



Universidad de Valladolid
Campus de Palencia

**ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR
DE INGENIERÍAS AGRARIAS**

Master Ingeniería de Montes

Estudio de captura masiva como método de control de *Monochamus galloprovincialis* (Olivier; Col.: Cerambycidae) en densidades poblacionales bajas

Alumno: Estela Sánchez Husillos

Tutores: Juan A Pajares Alonso
Julio J Diez Casero

Abril 2019

Contenido

1. Resumen	1
2. Antecedentes.....	2
3. Objetivos	7
4. Metodología.....	8
4.1. Área de estudio	8
4.2. Estimación de abundancia poblacional.....	8
4.3. Evaluación de la eficacia de la captura masiva.....	9
4.4. Métodos estadísticos.....	11
5. Resultados	12
5.1. Estimación de la abundancia poblacional.....	12
5.2. Evaluación de la eficacia de la captura masiva.....	14
6. Discusión.....	17
7. Conclusiones.....	20
8. Agradecimientos.....	21
9. Bibliografía	22
10. Anejos	26

1. Resumen

Monochamus galloprovincialis (Olivier; Col.: Cerambycidae) es el insecto vector del nematodo *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner & Bühner) Nickle (Nematoda: Aphelenchoididae) causante de la enfermedad del “marchitamiento del pino” (EMP) que afecta a especies del género *Pinus* spp. Esta enfermedad introducida a principios del siglo XX en el Este asiático ha sido introducida hace dos décadas en Portugal, elevando la alarma entre las autoridades europeas ante el inminente riesgo de dispersión por todo el continente europeo.

Como medidas de control y manejo de la enfermedad se plantea la posibilidad de la captura masiva como método de reducción de la población del vector y por lo tanto de disminución del riesgo de infección de la enfermedad.

Se plantea un ensayo de captura masiva con trampas multiembudos y cebos comerciales en una masa de pinar donde se sabe que hay baja densidad poblacional de *Monochamus* sp., utilizando la metodología de marcado-captura-recaptura.

Para estimar la reducción de la población es imprescindible conocer la densidad poblacional de la zona, por lo que el ensayo incluye un estudio paralelo utilizando la metodología descrita por el software de SECR con parametrización POPAN para poblaciones abiertas.

Con la ponderación de los resultados de los mejores modelos se obtuvo que la población de *M. galloprovincialis* presentaba una densidad de 10.94 ind/ha considerada como baja.

Las densidades de trapeo evaluadas, 0.11, 0.44 y 1 trampa/ha extrajeron el 19.3, 67.4 y 85% de la población de *M. galloprovincialis* respectivamente, resultando esta metodología como una opción de manejo prometedora que merece una especial atención.

2. Antecedentes

Monochamus galloprovincialis (Olivier; Col.: Cerambycidae) es el insecto vector de una de las enfermedades de los pinos más devastadoras que acontecen a nivel mundial sobre las coníferas, la enfermedad del “marchitamiento del pino” (EMP). Está causada por el nematodo *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner & Bührer) Nickle (Nematoda: Aphelenchoididae)., catalogado como organismo de cuarentena incluido en la lista EPPO A2 (Organización para la Protección de las Plantas en Europa y en el Mediterráneo). *M. galloprovincialis* ha sido confirmado como el único vector conocido del nematodo en Portugal (Sousa et al., 2001) y España.

B. xylophilus ataca a los géneros *Abies*, *Cedrus*, *Larix*, *Picea*, *Pinus*, *Peudotsuga* y *Tsuga*. La sintomatología más visible por la cual se manifiesta la enfermedad es el marchitamiento general y amarilleamiento de las acículas. Aproximadamente un mes después de la infección se produce la muerte del árbol, aunque se sabe que el factor climático es clave en el desarrollo de la enfermedad, afectándole positivamente las altas temperaturas (25°C) y el estrés hídrico (Pérez et al., 2008).



Figura 1. Árboles afectados por *Bursaphelenchus xylophilus*. Fuente: <https://www.asturias.es/>

El ciclo de la enfermedad es un sistema de retroalimentación positiva, es decir, cuando el nematodo infecta y mata a su huésped, se crea el sustrato adecuado (árbol estresado /

moribundo) para la oviposición por su vector (Naves et al., 2006a) . Posteriormente esa misma descendencia va a seguir infectando arboles sanos por medio de su alimentación sobre los ramillos (Naves et al., 2007). De esta forma, la transmisión de los nematodos puede ser mediante alimentación (fase dispersiva o fitófaga) o mediante ovoposición (fase propagativa o micófaga)

B. xilophilus es originario de Norteamérica, donde no es virulento, pero causa una severa mortalidad en las zonas donde ha sido introducido. Esta enfermedad apareció por primera vez en 1905 en Japón (Yano, 1913), en la región de Nagasaki desde donde se dispersó por todo el este asiático, Japón, Corea, China y Taiwán, hasta que en 1999 fue introducida en Europa a través de la Península de Setúbal (Portugal), encontrándose disperso actualmente por todo el centro y norte del país luso, así como en la isla de Madeira (Mota et al., 1999).

En 1984 *Bursaphelenchus xilophilus* fue detectado por primera vez en un cargamento de madera transportado en barco a Finlandia. Debido a esto, las autoridades Europeas obligaron a tomar medidas rigurosas sobre las inspecciones de madera en los puertos, sobretodo de las procedentes del Este de Asia. Sin embargo, con la introducción del nematodo en Portugal en 1999, fuertes medidas de contención comenzaron a aplicarse en Europa, centrando sus esfuerzos en contener la enfermedad en Portugal, donde debido a la ausencia de garantías de zonas libres de la enfermedad en 2008 se declara zona demarcada a todo el país.

Según la Decisión de Ejecución de la Comisión de 26 de septiembre de 2012 (European Comision, 2012), en caso de detección del nematodo en zonas nuevas, los Estados Miembros tenían que adoptar medidas de erradicación entre las que destaca la tala preventiva de las plantas sensibles en la zona infestada dentro de un radio de 500m. Con estas instrucciones el primer foco se detectó en España en el 2008 (Villanueva de la Sierra, Cáceres) y fue posteriormente erradicado tras la corta de todos los pinos presentes en un área de 3 km de radio alrededor del árbol infectado, una medida entonces vigente en los Planes de contingencia. Desde entonces, otros 6 focos han ido apareciendo en territorio español, generalmente próximos a la frontera lusa: As Neves (Pontevedra, 2010), Valverde del Fresno (2012, erradicado en 2017, declarado de nuevo en 2019), Sancti Spiritu (Salamanca, 2013), Salvaterra de Miño (Pontevedra, 2016) y Lagunilla (Salamanca, 2018). Todo ello vaticina la grave amenaza de expansión de la enfermedad por Europa, calificándose por expertos de la UE de “riesgo permanente de infección en el futuro previsible”. Después de estos acontecimientos, la EPPO publicó en 2018 (European Organization, 2018) una actualización con las medidas de control para la erradicación de *Bursaphelenchus xylophilus* y vigilancia asociada para permitir la detección temprana de la enfermedad. Entre sus cambios más importantes destaca la reducción de la distancia en las cortas a tan solo 50m alrededor del árbol infectado (Fig. 2), aunque delimita zonas de muestreo intensivo de 20km a su alrededor, utilización de trampas para el cerambícido y otras medidas. También proporciona orientación sobre medidas de

contención para evitar una mayor propagación, ya sea de un brote durante erradicación o de un área de infestación establecida donde la erradicación ya no es alcanzable.

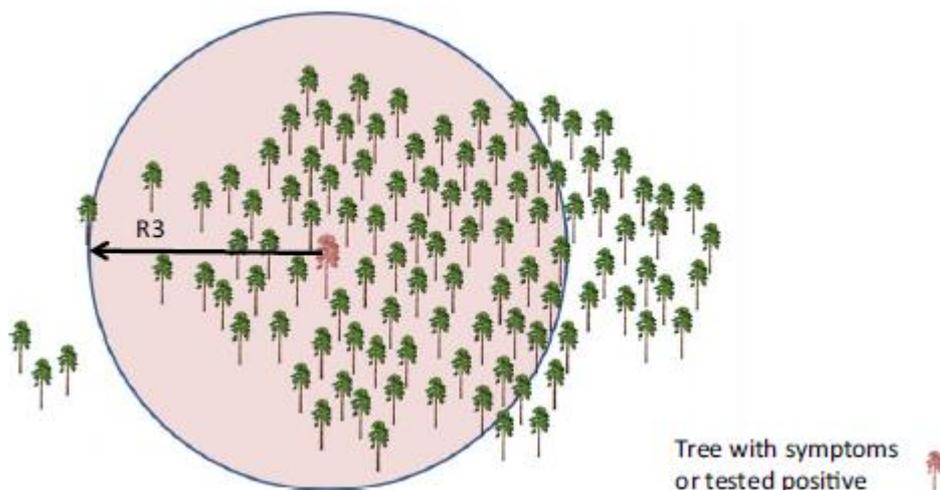


Figura 2. Detalle de las instrucciones de la EPPO sobre radio de corta en zonas de nueva infestación. Fuente: 2018 OEPP/EPPO, Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 0, 1–13

En la Península Ibérica la dispersión natural del nematodo de la madera del pino (NMP) se produce gracias a su insecto vector: *Monochamus galloprovincialis*, coleóptero que no provoca daños importantes sobre el arbolado ya que son descomponedores secundarios de árboles decaídos o incluso recientemente muertos (Vives, 2000). Los nematodos pueden moverse dentro de la madera libremente y pueden pasar de un material hospedante a otro que se encuentre en contacto directo (Wingfield & Blanchette, 1983), pero si no se encuentran en contacto requiere necesariamente el concurso de un insecto vector que lo transporte y transmita a nuevos hospedantes por medio de su alimentación y/u oviposición (Naves et al., 2007). Así, mientras que la propagación en las distancias cortas está condicionada por la capacidad de dispersión de sus vectores, la dispersión de la enfermedad a largas distancias se ven favorecidas por la actividad humana, lo que lleva a considerar el transporte de mercancías como el principal vector dispersor de esta enfermedad (Robinet et al., 2009). Con este escenario, Soliman et al., (2012) ha pronosticado unas pérdidas de 11.9 billones de € en España causados por la enfermedad entre los períodos 2008-2030 si no se consigue frenar su dispersión.

M. galloprovincialis está ampliamente distribuido por los bosques de coníferas de Europa, Norte de África, Siberia, Cáucaso y Mongolia (Vives 2000). En la Península Ibérica y Baleares se encuentra disperso en la mayoría de las masas de pinares. A pesar de esta amplia distribución pocos estudios fueron conducidos a estudiar su bio-ecología hasta que fue considerado insecto clave en la dispersión de la enfermedad. De esta manera, se ha definido su ciclo de vida como univoltino en el sur de Europa, mientras que se caracteriza por ser semivoltino en el norte, donde los adultos requieren de dos años para emerger (Koutroumpa et

al., 2008; Akbulut & Stamps, 2012). En España se ha observado que los adultos emergen desde finales de mayo hasta mediados de Agosto (Mas i Gisbert, 2015).



Figura 3: Detalle de hembra de *Monochamus galloprovincialis*

Después de su emergencia los insectos deben volar hacia pinos sanos donde se alimentarán de ramillos frescos durante 10 a 20 días hasta alcanzar su madurez sexual (Naves, et al., 2006a; Naves et al., 2008; Koutroumpa et al., 2008), etapa a su vez comprendida dentro del período de mayor difusión de los nematodos descrito por Naves et al., (2016b) el cual obtuvo resultados de máxima difusión del nematodo dentro de las 8 primeras semanas después de la emergencia. Alvarez et al., (2015a) en su estudio sobre atrayentes químicos de *Monochamus* describió la limitación que presentan los cebos comerciales para capturar el insecto cuando se encuentra en estado de desarrollo inmaduro. Estos datos junto con la publicación de Sanchez-Husillos (2016) donde detalla la elevada capacidad de dispersión en campo de los adultos en estado inmaduro, va a poner de manifiesto la gravedad que supone la incapacidad de manejo del vector en insectos recién emergidos.

La adopción de medidas de control es extremadamente compleja, tanto por la dificultad para detectar la presencia del nematodo en árboles, como por su dificultad para erradicarlo, junto al complicado manejo de su insecto vector, aunque esto último ofrece una posibilidad más

factible para reducir la difusión de la enfermedad. Así, Yoshimura et al., (1999) aportó un modelo predictivo que muestra cómo la difusión de la enfermedad podría ser controlada por medio de la disminución de la población de sus insectos vectores.

Recientemente se han desarrollado nuevas metodologías para el manejo de los insectos vectores gracias al descubrimiento de una combinación feromonal-cairomonal altamente atractiva junto a unas eficientes trampas, que han posibilitado el desarrollo de técnicas muy eficaces para capturar este insecto (Ibeas et al., 2007; Pajares et al., 2010; Rassati et al., 2012; Álvarez et al., 2015c). De esta manera, se han podido realizar diversos estudios para el conocimiento del comportamiento dispersivo de este insecto vector mediante técnicas de captura-marcado-recaptura (CMR) que está demostrando ser una práctica eficiente para especies del género *Monochamus* (Mas i Gisbert et al., 2013; Sanchez-Husillos et al., 2015; Torres-Vila et al., 2015; Etxebeste et al., 2016) así como para otras especies forestales (Östrand & Anderbrant, 2003).



Figura 4 Trampa multiembudos utilizada en los ensayos

Aplicando la metodología de CMR Sánchez-Husillos et al. (2015), utilizó trampas multiembudos (Fig. 3) cebadas con el atrayente Galloprotect Plus (SEDQ SL, Barcelona), para el estudio del manejo del *Monochamus galloprovincialis* mediante captura masiva en una población con densidad media/alta. Los resultados mostraron que, por ejemplo utilizando 0.82 trampas/ha se lograba capturar al 95 % de la población del vector, por lo que los autores concluyeron que mediante esa técnica es posible realizar un control eficiente de la plaga cuando se trata de densidades medio-altas de población. Sin embargo, se desconoce la

efectividad del método en poblaciones con densidades del vector consideradas bajas, y si existe un posible efecto densodependiente en la efectividad de dicho método de manejo. Por otro lado, Torres-Vila et al., (2015) utilizando también la metodología CMR, pero en una superficie mucho menor de tan solo 4ha y utilizando una densidad de 6,25 trampas por hectárea, obtuvo pobres resultados de eficacia obteniendo un ratio de adultos capturados sobre la población estimada entre 8 y 36% poniendo en duda la validez del método.

Los trabajos publicados por Etxebeste et al.,(2016) y Sanchez-Husillos et al., (2015) ofrecen información muy útil para el cálculo de la distancia adecuada de separación entre trampas para el control de la población del insecto, lo que ayuda en la creación de un buen dispositivo de manejo del vector. Para la optimización de la densidad de trampas necesaria es inevitable conocer con precisión la abundancia poblacional del insecto que se encuentra en las áreas que se quieren proteger. El tamaño de algunas poblaciones debe ser calculado de forma indirecta debido a la dificultad por estimar este parámetro de forma directa, ya sea por sus hábitos xilófagos o por la dificultad para capturar los individuos. La metodología ofrecida por Jolly-Seber para poblaciones abiertas se ha conocido efectiva en casos anteriores de estimación de abundancias poblacionales para *Monochamus* spp (Shibata, 1981, 1985; Sanchez-Husillos et al., 2015).

3. Objetivos

Con el fin de avanzar en el desarrollo de métodos de manejo de la enfermedad del marchitamiento del pino, causada por el nematodo del pino *Bursapelenchus xylophilus*, los objetivos específicos de este estudio son:

1. Elaborar modelos de parametrización espacial capaces de estimar la abundancia poblacional de *M. galloprovincialis* cuando se encuentra en densidades poblacionales bajas
2. Evaluar la eficacia de la captura masiva en densidades bajas del insecto vector
3. Optimizar la densidad de trampas para el manejo eficiente del insecto vector

4. Metodología

4.1. Área de estudio

La zona de estudio consistió en una masa regular repoblada continua de *Pinus sylvestris*, L. de 60 años de edad ubicada en Pino del Rio (Palencia; ETRS89: 30T, X 355174m, Y 4722595m). En esta zona se realizaron dos ensayos simultáneos, que comprendieron 209ha. El sitio de estudio fue subdividido pues en dos zonas similares contiguas: una zona denominada “área de estimación de abundancia poblacional” que abarcaba 40ha y otra zona donde se llevó a cabo el ensayo de captura masiva “Zona de captura masiva” formado por 169ha (Ver plano de localización en Anejo 1). Ambos ensayos, captura masiva y estimación poblacional, fueron llevados a cabo simultáneamente durante todo el período de vuelo del insecto comprendido entre el 13 de Junio y el 22 de Octubre de 2014.



Figura 5: Masa de *Pinus sylvestris* donde se realizaron los ensayos

4.2. Estimación de abundancia poblacional

Para la estimación de la abundancia poblacional nativa de *Monochamus galloprovincialis* en la superficie de estudio se realizó un ensayo de captura-marcado-recaptura. Para este estudio se colocaron en monte 15 trampas multiembudos con el cebo comercial dispuestas en

una cuadrícula regular, con una distancia de 150m entre trampas (0,44 trampas/ha, Fig. 7). Las trampas fueron revisadas semanalmente durante todo el periodo estudio y para favorecer la supervivencia de los adultos capturados se aportaron ramillos frescos de pino en el bote colector, renovados periódicamente. En cada revisión, todos los insectos capturados que, se encontraban aún vivos eran identificados mediante un rotulador indeleble y sexados, para ser nuevamente liberados entre la trampa donde habían sido capturados y la siguiente trampa más próxima.

Además, para validar el método se liberaron como control 217 insectos previamente identificados (95 hembras y 122 machos). Los insectos utilizados como control fueron obtenidos de trozas de *Pinus sylvestris* L colonizadas de forma natural en Tabuyo del Monte (Le), que fueron posteriormente retiradas del monte y llevadas a un jaula de emergencia en exteriores. Los insectos recién emergidos se llevaron laboratorio se procedió a su identificación, sexado y medición (tamaño y peso). Estos insectos fueron posteriormente liberados antes de los dos días desde su emergencia, previamente identificados con etiquetas para abejas. Estos insectos control se liberaron en puntos aleatorios distribuidos por toda la masa 10 insectos por cada punto aleatorio en cada parcela de ensayo de la zona de captura masiva y otros 127 en puntos distribuidos por la zona de estimación poblacional (ver mapa 1 del Anejo 1).



Figura 6 *Monochamus galloprovincialis* mostrando la etiqueta identificativa

4.3. Evaluación de la eficacia de la captura masiva

Para evaluar la eficacia del método de captura masiva se seleccionaron tres densidades de trampeo (tratamientos), teniendo en cuenta el estudio previo sobre densidades medias/altas:

0,11 trampa/ha; 0,44 trampas/ha y 1 trampa/ha. Cada tratamiento fue asignado a una parcela cuadrada de 900m² en un diseño de bloques completos al azar con 3 repeticiones (Fig 7). Por tanto, se utilizaron 9 parcelas (3 bloques de 3 parcelas cada uno). La parcela con tratamiento 0,11 trampa/ha contenía 1 trampa en su centro, la de 0,44 trampas/ha tenía desplegadas 4 y la de 1 trampa/ha contenía 9 trapas regularmente espaciadas. Dentro de cada bloque las parcelas tenían distribuidas las trampas de manera de manera que dejaran un buffer de 50m entre parcelas y los bloques estuvieron separados un mínimo de 60m. Todo el ensayo de captura masiva ocupó una superficie de 169ha.



Figura 7. Esquema de la zona de estimación de densidad y de las zonas de estudio captura masiva con la diferenciación por colores de las parcelas según densidades.

Los insectos capturados en las trampas fueron sexados y retirados del ensayo, mientras que los insectos control, previamente liberados fueron vueltos a liberar entre dos trampas consecutivas, si bien su captura sólo fue tomada en cuenta una vez en el conteo de adultos capturados en este ensayo (su re-liberación tenía por objetivo obtener información para el ensayo de estimación de la abundancia poblacional)

4.4. Métodos estadísticos

Los análisis de demografía fueron llevados a cabo mediante la librería RMark que consiste en una colección de funciones que pueden ser usadas dentro del paquete SECR (Spatially Explicit Capture and Recapture). Para la estimación de la abundancia poblacional se asumió que la población era de tipo abierto, es decir, nacimientos, muertes, inmigraciones y emigraciones ocurrieron durante el tiempo del ensayo, por lo que se utilizó para los modelos la metodología de Jolly-Seber bajo la parametrización de POPAN.

SECR opera con los datos obtenidos de captura y recaptura recopilados mediante una serie de "detectores", que aquí son las trampas de captura en vivo, donde se capturan los insectos marcados de manera única. Con base a las capturas obtenidas en cada evento, se construyó una historia individual de captura-recaptura. Este programa utiliza las ubicaciones donde se detecta cada animal para ajustarse a un modelo espacial del proceso de detección y, por lo tanto, para obtener estimaciones de densidad de población sin sesgo por efectos de borde y de detección incompleta. Los modelos obtenidos se ajustaron maximizando la máxima probabilidad de detección en cada detector en función de la distancia.

Siguiendo la metodología de Jolly-Seber bajo la parametrización POPAN se pueden estimar tres grupos de parámetros primarios que conducen a tres parámetros obtenidos: nacimientos (B_i), tamaño de la población (N_i) en el intervalo de muestreo y el tamaño de la población total (superpoblación, \check{N}_{Tot}). Los parámetros principales representan: p_i , la probabilidad de captura en la ocasión i ; ϕ_i , la probabilidad de que un insecto sobreviva entre las ocasiones i e $i + 1$; y b_i , la probabilidad de que un insecto de la superpoblación entre en la población entre las ocasiones i e $i + 1$ (también conocida como $pent_i$, probabilidad de entrada). Esos parámetros pueden ser modelados como constantes (\cdot), linealmente dependientes del tiempo (T), diferir entre sexos (Sex), o tener interacciones aditivas o multiplicativas (ej. $TxSex$).

Se definió una gama de modelos para cada parámetro primario y luego se ejecutó. Se calculó así la probabilidad de supervivencia (ϕ) y la probabilidad de recaptura (ρ) para machos y hembras. Se utilizaron todos los modelos posibles que incluyen la variabilidad del tiempo y grupo poblacional, sobre la probabilidad de captura y de supervivencia. Estos modelos incluyen todas las posibles variaciones para cada grupo. Los mejores modelos fueron seleccionados utilizando el valor del criterio de información de quasi-Akaike (AICc) (Lebreton et al., 1992). Todos los modelos empleados asumen igual probabilidad de captura entre individuos marcados y no marcados, homogeneidad de supervivencia, marcado correcto de los individuos y liberación inmediata después del muestreo (Amstrup et al., 2005). Además, se ajustó un segundo rango de modelos en el caso de los insectos liberados de laboratorio, pero fijando el parámetro b_i a cero, es decir, considerando que no hay nuevos individuos entrando en la superpoblación durante el experimento.

Para poder evaluar el efecto de las capturas sobre la población, el número total de individuos de la población, \check{N}_{Tot} , tuvo que ser transformado a unidades de densidad (D), lo que requiere fijar el área en el que se encuentran los insectos. De forma conservadora, se utilizó como área la superficie total muestreada en el ensayo. Para el análisis de la varianza, las capturas acumuladas por trampa y el factor bloque fueron ajustados a un Modelo lineal generalizado (GLM) con un error de distribución de Poisson. Después se representaron en un histograma las capturas acumuladas por cada densidad de trampas, y las capturas medias por trampa en cada tratamiento. En ambos casos las medias fueron separadas utilizando un test de Tukey HSD con ajuste de Bonferroni.

La regresión entre las densidades de trampeo y la proporciones de extracción logradas por la captura masiva se ajustó a los supuestos de GLM y una distribución de errores cuasi-binomial para tener en cuenta la sobredispersión. Las densidades de trampa en las que se podrían eliminar el 50% y el 95% de la población se calcularon en el GLM ajustado.

Todos los análisis y cálculos fueron llevados a cabo utilizando el lenguaje de programación de R (Team & R Development Core Team, 2014).

5. Resultados

5.1. Estimación de la abundancia poblacional

Solo 14 individuos fueron capturados en la zona de estimación de la abundancia poblacional, representando el 11,7% de los insectos liberados en esta zona (9 hembras y 5 machos), mientras que 47 individuos se recapturaron en un total de 53 capturas en la zona de captura masiva (52,2%). De esta manera se obtuvo que las recapturas en la zona de estimación de la abundancia poblacional no fueron suficientes para poder estimar un modelo con un error admisible (14 capturas en total), por lo que hubo que utilizar todas las recapturas obtenidas computando toda la superficie de estudio (incluyendo la zona del estudio de captura masiva) y todos los insectos control liberados. Un total de 60 insectos control (28 hembras y 32 machos; el 27,3% de los insectos liberados) fueron capturados al menos 1 vez, de los cuales 7 se recapturaron al menos una segunda vez (67 capturas totales).

El mejor ajuste de los modelos de Jolly-Seber para los insectos liberados de laboratorio mostró que la probabilidad de supervivencia (ϕ) era dependiente del tiempo, mientras que la probabilidad de captura (π) fue dependiente de la interacción sexo y tiempo, ambas variables ajustadas con una probabilidad de entrada (b) fija a cero. Por otro lado, en los insectos capturados nativos la probabilidad de supervivencia dependió de la interacción sexo y tiempo, mientras que la probabilidad de entrada estuvo solo condicionada por el tiempo (Tabla 1).

Aunque el tamaño medio de población obtenido para los insectos control (72) sobreestima el valor real (60), éste se encuentra dentro del rango del promedio +/- el error

estándar: 33 ± 14 hembras y 39 ± 14 machos, intervalos que comprenden los 34 y 56 insectos liberados respectivamente, y por lo tanto la precisión de las estimaciones derivadas del ensayo fueron consideradas correctas (Tabla 1)

Tabla 1 Resumen de los mejores ajustes en los modelos (parametrización POPAN) y estimaciones de abundancias poblacionales en ambos casos, insectos control liberados de laboratorio e insectos nativos. Las estimaciones de \check{N}_{TOT} proceden de los parámetros promedio ponderado de los mejores modelos ($\Delta AICc < 10$)

Fuente de insectos	Liberados	Mejor modelo	No. P.	AICc	$(\check{N}_{TOT} \pm SE)$		
					Hembras	Machos	Total
Laboratorio	(34♀+56♂)	$\text{Phi}(\sim \text{Time})\text{p}(\sim \text{Time} * \text{Sex})\text{pent}(\sim 1)\text{N}(\sim 1)$	7	156,1	$33 \pm 14,06$	$39 \pm 14,06$	72
Nativos		$\text{Phi}(\sim \text{Time} * \text{Sex})\text{p}(\sim 1)\text{pent}(\sim \text{Time})\text{N}(\sim 1)$	8	1047,6	$1152,961 \pm 12$	$1134,72 \pm 112,5$	2287

Con la ponderación de los resultados de los mejores modelos se obtuvo una superpoblación (\check{N}_{Tot}) de 2287 individuos nativos en la zona de estudio, resultando una densidad de 10.94 ind/ha.

En la figura 8 se puede apreciar cómo se distribuye temporalmente y por sexos la población local de *M. galloprovincialis* a lo largo del período de vuelo del adulto en la zona de Pino del Río. Se puede observar que aunque machos y hembras emergen en la misma proporción, sus curvas pronto se separan, manteniéndose hasta el final siempre una mayor proporción de machos sobre las hembras. Ambos sexos parecen alcanzar su máximo de abundancia poblacional local en la segunda semana de agosto, coincidiendo a partir de esta fecha en una caída de abundancia poblacional hasta noviembre, pero siempre con un menor número de hembras que de machos.

La media de las distancia máximas de vuelo estimada según los modelos obtenidos arroja un resultado de 348,51m, siendo esta muy cercana a la distancia media obtenida entre consecutivas localizaciones de las capturas (309,78m).

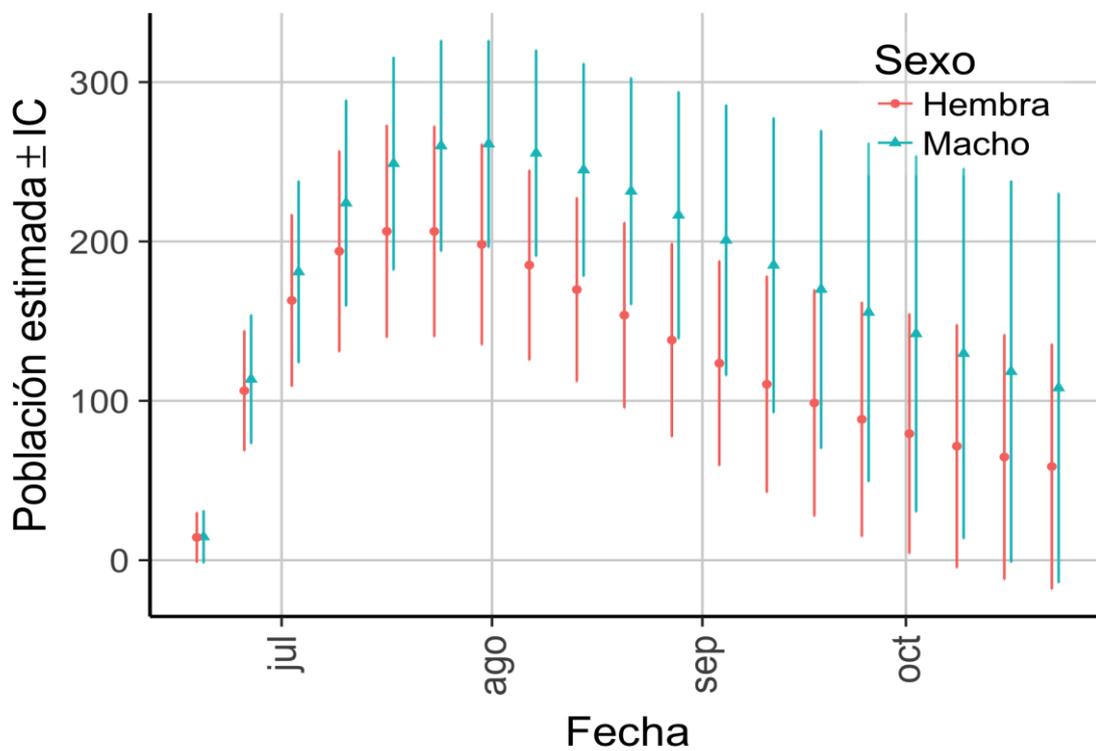


Figura 8: Estimaciones de abundancias semanales poblacionales por sexos de *Monochamus galloprovincialis* en Pino del Rio (Palencia, 2014)

5.2. Evaluación de la eficacia de la captura masiva

El trapeo en el ensayo de captura masiva capturó un total de, 512 individuos de *M.galloprovincialis* nativos (235♀, 277♂), que fueron retirados de la zona del ensayo a lo largo del período de muestreo. Por densidades de trapeo (Fig 9), el tratamiento con la menor densidad utilizada, 0.11 trampa/ha, obtuvo la mayor media de capturas por trampa, con 19 insectos por trampa, que junto con el tratamiento con densidad de 0,44 trampa/ha (15,31 ind/trampa), obtuvieron resultados superiores significativamente respecto del tratamiento con la densidad de 1 trampa/ha (9,41 individuos/trampa).

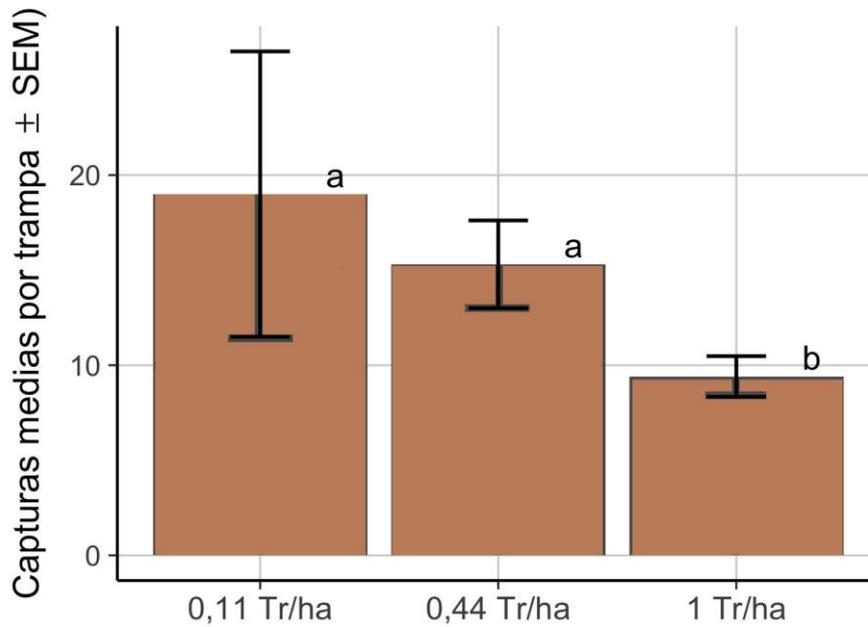


Figura 9: Capturas medias de *M. galloprovincialis* por trampa en cada densidad de trampas Pino del Rio (Palencia, 2014). Barras con la misma letra no presentan diferencias significativas ($P < 0.05$).

Por el contrario, si observamos las capturas obtenidas por hectárea por los distintos tratamientos, se obtuvieron los resultados opuestos (Fig. 10): las mayores capturas fueron obtenidas por la densidad de trampeo mayor (9,41 capturas /ha), seguida de la densidad media (7,37 capturas /ha), no diferentes entre sí, pero significativamente mayores que las obtenidas por la densidad de trampeo menor (2,11 capturas /ha).

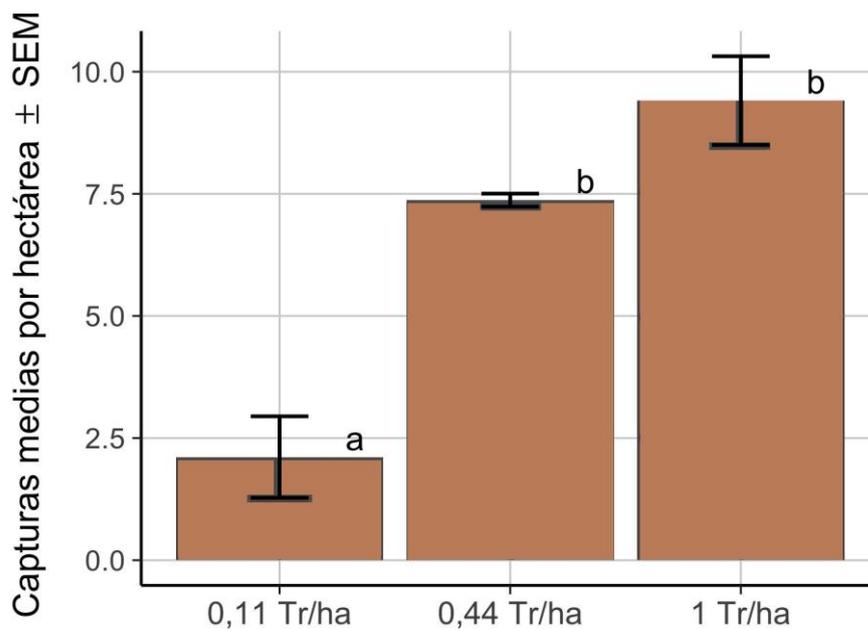


Figura 10: Capturas medias de *M. galloprovincialis* por hectárea Pino del Rio (Palencia, 2014). Barras con la misma letra no tienen diferencias significativas ($P < 0.05$).

Una vez que la estimación de la abundancia pudo ser transformada a una medida de densidad, se pudo evaluar la proporción de la población extraída por el trampeo. Las densidades de trampeo evaluadas, 0.11, 0.44 y 1 trampa/ha extrajeron por tanto el 19.3, 67.4 y 85% de la población de *M.galloprovincialis* respectivamente. Con estos datos se pudo calcular una curva logística en la que se relaciona la densidad de trampeo con la proporción de población retirada por éste (Fig.11). Se aprecia cómo a medida que se aumenta la intensidad de trampeo se obtiene un mayor porcentaje de extracción de la población local, pudiéndose retirar prácticamente el 100% de la población con una densidad de 1,8 trampas por hectárea.

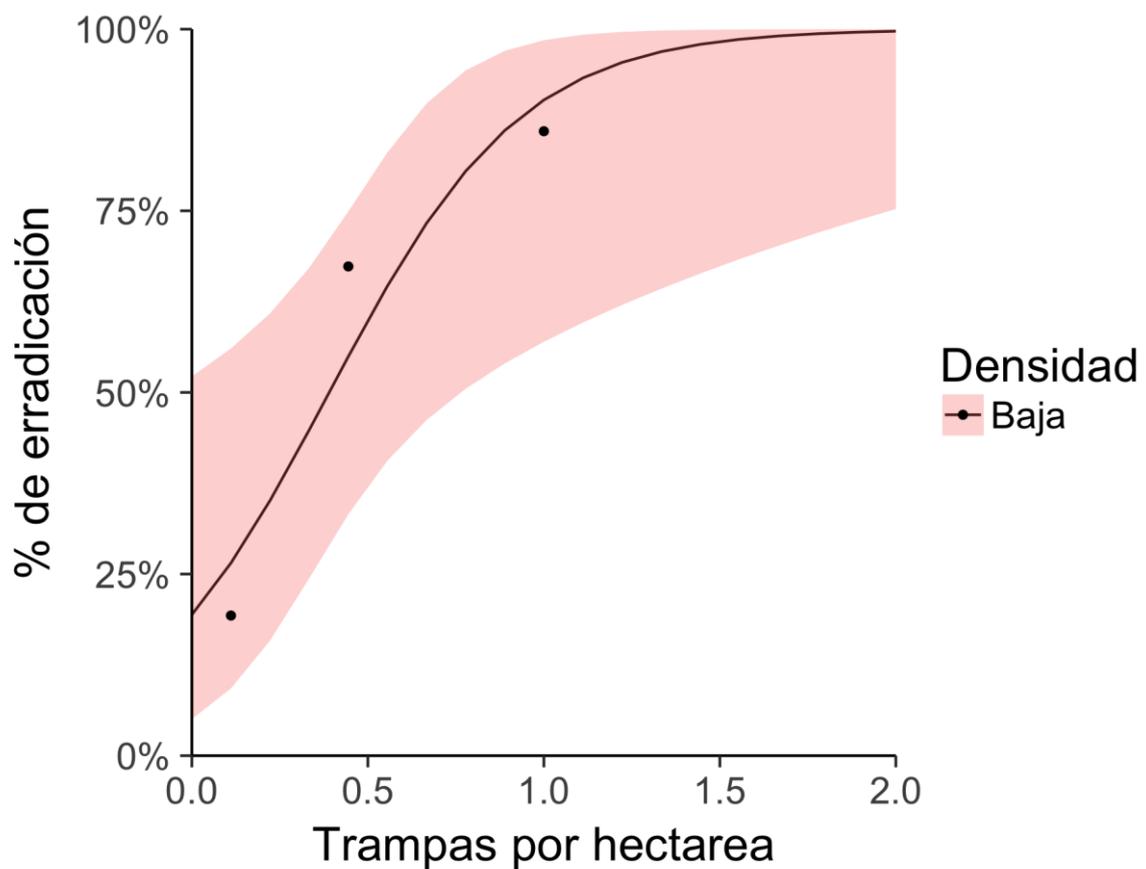


Figura 11: Regresión logística ajustada con los porcentajes de población capturada de *M. galloprovincialis* para las diferentes intensidades de trampeo en la zona de captura masiva del ensayo en Pino del Rio (Palencia, 2014)

6. Discusión

La aplicación del método de captura-marcado-recaptura sobre *M.galloprovincialis*, apoyado en un eficiente sistema de captura (cebos, trampas), permite evaluar una técnica de control directo del insecto vector como es la captura masiva. Además, los eficientes dispositivos de captura desarrollados son de gran utilidad para otros métodos de manejo como la detención temprana de la enfermedad, o la transmisión de entomopatógenos mediante técnicas de auto-diseminación (Alvarez et al. 2015b). Complementariamente, estos mismos dispositivos de trampeo han resultados efectivos aplicado a otras especies de *Monochamus* en Europa y Norteamérica (Bentz et al., 2018), favoreciendo la posibilidad de introducción de estas técnicas en otras zonas de potenciales nuevas infestaciones. En cambio, la imposibilidad de captura de insectos en estado inmaduro (Álvarez et al., 2015 b) va a suponer un limitante a estos dispositivos que requieren de una mayor inversión en su desarrollo, ya que va a suponer una significativa limitación para el manejo del vector.

Estudios previos sobre la estimación de abundancias poblacionales de *M. galloprovincialis* ya estimaron modelos válidos para poblaciones locales consideradas como de densidad media/alta en zonas no infestadas (82 ind/ha), mediante modelos de Jolly-Seber (Sanchez-Husillos et al., 2015). En nuestro estudio ahora, se ha obtenido un resultado también estadísticamente válido utilizando la misma metodología, pero esta vez con poblaciones consideradas como baja densidad (10,94 individuos por hectárea). En Japón, Shibata (1985) en un estudio con la misma metodología de Jolly-Seber sobre la relación entre *Monochamus alternatus* Hope y la enfermedad del marchitamiento del pino en zonas infestadas, obtuvo densidades poblacionales tan altas como 1176 individuos por hectárea. Todos estos resultados confirman que la modelización de Jolly-Seber con Popan es una metodología válida para estimar densidades poblacionales de *Monochamus*. Los resultados estimados fueron muy consistentes con los reales, al igual que lo encontrado para otros cerambícidos saproxílicos (Tikkamäki & Komonen, 2011).

La legislación de la Unión Europea europea establece las medidas de erradicación en el caso de que se produzca la introducción de *B. xilophilus* en zonas nuevas. Entre estas medidas, destaca la tala de especies de coníferas susceptibles alrededor del árbol infectado, en un radio que ha ido cambiando durante los últimos 10 años, desde los 3 Km. para el primer foco en España (Villanueva de la Sierra, Cáceres) hasta los actuales 50m (European Organization, 2018) a partir de los resultados encontrados en diversos estudios sobre la capacidad de dispersión del vector. En bioensayos de laboratorio con molinos de vuelo se llegaron a alcanzar distancias de vuelo teóricas de 16km de media a lo largo de la vida del insecto (David et al., 2014). Etexebeste et al., (2016) por su parte modelizaron las distancia de dispersión en campo con técnicas de captura-marcado-recaptura, obteniendo unas distancias máximas de dispersión entre 2344-3459m para el 99% de los insectos, mientras que unos pocos alcanzarían incluso

los 5000m. Simultáneamente en otro estudio con la misma metodología, se obtuvieron resultados en los que un individuo alcanzó los 13,6 km de dispersión, concluyendo además que la distancia de dispersión del vector parece ser favorecida por la fragmentación del hábitat, tal y como se obtendría tras una corta de erradicación a gran escala (Gallego et al., 2012). Gracias a estos avances sobre el conocimiento de la capacidad de dispersión del insecto, las autoridades de la UE han revisado la utilidad y tamaño de las áreas de las cortas de erradicación como instrumento para la contención de la enfermedad. Resulta pues necesario desarrollar nuevas alternativas que complementen los esfuerzos de erradicación de la enfermedad en las zonas introducidas, como la captura masiva.

El manejo de especies invasoras tales como el NMP requiere una rápida detección e intervención, pero también la optimización de los esfuerzos de trampeo. Por tanto, medidas adicionales como un trampeo intensivo son necesarias para prevenir que los vectores escapen de la zona demarcada. Sin embargo, si los recursos son limitados, las medidas de manejo deberán concentrarse en áreas donde se encuentre la mayor población de vectores y por tanto donde se presentan los mayores riesgos de difusión de NMP.

Los resultados de extracción de población obtenidos en la población de densidad baja de Pino del Río son coherentes con los encontrados por Sanchez-Husillos et al., (2015) para una población de densidad media (82 insectos/ha). Si observamos la Figura 10 vemos que se produce un aumento de las capturas por hectárea según aumenta la intensidad de trampeo, pero este aumento no es lineal, sino logístico, de forma que si examinamos el modelo logístico ajustado correspondiente (Fig. 11), vemos que una densidad de trampeo de 1,8 trampa/ha eliminaría aproximadamente el 100% de una población con densidad bajas, mientras que el despliegue de solo la mitad de las trampas (0,82 trampas/ha) resultaría en una reducción del 90%. Sanchez-Husillos et al.,(2015) obtuvo valores similares para una población en densidad media/alta: 100% de erradicación poblacional para una intensidad de trampeo de 1.8 trampas/ha y 95% de extracción con una intensidad de 0,82 trampas/ha.

La captura de insectos en trampas cebadas con el atrayente feromonal-cairomonal, junto con las trampas modificadas para el mantenimiento con vida de los insectos capturados no sólo permiten la extracción parcial de la población del vector, sino que también permiten a su vez la detección temprana de la enfermedad mediante el análisis de insectos capturados, aumentando así la utilidad de las técnicas de captura masiva, en zonas de alto riesgo o de reciente introducción del nematodo.

Al ser la población de *M. galloprovincialis* de tipo abierto, las estimaciones de abundancia debieron ser calculadas semanalmente y, por tanto, los porcentajes de recaptura obtenidos fueron diferentes a lo largo del período muestreado. Los modelos obtenidos con SECR permiten también la estimación de los picos de abundancias poblacionales y los momentos de menor población (Fig. 8), lo que aporta una información valiosa en apoyo a la planificación del manejo del insecto, tal como los períodos donde se podrían intensificar los muestreos o viceversa. Para optimizar la intensidad de muestreo respecto a estos períodos,

sería muy útil poder conocer si existe una relación densodependiente de las capturas con la abundancia poblacional. Se ha indicado que la eficiencia de la captura masiva en programas de erradicación de otras especies invasoras puede verse favorecida de producirse un efecto de densodependencia inversa, ya que se obtienen mejores resultados en condiciones de baja-media presión de plaga (Barclay & Li, 1991).

En situaciones de fuerte población resulta aconsejable la aplicación conjunta de otros métodos de control. Así, se podría, en zonas donde hay baja población, ya sea de forma natural u obtenida mediante manejo de la densidad por extracción de la población, utilizar el saneamiento de los potenciales hospedantes como método de contención de la enfermedad, lo que ya ha sido evidenciado en poblaciones de especies invasoras donde los modelos muestran que una baja densidad de la población es mucho más fácil de erradicar (El-Sayed et al., 2006). Sin embargo, en ausencia del nematodo *M. galloprovincialis* es una especie no perjudicial para nuestros ecosistemas forestales, ya que actúa como un descomponedor primario ecológicamente necesario (Vives, 2000), por lo que el mantenimiento de bajas poblaciones para reducir el ratio de éxito de infestación de la enfermedad sería aconsejable sólo en zonas infectadas, demarcadas o de alto riesgo de infección. Nuestros resultados de captura masiva con densidades poblacionales bajas junto con los obtenidos por Sanchez-Husillos et al., (2015) con densidades poblacionales medias-altas indican que no existe un aparente efecto densodependiente en el éxito de las capturas. No obstante, se lograron mayores porcentajes de éxito utilizando la misma intensidad de trampeo cuando la densidad del vector fue mayor, si bien estas diferencias fueron reducidas (90-100% de extracción del vector utilizando intensidades de muestreo próximas a 0,8 trampas por hectárea en ambos estudios).

Estos resultados ponen de manifiesto la posibilidad de utilizar estas metodologías tanto para realizar estimaciones de abundancias poblacionales con las que poder evaluar zonas de mayor potencial de riesgo, como poder elegir la densidad optima de trampeo en función de los resultados que se estimen necesarios obtener. Ambos resultados contribuyen de forma notoria al control de la enfermedad por medio del manejo de su insecto vector.

7. Conclusiones

1. La técnica de Mercado-Captura-Recaptura utilizando modelización de Jolly-Sober resultó muy válida para estimación de la abundancia poblacional de *Monochamus galloprovincialis* en bajas densidades poblacionales. Esta metodología permitió estimar la población local del vector en 10,94 insectos/ha.
2. La captura masiva de *M galloprovincialis* en trampas multiembudos cebadas con el atrayente feromonal-cairomonal estándar resultó un método efectivo para reducir la población de este insecto vector en una población a baja densidad. Las intensidades de trapeo evaluadas, 0.11, 0.44 y 1 trampa/ha lograron un porcentaje de extracción de la población del 19.3%, 67.4% y 85% respectivamente.
3. La curva logística ajustada entre la intensidad de trapeo y la extracción de la población permite determinar a los gestores fitosanitarios cuál es la extracción esperable para un determinado esfuerzo de trapeo. Así, el 100% de extracción se obtendría con un intensidad de 1,8 trampas/ha, mientras que la erradicación del 50% requeriría sólo 0,4/ha.

8. Agradecimientos.

Este estudio fue financiado por el proyecto “Manejo integrado de *Monochamus galloprovincialis*, vector del nematodo del pino *Bursaphelenchus xylophilus*”. RTA 2004-00042-C02-02. Programa Nacional de I+D+i 2014, Recursos y Tecnologías Agrarias. Ministerio de Economía y Competitividad mediante un convenio de colaboración del Centro de Sanidad Forestal de Calabazanos de la Junta de Castilla y León y el iuFOR.

Y para hacer posible este proyecto han trabajado en él Iñaki Etxebeste Larrañaga, mente pensante infinita, y Ana Ponce Díaz incansable compañera de campo y laboratorio, pero también agradecer a Julio Diez que nos ha facilitado terminar el trabajo en los plazos propuestos. Mi máximo e infinito agradecimiento siempre le corresponderá a Juan A. Pajares, que incluso en los momentos más complicados sigue teniendo la fuerza y valentía de tirar de todos hacia delante y culminar cualquier proyecto que nos proponamos.

9. Bibliografía

- Akbulut S & Stamps W (2012) Insect vectors of the pine- wood nematode: a review of the biology and ecology of *Monochamus* species. *Forest Pathol* 42:89–99.
- Álvarez G, Ammagarahalli B, Hall DR, Pajares JA & Gemeno C (2015a) Smoke, pheromone and kairomone olfactory receptor neurons in males and females of the pine sawyer *Monochamus galloprovincialis* (Olivier) (Coleoptera: Cerambycidae). *Journal of Insect Physiology* 82:46–55.
- Alvarez G, Fernández-Bravo M, Pajares Alonso JA & Quesada-Moraga E (2015b) Potential of native *Beauveria pseudobassiana* strain for biological control of Pine Wood Nematode vector *Monochamus galloprovincialis*. *Journal of Invertebrate Pathology* 132:48–56.
- Álvarez G, Gallego D, Hall DR, Jactel H & Pajares Alonso JA (2015c) Combining pheromone and kairomones for effective trapping of the Pine Sawyer Beetle *Monochamus galloprovincialis*. *Journal of Applied Entomology* 140:58–71.
- Barclay HJ & Li C (1991) Combining methods of pest control: Minimizing cost during the control program. *Theoretical Population Biology* 40:105–123.
- Bentz B, Hughes C, Stephen F, Drumont A, Zhao B, Sweeney J, Webster RP, Boone CK, Silk P, Maclauchlan L, Casteels H, Grégoire J-C & Berkvens N (2018) *Monochamus* species from different continents can be effectively detected with the same trapping protocol. *Journal of Pest Science* 92:3–11.
- David G, Giffard B, Piou D & Jactel H (2014) Dispersal capacity of *Monochamus galloprovincialis*, the European vector of the pine wood nematode, on flight mills. *Journal of Applied Entomology* 138:566–576.
- El-Sayed AM, Suckling DM, Wearing CH & Byers JA (2006) Potential of mass trapping for long-term pest management and eradication of invasive species. *Journal of economic entomology* 99:1550–1564.
- Etxebeste I, Sanchez-Husillos E, Álvarez G, Mas i Gisbert H & Pajares J (2016) Dispersal of *Monochamus galloprovincialis* (Col.: Cerambycidae) as recorded by mark–release–recapture using pheromone traps. *Journal of Applied Entomology* 140:485–499.
- European Comision (2012) Commission implementing decision of 26 September 2012 on emergency measures to prevent the spread within the Union of *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner et Buhner) Nickle et al. (the pine wood nematode). , L. Official Journal of the European Union. pp 42–52.
- European Organization (2018) PM 9/1 (6) *Bursaphelenchus xylophilus* and its vectors: procedures

for official control. EPPO Bulletin 48:503–515.

- Ibeas F, Gallego D, Díez JJ & Pajares Alonso JA (2007) An operative kairomonal lure for managing pine sawyer beetle *Monochamus galloprovincialis* (Coleoptera: Cerymbcidae). *Journal of Applied Entomology* 131:13–20.
- Koutroumpa FA, Vincent B, Roux-Morabito G, Martin C & Lieutier F (2008) Fecundity and larval development of *Monochamus galloprovincialis* (Coleoptera Cerambycidae) in experimental breeding. *Annals of Forest Science* 65:707–707.
- Mas i Gisbert H (2015) Fenología y capacidad de dispersión de *Monochamus galloprovincialis* (Olivier 1795) en la península ibérica.
- Mas i Gisbert H, Hernández, Villaroya, Peña S, Pérez-Laorga E, González Rosa E, Ortiz A, Lencina J, Rovira E, Marco M, Pérez V, Gil M, Sánchez-García F, Bordón P, Pastor C, Biel MJ, Montagud L & Gallego D (2013) Comportamiento de dispersión y capacidad de vuelo a larga distancia de *Monochamus galloprovincialis* (Olivier 1795). p In: 6º Congreso Forestal Español. Ed. by SECF, Gas.
- Mota M, Braasch H, Bravo M, Penas AC, Burgermeister W, Metge K & Sousa E (1999) First report of *Bursaphelenchus xylophilus* in Portugal and in Europe. *Nematology* 1:727–734.
- Naves PM, Camacho S, de Sousa EM & Quartau JA (2007) Transmission of the pine wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* through feeding activity of *Monochamus galloprovincialis* (Col., Cerambycidae). *Journal of Applied Entomology* 131:21–25.
- Naves P, de Sousa E & Quartau JA (2006a) Reproductive traits of *Monochamus galloprovincialis* (Coleoptera: Cerambycidae) under laboratory conditions. *Bulletin of entomological research* 96:289–294.
- Naves P, De Sousa EM & Quartau JA (2006b) Feeding and oviposition preferences of *Monochamus galloprovincialis* for certain conifers under laboratory conditions. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 120:99–104.
- Naves P, Sousa E, Rodrigues JM & Auxiliar I (2008) Biology of *Monochamus galloprovincialis* (Coleoptera, Cerambycidae) in the Pine Wilt Disease Affected Zone, Southern Portugal. *Silva Lusitana* 16:133–148.
- Östrand F & Anderbrant O (2003) From where are insects recruited? A new model to interpret catches of attractive traps. *Agricultural and Forest Entomology* 5:163–171.
- Pajares Alonso JA, Álvarez G, Ibeas F, Gallego D, Hall DR & Farman DI (2010) Identification and field activity of a male-produced aggregation pheromone in the pine sawyer beetle,

Monochamus galloprovincialis. *Journal of Chemical Ecology* 36:570–583.

- Pérez G, J. Díez F, Ibeas JA & Pajares Alonso JA (2008) Assessing Pine Wilt Disease Risk Under a Climate Change Scenario in Northwestern Spain – Bookmetrix Analysis. *Managing Forest Ecosystems: The Challenge of Climate Change* 17:269–282.
- Rassati D, Toffolo EP, Battisti A & Faccoli M (2012) Monitoring of the pine sawyer beetle *Monochamus galloprovincialis* by pheromone traps in Italy. *Phytoparasitica* 40:329–336.
- Robinet C, Roques A, Pan H, Fang G, Ye J, Zhang Y & Sun J (2009) Role of human-mediated dispersal in the spread of the pinewood nematode in China. *PLoS ONE* 4:e4646.
- Sanchez-Husillos E, Etxebeste I & Pajares J (2015) Effectiveness of mass trapping in the reduction of *Monochamus galloprovincialis* Olivier (Col.: Cerambycidae) populations. *Journal of Applied Entomology* 139:747–758.
- Sanchez-Husillos E, Etxebeste I & Pajares J (2016) Physiological development and dispersal ability of newly emerged *Monochamus galloprovincialis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 161:141–151.
- Shibata E (1981) Seasonal Fluctuation and Spatial Pattern of the Adult Population of the Japanese Pine Sawyer, *Monochamus alternatus*. *Japanese Society of Applied Entomology and Zoology* 309:305–309.
- Shibata E (1985) Seasonal Fluctuation of the Pine Wood Nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* (STEINER et BUHRER) NICKLE (Nematoda : Aphelenchoididae), Transmitted to Pine by the Japanese Pine Sawyer, *Monochamus alternatus* HOPE (Coleoptera : Cerambycidae). *Applied Entomology and Zoology* 20:241–245.
- Soliman T, Mourits MCM, van der Werf W, Hengeveld GM, Robinet C & Lansink AGJMO (2012) Framework for Modelling Economic Impacts of Invasive Species, Applied to Pine Wood Nematode in Europe. *PLoS ONE* 7:1–12.
- Sousa E, Bravo M, Pires J & Naves P (2001) *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda; aphelenchoididae) associated with *Monochamus galloprovincialis* (Coleoptera; Cerambycidae) in Portugal. *Nematology* 3:89–91.
- Team RDC & R Development Core Team R (2010) R: A language and environment for statistical computing (RDC Team, Ed. by). R Foundation for Statistical Computing.
- Tikkamäki T & Komonen A (2011) Estimating population characteristics of two saproxylic beetles: A mark-recapture approach. *Journal of Insect Conservation* 15:401–408.
- Torres-Vila LM, Zugasti C, De-Juan JM, Oliva MJ, Montero C, Mendiola FJ, Conejo Y, Sánchez Á, Fernández F, Ponce F & Espárrago G (2015) Mark-recapture of *Monochamus galloprovincialis* with semiochemical-baited traps: Population density, attraction distance,

flight behaviour and mass trapping efficiency. *Forestry* 88:224–236.

Vives E (2000) *Insecta Coleoptera cerambycidae*. Fauna Ibérica. 2nd edn. CSIC (Ed.), Fauna Ibérica. Museo Nacional de ciencias Naturales, Madrid, p vol 12.

Wingfield MJ & Blanchette R (1983) The pine-wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, in Minnesota and Wisconsin: insect associates and transmission studies. *Canadian Journal of Forest Research* 13:1068–1076.

Yano S (1913) Investigation on pine death in Nagasaki prefecture (in Japanese). *Sanrin-Kouhou* 4:1–14.

Yoshimura A, Kawasaki K, Takasu F, Togashi K, Futai K & Shigesada N (1999) Modeling the spread of pine wilt disease caused by nematodes with pine sawyers as vector. *Ecology* 80:1691–1702.

10. Anejos

TFM Montes

Plano de localización

Estela Sánchez Husillos

