

# Biología, ecología y manejo de *Monochamus galloprovincialis* (Olivier), vector del nematodo de la madera del pino

Este artículo es un resumen de la tesis doctoral "Biology, ecology and management of *Monochamus galloprovincialis* (Olivier), vector of the pine wood nematode", reconocida con un Accesit en los premios de la Sociedad Española de Ciencias Forestales de 2017



*Estela Sánchez Husillos  
Ingeniera Técnica Forestal  
y Doctor por la Universidad  
de Valladolid*

*La enfermedad del marchitamiento del pino está originada por el nematodo *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner and Buhrer) Nickle (Nematoda: Parasitaphelenchidae) y afecta a las especies del género *Pinus*, provocando un súbito decaimiento en los árboles infestados que termina con su rápida muerte. Se trata de un organismo patógeno de gran virulencia originario de América. Fue accidentalmente introducido en Asia en 1905 (Yano, 1913), donde ha causado daños devastadores en pinares, originando pérdidas millonarias (Yoshimura et al., 1999). Este nematodo puede ser dispersado de forma natural a través de la alimentación y oviposición de insectos vectores del género *Monochamus*, o por medio del transporte humano de material infestado. En Portugal los estudios realizados demostraron que el único vector del nematodo era *Monochamus galloprovincialis* (Olivier) (Sousa et al., 2001), una especie ampliamente distribuida por España y gran parte de Europa, Cáucaso y Asia, en pinares y abetales.*

En Europa *B. xylophilus* fue detectado por primera vez en Portugal en 1999 en una masa de *Pinus pinaster* Aiton (Mota et al., 1999), calificándose como organismo en cuarentena en todo el territorio de la Unión Europea; dicha calificación implica que la madera procedente del país afectado está sujeta a las condiciones establecidas en la Decisión

2012/535/UE. Según la legislación vigente (Decisión 2006/133/CE de la Comisión de 13 de febrero de 2006), se definen como material sensible la madera y la corteza aislada de coníferas (excepto la del género *Thuja*), y como plantas sensibles (excepto frutos y semillas), las de los géneros *Abies*, *Cedrus*, *Larix*, *Picea*, *Pinus*, *Pseudotsuga* y *Tsuga*. A

partir de entonces, Portugal inició un programa de erradicación con el que ha mantenido un aparente control. A partir de 2008 comenzaron a producirse detecciones sucesivas de este nematodo en zonas del territorio español donde no estaba presente hasta entonces, siempre cerca de los límites fronterizos con Portugal, obligando a la Comisión Europea a intensificar los esfuerzos para su control y erradicación. Asimismo, se desarrolló un mecanismo de detección temprana que obligaba a todas las comunidades autónomas españolas, excepto las Islas Canarias, a realizar prospecciones anuales. La situación actual continúa siendo preocupante: la totalidad del territorio portugués está declarada zona demarcada desde el año 2008, al no existir garantía de la existencia de zonas libres en su interior. Actualmente existen en la Unión Europea dos zonas demarcadas, donde se concentran los esfuerzos de control de la enfermedad: el territorio continental de Portugal y una zona de 20 km a lo largo del borde fronterizo con España. La Comisión Europea diseñó un plan de acción en coordinación con las comunidades autónomas, de acuerdo con las directrices establecidas para el control y erradicación de organismos de cuarentena y las recomendaciones de la Organización Europea y Mediterránea de Protección de las Plantas (EPPO, *European and Mediterranean Plant Protection Organization*). La última decisión

de la Comisión Europea relativa a la prevención de la propagación de esta enfermedad (2012/535 /UE) establece como medida de erradicación obligatoria la realización de cortas a hecho en al menos 500 m alrededor de cada planta sensible en la que se hubiera detectado la enfermedad. Esto podría suponer la corta de cientos de hectáreas en España si se detectara un nuevo foco, a pesar de que esas medidas se basan en experiencias previas de control del insecto vector en países asiáticos, en condiciones de ecología y biología del vector que no tienen por qué ser coincidentes con las que presenta en Europa.

La introducción del nematodo en España pondría sus pinares en grave riesgo, debido a que al menos tres de las especies nativas del género *Pinus* son muy sensibles a la enfermedad, y a que el carácter mediterráneo de la mayor parte del territorio español proporciona las condiciones de temperatura estival requeridas para el desarrollo del parásito (Pérez et al., 2008). La presencia del nematodo de la madera del pino en Portugal y el peligro que supone para las masas de pinar españolas exigen el desarrollo de herramientas de detección y control adecuadas a este organismo. El seguimiento y control del cerambícido *M. galloprovincialis*, único vector conocido del patógeno en Europa, supone una de las estrategias más efectivas para la lucha contra la enfermedad.

## ANTECEDENTES

Inicialmente en Japón se adoptó como estrategia para el manejo de la enfermedad tratar las masas forestales con fenitrotión para evitar la transmisión por parte de *M. galloprovincialis*. Aunque el empleo de esta técnica tuvo cierto éxito, las fumigaciones debieron ser suspendidas debido a su efecto negativo sobre las poblaciones de algunas especies de aves y de insectos depredadores y parasitoides naturales del género *Mono-chamus*. En los montes Huangshan, un área protegida de China declarada Patrimonio de la Humanidad, se estableció a su alrededor una faja desarbolada de cuatro kilómetros de anchura y cien de largo. Aunque este cinturón parecía inicialmente eficaz para la contención de la enfermedad, finalmente los bosques del interior se vieron afectados; actualmente China ha perdido 80.000 ha de pinar y más de 50 millones de árboles.

El uso de trampas cebadas con atrayentes específicos se ha mostrado una alternativa eficaz y preferible al uso de insecticidas, debido al peligro que estos últimos representan para otros organismos y para la salud humana. En los últimos años se ha llevado a cabo un avance significativo en el tratamiento de *M. galloprovincialis* gracias al desarrollo de cebos muy atractivos (Pajares Alonso et al., 2010; Álvarez et al., 2015), así como al empleo de trampas altamente eficaces (Álvarez et al., 2015; Figura 1b),



Figura 1: a) Detalle de sistema de marcado de insectos para ensayos de captura-marcado-recaptura.  
b) Trampa multiembudos modificada con teflón y tubo colector extendido desarrollada para captura de *Mono-chamus galloprovincialis*

que permiten una captura de insectos de ambos sexos, manteniéndolos vivos pero sin riesgo de fuga. Esta captura en vivo permite obtener información clave sobre la carga de nematodos transportados por los insectos, y posibilita el desarrollo de técnicas de manejo conocidas como captura-marcado-recaptura (Figura 1a). El éxito en la captura es clave para un correcto monitoreo del insecto, posibilitando su estudio y el desarrollo de técnicas de manejo, control y erradicación de la enfermedad.

### POSIBLES HOSPEDANTES Y SU PAPEL EN EL MANEJO DEL VECTOR

El primer paso para un manejo eficiente del insecto es conocer el espectro de posibles especies hospedantes entre las presentes en la Península Ibérica. En observaciones de campo realizadas en Portugal se apreció cómo en masas de *Pinus pinaster* afectadas completamente por la enfermedad aparecían árboles dispersos de *Pinus pinea* no infestados por el nematodo. Con esta base se realizó un estudio de preferencias de alimentación, oviposición y supervivencia en ensayos de

doble elección entre las especies principales de pinos presentes en la Península Ibérica, obteniendo una escala de preferencias de hospedantes. Como resultado, *Pinus sylvestris* destacó como la primera elección, seguido de *Pinus pinaster*. A diferencia de los resultados obtenidos en Portugal (Naves et al., 2006), el insecto fue capaz de alimentarse, reproducirse y desarrollar su progenie sobre *Pinus pinea*, a pesar de no ser la especie preferida. Se detectó un posible efecto disuasorio del limoneno, principal terpeno de *Pinus pinea*, que podría explicar la escasa preferencia hacia este hospedante, lo que abre una puerta para el manejo de este insecto.

### DISPERSIÓN DE INMADUROS Y SU IMPLICACIÓN EN EL CEBEO COMERCIAL

En los seguimientos de campo con cebo comercial se observó que los insectos liberados recién emergidos no se capturaban hasta pasadas dos semanas, lo que suponía un freno para el conocimiento de su comportamiento de dispersión en este período, que es clave para la contención de la enfermedad. La ausencia de capturas en ese período

podía responder a alguna razón fisiológica del insecto, como la necesidad de maduración sexual, o incluso a su capacidad de vuelo, por lo que se procedió a analizar el desarrollo gonádico de individuos de ambos sexos en intervalos comprendidos entre la emergencia y los 21 días. Se observó que para lograr la maduración sexual es necesario un período de entre once y doce días en ambos sexos (Figura 2), que coincide con el período de falta de atracción por el cebo. Además, se realizaron diversos bioensayos consistentes en la extracción de la musculatura alar y el contenido en lípidos de insectos de ambos sexos en esos mismos intervalos de edad, que fueron pesados para observar su posible variación durante el desarrollo sexual. A su vez, los insectos se sometieron a un escáner de microtomografía computarizada de rayos-X a alta resolución que hizo posible la creación de secciones del insecto adulto en diferentes niveles de maduración, de modo que se generó un modelo del insecto en 3D en el que se pudieron observar los cambios fisiológicos del vector, así como las estructuras de su musculatu-

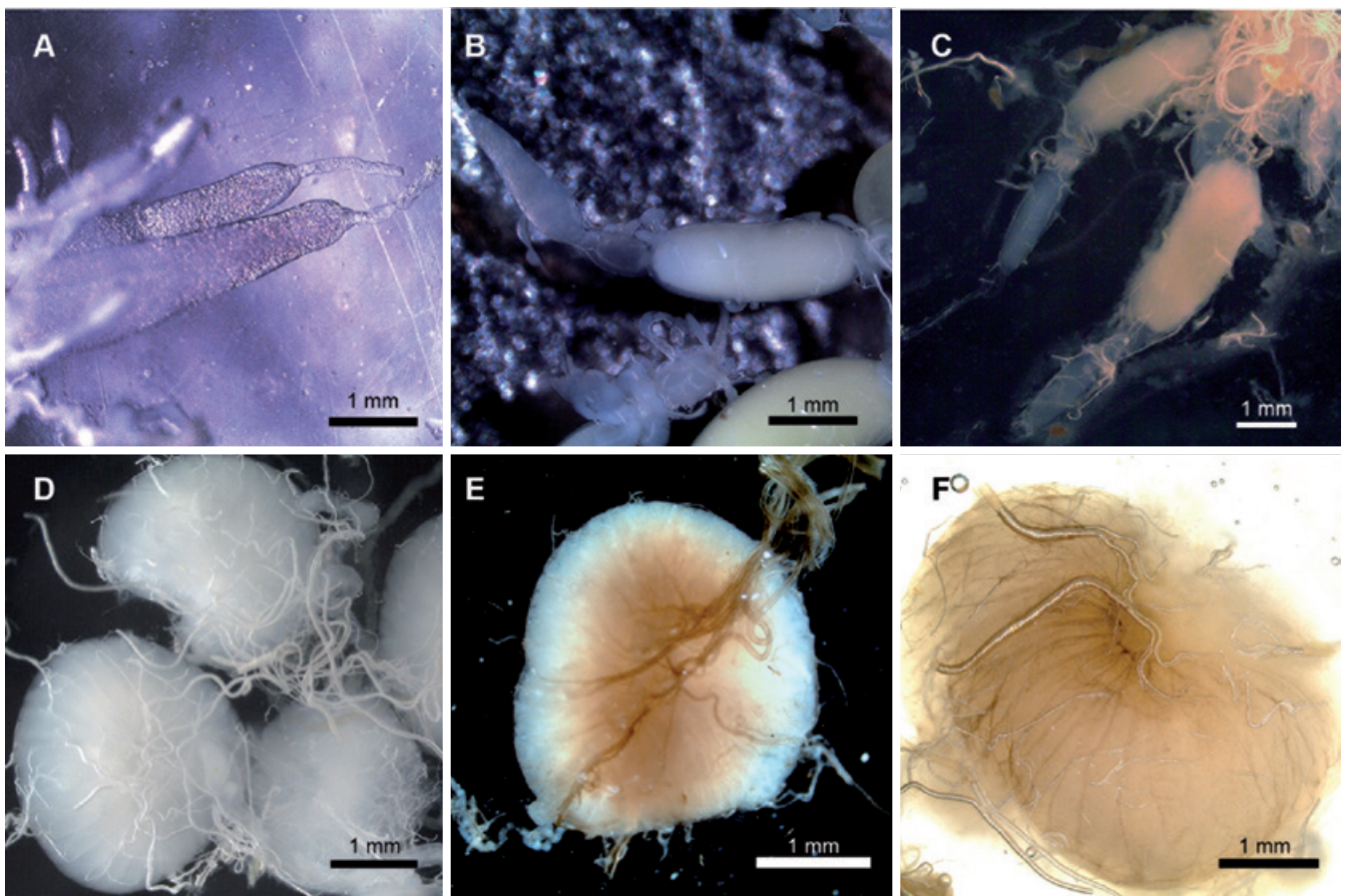


Figura 2: Desarrollo gonádico en *Monochamus galloprovincialis* después de 0, 8 y 14 días de alimentación desde su emergencia. Las figuras a, b y c corresponderían al desarrollo de los ovarios; mientras que en d, e y f, el cambio de coloración es de los testículos masculinos

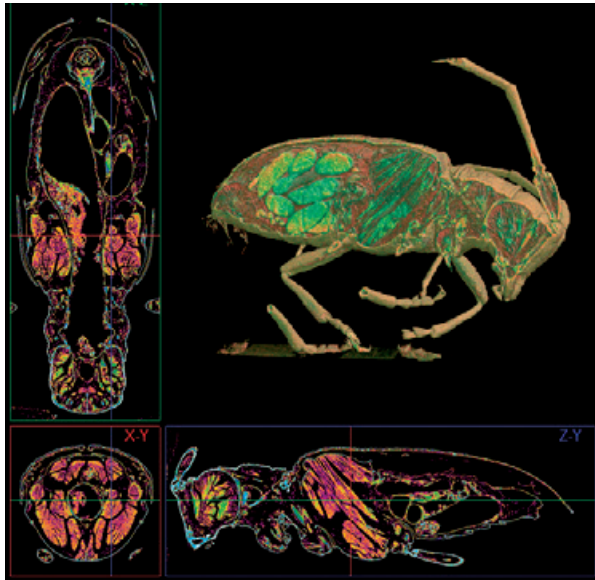


Figura 3: Reconstrucción de una hembra madura de *Monochamus galloprovincialis* escaneada mediante un escáner de alta resolución

ra alar (Figura 3). Como consecuencia de estos ensayos se estimó que los insectos nacen con musculatura y reservas suficientes como para emprender el vuelo, sin que varíen a lo largo de la edad ni influya su tamaño o sexo. Como paso final se realizó un ensayo en campo para comprobar la capacidad de dispersión de los insectos recién emergidos. Con este fin se liberaron casi 500 individuos recién emergidos en un área desprovista de posibles hospedantes a una distancia de entre 100 y 3.000 m, procediendo a recapturarlos mediante trampas multiembudos cebadas. El ajuste de los resultados a un modelo negativo exponencial estableció que los insectos inmaduros se dispersaron hasta 3.109 m desde el punto de liberación, atravesando campos de cultivo hasta llegar a un pequeño rodal de pinos. Asimismo, se sometió a ayuno en laboratorio a una muestra de insectos, obteniendo una supervivencia media de doce días. Estos datos en su conjunto ponen de manifiesto la necesidad de reforzar las medidas de detección en procesos de transporte de madera y controles en puertos y otras vías de entrada de posible material infestado.

### DISPERSIÓN DE ADULTOS

La enfermedad del nematodo del Pino se ha extendido accidentalmente a escala mundial y regional principalmente por el transporte humano. Sin embargo, a escala local la colonización está determinada por su dispersión por

parte de insectos, lo que es importante a la hora de diseñar protocolos de contención de la enfermedad. La distancia de dispersión de las poblaciones se puede representar mediante una curva de dispersión (*kernel*), que es una función de densidad de la probabilidad utilizada para describir la probabilidad de la distribución de las distancias viajadas de las poblaciones de estudio. La definición de esa curva de dispersión se realizó por medio de tres experimentos con técnicas de marcado-captura-recaptura, utilizando trampas y cebos comerciales, bajo dos escenarios, uno con fragmentación del paisaje y otro, con dos muestras, en masas continuas. En ambos escenarios se utilizaron redes regulares de muestreo con trampas multiembudos colocadas en cada vértice de la malla (Figura 4).

Existen diferentes tipos de funciones para describir los modelos teóricos de dispersión (*kernel*); en este estudio, los datos obtenidos de la captura-recaptura se ajustaron a un modelo mecánico y a dos modelos empíricos de dispersión. Se estableció que lo más probable es que el 50 % de los insectos se concentren a distancias cercanas a su origen (250 a 532 m) y el 99 % no sobrepasen los 3.500 m. Existen unos pocos insectos (0,6 %) capaces de dispersarse a grandes distancias, que pueden alcanzar hasta 5 km, cifra que aumenta a me-

didada que se fragmenta el hábitat y que van a ser claves a la hora de diseñar los protocolos europeos de contención de la enfermedad. Por ejemplo, se capturó un insecto a los 14 días a 5.303 m.

Los mismos dispositivos experimentales proporcionaron resultados que ayudaron a calcular los parámetros de captura mediante la regresión de las proporciones de insectos recapturados a lo largo de las distancias desde el punto de liberación. De esta manera, el área de muestreo efectivo de la trampa se obtuvo entre 0,57 y 0,76 hectáreas, mientras que el intervalo de muestreo estacional osciló entre 426 y 645 m.

### PREFERENCIA DE HÁBITAT USANDO LIDAR

La dispersión de los insectos dentro de una masa probablemente esté determinada por la búsqueda de alimento para su maduración sexual y de material en decaimiento o muerto para hacer sus puestas. Esta exploración de los recursos para satisfacer sus necesidades fisiológicas obliga a *Monochamus galloprovincialis* a moverse buscando parcelas óptimas dentro de un mismo bosque. El desarrollo de nuevas tecnologías permite elaborar mapas de variables cuantitativas, que pueden emplearse para caracterizar los hábitats con un grado de especificidad hasta ahora nunca obtenido. La obten-

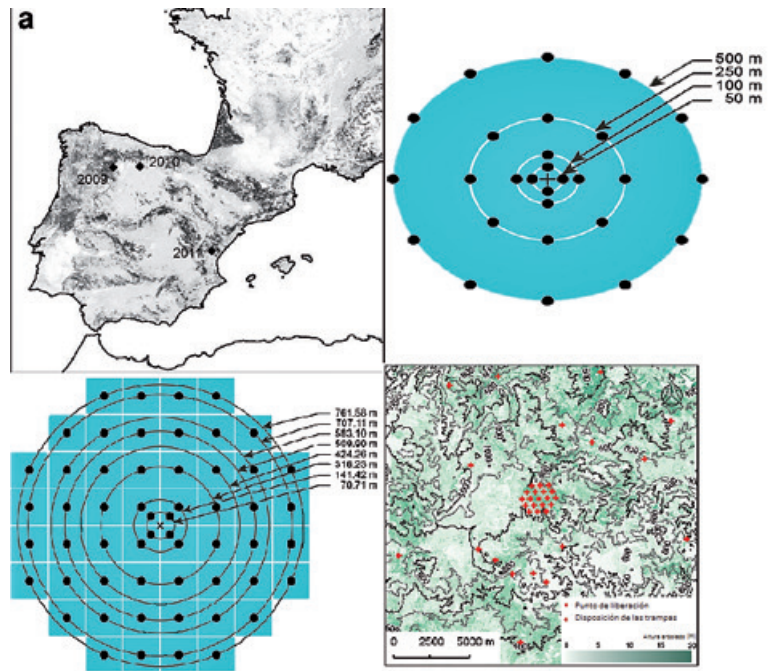


Figura 4: Localización y diseño de los dispositivos de trapeo utilizados para los ensayos de dispersión de *Monochamus galloprovincialis*. Las cruces representan la localización de las trampas, y el cuadrado, el sitio de liberación de los insectos

ción de variables dasométricas de la masa con un elevado nivel de detalle por medio de técnicas LiDAR, junto con otras variables geoespaciales como la visibilidad de la trampa, obtenidas por medio de Sistemas de Información Geográfica (SIG), permitió obtener una descripción exhaustiva del hábitat en el que se mueven los insectos (Figura 5), definiendo las zonas predilectas para *Monochamus galloprovincialis*. Estos datos se utilizaron para desarrollar modelos de probabilidad de dispersión del insecto, y por consiguiente de riesgo de dispersión de la enfermedad, atendiendo a la masa en la que se produzca la infestación. Para ello se utilizó nuevamente un dispositivo de trampeo distribuido en una red regular, y técnicas de captura-marcado-recaptura. Se hizo un seguimiento tanto de capturas nativas como de ejemplares liberados procedentes de laboratorio durante todo el período de vuelo del insecto, con el fin de obtener unos modelos que describieran su abundancia y movimiento por la masa. Se estableció que la abundancia de los insectos nativos se ve influida positivamente por la fracción de cubierta cubierta, lo cual tiene sentido si se tiene en cuenta que esta variable está directamente relacionada con el tamaño y edad de los árboles, con una mayor cantidad de material colonizable y alimento en masas maduras. Por otro lado, se observó que la altura máxima del regenerado afectaba negativamente a la distribución de las capturas de los insectos liberados.

## REDUCCIÓN DE LA POBLACIÓN COMO POSIBLE MANEJO DE LA ENFERMEDAD

La técnica de captura de individuos por medio de trozas cebo es un método usado desde hace más de 200 años para extraer de forma masiva escolítidos de nuestros bosques de forma eficaz. Las trampas cebadas con productos químicos específicos para reducir las poblaciones de escolítidos no fueron una alternativa a los árboles cebo hasta el descubrimiento y síntesis de sus feromonas. Actualmente, el desarrollo de cebos y trampas específicas para *Monochamus galloprovincialis* plantea la posibilidad de una captura masiva de este vector como estrategia de gestión proactiva para la erradicación o contención de la enfermedad.

Con el fin de evaluar la eficacia de este tipo de campañas de trampeo masivo, se llevaron a cabo en 2010 y 2013 dos series de experimentos. El primero permitió la evaluación de la metodología de marcado-captura-recaptura (MCR) para calcular la abundancia de la población mediante la formulación *Popan* del modelo *Jolly-Seber* para poblaciones abiertas, un requisito previo para la evaluación de la captura masiva. Las estimaciones de abundancia derivadas de los mejores parámetros de ajuste estuvieron dentro del intervalo de los valores reales, lo que demostró que el método era adecuado. Se obtuvo una densidad poblacional de *Monochamus galloprovincialis* en la zona de estudio en torno a 82

individuos/ha. Por otro lado, en esa misma zona de estudio se llevó a cabo un ensayo de extracción de la población en el que se evaluó la efectividad de cuatro densidades diferentes de trampas. Las densidades de trampeo evaluadas extrajeron el 4,66, 20,50, 33,33 y 59,80 % de la población de *M. galloprovincialis* para intensidades de trampeo de 0,02, 0,11, 0,25 y 0,44 trampas/ha respectivamente, por lo que la eliminación de aproximadamente el 95 % de capturas se produciría con 0,82 trampas/ha (Figura 6). Estos resultados sugieren que podría lograrse una reducción sustancial de la población de *M. galloprovincialis* mediante capturas masivas, lo que representa un método de gestión muy prometedor para la contención o incluso erradicación de *Bursaphelenchus xylophilus* en zonas afectadas por la enfermedad del marchitamiento del pino.

El siguiente paso ha sido testar esta metodología de manejo del insecto bajo un escenario de captura masiva durante cinco años consecutivos (Figura 7). Para ello, se procedió a modelizar siguiendo los resultados anteriores para una campaña de extracción con una densidad de 0,44 trampas/ha. Como resultado se observó que esta actuación debería conducir a las poblaciones locales a un nivel cercano a la desaparición y, si esto no llegase a ocurrir, volverían gradualmente a alcanzar los niveles poblacionales iniciales reestableciendo nuevamente su equilibrio.

## CONCLUSIONES

El desarrollo de trampas sin muerte y cebos altamente atractivos ha permitido realizar ensayos de captura-marcado-recaptura en *Monochamus galloprovincialis*, pudiendo observarse los patrones de dispersión tanto en individuos maduros como en inmaduros. Se pudo observar que hay insectos capaces de dispersarse a distancias mayores de lo estimado hasta ahora, distancia que es mayor cuanto más alta sea la fragmentación del hábitat, lo que pone en entredicho la eficacia de los actuales protocolos europeos de contención de la enfermedad que transmite este vector. El éxito de la captura masiva para el manejo de las poblaciones puede permitir a los gestores optimizar la densidad de trampeo en función de las necesidades y riesgos, manteniendo un equilibrio entre beneficio y gasto económico, si bien es preciso conside-

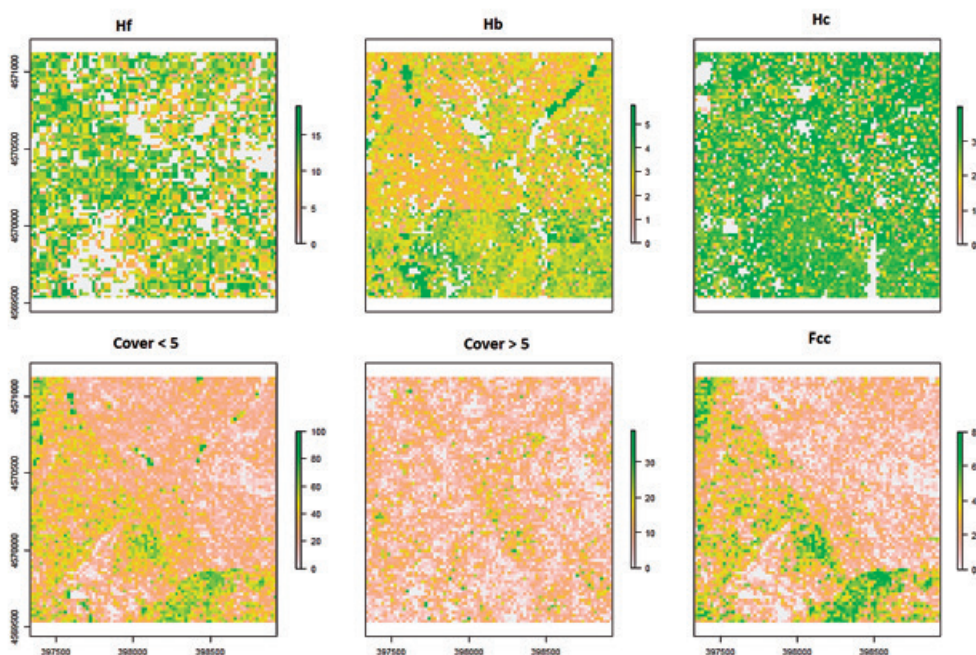


Figura 5: Variables de la masa obtenidas mediante técnicas LiDAR en la zona de muestreo

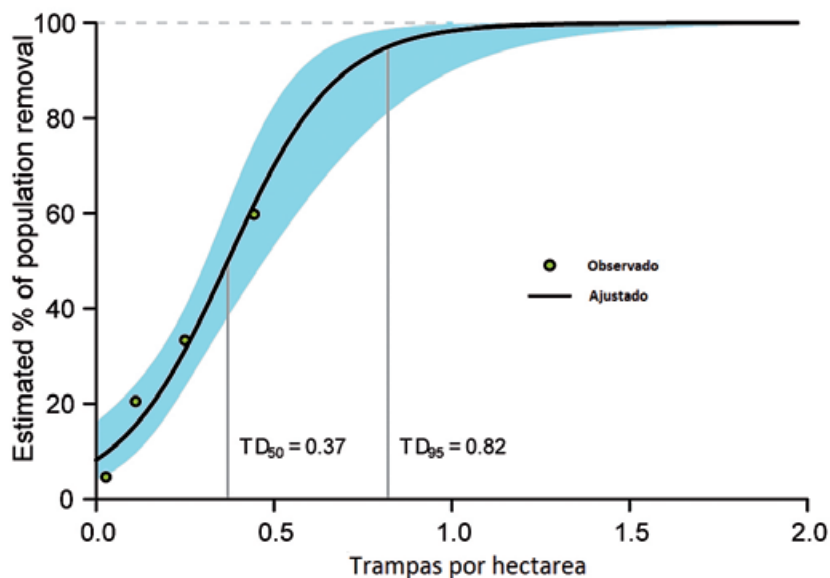


Figura 6: Ajuste de la regresión logística con las capturas en relación al incremento de la densidad de trampo. La región sombreada representa el intervalo de confianza del 95 % de las respuestas ajustadas. Los valores TD50 y TD95 indican el valor de trampas por hectárea necesarios para extraer el 50 y 95 % de la población respectivamente

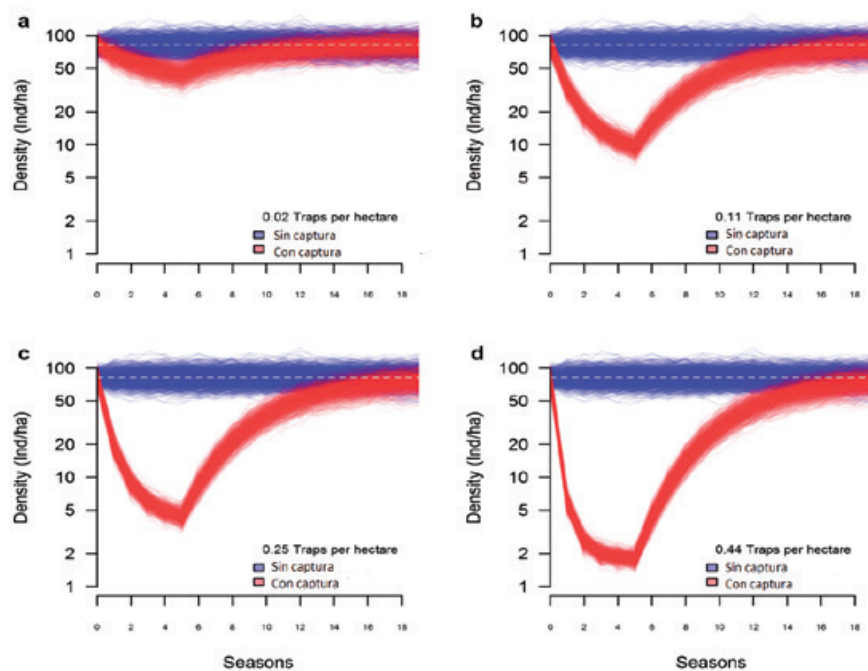


Figura 7: Tendencia de la población de *Monochamus galloprovincialis* bajo diferentes intensidades de trampo obtenidos en un modelo con una simulación de resultados iterados 1.000 veces con (en rojo) y sin (en azul) captura masiva durante cinco años consecutivos

rar también el importante papel ecológico que tiene esta especie en los ecosistemas. Esto puede limitar el uso de las trampas al entorno de zonas de especial sensibilidad como aserraderos, puertos o bordes de masas forestales.

Estos dispositivos de trampo son incapaces de capturar insectos inmaduros, lo que supone una limitación extremadamente importante, planteando un serio problema a la hora del manejo

del insecto y de la detección temprana de la enfermedad. Además, nuestros resultados muestran que los insectos recién emergidos son capaces de volar largas distancias en campo y sobrevivir mucho tiempo sin requerir ningún hospedante para alimentarse, lo que agrava esta limitación.

El desarrollo de cebos más efectivos y el avance de técnicas de geoestadística con datos LiDAR que permitan

predecir el avance de la enfermedad van a ser claves para un mejor manejo, e incluso podrán ayudar en la detección temprana de la enfermedad.

Todos estos datos en su conjunto podrían ser integrados en el diseño y aplicación de medidas de manejo en áreas con alto riesgo o utilizados para complementar y mejorar las medidas vigentes de la Unión Europea en el manejo de esta enfermedad que pone en serio riesgo nuestros pinares. **F**

#### BIBLIOGRAFÍA

Álvarez G, Etxebeste I, Gallego D, David G, Bonifacio L, Jactel H, Sousa E, Pajares JA (2015) Optimization of traps for live trapping of Pine Wood Nematode vector *Monochamus galloprovincialis*. Journal of Applied Entomology 139: 618–626.

Álvarez G, Gallego D, Hall DR, Jactel H, Pajares JA (2015) Combining pheromone and kairomones for effective trapping of the Pine Sawyer Beetle *Monochamus galloprovincialis*. Journal of Applied Entomology 140: 58–71.

Mota M, Braasch H, Bravo M, Penas AC, Burgermeister W, Metge K & Sousa E (1999) First report of *Bursaphelenchus xylophilus* in Portugal and in Europe. Nematology 1: 727–734.

Naves P, Sousa J, Quartau JA (2006) Feeding and oviposition preferences of *Monochamus galloprovincialis* for certain conifers under laboratory conditions. Entomologia Experimentalis et Applicata 120: 99–104

Pajares Alonso JA, Álvarez G, Ibeas F, Gallego D, Hall DR, Farman DI (2010) Identification and field activity of a male-produced aggregation pheromone in the pine sawyer beetle, *Monochamus galloprovincialis*. Journal of Chemical Ecology 36: 570–583.

Pérez G, J. Díez F, Ibeas JA, Pajares JA (2008) Assessing Pine Wilt Disease Risk Under a Climate Change Scenario in Northwestern Spain – Bookmetrix Analysis. Managing Forest Ecosystems: The Challenge of Climate Change 17: 269–282.

Sousa E, Bravo M, Pires J, Naves P (2001) *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda; aphelenchoididae) associated with *Monochamus galloprovincialis* (Coleoptera; Cerambycidae) in Portugal. Nematology 3: 89–91.

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

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