



---

**Universidad de Valladolid**  
**Campus de Palencia**

**ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR  
DE INGENIERÍAS AGRARIAS**

**Máster en Investigación en Conservación y  
Uso Sostenible de Sistemas Forestales**

**Determinación del Daño por *Leptoglossus  
occidentalis* Heidemann (Heteroptera: Coreidae)  
en Piñas de *Pinus pinea* L.**

Alumno/a: Laura Ponce Herrero

Tutor/a: Juan A. Pajares Alonso

Julio de 2017

## Resumen

*L. occidentalis* es una plaga nativa del oeste de Norte América que se alimenta de piñas de coníferas. Desde su detección en la región mediterránea se ha registrado una disminución en la producción y el rendimiento de la cosecha de piñas de *P. pinea*, aunque la ausencia de signos o síntomas específicos en las piñas no permite relacionar al chinche con dicha reducción. Para relacionar estos eventos con *L. occidentalis* se realizó un estudio en piñas de *P. pinea* de 1<sup>er</sup>, 2<sup>o</sup> y 3<sup>er</sup> año durante 2015 y 2016 en un Banco Clonal (Tordesillas; VA). Los tratamientos consistieron en el embolsamiento temporal de dos hembras o dos ninfas en piñas de diferentes edades a lo largo de su estación de desarrollo. La evolución de las piñas se registró semanalmente hasta el mes de octubre. Las piñas de 3<sup>er</sup> año se cosecharon y se extrajeron los piñones para clasificar y cuantificar sus daños. La alimentación de *L. occidentalis* provocó la muerte del 80% de las piñas de 1<sup>er</sup> año tratadas al comienzo de su desarrollo, mientras que entre el 80 y el 100% de las piñas de 2<sup>o</sup> año murieron cuando se trataron entre primavera y mediados del verano. Los tratamientos en piñas de 3<sup>er</sup> año durante abril y mayo causó el aborto a más del 70% de los piñones, reduciendo el rendimiento al 1%. En rendimiento aumentó según los tratamientos se sucedieron a lo largo de la estación. Se determinaron diferentes tipos de daños en las semillas no abortadas. Se detectó un efecto estacional de la alimentación del chinche sobre la mortalidad de las piñas, el aborto y tipo de daño de los piñones.

## Palabras clave

Chinche de las piñas, piñón, pino piñonero, síntomas y signos de daño, cosecha, rendimiento.

## **Abstract**

Western conifer seed bug is a pest of conifer cones native to North America. Its recent spread throughout the Mediterranean region has been coincidental with notable reductions in production and yield of Stone pine cones. The absence of specific signs or symptoms in the cones does not allow to link the bug to this reduction. To link these events to *L. occidentalis*, we studied the effect of cone feeding by *L. occidentalis* on 1<sup>st</sup>, 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> years old *P. pinea* cones during 2015 and 2016 in a Clonal Bank (Tordesillas, VA). Two females, or two nymphs, were caged temporarily in cones. Cone evolution was registered weekly until October. 3<sup>rd</sup> year cones were harvested and the seeds were extracted to classify and quantify damage. Eighty percent of 1<sup>st</sup> year cones treated at the beginning of its development died, while 80 to 100% of 2<sup>nd</sup> year cones died when were treated between spring and mid-summer. More than 70% of seeds of 3<sup>rd</sup> year cones treated during April and May aborted, reducing yield to 1%. In the rest of the treatments, yield increased throughout the season. Three types of damage, and four subtypes, were determined. A seasonal effect on cone mortality, seed abortion and seed damage was observed.

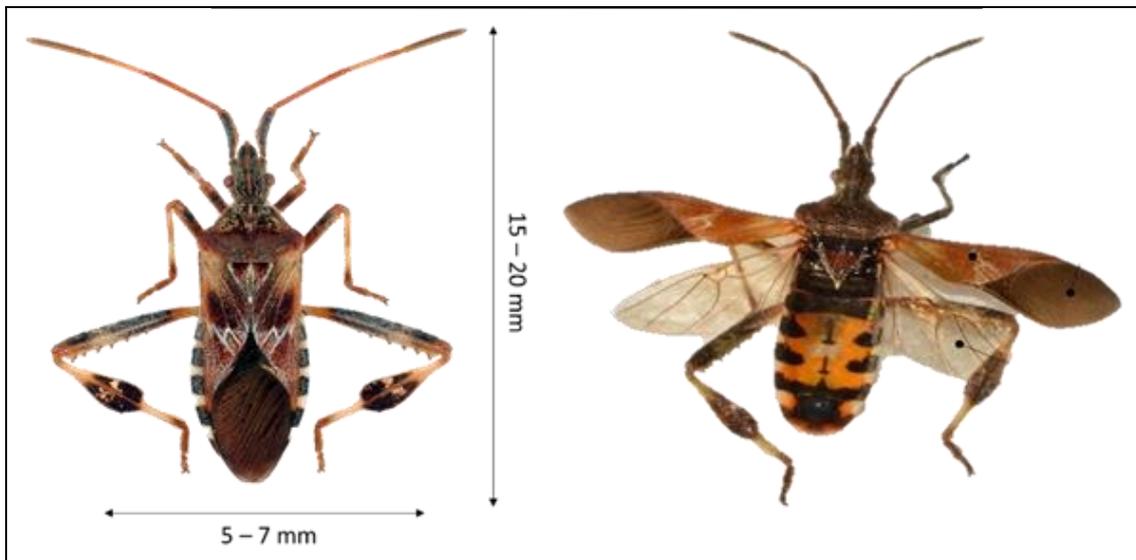
## **Keywords**

Western Conifer Seed Bug, pine nut, damage symptoms and signs, Stone pine, harvest, yield.

## Antecedentes

El chinche americano de las piñas, *Leptoglossus occidentalis* Heidemann (Heteroptera: Coreidae), es una plaga que está incluida en el Catálogo Español de Especies Exóticas Invasoras (Real Decreto 630/2013). Este catálogo incluye, entre otras, las especies exóticas que constituyen una amenaza para los recursos económicos asociados al uso del patrimonio natural. En este sentido, la alimentación de *L. occidentalis* sobre las piñas de coníferas disminuye el rendimiento de la producción de semillas, suponiendo un perjuicio económico para aquellos sectores dedicados a la producción y venta de semillas de coníferas.

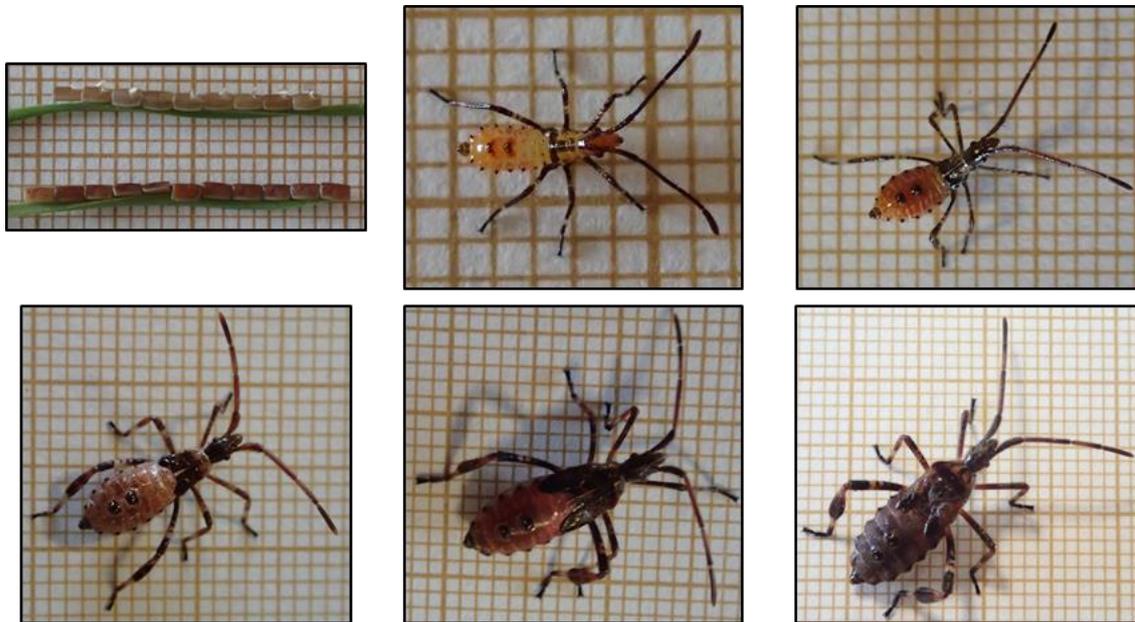
*L. occidentalis* presenta unas dimensiones entre 15 – 20 mm de longitud y 5 – 7 mm de anchura. Entre sus características morfológicas destacan el ensanchamiento de las tibias de las patas posteriores en forma de hoja, la parte inferior membranosa de las alas anteriores en forma de V invertida y el dorso del abdomen de color amarillo con 5 manchas negras, que resulta visible durante el vuelo (Figura 1). Existe dimorfismo sexual en la genitalia de machos y hembras, y en ocasiones en el tamaño, ya que las hembras pueden presentar un tamaño superior (Bernardinelli and Zandigiacomo, 2001).



**Figura 1.** Características morfológicas de *L. occidentalis*.

Las hembras alcanzan la madurez sexual aproximadamente a los 8 días de convertirse en adultos. La puesta es realizada en tiras longitudinales sobre las acículas, el número huevos oscila entre 1 y 20, y su tamaño medio es de 2 x 1 mm. Cada hembra pone entre 30 y 80 huevos (Bates and Borden, 2005; Barta, 2016), que eclosionan aproximadamente a las 2 semanas. Las ninfas pasan por 5 estadios

ápteros, caracterizados por una serie de diferencias morfológicas específicas de cada estadio (Figura 2), antes de alcanzar el estado de adulto, aproximadamente a las 8 semanas, momento en el que se desarrollan las alas y se define el sexo.

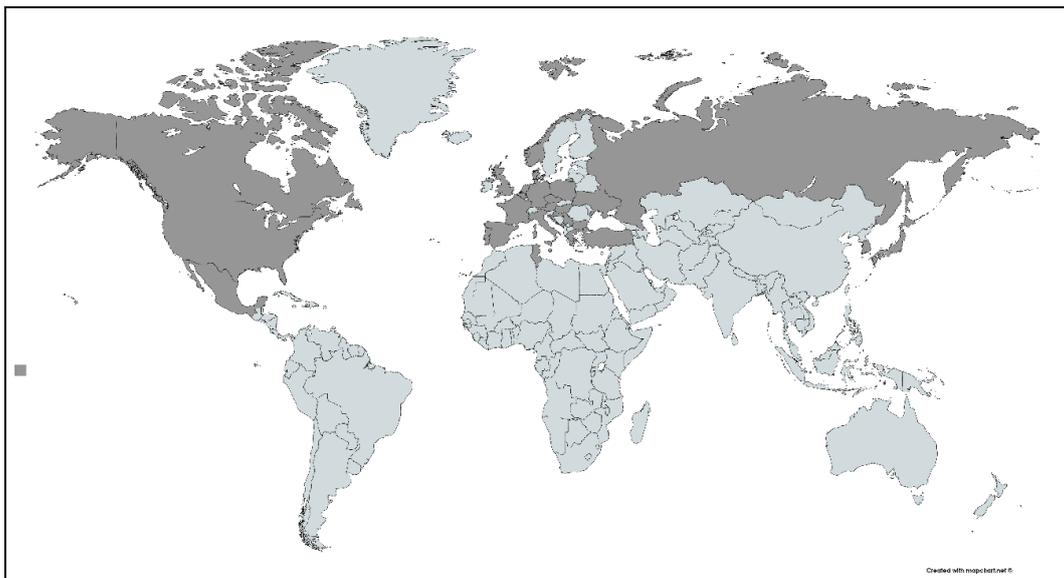


**Figura 2.** Huevos y diferentes estadios ninfales del chinche de las piñas. Arriba izq a der.: Huevos eclosionados (superior) y cerrados (inferior), estadios ninfales N1 y N2. Abajo izq. a der.: Estadios ninfales N3, N4 y N5.

La fenología de *L. occidentalis* depende de la temperatura. Según Barta (2016) su umbral de desarrollo es de 14,37°C y su integral térmica de 533 grados-día. Durante el invierno, los adultos, y raramente las ninfas de estadios avanzados, invernando en grupos en estructuras como nidos, colmenas o edificaciones. En la Columbia Británica, Blatt (1994) llegó a coleccionar más de 1.000 individuos vivos invernando en una fábrica. El aumento de la temperatura en primavera hace que los chinches invernantes despierten de su letargo para iniciar un nuevo ciclo. En Norteamérica, *L. occidentalis* se define como especie univoltina, mientras que en México parece ser polivoltina (EPPO, 2014). En Eslovaquia los ensayos de Barta (2016) apuntaron a la existencia de 2 generaciones, una completa y una 2ª incompleta. Los adultos invernantes se activaron a mediados de marzo y comenzaron a realizar las puestas a mediados de abril, el número máximo de puestas se contabilizó a principios de junio. Los adultos de la primera generación aparecieron a finales de junio, estos se cruzaron para dar lugar a una segunda generación que no consiguió alcanzar el estado adulto debido a la bajada de temperaturas otoñales. En Valencia se han detectado 2 generaciones anuales en las zonas más frías y 3 en las zonas más cálidas, con un tiempo de desarrollo de 62 – 65 días hasta alcanzar el estado adulto (Mas et al., 2013).

Actualmente no se conoce la fenología del chinche de las piñas en Castilla y León, aunque se presuponen 2 generaciones, la 2ª incompleta.

*L. occidentalis* se observó por primera vez en el año 1880 en California y fue descrito por Heidemann en 1910 (Gall, 1992). Las colecciones entomológicas permiten afirmar que el chinche de las piñas es una especie nativa del oeste de Norteamérica, abarcando desde el sur de la Columbia Británica hasta México y desde el oeste de Colorado hasta la costa pacífica (Koerber, 1963). Posteriormente fue citado a lo largo de Estados Unidos, y alcanzó la costa atlántica entre 1985 y 1990 (Gall, 1992), lo que supone una velocidad de dispersión entre ambas costas de 3.000 km en 90 años. Actualmente, *L. occidentalis* está presente en Turquía y Túnez, dónde se registró por primera vez en 2009 y 2010, respectivamente (Fent and Kment, 2001; Jamâa et al, 2013). En el año 2012 se detectó en Korea (Ahn et al., 2013) y recientemente ha sido encontrada en Chile (Faúndez, et al., 2017). La primera referencia del chinche en Europa se citó en el norte de Italia en 1999 (Taylor et al., 2001), desde donde se ha extendido prácticamente por todo el continente y mayoritariamente por todos los países mediterráneos (Figura 3).



**Figura 3.** Distribución mundial de *L. occidentalis*. Elaboración propia a partir de Mapchart (2017).

En España, el primer individuo de *L. occidentalis* se observó al este del Pirineo catalán en el año 2003. Un estudio realizado por Gallego et al. (2013) determinó que se han producido dos grandes eventos de invasión de esta plaga en la Península; el primero, a partir de 2003, desde el este de los Pirineos hasta las sierras litorales, Sistema Ibérico y Montes de Toledo, y el segundo en 2007 desde el oeste de los Pirineos,

extendiéndose por el País Vasco, Sistema Central, costa catalana y Sistema Ibérico. El primer registro en Castilla y León se citó en octubre de 2012 en la provincia de León (Pérez, 2012).

Esta alta capacidad de expansión (Rabitsch, 2008) puede relacionarse con su polifagia. Barta (2016) indica que es capaz de alimentarse de 48 especies, entre las que se encuentra un gran número de coníferas. En su área de distribución natural afecta a diferentes especies del género *Pinus* L. y a *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco, aunque también se han encontrado sobre los géneros *Abies* Mill., *Calocedrus* Kurz, *Cedrus* Mill., *Juniperus* L., *Tsuga* (Antoine) Carrière y *Picea* Link (EPPO, 2010). En Europa se ha encontrado sobre otras especies no presentes en su área nativa, como son *Pinus halepensis* Mill., *Pinus nigra* Arnold, *Pinus sylvestris* L. y *Pinus pinea* L (Lesieur et al., 2014b).

El chinche de las piñas es un insecto fitófago, las ninfas y los adultos se alimentan de los tejidos de las piñas insertando la probóscide entre las escamas (Figura 4). A través de su aparato bucal inyectan unas enzimas salivares capaces de despolimerizar diversos polisacáridos estructurales, provocando la degradación de las paredes celulares y permitiendo al insecto absorber los productos licuados (Campbell and Shea, 1990). Tanto ninfas como adultos pueden alimentarse de savia, sin embargo, a partir del 2º estadio necesitan complementar su alimentación con semillas para sobrevivir (Ponce et al., 2017).



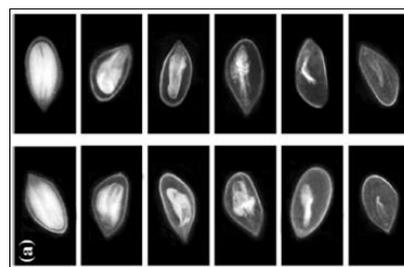
**Figura 4.** Adulto (izq.) y ninfa de estadio N2 (der.) de *L. occidentalis* insertando la probóscide entre las escamas de una piña de *P. pinea*.

Los principales daños causados por el chinche son económicos. En Norteamérica las semillas de diferentes especies producidas en huertos semilleros asociados a programas de mejora genética y reforestación tienen un valor entre 1.000 y 5.000 \$/kg (Bates and Borden, 2005). En estos huertos se ha estimado que la acción de *L.*

*occidentalis* puede provocar el aborto del 50% de la producción de semillas en *P. menziesii* (Schowalter and Sexton, 1990), u ocasionar daños en el endospermo al 70% de la producción en *Pinus monticola* Douglas ex D. Don (Strong et al., 2001). Según diversos estudios, estas cifras varían en función del momento de desarrollo de las piñas en el que ninfas y/o adultos del chinche se alimentan de ellas (Conelly and Schowalter, 1991; Krugman and Koerber, 1969; Schowalter and Sexton, 1990; Strong, 2006). Los daños a las semillas pueden evaluarse observando el endospermo y el embrión mediante radiografías o tras la apertura de las semillas. La alimentación de *L. occidentalis* altera el proceso fisiológico de formación de las semillas (Lesieur et al., 2014b) en función del momento en el que se produce la alimentación. Si se produce antes del desarrollo de la cubierta, esta colapsa y queda adherida a la escama de la piña (Figura 5). Sin embargo, si se produce tras el desarrollo de la cubierta, esta no colapsa y el endospermo dañado puede detectarse mediante radiografía (Figura 6) (Pasek and Dix, 1988). Radiografiar las semillas no permite detectar los daños provocados durante el desarrollo temprano de las piñas, por lo que no se considera un método adecuado (Conelly and Schowalter, 1991).



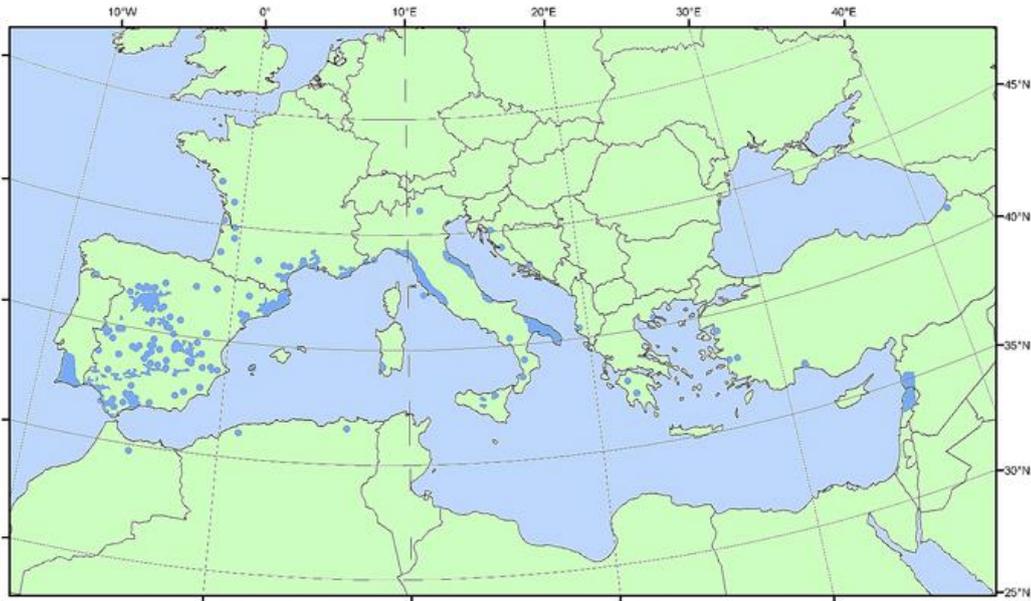
**Figura 5.** Semillas de *P. pinea* adheridas a la escama.



**Figura 6.** Semillas de *P. sylvestris* dañadas por la alimentación de *L. occidentalis* (Lesieur et al., 2014b).

En la región mediterránea se ha observado una disminución progresiva de la producción de piñón de *P. pinea* desde finales de los 90 (Roversi et al., 2011). En la región de la Toscana, el porcentaje de piñones sanos antes del primer registro del chinche era del 70%, mientras que 3 años tras su introducción este valor disminuyó al 6% (Bracalini et al., 2013). La ausencia de síntomas o signos específicos sobre las piñas y piñones, que permitan asociar la disminución de la cosecha con la alimentación del chinche (Bracalini et al., 2013), hacen que no pueda asignarse con certeza su autoría y que no puedan descartarse las causas ambientales o genéticas como responsables de la reducción de la cosecha (Bates et al. 2000). Esta ausencia de síntomas o signos ha sido citada sobre piñas de *P. menziesii* (Bates et al., 2001) y *P. pinea* (Sánchez et al., 2013).

*P. pinea* es una especie circummediterránea (Figura 7), cuyas piñas alcanzan la madurez a los 3 años de edad, denominándose comúnmente perindola (1<sup>er</sup> año), chota (2<sup>o</sup> año) y piña (3<sup>er</sup> año) (Figura 8) (Gil Sánchez and Torre Anttón, 2007). Las principales masas forestales productoras de piñón se sitúan en la Península Ibérica, donde la Meseta Norte es una de las regiones con mayor tradición piñera.



**Figura 7.** Distribución de *P. pinea* (EUFORGEN, 2017).

En la provincia de Valladolid la polinización se produce durante la primera mitad de junio, y el crecimiento de las perindolas y chotas se extiende desde mediados de abril hasta finales de junio y mitad de julio, respectivamente. La producción media de piñón varía en el espacio y en el tiempo en función de factores endógenos y exógenos, principalmente las condiciones climáticas durante los meses de desarrollo de las piñas (Mutke, 2010). El rendimiento medio de España es de 100 kg piñas/ha, similar al de Turquía, mientras que los rendimientos de Líbano, Italia y Portugal son mayores, de 200, 300 y 700 kg piñas/ha respectivamente. El rendimiento medio en la cosecha en la Meseta Norte fue de unos 200 kg piñas/ha entre 1960 y 2000, variando de 20 a 900 kg piñas/ha entre años (Mutke et al., 2012). En el último lustro se ha observado un aumento del aborto de perindolas y chotas (Mutke et al., 2015) y una disminución del rendimiento final de la cosecha (kg piñón blanco/kg piña verde), desde valores habituales entre 2,7 - 4,4% a valores entre 1,8 - 2,1%. Estas reducciones se han asociado al aumento del porcentaje de piñones abortados desde el 10 - 15% histórico al 47 - 48% actual (Conde et al., 2016). Los registros de piñones abortados son similares en Portugal, Italia y Turquía (Mutke et al., 2014). La disminución de la

cosecha de piñón se ha denominado “Síndrome de la piña seca” (Mutke and Calama, 2016) y su ocurrencia en Castilla y León es coincidente con la detección de la plaga en 2012 (Mutke et al., 2014; Pérez, 2012). En Italia, Roversi et al. (2011) relacionaron estas pérdidas con la alimentación del chinche. Actualmente, *L. occidentalis* es considerada una de las plagas más perjudiciales para la producción de piñón blanco (Bracalini et al., 2013).



**Figura 8.** Izq. a der.: Perindola, chota y piña.

El piñón es uno de los recursos no madereros de mayor importancia económica en los montes españoles de pino piñonero, llegando a alcanzar precios de hasta 100 €/kg (Calama et al., 2017). En 2013, el aprovechamiento del piñón supuso un beneficio nacional estimado en 34.946.205 € (MAPAMA, 2017). La aparición de esta especie invasiva simultáneamente a la disminución de la producción y rendimiento de la cosecha de piñas, y las dificultades de asignación de los daños observados, constituye un alarmante problema, que se ve agravado por la carencia de métodos de seguimiento y control de este insecto. Ante esta situación, es necesario evaluar los daños causados por la alimentación del chinche a lo largo de todo el desarrollo de las piñas de *P. pinea*, así como intentar caracterizar síntomas específicos que permitan su asignación a la acción de esta plaga invasiva.

### Objetivos

El objetivo principal de este trabajo es mostrar la relación de la alimentación de *L. occidentalis* sobre las piñas de *P. pinea* con la reducción en la cosecha de piñas y piñones. Para ello, se abordarán los siguientes objetivos particulares:

- Determinar los daños causados sobre las piñas de 1<sup>er</sup>, 2<sup>o</sup> y 3<sup>er</sup> año a lo largo de la fenología de desarrollo de las piñas.
- Determinar si existen síntomas, o combinación de ellos, específicos del daño causado por *L. occidentalis* en piñas y piñones.

## Material y métodos

Los experimentos se realizaron en una parcela de *P. pinea* injertados sobre patrones de *Pinus pinaster* Aiton de 12 años de edad con una altura inferior a los 3 m, a un marco de plantación de 6 x 6 m, localizada en el banco clonal “El Molinillo”, Tordesillas, Valladolid (675 m s.n.m.; X: 337.455 Y: 4.596.041; ETRS89 Huso 30N), durante los años 2015 y 2016 (Figura 9). La parcela consta de 139 pies dispuestos en 12 filas y 12 columnas, limitadas exteriormente por una línea de árboles buffer no injertados (Figura 14).

Los insectos utilizados para los tratamientos fueron la progenie de una colonia de laboratorio formada por individuos silvestres colectados en Castilla y León durante los otoños de 2014 y 2015. La colonia se mantuvo en cajas de cría (47,5 x 47,5 x 93 cm) con pared frontal posterior de plástico transparente y laterales de malla de poliéster de 1 x 0,3 mm de luz (Figura 10). La alimentación consistió en semillas maduras y abiertas de *P. pinea* dispuestas en una placa Petri (Figura 11) y en una plántula de *P. halepensis* de una savia (procedencia Meseta Norte) (Figura 12) que además sirvió como soporte para los insectos y sus puestas.



**Figura 9.** Banco clonal “El Molinillo” Tordesillas (Va).



**Figura 10.** Cajas para la cría de *L. occidentalis*.



**Figura 11.** Izq.: Ninfa de estadio N1 alimentándose de una plántula de *P. halepensis*. Der: Ninfas de estadio N2 alimentándose de piñón de *P. pinea* abierto.



**Figura 12.** Plántulas de *P. halepensis*.

Se realizaron 7 experimentos para la cuantificación y caracterización de los daños causados por la alimentación de *L. occidentalis* sobre las piñas y piñones durante los años 2015 y 2016 (Tabla 1). En 2015 se desarrollaron 4 experimentos. Para ello, a finales del invierno se inventariaron las piñas de 2º y 3º año de toda la parcela y se seleccionaron varios grupos de árboles y de piñas en cada árbol (excluyendo el eje del árbol), sobre las que se aplicaron los distintos tratamientos. Se seleccionaron 15 árboles con 5 piñas de 3º año (experimento 1), 10 árboles con 5 piñas de 3º año (exp. 2) y 15 árboles con 5 piñas de 2º año (exp. 3). A principios de julio de 2015 se seleccionaron 5 piñas recién formadas (1º año) en 15 árboles (exp 4).

En 2016 se realizaron otros 3 experimentos. Para ello, durante el mes de marzo se inventariaron las piñas que iniciaban su 2º y 3º año y se seleccionaron y aislaron 3 piñas de 3º año en 12 árboles (exp. 5) y 5 piñas de 2º año en 15 árboles (exp 6.). Tras la polinización, a mediados del mes de junio, se inventariaron las piñas de 1º año de toda la parcela y se seleccionaron y aislaron 3 de ellas en 15 árboles (exp. 7).

Las piñas seleccionadas se aislaron individualmente en bolsas de malla con 1 mm de luz de material plástico, de distintos tamaños: 35 cm de diámetro x 25 cm de largo para las piñas de 3º año, 10 x 18 cm, para las de 2º año y 5,5 cm x 13 cm para las piñas de 1º año (Figura 13). El microclima creado por las bolsas no supuso una alteración para el desarrollo de las piñas (Strong, 2016).

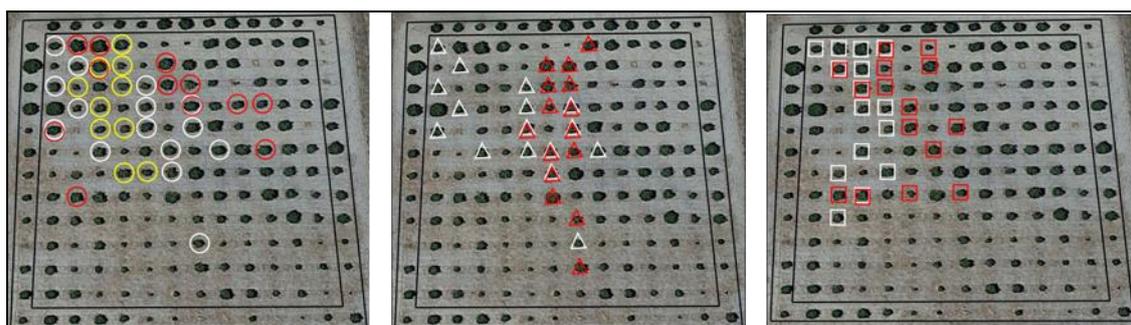


**Figura 13.** Piñas de 1º, 2º y 3º año aisladas con malla de material plástico de 1 mm de luz.

Los tratamientos consistieron en el embolsamiento de 2 hembras (piñas de 2º y 3º año) durante 2 semanas o 2 ninfas de los estadios N3 y N4 (piñas de 1º año) durante 1 semana, en varias fechas a lo largo de la estación de crecimiento de las piñas (Tabla 1, Figura 14). En cada experimento, una de las piñas de cada árbol se dejó como control protegido, aislado por la bolsa de la acción de alimentación externa.

**Tabla 1.** Número de árboles, edad de las piñas, tratamiento y fecha de cada tratamiento para cada experimento.

Experimento	Nº de árboles	Edad piñas	Tratamiento	Fechas
1	15	3º	2 ♀	10 – 24 abril 2015 7 – 21 mayo 2015 4 – 18 junio 2015 2 – 16 julio 2015
2	10	3º	2 ♀	18 junio – 2 julio 2015 19 – 30 julio 2015
3	15	2º	2 ♀	7 – 21 mayo 2015 4 – 18 junio 2015 2 – 16 julio 2015 20 agosto – 3 septiembre 2015
4	15	1º	N3 + N4	2 – 9 junio 2015 20 – 27 agosto 2015
5	12	3º	2 ♀	4 – 18 agosto 2016 1 – 15 septiembre 2016
6	15	2º	2 ♀	4 – 18 agosto 2016 1 – 15 septiembre 2016
7	15	1º	N3 + N4	14 – 21 julio 2016 28 julio – 4 agosto 2016



**Figura 14.** Parcela de ensayo del banco clonal. Círculos blancos: Exp. 1; Círculos amarillos: Exp. 2; Círculos rojos: Exp. 5; Triángulos blancos: Exp. 3; Triángulos rojos: Exp. 6; Cuadrados blancos: Exp. 4; Cuadrados rojos: Exp. 7. Árboles buffer representados entre las líneas negras exteriores.

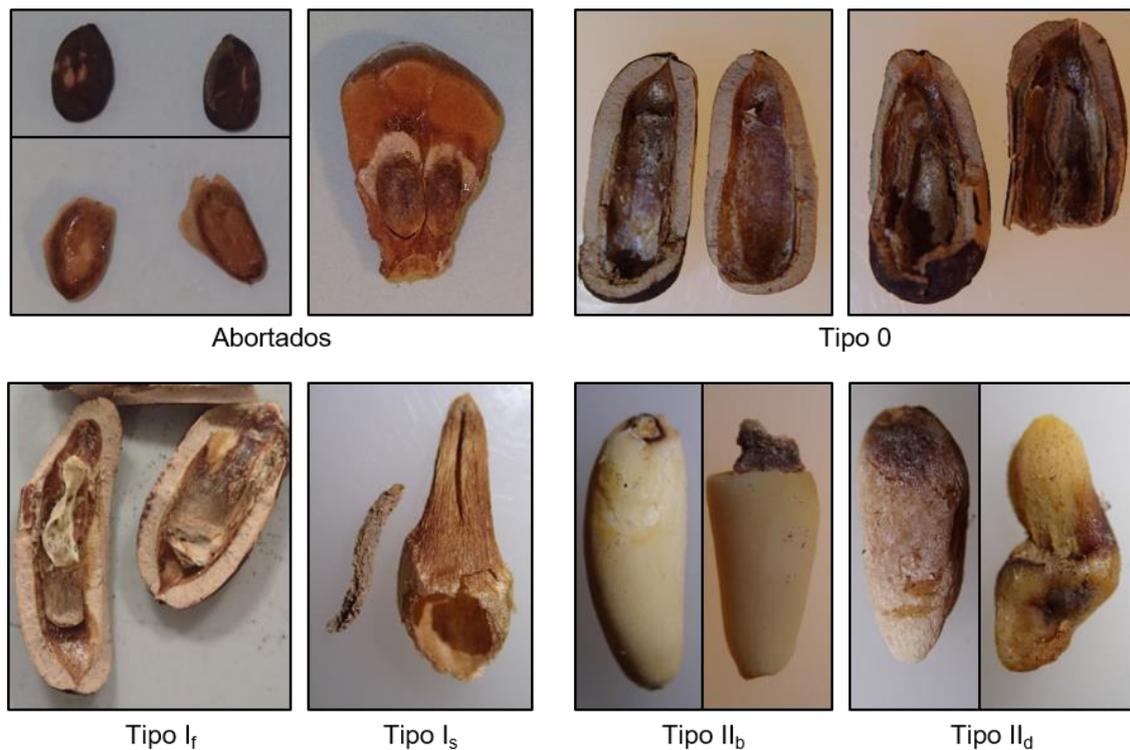
Todos los tratamientos definidos para cada experimento se instalaron en cada uno de los árboles, que actuaron como factor bloque de un diseño experimental de bloques completos al azar.

Transcurrida una semana tras la introducción de los insectos en los tratamientos de las piñas de 2º y 3º año, las bolsas se inspeccionaron y se sustituyeron los adultos y ninfas muertas. Una vez concluido cada tratamiento, los insectos se retiraron y las piñas continuaron aisladas hasta el momento de su cosecha, durante el otoño de su 3º año. El estado de todas las piñas fue examinado visualmente cada semana hasta mediados de octubre.

Las piñas cosechadas en 2015 y en 2016 se midieron, se pesaron en verde y se secaron en estufa a 45°C hasta que se abrieron, aproximadamente una semana. Posteriormente, cada piña se pesó en seco y se extrajeron los piñones manualmente. Los piñones con testa se contabilizaron y pesaron antes de su apertura manual. Los piñones se clasificaron en abortados (longitud menor a 4 mm) y no abortados, esta categoría incluye piñones sanos y dañados. Los dañados se caracterizaron a su vez según en daños Tipo 0, Tipo I (subtipos I<sub>f</sub> y I<sub>s</sub>) y Tipo II (subtipos II<sub>b</sub> y II<sub>d</sub>) (Tabla 2, Figura 15), según la clasificación definida por Conde et al. (2016) con modificaciones.

**Tabla 2.** Características de cada categoría y subcategoría en los que se clasifican los piñones dañados.

Categoría		Características	Subcategorías
<b>Abortados</b>		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Vanos</li> <li>- Tamaño inferior al medio (&lt; 4 mm)</li> <li>- Fusionados o no a la escama</li> </ul>	
<b>No abortados</b>	<b>Viables</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sanos, aptos comercialmente</li> </ul>	
	<b>Daños Tipo 0</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sin embrión</li> <li>- Sin endospermo</li> <li>- Tegmen pegado a la testa</li> </ul>	
	<b>Daños Tipo I</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Embrión seco</li> <li>- Sin endospermo</li> </ul>	I <sub>f</sub> : Tegmen completamente fusionado a la testa
			I <sub>s</sub> : Tegmen suelto, deformado
	<b>Daños Tipo II</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Embrión sano</li> <li>- Endospermo dañado</li> <li>- Tegmen normal o dañado</li> </ul>	II <sub>b</sub> : Daño basal en proporción variable pero menor a la mitad (< 1/3)
II <sub>d</sub> : Endospermo completamente deformado, arrugado o degradado			



**Figura 15.** Tipos de piñones abortados y no abortados dañados.

A partir de los datos obtenidos durante los exámenes visuales en campo y tras la apertura de los piñones se analizaron las variables: mortalidad de las piñas de 1<sup>er</sup> y 2<sup>o</sup> año (%), rendimiento (%), piñones abortados (% sobre el total de piñones), piñones dañados (% sobre el total de piñones no abortados), piñones dañados Tipo 0, Tipo I y Tipo II (% sobre piñones dañados), piñones dañados Tipo I<sub>f</sub> y Tipo I<sub>s</sub> (% sobre piñones dañados de Tipo I) y piñones dañados Tipo II<sub>b</sub> y Tipo II<sub>d</sub> (% sobre piñones dañados de Tipo II).

La variable mortalidad de las piñas de 1<sup>er</sup> y 2<sup>o</sup> año puede adoptar valores 0 (viva) y 1 (muerta). Para su análisis se utilizó un test Chi-cuadrado de Pearson para comprobar la dependencia de las variables (efecto de los tratamientos sobre la viabilidad de las piñas) seguida de un test exacto de Fisher aplicando la corrección de Bonferroni (Crawley, 2012) para las comparaciones entre los diferentes tratamientos, con un valor de  $\alpha = 0,05$ .

El rendimiento final en piñón blanco de la piña verde se calculó según el protocolo del CIFOR-INIA (no publicado). El rendimiento (Ecuación 1) se calcula como el cociente entre el peso estandarizado de la piña fresca (Ecuación 2) y el peso de los piñones sanos sin cáscara o testa.

$$\text{Ecuación 1: } \rho = \frac{PV^*}{\text{Peso piñón blanco}}$$

$$\text{Ecuación 2: } PV^* = \text{Peso piña fresca} \cdot \frac{(1 - \text{Humedad})}{0,63}$$

$$\text{Ecuación 3: } \text{Humedad} = \frac{\text{Peso piña fresca} - \text{Peso piña seca}}{\text{Peso piña fresca}}$$

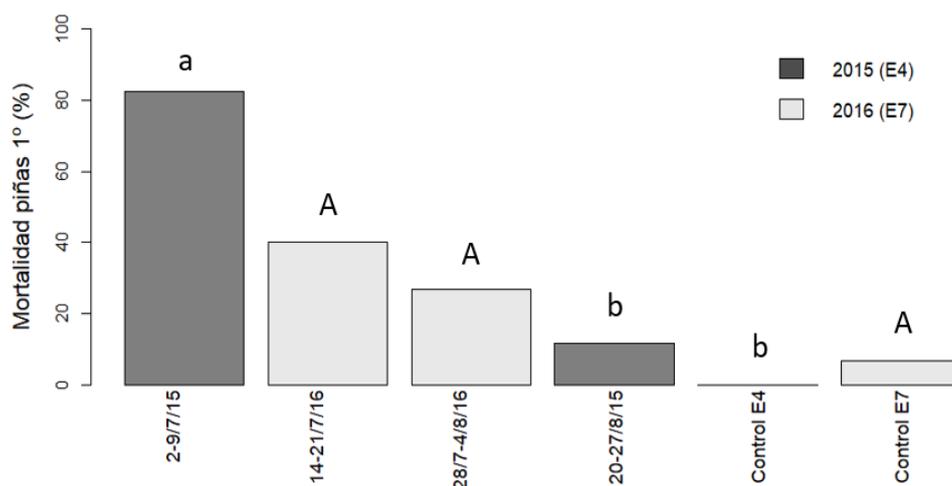
Para el análisis del rendimiento y del resto de variables de las piñas de 3<sup>er</sup> año se eliminó uno de los árboles en los experimentos 1 y 2, debido a que la cosecha de piñas fracasó. Estas variables fueron analizadas ajustando los factores bloque y tratamiento a una distribución del error de Poisson en un modelo lineal general (GLM) con función loglink, debido a su carácter binomial. Cuando se detectaron efectos significativos de los tratamientos ( $P < 0,05$ ), las medias se compararon mediante el test de Tukey para un valor de  $\alpha = 0,05$ . Todos los cálculos se realizaron utilizando el paquete informático R (The R Development Core Team, 2017).

## Resultados

Los resultados de los diferentes experimentos se han analizado individualmente, aunque para cada variable estudiada se representan conjuntamente para facilitar la comprensión de los efectos causados por la alimentación de *L. occidentalis* a lo largo del desarrollo fenológico de las piñas.

### Daños sobre las piñas de 1<sup>er</sup> año

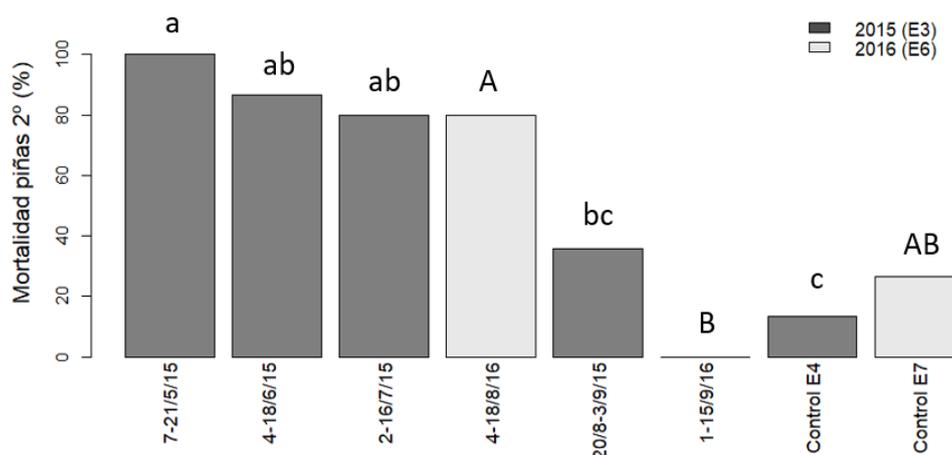
El efecto de la alimentación de 2 ninfas sobre piñas de 1<sup>er</sup> año durante 1 semana (E4 y E7) se representa en la Figura 16. Durante la primera semana de julio provocó una mortalidad de las piñas tratadas del 82,35%, siendo significativamente diferente de la mortalidad del control (11,76%). Estos daños tan severos se redujeron apreciablemente cuando la alimentación se produjo apenas dos semanas más tarde (40%) y fueron reduciéndose progresivamente a lo largo de la estación. A partir de la segunda mitad de julio la mortalidad dejó de ser significativamente diferente de los controles, que registraron valores de 0% (2015) y 6,67% (2016).



**Figura 16.** Mortalidad (%) de las piñas de 1<sup>er</sup> año sometidas a la alimentación de 2 ninfas durante 1 semana (Experimentos 4 y 7). Dentro de cada experimento, los tratamientos con la misma letra no son significativamente diferentes entre sí ( $p < 0,05$ ).

### Daños sobre las piñas 2<sup>o</sup> año

En la Figura 17 se presenta la mortalidad de las piñas de 2<sup>o</sup> año sometidas a la alimentación de 2 hembras durante 2 semanas (E3 y E6). Los daños debidos a la alimentación en mayo alcanzaron el 100%. A medida que avanzó la temporada este porcentaje fue disminuyendo, aunque aún tomó valores superiores al 80% hasta la primera mitad de agosto. En la segunda quincena de agosto la mortalidad disminuyó bruscamente al 35,71%, igualándose a los valores de los controles. El tratamiento aplicado durante la primera quincena de septiembre no provocó la muerte de ninguna piña de 2<sup>o</sup> año.



**Figura 17.** Mortalidad (%) de las piñas de 2<sup>o</sup> año sometidas a la alimentación de 2 hembras durante 2 semanas. Dentro de cada experimento, los tratamientos con la misma letra no son significativamente diferentes entre sí ( $p < 0,05$ ).

### Daños sobre piñas de 3<sup>er</sup> año

Para el conocer el efecto de la alimentación de *L. occidentalis* sobre el desarrollo de las piñas de 3<sup>er</sup> año se realizaron tres experimentos (E1 y E2 en 2105 y E5 en 2016).

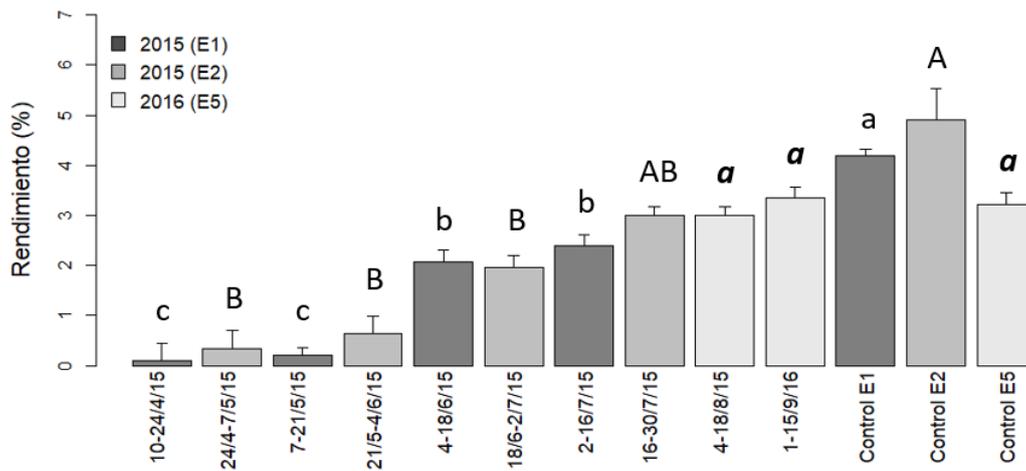
El número total de piñones fue muy bajo en aquellas piñas tratadas al inicio de la temporada de crecimiento (abril – mayo) (Tabla 3). A medida que esta avanzó, el número aumentó hasta alcanzar valores medios de unos 100 piñones por piña a partir del mes de junio, cuando la cubierta de la semilla ya se encuentra desarrollada, aunque no endurecida. Comparando la tipología de piñones, se observó que los tratamientos realizados entre abril y principios de junio obtuvieron un número de piñones abortados mayor que el de los no abortados. Entre estos últimos, durante el mes de junio predominaron los piñones dañados, mientras que a partir de julio lo hicieron los piñones sanos, alcanzando valores similares a los de los controles al final de la temporada de desarrollo.

**Tabla 3.** Número medio ( $\pm$  SEM) de piñones abortados, no abortados, sanos y dañados, y número total de piñones para cada fecha de tratamiento de los experimentos 1, 2 y 5.

	Piñones abortados (X $\pm$ SEM)	Piñones no abortados		Piñones Total (X $\pm$ SEM)
		Sanos (X $\pm$ SEM)	Dañados (X $\pm$ SEM)	
<b>10 – 24 abril 2015 (E1)</b>	2,77 $\pm$ 1,66	1,08 $\pm$ 1,04	0,08 $\pm$ 0,28	3,93 $\pm$ 1,98
<b>24 abril – 7 mayo 2015 (E2)</b>	33,25 $\pm$ 2,84	4,88 $\pm$ 1,55	0,75 $\pm$ 0,48	38,88 $\pm$ 3,06
<b>7 – 21 mayo 2015 (E1)</b>	53,79 $\pm$ 1,42	2,21 $\pm$ 0,61	1,07 $\pm$ 0,34	57,07 $\pm$ 1,48
<b>21 mayo – 4 junio 2015 (E2)</b>	38,43 $\pm$ 2,31	10,86 $\pm$ 1,74	17,71 $\pm$ 2,48	67,00 $\pm$ 2,22
<b>4 – 18 junio 2015 (E1)</b>	16,00 $\pm$ 1,48	36,77 $\pm$ 1,20	45,54 $\pm$ 0,66	98,31 $\pm$ 0,62
<b>18 junio – 2 julio 2015 (E2)</b>	24,78 $\pm$ 1,18	33,89 $\pm$ 1,25	45,33 $\pm$ 0,73	104,00 $\pm$ 0,92
<b>2 – 16 julio 2015 (E1)</b>	20,14 $\pm$ 0,93	42,93 $\pm$ 1,09	34,86 $\pm$ 0,71	97,93 $\pm$ 0,49
<b>19 – 30 julio 2015 (E2)</b>	19,56 $\pm$ 0,92	57,44 $\pm$ 0,92	30,89 $\pm$ 0,76	107,89 $\pm$ 0,77
<b>4 – 18 agosto 2016 (E5)</b>	9,33 $\pm$ 1,04	55,25 $\pm$ 1,18	16,92 $\pm$ 0,90	81,50 $\pm$ 0,82
<b>1 – 15 septiembre 2016 (E5)</b>	9,82 $\pm$ 0,94	71,45 $\pm$ 1,26	19,00 $\pm$ 1,51	100,27 $\pm$ 0,67
<b>Control 2015 (E1)</b>	14,57 $\pm$ 0,95	76,07 $\pm$ 0,85	8,00 $\pm$ 0,75	98,64 $\pm$ 0,51
<b>Control 2015 (E2)</b>	18,67 $\pm$ 1,15	63,33 $\pm$ 1,06	15,78 $\pm$ 1,15	97,78 $\pm$ 1,12
<b>Control 2016 (E5)</b>	10,73 $\pm$ 0,99	61,36 $\pm$ 0,99	20,64 $\pm$ 1,85	92,73 $\pm$ 0,45

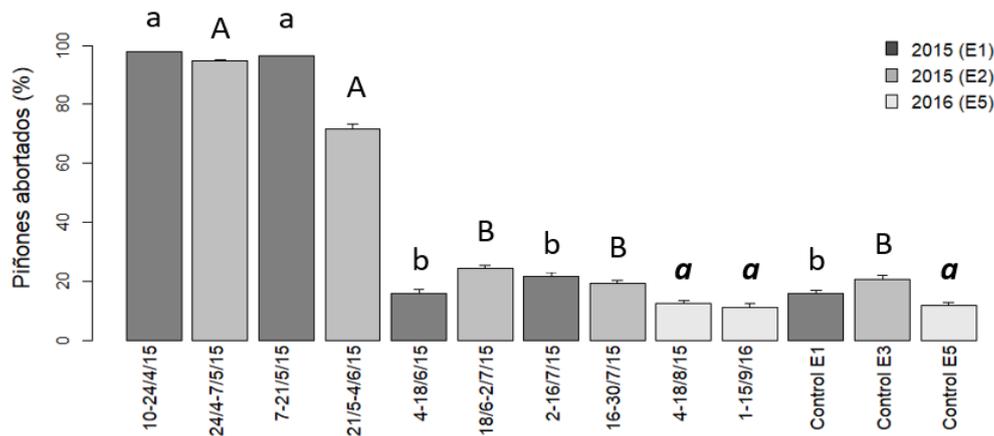
La tendencia en la aparición de los piñones sanos observada en la Tabla 3 se refleja también en el rendimiento de piñón blanco (Figura 18). Este alcanzó valores inferiores al 1% cuando la alimentación fue entre abril (0,11%) y principios de junio (0,64%), mientras que con el avance del desarrollo fenológico de las piñas estos valores aumentaron y se fueron igualando a los valores de los controles. En el Experimento 1, el rendimiento de los tratamientos durante la primera quincena de los meses de junio (2,07%) y julio (2,38%) fue significativamente diferente del rendimiento del control (4,18%). En el Experimento 2, el rendimiento durante la segunda quincena de junio (1,96%) fue significativamente diferente al rendimiento del control (4,89%), mientras

que durante la segunda quincena de julio (2,99%) no lo fue, como ocurrió en el Experimento 5 durante la primera quincena de agosto (2,99%) y septiembre (3,35%), cuyo rendimiento del control fue del 3,22%.

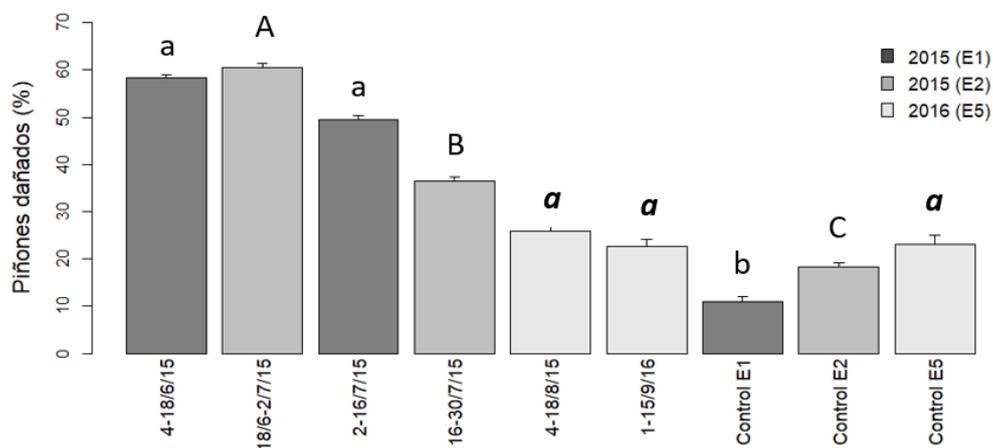


**Figura 18.** Rendimiento (%) de las piñas de 3<sup>er</sup> año sometidas a la alimentación de 2 hembras adultas durante 2 semanas. Dentro de cada experimento, los tratamientos con la misma letra no son significativamente diferentes entre sí ( $p < 0,05$ ).

En los meses de abril y mayo la proporción de piñones abortados (%) osciló entre el 70 y el 98%, tomando valores significativamente diferentes de los controles. Sin embargo, en los tratamientos a partir del mes de junio el porcentaje disminuyó, tomando valores entre el 10 y el 25%, no presentando diferencias significativas con los controles (Figura 19). Para el estudio de la proporción (%) de piñones dañados (Figura 20) se descartaron los tratamientos cuya proporción de piñones abortados fue superior a los 2/3, (tratamientos realizados entre abril y mayo). El porcentaje de piñones dañados fue disminuyendo, desde valores elevados, a medida que avanzó la estación de desarrollo de las piñas. En el Experimento 1, en los tratamientos realizados durante la primera quincena de junio y de julio, más de la mitad de los piñones aparecieron dañados (60% y 50%, respectivamente) tomando valores significativamente diferentes a los del control (11,05%). En el Experimento 2, la proporción de daños de la segunda quincena de junio fue significativamente superior (60,49%) a la de la segunda quincena de julio (36,57%), ambos tratamientos mostraron diferencias significativas con el control (18,41%). Al final de la temporada, cuando la alimentación se produjo durante los meses de agosto y septiembre (E5) el porcentaje de piñones dañados (25,79% y 22,69%, respectivamente) no resultó diferente del porcentaje de daños observados en el control del (23,11%).



**Figura 19.** Piñones abortados (%) sobre el total de piñones de las piñas de 3<sup>er</sup> año sometidas a la alimentación de 2 hembras adultas durante 2 semanas. Dentro de cada experimento, los tratamientos con la misma letra no son significativamente diferentes entre sí ( $p < 0,05$ ).



**Figura 20.** Piñones dañados (%) sobre el total de piñones no abortados de las piñas de 3<sup>er</sup> año sometidas a la alimentación de 2 hembras adultas durante 2 semanas. Dentro de cada experimento, los tratamientos con la misma letra no son significativamente diferentes entre sí ( $p < 0,05$ ).

Las 3 clases de piñones dañados siguieron una tendencia distinta a lo largo de la estación de desarrollo (Tabla 4). Los daños de Tipo 0, aquellos en los que no llega a formarse el embrión, aparecen con valores bajos, pero aún apreciables significativamente cuando la alimentación se produjo durante el mes de junio, disminuyendo a valores inferiores al 2% a partir del mes de julio, siendo similares a los valores de los controles. Los daños de Tipo I, en los que el embrión aborta, fueron proporcionalmente los más abundantes durante junio y julio (E1), significativamente mayores que en el control. A partir de entonces, presentaron una tendencia decreciente según el avance fenológico del desarrollo de los piñones, hasta equipararse proporcionalmente con los del Tipo II (daños al endospermo). En el

Experimento 5 no hubo diferencias en la proporción de piñones dañados de Tipo I entre los tratamientos (agosto y septiembre) y el control. Los daños de Tipo II presentaron una tendencia inversa a la observada en los del Tipo I. Su proporción fue creciente con el desarrollo de las piñas, existiendo diferencias significativas respecto a los controles durante el mes de junio y la primera quincena de julio (E1 y E2). Sin embargo, no se observaron diferencias significativas a partir de la segunda quincena de julio, la primera de agosto y septiembre y los controles (E2 y E5), cuando su proporción fue similar a la de los daños de Tipo I.

**Tabla 4.** Porcentaje de piñones abortados sobre el total de piñones y porcentaje de cada tipo de daño sobre el total de piñones dañados para cada tratamiento de los ensayos 1, 2 y 5. Dentro de cada experimento los tratamientos con la misma letra en cada columna no son significativamente diferentes entre sí ( $p < 0,05$ ).

	Piñones abortados (% sobre el total de piñones)	Piñones dañados (% sobre el total de dañados)		
		Tipo 0	Tipo I	Tipo II
10 – 24 abril 2015 (E1)	97,74 a	-	-	-
24 abril – 7 mayo 2015 (E2)	94,72 A	-	-	-
7 – 21 mayo 2015 (E1)	96,35 a	-	-	-
21 mayo – 4 junio 2015 (E2)	71,63 A	-	-	-
4 – 18 junio 2015 (E1)	15,81 b	11,76 a	78,00 a	10,24 b
18 junio – 2 julio 2015 (E2)	24,27 B	9,64 A	76,98 A	13,38 B
2 – 16 julio 2015 (E1)	21,76 b	1,29 b	81,48 a	17,23 b
19 – 30 julio 2015 (E2)	19,13 B	1,82 AB	66,59 A	30,14 AB
4 – 18 agosto 2016 (E5)	12,35 a	0,00 a	50,19 a	49,81 a
1 – 15 septiembre 2016 (E5)	11,25 a	0,00 a	48,10 a	51,90 a
Control 2015 (E1)	15,83 b	1,19 b	53,62 b	45,19 a
Control 2015 (E2)	20,75 B	0,00 B	47,84 A	52,16 A
Control 2016 (E5)	11,60 b	0,24 a	70,52 a	29,24 a

Los piñones de Tipo I y II se clasificaron a su vez en 2 subcategorías (Tabla 5). Se observó una tendencia en la aparición de las subclases de daños de Tipo I. Durante el mes de junio la gran mayoría de los piñones dañados de Tipo I aparecieron con el tegmen fusionado a la testa ( $I_f$ ), mientras que a partir de entonces esta subclase obtuvo valores muy bajos y similares a los de los controles. La tendencia de los daños Tipo  $I_s$  (tegmen suelto) fue lógicamente la inversa, muy alta en los tratamientos a partir de julio, y en los controles. Por el contrario, no se observó una tendencia significativa en el reparto de las subclases de los daños Tipo II. El subtipo  $II_b$  (daños basales al endospermo) predominó sobre el subtipo  $II_d$  (endospermo deforme) en todos los tratamientos, aunque las diferencias encontradas no fueron significativas. No obstante, el reparto de daños en los controles estuvo altamente sesgado hacia los daños de Tipo  $II_b$ .

**Tabla 5.** Porcentaje de piñones Tipo I<sub>f</sub>, I<sub>s</sub>, II<sub>b</sub> y II<sub>d</sub> sobre el total de piñones dañados de cada tipo para cada tratamiento en los ensayos 1, 2 y 5. Dentro de cada experimento, los tratamientos con la misma letra en cada columna no son significativamente diferentes entre sí ( $p < 0,05$ ).

	Subtipos daños Tipo I (% sobre el total de Tipo I)		Subtipos daños Tipo II (% sobre el total de Tipo II)	
	Tipo I <sub>f</sub>	Tipo I <sub>s</sub>	Tipo II <sub>b</sub>	Tipo II <sub>d</sub>
<b>4 – 18 junio 2015 (E1)</b>	91,42 a	8,58 b	82,58 a	17,42 a
<b>18 junio – 2 julio 2015 (E2)</b>	74,04 A	25,96 B	59,21 A	40,79 A
<b>2 – 16 julio 2015 (E1)</b>	3,96 b	96,04 a	58,10 a	41,9 a
<b>19 – 30 julio 2015 (E2)</b>	1,79 B	98,21 A	77,34 A	22,66 A
<b>4 – 18 agosto 2016 (E5)</b>	24,51 <b>a</b>	75,49 <b>a</b>	66,83 <b>a</b>	33,17 <b>a</b>
<b>1 – 15 septiembre 2016 (E5)</b>	6,21 <b>a</b>	93,79 <b>a</b>	86,50 <b>a</b>	13,50 <b>a</b>
<b>Control 2015 (E1)</b>	0 b	100 a	95,06 a	4,94 a
<b>Control 2015 (E2)</b>	12,96 B	87,04 A	77,68 A	22,32 A
<b>Control 2016 (E5)</b>	9,09 <b>a</b>	90,91 <b>a</b>	88,23 <b>a</b>	11,77 <b>a</b>

## Discusión

Los resultados anteriores muestran que la alimentación de *L. occidentalis* sobre las piñas de *P. pinea* de diferentes edades a lo largo del desarrollo fenológico provoca diferentes efectos sobre la mortalidad de las piñas y el rendimiento de la cosecha. Todas las fases del ciclo de vida de *L. occidentalis* son capaces de alimentarse de piñas de *P. pinea* de las tres clases de edad, excepto las ninfas de 1<sup>er</sup> estadio, que no son capaces de alimentarse sobre las piñas de 3<sup>er</sup> año debido a la corta longitud de su probóscide (Pimpão, 2014). La mortalidad causada por la alimentación de *L. occidentalis* sobre piñas inmaduras fue citada por Shea et al. (1986) en piñas de 1<sup>er</sup> año de *P. monticola*. En Italia, Roversi et al. (2011) indica que tras someter a piñas de *P. pinea* de 1<sup>er</sup> y 2<sup>o</sup> año a la alimentación del chinche, el 60% de las piñas de 1<sup>er</sup> año y el 80% de las de 2<sup>o</sup> abortaron. En nuestro estudio, cuando la alimentación se produjo en piñas de 1<sup>er</sup> año recién polinizadas (primera semana de julio), ocasionó una mortalidad del 80%. Esta se redujo a la mitad (40%) en las piñas tratadas durante la segunda quincena de julio, cuando el crecimiento de las piñas de 1<sup>er</sup> año ha finalizado en Valladolid (Mutke et al., 2012). La elevada mortalidad de las piñas de 2<sup>o</sup> año en Italia, coincide con los valores obtenidos en este estudio cuando la acción del chinche se produjo entre mayo y la primera quincena de agosto (entre el 100 y el 80%). Este hecho podría explicar, al menos parcialmente el aumento de la proporción histórica de abortos de piñas de 1<sup>er</sup> y 2<sup>o</sup> en los pinares de piñonero de Valladolid durante los últimos 7 años, cuyo efecto es la disminución de la producción final de las cosechas de piñón (Mutke et al., 2015).

En este estudio también se ha mostrado que el rendimiento de las piñas (proporción de peso de piñón blanco obtenido por kg de piña) se vio severamente afectado en función del momento del desarrollo de las piñas de 3<sup>er</sup> año en el que fueron sometidas a la alimentación del chinche. El rendimiento fue prácticamente nulo en las piñas tratadas entre abril y mayo, cuando el porcentaje de piñones abortados osciló entre el 70% y el 98%. El rendimiento aumentó al 2% - 2,4% en las piñas tratadas en la primera mitad del verano, y se equiparó (3% - 3,35%) al de los controles en la segunda mitad. El bajo rendimiento en las piñas tratadas durante abril y mayo se asocia al alto porcentaje de piñones abortados (71,6% - 100%). Este efecto se viene observando durante los últimos años en las cosechas de piñón en España, en las que se han registrado un 47% - 48% de piñones abortados y unos rendimientos del 1,8% - 2,1%, muy inferiores a los tradicionales, cuya media oscila entre el 2,7% y el 4,4% (Conde et al., 2016).

La proporción de daños registrados sobre las piñas de *P. pinea* tratadas en diferentes fechas disminuyó con el avance de la estación de desarrollo de las piñas. Diversos estudios relacionan el aborto de las semillas de diferentes especies de coníferas con la alimentación de *L. occidentalis* durante el inicio de la temporada de desarrollo de las piñas. Strong (2006) observó un alto porcentaje de abortos en semillas de *P. contorta* var. *latifolia* Engelmán sobre las que se alimentó el chinche a principios de mayo, mientras que estos valores disminuyeron en los tratamientos realizados a finales de mayo y se hicieron nulos en los de principios de junio. Según Schowalter and Sexton (1990) el porcentaje de semillas abortadas de *P. menziesii* predominó durante la primera mitad de la temporada de desarrollo de las piñas, mientras que el número de semillas dañadas fue mayor durante la segunda mitad. Bates et al. (2000) determinaron que el 35% de las semillas de *P. menziesii* sometidas a la alimentación del chinche abortaron. Según Conelly and Schowalter (1991) la alimentación del chinche sobre piñas de 2<sup>o</sup> año de *P. monticola* provocó el aborto del 40% de las piñas al principio de la temporada de desarrollo, mientras que al final de la temporada causó daños sobre el 70 - 80% de las semillas.

Las semillas de coníferas dañadas por la alimentación del *L. occidentalis* pueden presentar el endospermo total o parcialmente destruido (Bracalini et al., 2013). Según Krugman and Koerber (1969) el tipo de daño causado por el chinche sobre las semillas de *P. ponderosa* varió en función de la etapa de desarrollo de la semilla. Cuando las semillas son dañadas antes de que se produzca el endurecimiento de la cubierta, estas pueden colapsar o desarrollarse parcialmente. Sin embargo, cuando los daños

se producen tras el endurecimiento de la cubierta, ésta permanece intacta, pero aparecen daños en el endospermo y/o el embrión. La testa de las semillas de *P. pinea* comienza a lignificarse durante la segunda quincena de julio, mientras que el embrión comienza a diferenciarse del endospermo durante la segunda quincena de agosto (Raposo et al., 2016). Estas fechas pueden variar en función del clima. Los daños de Tipo 0 se caracterizan por la fusión entre el tegmen y la testa, y por no presentar embrión ni endospermo. Este tipo de daño apareció en baja proporción y tomó valores máximos en las piñas tratadas durante la primera quincena de junio (11,98%), antes de la lignificación de la testa. Sin embargo, a partir de la segunda quincena de junio la proporción de este tipo de daño no fue significativamente diferente de la observada en los controles, en los que su representación es casi inexistente (max. 1,19%). Los daños de Tipo I se caracterizan por el aborto del embrión, la ausencia de endospermo y la presencia de tegmen, mientras que en los daños de Tipo II el embrión se encuentra vivo, hay daños en el endospermo y el tegmen puede estar o no dañado. Estos dos tipos de daños se pueden relacionar con la alimentación del chinche tras el endurecimiento de la testa. Raposo et al. (2016) estudiaron la presencia de daños de Tipo 0, I y II en piñas no aisladas en dos montes de Valladolid durante los meses de mayo y octubre del año 2015. Entre mayo y principios de junio identificaron mayoritariamente piñones abortados, coincidiendo con nuestros resultados durante abril y mayo (71,63% a 97,74%). Entre la segunda quincena de junio y julio la proporción de piñones dañados en monte fue del 10 - 20%, clasificándose dentro de las tipologías 0 y I. En nuestro estudio, los daños presentes en las piñas tratadas con *L. occidentalis* durante el mes de junio y la primera quincena de julio fueron claramente superiores, tomando valores entre 49,39 y el 60,49%, y siendo mayoritariamente de Tipo I. A partir de la segunda quincena de julio los daños disminuyeron progresivamente hasta tomar valores similares a los observados en los controles (10 a 23%), similar a los encontrados en uno de los montes estudiados por Raposo et al. (2016).

La subdivisión de los daños Tipo I permitió relacionar el subtipo de I<sub>f</sub> con la alimentación de *L. occidentalis* a finales de la primavera, cuando tomó valores elevados y significativamente diferentes del resto de tratamientos. Por el contrario, los subtipos del daño II no mostraron ninguna tendencia significativa que permita asociarles a la alimentación del chinche en una época determinada.

No se observaron síntomas o signos externos específicos causadas por la alimentación de *L. occidentalis* sobre las piñas en ninguna de las tres edades.

Sánchez et al. (2013) realizaron un seguimiento detallado de la presencia de síntomas externos en piñas de *P. pinea* de 3<sup>er</sup> año en aquellas partes en las que el chinche introdujo la probóscide sin obtener resultados concluyentes. La ausencia de síntomas y signos externos sobre las piñas de *P. pinea* dificulta el establecimiento de una relación clara entre la presencia de *L. occidentalis* en los pinares con la disminución de la cosecha de piñón observada en los últimos años. Campbell and Shea, (1990) desarrollaron una técnica basada en la aplicación de rojo rutenio sobre las piñas para identificar las heridas de alimentación creadas por el chinche, aunque se trata de una técnica de tinción no destructiva para las semillas, no es específica para *L. occidentalis* y no permite evaluar de forma subjetiva los niveles de daño provocados por su alimentación durante el desarrollo de la piña. Por otra parte, varios autores han intentado desarrollar técnicas moleculares para la detección de saliva del chinche sobre los piñones, sin éxito o aplicación operativa (Bracalini et al. 2015; Lait et al., 2001; Lesieur et al., 2014a). La inexistencia de herramientas de seguimiento que faciliten el conocimiento de la biología y comportamiento de *L. occidentalis* en monte dificulta fuertemente la realización de otros estudios que conduzcan a resultados concluyentes. Nuevas investigaciones deberán abordar estos objetivos.

## Conclusiones

- *L. occidentalis* causó daños severos sobre las piñas de las que se alimentó.
- Se produjo un efecto estacional de la alimentación del chinche sobre la mortalidad de las piñas, el aborto de los piñones y tipo el tipo de daño de los piñones.
- El rendimiento de la cosecha de piñón tomó valores inferiores al 1% cuando la alimentación del chinche se produjo al principio de la temporada de desarrollo de las piñas (abril y mayo) y el porcentaje de piñones abortados tomó valores superiores al 70%.
- La alimentación de *L. occidentalis* previa el endurecimiento de la testa provocó el colapso del desarrollo del piñón.
- La proporción de piñones dañados, del total de no abortados, fue más de la mitad cuando la alimentación se sucedió en junio y la primera quincena de julio. Los piñones sin endospermo y embrión seco (Tipo I) fueron los más abundantes hasta la primera quincena de agosto.
- La alimentación del chinche en agosto y septiembre produjo una proporción similar de daños de tipo I y II, igual a la observada en los controles

## Agradecimientos

En primero lugar agradecer a mis padres toda la libertad, facilidades y medios que me han proporcionado para poder concluir mis estudios de máster. A Alberto Sacristán por los consejos durante la elaboración de este documento.

A mi tutor, Juan Alberto Pajares Alonso por dejarme formar parte del estudio sobre plagas de perforadores de piñas en *Pinus pinea* L, llevado a cabo por la Universidad de Valladolid en colaboración con la Junta de Castilla y León. Así como la gran atención dedicada durante el desarrollo del estudio y a la elaboración del documento.

A mi compañera de trabajo, Ana Ponce Díez, por todo el y esfuerzo dedicado en el seguimiento de la evolución de las piñas en campo, y durante la extenuante tarea de apertura manual y clasificación de los piñones. Todo ello durante los años 2015, 2016 y 2017.

A Gonzalo Álvarez Baz por la ayuda con el manejo del programa R y con los análisis estadísticos.

Por último, agradecer la ayuda de campo y el apoyo prestados por F.J. Gordo, en cuanto al acceso a la parcela de ensayos. A los agentes medioambientales del Servicio Forestal de Castilla y León y al personal del Centro de Sanidad Forestal de Castilla y León (Calabazanos, Palencia) por el envío de insectos silvestres para el establecimiento de la colonia en laboratorio.

Este trabajo forma parte del Proyecto PROPINEA, financiado por la Diputación de Valladolid, y del “Convenio de colaboración entre la Junta de Castilla y León y la Universidad de Valladolid para la realización de un estudio sobre plagas de perforadores de piñas en *Pinus pinea* L.”, financiado por la Junta de Castilla y León.

## Bibliografía

- AHN S. J., SON D., CHOO H. Y., PARK C. G., 2013. The first record on *Leptoglossus occidentalis* (Hemiptera: Coreidae) in Korea, a potential pest of the pinaceous tree species. *J Asia Pac Entomol* 16(3), 281-284.
- BARTA M., 2016. Biology and temperature requirements of the invasive seed bug *Leptoglossus occidentalis* (Heteroptera: Coreidae) in Europe. *J Pest Sci* 89(1), 31-44.
- BATES S. L., BORDEN J. H., 2005. Life table for *Leptoglossus occidentalis* Heidemann (Heteroptera: Coreidae) and prediction of damage in lodgepole pine seed orchards. *Agric Forest Entomol* 7(2), 145-151.
- BATES S. L., BORDEN J. H., KERMODE A. R., BENNETT R. G., 2000. Impact of *Leptoglossus occidentalis* (Hemiptera: Coreidae) on Douglas-fir seed production. *Agric Forest Entomol* 93(5), 1444-1451.
- BATES S. L., LAIT C. G., BORDEN J. H., KERMODE A. R., 2001. Effect of feeding by the western conifer seed bug, *Leptoglossus occidentalis*, on the major storage reserves of developing seeds and on seedling vigor of Douglas-fir. *Tree Physiol* 21(7), 481-487.
- BERNARDINELLI I., ZANDIGIACOMO P., 2001. *Leptoglossus occidentalis* Heidemann (Heteroptera, Coreidae): a conifer seed bug recently found in northern Italy. *J For Sci* 47(2), 56-58.
- BLATT S. E., 1994. An unusually large aggregation of the western conifer seed bug, *Leptoglossus occidentalis* (Hemiptera: Coreidae), in a man-made structure. *J Entomol Soc BC* 91, 71-72.
- BOE. 2013. Real Decreto 630/2013, de 2 de agosto, por el que se regula el Catálogo español de especies exóticas invasoras. No. 185, 08/07/2017.
- BRACALINI M., BENEDETTELLI S., CROCI F., TERRENI P., TIBERI R., PANZAVOLTA T., 2013. Cone and seed pests of *Pinus pinea*: assessment and characterization of damage. *J Econ Entomol* 106(1), 229-234.
- BRACALINI M., CERBONESCHI M., CROCI F., PANZAVOLTA T., TIBERI R., BIANCALANI C., MACCONI S., TEGLI S., 2015. Alien pest molecular diagnostics: can DNA traces be exploited to assess the damage caused by the western conifer seed bug on stone pine fructification?. *Bull Insectology* 68(1), 51-60.
- CALAMA R., GORDO F.J., MUTKE S., MADRIGAL G., CONDE M., RAPOSO R., ELVIRA M., PARDOS M., 2017. Variabilidad espacio-temporal en el daño asociado a *Leptoglossus occidentalis* en pinares de *Pinus pinea* de la provincia de Valladolid. 7º Congreso Forestal Español. Plasencia (Cáceres), España, jun 26 – 30.
- CAMPBELL B. C., SHEA P. J., 1990. A simple staining technique for assessing feeding damage by *Leptoglossus occidentalis* Heidemann (Hemiptera: Coreidae) on cones. *Can Entomol* 122(5), 963-968.

- CONDE M., MADRIGAL G., MUTKE S., PARDOS M., GARRIGA E., MONTERO G., 2016. Pérdidas de rendimiento de piña y piñón en las masas de *Pinus pinea*. Jornada Final del Proyecto Propinea. Pedrajas de San Esteban (Valladolid), España, feb 29.
- CONNELLY A. E., SCHOWALTER T. D., 1991. Seed losses to feeding by *Leptoglossus occidentalis* (Heteroptera: Coreidae) during two periods of second-year cone development in western white pine. *J Econ Entomol* 84(1), 215-217.
- CRAWLEY M. J., 2012. *The R Book*. John Wiley & Sons, Chichester, UK. 942 pp.
- EPPO, 2010. *Leptoglossus occidentalis*: an invasive alien species spreading in Europe. EPPO Reporting Service Pests & Diseases, Paris, Francia. (1), 8-12.
- EUFORGEN, 2017. *Pinus pinea* distribution map [online]. Disponible en <http://www.euforgen.org/species/pinus-pinea/> [15 jul, de 2017].
- FAÚNDEZ E. I., ROCCA J. R., 2017. La chinche de las coníferas occidental, *Leptoglossus occidentalis* Heidemann (Heteroptera: Coreidae) en Chile; rápida expansión, posibles impactos y desafíos. *Rev Chil Entomol* 42, 25-27.
- FENT M., KMENT P., 2011. First record of the invasive western conifer seed bug *Leptoglossus occidentalis* (Heteroptera: Coreidae) in Turkey. *North-West J Zool* 7(1), 72-80.
- GALL W. K., 1992. Further eastern range extension and host records for *Leptoglossus occidentalis* (Heteroptera: Coreidae): Well-documented dispersal of a household nuisance. *Great Lakes Entomol* 25(3), 159-171.
- GALLEGO D., MÁS H., GONZÁLEZ-ROSA E., SÁNCHEZ-GARCÍA, F. J., 2013. Primeros resultados sobre el origen de las poblaciones de *Leptoglossus occidentalis* Heidemann, 1910 en la península Ibérica. 6º Congreso Forestal Español. Vitoria, España, jun 10 – 14.
- GIL SÁNCHEZ L., TORRE ANTTÓN M. (ed), 2007. Atlas forestal de Castilla y León. Junta de Castilla y León. Conserjería de Medio Ambiente, Valladolid. Vol.I 388 pp., vol.II 492 pp.
- JAMÁA M.B., MEJRI M., NAVES P., SOUSA E., 2013. Detection of *Leptoglossus occidentalis* Heidemann, 1910 (Heteroptera: Coreidae) in Tunisia. *African Entomol* 21(1), 165-167.
- KOERBER T.W. 1963. *Leptoglossus occidentalis* (Hemiptera, Coreidae), a newly discovered pest of coniferous seed. *Ann Entomol Soc Am* 56(2), 229-234.
- KRUGMAN S. L., KOERBER T. W., 1969. Effect of cone feeding by *Leptoglossus occidentalis* on ponderosa pine seed development. *Forest Sci* 15(1), 104-111.
- LAIT C. G., BATES S. L., KERMODE A. R., MORRISSETTE K. K., BORDEN J. H., 2001. Specific biochemical marker-based techniques for the identification of damage to Douglas-fir seed resulting from feeding by the western conifer seed bug, *Leptoglossus occidentalis* Heidemann (Hemiptera: Coreidae). *Insect Biochem Mol Biol* 31(6), 739-746.

- LESIEUR V., COURTIAL B., ROQUES A., AUGER-ROZENBERG M. A., 2014. Isolation and characterization of 11 polymorphic microsatellite markers in the highly invasive Western conifer seed bug, *Leptoglossus occidentalis* (Heteroptera, Coreidae). *Conserv Genet Resour* 6(3), 617-619.
- LESIEUR V., YART A., GUILBON S., LORME P., AUGER-ROZENBERG M. A., ROQUES A., 2014. The invasive *Leptoglossus* seed bug, a threat for commercial seed crops, but for conifer diversity?. *Biol Invasions* 16(9), 1833-1849.
- MAPAMA, 2017. Anuario de Estadística Forestal 2013. Anuarios de Estadística Forestal [online]. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente, Madrid, España. Disponible en [http://www.mapama.gob.es/es/desarrollo-rural/estadisticas/anuario2013definitivo\\_tcm7-407696.pdf](http://www.mapama.gob.es/es/desarrollo-rural/estadisticas/anuario2013definitivo_tcm7-407696.pdf) [8 jul, de 2017].
- MAPCHART, 2016. Custom map creator [online]. Disponible en <https://mapchart.net/> [15 jul, de 2017].
- MAS H., NAYA M., PÉREZ-LAORGA E., AGUADO A., MARCO M., ARAGONESES J., RODRIGO E., 2013. Estudio del ciclo biológico de *Leptoglossus occidentalis* Heidemann, 1910 (Hemiptera, Coreidae) en la Comunitat Valenciana. 6º Congreso Forestal Español. Vitoria, España, jun 10 – 14.
- MUTKE S., CALAMA R., 2016. Producción de Piña y Rendimiento en Piñón en los Países Mediterráneos. Jornada Final del Proyecto Jornada Final del Proyecto Propinea. Pedrajas de San Esteban (Valladolid), España, feb 29.
- MUTKE S., 2010. Fenología de *Pinus pinea* L. en un Banco Clonal (Valladolid). Proyecto Fin de Carrera. Escuela Técnica Superior de Ingenierías Agrarias, Universidad de Valladolid, Palencia, España. 94 pp.
- MUTKE S., CALAMA R., GONZÁLEZ-MARTÍNEZ S. C., MONTERO G., JAVIER GORDO F., BONO D., GIL L., 2012. Mediterranean Stone Pine: Botany and Horticulture. In: *Horticultural reviews* (Janick J., ed). John Wiley & Sons, USA. pp. 153-201.
- MUTKE S., CALAMA R., GORDO J., NICOLÁS J.L., HERRERO N., ROQUES A., 2015. Pérdida del Rendimiento en Piñón Blanco de *Pinus pinea* en Fábrica – *Leptoglossus occidentalis* y la Seca de la Piña. Poster III Reunión Científica de Sanidad Forestal SECF. Madrid, España, oct 7 – 8.
- MUTKE S., MARTÍNEZ J., GORDO J., NICOLÁS J.L., HERRERO N., PASTOR A., CALAMA R., 201. Severe Seed Yield Loss in Mediterranean Stone Pine Cones. Poster 5º International Conference on Mediterranean Pines (Medpine5). Solsona, Spain, Sep 22 – 26.
- PASEK J. E., ELLEN DIX M., 1988. Insect damage to conelets, second-year cones, and seeds of ponderosa pine in southeastern Nebraska. *J Econ Entomol* 81(6), 1681-1690.

- PÉREZ N., 2012. Primera Cita de la Chinche Americana del Pino *Leptoglossus occidentalis* Heidemann (Hemiptera: Coreidae) en la Provincia de León. S.E.A. 51, 311–312.
- PIMPÃO M. L. C., 2014. *Leptoglossus occidentalis*: bioecologia e previsão de impacte económico em Portugal. Tesis doctoral. Universidad de Lisboa, Lisboa.
- PONCE HERRERO L., RODRÍGUEZ GARCÍA N., PONCE DÍAZ A., PANDO FERNÁNDEZ V., PAJARES ALONSO J.A., 2017. Influencia de la Alimentación sobre distintas Especies de Pinos en la Progenie del Chinche de las Piñas *Leptoglossus occidentalis* (Hemiptera: Coreidae). 7º Congreso Forestal Español. Plasencia (Cáceres), España, jun 26 – 30.
- RABITSCH W., 2008. Alien true bugs of Europe (Insecta: Hemiptera: Heteroptera). Zootaxa 1827, 1-44.
- RAPOSO R., ELVIRA M., MUTKE S., PASCUAL S., PARDOS M., CALAMA R., GORDO F.J., 2016. Evolución de daños en piña inmadura de *Pinus pinea* L. Jornada Final del Proyecto Propinea. Pedrajas de San Esteban (Valladolid), España, feb 29.
- ROVERSI P. F., STRONG W. B., CALECA V., MALTESE M., SABBATINI PEVERIERI G., MARIANELLI L., MARZIALI L., STRANGI A., 2011. Introduction into Italy of *Gryon pennsylvanicum* (Ashmead), an egg parasitoid of the alien invasive bug *Leptoglossus occidentalis* Heidemann. Bull OEPP 41(1), 72-75.
- SÁNCHEZ G., HERRERO N., AGUADO A., LEÓN D., PÉREZ F., GONZÁLEZ E., 2013. Seguimiento de *Leptoglossus occidentalis* (Heidemann, 1910) en la Red de Centros Nacionales de Recursos Genéticos Forestales del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. 6º Congreso Forestal Español. Vitoria, España, jun 10 – 14.
- SCHOWALTER T. D., SEXTON J. M., 1990. Effect of *Leptoglossus occidentalis* (Heteroptera: Coreidae) on seed development of Douglas-fir at different times during the growing season in western Oregon. J Econ Entomol 83(4), 1485-1486.
- SHEA P. J., HARVERTY M. I., DATERMAN G. E., 1986. Impact of insects and methodology for monitoring insects in western pine seed orchards. Proc. 2<sup>nd</sup> Conference of the Cone and Seed Insects Working Party S2.07-01. Briançon, France, Sep 3-5. Vol. 2, pp. 07-01.
- STRONG W., 2016. Lodgepole pine seedset increase by mesh bagging is due to *Leptoglossus occidentalis* (Hemiptera: Coreidae) exclusion. J Entomol Soc BC 112, 3-18.
- STRONG W. B., 2006. Seasonal changes in seed reduction in lodgepole pine cones caused by feeding of *Leptoglossus occidentalis* (Hemiptera: Coreidae). Can Entomol 138(6), 888-896.

- STRONG W. B., BATES S. L., STOEHR M. U., 2001. Feeding by *Leptoglossus occidentalis* (Hemiptera: Coreidae) reduces seed set in lodgepole pine (Pinaceae). *Can Entomol* 133(6), 857-865.
- TAYLOR S. J., TESCARI G., VILLA M., 2001. A nearctic pest of Pinaceae accidentally introduced into Europe: *Leptoglossus occidentalis* (Heteroptera: Coreidae) in Northern Italy. *Entomol News* 112(2), 101-103.
- THE R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2017. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponible en URL:<http://www.r-project.org>.