

UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

FACULTAD DE BIOLOGÍA

**Departamento de Biología Animal, Parasitología, Ecología,
Edafología y Química Agrícola**

Área de Zoología



TESIS DOCTORAL

**Entomofauna asociada a la trufa negra (*Tuber melanosporum* Vittadini)
cultivada en España Central: incidencia y valoración de las principales
especies micófagas (Coleoptera, Leiodidae; Diptera, Heleomyzidae)**

**GUILLERMO PÉREZ ANDUEZA
DICIEMBRE 2015**



FACULTAD DE BIOLOGÍA

**Departamento de Biología
Animal, Parasitología,
Ecología, Edafología y
Química Agrícola**

Área de Zoología

**Entomofauna asociada a la trufa negra
(*Tuber melanosporum* Vittadini) cultivada en
España Central: incidencia y valoración
de las principales especies micófagas
(Coleoptera, Leiodidae; Diptera, Heleomyzidae)**

Memoria presentada por Guillermo Pérez Andueza para optar al título de
Doctor en Ciencias Biológicas, dirigida por los doctores
D. Manuel Portillo Rubio y D. Marcelino de los Mozos Pascual

Salamanca, Diciembre 2015

El Doctorando

Guillermo Pérez Andueza



El Doctor Don Manuel Portillo Rubio, del Departamento de Biología Animal, Parasitología, Ecología, Edafología y Química Agrícola, de la Facultad de Biología de la Universidad de Salamanca, y el Doctor Don Marcelino de los Mozos Pascual, del Centro de Investigación Agroforestal de Albaladejito (Cuenca) - Instituto Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario y Forestal de Castilla-La Mancha (IRIAF),

AUTORIZAN:

La presentación, para su lectura, de la Tesis Doctoral titulada “Entomofauna asociada a la trufa negra (*Tuber melanosporum* Vittadini) cultivada en España Central: incidencia y valoración de las principales especies micófagas (Coleoptera, Leiodidae; Diptera, Heleomyzidae)” realizada por Don Guillermo Pérez Andueza, con DNI 06554023N.

Y para que así conste, a efectos legales, firman la presente autorización en Salamanca, el 15 de diciembre de 2015.

Fdo.: Manuel Portillo Rubio

Fdo.: Marcelino de los Mozos Pascual

ÍNDICE GENERAL

| | |
|---|-------------------------------|
| RESUMEN | 4 |
| 1. INTRODUCCIÓN | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 1.1 ANTECEDENTES | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 1.1.1 FAMILIA HELEOMYZIDAE: “MOSCAS DE LA TRUFA” | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 1.1.1.1 Clasificación y faunística | ¡Error! Marcador no definido. |
| 1.1.1.2 Morfología y biología básicas | ¡Error! Marcador no definido. |
| 1.1.2 FAMILIA LEIODIDAE: “ESCARABAJOS DE LA TRUFA” | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 1.1.2.1 Clasificación y faunística | ¡Error! Marcador no definido. |
| 1.1.2.2 Morfología y biología básicas | ¡Error! Marcador no definido. |
| 1.1.3 ECOLOGÍA QUÍMICA DE LA TRUFA Y SUS INSECTOS MICÓFAGOS | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 1.1.3.1 Fundamentos de Ecología Química..... | ¡Error! Marcador no definido. |
| 1.1.3.2 Los volátiles de las trufas | ¡Error! Marcador no definido. |
| 1.1.3.3 Atracción de los insectos de la trufa..... | ¡Error! Marcador no definido. |
| 1.2 JUSTIFICACIÓN | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 1.3 OBJETIVOS | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 2. TRUFICULTURA | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 2.1 CLASIFICACIÓN Y TIPOS DE TRUFAS | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 2.1.1 MORFOLOGÍA DE LAS TRUFAS | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 2.1.2 ESPECIES DEL GÉNERO TUBER EN ESPAÑA..... | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 2.2 BIOLOGÍA Y ECOLOGÍA DE LAS TRUFAS | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 2.2.1 CICLO BIOLÓGICO DE LA TRUFA NEGRA | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 2.2.2 DISTRIBUCIÓN ACTUAL DE LA TRUFA NEGRA | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 2.2.3 NECESIDADES ECOLÓGICAS DE LA TRUFA..... | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 2.3 ESTABLECIMIENTO DE UNA EXPLOTACIÓN TRUFERA | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 2.4 LA TRUFICULTURA EN ESPAÑA Y SU SOSTENIBILIDAD | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 2.4.1 VALOR ECONÓMICO DE LA TRUFICULTURA..... | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 2.4.2 VALOR SOCIAL DE LA TRUFICULTURA: DESARROLLO RURAL | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 2.4.3 VALOR AMBIENTAL DE LA TRUFICULTURA | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 3. ZONA DE ESTUDIO | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 3.1 LA PLANTACIÓN | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 3.1.1 SITUACIÓN GEOGRÁFICA | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 3.1.2 CLIMA | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 3.1.3 SUELOS | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |

| | | |
|------------|---|-------------------------------|
| 3.1.4 | VEGETACIÓN | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 3.2 | TÉCNICAS DE CULTIVO | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 3.2.1 | LABOREO DEL SUELO..... | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 3.2.2 | RIEGO | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 3.2.3 | PODA..... | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 3.2.4 | OTRAS LABORES DE MANTENIMIENTO | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 3.3 | PRODUCCIÓN Y RECOLECCIÓN | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 4. | METODOLOGÍA..... | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 4.1 | TRABAJO DE CAMPO..... | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 4.1.1 | 1ª CAMPAÑA (2005-06)..... | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 4.1.1.1 | Elección de trampas para el monitoreo | ¡Error! Marcador no definido. |
| 4.1.1.2 | Elección de atrayentes y difusores para el monitoreo | ¡Error! Marcador no definido. |
| 4.1.2 | 2ª CAMPAÑA (2006-07)..... | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 4.1.3 | DISEÑO DE LAS ESTACIONES DE MUESTREO | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 4.1.3.1 | Campaña 2005-06..... | ¡Error! Marcador no definido. |
| 4.1.3.2 | Campaña 2006-07..... | ¡Error! Marcador no definido. |
| 4.2 | TRABAJO DE LABORATORIO | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 4.2.1 | PROCESADO DE MUESTRAS..... | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 4.2.2 | CRÍA EN LABORATORIO DE <i>LEIODES CINNAMOMEUS</i> | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 4.2.3 | ESTIMACIÓN DE DAÑOS EN TRUFAS..... | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 4.3 | TRABAJO DE GABINETE..... | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 5. | RESULTADOS Y DISCUSIÓN I: HELEOMYZIDAE ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. | |
| 5.1 | DIAGNÓSTICO Y ASPECTOS FAUNÍSTICOS | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 5.1.1 | <i>SUILLIA PALLIDA</i> (FALLEN, 1820)..... | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 5.1.2 | <i>SUILLIA HUMILIS</i> (MEIGEN, 1830) | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 5.1.3 | <i>SUILLIA TUBERIPERDA</i> (RONDANI, 1867)..... | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 5.1.4 | <i>SUILLIA UMBRATICA</i> (MEIGEN, 1835) | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 5.1.5 | <i>SUILLIA NOTATA</i> (MEIGEN, 1830) | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 5.1.6 | <i>SUILLIA FLAGRIPES</i> (CZERNY, 1904) | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 5.2 | CICLO BIOLÓGICO DE <i>SUILLIA TUBERIPERDA</i>.... | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 5.3 | FENOLOGÍA Y DINÁMICA POBLACIONAL | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 5.3.1 | PARÁMETROS METEOROLÓGICOS FRENTE A INCIDENCIA DE HELEOMÍCIDOS | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 5.3.1.1 | Campaña 2005-06..... | ¡Error! Marcador no definido. |
| 5.3.1.2 | Campaña 2006-07..... | ¡Error! Marcador no definido. |
| 5.3.2 | DINÁMICA POBLACIONAL DEL GRUPO FUNCIONAL | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 5.3.3 | DINÁMICA POBLACIONAL POR CAMPAÑA DE MUESTREO .. | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 5.3.3.1 | Capturas de heleomícidos en la campaña 2005-06..... | ¡Error! Marcador no definido. |
| 5.3.3.2 | Capturas de heleomícidos en la campaña 2006-07..... | ¡Error! Marcador no definido. |
| 5.3.4 | DINÁMICA POBLACIONAL POR ESPECIE | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 5.3.4.1 | <i>Suillia tuberiperda</i> | ¡Error! Marcador no definido. |

| | | |
|------------|--|-------------------------------|
| 5.3.4.2 | <i>Suillia pallida</i> | ¡Error! Marcador no definido. |
| 5.3.4.3 | <i>Suillia umbratica</i> | ¡Error! Marcador no definido. |
| 5.3.4.4 | <i>Suillia humilis</i> | ¡Error! Marcador no definido. |
| 5.4 | TÉCNICAS DE MONITOREO HELEOMYZIDAE | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 5.5 | SUILLIA SPP. EN TRUFERAS: VALORACIÓN COMO PLAGA.... | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 6. | RESULTADOS Y DISCUSIÓN II: LEIODIDAE | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 6.1 | DIAGNÓSTICO Y ASPECTOS FAUNÍSTICOS | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 6.1.1 | <i>LEIODES CINNAMOMEUS</i> (PANZER, 1793)..... | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 6.1.2 | <i>LEIODES DISTINGUENDUS</i> (FAIRMAIRE, 1856) | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 6.1.3 | OTROS LEIÓDIDOS CAPTURADOS | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 6.2 | CICLO BIOLÓGICO DE <i>LEIODES CINNAMOMEUS</i> | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 6.3 | FENOLOGÍA Y DINÁMICA POBLACIONAL | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 6.3.1 | PARÁMETROS METEOROLÓGICOS FRENTE A INCIDENCIA DE LEIÓDIDOS .. | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 6.3.1.1 | Campaña 2005-06..... | ¡Error! Marcador no definido. |
| 6.3.1.2 | Campaña 2006-07..... | ¡Error! Marcador no definido. |
| 6.3.2 | DINÁMICA POBLACIONAL POR CAMPAÑA DE MUESTREO .. | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 6.3.2.1 | Capturas de leiódidos en la campaña 2005-06 | ¡Error! Marcador no definido. |
| 6.3.2.2 | Capturas de leiódidos en la campaña 2006-07 | ¡Error! Marcador no definido. |
| 6.3.3 | DINÁMICA POBLACIONAL POR ESPECIE | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 6.3.3.1 | <i>Leiodes cinnamomeus</i> | ¡Error! Marcador no definido. |
| 6.3.3.2 | <i>Leiodes distinguendus</i> | ¡Error! Marcador no definido. |
| 6.4 | ANÁLISIS DE DAÑOS | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 6.4.1 | DAÑOS EN TRUFAS EN 2005-06 | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 6.4.2 | DAÑOS EN TRUFAS EN 2006-07 | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 6.5 | TÉCNICAS DE MONITOREO LEIODIDAE | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 6.6 | <i>LEIODES CINNAMOMEUS</i> EN TRUFERAS: VALORACIÓN COMO PLAGA | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |
| 7. | CONCLUSIONES..... | 7 |
| 7.1 | FAMILIA HELEOMYZIDAE (“MOSCAS DE LA TRUFA”) | 7 |
| 7.2 | FAMILIA LEIODIDAE (“ESCARABAJOS DE LA TRUFA”) | 8 |
| 8. | BIBLIOGRAFÍA..... | ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO. |

RESUMEN

Las trufas son hongos muy apreciados comercialmente, en especial la trufa negra de Perigord (*Tuber melanosporum*), cultivada sobre encinas micorrizadas en varias comarcas del centro y este de España. Entre los insectos de los ecosistemas truferos, destacan algunas especies micófagas estrictas cuyas larvas se alimentan del cuerpo fructífero del hongo, principalmente las “moscas de la trufa” (Diptera, Heleomyzidae), conocidas por su papel como indicadoras de la presencia del hongo maduro en la recolección, y los “escarabajos de la trufa” pertenecientes a la familia de los leiódidos (Coleoptera, Leiodidae).

En el presente estudio, se ha llevado a cabo una amplia revisión bibliográfica previa, con el objetivo de poner al día el estado de conocimiento, tanto de la trufa cultivada como de su entomofauna micófaga, incluyendo varios capítulos de antecedentes sobre clasificación y faunística, morfología y biología básicas, y ecología química de la trufa y su entomofauna asociada, aspecto crucial en el manejo de las poblaciones de estos insectos. Asimismo, se incluye un capítulo sobre la truficultura en España, con los datos disponibles más recientes sobre agronomía y producción de las trufas cultivadas.

Los objetivos que nos propusimos fueron los siguientes: 1) diagnóstico y descripción de las principales especies de insectos micófagos de la trufa negra, pertenecientes a las familias Leiodidae (“escarabajos de la trufa”; Coleoptera) y Heleomyzidae (“moscas de la trufa”; Diptera); 2) establecimiento del ciclo biológico de las principales especies micófagas, en relación con la fenología del hongo hospedador en la zona productora, tanto en campo como en laboratorio; 3) estudio de la dinámica poblacional e incidencia de las principales especies, tanto a nivel temporal (por fechas de muestreo) como a nivel espacial (por sectores en que se divide la zona de estudio), incluyendo la influencia de los parámetros meteorológicos; 4) estimación de daños y relación con la incidencia de los insectos micófagos, establecimiento de plagas clave y secundarias para el cultivo de la trufa y propuesta de medidas de control en caso de ser necesarias; 5) ensayo de métodos de monitoreo empleados para los insectos micófagos, mediante trampas de captura y atrayentes, estudio de su eficacia.

El trabajo experimental se llevó a cabo durante dos campañas en una explotación trufera ubicada en la provincia de Soria. Se describen los aspectos fundamentales de la explotación, para entender el planteamiento metodológico posterior, basado en un estudio temporal y espacial de la dinámica poblacional de los dos principales grupos de insectos estudiados. Para realizar el seguimiento de los insectos, durante la 1ª campaña se emplearon trampas de caída en suelo y trampas triangulares adhesivas, cebadas con dos atrayentes, mientras que en la 2ª se optó por un único sistema de captura (trampas de caída) una vez vista la eficacia en la 1ª campaña. Además, se estudiaron diferentes aspectos del ciclo biológico tanto de la principal especie de mosca como, fundamentalmente, del escarabajo de la trufa. Por último, se analizaron los daños en trufas según tres niveles de daño (trufas sanas, con daño moderado y con daño severo), con el fin de correlacionar la incidencia de la plaga con la intensidad del daño.

Entre los resultados faunísticos más relevantes, se han identificado 6 especies del género *Suillia*, siendo las más importantes cuantitativamente *Suillia tuberiperda* (47% de las capturas) y *Suillia pallida* (38%), mientras que las citas de *S. umbratica* y *S. flagripes* son las primeras sobre trufa negra en Europa y las otras cuatro especies se citan por primera vez asociadas a este hongo en España. Por otra parte, se ha descrito el ciclo biológico de la especie principal (*S. tuberiperda*) en nuestra zona de estudio, que presenta dos generaciones. En cuanto a los leiódidos, se han diagnosticado dos especies, *Leiodes cinnamomeus* (99% de las capturas) y *Leiodes distinguendus* (1%), esta especie es la primera vez que se cita sobre trufa negra a nivel europeo. Se ha estudiado el ciclo de *L. cinnamomeus* por primera vez en España, tanto en campo como en laboratorio, aportando datos morfológicos y demográficos de los diferentes estadios de desarrollo, y haciendo una propuesta muy completa de ciclo anual en campo. Los aspectos más destacables son la larga presencia de los diferentes estadios (adultos y tres estadios larvarios micófagos) incidiendo sobre las trufas y provocando graves daños, así como la evolución escalonada de la población que va colonizando el hábitat trufero en oleadas o cohortes, manteniendo un alto nivel poblacional mientras hay trufa en el suelo.

En lo referente a la dinámica poblacional temporal, los heleomícidos se comportan como grupo funcional, ya que sus larvas producen daños muy similares en la trufa, presentando cuatro picos poblacionales íntimamente relacionados con el ciclo del hongo. El parámetro meteorológico más influyente sobre las moscas fue la temperatura. De hecho, el estudio fenológico por especie ha revelado que existen dos grupos de heleomícidos en relación a sus preferencias tróficas y térmicas: el primero, formado por *S. pallida* y *S. humilis*, con preferencia estricta por *T. melanosporum* y cuyos adultos vuelan en las épocas más frías (enero y febrero); y el segundo, constituido por *S. tuberiperda* y *S. umbratica*, asociadas tanto a *T. melanosporum* como probablemente a *T. aestivum* (trufa de verano), y cuyos vuelos presentan los máximos en épocas de temperaturas más suaves (septiembre-octubre y abril-mayo). Entre las dos especies más abundantes (*S. tuberiperda* y *S. pallida*) existe una clara complementariedad fenológico-temporal, que implica un reparto de los recursos tróficos para evitar la competencia interespecífica.

La dinámica temporal de *Leiodes cinnamomeus* ha presentado tres máximos poblacionales bastante consistentes a lo largo de los años, en noviembre, enero y marzo. La media de individuos por trampa, sector y fecha fue muy similar en ambas campañas (unos 54 individuos), lo que da idea de los elevados niveles de población en la finca. Los leiódidos parecen muy dependientes de la precipitación y humedad moderadas, que permiten suelos aptos para su comportamiento edáfico, mientras que las heladas o nevadas impiden volar a los adultos en busca de nuevas trufas. Por su parte, *Leiodes distinguendus* presentó un solo pico poblacional en abril-mayo, presentando una población muy baja, quizá asociada a la trufa de verano, por lo que es un parásito muy secundario en la explotación que no puede competir con *L. cinnamomeus*, mucho más adaptado a la trufa negra. El análisis de distribución espacial según los sectores de la finca, no mostró un patrón consistente siendo muy variable entre las dos campañas, tanto para heleomícidos como para leiódidos. Las grandes fluctuaciones de abundancia entre los diferentes sectores, no indicaron una tendencia reconocible, de hecho en sectores no productivos hubo mucha plaga, lo que sólo puede explicarse por la habilidad del leiódido en localizar a distancia el atrayente.

Los daños detectados en trufas recolectadas han sido elevados en ambas campañas, el responsable es *Leiodes cinnamomeus*, las moscas son irrelevantes y sólo acuden a trufas descompuestas, contribuyendo a dispersar las esporas. Al relacionar incidencia con severidad del daño, encontramos relaciones positivas tanto en el análisis de daños por sectores como por fechas, aunque con fiabilidad variable. Es indudable que *Leiodes cinnamomeus* es la plaga clave de la trufa negra en el centro de España y los daños que produce son intolerables para las explotaciones que han entrado plenamente en producción, por lo que sería necesario implementar medidas de control como el trapeo masivo mediante trampas de caída y atrayentes para tratar de desagregar a las poblaciones del insecto y así evitar los daños severos.

Por último, de los sistemas de muestreo ensayados, la combinación de trampas de caída con uno de los atrayentes testados, ha sido la más eficiente desde el punto de vista estadístico. Este sistema de monitoreo es una herramienta muy potente que por primera vez se aplica de forma sistemática para el estudio de esta plaga con unos resultados sobresalientes. El semioquímico tiene una gran capacidad de atracción, mientras que la trampa es de bajo coste y muy adecuada al comportamiento del leiódido, sirviendo además para el seguimiento de las moscas, plagas potenciales que es preciso vigilar.

CONCLUSIONES

En función de los objetivos propuestos, hemos dividido las conclusiones por separado en los dos grupos faunísticos estudiados (Heleomyzidae y Leiodidae).

• FAMILIA HELEOMYZIDAE (“MOSCAS DE LA TRUFA”)

1. Respecto al diagnóstico y descripción de las principales especies asociadas a la trufa negra (*Tuber melanosporum*), se han identificado seis especies de heleomícidos, por orden de abundancia: *Suillia tuberiperda* (47% de las capturas), *Suillia pallida* (38%), *Suillia umbratica* (11%), *Suillia humilis* (4%), *Suillia notata* (0,02%) y *Suillia flagripes* (0,02%). Nuestra contribución incrementa notablemente el grado de conocimiento que se tenía hasta la fecha de este grupo de dípteros en relación a la trufa negra. Así, las citas de *S. umbratica* y *S. flagripes* son las primeras sobre trufa negra a nivel mundial y las otras cuatro especies se citan por primera vez asociadas a este hongo en España. Además, se ha descrito la morfología externa de todas las especies citadas.
2. Se ha profundizado en el ciclo biológico de *S. tuberiperda*, aportando datos sobre las características morfológicas y comportamentales de cada una de las etapas de su desarrollo, así como una estimación de la duración de los distintos estadios, confirmando en nuestras condiciones el único trabajo conocido hasta la fecha realizado en Francia. Se propone un ciclo que consta de seis estadios (huevo, larva 1, larva 2, larva 3, pupa, adulto) con una duración aproximada de 35-50 días. Por primera vez, se aporta dicho ciclo con fotografías originales de todos los estadios. Por su curva de vuelo, esta especie parece presentar dos generaciones anuales en la zona de estudio.
3. Con respecto a la dinámica poblacional de las diferentes especies:
 - 3.1. Las moscas de la trufa, como grupo funcional, presentan cuatro picos poblacionales a lo largo del ciclo del hongo: en septiembre, a principios de febrero, a finales de marzo y a finales de abril. La temperatura es el parámetro meteorológico más influyente sobre la fenología de los heleomícidos.
 - 3.2. El estudio fenológico por especie ha revelado que existen dos grupos de heleomícidos en relación a sus preferencias tróficas y térmicas: el primero, formado por *S. pallida* y *S. humilis*, con preferencia estricta por *Tuber melanosporum* y cuyos adultos vuelan en las épocas más frías (mayoritariamente en enero y febrero); y el segundo, constituido por *S. tuberiperda* y *S. umbratica*, asociadas tanto a *T. melanosporum* como probablemente a *T. aestivum*, y cuyos vuelos presentan los máximos en épocas de temperaturas más suaves (septiembre-octubre y abril-mayo).

- 3.3. Entre las dos especies más abundantes (*S. tuberiperda* y *S. pallida*) parece existir una complementariedad fenológico-temporal, que posiblemente implica un reparto de los recursos tróficos para evitar la competencia interespecífica.
- 3.4. En cuanto a la distribución espacial de los heleomícidos en las diferentes zonas de la finca, la incidencia poblacional ha sido muy variable en las dos campañas, no habiéndose detectado ninguna tendencia en el reparto de la población entre los diferentes sectores de la zona de estudio. Por ello, no ha sido posible establecer un patrón de distribución espacial del grupo funcional de los heleomícidos en la finca, no habiéndose relacionado tampoco con los daños observados en las trufas en los diferentes sectores.
4. Respecto a la importancia de *Suillia* spp. en trufas cultivadas y su valoración como plaga, consideramos que se trata de un grupo funcional de insectos de gran interés ecológico por su papel como dispersadores de las esporas del hongo, en especial los estadios larvarios. No ha sido posible relacionar los daños observados en trufa con la actividad de vuelo de los adultos, ni tampoco se han detectado daños en trufas óptimas para su recolección, tan sólo se han encontrado larvas en carpóforos en estado de inicio de descomposición, especialmente si previamente habían sido perforados por los leiódidos que ya habían abandonado el cuerpo fructífero. Por todo lo anterior, consideramos que su papel como plagas de la trufa negra es irrelevante, sin embargo al ser micófagos estrictos, podrían ser plagas potenciales en ausencia de *Leiodes* spp., por lo que es necesario conocer su diversidad y abundancia.
5. En lo referente a las técnicas de monitoreo, el sistema estadísticamente más eficiente ha resultado ser el compuesto por trampas triangulares adhesivas con uno de los atrayentes, mientras que el resto de métodos no presentaron diferencias significativas entre ellos. Sin embargo, debido a los problemas prácticos presentados por dichas trampas, se decidió emplear un único sistema de trampeo formado por trampas de caída, que ha resultado aceptable para establecer la tendencia poblacional de las moscas de la trufa, aunque cuantitativamente se obtengan menos capturas que con las trampas triangulares. El sistema de captura diseñado tuvo un coste razonable dio resultados aceptables para el seguimiento de heleomícidos, optimizando así el monitoreo de los micófagos más importantes (leiódidos) en el marco de un programa de gestión integrada de las plagas de la trufa negra.

• **FAMILIA LEIODIDAE (“ESCARABAJOS DE LA TRUFA”)**

1. Se han identificado y descrito dos especies asociadas tróficamente a la trufa negra (*Tuber melanosporum*), por orden de abundancia: *Leiodes cinnamomeus* (99% de las capturas) y *Leiodes distinguendus* (1%). Así como *L. cinnamomeus* es bastante conocido en todas las zonas trufas de Europa como micófago estricto de la trufa negra, es la primera vez que se cita a *L. distinguendus* que, por su dinámica poblacional, también podría estar asociado a la trufa de verano. Se han descrito con detalle los caracteres diagnósticos para ambas

especies, con pautas sencillas para el reconocimiento basadas en el tamaño relativo, la morfología de las patas traseras de los machos y la coloración de los élitros, todo ello con fotografías inéditas. Además, se han encontrado otras tres especies de leiódidos que se han identificado hasta género (*Catops* sp., *Agathidium* sp. y *Colenis* sp) y cuya presencia parece irrelevante, dada su escasa abundancia. No obstante, las dos especies europeas del género *Colenis* han sido citadas sobre *Tuber* spp.

2. Se ha descrito el ciclo biológico de *L. cinnamomeus* por primera vez en España, tanto en campo como en laboratorio, confirmando el único publicado hasta la fecha en Italia. Además, se han aportado datos inéditos sobre las características morfológicas, biométricas y biológicas de cada una de las etapas de su desarrollo, que consta de 6 estadios: huevo (12-15 días), larva 1 (micófaga; 8-9 días), larva 2 (micófaga; 8-9 días), larva 3 (micófaga; 13-14 días), larva diapausante o áfaga (L3 que vacía su contenido intestinal y se refugia en un capullo terroso; 8-9 meses), pupa (20-30 días) y adulto (micófago; 35-100 días). Respecto al ciclo en campo, se trata de una especie monovoltina, cuyas poblaciones presentan sucesivas cohortes de adultos que van emergiendo escalonadamente de las pupas tras la larga diapausa estival. Hemos estimado las siguientes duraciones para la presencia en campo de cada una de las fases: adultos (mediados de septiembre a mediados de mayo), puestas de huevos (octubre a enero), larvas micófagas L1-L2-L3 (noviembre a marzo), larvas diapausantes L3 (mediados de diciembre a mediados de septiembre), pupas (septiembre a noviembre). Este largo periodo de presencia de adultos y larvas sobre las trufas, la mayoría de las veces con individuos de todas las edades alimentándose de las mismas, han determinado graves daños y pérdidas de producción en la zona de estudio.
3. Con respecto a la dinámica poblacional de las dos especies:
 - 3.1. *Leiodes cinnamomeus* presentó 3 máximos poblacionales agrupando los datos de las dos campañas: 2ª quincena de octubre o primera de noviembre; 1ª o 2ª quincena de enero; 1ª o 2ª quincena de marzo. A pesar del mayor número de capturas de la segunda campaña respecto a la primera, por el mayor esfuerzo de muestreo (casi 5 veces más capturas), la media de individuos por trampa, sector y fecha fue muy similar (alrededor de 54 individuos), lo que da idea de los elevados niveles de población en los dos años. En cuanto a la distribución espacial, hubo grandes fluctuaciones de abundancia entre los diferentes sectores, no encontrándose ninguna relación sólida entre incidencia de la plaga y zona de la finca, por lo que pensamos que la localización de las trampas por parte de los insectos depende casi exclusivamente de la capacidad de éstos para localizar a distancia el semioquímico. De hecho, hubo numerosos sectores (6) con escasa producción de trufas, pero que sin embargo presentaron elevadas poblaciones de insectos.
 - 3.2. *Leiodes distinguendus* presentó un solo pico poblacional entre la 2ª quincena de abril y la 1ª de mayo, la población fue bajísima la primera campaña y sólo en la 2ª se pudo capturar un número relevante de individuos. No obstante es un parásito

muy secundario en la explotación que no puede competir con *L. cinnamomeus*, mucho más adaptado a la trufa negra.

- 3.3. Entre los parámetros meteorológicos analizados, los leiódidos parecen muy dependientes de la precipitación y humedad moderadas, que permiten suelos ligeramente húmedos y sueltos, dado su carácter predominantemente edáfico. Por el contrario, las temperaturas bajo cero, bien en forma de heladas o bien en forma de nevadas, impide que los adultos salgan del suelo y realicen sus vuelos en busca de nuevos hospedadores. Este hecho, más que producir una elevada mortalidad, obliga a los adultos a permanecer bajo tierra incrementando los daños sobre las trufas, aunque el efecto en las trampas se traduzca en una disminución de capturas.
4. Al analizar los niveles de daño detectados en trufas recolectadas, con el fin de relacionarlos con la incidencia de la plaga, encontramos tendencias positivas tanto en el análisis de daños por sectores como por fechas, aunque con coeficientes de correlación y determinación variables. El porcentaje de trufas dañadas fue elevado en ambas campañas, coincidiendo con elevados niveles poblacionales del insecto plaga. Es destacable como aquellos sectores con más trufas dañadas, presentan además más trufas con daño severo. Ésto podría estar relacionado con la capacidad de los insectos de atraerse entre ellos mediante semioquímicos, una vez colonizada la trufa, o bien que el ataque de los leiódidos libere el aroma de la trufa y haga que los insectos concentren más su ataque en las ya dañadas, en todo caso presentan una distribución agregada. Los análisis de regresión lineal realizados, nos permitirían predecir la severidad del daño en función del número de capturas de adultos en trampas, aunque con una fiabilidad variable según la campaña, la fecha o el sector de la finca. No obstante, es indudable que *Leiodes cinnamomeus* es la plaga clave de la trufa negra en el centro de España y los daños que produce son intolerables para las explotaciones a medida que van creciendo en superficie y entrando en producción, por lo que sería necesario implementar medidas de control. Dada su gran capacidad olfativa y su preferencia por uno de los atrayentes ensayados, que ha quedado claramente demostrada en el presente estudio, el trampeo masivo contribuiría a la desagregación de las poblaciones (por competencia entre emisores naturales y artificiales), por lo que se presenta como la mejor opción considerando las características del cultivo (prácticamente ecológico) y el gran valor añadido del producto. Por último, mencionar el papel de este insecto como dispersador de las esporas de la trufa (tanto adultos como larvas), aunque se desconoce la importancia de este fenómeno que también hemos podido constatar en laboratorio, al igual que en el caso de las moscas.
5. Por último, en lo que respecta a las técnicas de muestreo ensayadas, sin duda la combinación de trampas de caída con uno de los atrayentes ha sido la más eficiente desde el punto de vista estadístico con diferencias altamente significativas respecto a los demás sistemas. Este sistema de monitoreo es una herramienta muy robusta que por primera vez se aplica de forma sistemática para el estudio de esta plaga con unos resultados sobresalientes. Entre sus principales ventajas podemos mencionar: gran capacidad de atracción del semioquímico; bajo coste de la trampa que una vez instalada puede durar

mucho tiempo en el campo; facilidad en el uso y sustitución de los viales que duran unos 15 días; el etilenglicol conservante no interfiere en absoluto con el aroma del atrayente; se obtienen grandes resultados de captura a corto plazo que animan al truficultor a no abandonar; sirve también para el monitoreo de las moscas de la trufa. Posteriormente a este estudio, hemos registrado una trampa evolucionada que funciona en seco y lleva un vial cuya emisión se prolonga 2-3 meses, lo que ha permitido implementar una estrategia de trapeo masivo en toda la finca durante 3 años.