.1.5 Análisis de la curva de vuelo de los cerambícidos

Niphona picticornis. Solo se encontró en la Devesa. Inició su vuelo en mayo y finalizó en septiembre, con un descenso en junio. No coincide con el periodo de vuelo propuesto por Vives (2001), que es máximo de mayo a mediados de julio (Fig. 32).

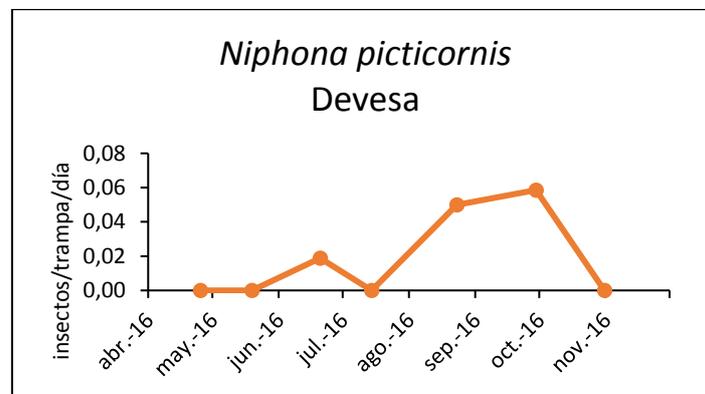


Figura 32: Curva de vuelo de *Niphona picticornis* en la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.

Arhopalus fesus. El vuelo en la Pedrera se inició en mayo y finalizó en septiembre, mientras que en la Devesa tuvo un periodo más corto, de julio a septiembre (Fig. 33). En vuelo encaja en parte con el de Vives (2001), aunque en esta publicación el máximo estaría entre junio y mediados de agosto, y en nuestras capturas se produjo entre agosto y mediados de octubre aproximadamente.

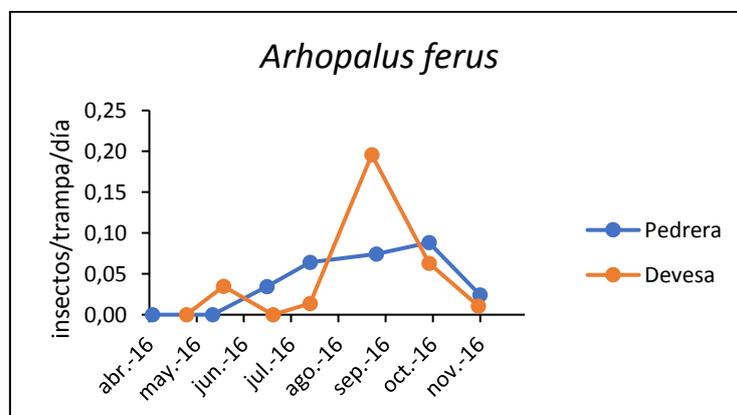


Figura 33: Curva de vuelo de *Arhopalus fesus* en los pinares de la Pedrera y de la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.

Arhopalus syriacus. El vuelo de este cerambícido fue de junio a octubre en la Pedrera, y de mayo a octubre en la Devesa (Fig. 34). Estas curvas de vuelo coinciden en parte con Vives (2001), pues propone como junio y julio los meses de mayor vuelo, y en el presente caso se fue de agosto a octubre.

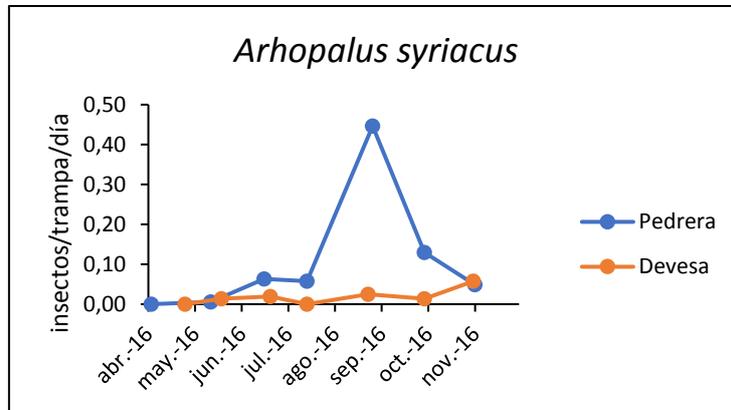


Figura 34: Curva de vuelo de *Arhopalus syriacus* en los pinares de la Pedrera y de la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.

Oxypleurus nodieri. La curva de vuelo de este insecto fue muy similar en ambas zonas, mostrando la finalización del vuelo hacia junio (Fig. 35). A diferencia de los observado por Vives (2001), quien sugiere que el vuelo de produce principalmente de junio a octubre.

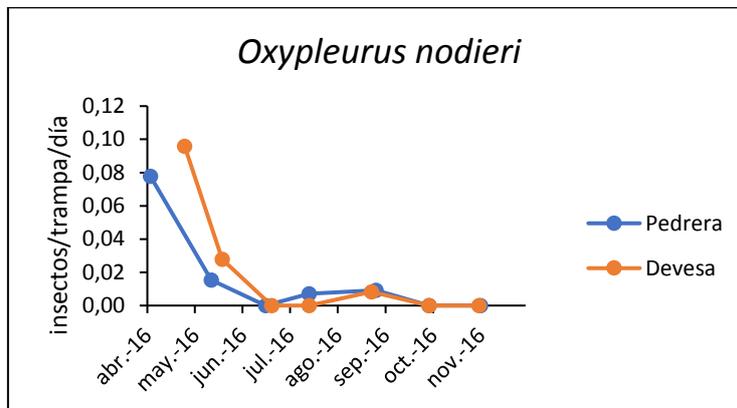


Figura 35: Curva de vuelo de *Oxypleurus nodieri* en los pinares de la Pedrera y de la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.

Monochamus galloprovincialis. El vuelo de este cerambícido es difícil de estimar debido a las pocas capturas, pero se podría pensar que se inicia a partir de agosto (Fig. 36). La curva de este insecto sí que coincide más con la propuesta de Vives (2001), pues el máximo se encuentra entre julio y septiembre.

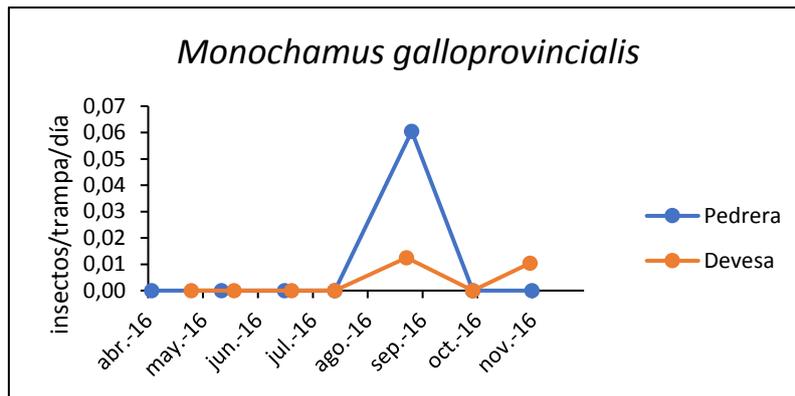


Figura 36: Curva de vuelo de *Monochamus galloprovincialis* en los pinares de la Pedrera y de la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.

4.1.6 Análisis de la biodiversidad

Para la obtención de los índices de biodiversidad (Tabla 4) se decidió retirar de los cálculos las capturas de la familia Formicidae, debido al elevado número de ejemplares capturados en la Devesa.

La Devesa fue la zona que reveló mayor biodiversidad ($H' = 2,250$), mayor equidad ($J' = 0,575$) y menor dominancia ($\lambda = 0,204$). En términos de diversidad beta se obtuvo una disimilitud menor del 50%, por lo que comparten más de la mitad de las especies ($100 - 43,66 \% = 56,34 \%$).

Tabla 4: Índices de biodiversidad de los pinares de la Pedrera y de la Devesa, entre el 27 de febrero y el 1 de noviembre de 2016.

Zona	S	N	J'	H'	λ	Disimilitud
La Pedrera	59	6529	0,511	2,083	0,213	43,66%
La Devesa	50	2812	0,575	2,250	0,204	

S: Número de especies

N: Número de capturas

J': Equidad de Pielou

H': Índice de Shannon-Wiener

λ : Índice de dominancia de Simpson

4.2 Análisis de la presencia de hongos fitopatógenos

4.2.1 Obtención de colonias fúngicas

En total se sembraron 545 insectos: 449 escolitinos, 27 depredadores, 19 bostríquidos, 49 cerambícidos y 1 anóbido (Tabla 5). Los escolitinos que más se sembraron fueron *Orthotomicus erosus* e *Hylurgus micklitzi*, debido a que en verano sus capturas no disminuyeron tan drásticamente como las de las otras especies. Finalmente, solo cuatro cultivos desarrollaron un micelio con el aspecto típico de la familia Botryosphaeriaceae. Estos cuatro cultivos se obtuvieron en muestras que pertenecen a la Pedrera, pero cada uno de ellos asociado a una especie distinta: *Arhopalus ferus*, *Scobicia* spp., *Xyleborinus saxesenii* e *Hylurgus micklitzi*. También coincide que los insectos fueron capturados entre mediados de mayo y finales de agosto, es decir los meses de clima árido, con elevadas temperaturas y escasas precipitaciones.

Tabla 5: Insectos seleccionados, de entre las capturas de los pinares de la Pedrera y de la Devesa del 27 de febrero al 1 de noviembre de 2016, para el cultivo de hongos.

D: Devesa, P: Pedrera.

Mes	<i>Tomicus destruens</i>		<i>Orthotomicus erosus</i>		<i>Xyleborinus saxesenii</i>		<i>Crypturgus spp</i>		<i>Hylurgus micklitzi</i>		<i>Aulonium ruficorne</i>		<i>Corticium pini</i>		<i>Anobium punctatum</i>		<i>Scobicia spp.</i>		<i>Sinoxylon sp</i>		<i>Thanosimus formicarius</i>		<i>Oxypleurus nodleri</i>		<i>Arhopalus ferus</i>		<i>Cryptolestes ferrugineus</i>		TOTAL
	D	P	D	P	D	P	D	P	D	P	D	P	D	P	D	P	D	P	D	P	D	P	D	P	D	P			
Abril	6	10	10	10	10	8	6	5	10	8	0	3	0	1	0	1	2	0	2	0	0	5	10	10	0	0	0	0	117
Mayo	0	10	10	10	2	5	5	9	9	10	0	0	1	0	0	0	3	5	0	0	0	5	0	3	0	0	0	0	87
Junio	1	2	10	10	0	10	8	6	10	10	0	0	0	4	0	0	0	5	0	0	0	0	6	10	0	0	0	0	92
Julio	0	0	0	3	0	2	1	2	10	10	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	42
Agosto	0	0	10	10	5	10	8	10	10	10	0	0	0	2	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	79
Septiembre	0	0	10	10	0	5	2	10	10	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	57
Octubre	0	10	10	10	0	3	10	10	8	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	71
TOTAL	7	32	60	63	17	43	40	52	67	68	0	3	1	11	0	1	6	11	2	0	0	10	16	23	0	10	2	0	545
TOTAL (2)	39		123		60		92		135		3		12		1		17		2		10		39		10		2		545

Los conidios encontrados tras la esporulación de las cuatro colonias tenían un aspecto muy similar a la especie *Sphaeropsis sapinea* al estar melanizados y presentar forma elipsoidal, con un extremo más redondeado y el otro despuntado. Sin embargo, cuando se realizaron mediciones al microscopio, su tamaño varió bastante de un cultivo a otro (Tabla 6), pero también ligeramente la forma, y la presencia y número de septos, lo que hace pensar en la posible existencia de más de un morfotipo.

Los conidios del aislado de *Arhopalus ferus* (Fig. 37-A) fueron los de menor tamaño, con una media de 12,22 x 5,43 µm, por lo que no entran en el rango de tamaño del morfotipo A (27 a 45 µm de largo y 10 a 19 µm de ancho) ni del morfotipo B (37,5 a 41,5 µm de largo y 13 µm a 15,5 µm de ancho) (García-Serna, 2011). Además, tenían una anchura similar en ambos extremos y el número de septos fue bastante variable, pues se hallaron conidios aseptados y otros con 1 a 3 septos. En los otros aislados se observó que uno de los extremos, generalmente el despuntado, era más estrecho. Los conidios de *Scobicia* spp. (Fig. 37-B) eran aproximadamente el doble de grandes que los de *A. ferus*, con una media de 23,46 x 11,25 µm; eran aseptados o presentaban un solo septo. En el caso de *Xyleborinus saxesenii* los conidios (Fig. 37-C) eran algo más grandes que los de *Scobicia* spp., con una media de 29,94 x 14,29 µm;

el extremo despuntado era más fino y no se hallaron septos. Por último, los conidios de *Hylurgus micklitzi* (Fig. 37-D) fueron los de mayor tamaño, con una media de 37,45 x 15,44 µm; el extremo despuntado era más fino que los anteriores y también se encontraron conidios aseptados o con un solo septo.

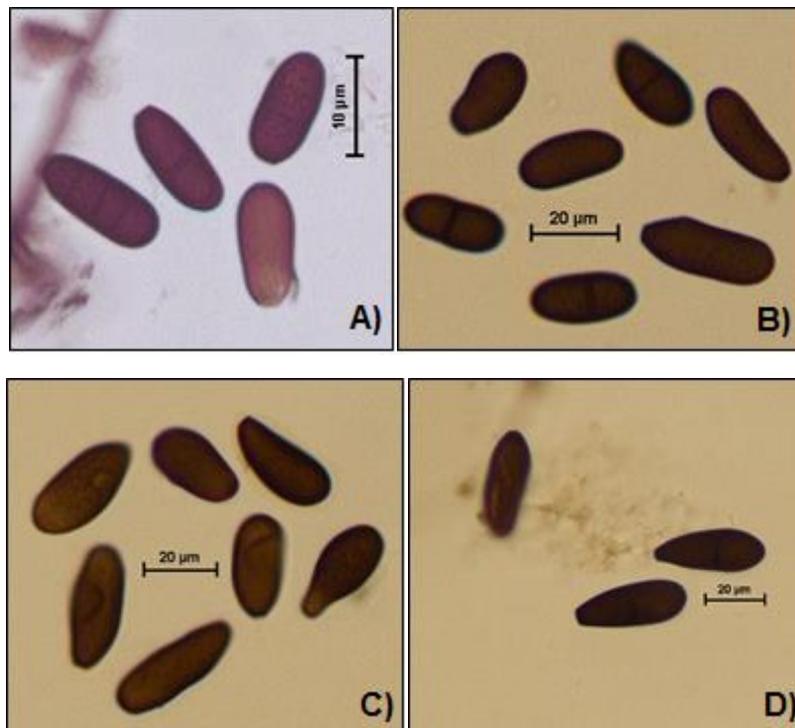


Figura 37: A) Conidios del cultivo de *Arhopalus ferus*. B) Conidios del cultivo de *Scobicia* spp. C) Conidios del cultivo de *Xyleborinus saxesenii*. D) Conidios del cultivo de *Hylurgus micklitzi*.

Tabla 6: Mediciones tomadas a una muestra de 20 conidios de cada uno de los aislados de Botryosphaeriaceae estudiados. Unidades en micrómetros (μm).

Vector	<i>Arhopalus ferus</i>		<i>Scobicia</i> sp.		<i>Xyleborinus saxesenii</i>		<i>Hylurgus micklitzii</i>	
Fecha	16/06 - 14/07		12/05 - 16/06		12/05 - 16/06		14/07 - 26/08	
	Largo	Ancho	Largo	Ancho	Largo	Ancho	Largo	Ancho
1	11,84	5,85	22,24	10,58	29,33	14,23	37,36	14,5
2	12,01	5,42	24,43	11,81	34,39	15,65	36,5	14,22
3	11,89	5,01	24,14	11,15	35,76	14,09	37,85	14,8
4	12,58	5,17	24,67	11,84	25,24	16,21	39,79	15,94
5	13,40	5,27	23,77	12,52	26,42	13,52	35,96	14,96
6	11,61	5,39	22,2	11,94	26,76	13,28	39,33	13,18
7	11,19	5,49	26,04	10,31	30,16	15,61	38,81	17,03
8	13,62	5,13	24,47	11,1	25,9	15,8	36,04	11,85
9	12,44	5,67	22,82	9,76	29,92	16,14	37,16	11,5
10	12,15	5,30	23,91	10,6	28,77	13,98	35,75	14,65
11	11,43	6,05	21,17	10,58	23,28	12,6	35,11	14,24
12	10,93	4,99	24,76	11,09	31,31	12,64	38,93	17
13	12,84	5,37	23,04	12,47	25,99	12,89	34,04	15,29
14	12,6	5,58	24,01	10,48	33,37	14,33	42,06	16,91
15	11,97	5,59	23,49	12,33	39,02	12,91	38,34	16,31
16	12,26	5,41	22,24	9,37	28,42	13,5	37,94	16,03
17	12,04	5,19	25,94	12,18	30,85	14,05	38,75	16,97
18	12,98	5,86	22,24	10,73	31,2	15,31	35,41	16,44
19	12,64	5,6	21,86	11,54	28,59	14,96	38,08	17,17
20	12,03	5,25	21,73	12,57	34,19	14,18	35,8	19,73
Mín.	10,93	4,99	21,17	9,37	23,28	12,60	34,04	11,50
Máx.	13,62	6,05	26,04	12,57	39,02	16,21	42,06	19,73
Media	12,22	5,43	23,46	11,25	29,94	14,29	37,45	15,44

4.2.2 Identificación molecular de los hongos

Los productos de amplificación de ITS y TEF tenían un tamaño aproximado de 500 pb y 800pb respectivamente, en los cuatro aislados analizados. Las secuencias de ITS de todos los aislados fueron idénticas y lo mismo sucedió con las secuencias de TEF, por lo que se utilizó sólo una de cada región genómica para realizar la comparación con la base de secuencias del GenBank. En ambos casos (ITS y TEF) se obtuvo como resultado una similitud del 100% con secuencias del aislado de referencia de *Sphaeropsis sapinea* CBS 393.84 (ITS: DQ458895 y TEF: DQ458880). Esto permite concluir que los cuatro aislados pertenecen a la especie *Sphaeropsis sapinea*.

5. Conclusión

- Se registró una gran diferencia entre las capturas de *Tomicus destruens* de las dos zonas: 1761 individuos en la Pedrera frente a las 7 de la Devesa, durante el periodo de trabajo. Esto confirmó la ausencia de la plaga de este insecto en la zona de la Devesa del Saler. También hubo una considerable diferencia entre las capturas de *Orthotomicus erosus*, aunque no tan llamativa.
- De todos los Scolytinae capturados, la especie *Hylurgus micklitzi*, bastante abundante, fue la única que registró un número de capturas muy similar para ambas zonas. El resto de especies de Scolytinae fueron muy escasas.
- El periodo de vuelo de los coleópteros se produjo principalmente en primavera-verano e inicio de otoño, aunque en los momentos de más temperatura, en verano, el vuelo de los insectos disminuyó. Sin embargo, el periodo de vuelo de *T. destruens* se produjo en otoño y primavera, estando ausente en finales de primavera y verano.
- En cuanto a los coleópteros depredadores, se identificaron seis especies distintas. Los depredadores de la familia Scolytinae fueron más numerosos en la Pedrera, siendo las especies más destacadas *Thanasimus formicarius* y *Rhizophagus depressus*, coincidiendo con la mayor abundancia de *T. destruens* y *O. erosus* en esta zona. En la Devesa, sin embargo, estuvieron prácticamente ausentes. Los pocos depredadores capturados en la Devesa fueron de las especies *Aulonium ruficorne* y *Cryptolestes ferrugineus*, cuyo número no fue muy diferente en la Pedrera.
- El vuelo de las dos especies más abundantes, de *T. formicarius* y *R. depressus*, finalizó en junio y volvió a empezar en octubre, de forma muy similar a *T. destruens*.
- El pinar de la Devesa presentó mayor biodiversidad alfa que la Pedrera, y también mayor equidad y menor dominancia. La biodiversidad beta reflejó que ambas zonas comparten casi el 60% de las especies.
- Se confirmó la presencia del hongo *Sphaeropsis sapinea* en la Pedrera, aunque solo en cuatro de los 545 insectos sembrados en medio de cultivo se obtuvieron colonias de este patógeno, concretamente en un ejemplar de cada una de las siguientes especies: *Arhopalus ferus*, *Scobicia* sp., *Xyleborinus saxesenii* e *Hylurgus micklitzi*.
- Se encontraron diferencias morfológicas entre los conidios de las cuatro colonias de *S. sapinea*. Los conidios de *A. ferus* eran demasiado pequeños para pertenecer al morfotipo A o al morfotipo B, por lo que existe la posibilidad de que exista en esta zona más de un morfotipo del hongo.

6. Bibliografía

BEZOS, D., MARTÍNEZ-ÁLVAREZ, P. BLANCO, J., DE VALLEJO, M., DIEZ, J. J. y FERNÁNDEZ, M. M. 2013. *Tomicus piniperda*, vector de *Fusarium circinatum* en plantaciones de *Pinus radiata* de Cantabria. Instituto Universitario de Investigación en Gestión Forestal Sostenible. Universidad de Valladolid – INIA. Palencia, España. 9 pp.

BEZOS, D., MARTÍNEZ-ÁLVAREZ, P., DIEZ, J. J., y FERNÁNDEZ, M. M. 2015. The pine shoot beetle *Tomicus piniperda* as a plausible vector of *Fusarium circinatum* in northern Spain. *Annals of Forest Science*, 72(8), 1079–1088.

DIRECCIÓN GENERAL DEL MEDIO NATURAL 2014. Recomendaciones para el control de la plaga de insectos perforadores que afectan a los pinares. Conselleria de Infraestructuras, Territorio y Medio Ambiente. Valencia, España. 6 pp.

FLORES-PACHECO, J. A. 2017. Chancro resinoso del pino (*Fusarium circinatum*). Historia, evolución, dispersión y estrategias de manejo. *Nexo Revista Científica & Facultad de Recursos Naturales y Medio Ambiente, Bluefields Indian & Caribbean University – BICU*. Bluefields, Nicaragua. 24 pp.

GALLEGO, D. 2006. *Tomicus destruens* (Wollaston, 1865) (Coleoptera, Scolytidae), un estudio a múltiple escala. 157 pp.

GALLEGO, D., LENCINA, J.L, CABEZAS, J.D., ATIENZA, A. y CAMPO, M.T. 2015. *Entomofauna de interés forestal ligada a los pinares de Pinus nigra subsp. clusiana en la Región de Murcia*. 1 pp.

GARCIA-SERNA, I. 2011. *Diplodia pinea* (Desm.) Kickx y *Fusarium circinatum* Nirenberg & O'Donnell, principales hongos del chancre de las masas forestales de *Pinus radiata* D. Don del País Vasco. Tesis Doctoral. Universidad del País Vasco. 240 pp.

GIL, L.A. y PAJARES, J.A. 1986. *Los escolítidos de las coníferas en la Península Ibérica*. Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. 194 pp.

GOBIERNO DE NAVARRAa. Ficha del patógeno *Fusarium circinatum* Nirenberg et O'Donnell. Servicio de Conservación de la Biodiversidad. Sección de Gestión Forestal.
https://www.navarra.es/NR/rdonlyres/79DB54F5-B89A-4633-BAC9-8F293BDA3475/267541/01_Fusarium.pdf [Fecha consulta: Junio 2019]

GOBIERNO DE NAVARRAb. Ficha del patógeno *Sphaeropsis sapinea* (Fr.) Dyko y Sutton. Servicio de Conservación de la Biodiversidad. Sección de Gestión Forestal.
https://www.navarra.es/NR/rdonlyres/79DB54F5-B89A-4633-BAC9-8F293BDA3475/267535/06_SphaeropsisS.pdf [Fecha consulta: Junio 2019]

JACOBS, K., BERGDAHL, D. R., WINGFIELD, M. J., HALIK, S., SEIFERT, K. A., BRIGHT, D. E. y WINGFIELD, B. D. 2004. *Leptographium wingfieldii* introduced into North America and found associated with exotic *Tomicus piniperda* and native bark beetles. *Mycological Research* 108: 411-418.

DE JONG, Y. *et al.* 2014. Fauna Europaea - all European animal species on the web. *Biodiversity Data Journal* 2: e4034.
<http://www.fauna-eu.org/> [Fecha consulta: Junio 2019]

JUNTA DE ANDALUCÍAa. Ficha informativa sobre *Orthotomicus erosus*. Consejería de Medio Ambiente.

https://www.juntadeandalucia.es/medioambiente/portal_web/web/temas_ambientales/mon-tes/plagas/fichas_plagas_enfermedades/orthotomicus.pdf [Fecha consulta: Junio 2019]

JUNTA DE ANDALUCÍAAb. Ficha de informativa sobre *Tomicus destruens*. Consejería de Medio Ambiente.

https://www.juntadeandalucia.es/medioambiente/web/Bloques_Tematicos/Publicaciones_Di-vulgacion_Y_Noticias/Documentos_Tecnicos/plagas_forestales/capitulos/10_tomicus_destrue-ns.pdf [Fecha consulta: Junio 2019]

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

LERAUT, P. 2007. *Insectos de España y Europa*. Lynx Edicions. Montseny, Bellaterra. Barcelona. 527 pp.

LÓPEZ, S., ROMÓN, P., ITURRONDOBEITIA, J. y GOLDARAZENA, A. 2007. Los escolítidos de las coníferas del País Vasco. *Guía práctica para su identificación y control*. Universidad del País Vasco & Departamento de Agricultura, Pesca y Alimentación del Gobierno Vasco. Servicio de Publicaciones del Gobierno Vasco. Colección LUR N° 11. Vitoria-Gasteiz. 189 pp.

LUJÁN, M. 2017. Identificación y propuesta de gestión de insectos perforadores presentes en la pinada de la Devesa del Saler (Valencia). Trabajo Final de Master. Universidad Politécnica de Valencia. 57 pp.

MANSILLA, P., AGUÍN, O., PINTOS, C. y GONZÁLEZ, M. 2005. Ficha 32/2005: *Fusarium circinatum* Nirenberg & O'Donnell. Cancro resinoso del pino. Estación Fitopatológica do Areeiro. Servicio Agrario de la Diputación Provincial de Pontevedra.

MARGALEF, R. 1995. *Ecología*. Ediciones Omega, Barcelona, 951 pp.

MINISTERIO DE MEDIO AMBIENTE Y MEDIO RURAL Y MARINO. Ficha descriptiva del organismo nocivo *Fusarium circinatum* (Nirenberg & O'Donnell).

http://agricultura.gencat.cat/web/.content/ag_agricultura/ag02_sanitat_vegetal/ag02_12_titu-lars_explotacions/fitxes_marm/fitxers_estatics/fusarium_circinatum.pdf

[Fecha consulta: Junio 2019]

MORENO, C. E. 2001. Métodos para medir la biodiversidad. M&T–Manuales y Tesis SEA, vol. 1. Zaragoza, 84 pp.

NEIKER TECNALIA y CONFEDERACIÓN DE FORESTALISTAS DEL PAÍS VASCO 2007. *Sphaeropsis sapinea – Diplodia pinea*: Otro hongo de Chancro de los pinos. *Revista Basogintza*.

NÚÑEZ, L., CLOSA, S., GONZÁLEZ, E., LENCINA, J.L. y GALLEGU, D. 2016. *Inventario de coleópteros saproxílicos presentes en los pinares de Mallorca (Islas Baleares)*. III Reunión Científica de Sanidad Forestal, Madrid. 1 pp.

RIVAS-MARTÍNEZ, S. y RIVAS-SÁENZ, S. Sistema de Clasificación Bioclimática Mundial (1996-2009). Centro de Investigaciones Fitosociológicas. Universidad Complutense de Madrid. España. <http://www.ucm.es/info/cif> [Fecha consulta: Junio 2019]

SERVICIO DE ORDENACIÓN Y GESTIÓN FORESTAL 2011. Documento de síntesis de la prospección de *Fusarium circinatum* (Nirenberg et O'Donnell) en la Comunitat Valenciana. Conselleria de Infraestructuras, Territorio y Medio Ambiente.

VIVES, E. 2001. *Atlas fotográfico de los cerambícidos ibero-baleares*. Argania editio, S.C.P., Balmes. Barcelona. 288 pp.

WATSON, L. y DALLWITZ, M. J. 2003. Onwards. British insects: the families of Coleoptera. Version: 25th July 2012. <http://delta-intkey.com> [Fecha consulta: Junio 2019]

WHITE, T.J., BRUNS, T., LEE, S. y TAYLOR, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. En INNIS, M.A., GELFAND, D.H., SNISKY, J.J., WHITE, T.J., Eds. PCR protocols: a guide to methods and applications. San Diego: Academic Press p. 315-322.

ZAHRADNÍK, J. 2001. *Guía de los coleópteros de España y de Europa*. Ediciones Omega, S.A., Barcelona. 576 pp.

Anexo I – Fotografías de coleópteros capturados



Figura 38: *Tomicus destruens*.



Figura 39: *Orthotomicus erosus*. A) Vista de perfil, B) Detalle de los dientes del declive elitral.



A)



B)

Figura 40: *Hylurgus micklitzii*. A) Vista en planta, B) Vista de perfil.



A)



B)

Figura 41: *Xyleborinus saxesenii*. A) Vista en planta, B) Vista de perfil.



A)



B)

Figura 42: *Crypturgus* sp. A) Vista de perfil, B) Vista en alzado.



A)



B)

Figura 43: *Hylastes angustatus*. A) Vista de perfil, B) Vista en planta.



Figura 44: *Thanasimus formicarius*.



Figura 45: *Rhizophagus depressus*.



Figura 46: *Aulonium ruficorne*.



Figura 47: *Corticeus pini*.



Figura 48: *Stromatium unicolor*.



Figura 49: *Arhopalus syriacus*.



Figura 50: *Monochamus galloprovincialis*.



Figura 51: *Penichroa timida*.



Figura 52: *Niphona picticornis*.

Anexo II – Fotografías de los cultivos de hongos

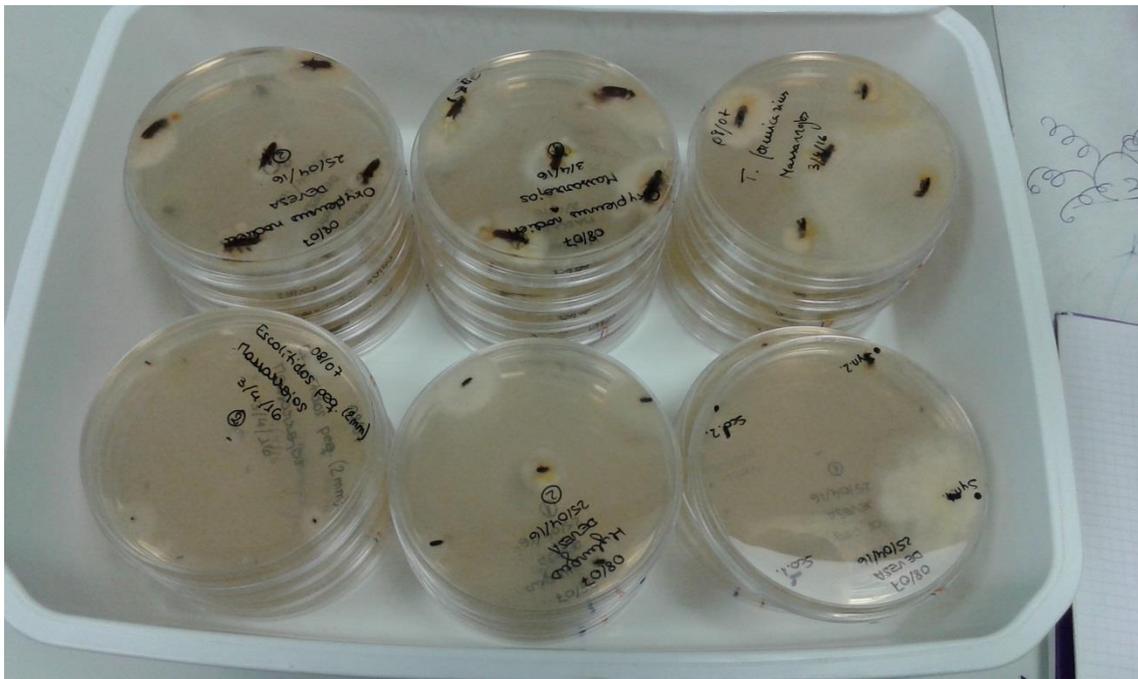


Figura 53: Siembra de coleópteros en medio PDAS.

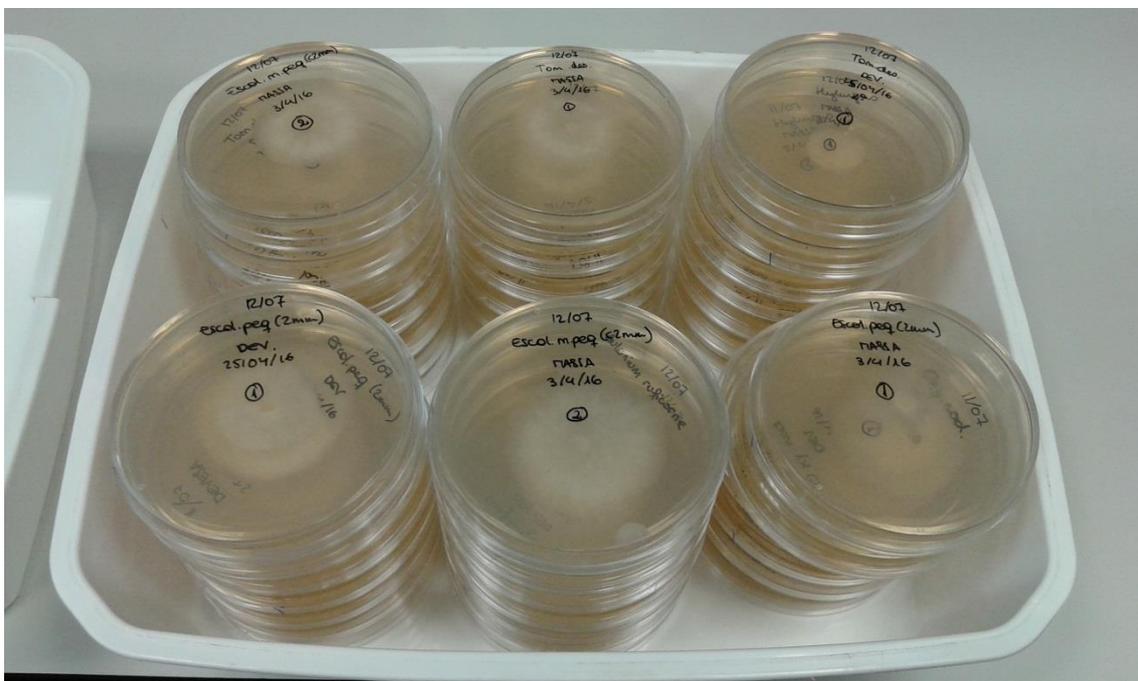


Figura 54: Repicado de algunos cultivos de hongos en medio PDA.

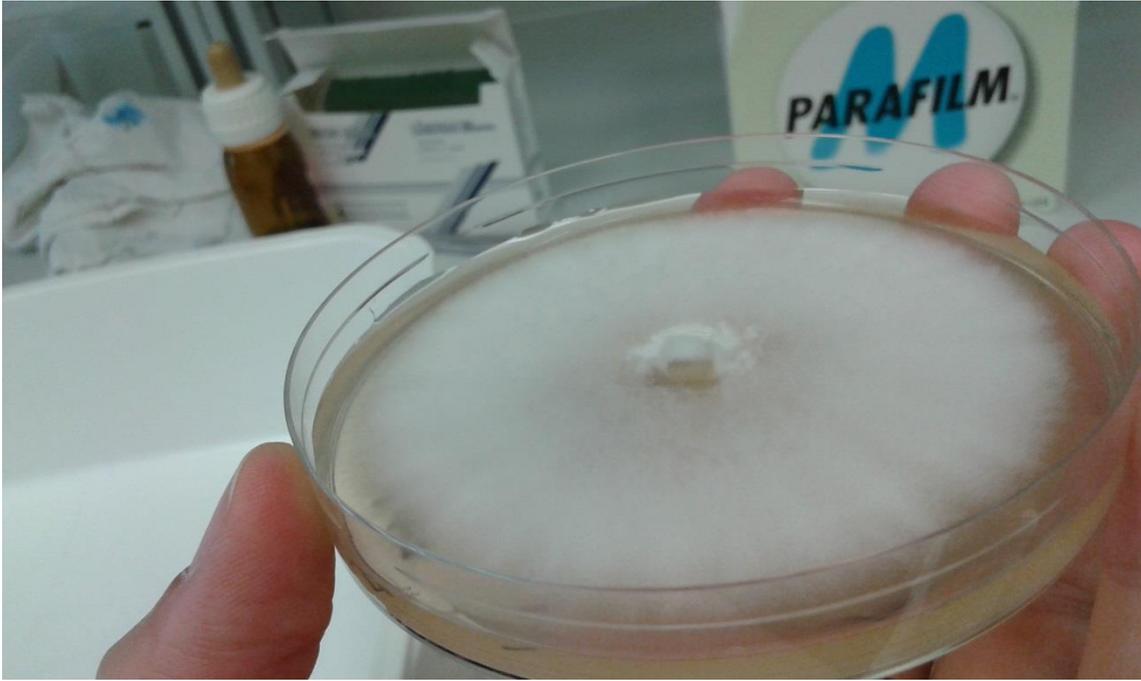


Figura 55: Posible micelio de *Sphaeropsis sapinea*: aspecto blanco y algodonoso.

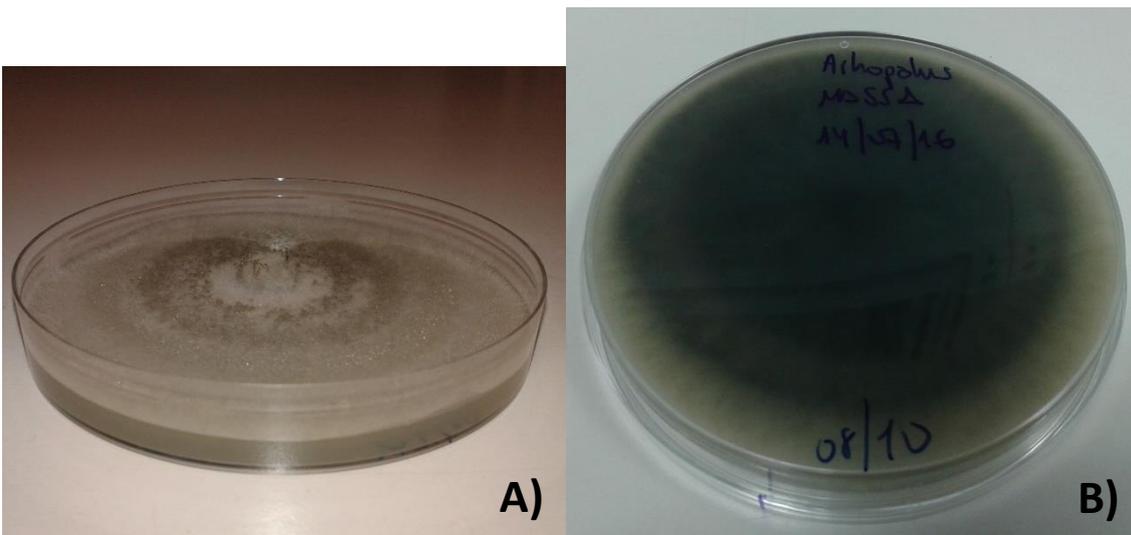


Figura 56: Cepa de *Sphaeropsis sapinea* procedente de *Arhopalus ferus*. A) anverso, B) reverso.

Anexo III – Fotografías del pinar de la Pedrera



Figura 57: Vista parcial del pinar de la Pedrera.



Figura 58: Vista parcial del pinar de la Pedrera.



Figura 59: Zona recreativa en el pinar de la Pedrera.



Figura 60: Vista parcial del pinar de la Pedrera donde se observa uno de los paseos que atraviesan el pinar y una zona urbanizada próxima.