

# ÍNDICE

## RESUMEN / ABSTRACT

<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	<b>7</b>
<b>1. Plantaciones truferas</b>	<b>7</b>
1.1. La encina como árbol trufero	9
1.2. Diversidad ecológica	12
1.2.1. Diversidad vegetal	12
1.2.2. Entomofauna de una plantación trufera	13
1.2.3. Importancia de la diversidad de una plantación trufera	23
1.3. El cultivo de la trufa estudiado como sistema agroforestal	23
<b>2. Manejo de una plantación trufera</b>	<b>27</b>
<b>II. OBJETIVOS</b>	<b>31</b>
<b>III. MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>33</b>
<b>1. Localización y descripción de las zonas de estudio</b>	<b>33</b>
<b>2. Climatología de las zonas de estudio</b>	<b>37</b>
<b>3. Descripción de los ensayos a realizar</b>	<b>42</b>
3.1 Ensayos en campo	43
3.1.1 Aplicación de sustancias tensoactivas	43
3.1.2 Trampeo con mangas entomológicas	45
3.2 Ensayos en laboratorio	47
3.2.1 Realización de cámaras de cría	48
3.2.2 Diseño experimental	51
3.2.3 Realización de cámaras húmedas	52
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>55</b>
<b>1. Aplicación de jabón potásico</b>	<b>57</b>
<b>2. Evolución de cámaras de cría</b>	<b>59</b>
<b>3. Identificación de artrópodos</b>	<b>64</b>
<b>4. Estadísticas de parasitismo</b>	<b>74</b>
<b>5. Evolución de cámaras húmedas</b>	<b>81</b>
<b>V. CONCLUSIONES</b>	<b>83</b>
<b>VI. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>85</b>



**RESUMEN**

La trufa negra (*Tuber melanosporum* Vittad.) se ha revelado como una actividad agroforestal innovadora que amplía horizontes, plantea nuevos retos y ofrece nuevas oportunidades, y que, a la luz de los resultados obtenidos, se muestra como un factor primordial de desarrollo territorial de las zonas calizas, cuya introducción puede contribuir a mejorar la función social de la agricultura.

En la explotación de este tipo de cultivo con fin de producción hay que decir que existen gran variedad de insectos y enfermedades que atacarán a la plantación y, teniendo que cuenta que como cultivo en explotación es relativamente joven, todavía faltan muchos estudios para identificar plagas y enfermedades además de otros factores de cultivo.

En relación a este aspecto se ha estudiado la incidencia de himenópteros endémicos de la fauna mediterránea sobre *Kermes* sp. para comprobar su capacidad de control sobre las poblaciones del mismo. Esto es porque a pesar de que *Kermes* sp. no sea un problema grave para los montes españoles debido a su ciclo o la violencia de sus ataques, si lo es para las plantaciones truferas.

Se ha visto que estos insectos parásitos y depredadores son suficientes para controlar la plaga de *Kermes* sp. de un año a otro en las plantaciones truferas mediterráneas.

Del mismo modo, también se estudió la acción de sustancias tensoactivas para combatir las poblaciones que puedan poner en peligro la supervivencia o la producción de un pie. Este jabón en suspensión con agua y aplicado mediante pulverización ha dado un buen resultado como controlador de grandes poblaciones de estos insectos.



**ABSTRACT**

The black truffle (*Tuber melanosporum* Vittad.) is emerging as an innovative product that expands horizons, poses new challenges and offers new opportunities. That fact, based on the obtained results it is shown as a major factor of territorial development of limestone areas, whose introduction may help to improve the social role of agriculture.

In the farming with this kind of crop which objective is the production of truffle it is important to mention that there are many insects and illness varieties which will attack the plantation. Considering that, this crop is too young as farming system, many studies must be done to identify pests and illness furthermore other crop factors.

In relation with this feature, the incidence of endemic Mediterranean wasps over *Kermes* sp. has been studied to prove the control capacity over those insect population. *Kermes* sp. is not a serious problem to Spanish mountains due to its vital cycle and/or the violence of its attacks. Regardless it is a serious problem for truffle crops destined to produce.

These parasite and predator insects have been observed being enough to control *Kermes* sp. pests from year to year in Mediterranean truffle plantations.

In the same way, the action of tensoactive substances also has been studied to fight those populations which could endanger either tree survival or production. This soap in water suspension and applied through pulverization has obtained good results as a controller of large population of those insects.



## I. INTRODUCCIÓN

### 1. Plantaciones truferas

El sistema de producción de trufa negra, *Tuber melanosporum* Vittad, puede definirse como agro-forestal ya que es una actividad de transición entre el medio forestal y el agrícola.

Las propiedades de carácter forestal son debidas a la presencia masiva de árboles como soporte aéreo/externo del cultivo propiamente dicho, el hongo interno en el suelo en simbiosis con los mismos, las escasas prácticas culturales realizadas y fundamentalmente los largos períodos de tiempo en que se mueve la inversión. Por otro lado, con lo agrícola coincide en la multitud de técnicas culturales y especialmente en el uso de tierras utilizadas para cultivos clásicos tradicionalmente (Fig. 1).



**Figura 1.** Véase valla cinegética delimitadora de parcelas, la disposición de los pies dentro de la misma y la ausencia de estrato arbóreo o arbustivo entre ellos.

Desde un punto de vista agrícola, la trufficultura se fundamenta en los principios de la agricultura ecológica que tan solo pretende, mediante la utilización de conocimientos científicos tradicionales, que las entradas del exterior al sistema sean las mínimas posibles, es decir, evitando el uso de insecticidas o fertilizantes sintéticos, drogas, genética modificada, aditivos u otros tipos de agentes externos (REYNA, 2012).

La truficultura cumple los principales criterios y objetivos para la agricultura y selvicultura ecológica (ASE) que pueden ser resumidas de acuerdo con (REYNA, 2012) en:

1. Producir alimentos de calidad nutritiva, sanitaria, organoléptica, social y ética elevada, y en cantidades razonables.
2. Obtener otros productos agrarios no alimentarios (forestales, textiles, ornamentales, lana, pieles, tinturas,...) acordes con las reglas y orientaciones de la ASE.
3. Trabajar en armonía con los agro-ecosistemas y bosques, manteniendo y revitalizando su integridad, alcanzando una producción sostenida; buscar la eficiencia funcional de los agro-ecosistemas preservando su estructura y la interrelación entre sus componentes y mantener la productividad ecológica de los bosques.
4. Elegir sistemas de gestión para mantener y mejorar la salud y la fertilidad de la tierra, su actividad biológica, su naturaleza física y mineral, las interrelaciones entre los biota del suelo, las plantas y los animales, etc. como medio para proporcionar un suministro equilibrado de nutrientes para la vida animal y vegetal, así como para conservar el agua y los recursos del suelo.

Existen cinco propiedades que son las más importantes del sistema agrario, en este caso agroforestal, englobadas en dos grupos de características, ecológicas (productividad, estabilidad y sostenibilidad) y sociales (equidad y autonomía) (LOOMIS y CONNOR, 2002).

Las propiedades ecológicas del sistema agrario son aquellas que aseguran el mantenimiento de la explotación agraria en el tiempo, ya que, productividad y estabilidad determinan la capacidad de la tierra de producir.

La sostenibilidad se establece sobre tres pilares básicos que deben prolongarse en el tiempo: rentabilidad económica, estabilidad social y compatibilidad con la conservación de la biodiversidad y la mejora del medio ambiente (REYNA, 2012). Lo cual relaciona directamente las características ecológicas y sociales.

En este sentido el desarrollo de la truficultura como alternativa a los cultivos tradicionales en aquellas zonas con bajos niveles de rendimiento, es una actividad interesante que fomentar por varias razones, la primera y más importante es que el desarrollo de esta actividad produce un alimento muy escaso en el planeta y a su vez



muy cotizado, con lo que prácticamente esta asegurada la venta del mismo y, unido al hecho de que los precios en el mercado son muy elevados y se mantienen al alza, casi aseguran la renta del agricultor que se dedique al desarrollo de esta actividad, lo cual permite operar al agricultor, como se ha nombrado antes, con equidad y autonomía (en la sociedad) cosa que, a su vez, concuerda con las características sociales principales que se esperan/exigen de un sistema agrario (LOOMIS y CONNOR, 2002). De hecho, otro factor muy importante también es que debido a esto, las zonas geográficas con potencialidad trufera podrían obtener un impulso demográfico que evitase a corto plazo su despoblación.

El cultivo de la trufa se fundamenta en el establecimiento de un hongo en simbiosis con las raíces de ciertos árboles. Estos árboles se dan de manera espontánea en gran parte de los montes de nuestro país, si bien es cierto que el hongo *T. melanosporum* presenta diferencias en las necesidades climáticas y edáficas con sus huéspedes. Es por esto que a pesar de que haya varias especies de *Quercus* con que es capaz de vivir en simbiosis, la mejor con diferencia es *Quercus ilex* L. subsp. *Ballota* (Desf.) Samp. puesto que posee una plasticidad y adaptabilidad a las condiciones de las distintas geografías de la península inmejorables (JIMENEZ, 2002; RODÁ *et al.*, 2009; VALLADARES, 2008), es por eso por lo que mayoritariamente es esta especie la escogida de entre muchas para desarrollar esta actividad económica.

*Q. ilex*, que es el simbiote más utilizado en truficultura, se encuentra en los montes de la península ibérica de manera espontánea en gran parte de la geografía, presentando una amplia plasticidad ecológica. En cambio el hongo, por el contrario, es más exigente. El suelo es un factor limitante, ya que se requieren suelos calizos para su desarrollo y, por tanto, en ausencia de los mismos, a pesar de que el ejemplar aéreo sea capaz de sobrevivir, no fructificará el hongo. Por ello es cada vez más frecuente encontrar mapas de suelos con potencialidad trufera (ALONSO PONCE *et al.*, 2010; COLINAS *et al.*, 2007; INCAUSA, 2013; RUBINI *et al.*, 2011) que ayuden a técnicos y agricultores a conocer las zonas que mejor aptitud trufera presenten, en función tanto del suelo como del clima, minimizando riesgos en un cultivo muy rentable, pero con una elevada inversión inicial e incertidumbre en la puesta en marcha de la plantación.

### 1.1. La encina como árbol trufero

La **encina**, *Quercus ilex ilex* (encina) y *Quercus ilex* L. subsp. *ballota* (Desf.) Samp. (carrasca) (Fig. 2), es una especie arbórea (dos subespecies) cuya raíz pivotante es muy

potente desde la germinación y presenta desde una segunda fase gran cantidad de raíces secundarias funcionales. Se asienta sobre suelos calizos, silíceos y yesosos, rehusando los arcillosos, encharcados y compactos.

Habita zonas con precipitación anual desde 300-350 mm/año necesitando entre 50 y 250 mm en verano. La temperatura media en enero entre -3 y 11°C y la de Agosto entre 14 y 28°C. Su óptimo de crecimiento se encuentra entre 200 m y 1200-1400 m de altitud a pesar de que es capaz de vivir desde el nivel del mar hasta los 2200 m.s.n.m. Muy resistente al frío no sufre daños hasta temperaturas inferiores de -15 a -25°C (REYNA, 2012).



**Figura 2.** Encina en una dehesa y carrasca trufera.

Por todo ello es una planta muy adaptada a las condiciones climáticas de la Península Ibérica, de hecho, los encinares son uno de los tipos de hábitat con mayor extensión y mayor distribución territorial en España (RIVAS, 1987; RODÁ *et al.*, 2009).

Siendo estas las condiciones a que se adapta la encina, la **trufa** tiene menor plasticidad ecológica aunque siempre dentro de los rangos anteriormente comentados. Se trata de un hongo que, en España, se encuentra en climas de transición entre el atlántico y el mediterráneo, donde el atlántico se caracteriza por los veranos húmedos mientras que el mediterráneo presenta un período de aridez estival. Prefiere orientaciones sur, sureste, suroeste en clima mediterráneo xérico con tendencia continental. La trufa está adaptada a cierta carencia de agua durante el verano, pero rechaza las zonas más calurosas y secas de la península. Las zonas truferas se caracterizan por precipitaciones estivales superiores respecto al clima mediterráneo típico, entre 72-185 mm (OLIACH *et al.*, 2005) y un período de aridez estival relativamente corto. Estas precipitaciones presentan mayoritariamente un carácter convectivo.

Por otra parte, el rango de altitudes en que se encuentra presente varía con mínimos desde los 100 m.s.n.m. en Francia o Italia hasta los 1800 m.s.n.m. de máximos del sur de España (REYNA, 2012), siendo los óptimos entre 600 y 1200 m.s.n.m.

A pesar de todo lo cual, las condiciones edáficas son un factor limitante para la fructificación de la trufa negra. Los requerimientos de la trufa se centran en la composición del suelo en que prolifera siendo afín a suelos con presencia de caliza activa, con pH entre 7'5 y 8'5 y una relación carbono/nitrógeno entre 8 y 15 (SAEZ y DE MIGUEL, 1995).

Es por esto que el solapamiento de las condiciones que requiere la planta y aquellas que prefiere el hongo (Tabla 1), da como resultado las regiones para el cultivo óptimo de la trufa.

**Tabla 1.** Requerimientos climáticos de la trufa. Elaboración propia.

	C.T.F.C	P.TERUEL	REYNA	NAVARRA	LITAGO	SARRIÓN
<b>PRECIPITACIONES</b>						
Pp. anual	425 a 1500	463 a 934	425 a 962	600 a 900	410	560
Pp.verano	72 a 187	98 a 137		100 a 150	70 a 85	140
Pp. agosto		>25		> 50	29	62
<b>TEMPERATURAS</b>						
Temp. media anual (°C)	8'6 a 14'8	7'6 a 14'4	8'6 a 14'8	11 a 14	13'75	12'25
Temp. media del mes más cálido	17'4 a 23'5	16'9 a 23'1	17'44 a 23'2	< 20-22	23	21
Temp. media de máximas en mes más cálido	23 a 32		24'2 a 29'5	35 a 42	26 a 28	28 a 30
Temp. máxima absoluta	43		37'7 a 43		42'5 a 43	39'5 a 40
Temp. media mes más frío	1 a 8'2	1 a 8'2	2'3 a 8'2	> 2	6	5
Temp. media de mínimas en mes más frío	-6 a -2	-4'6 a 3'2	-1 a 3'8		0 a 2	-2 a 0
Temp. mínima absoluta	-25 a -9		-19 a -7	-9 a -25	-10 a -9	-13 a -11

C.T.F.C.: Guía para el cultivo de la trufa negra, C. T. Forestal de Cataluña, 2005.

P. Teruel: Modelo de potencialidad climática para la trufa negra en Teruel, 2010.

REYNA: Truficultura. Fundamentos y técnicas. Reyna, S, 2007. (Precipitaciones para España y Temperaturas para la Comunidad Valenciana).

NAVARRA: Guía práctica de truficultura. Sáez, R; de Miguel A. M<sup>a</sup>. 1995.

LITAGO: Zona de estudio 1 (CUADRAT *et al.* 2007).

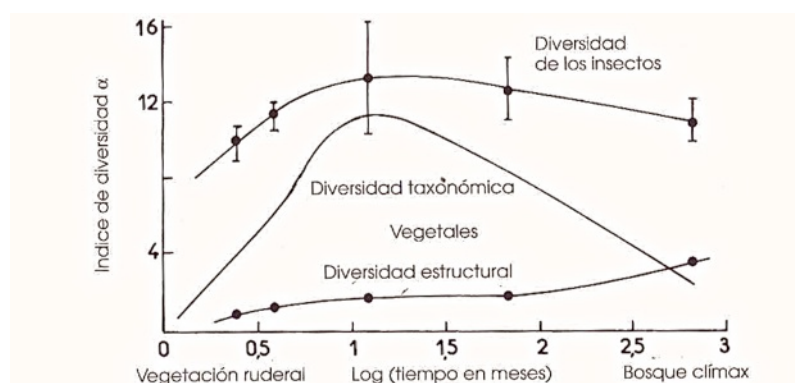
SARRIÓN: Zona de estudio 2 (CUADRAT *et al.* 2007).

## 1.2. Diversidad ecológica

### 1.2.1. Diversidad vegetal

La idea básica de la diversidad florística es que más diversa será cuánto mayor sea el número de especies funcionales que contenga (DE ZABALA *et al.*, 2008; FISCHBEIN, 2012) y, como la definición de grupo funcional depende enormemente del contexto (del factor ambiental que promueve la función), es un reto pendiente ligar los tipos funcionales tradicionales (tipos biológicos en respuesta al clima) y otros factores que puedan ser más críticos en la flora mediterránea (p.e. perturbación). De todos modos, debe ser esperada una interacción entre la respuesta funcional a distintos factores; así como especial es el significado de la relación positiva encontrada entre cobertura del bosque y diversidad de especies en las áreas de muestreo (JIMÉNEZ, 2002). Esto se manifiesta de manera más notable si cabe en el bosque mediterráneo, ya que espacialmente es más complejo que el templado debido a la presencia de mayor heterogeneidad ambiental (VALLADARES, 2008; BAUMGARTNER *et al.*, 2005).

Del mismo modo, los medios forestales y los abiertos de vegetación herbácea se diferencian porque los primeros poseen mayor heterogeneidad estructural tanto en el plano vertical, (manifestada como una estratificación que puede llegar a ser muy importante cuando los árboles alcanzan gran altura), como en el horizontal, (sobre todo en bosques primarios donde los claros alternan con parcelas en que los árboles tienen edad y estructuras diferentes) (Fig. 3). Pero es sin duda el de transición entre ambos medios el que alberga mayor diversidad ecológica debido a que es posible que coexistan especies que habitan los dos tipos de medio, creando así por tanto, zonas en que se encuentran tanto especies pertenecientes al bosque como al campo herbáceo abierto que se relacionan entre sí (DAJOZ, 2001).



**Figura 3.** Evolución de la diversidad específica, evaluada con la ayuda del índice de evolución de Williams, de los vegetales y los insectos (Coleópteros y Heterópteros), y evolución de la diversidad estructural de la vegetación en el transcurso del tiempo a lo largo de una sucesión ecológica que lleva del estado pionero (vegetación ruderal) al estado de clímax (bosque) (Southwood *et al.* 1979) (DE LIÑÁN, 1998).

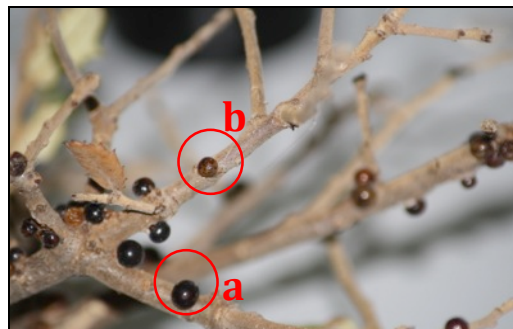
Asimismo, cuanto mayor sea la diversidad estructural de la vegetación de una región determinada y mayor sea la abundancia de especies vegetales presentes en la misma, mayor será la diversidad y la presencia de distintas especies de artrópodos en dicha región (DAJOZ, 2001). Esto se debe tanto a la diversidad estructural como al área de repartición y la antigüedad de la población, además de muchos otros factores que no son relevantes para la redacción del presente proyecto.

Por otro lado, y atendiendo al mismo principio, los ecosistemas naturales (bosques no gestionados) poseen tanto mayor diversidad como número de insectos que los ecosistemas modificados (agro-ecosistemas), lo que les confiere mayor plasticidad y estabilidad (DAJOZ, 2001).

Este hecho condiciona por completo la distribución de los pies dentro de la plantación y el posterior manejo que se llevará a cabo en las plantaciones truferas que sean implantadas con encinas micorrizadas ya que, cuanto mayor sea el número, tanto de encinas como de especies herbáceas presentes en la parcela, mayor será la cantidad de insectos y por tanto más estable será el agro-ecosistema (SANCHEZ-RUIZ *et al.*, 1997).

### 1.2.2. Entomofauna en plantaciones truferas

Al reino animal pertenecen una enorme variedad de ejemplares totalmente diferentes entre sí. De entre todos ellos la más numerosa es la clase artrópoda (los insectos), dividida en varios órdenes y subórdenes que a su vez se dividen en superfamilias, familias y subfamilias.



**Figura 4.** Ejemplares de *Kermes ilicis* (a) y *Kermes vermilio* (b) sobre una rama de *Quercus ilex*.

La diversidad de hábitats y modos de vida permite distinguir conjuntos de especies, o gremios, que cohabitan y que explotan los mismos recursos. Dentro de los cuales, existen diversos grupos que interesará estudiar debido a que a uno de ellos pertenece el

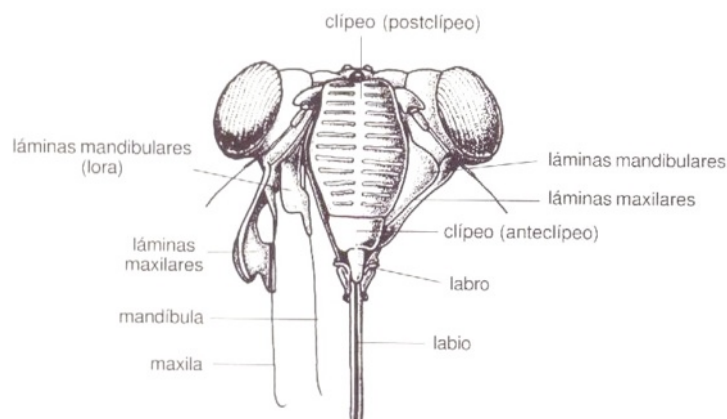
insecto plaga objeto de estudio en el presente trabajo (*Kermes* sp.), y el otro es un grupo muy extenso y al cual pertenecen gran número de especies depredadoras y parásitas, y es por esto por lo que merece la mención como posible grupo al que pertenezcan los mismos.

1. Chupadores de savia: son los homópteros (cochinillas, pulgones), Thrips y heterópteros (DAJOZ, 2001). Este es el grupo que nos interesa ya que, las especies objeto de este trabajo, *Kermes ilicis* y *Kermes vermilio* pertenecen a este orden *Homoptera* (DE LIÑÁN, 1998) (Fig. 4).
2. Especies gallícolas. Hay muchas especies de insectos que producen agallas (zoocecidios) sobre la encina, o que viven asociados a dichas agallas. Así, se conocen en España, sobre encina, 18 especies de cinípidos (himenópteros formadores de agallas), y 23 especies de calcidoideos (himenópteros parasitoides) asociados a estas agallas (RODÁ *et al.*, 2009).

### **Orden homóptera**

El orden Homóptera, que significa “alas iguales” incluye gran cantidad de especies de insectos muy diferenciados entre sí aunque también poseen varias características comunes. De entre ellas, las más importantes son: la especialización de las piezas bucales en un aparato perforador-suctor en forma de pico, la ausencia de cercos y la metamorfosis incompleta en casi todas las especies, siendo más habitual en hembras que en machos.

Se caracteriza por poseer una especialización de la estructura bucal que forma un pico perforador-suctor (Fig. 5). Las mandíbulas y maxilas están modificadas, transformadas en un estilete fino que en muchos casos son extremadamente largos. No existen palpos. Con este estilete se alimentan de los fluidos de las plantas produciendo importantísimos daños, tanto directos como indirectos. Mientras que los daños directos o primarios causados por la picadura, la inoculación de la saliva y la absorción de savia pueden provocar marchitamiento, defoliación, caída prematura de flores y frutos, deformación de brotes y hojas, formación de agallas o chancros en partes leñosas; los daños secundarios incluyen la transmisión de enfermedades.



**Figura 5.** Diagrama de las piezas bucales de *Cicada* (adaptado de Marlatt) (DE LIÑÁN, 1998).

El orden Homóptera se caracteriza por poseer una elevadísima tasa de natalidad como estrategia reproductiva para asegurar la supervivencia de la especie. Los cóccidos son ovovivíparos presentando distintas fases de transición hacia el viviparismo.

La presencia de glándulas de cera es frecuente en algunos grupos con función protectora. Generalmente unicelulares, se encuentran aisladas o formando grupos más o menos numerosos, hay casos en que se disponen bajo las placas esclerotizadas, perforadas por aberturas correspondientes a la salida de las glándulas. Generalmente en Cóccidos la cera forma una cubierta protectora que recibe el nombre de escudo (cuya forma, tamaño y color son muy importante para la determinación de la especie) (DE LIÑÁN, 1998; PLANES y CARRERO, 1995). (Fig. 6).

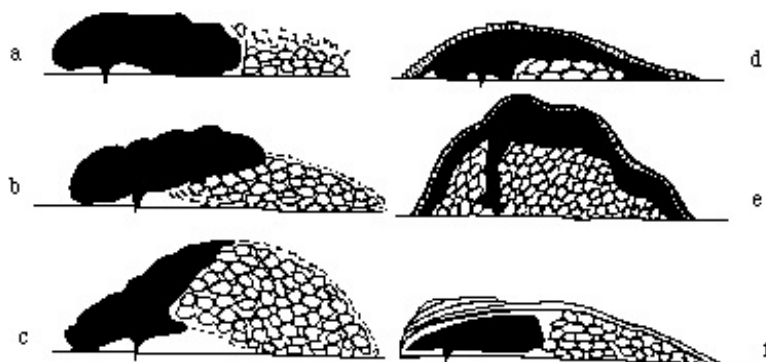
El orden Homóptera puede ser considerado sin ninguna duda como uno de los más perjudiciales para los intereses del hombre en el aprovechamiento agrícola y forestal (CARRERO, 1996; DE LIÑÁN, 1998).

Las diferentes especies de insectos que se pueden encontrar en una plantación trufera se verán condicionadas por la región geográfica en que se encuentra dicha plantación, al igual que la vegetación presente en los alrededores de plantaciones trufieras en distintas zonas geográficas será diferente (CARRERO, 1996).

Es por esto que podemos encontrar gran variedad de especies, familias e incluso órdenes diferentes en una misma parcela de estudio, y al mismo tiempo, debido a la especificidad de los encinares mediterráneos, se encuentran diferentes especies del mismo género de artrópodo en función de la zona geográfica que se estudie.

Cuando no provocan la muerte del árbol los insectos defoladores o chupadores de savia pueden retrasar el crecimiento, fenómeno que se ha intentado medir (DAJOZ, 2001). Salvo determinadas excepciones, los homópteros no producen defoliación y aparentemente ningún daño. Sin embargo sus tomas de savia elaborada pueden

repercutir sobre el crecimiento. Por otra parte, las cochinillas a estudiar en el presente proyecto (*Kermes* sp.) producen tanto depresión como defoliación del árbol atacado que, si las poblaciones son elevadas, serán intensas aunque nunca llegando a matar al árbol. Los parásitos primarios son insectos capaces de atacar árboles sanos, en buen estado fisiológico, y de proseguir su desarrollo (DAJOZ, 2001). Principalmente son insectos chupadores y defoliadores. Los parásitos secundarios son aquellos que dependen del hospedante para poder establecerse como parásito del mismo. En la naturaleza, ninguna especie mantiene sus efectivos constantes (BAUMGARTNER *et al.*, 2005; CARRERO, 1996; FISCHBEIN, 2012). Existen variaciones de abundancia más o menos importantes en el transcurso de un año o de un año al otro. Hay cuatro tipos de fluctuaciones de abundancia. Tipo latente es caracterizado por las fluctuaciones de poca amplitud que se mantienen siempre por debajo del umbral de tolerancia. Tipo estable corresponde a especies cuyos efectivos varían poco pero que están siempre por encima del umbral de tolerancia (más raras en bosques que en cultivos). Tipo temporal corresponde a parásitos ocasionales, es decir a parásitos secundarios y parásitos primarios periódicos. Tipo periódico esta caracterizado por las gradaciones cíclicas más o menos regulares cuya amplitud varía de una especie a otra y para la misma especie de una región a otra.



**Figura 6.** Corte esquemático del cuerpo (en negro) y localización de la puesta de huevos en varias familias de cochinillas (superfamilia Coccoidea). A y D, familia Coccidae (= Lecaniidae); C, familia Ortheziidae; E, familia Pseudococcidae; F, familia Diaspididae. (García Mari *et al.*, 1989).

Por otro lado, se estudió el orden *Hymenoptera* por poseer el mayor número de especies que parasitan otros insectos y, debido a que muchas especies gallícolas se incluyen en este orden y son muy abundantes en *Quercus* sp., y ya que pertenecen a un grupo de insectos que podría ser potencialmente al que pertenezcan los insectos parásitos de *Kermes* sp. no podían ser obviadas sin estudiar esa posibilidad, dado que en



ultima instancia uno de los objetivos del proyecto es determinar que especie de insecto es capaz de parasitar las hembras de *Kermes* sp. Existen cerca de 140 especies de cinípidos en la Península Ibérica inductores de formación de agallas, de las cuales el 70% esta asociado a plantas del género *Quercus* sp. (NIEVES-ALDREY, 1998).

### *Kermesidae*

Pertenece a la superfamilia *Coccoidea*, la cual incluye gran cantidad de insectos.

Las cochinillas son unos insectos pequeños cuyo desarrollo es heterometábolo (metamorfosis simple) para las hembras, mientras que los machos muestran un desarrollo holometábolo (metamorfosis completa). Las larvas hembra de estos insectos siempre son ápteras y sufren un número reducido de mudas y escasa transformación. Por otro lado, los machos de estos insectos son alados y para ello sufren mayor número de transformaciones que las hembras además, las piezas bucales de los machos están atrofiadas, perdiendo toda su funcionalidad.

Dado que los ciclos biológicos de ambas especies de insectos son prácticamente idénticos y que se aprecia la presencia de *Kermes* sp. indistintamente, se puede describir el ciclo biológico de una de ellas atendiendo que para la otra especie sería igual con una ligera variación temporal. Esta libertad decide tomarse debido a que la diferencia estacional entre el ciclo biológico de una especie y el de la otra no influye para nada en el estudio a realizar.

### *Kermes* sp.

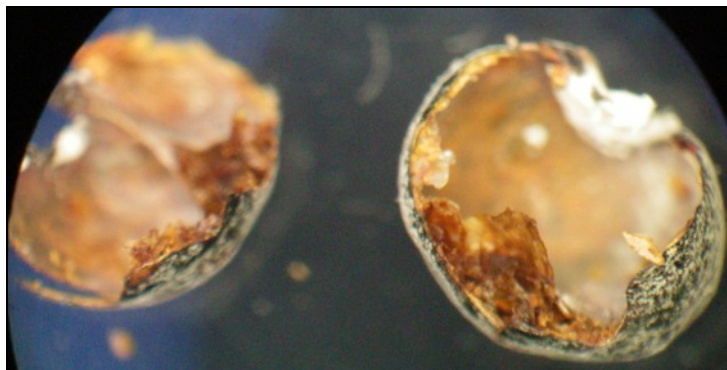
*Kermes* sp. es un Género de homóptero que dentro de la superfamilia *Coccoidea* pertenece a la familia *Kermesidae* que preferentemente parasita árboles del género *Quercus*, siendo observados fundamentalmente sobre *Quercus ilex*.

### Ciclo de desarrollo y observaciones biológicas.



**Figura 7.** Placa Petri con el contenido del interior de una hembra de *Kermes* sp.

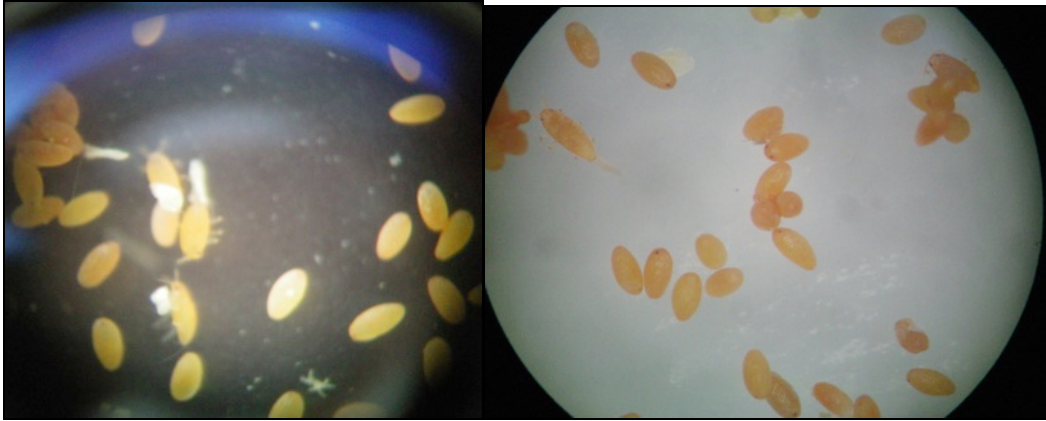
Las hembras realizan la puesta desde mediados del mes de junio hasta finales de julio. Un número muy elevado de huevos en cada puesta, (Fig. 7). Estos permanecen en la cavidad cerrada que forma el cuerpo de la hembra muerta (Fig. 8). Son de forma oval alargada, presentan una tonalidad naranja pálido y aparecen recubiertos por la secreción cérica de la hembra. Su longitud varía entre 0'37-0'42mm y su diámetro entre 0'17-0'22mm (MARTÍN BERNAL *et al.*, 2002).



**Figura 8.** Detalle del interior vacío de hembras de *Kermes ilicis* muertas.

Una vez eclosionados todos los huevos, las larvas comienzan a salir en el mes de julio del receptáculo formado por la hembra. Presentan una coloración rojo intenso y aparecen recubiertas por una fina película cérica que ellas mismas segregan a través de unos tubérculos interiores (MARTÍN BERNAL *et al.*, 2002). Las larvas recién nacidas son muy activas, durante los primeros 15 días efectúan desplazamientos; viéndoseles desde encima del saco materno, hasta en los brotes externos de los árboles infectados (MALUMPHY, 2008). Transcurrido este tiempo las larvas se fijan a la corteza, clavando el estilete para su alimentación; preferentemente en la base del pecíolo de las

hojas, en las yemas o en las axilas de las ramas. Su capacidad de desplazamiento no es suficiente para pasar de un árbol a otro, por lo que el viento (GARCÍA MARÍ *et al.*, 1989) y las aves deben de tener un papel importante en la expansión de este insecto (IBARRA *et al.*, 2001).



**Figura 9.** Se distinguen huevos, ninfas de primera generación, de segunda (con patas y antenas). Apreciar que algunos ejemplares acaban de realizar la muda, llevando consigo el exoesqueleto anterior.

La diferenciación de los distintos estadios larvarios que presenta la generación anual del insecto es una labor difícil debido a la escasa variedad que hay entre un estado y el posterior (IBARRA *et al.*, 2001) (Fig. 9). Una vez fijadas por vez primera en el verano, las larvas detienen su crecimiento cuando las temperaturas les son desfavorables hasta mediados del mes de febrero del año siguiente, a partir de esta fecha prosiguen su evolución.



**Figura 10.** Diversos tipos de protección de las hembras de la superfamilia Coccoidea. 1 y 2, cuerpo abombado y endurecimiento de la cutícula dorsal; 3, 4 y 5, secreciones cerasas algodonosas, pulverulentas o compactas; 6, secreciones cerasas junto a las cascas unidas a exuvios de mudas. (García Mari *et al.*, 1989).

A mediados de mayo las larvas comienzan a adoptar el aspecto típico de la hembra. Pasando progresivamente a tener forma circular, con la cutícula brillante de color marrón uniforme (*K. vermilio*) y marrón claro moteado con una capa fina capa de polvillo (*K. ilicis*) y transformándose progresivamente en hembras ápodas. (Fig. 10) (MALUMPHY, 2008; MARTÍN BERNAL *et al.*, 2002).



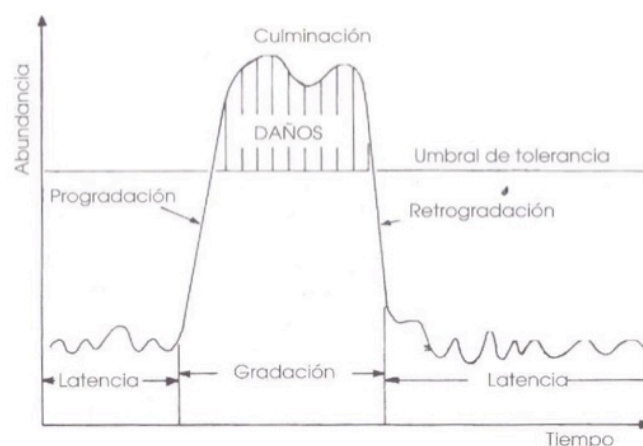
### Daños y elementos de diagnóstico

Como todos los insectos chupadores, los daños directos se asocian a la succión de savia. Esta cochinilla, mediante sus "picaduras", debilita al árbol atacado provocando un amarillamiento progresivo de las hojas y ramilletes terminales afectados y reduciendo el número de brotes (IBARRA *et al.*, 2001; MALUMPHY, 2008).

Los daños ocasionados por un ataque masivo de este insecto no comprometen la supervivencia de la planta, aunque se puede llegar a producir una pérdida total de follaje (IBARRA *et al.*, 2001; MALUMPHY, 2008; MARTÍN BERNAL *et al.*, 2002).

La distribución de este insecto en las masas de *Quercus ilex* es bastante amplia, siendo mayor de lo que se observó en un principio en nuestra comunidad autónoma: Aragón; y no encontrando ningún patrón geográfico que explique el mayor o menor grado de incidencia en las diferentes masas (IBARRA *et al.*, 2001). En muchas ocasiones se achacan los daños al proceso de decaimiento que está afectando a las masas de quercíneas en los últimos años. Se ha comprobado que en las zonas donde se han producido defoliaciones fuertes no se repite el ataque al año siguiente, disminuyendo notablemente el número de adultos encontrados, hecho explicable mediante la teoría de regulación de poblaciones en el medio de manera natural (FISCHBEIN, 2012). Del mismo modo, se ha contrastado que las encinas frecuentemente afectadas son aquellas que crecen de forma aislada o en los lindes de los campos (IBARRA *et al.*, 2001).

Siempre hay que tener en cuenta que las poblaciones de plaga que afecten a un medio determinado sean lo suficientemente grandes como para que los daños producidos por las mismas sobrepasen el umbral de tolerancia de la especie hospedante, puesto que, en caso contrario no sería necesaria ninguna acción sobre la población de plaga existente en la plantación debido a la propia regulación del medio (Fig. 13).



**Figura 13.** Representación esquemática de las variaciones de abundancia de un insecto en el transcurso de una fase de gradación. Cuando la población sobrepasa el umbral de tolerancia aparecen los daños (área rayada).

Como elementos de diagnóstico se pueden observar:

1. Síntomas de decaimiento como pueden ser puntisechado y una defoliación parcial o total.
2. Aparición de ramillas secas alternando, a veces en el mismo nudo, con brotes de la misma edad en perfecto estado.
3. Presencia de la hembra adulta (o restos de ella) localizada generalmente en la base de las hojas, en las yemas o en las axilas de las ramas de los árboles afectados.

### **Métodos de control y lucha**

Los tratamientos químicos dirigidos a controlar la plaga quedan limitados a aquellas zonas en las que existe un ataque intenso, donde se aprecian graves defoliaciones o pueden producirse daños económicos importantes. Estos tratamientos se realizarán durante la época de verano, cuando comienzan a nacer las larvas, siendo el mejor momento al advertir su presencia. El control químico de las hembras resulta complicado por la secreción cérea que las recubre y dificulta la acción de los insecticidas.

Este insecto cuenta con un gran número de enemigos que mantienen controlada su población de forma natural (IBARRA *et al.*, 2001). En la mayoría de las parcelas muestreadas se ha observado una evolución paralela del coleóptero coccinélido, *Exochomus quadripustulatus*, que tanto en su forma larvaria como en su estado adulto se alimenta de las larvas de *Kermes vermilio* (MARTÍN BERNAL *et al.*, 2002).

Por otro lado, aparece un hemíptero perteneciente a la familia *Platigasteridae*, que se aloja en la hembra adulta alimentándose de su interior. Su presencia en las zonas afectadas es muy elevada y es fácilmente reconocible por los agujeros que realizan para salir al exterior en el "caparazón" de la hembra adulta.

Si el ataque no es muy intenso se recomienda no ejercer ningún tipo de control químico sobre este hemíptero, dejando que los depredadores y parásitos regulen la población.

Las intervenciones químicas deben cumplir con la legislación vigente; los productos químicos tienen que estar inscritos en el Registro Oficial de Productos Fitosanitarios del MAPA y autorizados para tratamientos contra este insecto (MARTÍN BERNAL *et al.*, 2002).

### 1.2.3. Importancia de la diversidad ecológica de una plantación trufera

La importancia de la diversidad ecológica tanto en sistemas agrarios, forestales como agroforestales se debe, básicamente, al principio por el cual se indica que las distintas poblaciones de diferentes especies de insectos son capaces de autorregularse y mantener un equilibrio poblacional relativamente controlado en el tiempo y el espacio (MARGALEF, 1986; SÁNCHEZ-RUIZ *et al.*, 1997).

Además es un continuo intercambio energético y de nutrientes tremendamente importante para la conservación del medio; ayudan a la polinización, redistribución de la masa vegetal, del agua y la materia orgánica (DE ZABALA *et al.*, 2008).

A pesar de todo lo cual, pueden derivarse ciertos problemas debidos a la enorme heterogeneidad que se da dentro de los encinares. Pocos tipos de hábitat tienen un rango climático, edáfico, geográfico, y de historia de usos tan amplio como los encinares (JIMÉNEZ, 2002). Inevitablemente, esto conlleva una enorme variación en las estructuras de la masa, los procesos ecológicos (por ejemplo dinámicas regenerativas) y en la composición biótica (RODÁ *et al.*, 2009).

### 1.3. El cultivo de la trufa estudiado como sistema agroforestal

Los montes son organismos vivos que evolucionan y se mueven tanto en el espacio como en el tiempo. Una plantación trufera que se encuentre cercana al monte se verá influenciada por él, del mismo modo que una linde afecta a un campo de cultivo. Éste se convertirá en cobijo de todas las especies animales o fúngicas tanto maliciosas como beneficiosas para la plantación. Ofrecerá su protección pero también traerá todas esas especies indeseables. Por ello, se pretende conseguir que la interacción con él sea lo menos agresiva posible.

En el monte tipo mediterráneo las dos características más relevantes son la heterogeneidad y vulnerabilidad del sistema, por tanto, es un ecosistema cubierto de una amplia capa de especies (y subespecies) vegetales tanto herbáceas como leñosas muy diferentes entre sí pero con una base genética arcaica que limita su supervivencia (JIMÉNEZ, 2002; RIVAS, 1987) (Fig. 15). Además conviven soportando una climatología no muy favorable para el crecimiento vegetal, veranos muy calurosos, inviernos secos y lluvias torrenciales que eliminan el suelo; es por esto que cerca del 30% de las especies que conviven en la superficie de la Península Ibérica ocupada por el monte mediterráneo son endémicas de la zona. La diversidad vegetal característica de este tipo de bosque es causa de una amplia diversidad animal. La biodiversidad de un

paisaje es muy importante puesto que cuanta mayor base genética contenga, mayor será su capacidad regenerativa; si a esto le unimos el hecho antes mencionado de que el clima mediterráneo no es muy benévolo con el desarrollo vegetal, obtenemos que si no fuese debido a esta gran diversidad floral y animal el bosque mediterráneo tendría verdaderos problemas para persistir a la acción del hombre (VALLADARES, 2008).



**Figura 14.** Véase al fondo el monte mesomediterráneo y su relativa similitud con la parcela.

Generalmente, la truficultura se da como alternativa de cultivo en regiones dónde la productividad real del terreno implantado con cultivos típicos de la zona es muy baja. En estas zonas y aquellas demasiado inaccesibles para la maquinaria o con climatología limitante para la supervivencia de los cultivos, la truficultura es una alternativa de cultivo interesante (Fig. 14).

Por tanto, con ecologías similares, dos ecosistemas contiguos no deberían ser tratados como aislados o incluso ignorar el hecho de que no habrá intercambio biológico entre ambos; existe una continua afluencia de organismos tanto del monte hacia las parcelas preparadas como viceversa (BAUMGARTNER *et al.*, 2005; SÁNCHEZ-RUIZ *et al.*, 1997).

De este modo una plantación trufera no puede ser analizada como algo ajeno a su entorno ya que los agentes que afectan al área forestal colindante serán los que afecten a las plantas hospedantes de la plantación (Fig. 15).





**Figura 15.** La cercanía del bosque hace que las plantaciones truferas se vean influenciadas por las poblaciones de insectos que las ocupan.

La trufa es un producto muy delicado que se ve afectado por la más mínima variación del entorno que la rodea. En el aprovechamiento agrícola de la trufa existen muchas amenazas que pueden causar el descenso de la producción o el deterioro de la misma, tales como hongos invasores que evitan la proliferación de *Tuber* sp., otros que afectan al cuerpo fructífero igual que ciertos nematodos, moscas que realizan la puesta en el interior del pericarpo con lo que se pudre ese ejemplar de trufa o escarabajos que las devora. Además de tener que lidiar con todo este amplio abanico de seres indeseables para la plantación trufera, el truficultor también tiene que tener en cuenta todos los patógenos e insectos que afectan a la planta utilizada como hospedante del hongo de la trufa en una determinada plantación. El abanico de posibilidades que se abre pues ante el agricultor es enorme porque ya no tiene que preocuparse solo de aquellos organismos que dañan la trufa, sino también de los que dañan el árbol puesto que si los árboles no tienen el suficiente vigor y salubridad para rechazar patógenos, podría ser causa de disminución de la producción o lo que es peor aún, la muerte del ejemplar, con lo que este hecho conllevaría (arranque, saneamiento, replantación...).

En este proyecto se ha estudiado dos especies de insecto específico de entre todos los patógenos posibles: *Kermes ilicis* y *Kermes vermilio*, pertenecientes a la familia *Kermesidae* del orden *Homoptera*. Como especie predominante en el monte mediterráneo de la Península Ibérica, no se puede evitar el ataque de dicho insecto ya que su ecología esta enormemente extendida por todo el territorio español, presentando

carácter endémico en ciertas zonas, como muchas de las especies de insectos pertenecientes a la característica climatología mediterránea presente en la Península Ibérica (VALLADARES, 2008). Pero si que es posible realizar un control sobre las poblaciones del mismo para conocer su evolución y, en caso de que la población aumentase tanto como para representar un peligro potencial actuar de la manera más adecuada posible respetando siempre las normas de seguridad alimentaria y las leyes vigentes para este tipo de ecosistema.

Como ya hemos visto, el “cultivo” de la trufa se basa, de hecho, en la implantación y mantenimiento de los árboles inoculados con las esporas del hongo del cual, posteriormente, se recolectarán las estructuras reproductivas: las trufas.



**Figura 16.** Esta instantánea muestra claramente la variedad de flora y diversidad del manto herbáceo que puede llegar a presentar una plantación trufera. Esta variedad permite el asentamiento de mayor diversidad faunística.

El aprovechamiento agroforestal de un encinar y su manipulación para aumentar su rendimiento es lo que se podría definir como el cultivo de la trufa, y este tipo de práctica agrícola lleva implícita la etiqueta de ecológica inamovible.

Es por esto que muchas plantaciones de trufa, la capa vegetal que cubre la superficie del suelo no se elimina, sino que se mantiene lo más regular y heterogénea posible, sin que llegue a competir por agua con los árboles de la plantación, con el fin de que sea un refugio adecuado para las especies de fauna auxiliar beneficiosas para los intereses del truficultor. Asimismo, esta capa vegetal previene de la erosión del suelo, factor crítico en la Península Ibérica (Fig. 16).

## **2. Manejo de una plantación trufera**

El manejo de una plantación trufera está integrado por muchos aspectos intrínsecamente relacionados con la propia ecología de los mismos campos de cultivo que se asume conforman un sistema agroforestal; con respecto al riesgo de incendios se limita a mantener las lindes limpias de rastrojo y ser un mero observador de las tierras para poder actuar en caso de necesidad; gracias a la propia resistencia de los árboles implantados, el amplio marco de plantación que requiere y los efectos alelopáticos del hongo sobre el resto de vegetación. Debido al hecho de que en los ecotonos (bordes) entre bosque y campo de cultivo la biodiversidad es mayor (REYNA, 2012) y a que, como paisaje ibérico, los sistemas adherados son muy apreciados en todos los ámbitos, se puede afirmar que el valor ecológico de la zona aumenta sensiblemente con respecto a otras zonas similares. Y por consiguiente, una mayor proliferación de flora y fauna, implica una mayor regulación del medio por sí mismo (Fig.17) (BAUMGARTNER *et al.*, 2005; FISCHBEIN, 2012). En este sentido se deberían mantener los lindes normalmente definidos por vallas cinegéticas para permitir que la fauna auxiliar busque refugio en ellos en los períodos desfavorables.



**Figura 17.** Detalle de una explotación trufera en extensivo con estructura adherada.

Por otro lado, y también respondiendo al papel beneficioso que ejerce este tipo de cultivo al medio en que se implanta, es un protector del suelo debido a la gran calidad de las aguas que recargan sus acuíferos (REYNA, 2012; OURZIK, 1999) y protector

frente a procesos erosivos (Fig. 18) frecuentes en el monte mediterráneo, marcado por un clima en el que son frecuentes las lluvias torrenciales. La erosión será más marcada cuanto menor sea la cubierta vegetal (BAUMGARTNER *et al.*, 2005).



**Figura 18.** Puede apreciarse un manto de hierba que protege el suelo de la erosión y la evaporación del agua. Se puede distinguir el quemado alrededor de los pies debido a las sustancias alelopáticas secretadas por los hongos.

Otro aspecto muy importante es el monitoreo de la parcela, cuánto más exhaustivo mejor, puesto que conocer la evolución de las poblaciones en cada parcela ayudará a la hora de prevenir posibles ataques de plagas y/o enfermedades. El monitoreo permite conocer tanto poblaciones de insectos plaga como fauna auxiliar, y si este se realiza de forma periódica podemos estudiar la evolución de esas poblaciones en el tiempo (DE ZABALA *et al.*, 2008).

De acuerdo a evitar la transmisión de enfermedades entre diferentes pies dentro de la parcela, o entre diferentes parcelas, tanto la herramienta como los aperos utilizados en las labores del campo, deberían estar perfectamente desinfectados (MARTÍN *et al.*, 2010), esto se puede llevar a cabo de muchas maneras, pero una forma muy sencilla es a la hora de realizar los trabajos en la plantación tener suficiente herramienta y material para desinfectarla allí mismo mientras se llevan a cabo las labores.

Las labores a realizar en una plantación trufera por tanto son en su mayoría de carácter agrícola (Fig. 19). A pesar de lo cual se deben realizar de una manera determinada y diferente a como se realizan en cultivos extensivos debido a las peculiaridades del cultivo y a su sensibilidad frente a agentes externos que afecten al medio que lo rodea, ya sea aéreo, vegetal o el suelo. Esto se puede observar en el hecho

de que, por ejemplo, la cubierta vegetal de plantas adventicias se elimina en los primeros años tras la implantación de los pies para eliminar competencia con los árboles por los recursos hídricos mientras que una vez estos ya se han establecido, se deja la cubierta vegetal para que proteja el suelo de la erosión (BAUMGARTNER *et al.*, 2005;



**Figura 19.** Plantación trufera tras realizar las labores de arado con planta protegida con tubex comercial.

MARTÍN *et al.*, 2010; RICHARD, 2003). Por otro lado y, ya que se trata de un cultivo cuya explotación viene condicionada por el mantenimiento de un sistema simbiótico entre un hongo y un árbol, es absolutamente imperativo llevar a cabo buenas prácticas selvícolas, que en este caso se limitarían a las prácticas agrícolas específicas para árboles, que aseguren vigor a los ejemplares implantados para que éstos sean capaces de rechazar patógenos con mayor facilidad (ROBREDO y CADAHIA, 1992).

En este aspecto la poda de los árboles en forma de cono invertido se debe a la necesidad de luz y aireación que demanda la zona de quemado cercana al tronco del pie inoculado (REYNA, 2012; RICHARD, 2003; SAEZ y DE MIGUEL, 1995).



## **II. OBJETIVOS**

Los objetivos específicos de este trabajo fin de Carrera son:

1. Cuantificar el ataque de *Kermes* sp. sobre una plantación de *Quercus* sp. inoculado con *Tuber* sp.
2. Identificación de los parásitos o depredadores que controlan a los insectos plaga *Kermes* sp.
3. Ver la eficiencia del parasitismo sobre *Kermes* sp. como medida de control poblacional.
4. Comprobar la eficacia de la aplicación de tensoactivos en hoja para el control de esta plaga.

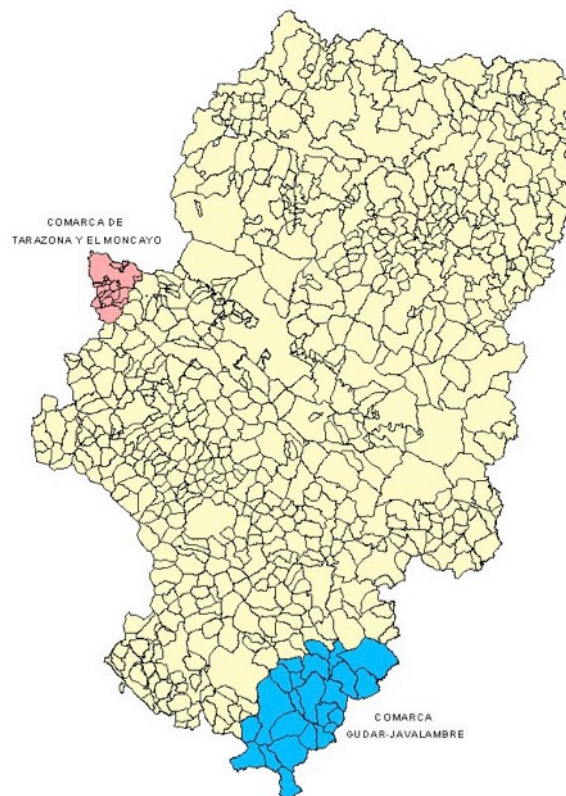




### **III. MATERIAL Y MÉTODOS**

#### **1. Localización y descripción de las zonas de estudio**

Se han tomado muestras de parcelas pertenecientes a municipios que se encuentran en distintas provincias de la comunidad autónoma de Aragón (Fig. 20): la localidad de Litago, situado en la comarca de Tarazona y el Moncayo (Fig. 21), que pertenece a la provincia de Zaragoza y Sarrión, que se encuentra en la comarca de Gúdar-Javalambre (Fig 23), pueblo de marcada tradición trufera, está en la provincia de Teruel.



**Figura 20.** Mapa de la comunidad autónoma de Aragón en que se detallan las comarcas de Tarazona y el Moncayo y Gúdar-Javalambre.

### 3.1. LITAGO



**Figura 21.** Detalle de la comarca de Tarazona y el Moncayo. En color azul se especifica el término municipal de la localidad en que se encuentra una de las fincas a estudiar.

Litago es un municipio aragonés que se encuentra localizado en el Moncayo y por ello se estudia como si de un sistema montañoso se tratase, ya que la influencia de la montaña es muy elevada en esa región. Se encuentra a una altitud de 781 m.s.n.m. En el término municipal 693,6 ha, el 45,4% de la superficie, se dedican a usos agrícolas, dejando un total de 826,8 ha para uso forestal o espacios abiertos, que sobre la superficie total representa un 54,2% (IAEST, 2012).

Esta dedicación al uso del suelo del municipio es muy interesante para el presente proyecto a seguir puesto que al ser un sistema agrícola y forestal compartido, el área de estudio se verá sometido a la acción de ambos medios, tanto el agrícola como el forestal o abierto, y de esta forma se sabe que no es un estudio aislado para un medio concreto, además atiende al uso histórico que en la zona se ha dado al suelo (MAGRAMA, 2013). El muestreo se llevó a cabo en una pequeña finca de recreo de la ladera del Moncayo perteneciente al término municipal de Litago cerca de la localidad (Fig. 22). La plantación posee cuatro líneas de encinas con diez pies por hilera, bien protegida de las inclemencias del tiempo debido a que las vallas delimitadoras están recubiertas por un manto vegetal de plantas trepadoras.



**Figura 22.** Detalle de la finca de Litago. Los números y circunferencias de diferentes colores indican los árboles que fueron muestreados en dicha parcela.

La parcela cuenta con dos pequeños depósitos, en la entrada a sendos lados, que realizan el suministro de todos los requerimientos hídricos de la plantación en los momentos de mayor necesidad.

### 3.2. SARRIÓN



**Figura23.** Detalle de la comarca de Gúdar-Javalambre. En color azul se indica el término municipal de la localidad a que pertenece la segunda finca que fue objeto de estudio.

En esta ocasión la zona de muestreo se encuentra en el Sistema Ibérico, en la zona limítrofe entre Teruel y Castellón, zona trufera por excelencia gracias tanto a la conformación litológica y la formación geográfica como a la zona de influencia climática, todas ellas muy favorables para este tipo de cultivo alternativo al cereal extensivo (OLIACH *et al.*, 2005).

Sarrión es, al igual que Litago, un municipio de carácter montañoso y así lo reflejan las condiciones climáticas a que se ve sometida la zona. Situada a una altitud de 981 m.s.n.m.

En el caso de esta parcela, se trata de una extensión de terreno amplia la cual se utiliza exclusivamente para la implantación de encinas con el único fin de aprovechar el crecimiento de este hongo tan preciado (Fig. 24). La parcela se encuentra en lo más alto de un cambio de nivel en una zona caracterizada por la presencia de este tipo de formaciones geográficas.



**Figura 24.** Foto aérea de la parcela de Sarrión. En ella se aprecia la estructura geográfica y vegetal de las zonas adyacentes a la parcela muestreada

El uso que se le da al suelo es muy similar al que encontramos en Litago; utilizando 5771 ha para usos agrícolas, que representa 41,1% de la superficie total, y 8191'7 ha, un 58,3% sobre el total dedicadas a zonas forestales con vegetación natural y espacios abiertos (IAEST, 2012).

Este aumento del uso del suelo de agrícola a forestal puede ser debido a la estructura geográfica de la zona, ya que se trata de una zona montañosa con accesos complicados y dificultades para realizar las labores agrícolas necesarias en cultivos tradicionales. Aunque por otro lado, las características que presenta la zona, favorables para el desarrollo de esta actividad, pueden haber sido un aliciente a la hora de que las poblaciones circundantes decidiesen optar por esta especialización del suelo.

Otra de las características de la parcela situada en Sarrión es la condición de región trufera a que se ve sometida puesto que ya no se trata de un medio agroforestal aislado en una zona geográfica en que al suelo se le da usos agrícola o forestal, si no que se trata de un conjunto de población que gestiona de una misma forma una superficie del terreno, y que de esta manera podemos afirmar que su estado natural posee mayor homogeneidad y un equilibrio más estable que la anterior parcela; si bien es cierto que las parcelas se ven influenciadas, en mayor o menor medida, tanto por los campos de cultivo como por las zonas forestales (BAUMGARTNER *et al.*, 2005).

## **2. Climatología de las zonas de estudio**

Los caracteres climáticos de las zonas objeto de estudio responden perfectamente al clima de una cuenca mediterránea con marcado carácter de continentalidad.

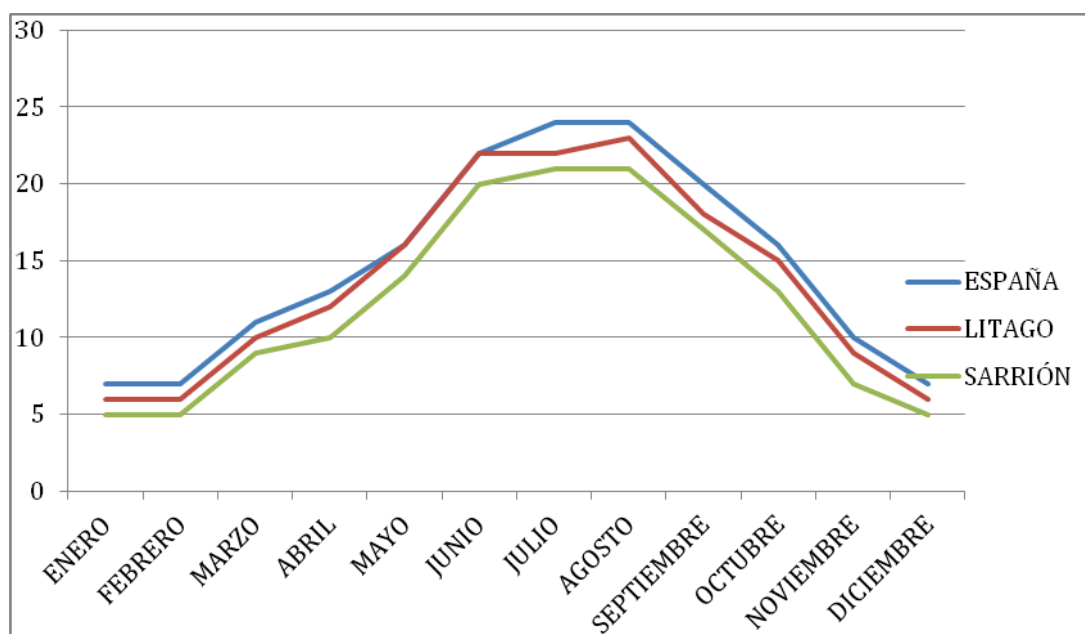
Ambas regiones presentan un clima montañoso (Fig. 25) cada una con sus peculiaridades características.



**Figura 25.** Nótese que la formación geográfica esta claramente definida como sistema montañoso.

### Temperaturas

La disposición del relieve subraya esa condición, al impedir que hasta esas zonas llegue la influencia suavizadora que sobre las temperaturas ejercen las masas oceánicas. Además provoca que en situaciones de estabilidad atmosférica, el aire quede estancado sobre el territorio, favoreciendo su caldeoamiento en verano y su enfriamiento en invierno, incidiendo sobre el contraste térmico que se da entre ambas estaciones (CUADRAT *et. al.*, 2007). Estas son las condiciones óptimas para el desarrollo de *T. melanosporum* tal y como se explica más detalladamente en la introducción. En la figura 26 podemos apreciar las series anuales de temperaturas en que el hongo es capaz de sobrevivir en las localidades en que se encuentran las plantaciones objeto de estudio comparadas con la media de España.



**Figura 26.** Series de temperaturas para las diferentes zonas de estudio y España.

### Precipitaciones

Las precipitaciones son escasas, pero son sobre todo irregulares. Aparecen dos máximos, en primavera y otoño, ganando importancia el segundo conforme avanzamos hacia el levante, al cobrar mayor relevancia la influencia mediterránea. Ambos quedan separados por dos mínimos acusados, en invierno y verano, estaciones que debido a la presencia casi constante de situaciones anticiclónicas ven reducidos de forma notable sus volúmenes de precipitación. Estas épocas con máximas precipitaciones coinciden con las etapas de mayor requerimiento hídrico por parte del hongo *T. melanosporum*. Estas son el desarrollo del micelio y los primordios (primavera) y el engrosamiento de

las trufas (otoño). De esta forma y tal y como se indica en las tablas, marzo y abril en primavera y agosto y septiembre en otoño son los meses más importantes en cuanto a productividad se refiere, ya que son estas precipitaciones las que favorecen el desarrollo de la estructura reproductiva del hongo.

Es frecuente que la ausencia de precipitaciones se prolongue durante varias semanas, habiendo asistido a períodos de casi 90 días sin lluvias en muchos puntos de este sector. Este hecho refuerza la necesidad de la implantación de sistemas de riego en plantaciones en que se explota *T. Melanosporum*, a pesar de que solo es aconsejable realizar estos riegos de apoyo de acuerdo con las carencias de cada zona. Puede apreciarse en figura 27 dos regímenes de precipitaciones para los que se da *T. melanosporum* comparados con la media de España.

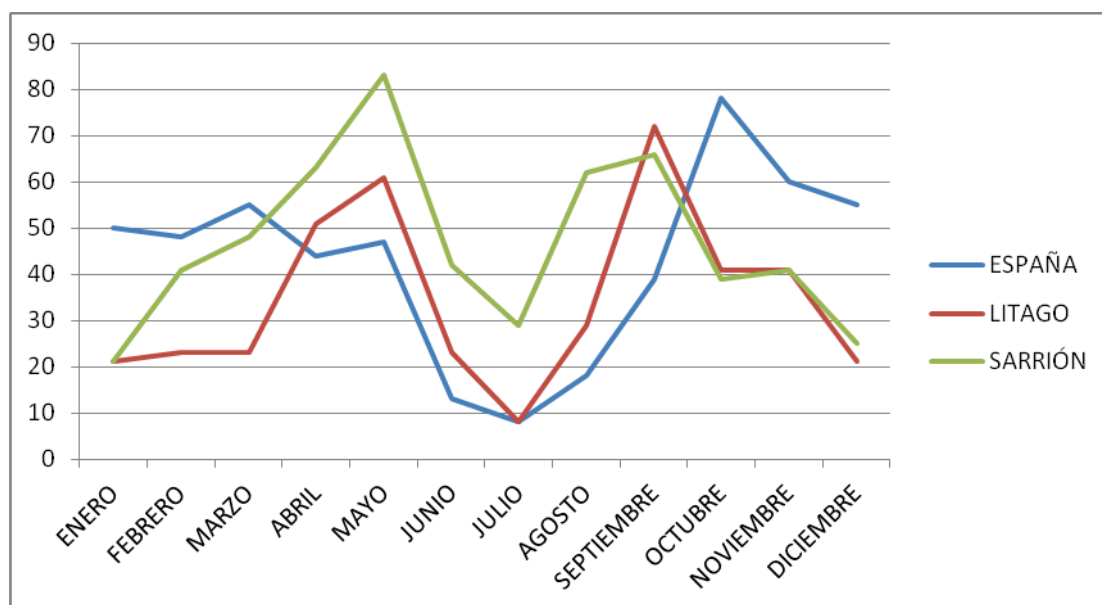


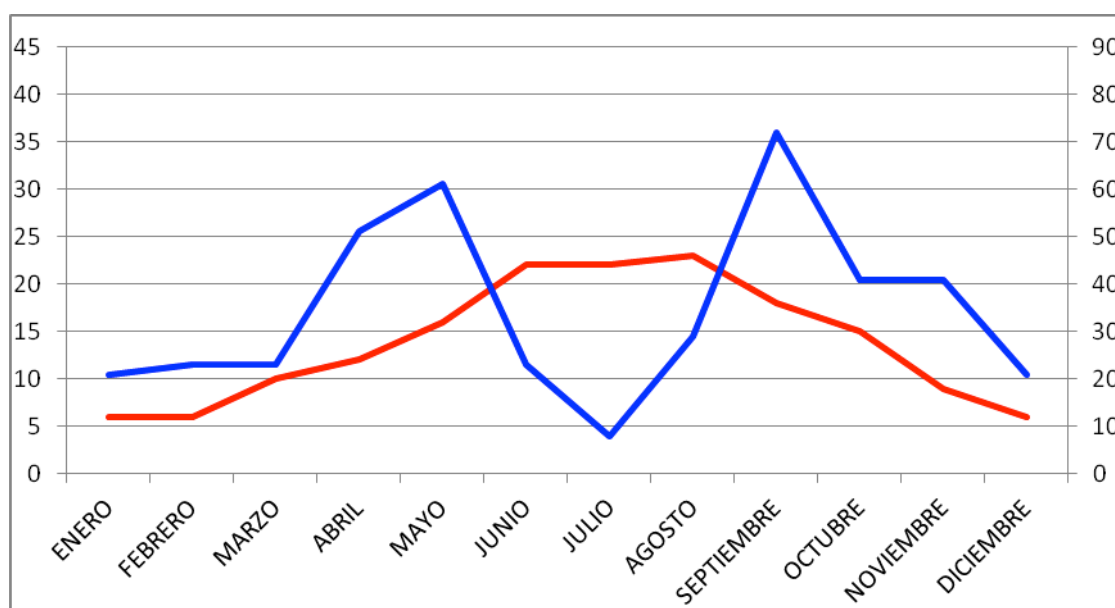
Figura 27. Precipitaciones anuales en las zonas de estudio y España.

#### Diagramas ombrotérmicos de Gausson

El diagrama ombrotérmico de Gausson permite identificar el período seco en el cual la precipitación es inferior a dos veces la temperatura media. Para su representación, en el eje X se representan los meses del año y en un doble eje Y se representan las precipitaciones medias mensuales (mm) y las temperaturas medias mensuales (°C). Se debe considerar que la escala de precipitaciones debe ser doble que la de temperaturas (por cada °C en temperatura se toma un par de mm en precipitación).

Cuando  $P \leq T$  la curva de precipitaciones estará por debajo de la curva de temperaturas y el área comprendida entre las dos curvas nos indicará la duración e intensidad del período de sequía (MARTÍN, 2011).

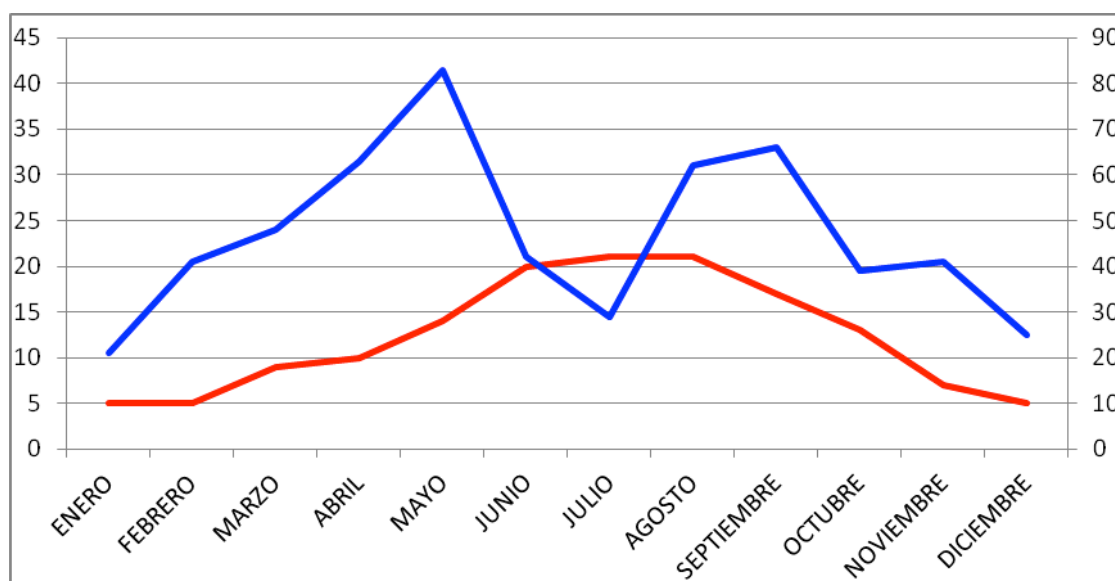
La zona de estudio 1, en que se encuentra la parcela, perteneciente al término de Litago posee dos máximos relativos anuales, en otoño y primavera, entre los cuales se pone de manifiesto un período de sequía estival de entre diez y doce semanas de duración, lo cual denota que presenta un régimen de precipitaciones mediterráneo típico (Fig. 28) (CUADRAT *et al.*, 2007). En este caso en concreto no hay problema alguno de escasez de suministro hídrico puesto que, como se mencionó anteriormente, la parcela cuenta con sendos depósitos a ambos lados de la puerta de acceso a la misma que, en caso de necesidad, abastece a la plantación. Este tipo de procedimiento es aconsejable en estos cultivos porque aseguran la producción, si bien es cierto que no asegura que la producción sea elevada.



**Figura 28.** Diagrama de Gausson para Litago. Donde se encuentra la zona de estudio 1.

En esta segunda gráfica (Fig. 29) se aprecia que, a pesar de ser un clima típicamente mediterráneo con los dos máximos característicos en primavera y otoño entre los cuales se aprecia un período de sequía más o menos largo, en líneas generales se trata de una meteorología algo más fría que la anterior así como más húmeda. Del mismo modo, el período de aridez estival, es más corto que el que se manifiesta en la zona de estudio 1 siendo habitual entre seis y ocho semanas en que los cultivos se ven privados de aportación hídrica alguna. De hecho esta finca carece de posibilidad de evitar esa época seca puesto que se trata de una finca explotada en secano.





**Figura 29.** Diagrama de Gausson para Sarrión. Donde se encuentra la zona de estudio 2.

Las características especiales de este sector, marcadas por estar sometido a una influencia atlántica manifiesta, han incluido a varios autores.

Existen una serie externa de sierras calizas desde las Mambas hasta Añon y Aranda del Moncayo donde los carrascales acidófilos del *Quercion ilicis* se establecen con mayor facilidad en las estribaciones meridionales ibéricas entre 800 y 950 msnm.

La continentalidad de las zonas de estudio, regida por el carácter montañoso que impide la acción suavizadora de las masas oceánicas, las confiere de un contraste térmico entre estaciones muy acusado

La fauna y flora que habita en las zonas de estudio se ha ido adaptando a dichas condiciones para poder sobrevivir en el medio.

Todos los artrópodos que se han obtenido de las parcelas se encontraban ocupando un nicho ecológico común, es decir, en el momento del muestreo todos ellos se encontraban actuando en cada una de las encinas objeto de estudio y, teniendo en cuenta la homogeneización del sistema agrícola, se puede afirmar que se encontraban compartiendo nichos ecológicos de características casi idénticas.

### 3. Descripción de los ensayos a realizar

La forma de trabajar en el campo vino determinada por los ensayos que posteriormente se llevarían a cabo en el campo como en el laboratorio y del objeto sujeto a estudio en cada caso (Figura 30). Así, en Litago se programaron dos salidas. En la primera se tomó el muestreo que después se utilizaría para introducir en las cámaras de cría, además de la aplicación de un elemento tensoactivo sobre los ejemplares de leñosas atacados por esta plaga que no habían sido muestreados. En la segunda se realizó una segunda aplicación de producto a la parcela y se encalaron los troncos de los árboles para dificultar el acceso de las hormigas.

Del mismo modo, a Sarrión se hicieron varias salidas para la toma de muestras debido a que se pretendía realizar cámaras húmedas con dichas muestras para comprobar si el insecto plaga es capaz de transmitir el hongo de la *Diplodia mutila* (IBARRA et al., 2001), y para ello era más interesante haber obtenido muestras de diferentes árboles en épocas distintas para poder comparar entre muestras y determinar si la transmisión del hongo por parte del insecto era efectiva, y su capacidad infectiva.

A pesar de todo esto, el carácter principal del estudio de parasitismo en *Kermes* sp. fue lo que marcó las pautas de actuación en todas las salidas realizadas para tomar muestras.

Es en este sentido por lo que se decidió que las muestras serían homogeneizadas para toda la parcela y no estudiadas de forma individual para cada ejemplar de árbol muestreado a pesar de que los datos se hubiesen obtenido de forma individual. De esta manera se estudia la parcela como un conjunto de individuos que interaccionan entre sí y no como un conjunto de muestras analizadas individualmente.

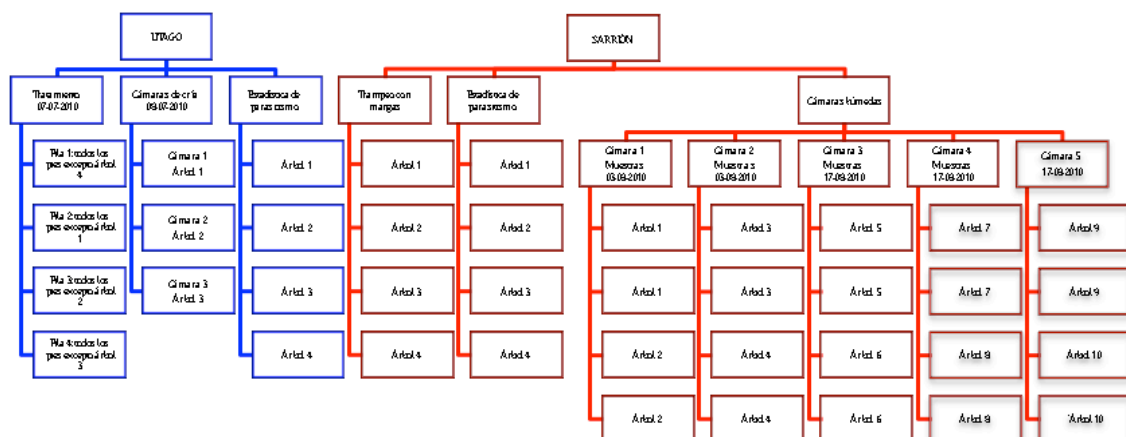


Figura 30. Desarrollo de los ensayos realizados con las muestras de las distintas plantaciones.

### 3.1. Ensayos en campo

En campo, se llevaron a cabo varios ensayos con objetivos diferentes.

- El primero, consistió en la aplicación del elemento tensoactivo sobre la masa foliar de los pies que componían la plantación descartando aquellos que previamente habían sido muestreados ese mismo día.
- El segundo ensayo consistió en la colocación de cinco mangas que garantizaran la observación *in situ* de los insectos a estudiar.

Debido a que, cuando se efectúa un ataque de *Kermes*, este no afecta uniformemente a toda la plantación (ALFARO, 1996), en primer lugar se realizó un estudio de la parcela *in situ* para localizar los focos de infestación. Una vez seleccionada la zona, corroborando que la población era elevada y estaba causando daños reales, se seleccionaron y etiquetaron los pies a muestrear.

Un total de cuatro pies fueron escogidos para la parcela de Litago y 10 en el caso de la perteneciente a Sarrión, tanto del centro de la parcela como de los bordes ya que, de esta forma, se puede plantear una relación entre la presencia de la plaga y su distribución por el área de afección en la plantación. Es así como se plantearon, dentro del mismo foco de infección, varios puntos críticos dentro de la parcela.

Se tomaron muestras a diferentes alturas de cada uno de los árboles siempre y cuando el tamaño de la planta lo permitiera, evitando en todo momento causar daños al vegetal. Adicionalmente se tomaron fotografías de los árboles para valorar los daños a que habían sido sometidos y el estado en el que se encontraban a la hora de tomar las muestras.

Todas las muestras fueron almacenadas independientemente y etiquetadas según su procedencia para su identificación y clasificación con el objetivo de ser posteriormente procesadas y evaluadas en un mínimo espacio de tiempo y evitar así su degradación.

El procedimiento de muestreo se realizó del mismo modo en todos los casos. Se tomaron las muestras utilizando tijeras de podar que fueron correctamente desinfectadas con lejía diluida antes y después de cada uso para evitar posibles contaminaciones entre diferentes pies.

#### 3.1.1. Aplicación de sustancias tensoactivas

Las hembras de las cochinillas son insectos que en estadios adultos son sésiles. En el

momento en que tiene lugar el acoplamiento de la larva al tejido vegetal mediante la inserción del estilete en el mismo para permitir su alimentación (GARCÍA MARÍ, 1989), comienzan a formar su escudo exterior mayoritariamente compuesto de exudados céreos que protege a la propia hembra y a la nueva generación de cochinillas que contiene en su interior de las inclemencias y las condiciones desfavorables (HOLLINSWORTH *et al.*, 2010; PLANES y CARRERO, 1995).

Existen muchas y diversas formas de esos caparazones, pero la característica común es que una vez la hembra ha concluido de crearlo es impermeable al agua, insecticidas y al intercambio de gases (PLANES y CARRERO, 1995) por lo que la única forma que tienen de poder respirar es a través de una pequeña estructura algodonosa que se crea a lo largo de la línea en que el escudo de la cochinilla se une al tejido vegetal (BEN-DOV y HODGSON, 1997).

Debido al conocimiento de esta especificidad evolutiva es gracias a lo cual se pueden crear y probar tratamientos como las sustancias tensoactivas. Los tensoactivos son mezclas de productos, principalmente jabones potásicos y aceites debido a su mayor efectividad, que además no son demasiado agresivos con el medio ambiente (NIELSEN, 1990). Este tipo de productos y por consiguiente el método de aplicación han resultado tremendamente eficaces contra plagas de este tipo (ARROYO *et al.*, 2012; HOLLINSWORTH *et al.*, 2010; TARIQ *et al.*, 2010; THANGAVEL *et al.*, 2011); debido principalmente a que una vez se realiza la aplicación, esta rocía la mayor parte de la superficie vegetal posible y, teniendo en cuenta que se trata de insectos no móviles, cosa que les hace vulnerables a ataques de parásitos y aplicaciones de fitosanitarios en esas fases no móviles (GARCÍA MARÍ *et al.*, 1989), en cuyo interior se encuentra la siguiente generación (GARCÍA MARÍ *et al.*, 1989; PLANES y CARRERO, 1995), es un tipo de aplicación muy apropiada. El principio por el cual ocurre la asfixia de los animales parece ser puramente físico, es decir, el producto que ha sido rociado por toda la planta, mojando la mayor parte posible de la misma para asegurar que se alcanzan todos los insectos indeseables, por gravedad diluido se desliza hacia estas partes y debido a la cohesión estructural de las moléculas que lo componen que se unen unas con otras en lugar de separarse, el caldo se va acumulando en las pequeñas hendiduras que se forman entre el vegetal y el cuerpo del animal, que es la zona de mayor intercambio gaseoso. Pero este proceso no se ha podido demostrar.

Al concentrarse en esa zona impediría una correcta respiración de la hembra y/o todo lo que se encuentre en el interior de la misma, es decir, en caso de que siga viva,

moriría tanto ella como los huevos y en caso de que esta no estuviese viva, tan sólo afectaría al desarrollo de los huevos (HOLLINSWORTH *et al.*, 2010). No es necesario que la respiración se vea interrumpida por completo, tan solo con reducir un poco la tasa respiratoria, la hembra vería dificultada tanto su supervivencia como la de su descendencia enormemente.

La dosis de aplicación en la parcela de Litago fue la suficiente para mojar toda la superficie vegetativa sin producir goteo de producto para un total de 35 pies, puesto que los árboles muestreados no fueron tratados para comprobar la eficiencia del producto aplicado, se utilizó una dosis de 60/100 litros de mezcla por hectárea. Esta eficiencia esta condicionada por una serie de factores intrínsecos a la sustancia, así como al método de aplicación y ambientales. Las condiciones meteorológicas son determinantes para una óptima eficiencia del tratamiento. Para la correcta distribución de la suspensión deben de ser evitados días de fuertes vientos que puedan dispersar la aplicación y días de precipitación efectiva (así como en los días venideros) con las que se diluye el producto aplicado.

En base a estos requisitos, el tratamiento fue programado para el 07-07-2010 entre las 10:30 y las 12:30 de la mañana. Las condiciones meteorológicas dadas por la oficina del regante para esa zona ese día determinado fueron (Información ofrecida por la oficina del regante):

**Tabla 2.** Tabla de datos realizada con la información ofrecida por la oficina del regante. Mediciones de parámetros para el día elegido para la aplicación (07-07-2010).

PARÁMETRO	VALOR
Tª media (1'5m)	24'7°C
Tª máxima (1'5m)	35'4°C
Tª mínima (1'5m)	13'1°C
Humedad relativa media (1'5m)	50'1%
Humedad relativa máxima (1'5m)	89'00%
Humedad relativa mínima (1'5m)	20'50%
Velocidad media viento (2m)	1'2 m/s
Velocidad máxima viento (2m)	4'2 m/s
Precipitación	0 mm
Et <sub>0</sub>	6'4 mm/día

La aplicación del tratamiento fue programada un día en que las condiciones climatológicas fueran óptimas para evitar posibles variabilidades indeseadas en el estudio.

### 3.1.2. Trampeo con mangas entomológicas

Las mangas son unas estructuras de “tela” utilizadas como observatorio *in situ*, *in vivo* del insecto a estudiar.

Fabricadas en tela de seda, con el esqueleto de alambre y con los extremos abiertos (Fig. 31). Estas mangas, de fabricación casera, pueden adquirirse en catálogos de diversas empresas. En esta ocasión se optó por la fabricación propia debido a que se disponía del material y no era necesario que fueran más robustas y se abarataban costes.



**Figura 31.** Sucesión de los pasos a seguir en la fabricación de las mangas entomológicas:

- A) Material necesario para la estructura de la manga. B) Una vez enrollado
- B) el alambre que forma el esqueleto de las mangas se cose a la tela de seda.
- C) C) Manga entomológica una vez finalizada.

Una vez colocadas con sumo cuidado, debido a que el material de que están hechas es muy delicado y puede sufrir un desgarró por un enganchón con una rama o una hoja, queda la rama escogida en el interior de nuestra estructura y es cuando debe ser cerrada (con bridas) por ambos extremos para evitar que salgan o entren insectos en ella y, de esta manera, aislar el medio en el propio espacio natural el que se desarrolla (Fig. 32). Para ello deberíamos realizar observaciones del interior de las mismas de manera periódica.

En la fabricación de las mangas para la observación de los insectos del interior se procedió de la siguiente manera.

Para colocar la manga, tan solo hace falta introducir una rama por el interior de la misma y desplegarla en toda su longitud y, sirviéndonos de bridas, cerrar ambos

extremos fijándonos en que los insectos a estudiar permanecen en el interior de la misma.

Una vez finalizado el proceso de observación de los insectos, se procedió a retirar las mangas de los árboles.



**Figura 32.** Detalle de una manga una vez ya colocada en la encina para llevar a cabo el estudio en Sarrión. Véase la brida que cierra la parte superior de la manga.

### 3.2. Ensayos en laboratorio

En el laboratorio, las muestras se extraían de la bolsa en que se transportaron y fueron colocadas en bandejas desinfectadas para su estudio. Cada muestra se revisó mediante lupa binocular para detectar ejemplares de *Kermes* sp. en estadios larvarios así como cualquier otro parásito o depredador que pudiera compartir nicho ecológico con nuestra especie objeto de estudio. Cada uno de estos ejemplares se separaba para su posterior determinación taxonómica.

En las salidas al campo se empleaba Acetato de etilo, FAA, y Etanol 95%. Acetato de etilo es utilizado para matar los insectos permitiendo cierta flexibilidad de los tejidos y tanto el Etanol como el FAA se usaron de forma indistinta para la conservación de los mismos en un estado óptimo que permitiese su estudio a lo largo del tiempo.

Con las muestras obtenidas en cada parcela se realizaron dos ensayos diferentes:

1. Todas las muestras de **Litago** se tomaron el mismo día. Del total de pies presentes en la parcela, se muestrearon cuatro.

Con las muestras tomadas de diferentes pies se procedió a introducirlas en cámaras de cría para determinar el parasitismo de los ejemplares de *Kermes* sp.

Una vez este período hubo concluido, se procedió a la extracción del material de las cámaras para su observación. Este procedimiento consistió en correlacionar el parasitismo entre *Kermes* sp. y los diferentes insectos encontrados en las cámaras, así como la identificación taxonómica de los mismos.

2. El segundo ensayo se realizó teniendo en cuenta los datos de IBARRA *et al.*, 2001, así como la apreciación de posibles síntomas en los pies de origen, se procedió a la realización de cámaras húmedas en que se introdujeron las muestras procedentes de la parcela de Sarrión tomadas en diferentes fechas y con distintos grados de afección de *Kermes* sp. De esta manera podrá verse reflejado en la afección que presentasen los tejidos vegetales en caso de que fuese transmisor de *Diplodia mutila*.

### 3.2.1. Realización de cámaras de cría

Se generó un protocolo de trabajo que se adecuara a las características particulares del ensayo.

Para ello se procedió a la fabricación de unos habitáculos que permitiese el intercambio gaseoso con la atmósfera pero evitando, al mismo tiempo, la salida o entrada de cualquier insecto. De esta manera se aseguraba que todos los ejemplares de las diferentes especies presentes en las muestras fueron catalogadas. Además de los posibles parásitos también era interesante obtener muestras de las larvas de *Kermes* sp.

Del primer muestreo (Litago 07-07-2010) se realizaron varias cámaras de cría con ejemplares de *Kermes* sp. que se suponían parasitados por algún insecto. De esta forma se pretendía obtener ejemplares de este parásito para poder determinar su especie y capacidad de control de la plaga.

Se realizaron tres cámaras de cría en función de las características del ensayo que se pretendía llevar a cabo así como de las características del material que iba a ser



analizado. Estas fueron cuidadosamente lavadas y desinfectadas con lejía para evitar posibles contaminaciones de las muestras.

- **Primera cámara** (Fig. 33): se fabricó a partir de un bote de cristal de ocho litros cuya apertura se tapó con la misma tela de seda (20 hilos/cm<sup>2</sup>) con que se hicieron las mangas para las ramas, fijándola con una goma elástica para que no quedasen aberturas. En esta cámara se introdujo una muestra del árbol 2 obtenida en Litago el 07-07-2010.



**Figura 33.** Secuencia que describe el proceso de montaje de la cámara de cría 1. En la primera fotografía se aprecia el bote de cristal utilizado como cámara; la segunda muestra un trozo de tela de seda usado para cerrarla y, la tercera, el resultado final.

- **Segunda cámara** (Fig. 34): Se trata de una cámara de cría comercial a la cual se le pegó una capa de tela de seda en la tapa para evitar fugas indeseadas, ya que los respiraderos que tenía la misma eran demasiado grandes. En esta cámara se introdujo una muestra del árbol 3 obtenida en Litago el 07-07-2010.



**Figura 34.** Detalle de cámara de cría 2. Evolucionario comercial modificado

- **Tercera cámara** (Fig. 35): Fue elaborada a partir de un bidón de agua destilada de 25 litros al que se cortó el tercio superior para que cupiesen las muestras y poder observar el interior. Para tapar esta abertura se empleó tela de seda que se fijó con varias gomas elásticas para que permaneciese inamovible. En esta cámara se introdujo la muestra del árbol 1 de Litago obtenida el 07-07-2010



**Figura 35.** Detalle de cámara de cría 3, fabricada a partir de un bidón de agua destilada de 25 litros. Se puede apreciar la goma que se puso alrededor del mismo para sujetar la tela de seda y evitar que escapasen ejemplares de los insectos a estudiar.

Las cámaras fueron realizadas el día 08-07-2010. Fueron elaboradas con recipientes abiertos por arriba que se taparon con tela de seda para permitir la respiración tanto de animales como de vegetales. Esto es posible porque habíamos fabricado un depósito de agua evitando de esta manera que el tejido vegetal muriese de manera inmediata. Este depósito constaba de un vaso de muestras cuya tapa había sido atravesada para permitir el paso de las ramas; al vaso se añadió algodón como material absorbente que mantuviese la humedad y al cual se fijaron las distintas ramas. Este rudimentario utensilio funciona por equilibrio de humedad relativa. La rama respira y elimina agua con lo que reduce su concentración y de esta manera, al estar en contacto con el algodón húmedo, es capaz de succionar agua del mismo.

De esta manera se aseguraba que, a pesar de que el material vegetal estaba muerto o muriendo, las condiciones de maduración de los insectos en el interior de la madre no se vio contrariada de manera especial porque el exceso de humedad con que se impregnó el algodón introducido en el vaso de muestras garantizaba la respiración de las células vegetales, al menos durante un corto período de tiempo, que es cuanto necesitábamos

para permitir que el insecto a estudiar completase el ciclo. Por otro lado, el hecho de que los observatorios fuesen transparentes, facilitó el trabajo, puesto que se podían ver las muestras desde fuera sin necesidad de poner en riesgo la estanqueidad de los mismos. Y aunque no permitía la toma de fotografías de calidad de los procesos que en su interior se sucedían, fue suficiente para sacar algunas instantáneas que nos sirviesen de ayuda a lo largo del proceso.

### 3.2.2. Diseño experimental

La determinación taxonómica de insectos es un proceso que se basa en la utilización de claves dicotómicas creadas expresamente para ello. Teniendo en cuenta al género *Kermes* sp. del cual se pretende estudiar el parasitismo por parte de otras especies, se elegirán estas claves atendiendo a las características de dicho insecto y los posibles ejemplares de otros géneros y familias que puedan cohabitar en el nicho del mismo.

Por lo cual y atendiendo a la bibliografía utilizada (DE LIÑAN, 1999; GUERRIERI *et al.*, 2009) para determinar las especies de artrópodos endémicos de los bosques ibéricos y sus relaciones, se utilizaron claves dicotómicas tanto específicas (GUERRIERI y NOYES, 2000) como generales (DE LIÑAN, 1998).

Según la clave dicotómicas para *Metaphycus* (GUERRIERI y NOYES, 2000) en la cual señala que el tipo de boca que posean los insectos y, tanto en las estructuras que unen a modo de gancho las alas durante el vuelo como la forma y tamaño de las antenas, son las claves por las que se diferencian muchos himenópteros.

Se realizó el conteo de todos los ejemplares de *Kermes* sp. diferenciando entre aquellos parasitados y los que no lo estaban, independientemente de los síntomas que mostrasen cada uno puesto que interesa el índice de parasitismos total.

El conteo se fue anotando conforme se iba avanzando en la tarea que fue dividida en días de muestreo y plantas muestreadas para, una vez finalizada, poder interpretar los resultados y plantear una resolución del trabajo realizado.

La observación de los ejemplares de *Kermes* sp. se realizó a través de un binocular. De esta manera fue mucho más sencillo reconocer los ejemplares y su estado de parasitismo. Mientras se inspeccionaban las muestras también se recogieron y observaron, para determinar posteriormente, algunos ejemplares de otras especies. Este trabajo, se realizó utilizando material de laboratorio tal como bisturíes, punzones, pinzas o tijeras y agua destilada para limpiar los botes para muestras; estos últimos utilizados para guardar los ejemplares susceptibles a un posterior análisis propiciado por cualquier

disparidad con las generalidades propias de la especie, de cualquier especie encontrada en la muestra.

Para llevar a cabo esta labor fue necesaria la intervención de varios especialistas de diferentes campos debido a la complejidad de la tarea en cuestión, acorde a su especificidad.

Una vez el trabajo de campo fue concluido y se había recopilado toda la información que se pudo recoger se realizó un ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA). Para ello deben cumplirse la prueba de KORMOGOROV-SMIRNOV para determinar la distribución normal de los datos y la prueba de LEVENE de homocedasticidad. Después se procedió a la separación de las medias por parte de la prueba post Hoc de TUKEY, tras lo cual se procedió a hacer una correlación de los datos de parasitismo con el número de ejemplares y tanto el número de agujeros que presentaban los mismos como la media por *Kermes* sp. para lo cual se procedió a estudiar mediante el método de PEARSON.

### 3.2.3. Realización de cámaras húmedas

Este procedimiento se llevo acabo para detectar los posibles hongos que se encontrasen en las muestras, ya que se especula con la posibilidad de que este tipo género de insectos sea capaz de transmitir enfermedades a través de la saliva (IBARRA *et al.*, 2001). En este caso en concreto, se buscaba infección causada por *Diplodia* sp.

Para efectuar cámaras húmedas de las muestras tomadas en Sarrión se utilizaron cristalizadores (Fig. 36). En la base de los mismos se colocó un papel humedecido para aumentar la humedad en el interior del cristalizador como medio de cultivo.



**Figura 36.** Dos cristalizadores con las muestras en su interior. En ellos se llevará a cabo el cultivo para determinar si los vegetales están contaminados de hongos o no (IBARRA *et al.*, 2001).

La desinfección de las cámaras de vacío se realizó siguiendo un sencillo protocolo de esterilización. Se utilizó lejía diluida (1:10) para limpiar toda la superficie interior de las cámaras; después, esa superficie, se aclaró con agua destilada para evitar posible contaminación (RAPILLY, 1968) (Fig. 37).



**Figura 37.** Interior de una cámara húmeda. Tanto las muestras como la propia cámara fueron pertinentemente esterilizadas antes de comenzar el ensayo.

Del mismo modo, las muestras que iban a ser introducidas en las cámaras húmedas fueron tratadas con una solución de lejía 10% durante 10 ó 15 segundos como protocolo de desinfección. Una vez todo el material vegetal y el equipo a utilizar se encontraban en las óptimas condiciones de sanidad para ser utilizados correctamente, cada una de las muestras fue identificada y etiquetada para luego poder contrastar los resultados, y se introdujeron en las respectivas cámaras cada una, en función del tamaño tanto de la propia muestra como del recipiente utilizado (Fig. 38).



**Figura 38.** Detalle de una de las cámaras húmedas pocos días tras haber sido preparada. Adviértase la elevada condensación que existe en su interior.

Se observaron las muestras a través de la lupa de luz catódica que nos permitiera apreciar las particularidades de la infección sobre las ramas de *Quercus ilex*.

**Primera cámara:** Esta cámara húmeda fue realizada con material vegetal tomado de las plantas 1 y 2 el día 20-07-2010 en la finca de Sarrión.

**Segunda cámara:** En esta cámara se introdujeron muestras tomadas de los pies 3 y 4 de la plantación de Sarrión el día 03-08-2010.

**Tercera cámara:** El material con que se realizó esta cámara proviene de los pies 5 y 6 de la finca de Sarrión muestreada el 17-08-2010.

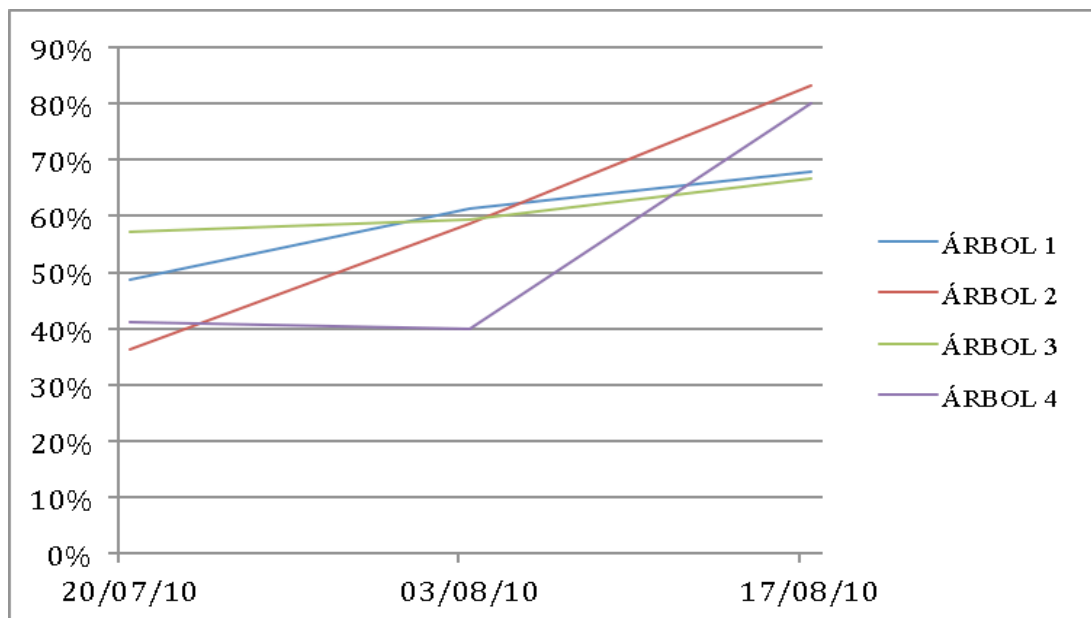
**Cuarta cámara:** El material procedente de los árboles 7 y 8 de la parcela de Sarrión muestreada el día 17-08-2010.

**Quinta cámara:** Para esta cámara se utilizó material vegetal procedente de los pies 9 y 10 de la plantación de Sarrión muestreada el día 17-08-2010.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tras el procesado de las muestras obtenidas en los diferentes muestreos, se detecta que, a parte de los ejemplares de insectos fitófagos (*Kermes* sp.) e hiperparásitos (*Hymenoptera: Chalcidoidea: Encyrtidae*), se encontraron también numerosas especies de insectos que cohabitan con ellos ocupando y compartiendo nicho ecológico con los insectos objeto de estudio. Es por esto que han sido incluidos en este apartado, aunque no merecen especial atención en este trabajo.

Asimismo se han descrito diferentes insectos pertenecientes a la fauna auxiliar dada su relevancia en el control natural de esta plaga (Fig. 39).

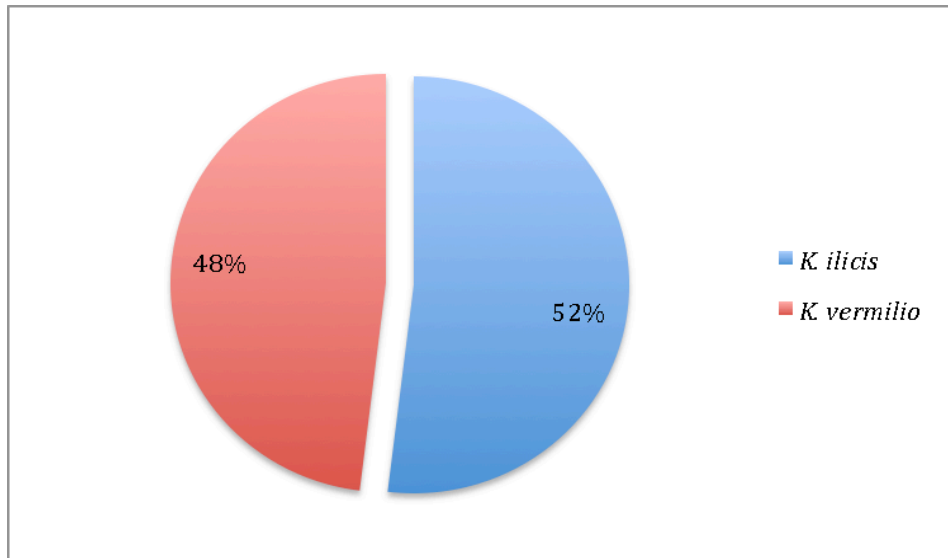


**Figura 39.** Evolución de la población de *Kermes* sp. parasitada en cada una de las muestras tomadas en la plantación de Sarrión en los diferentes momentos del muestreo. Adviértase que a pesar de la irregularidad de las líneas, estas mantienen su relación ascendente con el paso del tiempo.

De esta forma se ponen de manifiesto todos los insectos encontrados en las muestras tomadas para su procesado y análisis en el laboratorio. Así como la relación entre la presencia de unos y otros; de modo que en Litago un 95,94% de los ejemplares de artrópodos parásitos de los pies se trataba de *K. vermilio* mientras que en Sarrión un 85,92% de los ejemplares parásitos se trataba de *K. ilicis*.

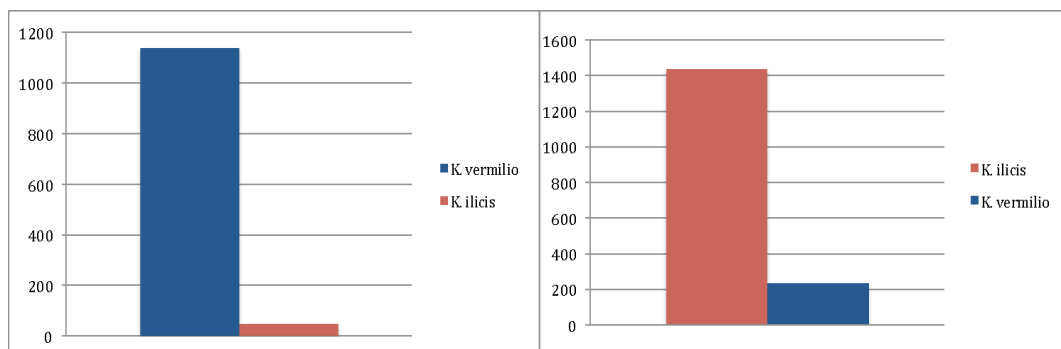
A pesar de que el total de cada uno de los insectos plaga parece ser que cuando una especie se establece, la otra no puede o acaso prefieren ecologías sensiblemente diferentes (Fig. 41). Del total de *Kermes* sp. procesado entre ambas zonas de estudio se estima que cada especie corresponde aproximadamente a la mitad (Fig. 40) y, a pesar de

que no deja de resultar interesante, ese no es uno de los cometidos del presente proyecto y por ello obviaremos dicha cuestión.



**Figura 40.** Proporción de *K. vermilio* frente a *K. ilicis* procesados entre todas las muestras de Litago y Sarrión

Los hiperparásitos realizan características puestas que permiten diferenciar entre géneros e incluso especies. Existen muchas formas de comportamiento, pero generalmente realizan una sola puesta de forma individual en cada uno de los ejemplares de hembra de *Kermes* sp. de una población, siempre y cuando esta sea lo suficientemente amplia. Esto es para que un gran número de individuos nazcan en la siguiente generación.



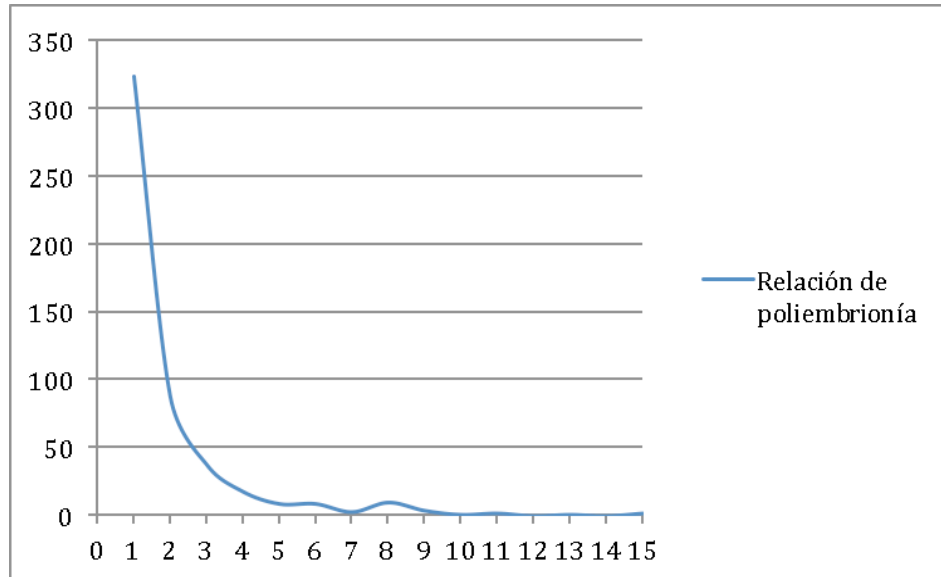
**Figura 41.** Cuantificación total de *K. vermilio* frente a *K. ilicis* en las diferentes zonas de estudio: A) Litago; B) Sarrión. Observando estas gráficas se aprecia que en los pies de una de las parcelas (y zonas de estudio) muestreadas se encontraba mayoritariamente atacada por *K. vermilio* (A) mientras que en la otra parcela era *K. ilicis* (B) el que predominaba.

Pero si por el contrario la población de insectos huésped es de un tamaño reducido, los insectos hiperparásitos realizan una puesta en que insertan más de un individuo por cuerpo de insecto parasitado; de esta manera asegura que a pesar de ser una descendencia reducida en número, será una descendencia segura debido a la presión que



ejercen sobre cada hembra por separado. A este mecanismo se le denomina poliembrionía y se desconoce la forma en que se lleva a cabo.

En las muestras procesadas, se ha observado que hay tanto *Kermes* sp. parasitados con un solo ejemplar de hiperparásito, como por varios (Fig. 42).



**Figura 42.** Relación de poliembrionía obtenida de las muestras procesadas. En esta gráfica se puede observar que el mayor n° de hembras de *Kermes* sp. están parasitadas con un embrión y que, con el n° embriones con que se parasita *Kermes* sp., se ve disminuido de manera progresiva dicho n° de *Kermes* sp. parasitado.

## **1. Aplicación de jabón potásico**

Habiendo observado los daños provocados por *Kermes* sp. en la parcela de Litago, y teniendo en cuenta los resultados negativos experimentados en diferentes ensayos cuando se ha tratado con productos fitosanitarios más agresivos, se decidió realizar un tratamiento con elementos tensoactivos (detergentes).

La aplicación de este tipo de producto en la dosis señalada en el apartado de Material y métodos “Aplicación de jabones” incluido en las actuaciones en campo fue un éxito. La capa de jabón y aceite que el caldo resultante de la mezcla habría creado sobre la hembra podría haberla asfixiado y no le permitiría el intercambio de oxígeno. Además al no haber sido capaz de respirar, los huevos que lleva en su interior no podrían completar su ciclo y morirían sin siquiera haber llegado a desarrollarse como larvas.

A este ensayo, los días 10 y 11 de Julio se dio la misma aplicación además de encalar (aplicar cal) a una altura de 1 metro desde la base del tronco a los árboles afectados. Este procedimiento borró el rastro de feromonas de las hormigas evitando

que subiesen por el tronco en su habitual atención a las colonias de cochinillas (NARASIMHAMURTHY *et al.*, 2011). Se repitió el tratamiento de encalado de la base de los árboles a los 15 días de la primera aplicación.

Transcurridas cinco semanas desde la última aplicación se observó la ausencia de ejemplares de *Kermes* sp. en los árboles tratados, lo que muestra la elevada eficacia de esta actuación, que no solamente es capaz de matar las hembras sésiles, sino también su descendencia.

No se realizó aplicación alguna a los árboles muestreados para así ser capaces de determinar hasta qué punto hizo efecto el primer tratamiento.

Las condiciones meteorológicas que acompañaron a la aplicación de la mezcla fueron óptimas (tal como se indica en Material y Métodos) para este tipo de ensayo.

Estos productos son comercializados en la actualidad por distintas empresas que venden un jabón potásico especial para cultivos ecológicos, eficaz contra cochinillas y otros insectos. Este tipo de compuestos han demostrado su eficacia en su objetivo según estudios anteriores (FONTES-PUEBLA *et al.*, 2012; NIELSEN, 1990; ROMANI, 2002; TARIQ *et al.*, 2010).

A los quince días de la primera aplicación se aconseja a realizar una segunda, del producto escogido para el tratamiento. Esto es debido a que de esta manera se apoya la primera y se aumenta potencialmente la eficacia del tratamiento realizado puesto que se continúa en el tiempo los efectos del mismo, además de eliminar las larvas que hayan podido nacer en ese periodo de tiempo.

El plazo de quince días para una segunda intervención no es inamovible. En caso de que la previsión meteorológica para los días escogidos para el desarrollo de la actividad no sea adecuada, se debería posponer o adelantar la realización de la labor en función de las previsiones.

De este modo se retrasa en caso de precipitaciones puesto que la mezcla sería diluida y perdería poder de acción; por el contrario, podría ser adelantada o retrasada en caso de previsión de vientos fuertes que puedan dispersar el producto.

La aplicación de este producto fue un éxito total. En los pies en que se aplicó la solución pudo observarse, al cabo de un breve período de tiempo y sin haber realizado una segunda aplicación, la ausencia completa de ejemplares del insecto plaga.

Este producto ha demostrado sobradamente su eficacia, si bien es cierto que la aplicación del mismo se realizó en unos días en que la meteorología fue óptima para realizar el tratamiento.

Es por esto por lo que se puede asegurar que en caso de que la plantación se encuentre atacada por este tipo de insectos, una manera inmejorable de eliminarlos es aplicando este producto en la fecha idónea.

## **2. Evolución de cámaras de cría**

Se procedió a efectuar la realización de este ensayo con muestras tomadas en Litago en julio de 2010. Tres de un total de cuatro de las muestras fueron destinadas a las cámaras cría o evolucionarios para, de esta manera, poder observar los cambios que se iban a suceder en un corto período de tiempo.

Este proceso se llevó a cabo durante los siguientes días, en que se estuvieron observando las cámaras de cría (mientras el material vegetal muestreado permaneció en verde). Durante 4 ó 5 días no se apreció evolución alguna, hasta el día 13-07-2010 en que se observaron varios ejemplares en cada una de las cámaras de un insecto alado y, a lo largo de los siguientes días se observó mayor número de dichos insectos.

Se estudiaron los diferentes seres vivos que interactuaban en el ecosistema y sus relaciones entre sí, así es como se identificaron diferentes agentes externos y su interacción con las plantas huésped.



**Figura 43.** Agallas formadas por acción de *Dryomyia lichtensteinii*.

Pasado el tiempo suficiente para evitar la pérdida de ejemplares vivos se procedió a la apertura de las cámaras para recoger todos los ejemplares de los artrópodos

observados anteriormente. Se procedió a guardar las muestras en placas Petri etiquetadas en que se pudiese verificar lo contenido. Estas muestras fueron las empleadas para la determinación de las especies de los mismos artrópodos.

Debido a que no todas las muestras tomadas en campo fueron introducidas en las cámaras de cría, pudo hacerse una observación paralela de dichas, y de esta manera facilitar el trabajo ya que interpretamos que el proceso variara muy poco de las cámaras a las placas Petri. Así pueden observarse las larvas de *Kermes* sp. mudando y una vez ha finalizado el proceso, las mudas esparcidas por las placas Petri en que fueron clasificadas y almacenadas.

La evolución de los insectos de las cámaras procedió a ser estudiada como si de un todo se tratase, es decir, no fueron diferenciadas las distintas cámaras ni su contenido puesto que se trata de un material vegetal y animal proveniente del mismo campo de cultivo en que los diferentes insectos pueden viajar de un pie a otro debido a la cercanía física a que se encuentran como consecuencia del marco de plantación elegido por el agricultor. Lo que si se hizo, a pesar de tratar todas las muestras como una forma global, fue contabilizar y observar por separado los tres evolucionarios donde, tanto los insectos como las estructuras no identificadas que fueron encontradas se catalogaron para cada una de ellas a pesar de que luego se unificase todo el material.



**Figura 44.** A) Manchas herrumbrosas causadas por el ataque del ácaro *Eriophyes* sp. B) Ejemplar del ácaro causante de las manchas herrumbrosas en las hojas.

En las muestras obtenidas en la parcela de Litago el 07-07-2010 se encontraron gran número de agallas sobre *Quercus ilex*. Todas estas agallas tenían la misma estructura básica, son de color verde pálido y presentan una forma oval alrededor de la puesta realizada en el envés de las hojas (Fig. 43). En el haz de las hojas, se apreciaba una

abertura, como si se hubiese producido la eclosión de los huevos y la larva ya hubiese salido al exterior.

Las agallas (Fig. 40) se definen como una respuesta evolutiva que muchos vegetales presentan ante la acción de diferentes organismos específicos (NIEVES-ALDREY, 1998). Existen un número inmenso de esos organismos capaces de inducir estas estructuras, entre los cuales se incluyen nemátodos, hongos, bacterias e insectos, siendo este último el grupo más amplio y el que fue susceptible de estudio.

La acción de las diferentes especies de artrópodos capaces de inducir la formación de agallas varía con la geografía, así en el sur de Europa *Dryomyia lichensteinii* induce agallas sobre *Quercus* sp. con igual regularidad que en el norte de Europa lo hace *Jaapiella veronicae* sobre *Salix caprea* (SKUHRVÁ y SKUHRVY, 2009). De esta manera, encontramos que en la península ibérica más de 250 especies son capaces de formar agallas en *Quercus* sp. (DEL ESTAL *et al.*, 2006; SKUHRVÁ *et al.*, 2006), siendo las más frecuentes aquellas inducidas por *Dryomyia lichensteinii* sobre *Quercus ilex* tanto en España como en la península Ibérica (INÁCIO *et al.*, 2002).



**Figura 45.** Detalle al binocular de larvas de *Kermes* sp. acoplándose a la rama de un árbol.

*D. lichensteinii* es un pequeño díptero que realiza la puesta sobre el envés de las hojas de, entre otros, *Quercus ilex* y como respuesta a esa acción, la encina forma una

estructura esferoide que recubre y ofrece una protección relativa al huevo hasta la emergencia del insecto (LÓPEZ *et al.*, 2004). En la Península Ibérica existen seis especies conocidas de dípteros capaces de inducir la formación de diferentes agallas en *Quercus ilex* (INÁCIO *et al.*, 2002).

Los daños provocados por insectos galícolos no suelen ser graves, excepto en aquellos casos en los que un desequilibrio en el ecosistema impide a los hiperparásitos un control eficiente de la población. Por ejemplo se han encontrado evidencias de avispa que parasitan sobre *Dryomyia* sp. que, en condiciones naturales, es capaz de limitar la acción del díptero ya que mediante el parasitismo consigue reducir la población de la misma de forma significativa (ASKEW, 1999).

Estas agallas encontradas en las plantaciones estudiadas se han identificado como las inducidas por el díptero *Dryomyia lichensteinii* que, dada la localización geográfica y los antecedentes de la relación que presentan ambos (insecto y vegetal), se puede considerar una acción habitual (INÁCIO *et al.*, 2002; SKUHRAVÁ *et al.*, 2006).

Debido a las fechas de recogida de muestras que fueron programadas para dos o tres semanas después de la emergencia de estos insectos de las agallas que recubren sus huevos (LÓPEZ *et al.*, 2004), se da por supuesto que estas agallas se desarrollan frente a la acción de este insecto a pesar de que no haya sido posible recuperar ninguno de los ejemplares que supuestamente habrían salido de dichas agallas, ya fuesen ejemplares de *D. lichensteinii* o algún parásito que puedan parasitarlo como *Saphonecrus haimi*, *Eupelmus urozonus* o *Aprostocetus domenichinii* en base a las experiencias obtenidas en Turquía (ASKEW, 1999).

En las muestras obtenidas de varios pies en la parcela de Litago se observaron manchas herrumbrosas en el envés de las hojas, producidas por la acción de un ácaro perteneciente al género *Eriophyes* sp. (Fig. 44) (DEL ESTAL *et al.*, 2006).

Los ácaros son la única subclase de la clase *Arachnida* con interés agrícola de la que se conocen, hasta la actualidad, 1700 géneros y 30000 especies de los mismos (PLANES y CARRERO, 1995). Dentro de esta subclase, la familia *Eriophyoidea* son ácaros fitófagos muy peligrosos; de tamaño muy reducido y forma alargada que viven en los órganos vegetales en desarrollo (brotes y yemas), produciendo agallas (PLANES y CARRERO, 1995; STORK, 1997).

De esta manera, se verificó el ciclo que asegura que al principio de julio hay presencia de hembras fijas gestando en su interior la nueva generación, así como

hembras parasitadas, muertas, en cuyo interior crece la siguiente generación de insectos hiperparásitos.

Fue entre el tercer y el cuarto día cuando comenzaron a aparecer las larvas en las cámaras donde estaban las muestras y a moverse por todos lados buscando un sitio propicio al que acoplarse. De hecho es característico que busquen zonas ya pobladas por otras larvas, esto podría ser porque así aseguran un mínimo de supervivencia, ya que cuánto mayor sea la densidad de población mayores serán las posibilidades de no ser devorado o parasitado (PLANES y CARRERO, 1995) (Fig. 45). De esta forma, una vez han conseguido llegar al fin del ciclo, tienen mayor tasa de supervivencia y de dejar descendencia; del mismo modo y con objetivo defensivo tanto de depredadores como de las inclemencias del tiempo buscan lugares lo mejor protegidos posible tales como heridas o axilas de las ramas de los árboles (Fig. 46) (MARTÍN BERNAL *et al.*, 2002).



**Figura 46.** Detalle de hembras de *Kermes* sp. desarrolladas. Atiéndase la alta concentración de ellas en poco espacio, adheridas a las heridas, causadas por granizo, que presenta la rama y/o cerca de las axilas que forman las ramillas.

No pudieron conseguirse ejemplares machos debido a la fecha en que se realizó el muestreo de la plantación. El macho no ha sido encontrado más allá de la primera semana de julio (MARTÍN BERNAL *et al.*, 2002). Realizar los muestreos en esas fechas se decidió así porque de esta manera se aseguraba la supervivencia de las larvas presentes en el interior de las hembras puesto que una vez se hubiesen tomado las muestras de las parcelas el insecto se vería sometido a cierto estrés ya que el material

vegetal al cual se encontraba unido moriría y ese estado podría haber parado la evolución de las larvas no obteniendo de esta manera ningún resultado apreciable.

Algo muy característico con respecto a los ejemplares de hembra de *Kermes* sp. encontrados fue que, una vez el ejemplar era abierto y se observaba el interior, cabía la posibilidad de que de su interior saliese una multitud de diminutas estructuras negras o blancas que consideramos se trataba de las mudas de la gran cantidad de larvas que hay en el abdomen de las hembras de estos insectos; pero fuesen de uno u otro color, siempre se trataba de uno solo, nunca mezclados.

Esto hizo que se plantease la posibilidad de que las mudas de un color perteneciesen a las larvas que habían nacido completamente sanas y las de otro color fuesen aquellas que pertenecían a los huevos de las larvas no natas debido a la acción de parasitismo del insecto del cual se pretende estudiar la eficacia como controlador de poblaciones de *Kermes* sp. (SÁNCHEZ-RUIZ, 1997). A pesar de que no es algo que afecte al presente proyecto, debería ser estudiado si existe realmente relación.

### **3. Identificación de artrópodos presentes en las muestras**

Llevar a buen término la labor de este apartado requirió la identificación de todos y cada uno de los ejemplares de las distintas especies de artrópodos presentes en las diferentes muestras. Es una labor en ciertos aspectos complicada, puesto que sin más apoyo que un binocular y algún libro de consulta y artículos científicos (DE LIÑAN, 1998; GUERRIERI *et al.*, 2009), se debe ser capaz de señalar género y especie de los distintos ejemplares presentes tanto en las muestras que se habían tomado para realizar la estadística de parasitismo como aquellos que podrían salir en las muestras tomadas e introducidas en las cámaras de cría, es decir, del total de insectos fitófagos obtenidos.

En los muestreos realizados en los árboles de diferentes plantaciones y en fechas continuadas se encontraron especies de insectos pertenecientes a distintas familias que cohabitan en el ecosistema. Un objetivo del proyecto fue tratar de verificar relaciones entre insectos que conviven en el árbol, por tanto se dividió el apartado en las muestras de los distintos días, de esta manera se espera sea más sencillo poder realizar afirmaciones relacionadas a los ciclos biológicos de los insectos estudiados. Asimismo, no fueron diferenciados entre ejemplares de la misma plantación muestreados el mismo día puesto que al ser un medio abierto, los insectos podían moverse entre los árboles que conforman la plantación. De hecho esto se trató de un ejercicio de homogeneización



del estudio, debido a que fue en este momento cuando todos los resultados obtenidos por separado se mezclaron y compararon.

En primer lugar, se estudiaron e identificaron taxonómicamente aquellos insectos transportados en las muestras que iban a ser procesadas y analizadas para establecer la relación de parasitismo que se observe entre *Kermes* sp. y sus depredadores/parásitos en la zona geográfica. Esto se decidió así para aprovechar el tiempo que había que esperar para que diesen resultado los evolucionarios preparados con el fin de albergar algún tipo de parásito del insecto plaga.


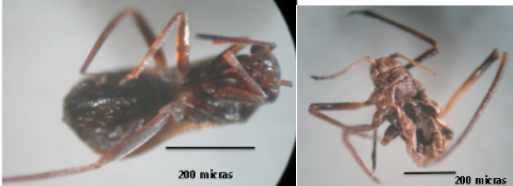
En ellas se encontró una variedad de insectos que podría estar condicionada por la época en que se realizó el muestreo, ya que como sabemos, los ciclos de los artrópodos están muy ligados a la meteorología local (DAJOZ, 2001).

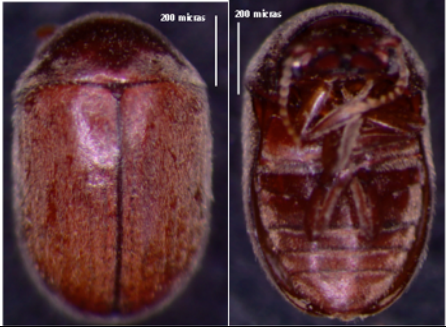

De este modo se clasificaron ejemplares de las siguientes familias y especies:

#### FAUNA ASOCIADA: común a ambas procedencias

Esta tabla se incluye en primer lugar para resaltar la importancia que estos insectos presentan para tener en cuenta la gestión de una plantación dada su relación con el sistema agrícola establecido. Son insectos capaces de adaptarse a las condiciones presentes en un sistema agrícola de este tipo y son habituales en plantaciones truferas por razones diversas.

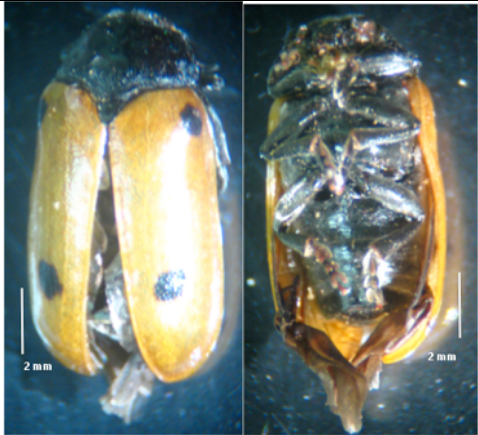

**Tabla 3.** Insectos encontrados en ambas plantaciones en diferentes fechas de muestreo.



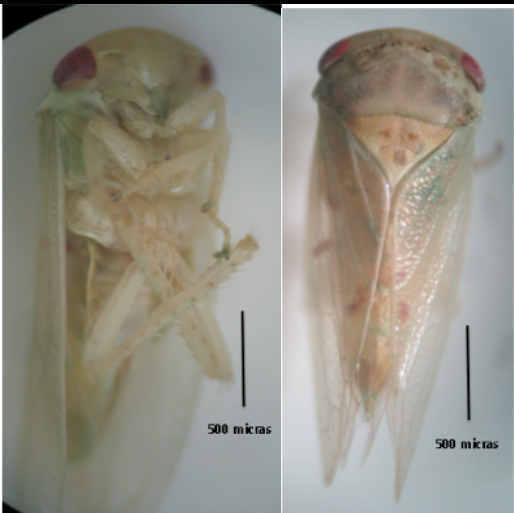
Nombre	Nº ejemplares	Descripción	Fotografía
<i>Diptera</i> <i>Dryomyia</i> <i>lichesteinni</i>	> 100	Agallas. Evaginación de tejido vegetal sobre la puesta del insecto. Se forma un pequeño glomérulo relativamente duro en el interior del cual, el insecto crece protegido, hasta la emergencia.	
<i>Hemiptera</i> Pulgonés	No medible.	Pulgonés-homópteros. Pulgón negro. Insecto que extrae savia de la planta por medio de un estilete que introduce en los tejidos de la misma.	

<i>Coleoptera</i> <i>Byrrhidae</i>	10	Pequeño coleóptero de caparazón marrón pardo. De forma oval. Posee la superficie de las alas endurecidas, que ocupan el 80% de su superficie dorsal, cubierta de pequeñas sensilias de manera uniforme.	
<i>Himenoptera</i> Hormigas	No medible.	La presencia en el árbol muestreado, tanto de <i>Kermes</i> sp. como de pulgones, ofrece a las hormigas la melaza, que producen y segregan dichos insectos como alimento, a cambio de protección de la colonia frente a depredadores.	

## LITAGO

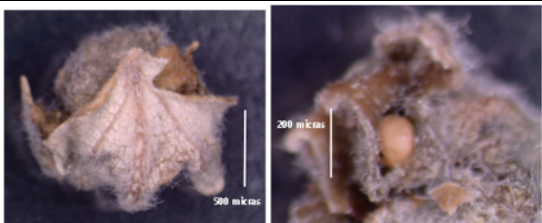
Tabla 4. Insectos secundarios encontrados en las muestras de Litago.

Nombre	Nº ejemplares	Descripción	Fotografía
<i>Coleoptera</i> <i>Lachnaia hirta</i>	6	Coleóptero fuerte, de alas anteriores color naranja amarillento y moteadas de negro. Tiene forma alargada.	
<i>Coleoptera</i> <i>Curculionidae</i> <i>Curculso nucum</i>	1	Exoesqueleto cubierto de quetas fuertes de manera uniforme. Presenta el escapo muy largo. Patas fuertes y largas con las tibias espoladas y artejos terminales poderosos.	

<p><i>Coleoptera</i> <i>Attelabidae</i> <i>Attelabinae</i> <i>Attelabus nitens</i></p>	1	<p>Caparazón dorsal marrón rojizo en que apenas se aprecian quetas. Tan ancho y alto como largo. Posee las patas muy articuladas y largas en proporción al resto del cuerpo con fuertes espolones y artejos terminales.</p>	
<p><i>Coleoptera</i> <i>Coccinella</i> <i>septimaculata</i></p>	1	<p>Coleóptero de forma semiesférica. Presenta siete puntos negros en el exoesqueleto de coloración naranja amarillento.</p>	
<p><i>Cicadelidae</i> <i>Jacobiasca</i> <i>lybica</i></p>	1	<p>Verde amarillento. Tiene boca picadora succionadora. Frontovertex amplio. Alas grandes en proporción al cuerpo que pasan el gáster, translúcidas y coriáceas, se distingue la venación.</p>	

## SARRIÓN 1

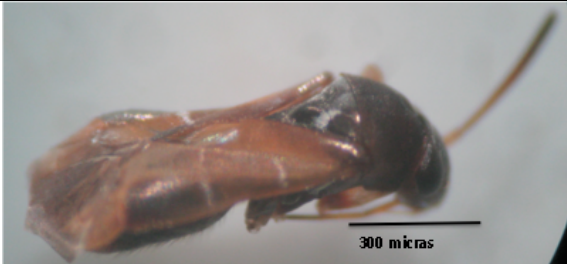
**Tabla 5.** Estructura globosa formada en la hoja de *Q. ilex* por un insecto para realizar y proteger la puesta (19-07-2013).

Nombre	Nº ejemplares	Descripción	Fotografía
<p><i>Coleoptera</i> <i>Attelabidae</i> <i>Attelabinae</i> <i>Attelabus nitens</i></p>	6 estructuras cada una con un huevo	<p>Enrollamiento de las hojas sobre sí mismas por acción de un insecto (a) creando un glomérulo algodonoso alrededor de la puesta del huevo del insecto (b).</p>	

Coleoptera Curculiónido Apion	1	Tiene el exoesqueleto cubierto, de manera uniforme, de sensilias en forma de pequeñas estructuras esféricas de colores gris o marrón. Patas largas y fuertes de color rojizo en que las sensilias se aprecian abundantes y gruesas.	
-------------------------------------	---	---	--

### SARIÓN 3

**Tabla 6.** Entomofauna secundaria hallada en la finca de Sarrión en la tercera salida (17-08-2013).

Nombre	Nº ejemplares	Descripción	Fotografía
<i>Hemiptera</i>	1	Insecto plano. El exoesqueleto presenta color marrón oscuro y las alas marrón claro en que se distingue la venación. Boca mordedora.	

### FAUNA AUXILIAR

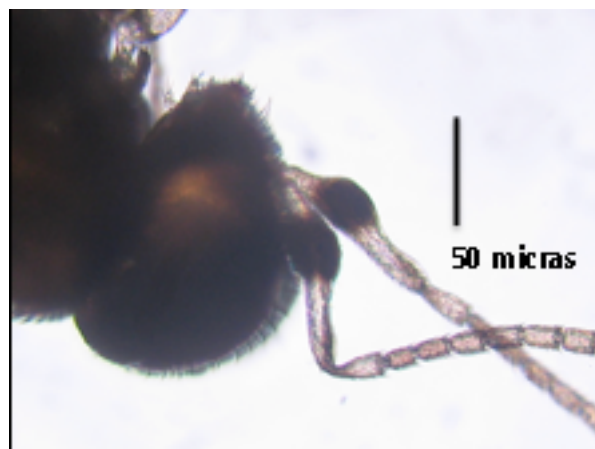


**Figura 47.** Imagen de *M. hispanicus* El exoesqueleto presenta coloración amarillenta. Se distingue el escapo más oscuro.

De las cámaras de cría que fueron realizadas, pudieron ser extraídos pequeños insectos alados (Fig. 47) que, en primer momento se consideró que se tratase de los parásitos que buscábamos, o al menos algún artrópodo que cumpliera esa función

reguladora de *Kermes* sp. como ocurre en otros países de la cuenca mediterránea, donde existen estudios que demuestran que hay una elevada variedad de especies que parasitan y/o depredan tanto las larvas como los huevos y adultos de este género de insectos (ÜLGENTÜRK *et al.*, 2004).

En Turquía, país situado en la cuenca mediterránea y que por tanto comparte los parámetros meteorológicos, edáficos y una vegetación similar, característicos de este clima con la Península Ibérica, se han encontrado insectos de diversos géneros que depredan y/o parasitan insectos de la familia *Coccidae* (JAPOSHVILI y KARAKA, 2007).



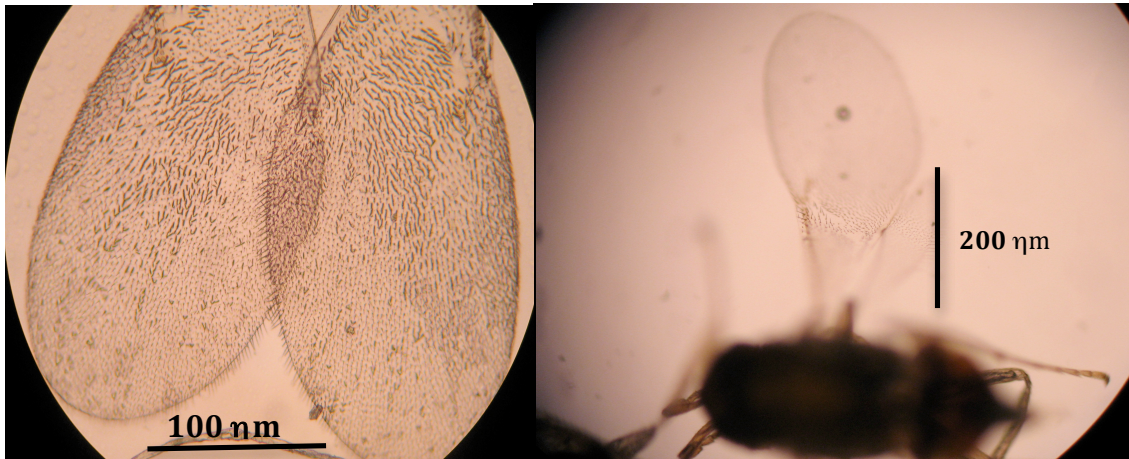
**Figura 48.** Detalle de la cabeza de una avispa encontrada en las muestras. Se aprecia la boca mordedora que es una característica necesaria para completar la identificación taxonómica.

El orden *Hymenoptera* posee un elevado número de especies que parasitan o depredan otros géneros y familias de insectos para poder completar su ciclo biológico, y en este sentido se han encontrado numerosas relaciones entre insectos que cohabitan en la misma región geográfica.

Así pues en Turquía se han encontrado como parásitos de *Kermes* sp. sobre *Quercus* sp. ejemplares pertenecientes a la familia *Encyrtidae* de: *Blastothrix* sp., *Cheiloneurus claviger* Thomson, *Mycroteris* sp. y *M. ferrugineus* (Nees); *Pteromalidae*: *Pacyneuron* sp. (JAPOSHVILI y CELIK, 2010; ÜLGENTÜRK *et al.*, 2004).

De esta manera, en las muestras se encontraron ejemplares de especies diferentes de insectos. Se planteó la posibilidad de que todos sean parásitos/depredadores de *Kermes* sp. en cuyo caso, la estadística de parasitismo sería para la acción conjunta de las especies, nunca atendiendo al porcentaje de parasitismo de manera individualizada. Este hecho (reafirma la posición del control biológico como método de lucha contra estos

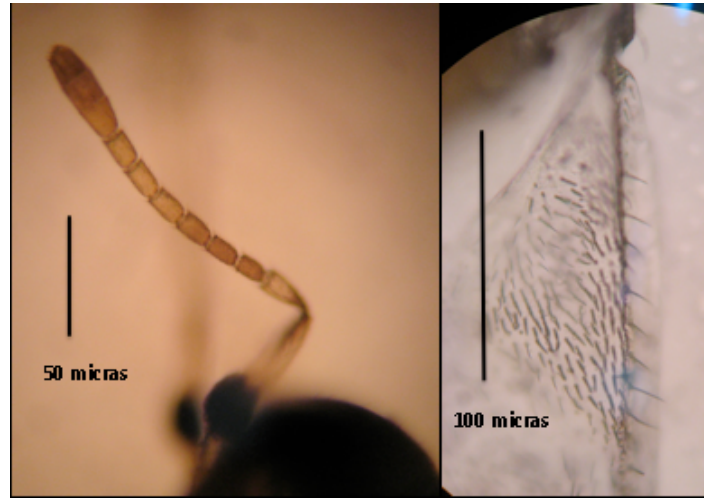
insectos fitófagos/es importante para el presente proyecto) puesto que el objetivo principal es estudiar el parasitismo de *Kermes* sp. y, a falta de un artrópodo que sea capaz de parasitarlo/depredarlo en las condiciones indicadas para las zonas de estudio, se han encontrado varios parásitos/depredadores con los que se aseguraría el control de las poblaciones de *Kermes* sp. mediante la acción parásita conjunta de las diferentes poblaciones de los insectos.



**Figura 49.** A) Detalle de las alas de unos de los ejemplares de avispa encontrados en las muestras, dónde se pueden ver numerosas quetas. B) Adviértase la diferencia entre forma y tamaño de las alas anterior y posterior.

En primer lugar se diferenciaron por el color aparente de sus cuerpos a simple vista; había unas claras y otras oscuras. De esta manera se guardaron en alcohol para su posterior examen completo más minucioso. Con ello se planteó la posibilidad de que se hubiesen encontrado diferentes especies del mismo género de insecto o incluso distintos géneros de insectos capaces de cohabitar en un mismo medio y realizar una presión a causa del parasitismo y/o la depredación sobre las poblaciones de insectos plaga en cuestión a pesar de no ser los únicos insectos presentes en el medio de la plantación con iguales objetivos biológicos de supervivencia. Lo cual demuestra que lejos de interferirse entre especies o géneros, para este tipo de insectos parásitos/depredadores, no es tan importante la presencia de competidores naturales como la abundancia de presas que atacar. Esto, en relación al insecto plaga, se traduce en que cuanto mayor sea el número de especies capaces de parasitar/depredarla, mayor será la presión a que se vean sometidas las poblaciones del insecto y por tanto, mayor índice de mortandad existirá.

1<sup>er</sup> insecto: *Metaphycus hispanicus*



**Figura 50.** Detalles de la antena A) y del clavo del ala B) de uno de los artrópodos encontrados en las cámaras de cría. En el orden *Hymenoptera* de insectos, estos caracteres se utilizan para determinar el género y la especie de los insectos a identificar (GUERRIERI y NOYES, 2000).

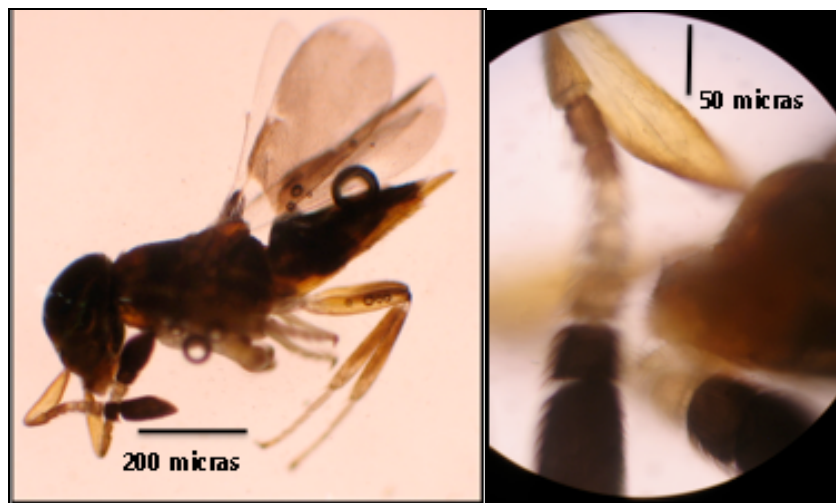
Dado que el insecto encontrado pertenece al Orden *Hymenoptera*, hecho que podemos afirmar debido a que posee boca morderora (Fig. 48) y dos pares de alas que se diferencian con facilidad la anterior y posterior tanto en forma como en tamaño (Fig. 49) así como de gran número de quetas o sedas en las alas que permiten de esta manera unir las (Fig. 50), se realizó una búsqueda de bibliografía relacionada con el parasitismo de *Kermes* sp. en la Península Ibérica, con la intención de comprobar posibles símiles faunísticos en geografías distantes de una amplia región como es la cuenca mediterránea. En relación con la información requerida, se han encontrado ejemplares de *Metahycus hirtipennis* depredando/ parasitando *Kermes* sp. (GUERRIERI *et al.*, 2009).

La determinación taxonómica de los artrópodos presentes en las cámaras de cría pudo realizarse gracias a la experiencia de los investigadores del grupo de truficultura del CITA. Ellos fueron quienes marcaron las pautas a seguir en la búsqueda de información y claves dicotómicas útiles en la determinación de este orden de insectos en que los integrantes se diferencian en las antenas por el tamaño y/o la forma de las mismas así como por el número, el tamaño y la forma de los artejos que las componen, siendo el más importante el escapo; la presencia de mayor o menor número de quetas en las alas, la longitud de las alas con respecto al cuerpo (GUERRIERI y NOYES, 2000) y otros caracteres muy poco apreciables a simple vista.

Dada la coloración bicolor de sus antenas y la posición libre del gonostyli de su ovipositor se puede afirmar que se trata de un ejemplar del género *Metaphycus*.

Las características clave en la determinación correcta del insecto han sido los colores que presenta en toda su anatomía. El color amarillo de la cabeza y la parte caudal del disco dorsal, y la coloración blanca del cuerpo en la zona ventral; así como la coloración de las antenas con escapo amarillento con una banda marrón en el centro y otra longitudinal y más pálida en el ápice.(GUERRIERI y NOYES, 2000).

2º insecto:        *Metaphycus hirtipennis*



**Figura 51.** A) Fotografía de uno de los insectos que fueron encontrados en los evolucionarios.  
B) Detalle de las sensilias que poseen las antenas de otro insecto encontrado

El segundo insecto encontrado en las cámaras de cría ha sido clasificado dentro del orden Hymenoptera puesto que, como el anterior ejemplar posee boca mordedora y quetas en las alas que le permiten unir las alas en vuelo.

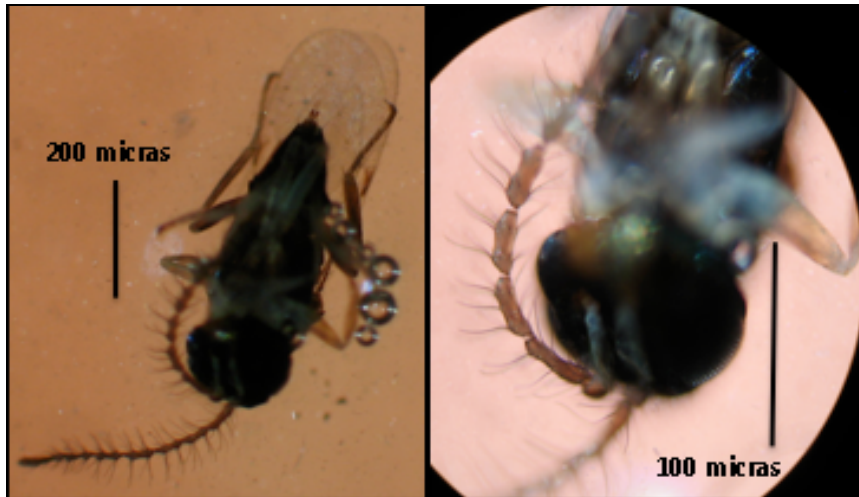
Del mismo modo, y observando las sustanciales diferencias morfológicas que existen entre este insecto y el anterior y, basado en la clave dicotómica de Guerrieri, se puede determinar que se trata de otro miembro de la familia *Encyrtidae*.

Dadas las características morfológicas señaladas para el anterior artrópodo, se puede afirmar que se trata de nuevo de una especie perteneciente al género *Metaphycus*. La característica morfológica distintiva de esta especie es un conjunto de pelos, mas largos y gruesos que las sensilias que recubren su cuerpo, en la parte posterior, caudal del tórax, entre las alas (GUERRIERI y NOYES, 2000) (Fig. 51).



*M. hirtipennis* es un pequeño himenóptero que parasita *Kermes* sp. en toda la cuenca del mediterráneo (GUERRIERI y NOYES, 2000). Allí donde se dan las condiciones para que se desarrolle *Kermes* sp. podrán encontrarse ejemplares de *M. hirtipennis*.

3<sup>er</sup> insecto: *Cheiloneurus* sp.



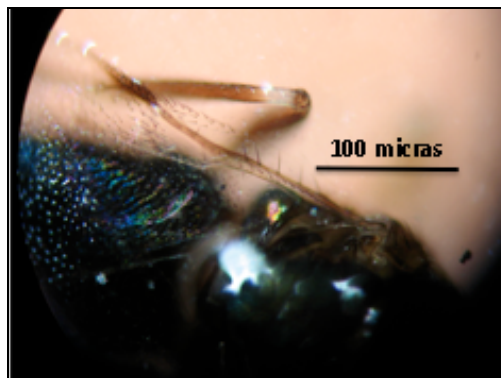
**Figura 52.** Vista ventral del último insecto encontrado. Detalle de la cabeza y las antenas.

El último himenóptero que se obtuvo de las cámaras de cría posee unas antenas largas y plumosas (Fig. 52), características del género *Cheiloneurus* entre otros .

La longitud con que las alas sobrepasan el gáster es también característica de este género, además de la coloración de la cara y la parte caudal del tórax: blanco.

El tamaño y forma de los ojos, así como su disposición en la cabeza son características que diferencian unas especies de otras.

No ha sido posible identificar los ejemplares hasta especie debido a la ausencia de bibliografía que consultar.



**Figura 53.** Detalle de la vista dorsal dónde pueden apreciarse las quetas que unen las alas durante el vuelo.

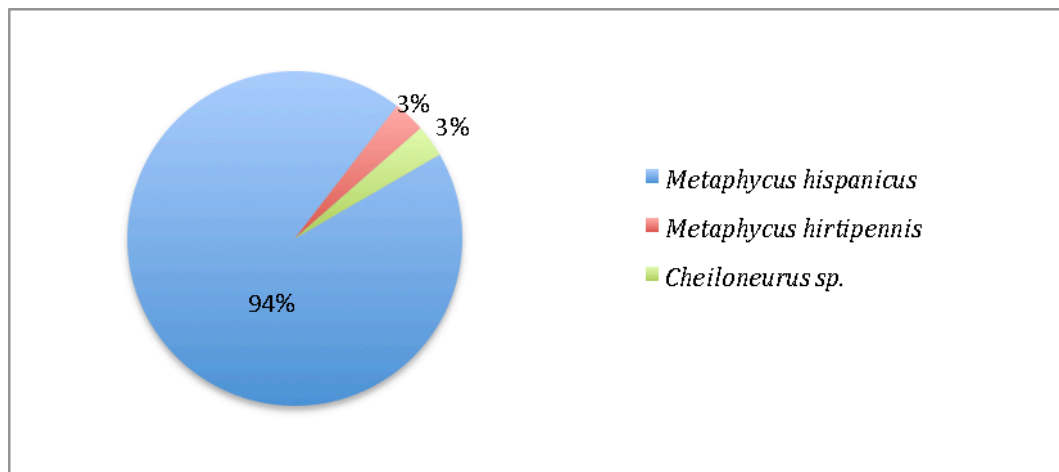
Una gran diferencia entre estas especies es el número, tamaño y disposición de las quetas que se encuentran en el clavo para unir las alas durante el vuelo. Esta especie las presenta de mayor longitud así como con mayor espacio entre ellas (Fig. 53). Por lo que estas características físicas fueron importantes para identificar el insecto.

Dado que solo se han encontrado ejemplares hembras de los insectos parásitos, se puede afirmar que dichas especies están sujetas a arrenotoquia como medida evolutiva de supervivencia.

#### **4. Análisis estadístico de parasitismo**

Los datos obtenidos se van a expresar de manera independiente en todo momento para cada día de muestreo, árbol del que se toman las muestras y parcela muestreada. Asimismo en caso de que un árbol presente varias muestras, se especificará la procedencia dentro de la planta; es decir, si pertenece a la parte alta, media o baja.

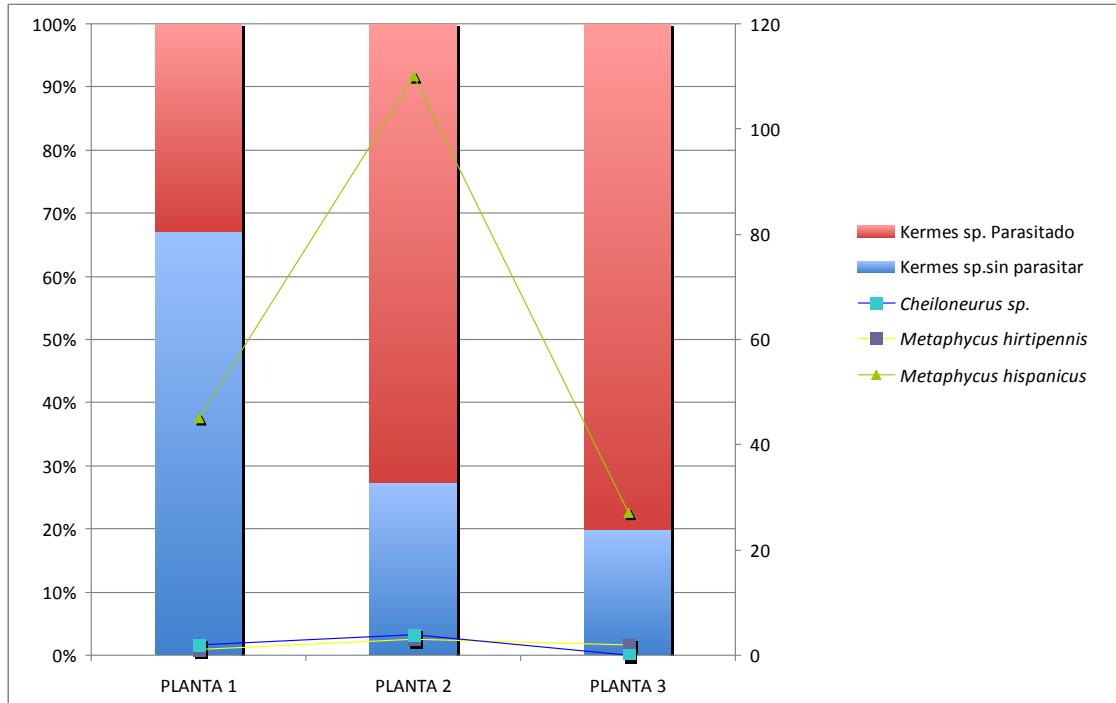
Esta pequeña variación en la metodología es debida a que este procedimiento es el principal objetivo de estudio puesto que se trata de la comprobación de si los insectos encontrados como parásitos son buenos controladores de poblaciones.



**Figura 54.** Porcentaje de los diferentes insectos himenópteros encontrados en las muestras procesadas procedentes de la parcela de Litago.

Los datos estadísticos se han relacionado únicamente al parasitismo en *Kermes sp.* por los diferentes himenópteros encontrados en las muestras (Fig. 54) diferenciando aquellos ejemplares parasitados de los sanos. De esta manera, no se diferencia si un ejemplar de insecto plaga está parasitado por uno o por varios ejemplares de insecto parásito/depredador, así como tampoco se atiende al momento de la puesta. Esto es así

porque no interesa estudiar la especificidad de la puesta del himenóptero parásito, sino la relación de parasitismo que presenta sobre un determinado insecto, que en este caso es *Kermes* sp. y su eficacia para controlar una población del mismo de manera natural.



**Figura 55.** Comparación de las proporciones de *Kermes* sp parasitado frente a sano. Al mismo tiempo, se compara esta proporción de parasitismo con el número total de himenópteros de las diferentes especies encontrados en cada una de las muestras.

Con relación a lo anterior no se estudia el porcentaje de parasitismo que cada especie encontrada ejerce sobre la población de *Kermes* sp., sino que se atiende a la presión ejercida por el conjunto de las poblaciones de los diferentes insectos; esto es así del mismo modo que se decidió no estudiar las diferentes especies de *Kermes* sp. encontradas en la plantación por separado puesto que atacan a la plantación de manera simultánea.

En este sentido no se ha diferenciado entre *Kermes ilicis* y *Kermes vermilio* ya que son especies diferentes del mismo género y es más que asumible la posibilidad de que la misma especie de parásito/predador, parasite o deprede ambas especies; en caso de que no fuese así, se trataría de un parásito específico.

En la figura 55 se pueden observar las proporciones en que fueron encontrados estos insectos en las muestras tomadas en el campo y después introducidas en los evolucionarios. De esta forma, se puede apreciar la presión que ejerce cada insecto sobre cada población de *Kermes* sp. aislada.

## **LITAGO**

**07-07-2010**

Las muestras tomadas en este campo se realizaron sobre cuatro pies de un total de 32 en una parcela de proporciones muy limitadas. Estos árboles llegaban a medir más de dos metros y medio de altura y los cuatro de perímetro. Su disposición en la parcela se muestra en la figura 22 en el apartado de “Material y métodos”.

En estas muestras parece que los ejemplares estaban vivos cuando fue tomada, lo cual es lógico porque es de la primera semana de julio cuando el ciclo del insecto a estudiar todavía no ha concluido.

En la figura 55 se observa que el porcentaje de parasitismo aumente conforme los ejemplares muestreados se alejan de la pared presente en la plantación. Posiblemente este hecho sea debido a que el muro tiene efecto sobre la plantación puesto que sombrea, corta el viento y ofrece seguridad física al ecosistema contiguo.

Es posible que los parásitos del insecto a estudiar se vean beneficiados por la insolación y aireación de las plantas y/o perjudicados por unas temperaturas más frescas así como un mayor grado de humedad, aunque no se ha comprobado esta hipótesis dada la falta de información al respecto.

## **SARRIÓN**

En esta plantación el muestreo se realizó en un número significativamente mayor; el doble que en la plantación anterior, sin embargo proporcionalmente hablando es menor, ya que el número total de pies en dicha plantación es sustancialmente mayor. La disposición de los pies dentro de la finca esta señalada en la Figura 24. en el apartado de “Material y métodos”.

Los pies **1, 2 y 3** se encontraban en la orilla de la plantación siendo árboles de no más de un metro y medio de altura y dos metros de perímetro. Estos pies se trataron como el principal foco de infección. Los pies **4, 5 y 6** se encontraban unos 30 metros hacia el interior de la plantación y habían desarrollado una altura de casi tres metros y un perímetro de cuatro mientras que, y por último, los pies **7, 8, 9 y 10** se encontraban más alejados del principal foco de infección de *Kermes* sp. dos de **7 y 9** en la orilla junto a un camino de acceso y **8 y 10** unos 15 metros hacia el interior de la finca. Se trataba de árboles grandes, midiendo casi cuatro metros de altura y sobrepasando los cinco de perímetro.

### 03-08-2010

Se observó la presencia de hormigas en todos los pies estudiados.

Los ejemplares 7 y 8 no estaban infectados por *Kermes* sp., sin embargo se tomaron muestras de ellos para comprobar si estaban infectados con algún patógeno. Esto se decidió así en relación a la mención anterior a la transmisión de patógenos por parte del insecto, puesto que al ser plantas no atacadas por *Kermes* sp. podría ser factible la comparación entre ejemplares infectados y no infectados.

En las ramas, *Kermes* sp. es más fácil de ver en tejidos más viejos; a los tejidos jóvenes o la larva no llega, bien porque no le resulte apetecible, bien porque el estado fenológico no coincide con el estadio larvario.

En los sucesivos días en los cuales se estuvo observando el movimiento de las larvas, se apreció que las larvas del insecto prefieren zonas en que se encuentren relativamente protegidas, tales como heridas o axilas de ramas. A pesar de que se observa gran movilidad de las larvas durante los primeros días tras la eclosión, la longitud del desplazamiento rara vez supera los 30-40 cm. Y en su gran mayoría es basipétalo.

		03/08/10	04/08/10	17/08/10
Árbol 1	Parte media			
	Parte alta			
Árbol 2				
Árbol 3				
Árbol 4	Parte media			
	Parte alta			

Porcentaje de parasitismo	
	20,00%
	33,33%
	66,67%

Figura 56. Desarrollo de la infestación de *Kermes* sp. en la plantación de Sarrión a lo largo del período de muestreo.

### 17-08-2010

Hay que fijarse en el escaso número de ejemplares de insecto plaga que había en las muestras recogidas este día. Esto es debido a que el ciclo biológico del insecto ha finalizado hace tiempo y las carcasas del insecto muerto no permanecen en el árbol mucho tiempo después de que hayan salido las larvas.

En los insectos pertenecientes a las muestras realizadas en esta fecha, ya no se observa que contengan en el interior del caparazón huevos o larvas, hayan sido parasitados o no.

Los porcentajes de parasitismo obtenidos son más o menos estables en el tiempo con una pequeña variación al alza con el paso del tiempo, lo cual a su vez es lógico puesto

que, con el paso de los días más ejemplares de insecto plaga serán parasitados por las distintas especies de avispas que han sido encontradas en el medio.

A pesar de que no en todas las fechas en que se salió a la plantación fueron muestreados los mismos pies, puede hacerse una correlación entre el tiempo transcurrido desde el inicio del ciclo del insecto plaga hasta el último momento en que se recogieron muestras de los árboles atacados por *Kermes* sp. (Figura 56). Esto es así ya que las hembras adultas de *Kermes* sp., que son aquellos ejemplares a eliminar/controlar son insectos inmóviles una vez se han fijado a la corteza del árbol afectado y, debido a la alta movilidad de los insectos que los parasitan y/o depredan son presas fáciles durante un largo período de tiempo (desde mediados de mayo hasta la tercera semana de julio), por lo cual es lógico esperar que vaya aumentando el porcentaje de parasitismo en las muestras tomadas del campo conforme vaya avanzando el tiempo.

La eficacia del control biológico por acción de parasitismo y/o depredación ha resultado todo un éxito, porque a pesar de que se hayan encontrado varias especies diferentes del mismo género, incluso varios géneros diferente parasitando ejemplares de un mismo huésped cohabitando en el medio, se han obtenidos buenos datos en el porcentaje de la acción parásita de los mismos sobre *Kermes* sp.

Hay un elevado porcentaje de parasitismo, lo que asegura que las poblaciones, si no son eliminadas completamente, quedan tan reducidas que son incapaces de elevar su número hasta sobrepasar el umbral de tolerancia y producir daños en los años sucesivos.

Además, es importante conocer que no hay una sola especie que parasite el insecto plaga, sino que existe toda una amplia variedad de géneros y especies que son capaces de parasitarlo y/o depredarlo, con lo que se abre todo un nuevo abanico de posibilidades (en cuanto al estudio del control de esta plaga se refiere).

Tras recopilar y clasificar los datos, se procedió a un análisis de los mismos por medio del programa spss.

En primer lugar, para poder realizar una prueba de análisis de varianzas ANOVA, deben cumplirse las pruebas de KORMOGOROV-SMIRNOV y LEVENE. La primera prueba en este caso determinó que las series de datos expuestos presentan una distribución normal con una significación alta (Tabla 7). La segunda prueba para la que, en este caso en concreto, los datos de la serie de una de las variables no cumplían la condición, y por tanto no podían introducirse para analizarlos mediante una prueba más

completa, fueron transformados para lo cual se utilizaron los “ln” de los mismos (Tabla 8).

**Tabla 7.** Resultados para la prueba de KORMOGOROV-SMIRNOV. Manifiesta que las listas de datos expuestas presentan una distribución normal con una elevada significación.

	Z de K-S	<i>p</i>
Nº Kermes	0,690	0,728
Parasitismo	0,465	0,982

$p > 0,05 \rightarrow$  Distribución normal de los datos.

$p < 0,05 \rightarrow$  Distribución de los datos no normal.

**Tabla 8.** Resultados de la prueba de LEVENE que comprueba la homocedasticidad de las series de datos. Se ha introducido los resultados con los datos originales y con los datos transformados de una de las variables. De esta manera se consigue cumplir con los parámetros exigidos.

	Test de LEVENE	<i>p</i>
Nº Kermes	34,718	0,000
ln Nº Kermes	1,749	0,228
Parasitismo	0,008	0,992

$p > 0,05 \rightarrow$  Varianzas homogéneas.

$p < 0,05 \rightarrow$  Varianzas heterogéneas.

La tabla pone de manifiesto que a pesar de que entre ambas variables exista una diferencia sustancial, según la prueba post Hoc de TUKEY, de la variable 1 (el día de muestreo) tienen relación los días 1 y 2 y el día de muestro 3 sería independiente a ambos y no tendría relación significativa con los anteriores días de muestreo. Esta afirmación puede hacerse tanto para la variable que no ha sido necesario transformar (% *Kermes* sp. parasitado) como la que sí (Nº total de *Kermes* sp. parasitado). Si bien es cierto que en caso del Nº total la significación es mucho más indicativa de dicha dependencia. Esto se puede afirmar ya que para una variable su valor es  $p=0,005$  y para el otro es  $p=0,000$ , siendo mayor cuanto más cerca de 1 esté.

**Tabla 9.** Medias y desviaciones estándar del número total de *Kermes* sp. parasitado y del porcentaje de parasitismo que presentaban dichas poblaciones para cada una de las tres fechas de muestreo. También muestra la correlación de post Hoc de TUKEY que presentan los datos. Tabla que indica el nivel de significación de cada una de las variables para la prueba de ANOVA.

	Nº <i>Kermes</i> sp.		% <i>Kermes</i> sp. parasitado	
DÍA 1	110,75 ± 42,27	a	45,79 ± 9,08	a
DÍA 2	292,25 ± 128,17	a	54,82 ± 9,93	a
DÍA 3	10,75 ± 6,99	b	74,46 ± 8,44	b
ANOVA	F = 29,573; $p = 0,000$		F = 10,204; $p = 0,005$	

Tras los resultados expuestos en la Tabla 9, a partir de los datos que se han obtenido

del trabajo realizado, se puede afirmar que existe relación significativa entre el número de *Kermes* sp. parasitado y la fecha en que se realizó el muestreo; con lo cual se puede afirmar que cuanto más tiempo pasa mayor será el número de insectos parasitados y, teniendo en cuenta las características biológicas de las poblaciones de *Kermes* sp., también sería lógico pensar que aumentará el porcentaje de insectos parasitados y que por consiguiente disminuiría el número de *Kermes* sp. vivos para años futuros con lo que parece lógico que esta sería una forma adecuada de control natural de la plaga.

Asimismo, se trató de interpretar hábitos en las puestas de los hiperparásitos, relacionando el número de posibles presas dentro de una población de *Kermes* sp. y el número de agujeros que se contabilizó en los exoesqueletos de los *Kermes* sp. Esto podría dar información sobre la presión que pueden ejercer unos insectos sobre los otros.

La correlación entre el número total de *Kermes* encontrado en la muestra con el número de agujeros que presentaban los mismos en su exoesqueleto, es significativa para la prueba de PEARSON tal como muestra la tabla 10.

**Tabla 10.** Muestra la correlación bivariada de las variables N° *Kermes* total y N° agujeros totales.

N° Agujeros totales	$Z = 0,461$	$p = 0,995$
N° <i>Kermes</i> sp.	$Z = 0,680$	$p = 0,744$

Los resultados obtenidos para las distintas pruebas muestran la relación existente entre las diferentes variables. De esta manera, se podría decir que tanto la variable N° total de *Kermes* sp. como el % *Kermes* sp. parasitado están directamente relacionadas con la fecha de muestreo y por tanto con el transcurso del tiempo como factor determinante en el completado de los ciclos biológicos.

Del mismo modo se ha visto una correlación inversa? entre las variables N° de *Kermes* total y N° de agujeros totales.

Cuanto mayor es el número de *Kermes* sp. presentes en una población, menor es el número de agujeros contabilizados.

Esto puede ser debido como medida evolutiva. En caso de que exista abundancia de alimento harían puestas selectivas ya que el alimento está asegurado y, en caso de que el alimento escasee la puesta sería indiscriminada para aumentar las posibilidades de que alguno sobreviva.

## **5. Evolución de cámaras húmedas**



El ensayo de las cámaras húmedas, se realizó para poder verificar la presencia de algún patógeno con que estuviese infectados los distintos pies de la plantación en Sarrión.

La realización de las cámaras húmedas tuvo como consecuencia el planteamiento de la hipótesis de que *Kermes* sp. transmite *Diplodia* sp. que a pesar de no haber sido estudiada esa relación, no debería ser descartada la posibilidad de que pudiese transmitir, ya no *Diplodia* sp. o cualquier otro organismo patógeno (IBARRA *et al.*, 2001).

En este sentido, fue necesario acudir regularmente al laboratorio de la E.P.S. para poder realizar el seguimiento de la evolución del posible parásito de forma exhaustiva.

Continuando en la línea de trabajo anterior, se procedió a diferenciar todas las muestras según la cámara en que habían sido introducidas para el cultivo. Esta determinación viene dada por el hecho de que, a pesar de que se esterilizo tanto el material vegetal utilizado como las cámaras en que se realizo el cultivo, había alta probabilidad de que entre muestras se infectasen ya que, en las cámaras se introdujeron distintas muestras de diferentes ejemplares.

Se realizaron cinco cámaras húmedas con material vegetal en su interior. Fueron preparadas en distintos días, con material vegetal que procedía de distintos momentos pero todos de la misma finca agrícola. La finca muestreada de la localidad de Sarrión.

Una vez se comprobó que el material vegetal estaba infectado con un hongo, se procedió a su determinación para verificar la posibilidad de que fuese un patógeno transmitido por *Kermes* sp. o si por el contrario había sido infectado por contaminación de las muestras.

Para ver y estudiar las muestras tomadas utilizamos un binocular de luz catódica. Se procedió a una inspección visual superficial y, una vez se evaluó la infección, se observaron al binocular las muestras que realmente eran susceptibles de presentar una infección dañina. Se tomaron fotografías para documentar los estados de infección en función del árbol infectado y el momento en que fueron tomadas.

De todas las muestras que fueron introducidas en las cámaras húmedas es muy difícil determinar la que mayor cantidad de infección presenta puesto que existen varias muestras que presentan un grado de infección muy similar, a pesar de que las muestras tomadas de las plantas **1, 3, 5 y 6** se ven más afectadas que las de **7, 8, 9 y 10**, de las cuales estas dos últimas no presentan afección. Esto podría ser debido a que el insecto

es capaz de transmitir el hongo, ya sea por vía interna o vía externa, o a que debido al debilitamiento de los pies como consecuencia de la acción del insecto, el hongo es capaz de infectar los árboles con mayor facilidad.

El hecho de que se encontrasen diferentes grados de infección evidenció que la infección no fue debida a contaminación ya que, habiendo procedido a la desinfección tanto de los recipientes como de las muestras utilizadas y, debido a que todas ellas están más o menos infectadas era muy improbable que fuese contaminación externa.

El procedimiento de observación de las muestras en las cámaras húmedas se realizó con sumo cuidado de que no hubiese contaminación de material fúngico entre ellas. Por esta razón, y contemplando la posibilidad de que una vez abiertas el material fúngico que las hubiese colonizado pudiese contaminar el resto de muestras de las otras cámaras, las cámaras húmedas se abrían una por una en cada sesión de trabajo, por tanto el período entre una observación y la siguiente puede ser amplia pero no por ello menos exhaustivo. Una vez se realizó este proceso se evidenció la presencia de cierto hongo en algunos árboles afectados. Y por ello se procedió a la observación de todas las muestras introducidas en las cámaras húmedas con el fin de ir viendo la evolución del proceso de infección.

El seguimiento de la evolución del material vegetal presente en las cámaras húmedas no fue concluyente puesto que, a pesar de que se había procedido a desinfectar tanto el material vegetal como los útiles, se evidenció la presencia de *Botritis cinerea*. Un hongo que es cosmopolita, ubicuo y polífago.

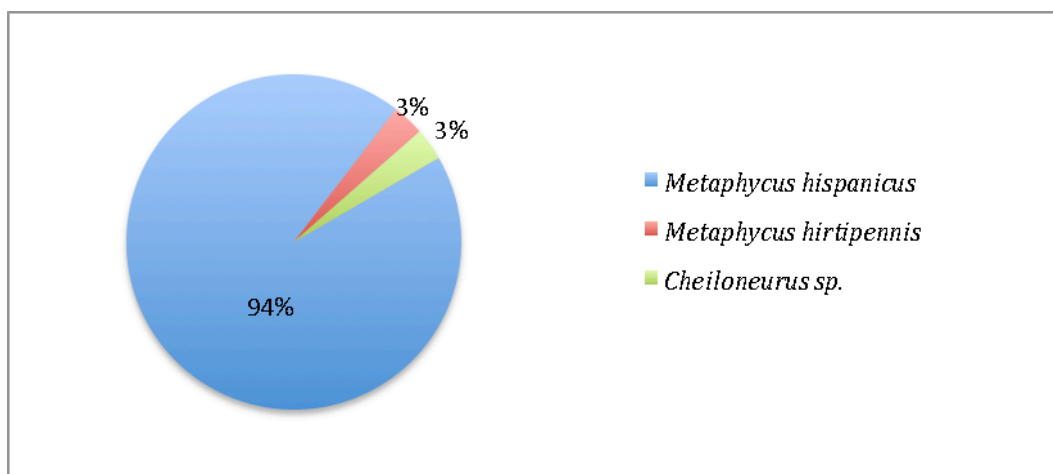
## V. CONCLUSIONES

1.- LA plaga de *Kermes* sp. en encinas truferas en Litago y Sarrión posee un elevado de parasitismo que posiblemente sea suficiente para la existencia de un control natural de las poblaciones.

2.- La aplicación de elementos tensoactivos junto con el encalado del tronco de los árboles ha resultado efectiva en el control del parásito de las encinas *Kermes* sp.

3.- El parásito mas abundante de *Kermes* sp. ha sido *M. hispanicus* -182- también se han encontrado ejemplares de *M. hirtipennis* -6- y de himenópteros pertenecientes al género *Cheiloneurus* sp. -6- en las proporciones indicadas en la figura siguiente.

4.- La siguiente figura representa los porcentajes en que han sido recogidos los diferentes especímenes de insectos hiperparásitos de la plaga de encinas *Kermes* sp. para las condiciones dadas de la zona de estudio Litago.



5.- *Kermes* sp. se encuentra más parasitado con el paso del tiempo.

6.- Existe una relación directa entre el número de ejemplares de *Kermes* sp. parasitados y la fecha de muestreo, siendo mayor con el paso del tiempo.



## VI. BIBLIOGRAFÍA

- **ALONSO PONCE, R.; ÁGUEDA, B.; ÁGREDA, T.; MODREGO, M. P.; ALDEA, J.; MARTÍNEZ PEÑA, F. (2010).** *Un modelo de potencialidad climática para la trufa negra (Tuber melanosporum) en Teruel (España)*. Forest Systems 2010 19(2), 208-220.
- **ARROYO, F. T.; CASTEJÓN, M.; GARCÍA-GALAVÍS, P. A.; SANTAMARÍA, C.; CAMAMCHO, M.; MONTERO, M. C.; DAZA, A.; MOURAO, I.; AKSOY, U. (2012).** *Keys to improve the Japanese plum organic farming in Mediterranean climate conditions*. International Society for Horticultural Science (ISHS), Leuven, Belgium, Acta Horticulturae, 933, 469-475, 7
- **ASKEW, R. R. (1999).** *Confirmation of an association of Synergus Hartig and Saphonecrus Dalla Torre & Kieffer (Hym., Cynipidae) with oak galls of Cecidomyiidae (Dipt.)*. Entomologist's Monthly Magazine, 135, 1616-1619, 89-90, 3
- **BAUMGARTNER, J. A.; SMITH, L.; KNOX, R.; DAVIS, J.;** Consulting Ecologist. 1ª. Wastonville: Wild farm Alliance, 2005. *Biodiversity Conservation. An Organic Farmer's guide*. [On line]  
<http://www.wildfarmalliance.org/resources/BD%20Guide%20Organic%20Farmers%20.pdf> → Julio 2012.
- **BEN-DOV, Y.; HODGSON, C. J. (1997).** *Soft scale insects: their biology, natural enemies and control*. Volumes 7A y 7B; Elsevier Science Publishers, Amsterdam, Netherlands, Soft scale insects: their biology, natural enemies and control. Volume 7A. , xxiv + 452 pp.
- **CARRERO, J. M. (1996).** *Lucha integrada contra las plagas agrícolas y forestales*. Mundi-Prensa. Madrid, 256pp.
- **COLINAS C.; CAPDEVILA J.M.; OLIACH D.; FISCHER C.R.; BONET J.A. (2007).** *Mapa de aptitud para el cultivo de la trufa negra (Tuber melanosporum Vitt.) en Cataluña*. Centro tecnológico forestal de Cataluña. Solsona. 134 pp.

- **DE LIÑÁN, VICENTE C. (Coord.) (1998).** *Entomología Agroforestal. Insectos y Ácaros que dañan montes, cultivos y jardines.* Agrotécnicas S.L. Madrid. 1309 pp.
- **CUADRAT, J. M.; SAZ, M. A.; VICENTE, S. M. (2007).** *Atlas climático de Aragón.* Ed. Gobierno de Aragón. Zaragoza, 222pp.
- **DAJOZ, R. (2001).** *ENTOMOLOGÍA FORESTAL: los insectos y el bosque.* Papel y diversidad de los insectos en el medio forestal. Mundi-Prensa. Madrid, 547pp.
- **DE ZABALA, M. A.; ZAMORA, R.; PULIDO F.; BLANCO, J. A.; IMBERT BOSCO, J.; MARAÑÓN, T.; CASTILLO, F., J.; VALLADARES, F. (2008).** *Capítulo 18. Nuevas perspectivas en la conservación, restauración y gestión del bosque mediterráneo.* Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante. VALLADARES, F. (Coord). Ministerio de Medio Ambiente. Madrid: EGRAF. 509- 529.
- **DEL ESTAL, P. NIEVES-ALDREY, J. L. PUJADE-VILLAR, J. (2006).** *Agallas sobre quercíneas.* Departamento de Medio Ambiente Gobierno de Aragón. 4/2002. Dirección general del medio natural, Informaciones técnicas.
- **FISCHBEIN, D. (2012).** *Introducción a la teoría del control biológico de plagas.* Serie técnica VILLACIDE, J.; CORLEY, J. *Manejo integrado de plagas forestales.* Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. 2012, 15.
- **FONTES-PUEBLA, A. A.; FU-CASTILLO, A. A.; LATORRE-ARROYO, J. I. (2012).** *Eficacia de productos orgánicos foliares para el control de ninfas y adultos de Diaphorina citri Kuwayama (Hemiptera: psyllidae).* BIOTECNIA. Revista de Ciencias Biológicas y de la salud (www.biotecnia.uson.mx) V. XIV. N° 2. 26-31.
- **GARCÍA-MARÍ, F.; COSTA CAMELLES, J. FERRAGUT PÉREZ, F. LABORDA CENJOR, R. (1989).** *Plagas agrícolas I Ácaros e insectos exopterigotos.* Departamento de producción vegetal. Ed. Universidad politécnica Valencia. 209 pp.
- **GARCÍA-BARRERA, S.; REYNA, S.; PÉREZ, R.; RODRÍGUEZ, J. A.; 2007.** *Ecología de la trufa y las áreas truferas.* En: *Truficultura: fundamentos y técnicas.* REYNA, S. (Coordinador). Ed. Mundiprensa. 153-208.

- **GUERRIERI, E. y NOYES, J. (2000).** *Revision of European species of genus Metaphycus Mercet (Hymenoptera: Chalcidoidea: Encyrtidae), parasitoids of scale insects (Homoptera: Coccoidea).* Systemic entomology. 25. 147-222.
- **GUERRIERI, E.; CABALLERO-LÓPEZ, B.; SANS, F. X.; PUJADE-VILLAR, J. (2009).** *Encyrtidae (Hymenoptera, Chalcidoidea) colectados en Montblanquet (Lleida, Cataluña).* Universitat de Barcelona. 7 pp.
- **HOLLINGSWORT, R. G.; HAMMETT, R. M.; HEWETT, E. W.; JOHNSTON, J. W.; GUNSON, F. A. (2010).** *Using food-safe ingredients to optimize the efficacy of oil-in-water emulsions of essential oils for control of waxy insects.* International Society for Horticultural Science (ISHS), Leuven, Belgium, Acta Horticulturae, 880, 399-405, 5
- **IBARRA, N.; LASTANAO, C.; GIL-PELEGRÍN, E.; MARTIN BERNAL, E. (2001).** *Kermes vermilio PLANCHON, parásito de Queríceas en Aragón. Primeras observaciones.* III Congreso Forestal Español. 187-193.
- **INÁCIO, M. L.; NAVES, P.; MOREIRA, M.; SOUSA, E. M.; VILEMANT, C.; SOUSA, E. (2002).** *Gall inducing insects associated with oak trees (Quercus sp.) in Portugal.* International Organization for Biological and Integrated Control of Noxious Animals and Plants (OIBC/OILB), West Palaearctic Regional Section (WPRS/SROP), Dijon, France, Bulletin OILB/SROP, 25, 5, 159-162, 26.
- **INCAUSA, A., 2013.** *Mapa de potencialidad trufera de la provincia de Huesca.* Universidad de Zaragoza. Escuela Politécnica Superior de Huesca.
- **JAPOSHVILI, G. y KARAKA, I. (2007).** *Encyrtid (Hymenoptera: Chalcidoidea, Encyrtidae) parasitoids of Coccidae (Hemiptera: Coccoidea) in Turkey.* 31 (3). 175-188.
- **JAPOSHVILI, G. y CELIK, H. (2010).** *Fauna of Encyrtidae, parasitoids of coccids in Golcuk Natural Park.* Entomologia hellenica 19. 132-136.
- **JIMENEZ BLANCO, J. I. (1999).** *Presente y pasado del monte mediterráneo en España.* En “Agriculturas mediterráneas y mundo campesino: cambios históricos y retos rurales: actas de las jornadas de Historia Agraria”. 113-134.
- **LOOMIS, R. S. y CONNOR, D. J. (2002).** *Productividad y manejo de sistemas agrarios.* Mundi-Prensa. Madrid. 591pp.

- **LÓPEZ, C.; VIDAL, M.; EIZAGUIRRE, M. (2004).** *Description and biology of Dryomia lichtensteini (F. Löw) in Lleida.* Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid, Spain, Boletín de Sanidad Vegetal, Plagas, 30, 4, 671-678.
- **MALUMPHY, C. P. (2008).** *First british outbreak of Kermes vermilio planchon (Hemiptera: Kermesidae), a mediterranean pest of evergreen oaks.* British journal entomologic natural history. 21. 75-79.
- **MARGALEF, R. (1986).** *Ecología.* Ed. Omega, cop. Barcelona. 951 pp.
- **MARTÍN BERNAL, E.; HERNÁNDEZ ALONSO, R.; IBARRA, N.; PÉREZ FORTEA, V.; CAÑADA, J. F. (2002).** *Cochinillas de las encinas. Kermes vermilio Planch. Hemíptero. Fam. Kermesidae.* In: La sanidad forestal en Aragón.: 20 años de informaciones técnicas:1985-2005. Gobierno de Aragón. Departamento de Medio Ambiente. 157-160.
- **MARTÍN, M.; GÓMEZ, E.; INCAUSA, A. (2011).** *Guía de buenas prácticas en truficultura.* Ed. Diputación provincial de Huesca. 60pp.
- **NARASIMHAMURTHY, T. N.; DODDABASAPPA, B.; SHASHANK, P. R.; CHAKRAVARTHY, A. K. (2011).** *Incidence of long Brown scale, Coccus longulus (Douglas) (Hemiptera: Coccidae) on pigeonpea.* Current Biotica, 4, 4, 478-481,2 .
- **NIELSEN, D. G. (1990).** *Evaluation of biorational pesticides for use in arboriculture.* Journal of arboriculture, 16, 4, 82-88.
- **NIEVES-ALDREY, J. L. (1998).** *Insectos que inducen la formación de agallas en las plantas: una fascinante interacción ecológica y evolutiva.* Boletín sociedad entomología aragonesa. CSIC, N°23. 3-12.
- **NINYEROLA, M.; PONS, X.; ROORE, J. M. (2005).** *Atlas Climático digital de la Península Ibérica. Metodología en bioclimatología y geobotánica..* Universitat Autònoma de Barcelona. Bellaterra. 44pp.
- **OURZIK, F. (1999).** *La trufficulture moyen de protección de l'environnement.* V Congrès International Science et Culture de la Truffe. Aix en Provenze. Francia. 273-275.
- **OLIACH, D.; BONET, J. A.; FISCHER, C. R.; OLIVERA, A.; MARTÍNEZ DE ARAGÓN, J.; SUZ, L. M.; COLINAS, C. (2005).** *Guía técnica para el cultivo de la trufa negra (Tuber melanosporum Vitt.)* Centre



- tecnològic forestal de catalunya. (2ª Ed) Generalitat de catalunya. Dip. Lleida Ed. 30pp.
- **PLANES, S. y CARRERO, J. M. (1995).** *Plagas del campo*. Mundi-Prensa. Madrid. 550 pp.
  - **REYNA DOMENECH, S. (Coordinador) (2012).** *Truficultra. Fundamentos y técnicas*. Mundi-Prensa. Madrid. 720pp.
  - **RAPILLY, F. (1968).** *Les techniques de mycologie en pathologie végétale*. Annales des épiphyties. Volume 19. INRA.
  - **RICHARD, J. M. (2003)** *La truffe. Guide technique de trufficulture*. Ed. Centre technique Interprofessionnel des fruits et légumes. 268pp.
  - **RIVAS MARTINEZ, S. (1987)** *MAPA (1:400.000) y memoria del mapa de series de vegetación en España*. Icona, Serie Técnica. Servicio de Publicaciones del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid. 269 pp.
  - **ROBREDO, F.; CADAHIA, D. (1992).** *Protección contra las enfermedades e insectos forestales*. Boletín sanidad vegetal y plagas, 18: 555-567.
  - **RODÀ, F.; VAYREDA, J.; NINYEROLA, M. (2009).** Encinares de *Quercus ilex* y *Quercus rotundifolia*. En: VV.AA., *Bases ecológicas preliminares para la conservación de los tipos de hábitat de interés comunitario en España*. Madrid: Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino. 94pp.
  - **ROMANI, C. (2002).** Jabón potásico, limpia de pulgones y otros. *La fertilidad de la tierra*. 9. 32-33.
  - **RUBINI, A.; BELFIOR, B.; RICCIONI, C.; ARCIONI, S.; MARTIN, F.; PAOLOCCI, F.; (2011).** *Tuber melanosporum: mating type dis distribution in a natural plantation and dynamics of strains of different mating types on the roots of nursery-inoculated host plants*. New phytologist 189: 723-735.
  - **SÁEZ GARCÍA, R.; DE MIGUEL, A. Mª. (1995).** *Guía práctica de trufficultura*. Universidad de Navarra. Pamplona. 94pp.
  - **SÁNCHEZ-RUIZ, M.; FONTAL-CAZALLA, F. M.; SÁNCHEZ-RUIZ, A.; LÓPEZ-COLÓN, J. I. (1997).** *El uso de insectos depredadores en el control biológico aplicado*. Boletín S.E.A. 20. 141-149.
  - **SKUHRAVÁ, M.; SKUHRAVY, V.; BLASCO-ZUMETA, J.; PUJADE-VILLAR, J. (2006).** *Gall midges (Diptera: Cecidomyiidae) of the Iberian Peninsula: 2. Zoogeographical analysis of the gall midge fauna*. Asociación

- española de Entomología, Cantoblanco, Spain, Boletín de la Asociación Española de Entomología, 30, 93-159.
- **SKUHRAVÁ, M. y SKUHRAVY, V. (2009).** *Species richness of gall midges (Diptera: Cecidomyiidae) in Europe (West Palaearctic): biogeography and coevolution with host plants.* Czech Zoological Society, Praha, Czech Republic, Acta Societatis Zoologicae Bohemicae, 73, 87-156.
  - **SOUTHWOOD, T. R. E.; BROWN, V. K.; READER, P. M. (1979).** *The relationships of plants and insect diversities in sucession.* BIOL. J. Lin. Soc., 12. 327-348.
  - **STORK, A. L. (1997)** *Galling of holm oak flowers by Aceria ilicis (Eriophyoidea) in Brittany.*
  - **TARIQ, R. M.; NAQVI, S. N. H.; CHOUDHARY, M. I.; AHMED, ABBAS. (2010).** *Importance and implementation of essential oil of Pakistanian Acorus calamus Linn., as a biopesticide.* Pakistan Journal of Botany, 42, 3, 2043-2050.
  - **THANGAVEL, K.; BASKARAN, R. K. M.; RAJAVEL, D. S.; SURESH, K. (2011).** *Field evaluation of botanicals and fish oil rosin soap against major pests of medicinal coleus.* Madras Agricultural Journal, 98, 10/12, 378-381, 15.
  - **ÜLGENTÜRK, S.; NOYES, J.; ZEKI, C.; KAYDAN, M. B. (2004).** *Natural Enemies of Coccoidea (Hemiptera) on Orchard Trees and the Neighbouring Areas Plants in Afyon, Ankara, Burdur Isparta Provinces, Turkey.* Ptroceeding of the X International Symposium on Scale Insect Studies 19<sup>th</sup>-23<sup>rd</sup>.
  - IAEST → Julio 2012  
 Litago [http://bonansa.aragon.es:81/iaest/fic\\_mun/pdf/50140.pdf](http://bonansa.aragon.es:81/iaest/fic_mun/pdf/50140.pdf)  
 Sarrion [http://bonansa.aragon.es:81/iaest/fic\\_mun/pdf/44210.pdf](http://bonansa.aragon.es:81/iaest/fic_mun/pdf/44210.pdf)
  - MAGRAMA → Enero 2013