

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



TESIS DOCTORAL

**Distribución y control de la especie invasora *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, plaga del castaño, en España:
Comunidades asociadas de parasitoides nativos y control biológico y evaluación de impacto de la introducción en el medio natural de la especie foránea *Torymus sinensis* Kamijo**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Diego Gil Tapetado

Directores

José Luis Nieves Aldrey
Francisco José Cabrero Sañudo
José Francisco Gómez Sánchez

Madrid

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



TESIS DOCTORAL

**Distribución y control de la especie invasora *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, plaga del castaño, en España:
Comunidades asociadas de parasitoides nativos, y control biológico y evaluación de impacto de la introducción en el medio natural de la especie foránea *Torymus sinensis* Kamijo.**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Diego Gil Tapetado

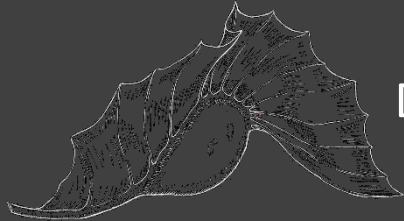
DIRECTORES

José Luis Nieves Aldrey
Francisco José Cabrero Sañudo
Jose Francisco Gómez Sánchez

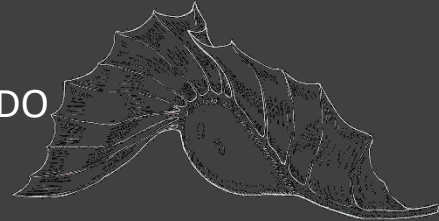


**DISTRIBUCIÓN Y CONTROL DE LA
ESPECIE INVASORA *DRYOCOSMUS
KURIPHILUS* YASUMATSU, PLAGA DEL
CASTAÑO, EN ESPAÑA:**

**COMUNIDADES ASOCIADAS DE PARASITOIDES
NATIVOS, Y CONTROL BIOLÓGICO Y
EVALUACIÓN DE IMPACTO DE LA
INTRODUCCIÓN EN EL MEDIO NATURAL DE LA
ESPECIE FORÁNEA *TORYMUS SINENSIS* KAMIJO.**



DIEGO GIL TAPETADO



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

DIRECTORES:

JOSÉ LUIS NIEVES ALDREY

FRANCISCO JOSÉ CABRERO SAÑUDO

JOSE FRANCISCO GÓMEZ SÁNCHEZ

MADRID, 2022

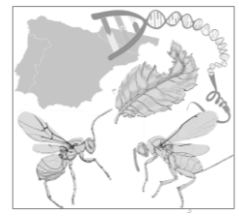


*Ex Ignorantia Ad Sapientiam,
Ex Luce Ad Tenebras
- Howard Phillips Lovecraft*

El conocimiento nos suele abrir nuevas perspectivas, nuevas intrigas. Responder preguntas conlleva la formulación de nuevas preguntas. Indudablemente, el conocimiento trae consigo el progreso, pero en muchos casos trae también la duda, la incertidumbre de que todo aquello que pensamos que es fijo e inmutable, en realidad, no lo es. Muchas veces es todo lo contrario. Pone de manifiesto que, pese a lo mucho que creemos conocer, seguimos siendo ignorantes. Que, pese a que creemos conocer mucho de nuestro universo, nos queda un abismo insondable de interrogantes por resolver (o, al menos, por intentar resolver). Espero que mi tesis doctoral arroje un poco de luz en todo el desconocimiento que aún nos queda y que ayude a iluminar un poco más el mundo tan complejo y maravilloso que nos rodea.



AGRADECIMIENTOS



Quiero nombrar a todas las personas que me han acompañado en todos estos años y me han, literalmente, moldeado y formado como persona, más allá de la tesis doctoral. Todos somos una probabilidad ignota desde el momento de nuestra concepción, y también lo somos en el sentido de cómo crecemos, aprendemos y se nos va construyendo nuestra personalidad.

¿Por dónde empezar? ¿Cómo dar las gracias a tanta gente? ¿Cómo puedo expresar el sentirme tan afortunado y haberme rodeado de tantas buenas personas? Desde pequeño siempre me han dicho que “en esta vida todo depende de con quién toque”, con quién hables por un segundo o te toque hacer algún papeleo, alguna reunión. Pero esto también quién te rodee y quién te acompañe en tu camino, quién esté contigo en tu estela. Y no se equivocan.

A ellos, y a todos, muchas gracias por todo:

A mis directores de tesis, a José Luis Nieves Aldrey, a Jose Luis, el entomólogo y el cecidólogo que me ha permitido construirme como científico investigador, que me ha enseñado tanto acerca de estos microcosmos en la palma de una mano, por esos viajes por media España y parte de la otra, sin ti, sin haber abierto los caminos a los que llegamos, nada de esto sería posible. A Jose Francisco Gómez Sánchez, a Jose F. Gómez, a Jose, por todo el crecimiento personal y por enseñarme la utilidad de mano izquierda, de abrirme de mente, por enseñarme a pensar y a tratar las cosas con otra perspectiva. Por ser compañeros de despacho, y, a la vez, *sensei* y pupilo en esas cervezas que tan bien sientan. Por Guinea y el futuro (espero). Sin tus consejos, nada de esto sería posible. A Fco José Cabrero Sañudo, a Paco Cabrero, a Paco, mi mentor (aunque te moleste que lo diga) y la primera persona que apostó por mí como estudiante. Sin tus enseñanzas y sin tus ánimos, nada de esto sería posible. Por todas las cosas que aún nos quedan por hacer.

A mi familia. A mi padre, Ricardo, y a mi madre, Nina. Sin ellos, sus ánimos, inmenso cariño y sus facilidades, nada de esto sería posible. Os quiero mucho y os doy muchas gracias por todo. A mi hermano Ricardo, a Rixi, al Tato, gracias por tanto, por tu compañía, por estar siempre ahí. Por esos viajes por media España y por los que ahora tenemos que hacer. ¡Que Asturias te sea próspera, hermanu! A mí Tía Pradi, a mi madrina, por enseñarme a ser quien soy, por todos estos años juntos y por tantas charlas (y terapias) sobre política. Muchas gracias por ser como eres. A mis tíos y primo de Talavera de la Reina, Bene, Pili y Bene junior. A aquellos que ya no están aquí: a mis abuelos Ricardo, Eugenia, Benedicto y Saturnina. A mi tío Miguel por enseñarme a pensar. Por enseñarme el camino.

A mis amigos y amigas. A Carmen, que nuestras estelas confluyan allá donde estemos. ¡Presta atención entre los recovecos que se forman entre las estrellas y la Luna, más allá de viejas constelaciones y de brillos atávicos! Allí se encuentran dos lobos en eterna persecución y combatiendo contra la incertidumbre. No lo olvides. Por tu ayuda en estos momentos tan importantes de mi vida y por compartirlos juntos. Por tu ayuda en el inglés y en los recortes drásticos (eso es aparte (pero también ha sido muy importante (que sí, que sí, pero no es tan importante como lo otro (la estás

AGRADECIMIENTOS



liando, cállate ya))). A todos los que me acompañan y me han acompañado durante estos años, en la calle, en la Facultad o donde haya hecho falta: Ferni, Dani (Templar, Zero, Shoshuro Kokusho), todos los Diegos, Alberto, Mañani, Fraile, Raúl, Nacho, Andy, todas las Patricias, Berni, Jorge, Jako, los Sergios, Xabi, Sandra, Roberto, y al bueno de Daniel Padilla. A todos mis compañeros y amigos de Lugo, especialmente a María. A todo el Grupo de Seguimiento de la Biodiversidad de la Facultad de Biología. A Saris, María e Irene, mi antiguo club de fans, por todas esas risas. Y a muchos otros amigos, que en este preciso momento no alcanzo a recordar.

Mención especial a mis amigos y amigas de Fotografía y Biodiversidad (FyB), de Biodiversidad Virtual (BV). Gracias por confiar en mí y por hacer este precioso camino juntos, unidos, por un bien mayor, por la biodiversidad ibérica a través de la fotografía, por revolucionar el panorama actual hablando desde la alternativa y por irnos convirtiendo en la norma. Hemos cambiado la forma de hacer las cosas, somos historia. Gracias a todos por vuestra incalculable amistad. A Antonio Ordóñez, la gran cabeza imaginativa. Muchas gracias por confiar y creer en mí y por ir juntos en este proyecto tan emocionante y difícil de expresar que es BV. Por el futuro y por todo lo que aún nos queda. A Tere, mi madrina de BV, por enseñarme y abrirme a las maravillas de la ciencia ciudadana. Por el Lado Oscuro. Muchas gracias por ser como eres. A Sesma, probablemente el mayor ejemplo de científico ciudadano que puede haber en la Península Ibérica. ¡Que hagamos muchas más cosas juntos, compañero! Y si es con una buena barbacoa, mejor. Que esos bichos están ahí para ser estudiados y las fotos nos muestran el camino. A los demás compañeros de la Junta de FyB, a Jose, Jordi, Rosa, Ricardo, Nacho, Luis, Oscar, Fernando, Álvaro. Gracias por compartir tantos momentos juntos. ¡¡¡Testing Power!!!

A todos los compañeros e investigadores que me han ayudado a formarme como científico (al margen de los mencionados anteriormente, tanto académicos como ciudadanos). Gracias por vuestro tiempo, paciencia y por todas las charlas que hemos tenido para formarme como científico y como persona. A José Ignacio Aguirre, a Chechu, por todos los años que hemos pasado juntos entendiendo que los pájaros se comen a los bichos y los bichos se comen a los pájaros. Por enseñarme que los pequeños somos tan grandes como los que más (aunque no haya que ir por ahí flipándose). Por esos tiempos en el despacho, por esos viajes a Navarra... ¡Y los que quedan! A Mario García Paris, a Mario, por enseñarme a pensar (¡y a pensar pero mucho!) y por tu confianza. Por todo lo que queda por hacer e investigar. A Karen López, Alberto Sánchez Vialas, Yolanda Jiménez, a Karen, Alberto y Yolanda, por enseñarme sobre el apasionante mundo de la filogenia y todos sus entresijos. Compañeros de filogenia, sigamos dándole a esos *Torymus*. A Arabia Sánchez y a Mercedes Paris, muchas gracias por todas las facilidades y por vuestra ayuda. A María Josefa Lombardero, a Fina (¡y a Naidu!), por acogerme en esas tierras galegas y hacerme sentir tan cómodo. Por enseñarme tanto en lo personal y en lo profesional. Tengo mucha morriña de volver. A Fernando Castedo Dorado y a Pedro Álvarez Álvarez, a Fernando y a Pedro, por esas Estrellas Galicia, esos pulpos a feira y por enseñarme a pensar diferente, no sólo como un ingeniero, ¡sino como un gallego! A todo el equipo de IFAPA

AGRADECIMIENTOS



Churriana de Málaga, especialmente a Juan Ramón Boyero y José Miguel Vela. A Pablo Refoyo, Cristina Olmedo, Benito Muñoz, a Pablo, Cris y Tito, por enseñarnos a cómo se trabaja realmente en Biología, y por esas charlas distendidas en Forestales. A Alberto Jorge por esas sesiones de *scanning* y esas confidencias. A Fernando Acevedo por compartir tus experiencias y por las futuras colaboraciones. A Jesús Muñoz, por tu ayuda, conversaciones y por echarme tantos capotes. A Jorge Lobo, por esas charlas tan estimulantes y despertadoras de neuronas. A ambos, por enseñarme tanto de modelización de distribución de especies y por enseñarme todo lo que sé de estos análisis. A Carlo Polidori, a Carlo, muchas gracias por estar ahí y por tu impronta en lo profesional. Me has enseñado a expresarme y a pensar en Ciencia. Me has enseñado el futuro. ¡Y por el futuro, Carlo! Que nos veamos pronto. Al personal del Real Jardín Botánico Alfonso XIII, Juan Carlos Marín, Lorena García Álvarez, Esteban Díaz y todo el equipo de jardineros no sólo por permitirnos usar los castaños como zona de experimentación con *Torymus sinensis* sino por todas las facilidades, amabilidad y siempre buena disposición a lo largo de estos años que nos han permitido durante ocho años realizar el programa de seguimiento de libélulas (¡y los que quedan!). Al Ministerio de Transición Ecológica, especialmente a Ricardo Gómez Calmaestra por contar con nosotros y permitirnos abordar y estudiar este tema tan complejo. Sin vuestra confianza, esta tesis doctoral no habría existido. A Mihaela Pirvu por sus gestiones para la inclusión de *Dryocosmus kuriphilus* en el Catálogo Español de Especies Exóticas Invasoras.

A todos los pueblos de la península ibérica. A lo largo de esta tesis doctoral he viajado por buena parte de la geografía ibérica, conociendo y entendiendo perfectamente la diversidad tan grande, no solo biológica, sino de culturas y gentes que comprende nuestro territorio.

¡Muchísimas GRACIAS!

*And all you create, and all you destroy
And all that you do, and all that you say
And all that you eat, and everyone you meet
And all that you slight, and everyone you fight
And all that is now
And all that is gone
And all that's to come
And everything under the sun is in tune
But the sun is eclipsed by the moon*

*(There is no dark side of the moon really
Matter of fact it's all dark)*

Pink Floyd - Eclipse



ÍNDICE



☞ RESUMEN/ABSTRACT	1
RESUMEN EN CASTELLANO	1
RESUMEN EN INGLÉS/ABSTRACT	3
☞ INTRODUCCIÓN	5
1. INTRODUCCIÓN GENERAL	5
2. EL CASTAÑO	9
3. INDUCTORES DE AGALLAS Y FAMILIA CYNIPIDAE	15
4. GÉNERO <i>DRYOCOSMUS</i>	26
5. <i>DRYOCOSMUS KURIPHILUS</i>	30
6. PARASITOIDES Y SUPERFAMILIA CHALCIDOIDEA	35
7. FAMILIA TORYMIDAE Y GÉNERO <i>TORYMUS</i>	41
8. <i>TORYMUS SINENSIS</i>	45
9. ESPECIES INVASORAS	52
10. CONTROL BIOLÓGICO	56
☞ ¿POR QUÉ ESTA TESIS?	61
☞ OBJETIVOS	65
☞ CAPÍTULO 1. DISTRIBUCIÓN REAL Y POTENCIAL DE <i>D. KURIPHILUS</i> Y	
<i>T. SINENSIS</i>	68
I. DISTRIBUTION AND DISPERSAL OF THE INVASIVE ASIAN CHESTNUT GALL WASP, <i>DRYOCOSMUS KURIPHILUS</i> (HYMENOPTERA: CYNIPIDAE), ACROSS THE HETEROGENEOUS LANDSCAPE OF THE IBERIAN PENINSULA	70



ÍNDICE



II. <i>TORYMUS SINENSIS</i> KAMIJO, A BIOCONTROL AGENT AGAINST THE INVASIVE CHESTNUT GALL WASP <i>DRYOCOSMUS KURIPHILUS</i> YASUMATSU IN SPAIN: ITS NATURAL DISPERSAL FROM FRANCE AND FIRST DATA ON ESTABLISHMENT AFTER EXPERIMENTAL RELEASES.	82
III. NEWLY INVADED TERRITORIES BY <i>DRYOCOSMUS KURIPHILUS</i> IN SPAIN AND FIRST RECORDS OF <i>TORYMUS SINENSIS</i> IN THE SISTEMA CENTRAL.	93
☞ <u>CAPÍTULO II. RELACIONES DE <i>D. KURIPHILUS</i> CON EL AMBIENTE Y LA ENTOMOFAUNA PARASITOIDE</u>	101
IV. CLIMATE AS A POSSIBLE DRIVER OF GALL MORPHOLOGY IN THE CHESTNUT PEST <i>DRYOCOSMUS KURIPHILUS</i> ACROSS SPANISH INVADED AREAS.	103
V. GALL SIZE OF <i>DRYOCOSMUS KURIPHILUS</i> LIMITS DOWN-REGULATION BY NATIVE PARASITIDS	117
VI. DIFFERENCES IN NATIVE AND INTRODUCED CHALCID PARASITOID COMMUNITIES RECRUITED BY THE INVASIVE CHESTNUT PEST <i>DRYOCOSMUS KURIPHILUS</i> IN TWO IBERIAN TERRITORIES	135
☞ <u>CAPÍTULO III. FILOGENIA DE <i>T. SINENSIS</i> Y LOS RIESGOS DE SU INTRODUCCIÓN EN EL MEDIO NATURAL.</u>	152
VII. HOST SPECIALIZATION IS ANCESTRAL IN <i>TORYMUS</i> (HYMENOPTERA, CHALCIDOIDEA) CYNIPID GALL PARASITIDS.	154
VIII. <i>TORYMUS SINENSIS</i> AGAINST THE INVASIVE CHESTNUT GALL WASP: HIGH POTENTIAL FOR NON-TARGET HOSTS ALTHOUGH UNLIKELY HYBRIDIZATION WITH NATIVE SPECIES.	184
☞ <u>DISCUSIÓN GENERAL.</u>	216
I. EL ROL REAL DE <i>T. SINENSIS</i> COMO CONTROL BIOLÓGICO DE <i>D. KURIPHILUS</i> .	216
II. AGRICULTURA VS. CONSERVACIÓN.	220
III. RECOMENDACIONES PARA EL FUTURO.	224



ÍNDICE



☞ TRABAJOS EN PREPARACIÓN Y FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN.	229
---	------------

☞ CONCLUSIONES.	232
------------------------	------------

☞ BIBLIOGRAFÍA.	237
------------------------	------------

☞ ANEXOS.	249
------------------	------------

I. <i>PAROCHTHIPHILA (EUESTELIA) CARINATA</i> SP.N.: A NEW CHAMAEMYIID SPECIES FROM SPAIN (DIPTERA: CHAMAEMYIIDAE) REARED FROM GALLS OF <i>DRYOCOSMUS KURIPHILUS</i> YASUMATSU (HYMENOPTERA: CYNIPIDAE).	250
--	-----

II. <i>MESOPOLOBUS DELAFUENTEI</i> SP. NOV.: A NEW PTEROMALID SPECIES FROM SPAIN (HYMENOPTERA: PTEROMALIDAE), WITH NOTES ON OTHER PARASITIDS ASSOCIATED WITH <i>ANDRICUS CRISPATOR</i> TSCHEK (HYMENOPTERA: CYNIPIDAE), A GALL WASP ON CORK OAKS.	256
---	-----

III. SPATIAL PROPAGATION AND PATTERNS OF ABUNDANCE OF <i>DRYOCOSMUS KURIPHILUS</i> THROUGHOUT AN INVADED REGION.	264
--	-----

IV. MODELO DE ANÁLISIS DE RIESGOS PARA LA INCLUSIÓN DE LA ESPECIE <i>DRYOCOSMUS KURIPHILUS</i> EN EL CATÁLOGO ESPAÑOL DE ESPECIES EXÓTICAS INVASORAS.	280
---	-----

V. MODELO DE ARGUMENTACIÓN CIENTÍFICA PARA LAS PROPUESTAS DE INCLUSIÓN DE TAXONES EN EL CATÁLOGO ESPAÑOL DE ESPECIES EXÓTICAS INVASORAS: <i>DRYOCOSMUS KURIPHILUS</i> .	298
---	-----





RESUMEN EN CASTELLANO

Título: Distribución y control de la especie invasora *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, plaga del castaño, en España: Comunidades asociadas de parasitoides nativos, y control biológico y evaluación de impacto de la introducción en el medio natural de la especie foránea *Torymus sinensis* Kamijo.

Introducción: La avispa del castaño, *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, 1951 (Hymenoptera: Cynipidae) es una especie plaga de los castaños por todo el mundo, actuando como una especie exótica invasora y generando pérdidas económicas severas. Esta especie causa que los árboles produzcan menos frutos, que sus ramas se acorten y se deformen, además de un debilitamiento generalizado, mediante la inducción de agallas en altas cantidades. Esta producción de agallas en altas densidades es debido a que *D. kuriphilus* no posee ninguna especie que regule sus poblaciones de forma directa, a diferencia de lo que ocurre con otras especies nativas de Cynipidae y la fauna parasitoide de la superfamilia Chalcidoidea (Hymenoptera). Para regular las poblaciones de *D. kuriphilus* y evitar los daños que produce, se ha empleado como agente de control biológico a la especie *Torymus sinensis* Kamijo, 1982 (Hymenoptera: Chalcidoidea: Torymidae), introduciéndolo en el medio natural en diferentes países por todo el mundo. La introducción de *T. sinensis* como controlador biológico de *D. kuriphilus* ha demostrado ser eficaz para disminuir las poblaciones de esta especie plaga, pero existe una serie de incógnitas acerca de su interacción y efecto negativo con especies nativas, tanto de cinípidos inductores de agallas, como parasitoides. Entre estos efectos negativos se encuentra: a) ataque “no objetivo” a especies nativas de Cynipidae, produciendo el descenso de sus poblaciones; b) competencia con especies de parasitoides nativos que acabe produciendo su desplazamiento; y c) hibridación con otras especies de *Torymus* nativos. Por lo tanto, la liberación de *T. sinensis* presenta una serie de incertidumbres asociadas a problemas en conservación de las especies en el medio natural. Además, *D. kuriphilus* ha generado nuevas comunidades biológicas en los castaños, reclutando especies de parasitoides nativos presentes en los robles. En España, la presencia de *D. kuriphilus* y la liberación de *T. sinensis* son recientes, y existen diferentes déficits de conocimiento acerca de la interacción de estas dos especies junto con las especies nativas, lo que genera un marco de estudio a nivel biológico de un problema ambiental con fuertes implicaciones socioeconómicas.

Objetivos: La presente tesis doctoral busca generar conocimiento a diferentes niveles acerca del trinomio “*D. kuriphilus*-*T. sinensis*-especies nativas”, siendo éstos, biogeografía, ecología y filogenia. Con este conocimiento generado se pretende ayudar a la comprensión y a la gestión de esta plaga y su control biológico, así como indicar y prevenir los posibles daños que pueden generar la introducción de especies foráneas en el medio natural.

Síntesis: A nivel biogeográfico se ha establecido y detallado las distribuciones de *D. kuriphilus* y de *T. sinensis* en España en el escenario más actual, incluyendo actualizaciones de nuevas zonas

RESUMEN/*ABSTRACT*



colonizadas, así como las zonas de máxima idoneidad para la especie plaga y los posibles escenarios a futuro considerando la dispersión natural de la especie. Además, se ha estudiado las diferentes introducciones naturales de *T. sinensis* a través de las fronteras con Francia y sus diferentes tasas de parasitismo en diferentes áreas ibéricas. A nivel ecológico se han estudiado las comunidades biológicas que se han establecido tras la llegada de *D. kuriphilus* a los castaños en Galicia y Andalucía (Málaga), observando diferencias en sus composiciones y sus estructuras, así como se ha formulado una hipótesis acerca del rápido reclutamiento de especies relacionada con la teoría de “biogeografía de islas”. Se pone en valor la existencia de una subcomunidad de especies nativas que poseen el mismo o muy parecido rol que *T. sinensis*, entre ellas *Torymus notatus* (Walker, 1833). Además, se ha indicado un posible efecto del clima sobre el tamaño de las agallas de *D. kuriphilus*, siendo más grandes en zonas con mayor temperatura, así como un efecto parecido con el parasitismo (mayor parasitismo en zonas con mayor temperatura). Junto con esto, se ha demostrado cómo el tamaño de las paredes de las agallas constituye un impedimento y dificulta su parasitación, indicando cómo sólo las especies que parasitan las agallas en fases tempranas de crecimiento de éstas (como *T. sinensis* o *T. notatus*) son eficaces como control de poblaciones de *D. kuriphilus*. A nivel filogenético, se ha estudiado la cercanía genética entre especies de *Torymus* nativas además de *T. sinensis*, indicándose que la especie autóctona *T. notatus* es una especie muy cercana y potencialmente candidata a hibridar. Esto también se ha relacionado con la historia natural de los *Torymus*, obteniendo que las especies con biología generalistas surgen posteriormente a las especies especialistas, así como posteriormente a la radiación de especies de los Cynipidae asociados a *Fagaceae*. Por último, se ha indagado en los riesgos que supone la introducción de *T. sinensis* en el medio natural, obteniendo que la cercanía filogenética entre *T. sinensis* y *T. notatus* no constituye *a priori* un problema de hibridación, pero que sí existen evidencias en laboratorio y en campo de que *T. sinensis* es capaz de atacar a las agallas de Cynipidae nativas, sobre todo a aquellas que comparten una similitud morfológica con las agallas de *D. kuriphilus*.



RESUMEN/*ABSTRACT*



RESUMEN EN INGLÉS/*ABSTRACT*

Title: Distribution and control of the invasive species *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, a chestnut pest, in Spain: Associated communities of native parasitoids, and biological control and impact assessment of the introduction into the natural environment of the alien species *Torymus sinensis* Kamijo.

Introduction: The Asian chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, 1951 (Hymenoptera: Cynipidae) is a pest species of chestnut trees worldwide, acting as an invasive alien species and causing severe economic losses. This species causes fruit loss to these trees, shortened and deformed branches, as well as a generalised weakening, by inducing galls in high numbers. This galls production at high densities is because *D. kuriphilus* has no species that directly regulates its populations, unlike other native species of Cynipidae and parasitoid fauna of the superfamily Chalcidoidea (Hymenoptera). To regulate *D. kuriphilus* populations and prevent damage, the species *Torymus sinensis* Kamijo, 1982 (Hymenoptera: Chalcidoidea: Torymidae) has been used as a biological control agent and has been introduced into the wild in different countries around the world. The introduction of *T. sinensis* as a biological control of *D. kuriphilus* has proven to be effective in reducing populations of this pest species, but there are several unknowns about its interaction and negative effect on native species, both gall-inducing cynipids and parasitoids. These negative effects include a) ‘non-target’ attack on native Cynipidae species, leading to population declines; b) competition with native parasitoid species leading to their displacement; and c) hybridization with other native *Torymus* species. Therefore, the release of *T. sinensis* presents a few uncertainties associated with species conservation problems in the natural environment. In addition, *D. kuriphilus* has generated new biological communities in chestnut trees, recruiting native parasitoid species present in oak trees. In Spain, the presence of *D. kuriphilus* and the release of *T. sinensis* are recent, and there are different knowledge deficits about the interaction of these two species together with native species, which generates a framework of study at the biological level of an environmental problem with strong socio-economic implications.

Aims: This PhD thesis seeks to generate knowledge at different levels about the ‘*D. kuriphilus*-*T. sinensis*-native species’ trinomial, namely biogeography, ecology, and phylogeny. The aim of this knowledge is to help in the understanding and management of this pest and its biological control, as well as to indicate and prevent the possible damage that may be caused by the introduction of foreign species into the natural environment.

Synthesis: At the biogeographical level, the distributions of *D. kuriphilus* and *T. sinensis* in Spain in the most current scenario have been established and detailed, including updates of new colonised areas, as well as the areas of maximum suitability for this pest species and possible future scenarios considering the natural dispersal of the species. In addition, the different natural introductions of *T. sinensis*

RESUMEN/*ABSTRACT*



across the French border and their different parasitism rates in different Iberian areas have been studied. At the ecological level, the biological communities that have been established after the arrival of *D. kuriphilus* to chestnut trees in Galicia and Andalusia (Malaga) have been studied, observing differences in their compositions and structures, and a hypothesis has been formulated about the fast recruitment of species related to the 'island biogeography' theory. The existence of a subcommunity of native species with the same or very similar role to *T. sinensis*, including *Torymus notatus* (Walker, 1833), is highlighted. In addition, a possible effect of climate on the size of the galls of *D. kuriphilus* has been indicated, being larger in areas with higher temperature, as well as a similar effect with parasitism (higher parasitism in areas with higher temperature). Together with this, it has been shown how the size of the gall wall constitutes an impediment and hinders parasitism, indicating how only species that parasitise galls in early stages of growth (such as *T. sinensis* or *T. notatus*) are effective in controlling *D. kuriphilus* populations. At the phylogenetic level, genetic closeness has been studied between native *Torymus* species as well as *T. sinensis*, indicating that the native species *T. notatus* is a very close species and potentially a candidate for hybridization. This has also been related to the natural history of *Torymus*, with species with generalist biologies arising later than specialist species, as well as later than the radiation of species of the Cynipidae associated with *Fagaceae*. Finally, the risks posed by the introduction of *T. sinensis* into the natural environment were investigated, obtaining that the phylogenetic closeness between *T. sinensis* and *T. notatus* does not *a priori* constitute a hybridization problem, but that there is evidence in the laboratory and in the field that *T. sinensis* can attack the galls of native Cynipidae, especially those that share a morphological similarity with the galls of *D. kuriphilus*.



INTRODUCCIÓN



1. Introducción general

El tema principal que aborda la presente tesis doctoral es la problemática de la avispa del castaño, *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, 1951 (Hymenoptera: Cynipidae) y su control biológico con *Torymus sinensis* Kamijo 1982 (Hymenoptera: Chalcidoidea: Torymidae). La especie *D. kuriphilus* (Figura 1) es invasora y plaga de castaños europeos, americanos y asiáticos (*Castanea* spp, *Fagaceae*) (YASUMATSU, 1951; EPPO, 2002; CABI, 2015; GIL-TAPETADO *et al.*, 2018). Esta especie de cinípido induce agallas (Figura 2), estructuras anormales, en diferentes especies de *Castanea*, entre ellas *Castanea sativa* Mill., el castaño europeo o castaño dulce, distribuido por el Paleártico Occidental (LANG *et al.*, 2007; ROCES-DÍAZ *et al.*, 2018a). Al producir altas cantidades de estas agallas en los castaños de las áreas invadidas, la producción de castañas (fruto de este árbol con explotación productiva) se ve comprometida, propiciando pérdidas económicas a este sector (KATO & HIJII 1997; UGOLINI *et al.* 2014; SARTOR *et al.* 2015; GEHRING *et al.*, 2018). En algunos casos, pueden existir pérdidas de hasta el 80% de la producción de la castaña (EFSA, 2010). También se generan otros daños de carácter económico, como la torsión de las ramas, afectando a la producción de madera (GEHRING *et al.*, 2018) y daños de carácter biológico, como la que afecta a la arquitectura del árbol, produciendo aclaramientos en la copa del árbol o la producción de troncos y ramas secundarias sobre el tronco principal del castaño (GEHRING *et al.*, 2018). La copa de los castaños suele ser una masa tupida de hojas que genera una gran cantidad de sombra en el suelo, y esta disminución en la densidad de la copa o aclaramiento de ésta también podría producir daños secundarios en el suelo al alterar sus condiciones normales.

La especie *D. kuriphilus* es autóctona del centro y este de China (YASUMATSU, 1951). En el medio natural, *D. kuriphilus* induce la formación de agallas sobre la mayoría de las especies del género *Castanea*. En su área de distribución nativa induce agallas en las especies *Castanea mollissima* Blume, *Castanea henryi* (Skan) Rehder & E. H. Wilson y *Castanea seguinii* Dode; mientras que, en los territorios invadidos, *D. kuriphilus* induce en *Castanea crenata* Siebold & Zucc. en Japón, en *Castanea dentata* (Marsh.) Borkh. (pero no en *Castanea pumila* (L.) Mill.) en Norteamérica y en *C. sativa* en Europa, así como en la mayoría de los híbridos entre éste y *C. mollissima* y *C. crenata* (EPPO, 2002; CABI, 2015). Cabe destacar que la mayoría de los castaños no asiáticos (como *C. sativa* en el Paleártico Occidental) no tenían asociadas especies gallícolas o cecidógenas hasta la invasión de *D. kuriphilus* (NIEVES-ALDREY, 2001; ASKEW *et al.*, 2013).

INTRODUCCIÓN



Figura 1. Fotografía lateral de un individuo de *Dryocosmus kuriphilus*. Autor de la fotografía: Diego Gil Tapetado.



Figura 2. Fotografías de agallas de *Dryocosmus kuriphilus* sobre *Castanea sativa* (A). Agallas en hoja (B). Agallas de brotes (C). Agallas secas en hoja (D). Autores de las fotografías: María José Callejo (A), Marián Álvarez (B y C) y Salvador Cardero (D). Fotografías alojadas en Biodiversidad Virtual (www.biodiversidadvirtual.org).

INTRODUCCIÓN



La especie *D. kuriphilus* se reproduce por partenogénesis telitoca (YASUMATSU, 1951; JIN *et al.*, 1995), i.e. que solo posee individuos reproductores hembra, que tienen descendencia directa semiclónica, sin intermediación de machos ni recombinación genética con otro individuo. Este hecho condiciona que sea una especie con una variabilidad genética muy baja o nula (BONAL *et al.*, 2018). La sola presencia de una generación partenogénica en esta especie causa que las hembras puedan estar grávidas directamente, sin intermediación de cópula con un macho, lo que facilita la reproducción de la especie, favoreciendo el aumento de sus poblaciones, sus densidades y el grado de asentamiento en las zonas invadidas. Junto con esto, una sola hembra puede llegar a poner centenares de huevos (TOKUHISA, 1981; KATO & HIJII, 2001). Esto conlleva que la presencia de un único individuo puede iniciar un nuevo foco de infección en un área no colonizada.

A este hecho se le une una relativa alta capacidad dispersiva: pese a su pequeño tamaño, *D. kuriphilus* puede dispersarse varios kilómetros al año. Por ejemplo, en Italia, *D. kuriphilus* se ha dispersado entre 1 y 11 km/año (6.6 km/año de media, GILIOLI *et al.*, 2013). En el trabajo de GIL-TAPETADO *et al.*, (2021a, incluido en los anexos de esta tesis), centrado en Galicia, se menciona que esta especie se puede dispersar de media 9 km/año, por lo que en relativamente pocos años, puede llegar a invadir los castaños de un territorio por completo. En dicho trabajo (incluido en esta tesis como anexo) se desarrolla la reconstrucción de la invasión de *D. kuriphilus* en Galicia, mostrando que, a día de hoy, ha invadido prácticamente todos los castaños en apenas 6 años.

La conjunción de que *D. kuriphilus* solo presente hembras partenogénicas (un único individuo puede desencadenar un nuevo foco, i. e: alta capacidad reproductiva) y su gran capacidad dispersiva, unido a que la especie pasa la mayor parte de su ciclo vital en el interior de sus agallas, complican mucho las labores de control de esta plaga del castaño, específicamente:

1) Control físico. La poda, quema y eliminación de las agallas únicamente es efectiva en los primeros estadios de la invasión, cuando es viable por la existencia de pocos ejemplares/agallas que controlar. Sin embargo, en estadios avanzados, existe tal cantidad de agallas en los castaños infestados que el esfuerzo y medios para llevar a cabo este tipo de control es muy costoso. Además, se desaconseja el control físico y la eliminación y quema de las agallas durante los meses de otoño-invierno al contener fauna parasitoide que puede ayudar con su control biológico (ver más adelante).

2) Control químico. Este tipo de control se ha mostrado ineficaz: la fumigación únicamente serviría durante los meses de emergencia de los individuos de *D. kuriphilus* de sus agallas, pero causaría daños secundarios en la entomofauna nativa. Además, el control sistémico en el interior de la planta, pese a que podría tener efecto, muy seguramente comprometería la calidad y disponibilidad de las castañas, que son usadas para consumo humano (GERMINARA *et al.*, 2011; GIBBS *et al.*, 2011).

INTRODUCCIÓN



3) Ingeniería genética, machos estériles e incompatibles. Esta técnica novedosa en el control de poblaciones de especies se ha demostrado efectiva en mosquitos (BENEDICT & ROBINSON, 2003) y cada vez es más prometedora en el ámbito del control de poblaciones animales, sobre todo de insectos. Sin embargo, esta técnica no se puede aplicar a *D. kuriphilus*, porque esta especie únicamente presenta hembras partenogenéticas.

4) Variedades resistentes. Esta técnica de control consiste en el uso variedades concretas de castaños que son resistentes a la producción de agallas por *D. kuriphilus*. En estas variedades, la respuesta de inducción del cinípido no funciona, sino que el árbol interpreta esta presencia como un ataque externo, encapsulando, dejando inviables y matando los huevos de *D. kuriphilus* en su interior. Este hecho era conocido ya en un híbrido euro-japonés *C. sativa* x *C. crenata* cultivado en el sur de Francia, llamado Bouche de Bétizac (DINI *et al.*, 2012). Sin embargo, sus castañas no tienen la misma calidad alimentaria ni están tan valoradas como otras de otros cultivares, por lo que su uso como alternativa está cuestionado. Existen líneas de investigación actuales acerca de este tipo de control pasivo de *D. kuriphilus*, sin embargo presentan tres principales inconvenientes: a) es inviable a corto y a medio plazo, ya que, si se reemplazan los castaños infestados por los resistentes, éstos tardarían en crecer y en poder llegar a ser productivos, existiendo pérdidas económicas durante el proceso; b) la variedad resistente podría tener otros problemas, como una ausencia de adaptación al medio en el que se quiere cultivar, o bien que las propiedades de sus castañas o su madera no sean igual de buenas que las variedades autóctonas; y c) el reemplazo de las variedades autóctonas por otras variedades resistentes eliminaría el acervo genético de los castaños de cada región a favor de unas pocas líneas genéticas seleccionadas contra un problema específico y destinada a producción, lo que desembocaría en problemas de conservación. Además, esto mismo sigue siendo una visión cortoplacista, ya que es posible que puedan surgir en el futuro otras plagas o enfermedades a los que las variedades locales sí que sean resistentes y las resistentes a *D. kuriphilus* no. Existe por tanto, un dilema en la toma de decisiones que se basa en la dicotomía producción agrícola vs. conservación, que aparecerá reflejada a lo largo de esta tesis doctoral en los trabajos que aparecen en ella.

5) Control biológico. Existen dos variantes principales de control biológico, el infectivo con microorganismos entomopatógenos (ZABALOU *et al.*, 2004; ROH *et al.*, 2007; BOURTZIS, 2008; BRAVO *et al.*, 2011) y el basado en los enemigos naturales (HUFFAKER *et al.*, 1971; DEBACH & ROSEN, 1991). El control infectivo no ha sido explorado actualmente con *D. kuriphilus*, no existiendo experimentos relevantes con *Bacillus thuringiensis* Berliner, 1915, aunque sí con *Wolbachia* (LÜQUAN & YANPING, 2007). Sin embargo, los experimentos con *Wolbachia* Hertig, 1936 no han sido efectivos, ya que esta bacteria no parece tener relación con la partenogénesis de la especie (ZHU *et al.*, 2007), a diferencia de lo que ocurre con otras especies de insectos (ITURBE-ORMAETXE *et al.*, 2011; NIKOLOULI *et al.*, 2018).

Respecto al control biológico de *D. kuriphilus* mediante enemigo natural, sí que existe una alternativa viable y en uso actualmente para paliar las plagas de esta especie invasora:

INTRODUCCIÓN



el parasitoide *T. sinensis* (Hymenoptera, Chalcidoidea, Torymidae). Este torímido procedente también de China está siendo utilizado en múltiples países del mundo en programas de control biológico contra *D. kuriphilus* (MORIYA *et al.*, 1989; QUACCHIA *et al.*, 2008; BOROWIEC *et al.*, 2014; MATOŠEVIĆ *et al.*, 2015; CARDOSO *et al.*, 2021) así como en España (NIEVES-ALDREY *et al.*, 2019). Sin embargo, estos programas de control con una especie foránea conllevan habitualmente cierta problemática respecto a la conservación de las especies nativas, ya que, al fin y al cabo, se está introduciendo una nueva especie exótica en el medio natural (GIBBS *et al.*, 2011). Estos problemas son: 1) asociación trófica del parasitoide foráneo *T. sinensis* con especies de Cynipidae nativas que no son hospedador objetivo; 2) posible hibridación de *T. sinensis* con especies de *Torymus* nativas; y 3) competencia interespecífica de *T. sinensis* con especies de parasitoides nativas. Si bien, el capítulo final de esta tesis doctoral aborda los dos primeros puntos, ha hecho falta mucho trabajo previo para obtener los conocimientos suficientes y una perspectiva idónea para tratar de responder estos dilemas con un grado de incertidumbre relativo.

Tras este resumen introductorio del marco de la relación tritrófica castaño-*D. kuriphilus*-*T. sinensis* y de la problemática que aborda esta tesis doctoral, en los siguientes apartados de la introducción se detallarán los aspectos más importantes para poder entender en profundidad toda esta problemática y el consiguiente trabajo realizado en los artículos científicos.



2. El castaño

El género *Castanea* tiene una distribución holártica y posee 7 especies (CAMUS, 1929; JOHNSON, 1988; LANG *et al.*, 2007), clasificadas en tres secciones diferentes: *C. sativa*, *C. crenata*, *C. dentata*, *C. seguinii*, *C. mollissima*, pertenecientes a la sección *Eucastanon* y que conforman un linaje Paleártico; *C. pumila*, que incluye la que a veces es considerada como especie, subespecie *ozarkensis* Ashe, perteneciente a la sección *Balanocastanon* y que conforma un linaje Neártico; y *C. henryi*, considerado del linaje *Hypocastanon* y distribuido en el sureste de China (JOHNSON, 1988; DANE *et al.*, 2003). Sin embargo, estas secciones son parafiléticas (MELLANO *et al.*, 2012; Figura 3). Sí que existirían, de todas maneras, linajes naturales ligados inclusive a su distribución geográfica, perteneciendo *C. crenata* a un linaje del archipiélago japonés; *C. seguinii*, *C. mollissima* y *C. henryi* a un linaje del este de Eurasia; y *C. sativa*, *C. crenata* y *C. pumila* a un linaje europeo y norteamericano (LANG *et al.*, 2007; MELLANO *et al.*, 2012).

INTRODUCCIÓN

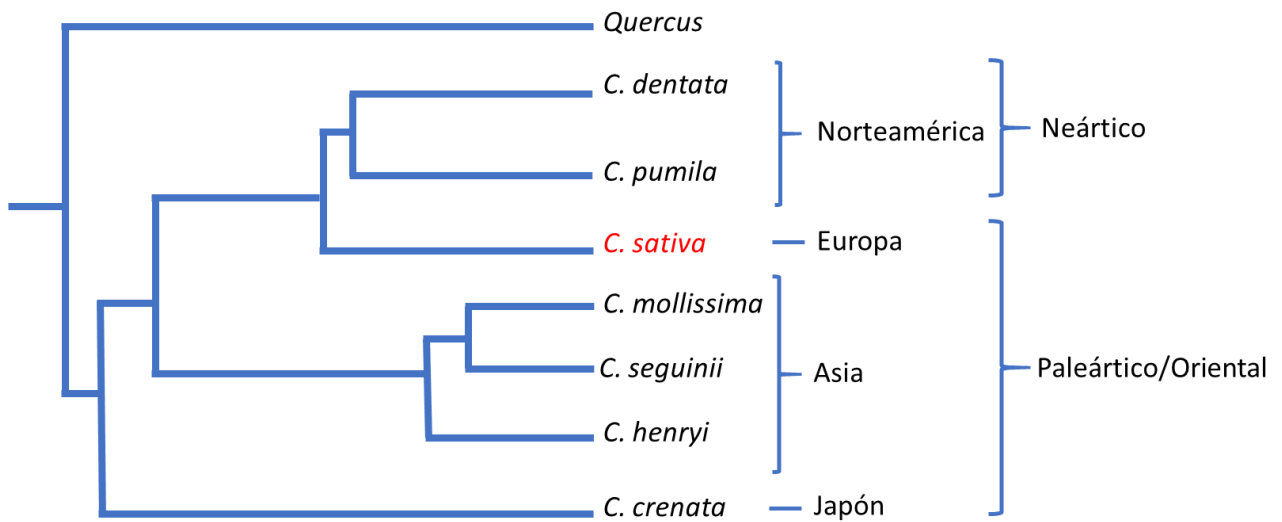
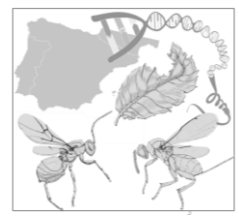


Figura 3. Filogenia de género *Castanea*. En rojo se indica *C. sativa*, el castaño europeo. Se incluye la distribución por áreas geográficas y por región biogeográfica. Modificado de LANG *et al.*, 2007.

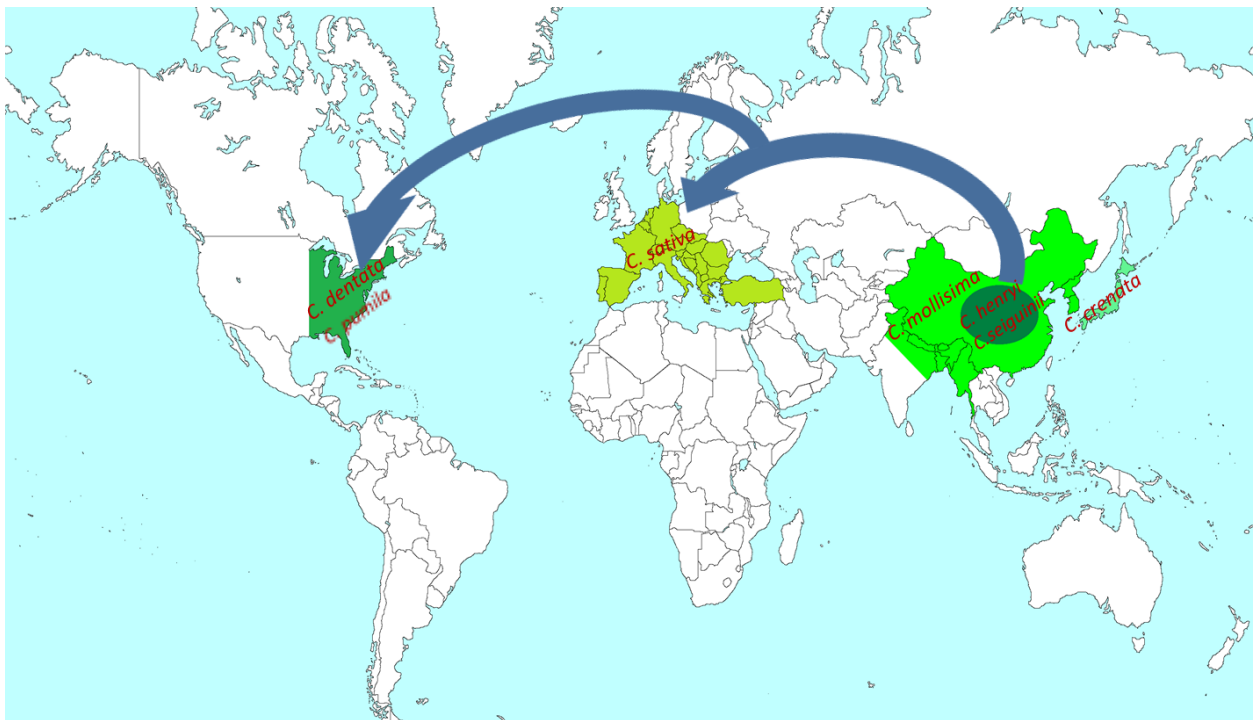
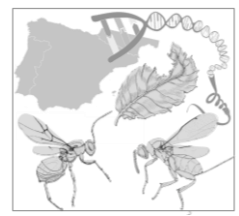


Figura 4. Mapa de distribución mundial de las especies de *Castanea* (en diferentes tonos de verde). Las flechas azules marcan la dispersión del género por el mundo: desde un centro de origen en los bosques del Paleártico Oriental y la región Oriental hacia el Paleártico Occidental y de esta región al Neártico. Modificado de LANG *et al.*, 2007.

INTRODUCCIÓN

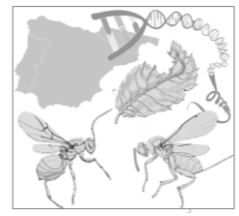


Considerando que el género *Castanea* tiene su centro de origen en el este de Eurasia, concretamente en China (LANG *et al.*, 2007; MELLANO *et al.*, 2012), este género se ha distribuido por el Holártico hacia el Paleártico Occidental y de esta área hacia el Neártico (LANG *et al.*, 2007; Figura 4). Esto indicaría, por ejemplo, que el linaje europeo-norteamericano y el linaje japonés son los más alejados filogenéticamente, o que, también, por ejemplo, que una especie americana como *C. pumila* puede ser muy diferente a una especie asiática como *C. mollissima*. Estos ejemplos pueden ilustrar las razones por las que, tanto *C. pumila* como el híbrido entre *C. sativa* x *C. crenata* (híbrido con poca afinidad filogenética), pueden ser resistentes a *D. kuriphilus*, que ha coexistido en su historia natural con el linaje del este de Eurasia. Por otra parte, entendiendo la filogenia y la historia dispersiva de *Castanea* por el Holártico, no es de extrañar que *D. kuriphilus* pueda ser capaz de generar agallas e infestar a *C. sativa*, pese a que sus historias evolutivas han sido *a priori* independientes por sus distribuciones disyuntas.

El castaño europeo (Figura 5) está distribuido en la península ibérica por las regiones occidentales y atlánticas (predominantemente en Galicia, Asturias, Cantabria, País Vasco, Navarra y provincias de León -El Bierzo- y Zamora), así como en enclaves de Cataluña, Sistema Central y Andalucía (Figura 6), desde prácticamente el nivel del mar pudiendo llegar hasta los 1.500 metros de altitud en Sierra Nevada, ocupando en total unas 111.000 hectáreas (Galicia 70.000 ha; Castilla y León 29.000 ha y Andalucía 9.000 ha) (BECCARO *et al.*, 2019). Vive en áreas con climas húmedos, con precipitaciones generalmente superiores a 600 mm, sobre sustratos silíceos, o calcáreos bien lavados, y bien aireados (RUBIO, 2009). La mayoría de los castaños ibéricos actuales son formaciones procedentes de cultivo, que suelen ocupar el espacio correspondiente a especies de *Quercus* marcescentes y caducos, de hayas y bosques mixtos de frondosas en el noroeste de la península. Los castaños maduros crean un ambiente frondoso y sombrío, parecido al de los hayedos. En el interior de los castaños, llama la atención la acumulación de materia orgánica formada por la hojarasca que cubre el suelo, fundamentalmente debida a la caída de la hoja, amento y fruto del otoño anterior. La flora es común a la de las formaciones forestales sobre las que se implantan, con especies atlánticas en los *soutos* (castaños tradicionales) de Galicia y de la cornisa cantábrica, o con otras de carácter mucho más mediterráneo, en los castaños catalanes, extremeños, castellanos o andaluces (RUBIO, 2009).

La procedencia del castaño en la península ibérica ha sido discutida desde hace años, asignándose esta planta como especie cultivada, naturalizada e importada por el Imperio Romano durante los siglos III y V para su consumo (ZOHARY & HOPF, 1988). Sin embargo, recientes estudios genéticos de polen fósil de castaño indican que ya existían poblaciones nativas de *C. sativa* en el norte y centro de la península ibérica antes de la llegada de los romanos, datadas del Neolítico (ROCES-DÍAZ *et al.*, 2018a, Figura 7). Según el trabajo de ROCES-DÍAZ *et al.* (2018a), las poblaciones del noreste (Cataluña) y sur peninsular sí que son cultivadas y naturalizadas, pero por las zonas del norte y centro, *C. sativa* es un árbol autóctono de la península ibérica.

INTRODUCCIÓN



Castanea sativa tiene una gran importancia económica, cultural y natural en Europa (CONEDERA *et al.*, 2004) y también en España, y por ello está registrada en la Directiva Hábitats 92/43/CEE 9260 como “Bosques de *Castanea sativa*” (RUBIO, 2009), definiendo que, aludiendo a la normativa de la Unión Europea, “en ella quedan probablemente incluidos todos castañares [sic] presentes en España, desde los pies productores de fruto o los recientemente cortados a hecho, con los mayores rasgos de artificialidad, hasta aquellos que muestran las mejores estructuras forestales propias de bosques maduros.” Aparte de albergar una gran cantidad de fauna (por ejemplo, en el interior de los troncos de árboles viejos y ahuecados establecen sus nidos distintas especies de Strigiformes) y crear un microhábitat por su sombra en el interior de los castañares, éstos se han utilizado tradicionalmente para la producción de madera y de fruto en *soutos* o en cultivos de explotación (DÍAZ-VARELA *et al.*, 2018; ROCES-DÍAZ *et al.*, 2018b). También tienen otros usos adicionales, como la producción de miel de castaño (típica del Valle del Genal, Málaga). Desde el punto de vista de la conservación del patrimonio, son de gran importancia al existir ejemplares monumentales (MONUMENTALTREES, 2021) (e. g: Figura 5A). Existe toda una *castañicultura* asociada con *C. sativa* en muchas partes del territorio español, como, por ejemplo, la fiesta del Magosto en la primera quincena de noviembre (relacionada también con otras festividades de culturas celtas como *Halloween*), directamente relacionada con la recogida de la castaña. En muchas zonas desfavorecidas de España, como puede ser el Valle del Genal o en la Sierra del Courel (o Caurel), el castaño supone más que una sola fuente de ingresos, sino que supone una cultura y un modo de vida relacionado con este árbol y su aprovechamiento en alimentación y maderero (BLANCO *et al.*, 1999; PARDO-DE-SANTAYANA *et al.*, 2007; ROCES-DÍAZ *et al.*, 2018b). Es en estas zonas donde la influencia de *D. kuriphilus* como plaga en los castaños tiene una altísima repercusión local a nivel socioeconómico.

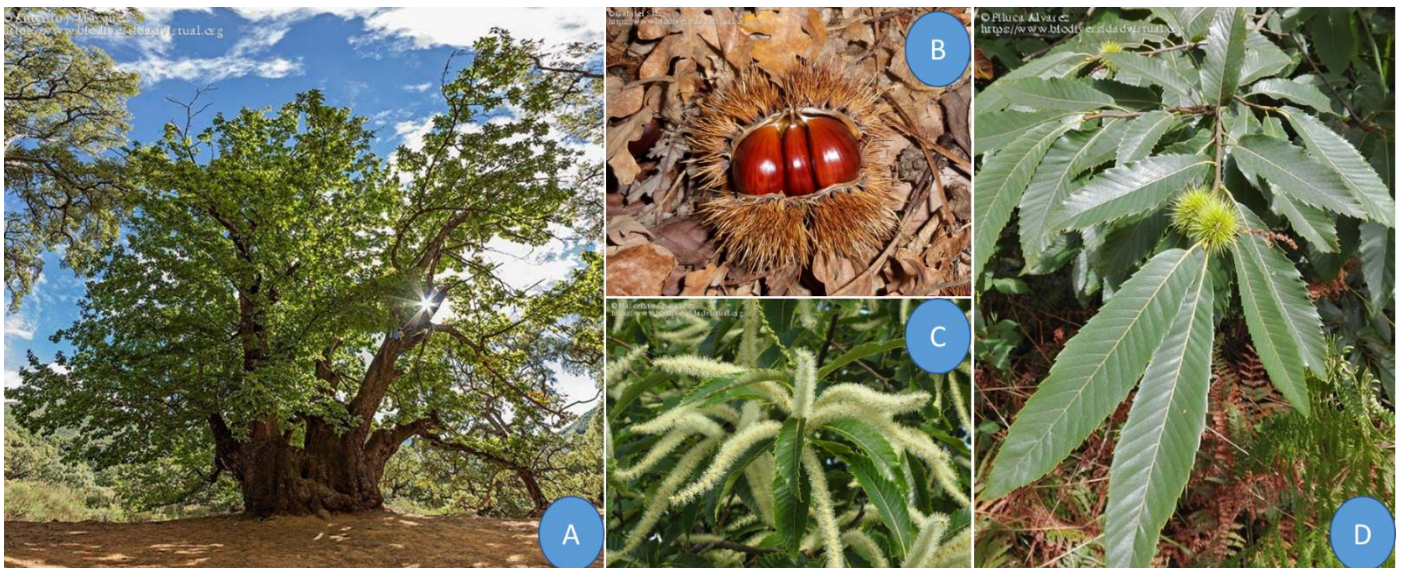


Figura 5. Fotografías de *Castanea sativa*. Castaño monumental Santo de Istán (A). Castañas y erizo (B). Amentos y hojas (C). Hojas y erizos en formación (D). Autores de las fotografías: Antonio J. Márquez (A), Gabriel Saiz (B), Marcelino Fernández (C) y Marián Álvarez (D). Fotografías alojadas en Biodiversidad Virtual (www.biodiversidadvirtual.org).

INTRODUCCIÓN

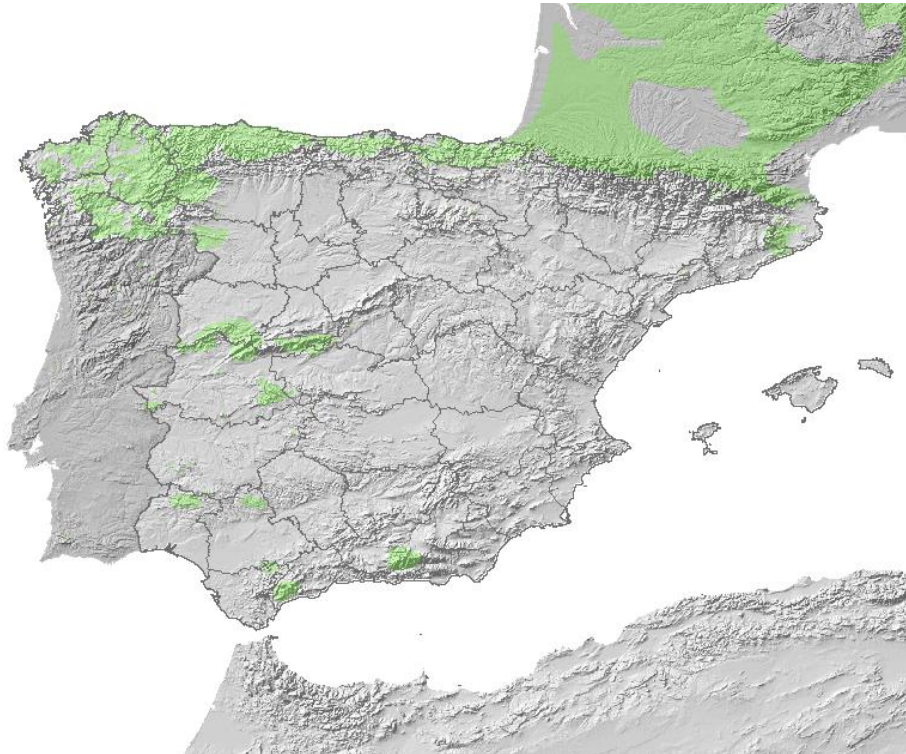


Figura 6. Distribución de *C. sativa* en la península ibérica y sur de Francia (áreas de color verde).



Figura 7. Distribución de *C. sativa* en Europa, indicando las áreas de rango nativo (verde) y las áreas donde se han introducido y naturalizado desde el Neolítico (naranja). Cabe destacar las áreas ibéricas de Galicia, norte de la península y Sistema Central donde *C. sativa* es una especie nativa de este territorio. Modificado de CAUDULLO *et al.*, 2017.

INTRODUCCIÓN



España es el octavo país en producción de castaña de todo el mundo (MEIER, 2019) (Figura 8). China es el primer productor indiscutible de este fruto, ocupando casi un 90% de la producción, aunque su castaña es procedente de los castaños asiáticos (*C. mollissima*, *C. seguinii* y *C. henryi*) y no es la “castaña dulce” típica de *C. sativa*, el castaño europeo. Considerando sólo la producción de castaña dulce, España es el quinto país del mundo y cuarto país europeo con mayor producción de este fruto con 15.623 toneladas/año (MEIER, 2019).

País	Toneladas
China	1.939.719
Turquía	62.904
Corea del Sur	52.764
Italia	52.356
Grecia	36.000
Portugal	29.875
Japón	18.700
España	15.623
Corea del Norte	12.540
Francia	8.400

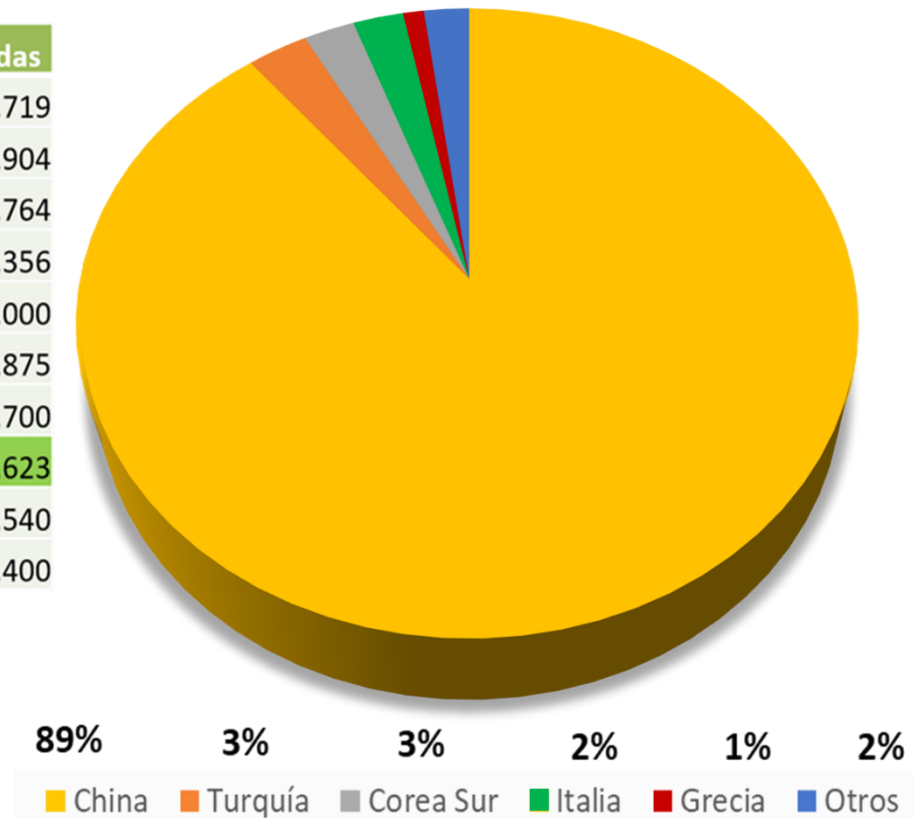


Figura 8. Relación de la producción mundial de castañas (fruto del género *Castanea*). Se incluyen los porcentajes y el número de toneladas anuales de castañas de los principales países productores. Basado en MEIER, 2019

Un valor añadido a los castañares españoles es la cantidad de variedades y cultivares diferentes que existen, muchos de ellos especialmente valorados por su castaña (BECCARO *et al.*, 2019). Por ejemplo, sólo en Galicia existen alrededor de 45 variedades diferentes de castaños, de las cuales 16 están caracterizadas genéticamente y se consideran castañas de buena calidad para el consumo humano, siendo las más importantes Parede y Longal (BECCARO *et al.*, 2019).

Otro aspecto a destacar es la gran diversidad de híbridos e injertos que existen entre las diferentes especies de *Castanea*, debido a la mejora de los castaños para la producción (PEREIRA-LORENZO *et al.*, 2012, 2016). Por ejemplo, en el caso de los montes gallegos, muchos castaños de producción son injertos de pies de planta de *C. crenata* (castaño japonés) con ramas de *C. sativa* para aumentar su resistencia frente a enfermedades. Esta práctica se remonta en Galicia a la década de 1980.

INTRODUCCIÓN



Que existan tantas y distintas variedades, híbridos y también haplotipos y líneas genéticas, comúnmente denominadas “clones”, de “*C. sativa*”, produce que exista todo un abanico de resistencias y susceptibilidades a la inducción de agallas de *D. kuriphilus* y también a patógenos vegetales, y que cada árbol pueda tener unas enfermedades u otras. Esta variabilidad frente a las enfermedades y plagas, junto con la calidad de las castañas demandada y su consiguiente selección, y la conservación de los acervos genéticos y patrimonios locales (producción vs. conservación) constituyen un reto para el futuro en el ámbito del cultivo y gestión de los castaños.

El castaño europeo tiene varias enfermedades asociadas, entre ellas, las más destacadas son la tinta y el chancro. La tinta, producida por el oomiceto *Phytophthora cinnamomi* Rands, genera un ennegrecimiento y posterior pudrición de las raíces absorbentes, confiriendo una coloración negro-azulada a las zonas infectadas. Este oomiceto patógeno invade progresivamente el sistema radicular del castaño hasta que alcanza el cuello de la planta, produciendo finalmente la muerte del árbol (ÁLVAREZ-ÁLVAREZ *et al.*, 2000). El chancro del castaño está causado por el hongo ascomiceto *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr., produciendo “heridas” o chancros sobre el tronco, ramas o renuevos, los cuales provocan un anillamiento que impide la circulación de la savia, dando como resultado la muerte de brotes o ramas por encima de la lesión (ÁLVAREZ-ÁLVAREZ *et al.*, 2000). Este hongo no puede invadir tejidos corticales sanos por sí sólo, pero puede penetrar en el interior del castaño a través de heridas de distinta naturaleza (poda, grietas, cicatrices, etc, como las que pueden propiciar las agallas de *D. kuriphilus*). Existen también otras enfermedades asociadas al castaño como la gnomoniosis, producida por *Gnomoniopsis castanea* Tamietti., un hongo que pudre las castañas (VISENTIN *et al.*, 2012); y la antracnosis, producida por otro hongo, *Mycosphaerella maculiformis* (Persoon) Schroet, que provoca el amarillamiento de las hojas (ÁLVAREZ-ÁLVAREZ *et al.*, 2000). A estas enfermedades de *C. sativa*, se le une en la actualidad la plaga de *D. kuriphilus*, que, además del daño y debilitamiento que efectúa en el castaño, puede facilitar la infección de los organismos anteriores, al producirse las agallas y crear en su interior un microclima más húmedo y con oscuridad, facilitando la proliferación de estos microorganismos (SEDDAUI *et al.*, 2017).



3. Inductores de agallas y familia Cynipidae

Las agallas o cecidias *sensu lato*, pueden ser definidas como la interacción entre un organismo y una planta, que produce una respuesta en la formación de tejidos vegetales o tumores de ésta última. Existen diferentes organismos que las causan, entre otros, hongos, bacterias, nematodos o artrópodos, y al haberse originado en distintos grupos de forma convergente, las agallas *sensu lato* son estructuras análogas (no homólogas) que tienen diferentes funciones y significados evolutivos. También cabe destacar

INTRODUCCIÓN



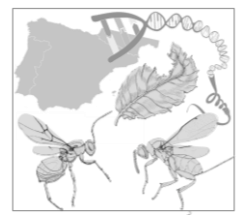
que la inducción de la agalla forma parte del ciclo de vida del organismo, siendo un proceso obligado y no facultativo en el desarrollo del organismo gallícola o cecidógeno. Podemos clasificar como fitocecicias a todas las agallas producidas por virus, bacterias y hongos, y como zoocecicias a aquellas agallas inducidas por rotíferos, nematodos y artrópodos (NIEVES-ALDREY, 1998). Dentro de las zoocecicias, se pueden definir como entomocecicias, a aquellas agallas inducidas por artrópodos, concretamente por quelicerados y por insectos. Al ser estas entomocecicias, las agallas más diversas, las más fácilmente observables y las que más se han estudiado a lo largo de la historia (desde Marcello Malpighi, en el siglo XVII), se pueden denominar agallas *sensu stricto*.

Las entomocecicias o agallas *s.s.* (a partir de ahora, simplemente agallas) se definen como estructuras vegetales que poseen las plantas y que resultan de la modificación de un órgano normal de éstas (como una hoja, un fruto, una rama, etc.) inducidas por una especie de artrópodo, para su protección, alimentación y alojamiento en su estadio larval y pupal (o ninfal), siendo además un fenotipo extendido y parte obligatoria del ciclo vital de ésta (ROHFRIETSCH & SHORTHOUSE, 1992; NIEVES-ALDREY, 2001). Considerando esta definición, lejos queda ya la antigua definición de que las agallas son estructuras de defensa de las plantas frente a un patógeno. Las plantas poseen la capacidad de aislar a modo de granuloma o quiste a un patógeno para defenderse de éste, pero las agallas son diferentes: poseen tejidos alimenticios ricos en nutrientes (con un endospermo con más calidad nutricional que el de los propios frutos) y unas estructuras y morfologías únicas (casi siempre) específicas de una especie inductora concreta. Es decir, la planta no se defiende del artrópodo, sino que el artrópodo, el fitófago especializado gallícola, es capaz de “engañar” a la planta para que genere una estructura concreta para su beneficio propio (NIEVES-ALDREY, 2001). Estos mecanismos, que podrían ser desde la inducción mediante la inoculación de ADN/ARN, hormonas vegetales análogas/homólogas, manipulación de genes hasta el uso de enzimas, son poco conocidos, aunque recientemente se ha empezado a indagar en este proceso (HEARN *et al.*, 2019). Considerando todo esto, se puede definir la inducción de las agallas como un “*biohackeo*” de las plantas por los fitófagos especializados gallícolas artrópodos (MADERSPACHER, 2021). En apoyo de esta tesis se presentan varios argumentos (NIEVES-ALDREY, 1998; STONE *et al.*, 2002):

1) Obtención de mejoras nutricionales. Dentro de las agallas se encuentran altas cantidades de compuestos nutritivos, tejidos homólogos al endospermo de las semillas de la planta, lo que aumenta las disponibilidades de alimento para el fitófago gallícola especializado. Por otro lado, la diferenciación normal de los tejidos de la planta se modifica a consecuencia de la inducción de la agalla. A la vez que se incrementan los nutrientes, se reducen las defensas químicas, en particular disminuyen los componentes fenólicos de la capa de tejido nutritivo. En definitiva, la agalla se convierte en un refugio endofítico a la par que en una rica fuente de alimento.

2) Ventajas a nivel de microhábitat. La agalla proporciona una protección y un aislamiento físico frente a la meteorología exterior. Por ejemplo, frente a temperaturas bajas que producen heladas

INTRODUCCIÓN



en el medio externo, las agallas son una barrera que aísla a la larva del insecto de esas condiciones hostiles, que, de otra manera, no podría sobrevivir a la intemperie. También, las agallas proporcionan una resistencia frente a los repentinos cambios de temperatura y humedad del medio (estrés higrotermal) y en la protección que ofrece a la larva del contacto físico con los elementos atmosféricos: lluvia, hielo, nieve y radiación solar. Otro factor importante referido a las ventajas que proporcionan las agallas a nivel de microhábitat es el de las relaciones de intercambio de agua del gallícola con el medio, que puede ser un efecto limitante en la dieta de estos fitófagos especializados. Para evitar este problema, muchos fitófagos endofíticos viven en minas o enrollamientos de hojas, que suponen refugios que aumentan el aislamiento con el exterior y el contenido de humedad del microambiente, reduciendo las pérdidas de agua del organismo.

3) Mejoras de protección ante parasitoides y patógenos. Las agallas son una estructura defensiva frente a sus enemigos naturales, y muy particularmente, frente a los parasitoides. Las morfologías complejas en las agallas, consideradas dentro de un contexto ecológico, probablemente tienen poca relación con la función nutritiva de las agallas, y, menos aún, con la capacidad defensiva de las plantas frente a estos fitófagos. La función nutricional se encuentra localizada exclusivamente en la capa de tejido más interna que rodea la larva, que representa generalmente una parte muy pequeña del volumen total de la agalla y la agalla es una respuesta específica de la planta inducida por una especie gallícola concreta. La importancia de la morfología de la agalla y la diversidad de los tipos de agallas en cualquier comunidad se puede explicar como un resultado de las fuerzas de presión selectiva ejercidas por el ataque de los parasitoides. A su vez, el parasitoide tiene la presión evolutiva de que su hospedador pueda “huir” de su ataque, al tener defensas muy eficaces contra éstos. Mecanismos como la hipótesis de “la Reina Roja” (VAN VALEN, 1973), una carrera de armamentos (la defensa de la agalla vs. mecanismos asociados a la oviposición de los parasitoides), pueden explicar las morfologías tan complejas y hasta cierto modo “extravagantes” que exhiben, por ejemplo, las agallas de Cynipidae y sus parasitoides (Figura 9). Esto también está relacionado con la hipótesis de “espacio libre de enemigos” (JEFFRIES & LAWTON, 1984), que se define como las formas de vida que reducen o eliminan la vulnerabilidad de una especie frente a una o más especies de enemigos naturales. Muchos aspectos de los nichos de las especies en el tiempo evolutivo han sido aparentemente moldeados por las interacciones con los enemigos naturales para poder llegar a un “espacio libre de enemigos”.

INTRODUCCIÓN

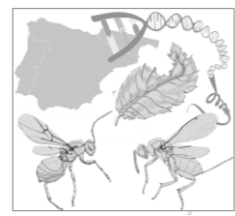


Figura 9. Ejemplo de carrera de armamentos entre gallícolas y parasitoides. Izquierda: Fotografía de agalla de la generación sexual de *Biorhiza pallida* (Olivier, 1791) y de hembras de su parasitoide *Torymus affinis* (Fonscolombe, 1832). La especie *T. affinis* es un parasitoide especialista de *B. pallida*. Nótese el tamaño de la agalla de *B. pallida* en comparación con el tamaño de *T. affinis* y la proporción del ovipositor de *T. affinis* con su propio tamaño. Autora de la fotografía: Mar Mayoral. Derecha: Especimen hembra de *T. affinis*. Autor de la fotografía José Luis Nieves Aldrey.

Las agallas presentan distintas vías encaminadas a incrementar su dureza y su diámetro, cualidades ambas que muestran ser defensas efectivas. El aumento de dureza dificulta la oviposición de los parasitoides, mientras que la existencia de tejidos parenquimatosos esponjosos muy desarrollados ubicados en la parte central de la agalla incrementa considerablemente su diámetro. Estos mecanismos de defensa evitan el ataque por parte de algunas especies, pero otras se han adaptado alargando en el mismo grado sus ovipositores (e. g. Figura 9). Existen otras estrategias de defensa en las agallas, como sustancias pegajosas en su superficie, estructuras filamentosas, cámaras larvarias falsas, prolongaciones y espinas, entre otras, con el cometido de dificultar las oviposiciones de los parasitoides (STONE *et al.*, 2002). Además, algunas especies gallícolas suelen presentar sus agallas en agrupaciones o clústeres, maximizando la supervivencia de una parte de la descendencia, sacrificando otra parte de la agrupación, que será atacada por los parasitoides.

A pesar de todas estas estrategias y mecanismos defensivos de las agallas, en el caso de los cinípidos, pueden presentar altos porcentajes de parasitismo, en parte debido a que no proporcionan protección adecuada durante sus primeros estadios de desarrollo, cuando son más vulnerables. Existe una ventana de vulnerabilidad en el primer estadio de desarrollo de las agallas, cuando éstas son más blandas, con menor diámetro y sin las estructuras de defensa formadas. En este momento, son

INTRODUCCIÓN



exitosos los ataques por parte de parasitoides especialistas, con ciclos vitales sincronizados con los del gallícola.

Otro factor importante es la protección que presenta la agalla frente a hongos y otros patógenos. En agallas de Cynipidae se ha señalado el hecho de que la capa de tejido que se encuentra entre la epidermis y la agalla interna muestra altas concentraciones de taninos. Estos taninos sirven como inhibidores del crecimiento fúngico y microbiano, evitando la proliferación de estos organismos en las condiciones ideales de crecimiento que encontrarían, de otro modo, en el interior húmedo, oscuro y nutritivo de la cavidad larval de la agalla, afectando la viabilidad de las larvas que se desarrollan en el interior.

Al igual que se ha comentado con las agallas *s. l.*, no existe un antepasado común que genere entomocecidias dentro de los artrópodos, sino que esta biología ha aparecido de forma convergente en el árbol filogenético de este grupo (Figura 10). Las agallas aparecen en siete grandes grupos de artrópodos: Acari (Trombidiformes: Eriophyidae), Thysanoptera (Phlaeothripidae), Hemiptera (Heteroptera: Tingidae; Auchenorrhyncha: Cercopidae y Cicadellidae; Sternorrhyncha: Aphididae, Phylloxeroidea (Adelgidae y Phylloxeridae) y Coccoidea (Coccidae, Kermidae, Asterolecaniidae, Diaspididae y Eriococcidae)), Hymenoptera (Tenthredinidae, Agaonidae, Eurytomidae, Pteromalidae, Cynipidae), Coleoptera (Curculionioidea: Apionidae), Lepidoptera (Gelechidae y Tortricidae) y Diptera: (Cecidomyiidae, Tephritidae y Chloropidae). Dentro de los artrópodos inductores de agallas, destaca la familia Cynipidae, por ser el grupo que presenta agallas de mayor complejidad morfológica y ser uno de los mejor estudiados (NIEVES-ALDREY, 1998, 2001).

La familia Cynipidae se encuentra dentro de la superfamilia Cynipoidea, relacionada filogenéticamente con los Platygaстроidea y situada en el grupo parafilético de los “Parasitica” (grupo Apocrita no Aculeata) (Figura 11). A su vez, la superfamilia Cynipoidea contiene cinco familias: Liopteridae, Austrocynipidae, Ibalidae, Figitidae y Cynipidae. Se conocen más de 1400 especies de cinípidos en todo el mundo, distribuidas fundamentalmente en las regiones templadas del hemisferio norte, de las cuales están descritas 278 especies en el Paleártico Occidental y, de las cuales, 140 especies están presentes en la península ibérica (NIEVES-ALDREY, 1998, 2001), representando un 10% del total (y un 50% de todas las especies del Paleártico Occidental o europeas). Los Cynipidae son avispas de pequeño tamaño (Figura 12), que inducen sus agallas en un grupo relativamente reducido de familias de plantas hospedadoras, destacando las *Fagaceae* del género *Quercus*, a las que están ligadas aproximadamente el 70% de todas las especies conocidas (al menos, considerando el Paleártico Occidental). El resto de cinípidos inducen sus agallas en las familias *Asteraceae*, *Rosaceae*, *Lamiaceae*, *Papaveraceae*, *Valerianaceae* y *Aceraceae*. Además, dentro de los Cynipidae, existen especies con una biología diferente a la gallícola, conocidas como especies inquilinas. Se define inquilino (asociado con gallícolas) como un organismo fitófago que cohabita con el inductor de la agalla en el interior de ésta, y sin interacción trófica directa con el cecidógeno.

INTRODUCCIÓN

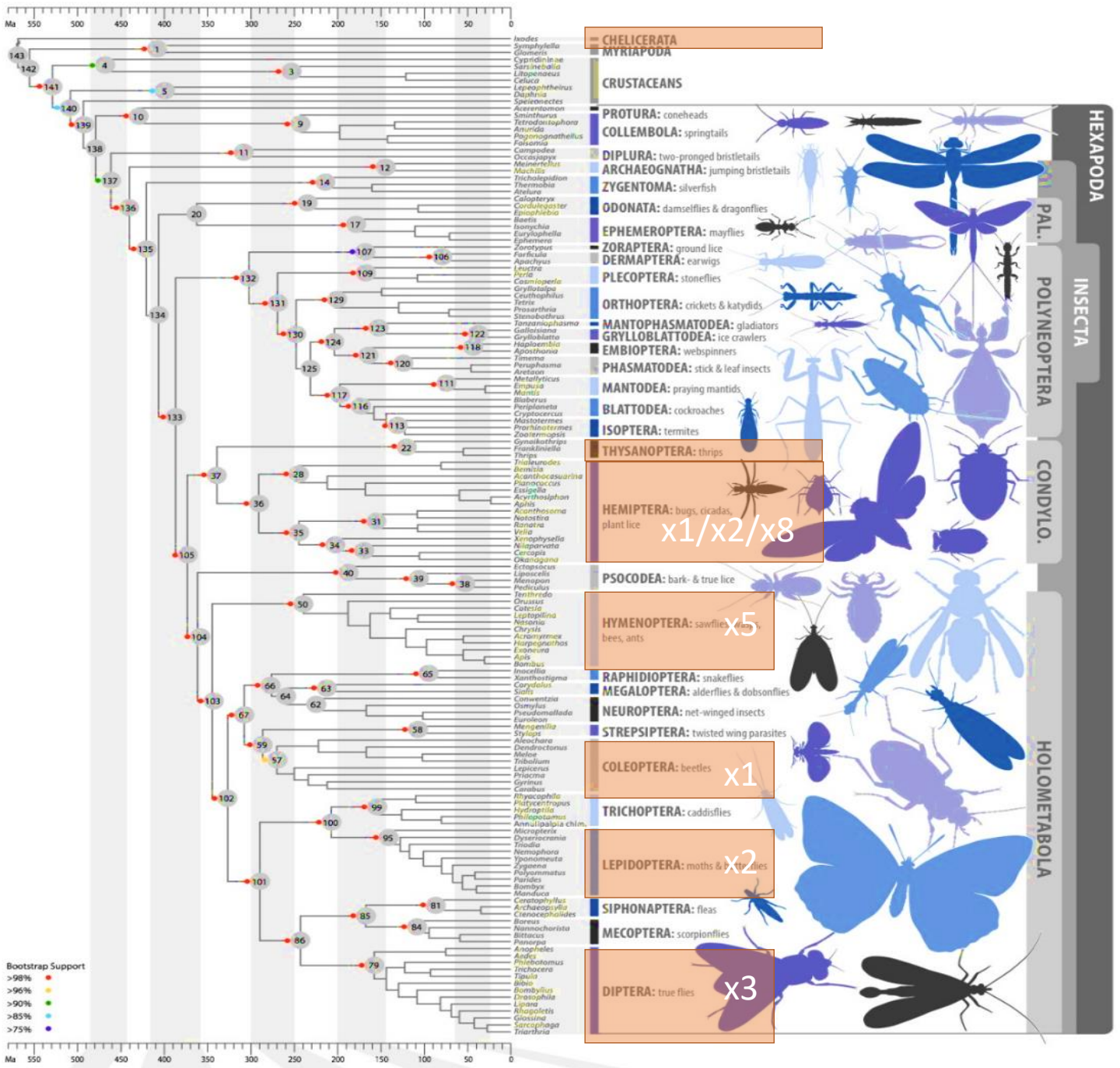
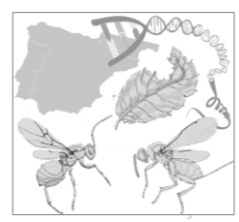


Figura 10. Filogenia de los hexápodos. En el árbol se enmarca con recuadros naranjas los órdenes (o subfilos) en el que están descritas especies que inducen agallas. Se enmarca también el número de familias dentro de cada grupo en el que aparece esta biología. Modificado de MISOF *et al.*, 2014. En el orden Hemiptera los organismos cecidógenos han aparecido una vez en Heteroptera, dos en Auchenorrhyncha y ocho Sternorrhyncha, de forma independiente.

INTRODUCCIÓN

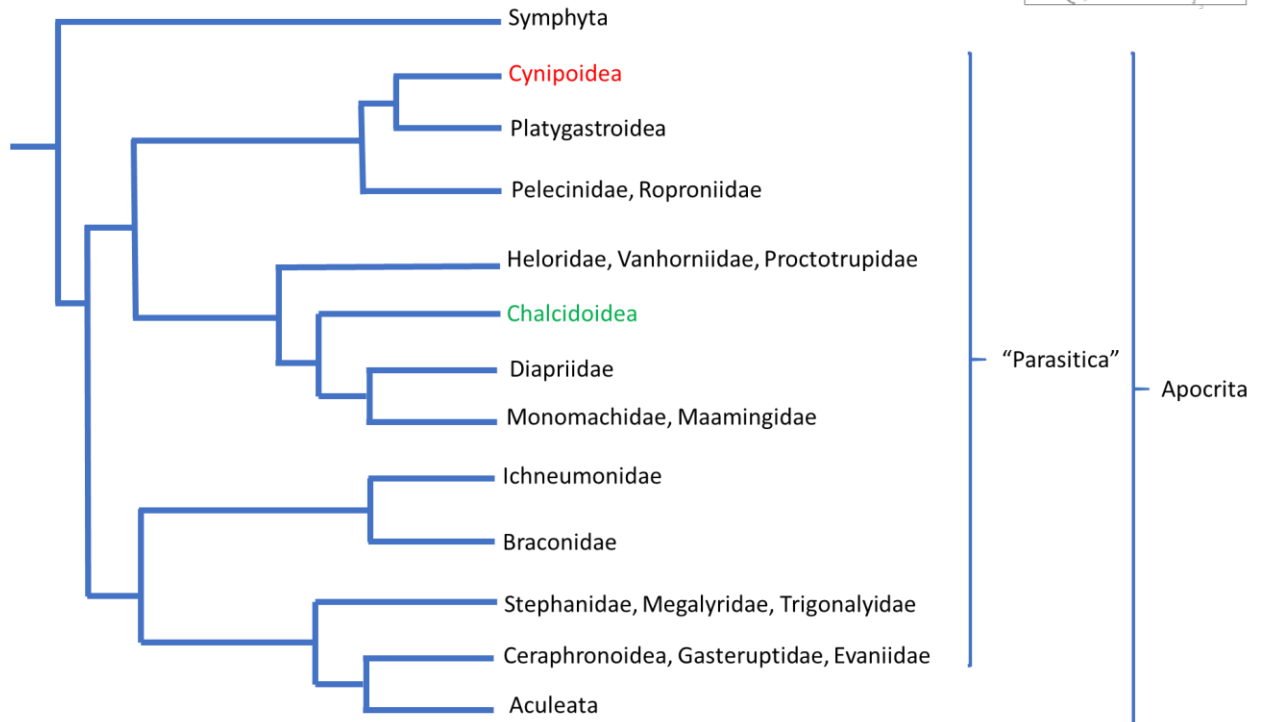


Figura 11. Filogenia de Hymenoptera con especial enfoque en el grupo parafilético “Parasitica” o Apocrita no Aculeata. Se marca en rojo la superfamilia Cynipoidea y en verde la superfamilia Chalcidoidea, los dos grupos relevantes en esta tesis doctoral. Modificado de VARGAS & ZARDOYA, 2012.



Figura 12. Ejemplo de cinípido: Izquierda: *Andricus quercustozae* (Bosc, 1792) emergido de su agalla inducida. Se puede observar el orificio por el que ha emergido. Autor de la fotografía: Jesús Dorda Dorda. Fotografía alojada en Biodiversidad Virtual (www.biodiversidadvirtual.org). Derecha: individuo de la generación sexual de *Biorhiza pallida*.

INTRODUCCIÓN



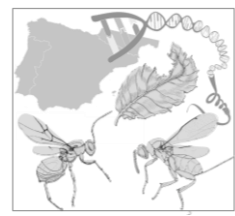
Esto quiere decir que el inquilino se alimenta del tejido de la agalla, pero no de la larva del cinípido inductor. Sin embargo, pese a que el inquilino no posee la capacidad para inducir la agalla, algunas especies sí que pueden modificar la estructura original de la agalla en su propio beneficio. Siguiendo la comparación del “biohackeo”, los inquilinos son “biohackers” de “biohackers”, haciéndoles falta obligatoriamente la inducción primaria de la agalla para poder producir su propia inducción y modificación secundaria del tejido vegetal. Al igual que los gallícolas, la biología de inquilinismo de estos organismos es obligada en su ciclo vital. Además, pese a no haber interacción trófica entre los inquilinos y los gallícolas, los inquilinos pueden modificar tanto la agalla primaria que pueden producir la muerte del cinípido inductor. A estos inquilinos se les denomina inquilinos letales (EVANS, 1965; NIEVES-ALDREY, 1998; 2001).

La familia Cynipidae se subdivide en tribus. Actualmente hay descritas nueve tribus de Cynipidae en el Paleártico Occidental: Aulacideini, Aylacini, Ceroptresini, Cynipini, Diastrophini, Diplolepidini, Pediaspidini, Phanacidini y Synergini (RONQUIST *et al.*, 2015).

Anteriormente, la tribu Aylacini englobaba otras tribus descritas en la actualidad: Aulacideini, Aylacini *s. s.*, Diastrophini y Phanacidini, pero tras el trabajo de RONQUIST *et al.*, (2015), fueron separadas. Estas tribus de cinípidos inducen agallas en plantas herbáceas o arbustos como las zarzas del género *Rubus*. Concretamente, los Aulacideini en *Lamiaceae*, *Asteraceae*, *Valerianaceae* y *Fumarioideae*; los Aylacini en *Papaveraceae* (género *Papaver* L.); los Diastrophini en *Rosaceae*; y Phanacidini en *Asteraceae* (y raramente en *Apiaceae* y *Lamiaceae*). Estas tribus constituyen un 23% del total de las especies de cinípidos ibéricas. Los ciclos de vida son simples y sus agallas son poco complejas, raramente separables de los tejidos de la planta hospedadora, muchas consistentes únicamente en simples cámaras larvales en los tallos de la planta, no produciendo apenas deformación o hipertrofia de éstas, haciéndolas crípticas y difíciles de localizar. Por ello, las especies de estas tribus de Cynipidae son las más desconocidas (ASKEW *et al.*, 2006; NIEVES-ALDREY *et al.*, 2006).

En la tribu Diplolepidini se encuadran cinípidos asociados a plantas del género *Rosa* L. Todas las especies ibéricas de la tribu se agrupan en el género *Diplolepis* Geoffroy, 1762, las cuales inducen agallas en las hojas y tallos de las rosas silvestres. Son conocidas las conspicuas y llamativas agallas multiloculares “pelosas”, llamadas popularmente bedegares, que son producidas por *Diplolepis rosae* (Linnaeus, 1758). También son comunes las globosas y pinchosas de *Diplolepis mayri* (Schlechtendal, 1877) o las más pequeñas, esféricas y uniloculares presentes en las hojas de los rosales inducidas por *Diplolepis eglanteriae* (Hartig, 1840) y por *Diplolepis nervosa* (Curtis, 1838), siendo estas dos últimas indistinguibles *de visu*. Existe una complementariedad de distribuciones entre *D. mayri* y *D. eglanteriae/nervosa* en la península ibérica, teniendo la primera especie una mayor afinidad mediterránea y las dos otras, una mayor afinidad eurosiberiana (SARDÓN-GUTIÉRREZ *et al.*, 2021). El ciclo de vida de *D. rosae* es anómala, teniendo en la península ibérica normalmente una generación anual y la reproducción por partenogénesis

INTRODUCCIÓN



telítoca, y siendo los machos muy raros o desconocidos a diferencia de otras áreas del Paleártico Occidental.

Las especies de la tribu Pediaspidini inducen agallas en árboles del género *Acer* L., habiendo en la península ibérica una única especie descrita hasta la fecha, *Pediaspis aceris* (Gmelin, 1790), asociada a *Acer pseudoplatanus* L., *Acer opalus* Mill. (NIEVES-ALDREY, 2001) y *Acer monspessulanum* L. (observación personal). Las tribus Ceroptresini y Synergini son dos grupos de cinípidos inquilinos, siendo muy común de observar *Synophrus hispanicus* Pujade-Villar, 2009 en las ramas de los alcornoques, un inquilino letal de agallas de las generaciones sexuales o bisexuadas de diferentes especies de *Andricus* (Cynipini), pero con la peculiaridad de poseer una alta capacidad de modificar secundariamente las agallas de su hospedador.

La mayor parte de las especies de cinípidos gallícolas están asociadas con la tribu Cynipini. Todas las representadas en la fauna ibérica (68 especies) están exclusivamente ligadas a especies de *Quercus*, excepto la especie invasora *D. kuriphilus*. La diversidad de las agallas inducidas por estas especies es muy alta, teniendo cada especie una biología casi única, pudiendo ser uniloculares o multiloculares, y con morfologías enormemente variadas (Figura 13), siendo esféricas, ovales, cilíndricas, lenticulares, fusiformes o más o menos pedunculadas. El tamaño de las agallas de Cynipini es también muy variable, desde las que apenas tienen unos milímetros hasta las que superan los 4 centímetros de envergadura. Pueden ser desde blandas y tiernas hasta duras y leñosas; pueden ser simples o complejas, presentando o careciendo de apéndices externos de forma y densidad variables, poseer pilosidad externa o tener la superficie cubierta de secreciones viscosas (ver página 17: *Mejoras de protección ante parasitoides y patógenos*). Algunas agallas de Cynipini son caducas, mientras que otras permanecen en el árbol, incluso una vez que el cinípido inductor ha emergido de su interior y las ha abandonado. Las agallas de Cynipini pueden formarse en diferentes partes de la planta, tanto en las partes aéreas, tallos, hojas, yemas, amentos y glandes como en estolones y raíces.

Los ciclos de vida de los Cynipini son complejos. El ciclo típico de este grupo es de tipo heterogónico, con alternancia obligatoria de dos generaciones: una bisexual compuesta de machos y hembras, y otra unisexual, integrada únicamente por hembras que se reproducen por partenogénesis. Este ciclo biológico complejo de los Cynipini está acompañado por el hecho de que la morfología de los insectos y de las agallas inducidas por las dos generaciones son muy diferentes. Un ejemplo es la especie *Biorhiza pallida* (Olivier, 1791), cuya generación sexual emerge de las agallas pluriloculares producidas en primavera en las partes aéreas de los *Quercus* marcescentes y caducos (ver Figura 9). Las hembras fecundadas efectúan la puesta en las raíces, formándose agallas subterráneas que, al madurar, liberan en pleno invierno hembras partenogénicas ápteras que ovipositan en los tallos aéreos, usualmente en el mismo pie de planta, para dar lugar nuevamente a las agallas de primavera de la generación sexual. Es tal la diferencia morfológica y biológica entre los individuos de las dos generaciones que fueron designadas inicialmente como especies diferentes, hasta que se observó este ciclo completo (ADLER, 1881).

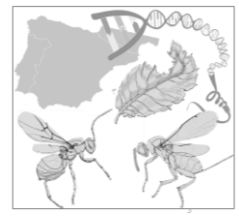
INTRODUCCIÓN



Figura 13. Fotografías de agallas de cinípidos. De izquierda a derecha y de arriba abajo: *Diplolepis rosae*, *Andricus quercustozae*, *Diplolepis eglanteriae/nervosa*, *Neuroterus quercusbaccarum*, *Biorhiza pallida*, *Trigonaspis mendesi*, *Andricus dentimitratus*, *Cynips quercusfolii*, *Diplolepis nervosa*, *Pediaspis aceris*, *Andricus quercusramuli*, *Andricus hispanicus*, *Neuroterus tricolor*, *Cynips divisa*, *Andricus solitarius*, *Diplolepis mayri*, *Andricus grossulariae*, *Plagiotrochus quercusilicis*, *Andricus foecundatrix* y *Neuroterus numismalis*. Autores de las fotografías: Diego Gil Tapetado y José Luis Nieves Aldrey.

Sin embargo, existen ciclos más complejos dentro de los Cynipini, como el ciclo heterogónico con alternancia de especie de *Quercus* hospedador. Estos Cynipini poseen una generación sexual asociada a *Quercus* de la sección *Cerris*, mientras que la generación partenogénica (también llamada asexual) está asociada con *Quercus* de la sección *Quercus*. Por ejemplo, en el caso de *Andricus quercustozae* (Bosc, 1792), en buena parte del Paleártico Occidental, su generación sexual induce agallas en *Quercus cerris* L., mientras que la generación partenogénica lo hace en robles marcescentes y caducos como *Quercus robur*. A diferencia de *B. pallida*, *A. quercustozae* depende de dos recursos diferentes para completar su ciclo, puesto que la primera especie podría incluso completar su ciclo en el mismo pie de planta. En el caso de *A. quercustozae*, pueden existir grandes distancias, a veces de varias decenas o cientos de kilómetros, entre los árboles hospedadores de las dos generaciones, sin embargo, se pueden encontrar agallas en estas áreas, denotando que este grupo posee una gran capacidad de dispersión. También resulta llamativa la

INTRODUCCIÓN



distribución de los Cynipini europeos e ibéricos en cuanto a sus plantas hospedadoras. En el caso de estas especies heterogónicas con alternancia de especie de *Quercus* hospedador, sus generaciones sexuales se dan en *Q. cerris* en Centroeuropa, mientras que en la península ibérica dependen de *Quercus suber* L., ya que la primera especie está ausente en este territorio. El alcornoque, también de la sección *Cerris* de *Quercus* tiene una distribución mediterránea, presente en la península ibérica en su costa atlántica, en el sur de Francia, península itálica y norte de África, presentando una distribución casi complementaria (excepto en la península itálica) con *Q. cerris*. En la península ibérica, también existe una gran distancia en muchas zonas entre alcornoques y robles marcescentes como *Quercus pyrenaica* o *Quercus faginea*, y, aún así, estos ciclos vitales se completan todos los años, quedando por resolver cómo son capaces de realizar estos movimientos dispersivos dos veces al año, con un trayecto de ida y otro de vuelta (de robles a alcornoques y viceversa). Incluso, actualmente, existen dos especies muy similares cuya distinción principal es la selección de hospedador: *Andricus kollari* (Hartig, 1843), asociada con *Q. cerris*, en la zona centroeuropea y *Andricus hispanicus* (Hartig, 1856), asociada a *Q. suber* en la región ibérica. Sin embargo, resulta curioso que esto no se haya descrito con otras especies de cinípidos heterogónicas con alternancia de especie de *Quercus* hospedador, como con *A. quercustozae* o con *Andricus dentimitratus* (Rejto, 1887), pudiendo ser o bien estas últimas especies nuevas para la ciencia o bien que *A. hispanicus* sea sinónimo de *A. kollari* y estas presenten un rango de hospedador mayor del descrito actualmente.

Las generaciones sexuales suelen darse en épocas favorables del año, en primavera cuando se produce la brotación de las hojas y de las flores tempranas, como los amentos de diferentes especies de *Quercus*; mientras que las generaciones partenogénicas están más asociadas a las épocas más desfavorables del año, como el otoño y el invierno, pudiendo estar relacionadas con una “forma de resistencia” contra un ambiente más hostil dentro del año. Existen también muchos cinípidos en los que únicamente se ha descrito una de sus generaciones, o bien la sexual o la asexual (como en el caso de *D. kuriphilus*). Recientemente muchos de estos casos están siendo resueltos por experimentación o más frecuentemente con herramientas moleculares, produciéndose entonces la necesaria sinonimización de una de las dos generaciones, al igual que ocurrió con el caso emblemático de *B. pallida*: una especie cuyas dos generaciones fueron descritas como especies y géneros diferentes. En el caso de *D. kuriphilus*, se desconoce si su modo de reproducción puramente partenogénico se debe a que no ha sido hallada su generación sexual, o si es que, al encontrarse en un medio diferente y al ser una especie foránea, únicamente expresa su forma de resistencia partenogénica. Esto se ha visto por ejemplo en el caso de *Plagiotrochus amenti* Kieffer, 1901, una especie heterogónica asociada al alcornoque del occidente europeo que introducida en California perdió la generación sexual. Otro caso similar es el de *D. rosae*, el cinípido bedegar del rosal, en la que los machos de la especie son muy raros o escasos en el sur de la península ibérica (únicamente un macho hallado en los últimos 50 años) (SARDÓN-GUTIÉRREZ *et al.*, 2021).



INTRODUCCIÓN



4. Género *Dryocosmus*

Dryocosmus kuriphilus pertenece al género *Dryocosmus* Giraud, 1859 (etimología: *dryo-*, del griego: roble o árbol; y *-cosmus*, del griego: profesión encargada de esteticismo, decoración, adorno, maquillaje u ornamento [no de cosmos]; “el que adorna o decora los robles o los árboles”). Se han descrito especies de *Dryocosmus* en las siguientes regiones biogeográficas: Neártico, Paleártico (tanto Occidental como Oriental) y Oriental (o Indomalaya). Sin embargo, cada vez hay más consenso en considerar solo verdaderos *Dryocosmus* a las especies descritas en el Paleártico Occidental en las que Giraud basó su descripción del género (siendo *Dryocosmus cerriphilus* Giraud, 1859, distribuida en Europa Central, la especie nominal de este género) (Figura 14). El género *Dryocosmus* es taxonómicamente complejo, ya que las evidencias filogenéticas disponibles han demostrado que es polifilético (ÁCS *et al.*, 2007; NIEVES-ALDREY *et al.*, 2021). Este género posee pocos caracteres diagnósticos apomórficos que lo definan, únicamente caracteres plesiomórficos que comparte con muchos otros géneros paleárticos, especialmente *Plagiotrochus* Mayr, 1881 (ÁCS *et al.*, 2007; MELIKA *et al.*, 2010, 2011), y también neárticos como el recientemente redefinido *Kokkocynips* Pujade-Villar & Melika, 2013 (NIEVES-ALDREY *et al.*, 2021). Como resultado, se han descrito dentro de este género especies que no encajan bien en otros géneros (Figura 15).

Este género tiene una distribución holártica con 49 especies descritas, 18 especies nativas del Neártico, 7 del Paleártico Occidental y 24 el Paleártico Oriental/Oriental (BURKS, 1979; BUFFINGTON & MORITA, 2009; TANG *et al.*, 2016; PÉNZES *et al.*, 2018) (Tabla 1). Además, como ocurre con diferentes especies de cinípidos, varias especies descritas presentan únicamente una única generación, partenogenética o bisexuada (o asexual y sexual), hecho que indica que probablemente algunas de las especies de *Dryocosmus* podrían representar una de las dos generaciones de una especie (PUJADE-VILLAR, 1985). Por ello, los ciclos vitales de estas especies deben completarse experimentalmente, o bien realizarse análisis filogenéticos para conocer el número exacto de especies que presenta el género *Dryocosmus*. Como ejemplo de la complejidad taxonómica (y nomenclatural) del género *Dryocosmus*, la especie *Dryocosmus confusus* Méhes, 1953 es un *nomen nudum* debido a que fue descrita sobre la morfología de sus agallas (según el Código Internacional de Nomenclatura Zoológica, Art. 1b y Art. 72c, esta especie no sería válida debido a que aquellas especies descritas sobre la base de las agallas después de 1930 no lo serían) (PUJADE-VILLAR, 1985; ICZN, 1999).

INTRODUCCIÓN

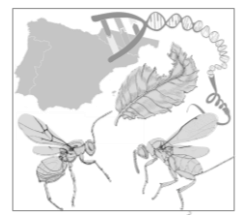


Figura 14. Agallas de *Dryocosmus cerriphilus* sobre *Quercus cerris*. Fuente: <https://bladmineerders.nl/parasites/animalia/arthropoda/insecta/hymenoptera/apocrita/cynipidae/dryocosmus/dryocosmus-cerriphilus/>

La especie *Dryocosmus mayri* Müllner, 1901 fue transferida al género *Chilaspis* Mayr, 1881 sobre la base de un análisis morfológico (PUJADE-VILLAR *et al.*, 2003); sin embargo, ÁCS *et al.*, (2007) indican que la aplicación de estos caracteres en la discriminación genérica no es válida, por lo que volvieron a incluir a *D. mayri* como parte del género *Dryocosmus*, revalidando la combinación original. Recientemente, se publicó el trabajo de TANG *et al.* (2016), en el que se describieron un total de 12 especies de *Dryocosmus* entre el Paleártico Oriental y la región Oriental, duplicando el número de especies conocidas de este género en esta área.

El género *Dryocosmus* posee diferentes plantas hospedadoras de *Fagaceae*, entre ellas *Castanea*, *Quercus* y *Castanopsis* (D. Don) Spach (TANG *et al.*, 2016) (Figura 16). Si bien aún quedan muchas relaciones cinípido-hospedador sin resolver en *Dryocosmus*, se han establecido varias de ellas, como *D. cerriphilus* con *Q. cerris* (NIEVES-ALDREY, 2001) o *D. kuriphilus* y *D. zhuili* con *Castanea*. Las especies de *Dryocosmus* del Paleártico Oriental tienen relación con especies de *Quercus* subgénero *Cyclobalanopsis*, *Castanea* y *Castanopsis* (TANG *et al.*, 2016).

INTRODUCCIÓN

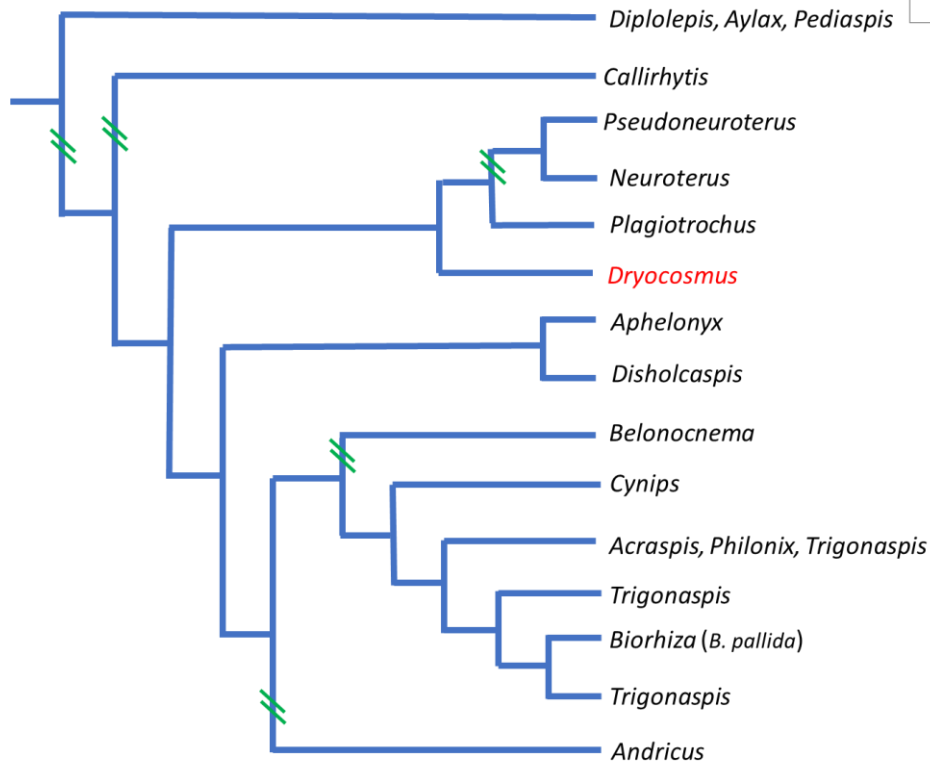
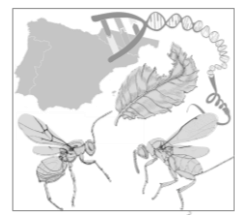


Figura 15. Filogenia de géneros de Cynipidae. En rojo se indica el género *Dryocosmus*. Modificado de LILJEBLAD *et al.*, 2008. Las dobles líneas verdes indican ediciones de la filogenia para una mejor comprensión de las relaciones.

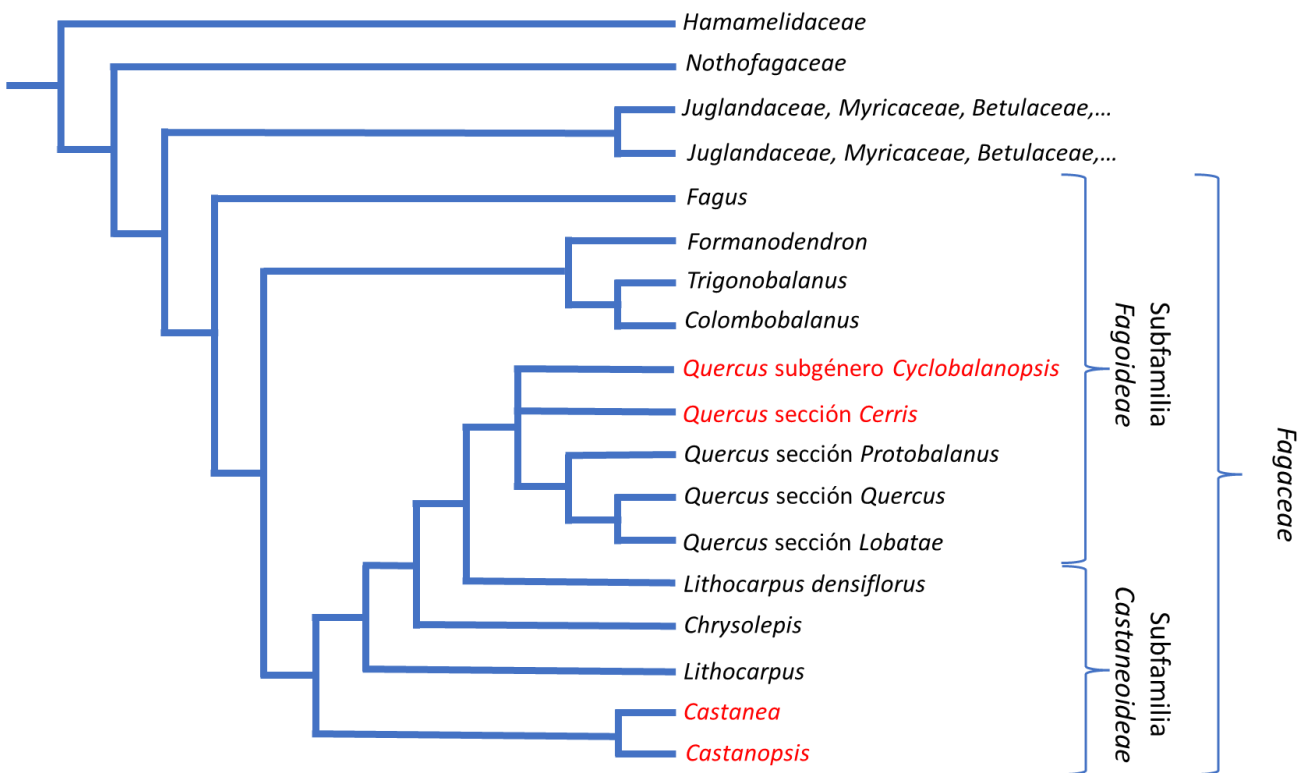


Figura 16. Filogenia de géneros de Fagaceae y secciones de *Quercus*. En rojo se indican los géneros, subgéneros o secciones relacionadas con el género *Dryocosmus*. Modificado de MANOS & STEELE, 1997; MANOS *et al.*, 2001; LILJEBLAD *et al.*, 2008.

INTRODUCCIÓN



Tabla 1. Especies descritas del género *Dryocosmus* Giraud, 1859 clasificadas por su región o subregión biogeográfica nativa.

Paleártico Oriental/Oriental	Paleártico Occidental	Neártico
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus pentagonalis</i> Melika & Tang, 2011 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus destefanii</i> Cerasa & Melika, 2018 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus demartinii</i> Melika, Nicholls & Stone, 2018
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus triangularis</i> Melika & Tang, 2011 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus cerriphilus</i> Giraud, 1859 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus juliae</i> Melika, Nicholls & Stone, 2018
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus carlesiae</i> Tang & Melika, 2011 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus jungalii</i> Melika & Stone, 2010 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus rileypokei</i> Morita & Buffington
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus testisimilis</i> Tang & Melika, 2011 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus tavakolii</i> Melika, Stone & Azizkhani, 2006 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus castanopsidis</i> (Beutenmueller, 1917)
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus liui</i> Pang, Su & Zhu, 2018 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus caspiensis</i> Melika, Sadeghi, Atkinson, Stone & Barimani, 2006 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus asymmetricus</i> (Kinsey, 1922)
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus zhuili</i> Liu & Zhu, 2015 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus mikoi</i> Tavakoli, Stone & Azizkhani, 2006 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus dubiosus</i> (Fullaway, 1911)
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus kuriphilus</i> Yasumatsu, 1951 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus nervosus</i> (Giraud, 1859) 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus coxii</i> (Bassett, 1881)
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus kunugiphagus</i> Ide & Abe, 2015 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus mayri</i> Müllner, 1901 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus quercuspalustris</i> (Osten Sacken, 1861)
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus sakureiensis</i> Ide, Wachi & Abe, 2013 		<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus quercusnotha</i> (Osten Sacken, 1870)
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus sefuriensis</i> Ide, Wachi & Abe, 2013 		<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus floridensis</i> (Beutenmüller, 1917)
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus nanlingensis</i> Abe, Ide, & Odagiri, 2014 		<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus favus</i> Beutenmueller, 1911
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus okajimai</i> Abe, Ide, Konishi & Ueno, 2014 		<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus rileyi</i> (Ashmead, 1896)
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus crinitus</i> Schwéger & Tang, 2016 		<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus imbricariae</i> (Ashmead, 1896)
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus hualieni</i> Schwéger & Tang, 2016 		<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus deciduus</i> (Beutenmüller, 1913)
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus konradi</i> Tang & Melika, 2016 		<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus minusculus</i> Weld, 1952
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus liyingi</i> Melika & Tang, 2016 		<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus albidus</i> Weld, 1944
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus moriuis</i> Tang & Melika, 2016 		<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dryocosmus attractans</i> (Kinsey, 1922)

INTRODUCCIÓN



Tabla 1. (continuación). Especies descritas del género *Dryocosmus* Giraud, 1859 clasificadas por su región o subregión biogeográfica nativa.

Paleártico Oriental/Oriental

Paleártico Occidental

Neártico

- *Dryocosmus salicinai*

Schwéger & Tang, 2016

- *Dryocosmus taitungensis*

Tang & Melika, 2016

- *Dryocosmus cannoni*

Schwéger & Tang, 2016

- *Dryocosmus caputgrusi*

Tang & Schwéger, 2016

- *Dryocosmus harrisonae*

Melika & Tang, 2016

- *Dryocosmus hearni*

Melika & Tang, 2016

- *Dryocosmus quadripetiolus*

Schwéger & Tang, 2016

- *Dryocosmus cinereae*

(Ashmead, 1887)



5. *Dryocosmus kuriphilus*

La descripción morfológica de la especie *D. kuriphilus* (etimología: *kuri-*, del japonés: castaña; y *-philus*, del griego: que le gusta o tiene afinidad por algo; “al que le gusta la castaña”) en cada uno de sus estadios vitales es la siguiente (modificado de CABI, 2015 y de YASUMATSU, 1951):

- Huevos: Son depositados por las hembras en las yemas de los castaños entre junio y septiembre, dependiendo de la latitud o de la temperatura media anual (latitud menor o temperaturas más altas, hacia junio; latitud mayor o temperaturas más bajas, hacia septiembre). Los huevos son ovales, de color blanco lechoso, de 0,1-0,2 mm de largo.
- Larva: Posee la morfología típica de Cynipidae, de color blanco lechoso, sin ojos y ápada. Mide 2,5 mm de largo cuando está completamente desarrollada.



INTRODUCCIÓN



- Pupa: Mide 2,5 mm de largo, al igual que la larva. El color varía de blanco a marrón oscuro y a negro, dependiendo del grado de maduración del individuo (i.e. coloraciones más oscuras, mayor grado de madurez).
- Adulto: La hembra adulta de *D. kuriphilus* tiene una longitud promedio de 2,5-3 mm, con la coloración del cuerpo negra; patas, escapo y pedicelos de antenas, ápice de clípeo y mandíbulas de color marrón amarillento; la cabeza está finamente esculpida; *scutum*, mesopleuron y gáster están altamente pulidos, lisos; propodeo con tres carenas longitudinales distintas; propodeo y pronoto fuertemente esculpidos; *scutum* con dos surcos (notaulos) bien marcados y completos, que convergen en la parte posterior del mesoescudo; celda radial de ala anterior abierta; antenas de 14 segmentos, con segmentos apicales no expandidos en una maza (Figura 17 y ver Figura 1).

La hembra adulta tiene semejanza con la avispa de las agallas de roble turco, *D. cerriphilus*, ambas del mismo género, conocida por inducir agallas en *Q. cerris*, árbol introducido y poco abundante en la península ibérica. La especie *D. cerriphilus* tiene el vértex de la cabeza con grandes marcas de color rojo amarillento, las antenas poseen 15 segmentos, el propodeo sin la carena longitudinal media, mientras que en *D. kuriphilus* el vértex de la cabeza es negro, las antenas segmentadas en 14 artejos y el propodeo con la carena longitudinal mediana distinta. La especie *D. cerriphilus* no está presente en la península ibérica, siendo las especies europeas del género *Plagiotrochus* las más parecidas morfológica y filogenéticamente a *D. kuriphilus*. Ambos géneros, *Dryocosmus* y *Plagiotrochus*, se diferencian porque el primero posee un mesoescudo y mesopleuras lisas e induce agallas en *Q. cerris* o en especies del género *Castanea*, mientras que el segundo posee un mesoescudo y mesopleuras, al menos en parte, con escultura coriácea, alutácea o transversalmente estriada e induce agallas en especies perennifolias de *Quercus* (alcornoques, encinas y coscojas): *Q. suber*, *Quercus ilex* L. y *Quercus coccifera* L.

Las agallas inducidas por *D. kuriphilus* son estructuras en forma de elipsoide irregular, sin defensas externas como otras agallas de cinípidos; de apariencia blanda y nada lignificada durante el desarrollo del individuo inductor; uniloculares o multiloculares, que pueden alojar desde uno a múltiples individuos en su interior; de 5-20 mm de diámetro; de color verde o rojo, según la incidencia solar (debido a la acumulación de taninos); conteniendo a menudo porciones de hojas, tallos y estípulas en desarrollo. Se desarrollan mayoritariamente en ramillos jóvenes, en estípulas de las hojas o en el nervio central de las hojas. Este hecho implica que los tres tipos de agallas más habituales son de brote, de hoja y de estípula. En ocasiones se pueden observar también agallas en los amentos y en la flor femenina, o en yemas durmientes. Después de la emergencia del adulto y del paso del tiempo, la agalla se seca y se lignifica, pudiendo permanecer unida al árbol (habitualmente en agallas de brote) o bien caer con las hojas en otoño (habitualmente en las agallas de hoja y estípula) (Figura 18).

INTRODUCCIÓN

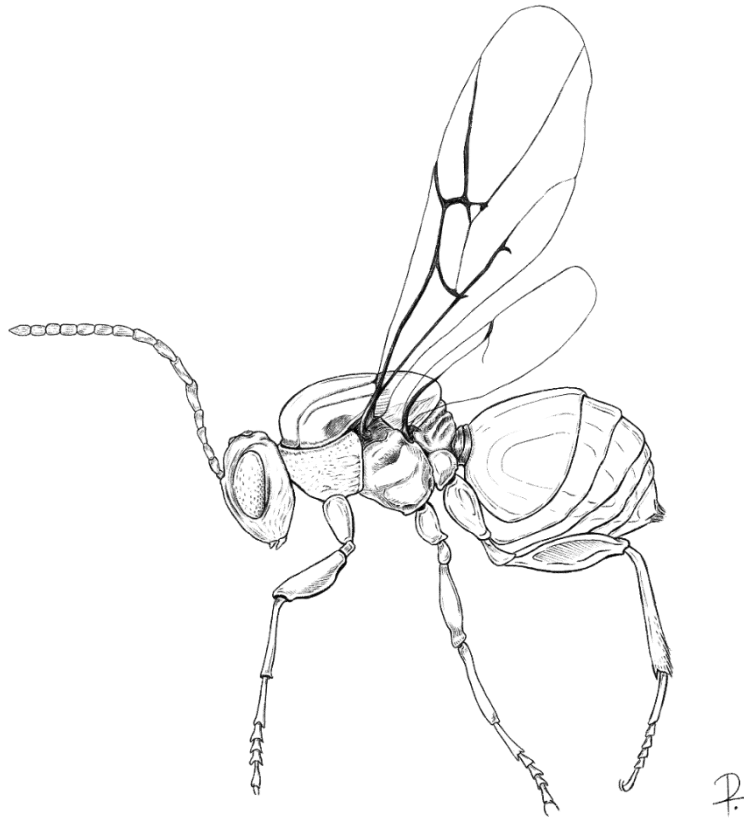


Figura 17. *Habitus* de *Dryocosmus kuriphilus*. Autora de la ilustración: Patricia Durán Montes.

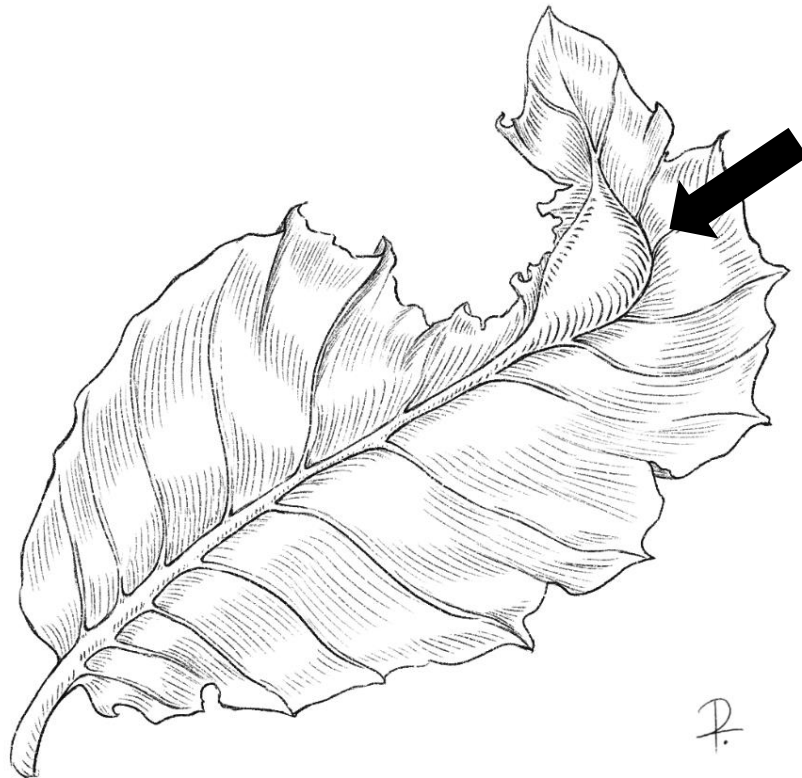
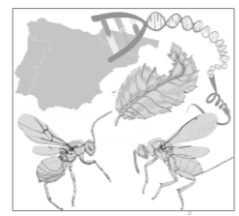


Figura 18. *Habitus* de una agalla de hoja de *Dryocosmus kuriphilus*, del tipo más simple que se encuentran en abundancias e infestaciones bajas de la especie. La flecha indica la agalla en la nervadura central. Autora de la ilustración: Patricia Durán Montes.

INTRODUCCIÓN



En los territorios invadidos por *D. kuriphilus*, al no poseer especies antagonistas o reguladoras (depredadores ni, eminentemente, parasitoides), la abundancia de individuos y las densidades de población de esta especie invasora son altas. Además, como se dijo anteriormente, no había en Europa ni Norteamérica ninguna otra especie de cinípido que indujera agallas en *Castanea*, por lo que tampoco existían posibles competidores por el recurso (NIEVES-ALDREY, 2001; ASKEW *et al.*, 2013), ni una fauna de parasitoides asociada, ni siquiera de fauna secundaria asociada a las agallas, en castaños. Estos hechos han facilitado que *D. kuriphilus* constituya una plaga severa en los castaños de las áreas invadidas, al inducir de forma masiva agallas sobre las yemas foliares y florales de estos árboles sin ningún tipo de regulación poblacional efectiva. Esto ha provocado que en los primeros años de colonización (3-4 años) se produzca un pico de superpoblación de *D. kuriphilus* (GIL-TAPETADO *et al.*, 2021a), afectando de forma severa a la productividad de los árboles infestados.

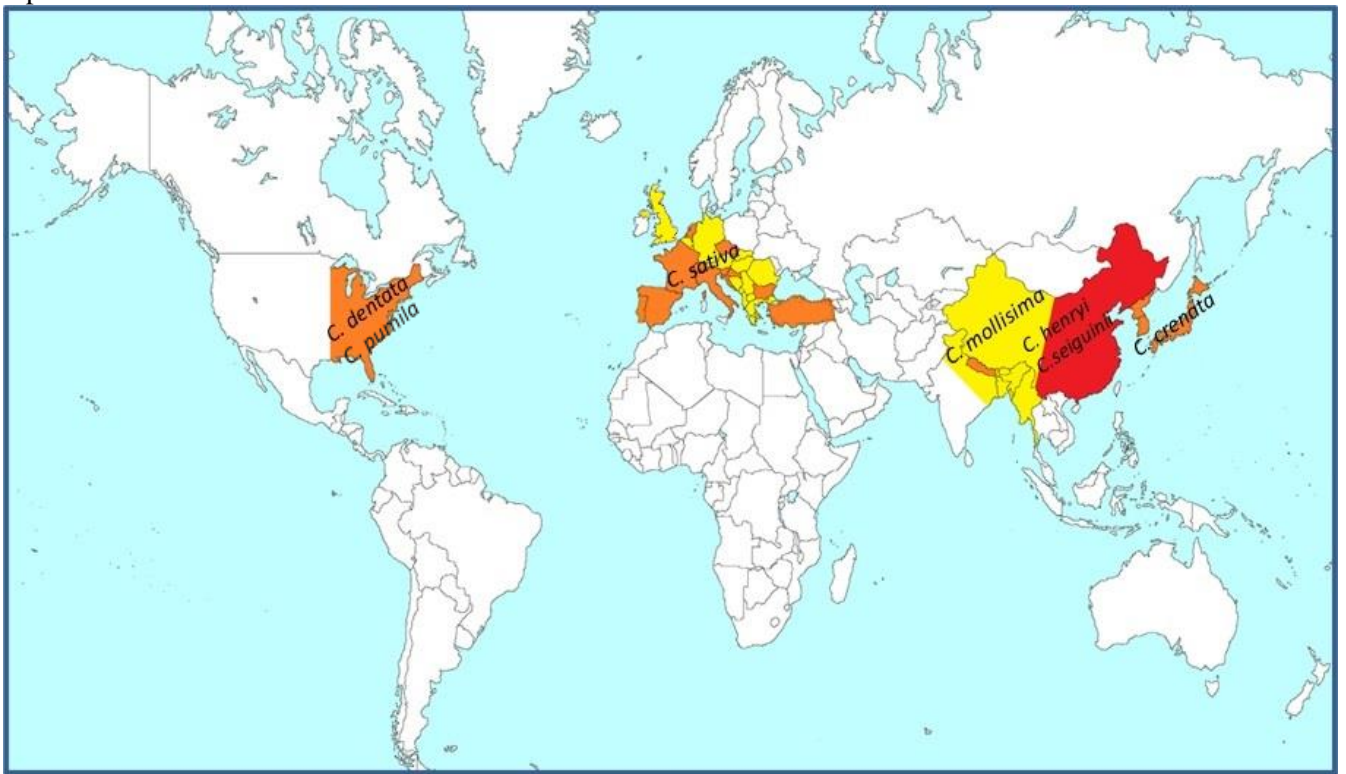


Figura 19. Mapa de distribución mundial por países de *Dryocosmus kuriphilus*. El área roja indica el área nativa de la especie, las áreas naranjas indican zonas donde la especie está presente de forma confirmada y está considerada como especie plaga e invasora, y las áreas amarillas indican zonas donde la especie se encuentra presente de forma dudosa o muy localizada. Se incluyen las especies principales de *Castanea* de cada área mundial.

La distribución del rango nativo de *D. kuriphilus* es la zona este de China, donde se encuentra el foco de radiación del género *Castanea* (LANG *et al.*, 2007). Sin embargo, debido a la exportación de material vegetal, *D. kuriphilus* se ha expandido por casi todos los bosques de castaño del mundo (excepto por los de *C. pumila*), especialmente aquellos que tienen explotación por su fruto o que han sido transformados en áreas de cultivo del castaño (QUACCHIA *et al.*, 2008; BERNARDO *et al.*, 2013; GILIOLI *et al.*, 2013) (Figura 19).

INTRODUCCIÓN



Al ser la agalla de *D. kuriphilus* una estructura vegetal conspicua, fácilmente reconocible y de interés económico, su invasión en diferentes partes del mundo está bien documentada. El primer país en detectar *D. kuriphilus* como especie invasora fue Japón en el año 1941, seguido de Corea en 1958 y en la década de 1970 en Nepal. Todos estos países asiáticos son cercanos o adyacentes a China, sin embargo, en 1974 se detectó la presencia de *D. kuriphilus* en Estados Unidos de América. El primer país con presencia de *D. kuriphilus* de Europa fue Italia en 2002, seguido de Francia en 2005. Por último, en la península ibérica, *D. kuriphilus* fue detectada en España en 2012 y en Portugal en 2014. El primer registro de *D. kuriphilus* en España fue en Cataluña, en las zonas de La Garrotxa y el Montseny (DOGC, 2012; PUJADE-VILLAR *et al.*, 2013), extendiéndose por Galicia (PÉREZ-OTERO & MANSILLA, 2014) y otras provincias de la cordillera Cantábrica, además de Málaga y Córdoba (Andalucía), y Sistema Central (GIL-TAPETADO *et al.*, 2020a). También se encuentran dos focos de presencia en Madrid en el Real Jardín Botánico de Madrid y en el Real Jardín Botánico Alfonso XIII, con una incierta historia de colonización de las dos zonas (GIL-TAPETADO & NIEVES-ALDREY, 2018). Los registros de transporte de los últimos castaños de ambos jardines se remontan a antes de los años 2000, pero son provenientes de Ávila y Galicia, donde tampoco estaba registrada la presencia de *D. kuriphilus* en este periodo. Una hipótesis acerca de la colonización de estas zonas es que se haya debido a eventos azarosos donde una hembra de *D. kuriphilus* llegó por transporte pasivo humano independiente del movimiento de castaño, ya que una única hembra puede ser responsable de la creación de un foco de infestación, poniendo en valor la gran capacidad de asentamiento de este cinípido invasor. Otra alternativa es que *D. kuriphilus* se encontrara en Galicia y en el Sistema Central mucho antes de su detección en 2014 y 2020, pero esto resulta menos creíble debido a la monitorización que tienen los castaños por sus implicaciones económicas.

Las pérdidas económicas producidas por esta especie en el sector de los castaños pueden ser muy severas, debido a la bajada de la producción del fruto por la infestación generalizada de agallas por todo el árbol (KATO & HIJII 1997; UGOLINI *et al.* 2014; SARTOR *et al.*, 2015; GEHRING *et al.*, 2018), su debilitamiento y raramente la muerte de éste (PAYNE *et al.*, 1975). Si bien, la letalidad de esta plaga en árboles maduros es baja y no es comparable con la de enfermedades como la tinta y el chancro, la plaga en los primeros estadios de invasión sí que reduce drásticamente la producción de castaña y, por lo tanto, produce cuantiosas pérdidas económicas a los productores de fruto. Actualmente se desconoce cuánto afecta real y negativamente la presencia de *D. kuriphilus* a la producción de la castaña, ya que las pérdidas en este sector también son debidas a otros factores, como la ejercida por enfermedades como la tinta y el chancro, y la meteorología anual. Un año con malas condiciones meteorológicas puede afectar muy negativamente la producción de castaña, no pudiendo separar los diferentes factores en porcentajes de pérdida debidos a una u otra causa. Por ejemplo, en 2019 en Galicia hubo unas pérdidas estimadas del 25% de producción de castañas (CAMPOGALEGO, 2019) y en 2020 del 40% (LAVOZDEGALICIA, 2020a), pero sin diferenciar los factores causantes de dichas pérdidas y, por tanto, sin poder estimar cuánto se debe a la presencia de avisquilla, ni cuánto a la sequía presente en esos años.

INTRODUCCIÓN



De todas maneras, es indiscutible el papel negativo de esta especie como plaga de castaños, pero su incidencia real y directa no está cuantificada en estos cultivos forestales.

Las poblaciones de *D. kuriphilus* se ven afectadas negativamente en menor medida por diferentes especies de parasitoides nativos relacionadas con las especies autóctonas de cinípidos, que inducen sus agallas en *Quercus* (Cynipini). Estas especies de parasitoides nativos son, en su mayor parte, de la superfamilia Chalcidoidea (Hymenoptera). Sin embargo, la regulación de las poblaciones por parte de estas especies es pequeña, ya que las proporciones de parasitoides nativos vs. agallas disponibles es muy alta. Más adelante, en esta introducción, se comentará esta asociación en detalle (ver página 45: *Torymus sinensis*). Aprovechando la biología parasitoide, y bajo el prisma del control biológico, se está empleando en diferentes partes del mundo a la especie *T. sinensis* para combatir esta plaga (MORIYA *et al.*, 1989; QUACCHIA *et al.*, 2008; BOROWIEC *et al.*, 2014; MATOŠEVIĆ *et al.*, 2015; NIEVES-ALDREY *et al.*, 2019; CARDOSO *et al.*, 2021). Sin embargo, y como ya se ha comentado, el uso de este control biológico tiene sus limitaciones y plantea incertidumbres que se refieren a su posible impacto en el medio natural (GIBBS *et al.*, 2011; NIEVES-ALDREY & GIL-TAPETADO, 2019).

Por último, cabe destacar el papel que tiene *D. kuriphilus* como especie fundadora de una comunidad biológica *de novo*, reclutando además de parasitoides nativos (ver siguiente apartado), una enorme cantidad de entomofauna que usan las agallas viejas y lignificadas, ya vacías, como refugio, creándose nuevas estructuras colonizables y aprovechables por esta fauna secundaria, así como nuevas asociaciones entre los artrópodos (y otros organismos) y los castaños. En los muestreos de esta tesis doctoral, con motivo de estudiar la fauna secundaria de las agallas de *D. kuriphilus*, se ha encontrado y descrito incluso una especie nueva para la ciencia que, al menos de momento, únicamente se conoce como fauna secundaria de la avispa del castaño en la Sierra de las Nieves (Málaga): *Parochthiphila carinata* Carles-Tolrá, 2019 (Diptera: Chamaemyiidae) (CARLES-TOLRÁ *et al.*, 2019, incluido en los anexos de esta tesis)



6. Parasitoides y Superfamilia Chalcidoidea

Un organismo parasitoide puede ser definido como aquel que parasita a un hospedador durante una parte de su ciclo vital, normalmente el larvario y que finalmente acaba matándolo o reduciendo su viabilidad, consumiéndolo como recurso (ASKEW, 1971; GODFRAY, 1994). Al igual que con los gallícolas, la biología parasitoide ha aparecido de forma convergente en diferentes grupos de artrópodos como Diptera, Neuroptera, Coleoptera, Strepsiptera, Lepidoptera, Trichoptera e Hymenoptera. Dentro de los

INTRODUCCIÓN

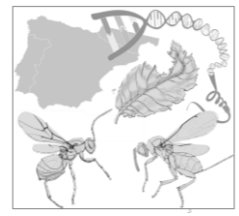


Hymenoptera es donde la biología parasitoide ha sido más exitosa, encontrándose en la mayor parte de las especies, desde los Orussoidea en los Symhpyta, a todo el grupo parafilético de los “Parasitica”, e incluso dentro de los Aculeata, en Chrysidoidea y Vespoidea (ver Figura 11) (GODFRAY, 1994; QUICKE, 1997). Como ya se comentó, pese a que el grupo “Parasitica” no representa ningún grupo natural (monofilético) y es simplemente un sinónimo de Apocrita no Aculeata, representa un grupo funcional que comprende la mayor parte de los organismos parasitoides dentro de Hymenoptera. El grupo “Parasitica” podría ser el grupo animal más diverso del planeta, incluso más numeroso que Coleoptera (FORBES *et al.*, 2018). Esto se debe a su déficit de conocimiento linneano tan elevado, ya que su modo de vida (por lo general críptico en la mayor parte de su ciclo vital), y el pequeño tamaño de estos organismos (algunos de ellos del tamaño de protozoos, (e. g: *Megaphragma mymaripenne* Timberlake, 1924, Hymenoptera: Trichogrammatidae, POLILOV, 2012, 2017), dificultan su detección y descripción. Junto con los distintos déficits de conocimiento de estos himenópteros, destaca también el déficit de conocimiento eltoniano, es decir, la función o rol que tienen en el medio. En estos organismos parasitoides, tan asociados con sus especies hospedadoras, esta información es de gran importancia, ya que el conocer qué organismos parasitan tiene una relación directa con el grado de conocimiento que se tiene de la especie (mayor éxito al muestrearla, mejor capacidad de observación, creación de protocolos para su estudio, etc.). Como ejemplo de esto, la descripción de una nueva especie de Chalcidoidea para la ciencia (*Mesopolobus delafuentei* Nieves-Aldrey & Askew, 2020 (Hymenoptera: Pteromalidae)) se pudo realizar al estudiar una especie gallícola en concreto, su hospedador, *Andricus crispator* Tschek, 1871, que induce agallas únicamente en los renuevos de *Q. suber* (NIEVES-ALDREY *et al.*, 2020, incluido en los anexos de esta tesis doctoral).

Dentro del grupo parafilético de los “Parasitica” destacan dos grandes superfamilias parasitoides: Ichneumonoidea, que contiene a las familias Ichneumonidae y Braconidae, y Chalcidoidea. La superfamilia Ichneumonoidea es una de las más diversas del mundo (considerando el gran déficit linneano mencionado anteriormente), con aproximadamente 100.000 especies. Esta superfamilia es conocida por algunas de sus parasitoides de relativo gran tamaño, con unos oviposidores también de gran tamaño en proporción con el resto del insecto y un alto grado de especialización en hospedadores concretos, sirviendo muchas de estas especies como control biológico (TOWNES, 1958, 1997), e. g: *Cotesia flavipes* Cameron, 1891 (Braconidae) con plagas de *Chilo partellus* (Swinhoe, 1885) (Crambidae) en África (OVERHOLT *et al.*, 1997).

La superfamilia Chalcidoidea está compuesta por 20 familias: Agaonidae, Aphelinidae, Chalcididae, Encyrtidae, Eucharitidae, Eulophidae, Eupelmidae, Eurytomidae, Leucospidae, Megastigmidae, Mymaridae, Ormyridae, Perilampidae, Pteromalidae, Rotoitidae, Signiphoridae, Tanaostigmatidae, Tetracampidae, Torymidae y Trichogrammatidae, conteniendo alrededor de 22.000 especies descritas (NOYES, 2019). Al igual que con los Ichneumonoidea, se estima que únicamente se conoce entre un tercio y un cuarto de las especies realmente existentes (HERATY *et al.*, 2013). Estos himenópteros de pequeño tamaño son el grupo por excelencia dentro del grupo funcional conocido como microhimenópteros, especies de Hymenoptera de pequeño tamaño en su mayor

INTRODUCCIÓN



parte parasitoides. Los Chalcidoidea (ver Figura 9; Figura 20) son conocidos por su diversificación y por la gran cantidad de hospedadores asociados, teniendo casi cualquier grupo de hexápodos un parasitoide de este grupo asociado. Sin embargo, dentro de los Chalcidoidea, también está presente uno de los grupos polinizadores más singulares de los insectos, los Agaonidae o avispa de los higos, que están especializados en inducir agallas en el interior de las inflorescencias internas de los *Ficus* L. (VAN NOORT & COMPTON, 1996), coevolucionando hacia una polinización entomófila obligada y especializada (RAMÍREZ, 1974). Además, también existen Chalcidoidea fitófagos e, incluso, gallícolas. La filogenia de los Chalcidoidea es muy compleja y con muchas modificaciones en los últimos años, siendo poco estable, mostrando que varias familias, como Pteromalidae, son polifiléticas (MUNRO *et al.*, 2011), o han tenido que ser separadas, como Torymidae y Megastigmidae (JANŠTA *et al.*, 2018), tras su revisión.

Entre otros parasitoides, están descritos Chalcidoidea que parasitan ootecas de Mantodea, huevos de Thysanoptera, larvas de Myrmeleontidae, Coccidae o agallas, como las de Cynipidae. Todas estas especies presentan un rango de hospedador, es decir, un número de especies o grupos de especies que parasitan, pudiendo ser este rango ancho o estrecho, siendo especies generalistas o especialistas, incluso hasta ser monófagas. Existen 7 familias de Chalcidoidea asociadas con Cynipidae: Eulophidae, Eupelmidae, Eurytomidae, Megastigmidae, Ormyridae, Pteromalidae y Torymidae (ASKEW *et al.*, 2006, 2013). Las especies de estas familias introducen su ovipositor en el interior de las agallas, hacia la cámara larvaria, depositando un huevo en el exterior o interior de la larva del cinípido (ectoparasitoides o endoparasitoides). Una vez eclosiona el huevo del parasitoide, su larva se adhiere (en el caso de los ectoparasitoides) o empiezan a consumir desde dentro (en el caso de los endoparasitoides) la larva hospedadora del cinípido, matándola finalmente y desarrollándose el adulto de Chalcidoidea (GODFRAY, 1994; STONE *et al.*, 2002). A causa de la adaptación de los parasitoides a la oviposición en el interior de las agallas, superando las defensas de sus hospedadores (como se comentó en el apartado “*Mejoras de protección ante parasitoides y patógenos*”, página 17), existe una carrera de armamentos entre estos organismos (ver Figura 9). Dentro de estos parasitoides, existe toda una gama de biología diferentes y únicas, como los huevos poliembriónicos (de un único huevo se originan diferentes organismos), la fitofagia secundaria (después de consumir la larva del cinípido, la larva del calcídido se alimenta del tejido nutritivo de la agalla), o el hiperparasitismo (parasitoides que parasitan otros parasitoides), que pueden crear redes tróficas muy complejas y muy diferentes de las habituales de depredador-presa (ASKEW, 1971) (Figura 21).

INTRODUCCIÓN

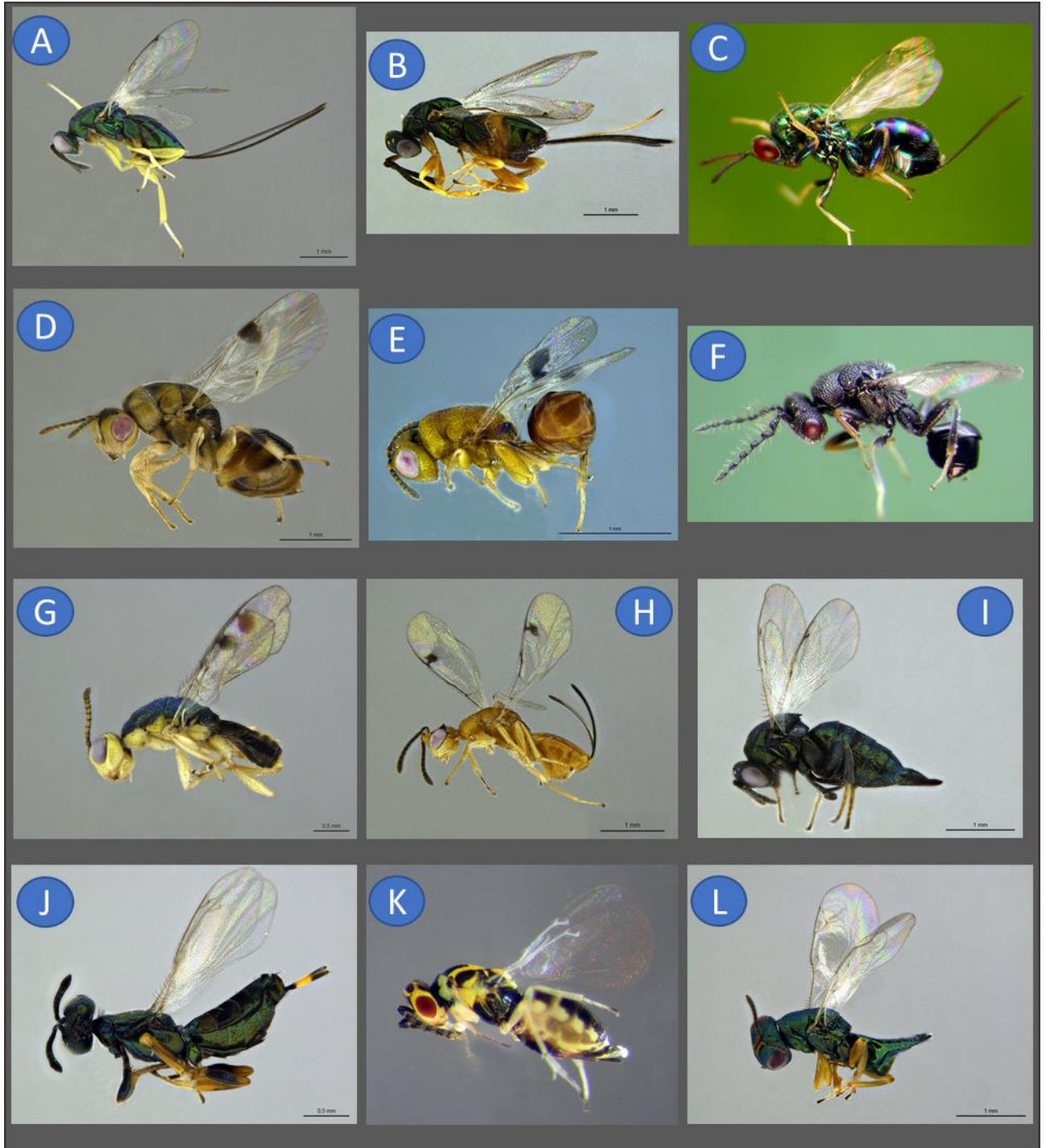
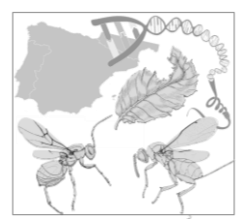
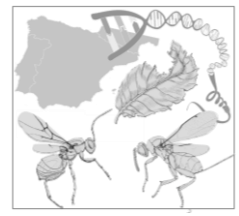


Figura 20: Ejemplos de especies de Chalcidoidea: A) *Torymus auratus* (Müller, 1764); B) *Torymus geranii* (Walker, 1833); C) *Torymus cyaneus* Walker, 1847 (ejemplar de la península ibérica) (Torymidae); D) *Sycophila variegata* (Curtis, 1831); E) *Sycophila flavicollis* (Walker, 1834); F) *Eurytoma brunniventris* Ratzeburg, 1852 (Eurytomidae); G) *Bootanomyia dorsalis* (Fabricius, 1798) ; forma verde metálica; H) *B. dorsalis* (forma pálida) (Megastigmidae); I) *Ormyrus pomaceus* (Geoffroy, 1785) (Ormyridae); J) *Eupelmus urozonus* Dalman, 1820 (Eupelmidae); K) *Aprostocetus* Westwood, 1833 sp.: (Eulophidae) L) *Mesopolobus tibialis* (Westwood, 1833) (Pteromalidae). Autor de las fotografías: José Luis Nieves Aldrey.

INTRODUCCIÓN

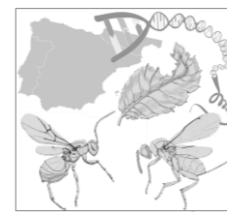


Dentro de estas redes tróficas, existen especies que pueden tener más importancia que otras (especies dominantes vs especies accesorias), circunstancia que implica una regulación poblacional. Estas especies que regulan de forma efectiva las poblaciones de otra son muchas veces especialistas, con ciclos vitales adaptados a su hospedador, siendo consideradas como sus enemigos naturales (DEBACH & ROSEN, 1991; HAJEK & EILENBERG, 2018). Por una parte, en la relación *top-down*, cuantos más parasitoides haya en la red trófica, más cinípidos serán consumidos y su población será regulada. Por otra parte, también existe la relación *bottom-up* (POWER, 1992), el número de parasitoides depende del recurso, en este caso, cuantas menos agallas haya, menos parasitoides habrá (ROININEN *et al.*, 1996; STILING & ROSSI, 1997). A esta relación bidireccional entre parasitoides y hospedadores se denomina densodependencia (MAY *et al.*, 1981; WALDE & MURDOCH, 1988). Por esta razón, los parasitoides son empleados como control biológico en programas de control de artrópodos, liberándose como enemigos naturales densodependientes del hospedador plaga para la reducción de sus poblaciones (pero nunca para su erradicación) (MAY *et al.*, 1981).

La regulación de las poblaciones de insectos fitófagos por parte de sus antagonistas y, predominantemente, de sus parasitoides asociados (especialmente de sus enemigos naturales), es vital para mantener un equilibrio de sus poblaciones y que no se produzcan superpoblaciones o plagas. En el caso de *D. kuriphilus*, al invadir áreas donde no existían parasitoides para reducir sus poblaciones de forma eficaz, se produjo una superpoblación de esta especie invasora en muchas áreas al encontrarse, casi literalmente, en un espacio libre de enemigos naturales. Este escenario encaja perfectamente con la hipótesis de la “liberación de enemigos” (*‘Enemy Release Hypothesis’*, KEANE & CRAWLEY, 2002), que predice que una especie tendrá éxito en una nueva área de distribución cuando sus enemigos naturales no estén presentes. Esta hipótesis se ha aplicado ampliamente a las especies invasoras, como las plagas de plantas o animales en nuevos hábitats (COLAUTTI *et al.*, 2004), aunque no existen muchos ejemplos relacionados con insectos (MLYNAREK, 2015). Este espacio libre de enemigos naturales que disminuyan las poblaciones de *D. kuriphilus* junto con su alta capacidad reproductiva y dispersiva ha propiciado que se haya constituido como una plaga especialmente “virulenta” por los territorios que ha invadido.

También cabe destacar un aspecto más biológico, separado de las repercusiones económicas de la plaga de *D. kuriphilus*: la colonización de esta especie invasora en los castaños europeos ha sido el detonante de la creación de una comunidad biológica *de novo*. Como se referenció anteriormente, no existían Cynipini ni otras especies inductoras de agallas asociadas a *Castanea* en el Paleártico Occidental, por lo que las especies parasitoides nativas no sentían ningún tipo de atracción por estos árboles antes de la invasión. Haciendo una analogía con la teoría de “biogeografía de islas” (MACARTHUR & WILSON, 2001; LOMOLINO *et al.*, 2016) (Figura 22A), la entrada de *D. kuriphilus* en los bosques europeos, ha supuesto la formación de islas dentro de los continentes (Figura 22B): como los castaños normalmente se encuentran entre los robles, formando masas boscosas mixtas, para las especies de parasitoides los *Castanea*

INTRODUCCIÓN



antes de la entrada de *D. kuriphilus*, eran árboles sin interés, simples distancias a superar para llegar a los *Quercus* donde se encontraban sus recursos históricamente explotados, las agallas de Cynipini de robles (Figura 22C). Sin embargo, al entrar *D. kuriphilus* y existir nuevos recursos potencialmente consumibles, los castaños ya no son simples obstáculos, sino nuevos portadores de recursos de agallas de Cynipini (Figura 22D). Como estas nuevas islas colonizables por los parasitoides se encuentran dentro del continente, se esperaría una rápida colonización por parte de estas especies, hecho que así ha sido. Incluso en el mismo año de entrada de *D. kuriphilus* en los castaños, los parasitoides ya son capaces de utilizarlas como recurso. De hecho, la entrada de parasitoides nativos a las agallas de *D. kuriphilus* ha sido tan grande que sin haber transcurrido 10 años desde su entrada en la península ibérica, ya es una de las comunidades de parasitoides asociadas a Cynipini más diversa de este territorio con 34 especies de Chalcidoidea y una de Synergini inquilino (GIL-TAPETADO *et al.*, 2021b), con un total de 63 en todo el Paleártico Occidental (LORU *et al.*, 2021). Sin embargo, la entrada de estas especies de parasitoides nativas no ha sido suficiente como para poder regular las poblaciones de *D. kuriphilus*, que siguen siendo plagas importantes en los castaños, hecho que ha propiciado que las administraciones hayan iniciado programas de control biológico aprovechando que se conoce a un enemigo natural de este cinípido invasor en sus áreas nativas: *Torymus sinensis* (MORIYA *et al.*, 1989).

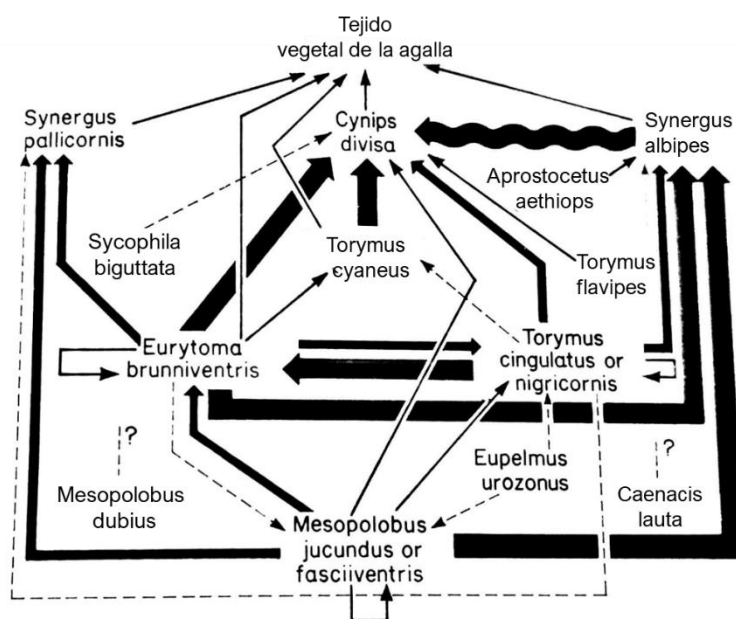


Figura 21: Ejemplo de red trófica compleja de Chalcidoidea y Cynipidae: comunidad biológica de *Cynips divisa* Hartig, 1840. Las flechas señalan la fuente de alimento de cada especie y el grosor indica la frecuencia de la relación. La flecha sinuosa de *Synergus albipes* Hartig, 1841 indica que es un inquilino letal. Modificado de ASKEW, 1971.

INTRODUCCIÓN

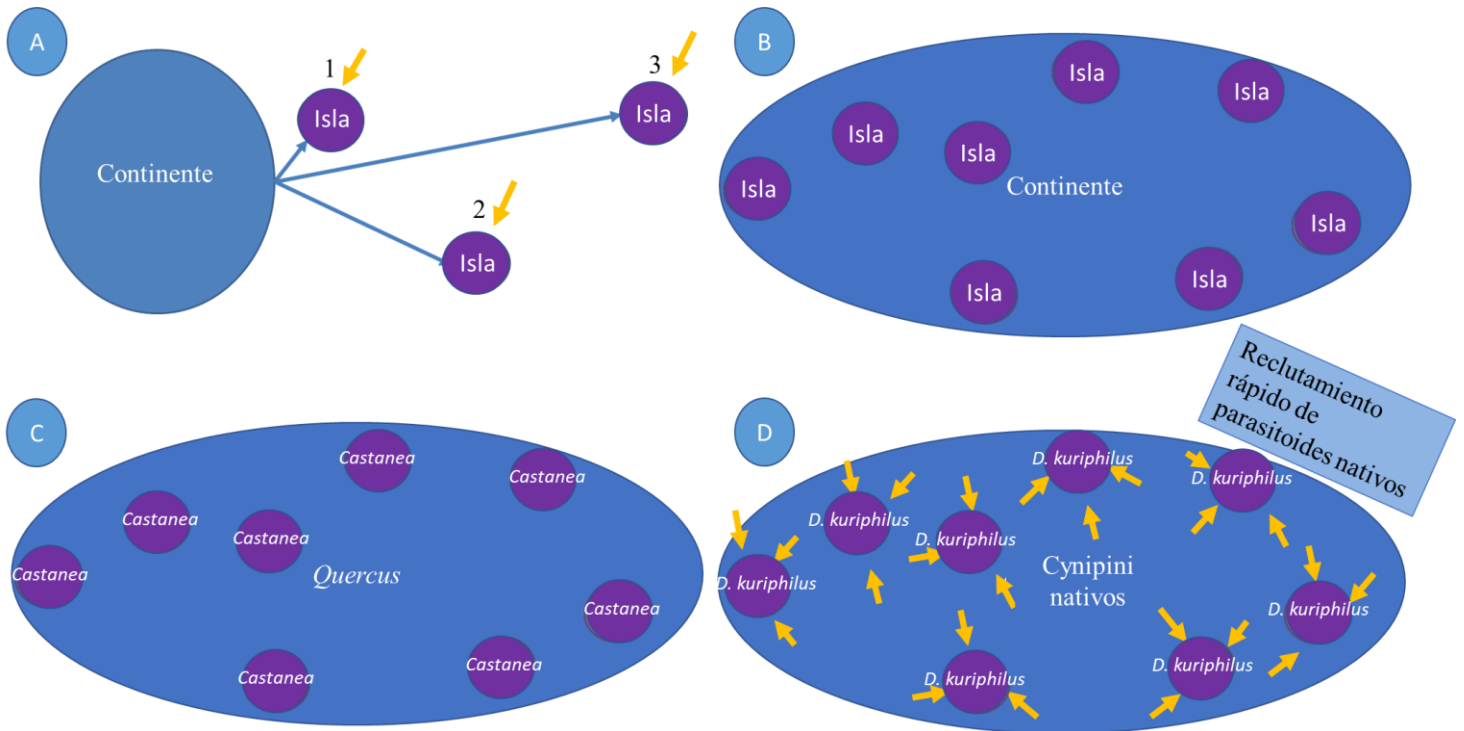
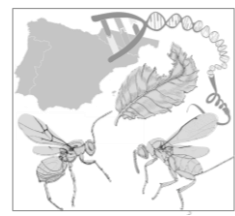


Figura 22: Esquema de la teoría de “biogeografía de islas” de MACARTHUR & WILSON (2001) (A). Las flechas amarillas representan la colonización. Esquema de la hipótesis de formación/surgimiento de islas dentro de los continentes (B). Esquema de la disposición de un bosque mixto de *Quercus* y *Castanea*, actuando los primeros como continente y los segundos como islas para los parasitoides (C). Esquema de un bosque mixto con presencia de Cynipini nativos y *D. kuriphilus* como ejemplo de hipótesis de formación/surgimiento de islas dentro de los continentes y el reclutamiento rápido de parasitoides/colonización de las islas (D).



7. Familia Torymidae y género *Torymus*

Dentro de la superfamilia Chalcidoidea se encuentra la familia Torymidae, compuesta por 68 géneros y alrededor de 800 especies descritas (NOYES, 2019). Esta familia se caracteriza por una coloración verde metálica típica, con largas venas marginales y una vena estigmal corta en las alas anteriores y un ovipositor relativamente largo en las hembras. De forma clásica, esta familia se separaba en dos subfamilias: Toryminae, con especies parasitoides con la coloración metálica típica de Torymidae y Megastigminae (GRISSELL, 1995), de coloración más mate y predominantemente fitófagos, usando su ovipositor para depositar sus huevos en el interior de frutos, junto al embrión vegetal. También, dentro de esta antigua subfamilia se encontraban especies parasitoides, algunas de ellas asociadas a agallas de Cynipini, como es el caso de *Bootanomyia dorsalis* (Fabricius, 1798) o *Megastigmus stigmatizans* (Fabricius, 1798). Sin embargo, tras realizar un estudio filogenético profundo de esta familia

INTRODUCCIÓN



Entre los géneros de Torymidae destacan *Podagrion* Spinola, 1811 y *Mantiphaga* Ferrière, 1955, caracterizados por ser parasitoides de ootecas de Mantodea; y *Monodontomerus* Westwood, 1833, *Glyphomerus* Foerster, 1856 y *Torymus* Dalman, 1820, como parasitoides de insectos gallícolas, siendo estos hospedadores, los mayoritarios a los que ataca esta familia. El género *Torymus*, ubicado en la subfamilia Toryminae y la tribu Torymini, es predominantemente holártico y posee 394 especies descritas hasta la fecha, siendo uno de los géneros de Torymidae mejor representados y estudiados (GRISSELL, 1995; DE VERE GRAHAM & GIJSWIJT, 1998).

Los *Torymus* son típicamente idiobiontes, ectoparasitoides y pueden ser especialistas y generalistas, lo que implica que sus larvas se sitúan sobre su hospedador en el interior de las cámaras larvales de los cinípidos gallícolas, consumiendo de manera exclusiva a la larva del gallícola, y presentando adaptaciones morfológicas específicas para este tipo de parasitismo (GÓMEZ *et al.*, 2008). Dentro del género *Torymus* hay especies con un rango trófico asociado a los cinípidos gallícolas (e.g: *T. affinis*; Figura 9). Los *Torymus* asociados a Cynipidae son un grupo monofilético, existiendo diferentes rangos de hospedadores, desde especialistas polífagos hasta estenófagos (ASKEW *et al.*, 2013). El género *Torymus* ha experimentado muchos cambios taxonómicos y nomenclaturales a lo largo de la historia, probablemente debido a la complejidad taxonómica que envuelve a estos himenópteros. En 1856, Foerster describió el género *Syntomaspis*, para aquellas especies del actual género *Torymus* que presentaban una sutura mesoscutelar, denominada sutura del *frenum*, siendo *Torymus cyaneus* Walker, 1847 su especie tipo (GAHAM & FAGAN, 1923) (ver Figura 20c). Sin embargo, en el trabajo de Huber (1927) no se considera este carácter como diagnóstico porque es difuso en algunos ejemplares. Descartando la utilidad de este carácter, Huber se centra en la fauna neártica de *Torymus* y no en la paleártica, y finalmente este autor sinonimiza el género *Syntomaspis* a *Callimome* Spinola 1811. Aunque el nombre más antiguo de este género era *Callimome* (1811) y el nombre válido actual de *Torymus* data de 1820, este último nombre del género era el más utilizado por los investigadores europeos de la época. En 1944, mediante una Opinión del Comité Internacional de Nomenclatura Zoológica (ICZN, 1944), se suprimió la prioridad del nombre *Callimome* sobre *Torymus*, concediendo a *Torymus* Dalman, 1820 el nombre válido de este género. Posteriormente, Grissell (1976), al igual que Huber, insistiría en el hecho de que *Syntomaspis* es un sinónimo de *Torymus*, aunque este autor se dedicara preferentemente al estudio de la fauna neártica de *Torymus*, extrapolando aparentemente esta decisión a la fauna paleártica. De esta manera, el género *Syntomaspis* fue eliminado como género válido, aunque algunos autores siguen clasificando estas especies bajo el nombre de grupo *Syntomaspis* o grupo *cyaneus* (DE VERE GRAHAM & GIJSWIJT, 1998; ZAVADA, 2003). Estos nombres se utilizan para referirse a los *Torymus* asociados con Cynipidae que comparten el rasgo diagnóstico de la sutura del *frenum* y son especialistas (NIEVES-ALDREY, 1984).

Las especies de *Torymus* asociadas con Cynipidae (Tabla 2), con especial foco en el Paleártico Occidental, han sido estudiadas desde el punto de vista filogenético en esta tesis doctoral, obteniendo las relaciones de cercanía entre ellas (GIL-TAPETADO *et al.*, 2021e). Este trabajo es

INTRODUCCIÓN



el inicio de una revisión de estos *Torymus* y que derivará en futuras investigaciones científicas, entre ellas las que abordan la detección de un complejo de especies crípticas dentro de *Torymus cyaneus* (ver Figura 20c). Al igual que ocurre con *Torymus flavipes* (Walker, 1833), existen diferentes entidades biológicas diferenciables dentro de esta especie (KAARTINEN *et al.*, 2010). De momento, la evidencia es genética, pero se espera poder describir en el futuro una nueva especie de *Torymus* endémica de la península ibérica, diferente a la *T. cyaneus* nominal. La descripción de esta especie es compleja ya que *T. cyaneus* carece de holotipo con el que comparar (desapareció o fue destruido en el Museo de París; DE VERE GRAHAM & GIJSWIJT, 1998), no se ha designado aún un neotipo y, además, existen dos entidades biológicas diferentes en Centroeuropa, donde está ubicada la localidad de la descripción original (Austria). Sin embargo, se han mantenido conversaciones con el Museo de Historia Natural de la Universidad de Oxford y se han hallado ejemplares de la serie tipo original, por lo que en el futuro se podrá designar un neotipo para poder describir con garantías a la especie ibérica dentro del complejo críptico de especies actual que representa *T. cyaneus*.

Este estudio de GIL-TAPETADO *et al.* (2021e) incluye a la especie control biológico de *D. kuriphilus*, *T. sinensis*, cuyos resultados indican que existe una especie muy cercana presente en el Paleártico Occidental, *Torymus notatus* (Walker, 1833) (POGOLOTTI *et al.*, 2019). Esta especie es además morfológicamente muy similar a *T. sinensis* y posee un rango de hospedador especialista de agallas simples (ver página 45, *Torymus sinensis*), por lo que podría haber sido considerada en un principio como una alternativa nativa a *T. sinensis* como controladora biológica de *D. kuriphilus*. Sin embargo, este escenario de posible control con una especie nativa no se puede llevar a cabo dado que el asentamiento de *T. sinensis* en el medio es irreversible. Otras especies de *Torymus* que también son parasitoides nativos reclutados por *D. kuriphilus* son *Torymus auratus* (Müller, 1764) (ver Figura 20a) y *T. flavipes*, ambas generalistas, a diferencia de *T. notatus*, que es especialista. *Torymus notatus* forma parte de la denominada subcomunidad invernante, que está formada por parasitoides autóctonos asociados a agallas de Cynipini que hibernan dentro de las agallas lignificadas y salen a principio de la primavera siguiente (KOS *et al.*, 2015; GIL-TAPETADO *et al.*, 2021b), cuando las agallas son aún de pequeño tamaño. De esta forma, estas especies atacan las agallas en sus estadios más vulnerables y más fácilmente parasitables (GIL-TAPETADO *et al.*, 2021c), actuando de la misma manera que *T. sinensis*. La efectividad comparada de una u otra especie sobre las agallas de *D. kuriphilus* y su impacto sobre las agallas de Cynipini nativas no ha sido desarrollado hasta el momento, estudio que debería de haberse hecho previamente, antes de las sueltas de *T. sinensis*, una especie foránea y con posible carácter invasor en el medio natural (GIBBS *et al.*, 2011).

INTRODUCCIÓN

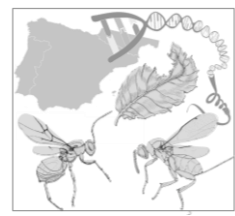


Tabla 2. Recopilación de las especies del género *Torymus* que parasitan especies de cinípidos en el Paleártico occidental, con las diferentes clasificaciones que propone cada autor. La columna Estudio marca las especies de *Torymus* estudiadas en el trabajo de GIL-TAPETADO *et al.*, 2021e *Especies alóctonas del Paleártico occidental.

Especies	Estudio	Pre-GRISSELL, 1976	DE VERE GRAHAM & GIJSWIJT, 1998	ZAVADA, 2003
<i>Torymus affinis</i> (Fonscolombe, 1832)	X			Grupo <i>affinis</i>
<i>Torymus cerri</i> (Mayr, 1874)				
<i>Torymus cyaneus</i> (Walker, 1847)	X	Género <i>Syntomaspis</i>	Grupo <i>cyaneus</i>	Grupo <i>cyaneus</i>
<i>Torymus fastuosus</i> Boheman, 1834				<i>species sola</i>
<i>Torymus notatus</i> (Walker, 1833)	X			Grupo <i>affinis</i>
<i>Torymus erucarum</i> (Schrank, 1871)			Grupo <i>erucarum</i>	
<i>Torymus formosus</i> (Walker, 1833)				
<i>Torymus nobilis</i> Boheman, 1834	X		Grupo <i>erucarum</i>	
<i>Torymus roboris</i> (Walker, 1833)				
<i>Torymus scutellaris</i> (Walker, 1833)				
<i>Torymus flavipes</i> (Walker, 1833)	X		Grupo <i>flavipes</i>	
<i>Torymus longicalcar</i> Graham, 1994		Género <i>Torymus</i>	<i>species sola</i>	Grupo <i>chloromerus</i>
<i>Torymus favardi</i> Steffan, 1962				
<i>Torymus auratus</i> (Müller, 1764)	X			
<i>Torymus bedeguaris</i> (Linnaeus, 1758)	X		Grupo <i>bedeguaris</i>	
<i>Torymus eglanteriae</i> Mayr, 1874				
<i>Torymus geranii</i> (Walker, 1833)	X			
<i>Torymus rubi</i> (Schrank, 1781)	X			
<i>Torymus sinensis</i> * Kamijo, 1982	X			
<i>Torymus beneficus</i> * Yasumatsu & Kamijo, 1979	X			



8. *Torymus sinensis*

Torymus sinensis (etimología: *sinensis*, del latín: de China; “el *Torymus* chino”) es un microhimenóptero de coloración verde metalizada que está definido como enemigo natural de *D. kuriphilus* en su área nativa (Figura 24 y 25). Esta especie ha sido exportada, producida en masa, liberada deliberadamente en el medio natural y utilizada como control biológico clásico contra *D. kuriphilus* en diferentes partes del mundo. Morfológicamente, los adultos de esta especie se caracterizan por poseer un escutelo con una sutura o impresión frenal más o menos discernible (como ocurre con los *Torymus* del grupo *Syntomaspis/cyaneus*, Tabla 2; Figura 26A, 1); la parte posterior de la misma presenta una superficie lisa o con escultura mucho más débil que la que se aprecia en la parte anterior a la sutura (Figura 26A, 2); carenas laterales del propodeo bien delineadas, delimitando un área media lisa (Figura 26A, 3); frente más ancha que la altura de un ojo compuesto (Figura 26B, 4b); ojos y ocelos relativamente más pequeños; ocelos

INTRODUCCIÓN



posteriores separados del margen interno del ojo compuesto por una distancia mayor a la de su diámetro (Figura 26B); escrobas antenales menos profundas y más cortas; tibias anteriores y medias de color más oscuro o metálicas; escultura de la parte anterior del mesoescudo menos brillante sin punteado o con punteado pilífero muy débil; estuche del ovipositor de la hembra más corto que el resto del cuerpo (Figura 24); sin carena medial del propodeo (Figura 26A); surco antero-ventral de la metatibia bien visible (Figura 26C, 5b). Escapo antenal de la hembra de color pardo o amarillento, sin coloración metálica. Funículo antenal de la hembra con una hilera de sensilas placoideas (Figura 26D); en el macho, artejos del funículo claramente más largos que anchos y con 3 hileras de sensilas placoideas (Figura 26E). Estigma del ala anterior no ensanchado ni rodeado de un ligero ahumado (Figura 26F, 8); alas hialinas (Figura 26F, 9); *speculum* más amplio (Figura 26F, 10). La larva de *T. sinensis* al igual que las larvas del grupo *Syntomaspis/cyaneus* posee una característica coloración rojiza bandeada en la zona ventral (Figura 27).

El ciclo de vida de *T. sinensis* es de parasitoide normalmente univoltino, con dos sexos diferentes y sincronizado con la formación de agallas a principios de primavera. Esto produce que *T. sinensis* tenga un mayor éxito en la parasitación de *D. kuriphilus* al aún ser pequeñas y que el grosor de la pared de la agalla no impida de ningún modo la entrada del ovipositor en la cámara larvaria (GIL-TAPETADO *et al.*, 2021c). *Torymus sinensis* es una especie que hiberna dentro de las agallas viejas de *D. kuriphilus* durante el invierno, emergiendo de estas estructuras lignificadas al principio de primavera, conformando parte de la subcomunidad invernante (KOS *et al.*, 2015; GIL-TAPETADO *et al.*, 2021b). Así mismo, posee la misma biología que otras especies de parasitoides nativos univoltinos pertenecientes a esta subcomunidad, como *T. notatus* y diferentes especies de *Aulogygnus* Förster, 1851 (Chalcidoidea: Eulophidae).

Este *Torymus* es una especie nativa de China, que ha demostrado ser una eficaz medida contra *D. kuriphilus* en diferentes partes del mundo (BOROWIEC *et al.*, 2014; FERRACINI *et al.*, 2019; CARDOSO *et al.*, 2021), reduciendo las poblaciones de esta plaga de manera considerable en algunos territorios. Sin embargo, en España, se ha demostrado una eficacia diferencial a corto plazo, siendo más eficaz en zonas más cálidas como Málaga o Cataluña, y menos en áreas menos cálidas como la zona eurosiberiana de Galicia (NIEVES-ALDREY *et al.*, 2019). No obstante, este escenario podría variar con los años, convirtiéndose *T. sinensis* en una especie efectiva contra *D. kuriphilus* en el noroeste peninsular. En España, su uso ha estado restringido a usos experimentales en ciertas Comunidades Autónomas hasta la orden ministerial de liberalización de *T. sinensis*, aconsejada por los informes realizados por el equipo encabezado por el Dr. José Luis Nieves Aldrey, en 2019 (NIEVES-ALDREY & GIL-TAPETADO, 2019). Sin embargo, estos usos experimentales han resultado ser sueltas masivas de *T. sinensis* en muchos lugares de España, como Galicia, en los que, por ejemplo, desde 2015 la Xunta de Galicia ha liberado más de cuatro millones de individuos de esta especie foránea en este territorio sin existir todavía una resolución científica (XUNTA DE GALICIA, 2021), llegando incluso a dos millones de individuos en 2018.

INTRODUCCIÓN

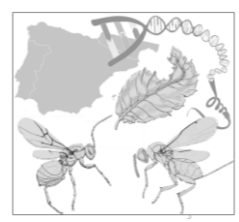


Figura 24. Fotografía de espécimen hembra de *Torymus sinensis*. Autor de la fotografía: Diego Gil Tapetado.

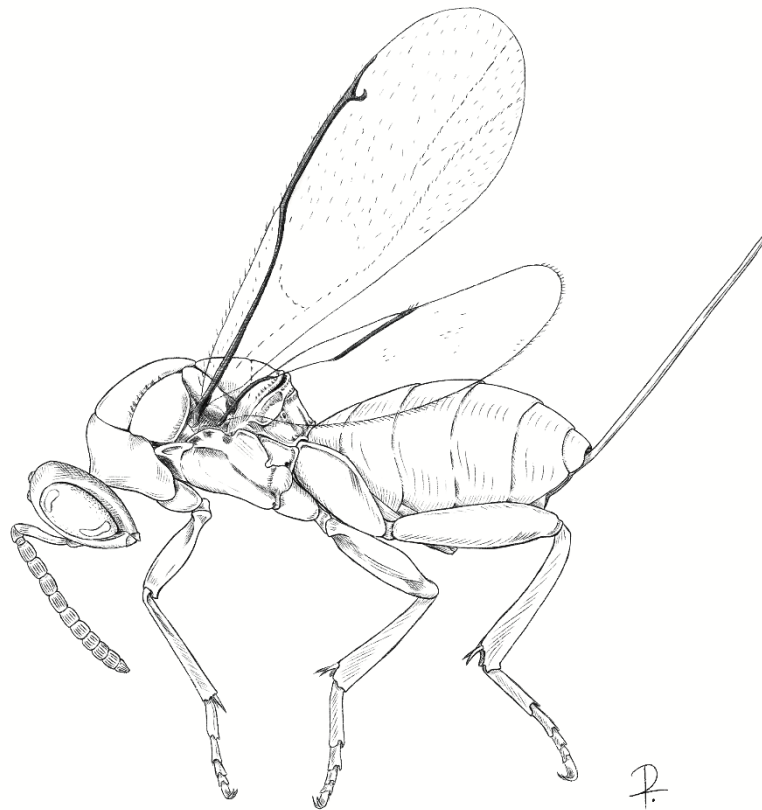


Figura 25. *Habitus* de *Torymus sinensis*. Autora de la ilustración: Patricia Durán Montes.

INTRODUCCIÓN



Junto a estas sueltas experimentales masivas de individuos de *T. sinensis*, cabe destacar el hecho de que Francia y Portugal, países limítrofes a España, ya poseían programas de control con este parasitoide, entrando sucesivas generaciones de éstos por dispersión natural al territorio español. De hecho, en Navarra y País Vasco entraron en 2018 y 2019 una cantidad mayor de *T. sinensis* a las liberadas por los experimentos en Galicia, mostrando una eficacia de control superior (NIEVES-ALDREY *et al.*, 2019). Además, existen indicios de posibles sueltas ilegales de *T. sinensis* en Madrid (Cadalso de los Vidrios), donde no había autorización para la suelta experimental de esta especie (GIL-TAPETADO *et al.*, 2020). Por estos motivos, siendo ya la entrada de *T. sinensis* inevitable en España, debido a las sueltas experimentales y por dispersión natural desde las fronteras, junto con las presiones del sector, se recomendó por parte de las autoridades competentes la liberalización de este parasitoide en el territorio nacional.

Pese al relativo y diferencial éxito del control de *T. sinensis*, la plaga de *D. kuriphilus* aún es alta actualmente en muchos territorios excepto Cataluña, Navarra y País Vasco, Comunidades Autónomas limítrofes con Francia, donde ha entrado por los corredores naturales del este y oeste de los Pirineos (NIEVES-ALDREY *et al.*, 2019). Sin embargo, la introducción de *T. sinensis*, una especie foránea, en un medio, puede generar desequilibrios en las interacciones entre las especies al incluirse un nuevo eslabón en las redes tróficas (MOONEY & HOBBS, 2000). Estos desequilibrios están relacionados con tres cuestiones:

1) Parasitación de agallas nativas de Cynipini no objetivo, pudiendo desencadenar el descenso de las poblaciones de especies de Cynipini autóctonas (FERRACINI *et al.*, 2015; GIL-TAPETADO *et al.*, no publicado). Este efecto adverso de la liberación de *T. sinensis* en el medio natural es probablemente el más peligroso para nuestra fauna nativa de Cynipidae. En el caso de que *T. sinensis* tuviera un rango de hospedador específico ligado a *D. kuriphilus* no tendría que implicar ningún riesgo, pero esto no es así; el hecho es que, tanto en laboratorio como en el campo, se han detectado ejemplares de esta especie parasitando y emergiendo de agallas de especies nativas (FERRACINI *et al.*, 2015; GIL-TAPETADO *et al.*, no publicado). Considerando la biología de *T. sinensis*, esta especie no es únicamente especialista de *D. kuriphilus*, sino especialista de agallas morfológicamente simples que se inducen a principios de primavera, como pueden ser *B. pallida* (Figura 9), *Plagiotrochus australis* (Mayr, 1882) o *Andricus curvator* Hartig 1840. Curiosamente, pese a ser de dos géneros diferentes, esta última posee unas agallas con una morfología altamente similar a las de *D. kuriphilus* (NIEVES-ALDREY, 2001), siendo ambas muy parecidas pero las primeras en hojas de roble y las segundas, en hojas de castaño. Esto hace que existan agallas de Cynipini nativas que sean más vulnerables al ataque de *T. sinensis* que otras. Esto se debe a que el rango de hospedador de los *Torymus* asociados en Cynipini es muy variable (GIL-TAPETADO *et al.*, 2021e). Hay especies como *T. affinis*, que parasita en su gran mayoría a *B. pallida*, especie altamente ligada y con coadaptaciones (Figura 9), aunque también produce ataques (quizás accidentales) en agallas de *A. curvator* (ASKEW *et al.*, 2013; GIL-TAPETADO *et al.*, 2021e). En el caso de *T. sinensis* estas parasitaciones no objetivo se han dado con especies aparentemente muy parecidas a *D. kuriphilus*, pero también

INTRODUCCIÓN



en otras diferentes, como es el caso de las agallas subterráneas de *Trigonaspis* (Figura 28). Como la liberación de *T. sinensis* es aún temprana en el tiempo (en España desde 2015 y con sueltas legales liberalizadas a finales de 2019, siendo efectiva en 2020), no se pueden conocer aún las perturbaciones, incidencia o gravedad que pueden causar en las redes tróficas de Cynipini nativas, ni qué pasará si disminuyen las agallas de *D. kuriphilus*, pudiendo encontrar en las agallas autóctonas de morfología simple, los recursos necesarios para poder realizar su ciclo vital (GIBBS *et al.*, 2011).

2) Presión y desplazamiento de las especies de parasitoides nativas, impidiendo o dificultando la entrada de estas especies a las agallas de *D. kuriphilus*, creando un sistema poco diverso y verdaderamente tritrófico (LORU *et al.*, 2021). Al encontrarse *T. sinensis* en cantidades tan elevadas en el medio, acaban ocupando la mayor parte de las cámaras larvianas de las agallas de *D. kuriphilus*, no dejando cámaras libres para que los parasitoides autóctonos puedan entrar en este sistema biológico. Esto impediría la ayuda de las especies nativas en el control de la plaga, siendo puramente un sistema conformado por el castaño y dos insectos exóticos. Desde el punto de vista del control de plagas, esto podría ser beneficioso, ya que se optimizaría el efecto de la especie control sobre *D. kuriphilus*, pero, al no encontrarse aislados los sistemas de *Castanea* y de *Quercus* (donde están los parasitoides nativos de Cynipini), podrían tener efectos directos sobre la entomofauna de las agallas de los robles. Como se ha comentado antes, es un hecho que *T. sinensis* no tiene un rango de hospedador específico únicamente ligado a *D. kuriphilus*, sino que puede ser capaz de parasitar a diferentes agallas de morfología simple en los robles. Esto, unido a que *T. sinensis* se encontraría en el medio con una población muy alta, podría causar el desplazamiento de los parasitoides nativos en las agallas nativas de Cynipini (YARA *et al.*, 2007; GIBBS *et al.*, 2011, FERRACINI *et al.*, 2015; GIL-TAPETADO *et al.*, no publicado).

3) Hibridación de *T. sinensis* con especies de *Torymus* nativas que podrían reducir la diversidad, el acervo genético o producir híbridos que ataquen de forma secundaria a agallas nativas no objetivo (YARA *et al.*, 2007, 2010; GIL-TAPETADO *et al.*, no publicado). Se ha demostrado que *T. sinensis* puede hibridar con la especie *Torymus beneficus* Yasumatsu & Kamijo, 1979 en Japón, formando individuos que no se encuentran igual de sincronizados con las agallas de *D. kuriphilus*. Esto podría desembocar en daños en la fauna nativa, produciéndose asociaciones con agallas cuya formación coincida con el proceso de oviposición de estos híbridos. A su vez, en el Paleártico Occidental, se podrían producir híbridos con las especies más filogenéticamente cercanas, como es el caso de una especie de un grupo hermano, *T. notatus* (POGOLOTTI *et al.*, 2019; GIL-TAPETADO *et al.*, 2021e). La relativa cercanía geográfica entre *T. beneficus* y *T. sinensis* podría indicar una mayor facilidad en la hibridación de estas especies, aunque Japón se encuentra aislada de China por el Mar de la China Oriental y se desconoce la distribución de *T. notatus*, sobre todo su límite oriental, que podría estar subestimado y podría ser cercano a la distribución de *T. sinensis*. Al igual que ocurre con *T. beneficus*, la hibridación entre *T. notatus* y *T. sinensis* podría

INTRODUCCIÓN



desembocar en la pérdida de diversidad, acervo genético y producción de híbridos con biología intermedias, siendo capaces de parasitar más fácilmente a especies de Cynipini nativas.

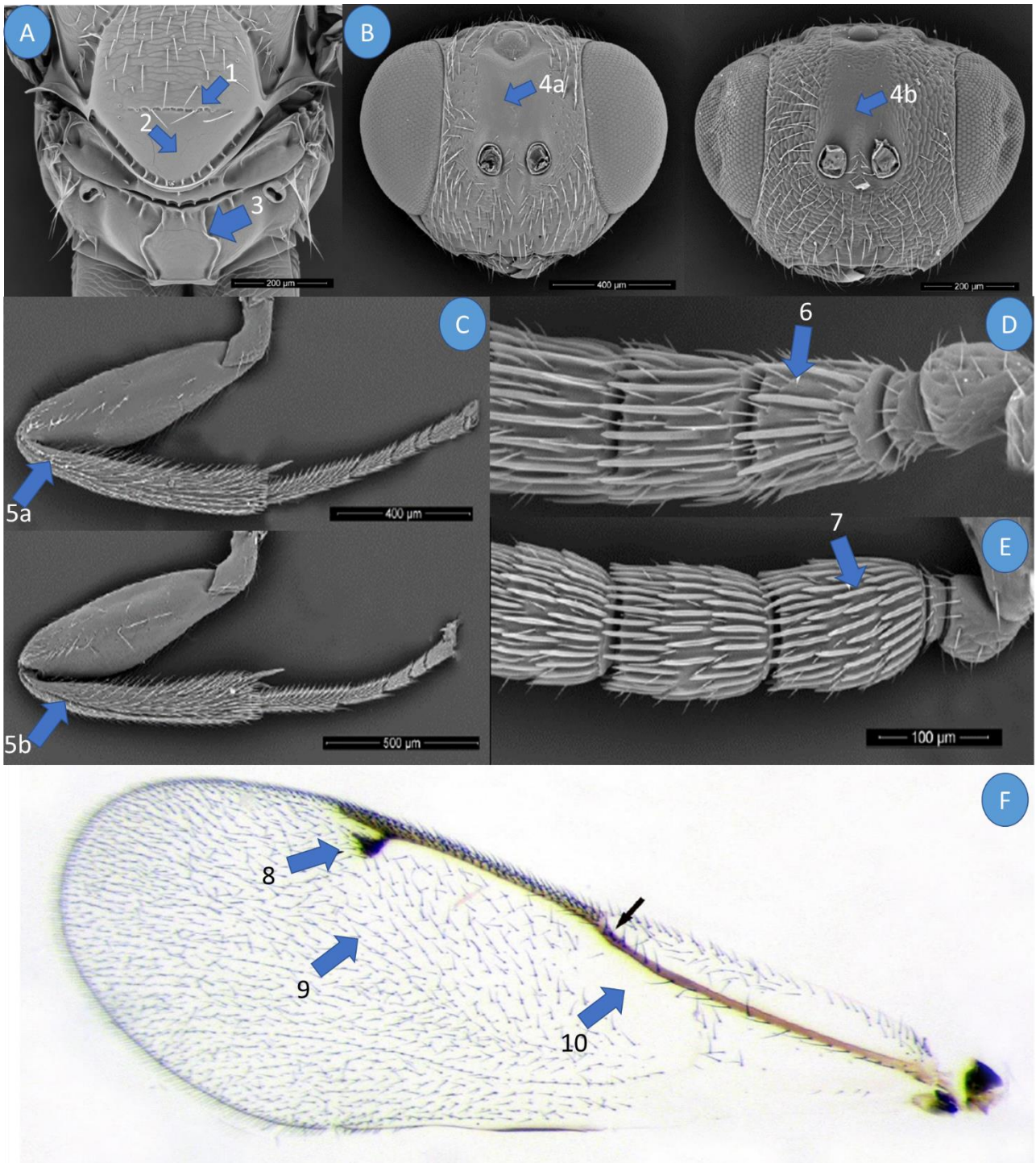


Figura 26. Fotografías realizadas con microscopio electrónico de barrido y bajo lupa de *T. sinensis*: A) Vista dorsal del tórax, 1) sutura del frenum en el escutelo; 2) frenum; 3) carenas laterales del propodeo. B) Comparación de vistas frontales de cabezas de *Torymus*: izquierda *T. cyaneus*, derecha *T. sinensis*; 4a) frente estrecha; 4b) frente ancha. C) Comparación de vistas laterales de patas posteriores de *Torymus*, arriba *T. affinis*, abajo *T. sinensis*, 5a) metatibia sin surco visible; 5b) metatibia con surco bien visible. D) 6) Funiculo antenal de la hembra con una hilera de sensilas placoideas. E) 7) Funiculo antenal del macho con artejos claramente más largos que anchos y con 3 hileras de sensilas placoideas. F) Ala anterior; 8) estigma del ala anterior no ensanchado ni ahumado; 9) ala hialina; 10) *speculum* amplio. Autor de las fotografías: José Luis Nieves Aldrey.

INTRODUCCIÓN



Figura 27. Fotografía de larva de *Torymus sinensis* en vista ventral. Se pueden apreciar las bandas rojizas con aspecto de peine en la parte ventral de la larva. Autor de la fotografía: José Luis Nieves Aldrey.



Figura 28. Fotografía de una hembra de *Torymus sinensis* parasitando una agalla de *Trigonaspis*. Autor de la fotografía: Diego Gil Tapetado.



INTRODUCCIÓN



Como conclusión de este apartado, la suelta de *T. sinensis* puede resultar muy beneficiosa para el control de *D. kuriphilus*, pero puede tener efectos adversos para la fauna de gallícolas y parasitoides asociados a *Quercus marcescentes* y caducos, pudiendo producir una cascada de perturbaciones en las redes tróficas. Cabe destacar que estos posibles efectos ya son irreparables, puesto que es casi imposible el control de *T. sinensis* si fuera necesario, ya que su población está asentada o en proceso de asentamiento en buena parte del territorio donde ha sido soltado en grandes cantidades y posee muchos recursos para parasitar, tanto de agallas de *D. kuriphilus* como de agallas nativas vulnerables de Cynipini que parasitar. Por ello, es imprescindible considerar todos los posibles efectos negativos que puede tener una especie en el medio antes de su liberación y no evaluar su impacto *a posteriori* o durante este proceso, como ha sido el caso de la suelta de *T. sinensis*.



9. Especies invasoras

Una especie foránea puede establecerse en las redes tróficas sin tener repercusiones, pudiendo ser considerada como una especie naturalizada, o bien provocar alteraciones y cambios en la estructura normal de las redes tróficas, generando presiones contra otras especies o superpoblaciones secundarias, pudiendo ser considerada como una especie invasora (MOONEY & HOBBS, 2000; MOONEY *et al.*, 2005; SIMBERLOFF, 2010). Por lo tanto, formalmente, una especie invasora se puede definir como una “*especie exótica que se introduce o establece en un ecosistema o hábitat natural o seminatural, y que es un agente de cambio y amenaza para la diversidad biológica nativa, ya sea por su comportamiento invasor, o por el riesgo de contaminación genética*” (COLAUTTI & MACISAAC, 2004; BECK *et al.*, 2008). Las especies invasoras son consideradas como la quinta causa más importantes de la pérdida de la biodiversidad a nivel global (por detrás de los cambios en el uso del suelo, la explotación directa de los seres vivos, el cambio climático y la contaminación), tratándose de un problema extraordinariamente grave a nivel de la conservación del medio natural (IPBES, 2019). Las especies invasoras pueden ser de todo tipo, desde mamíferos, peces, aves, plantas o insectos, llegándose a contabilizar unas 1800 especies con carácter invasor en Europa en 2013 (EUROPEAN COMMISSION, 2013), pero estando más desatendidas las de pequeño tamaño debido a su detectabilidad más compleja. Las perturbaciones y problemáticas creadas por las especies invasoras pueden ser diversas, afectando a diferentes escalas, desde naturales a humanos:

1) Biodiversidad. Afectan a las especies nativas mediante depredación o parasitación (i.e: que se vinculen tróficamente; a nivel de comunidad biológica); competencia interespecífica (también a nivel de comunidad biológica), como por ejemplo territorial, de zonas de reproducción o recursos alimenticios, produciendo el desplazamiento de la flora y fauna autóctona; competencia

INTRODUCCIÓN



intraespecífica (a nivel genético), produciendo hibridación y suponiendo un problema en conservación para el acervo genético; o la transmisión de patógenos y de parásitos que produzcan enfermedades a especies cuyo sistema inmune no se encuentra adaptado a éstos organismos.

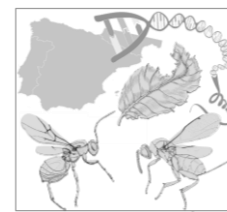
2) Ecosistema. Pueden alterar tanto ecosistemas terrestres como acuáticos dulceacuícolas y marinos. Causan daños físicos y químicos al suelo y al agua, alterando el hábitat natural de las demás especies e impactando en las redes tróficas. Las especies invasoras son especialmente peligrosas en ecosistemas vulnerables como los de islas (literales o biogeográficas), con comunidades biológicas restringidas, con una alta cantidad de endemismos y especies muy especializadas a un ambiente, otras especies y condiciones concretas.

3) Sociales. Están relacionados a la alteración e inhabilitación de sitios usados para el ocio, pérdida de usos y costumbres, modificación de actividades y de recursos explotables, y desaparición de comunidades humanas debido a la migración por pérdida de empleos debido a los impactos causados por estas especies. Por ejemplo, en el caso del jacinto de agua o camalote (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) en el Guadiana tapiza la superficie y tapona la desembocadura de afluentes en un tramo de este río, produciendo el cambio en el uso y aprovechamiento del río por parte de estas comunidades locales humanas. Además, puesto que tapona una desembocadura, aumenta el riesgo de inundaciones en las tierras colindantes, pudiendo producir la emigración y abandono de la zona (TÉLLEZ *et al.*, 2008).

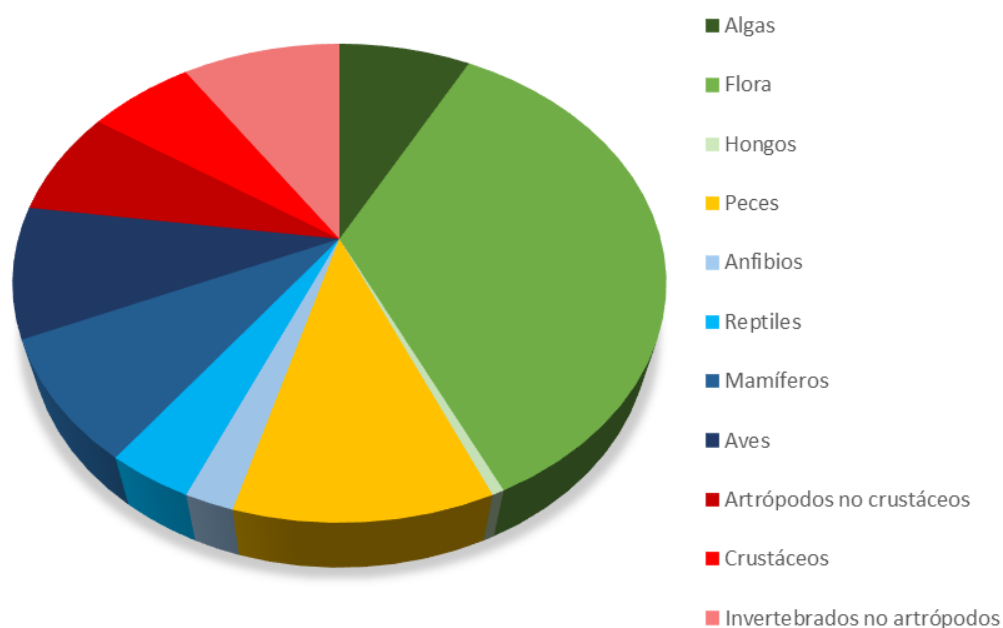
4) Salud pública. Algunas especies invasoras pueden afectar a la salud humana, causando desde daños mínimos como picaduras o irritaciones en la piel, hasta graves, como alergias, intoxicaciones, mordeduras dolorosas o ser vectores de enfermedades. Esta última es de especial importancia puesto que puede comprometer gravemente la salud de las personas, como ya se conocen en áreas menos desarrolladas del mundo. La llegada de estas especies invasoras vectores de transmisión a una nueva área puede ocasionar un grave problema en salud pública, ya que las autoridades sanitarias no suelen estar preparadas para nuevos focos de infección de enfermedades no endémicas o raras hasta ese momento, pudiendo producirse una alta morbilidad e incluso mortalidad.

5) Economía. Estos daños son derivados de los costos de las acciones de control, erradicación y seguimiento, además de los daños a las infraestructuras urbanas, cultivos, disminución del turismo y pérdida de empleo, entre otros, estando altamente relacionado todo ello con el concepto de plaga. Puede definirse una plaga económica como una especie que por su presencia o abundancia (usualmente en superpoblación) causa daños directos a las actividades humanas, provocando pérdidas en la producción de un 5-10% (u otro umbral estipulado) (MUMFORD & NORTON, 1984; HIGLEY & PERDIGO, 1997). También deben contemplarse las pérdidas económicas derivadas de los impactos a la salud (campañas de prevención, medicamentos, etc.), así como a la biodiversidad y ecosistemas autóctonos, los cuáles son altamente difíciles de cuantificar.

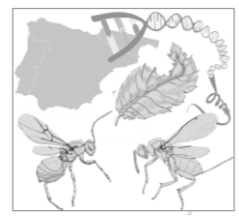
INTRODUCCIÓN



La legislación sobre las especies invasoras es diferente en los distintos países, si bien existen pautas comunes en diferentes asociaciones de países como, por ejemplo, la Unión Europea, con el Reglamento (EU) 1143/2014 sobre la prevención y la gestión de la introducción y propagación de especies exóticas invasoras (the IAS Regulation; EUROPEAN COMMISSION, 2014). A nivel de legislación nacional en España, existe el Catálogo Español de Especies Exóticas Invasoras (CEEEI; BOE, 2011, 2014). En el CEEEI “*se han de incluir todas aquellas especies y subespecies exóticas invasoras que constituyan, de hecho, o puedan llegar a constituir una amenaza grave para las especies autóctonas, los hábitats o los ecosistemas, la agricultura, o para los recursos económicos asociados al uso del patrimonio natural*” (BOE, 2014). En este catálogo se incluyen tanto especies invasoras en el ámbito iberoibérico como canario de forma diferenciada, puesto que ambas áreas presentan localizaciones y biodiversidad muy diferentes. Actualmente, en el momento de redacción de esta tesis doctoral, el CEEEI incluye un total de 193 especies invasoras, de las cuáles, menos de un cuarto son especies de invertebrados, y 14 del total son artrópodos no crustáceos, representando alrededor de un 7% del total (Figura 29). Probablemente, este porcentaje respecto al total es bajo en relación a la cantidad de especies de artrópodos de carácter invasor que existen actualmente en la península ibérica, puesto que no todas han sido consideradas bajo el prisma científico ni de la Administración Pública. Para que una especie entre en el CEEEI necesita que la comunidad científica elabore un informe que es presentado por su propia voluntad al organismo estatal correspondiente, actualmente, el Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico. Una vez el informe es proporcionado a la administración pública, éste pasa por dos procesos diferentes: el primero es una evaluación científica independiente de la propuesta, realizada por otros profesionales de la materia; y el segundo, es una evaluación por parte de las Comunidades Autónomas, es decir, una evaluación administrativa de la propuesta. Una vez, ambos informes son favorables, la especie es incluida en el CEEEI y es regulada por éste.



INTRODUCCIÓN



◀**Figura 29.** Porcentajes por grupos funcionales de las especies contempladas por el Catálogo Español de Especies Exóticas Invasoras. En verde, plantas y hongos; en amarillo y azul, cordados (en amarillo, peces, en diferentes tonos de azul otros grupos); y en diferentes tonos de rojo, invertebrados (BOE, 2011, 2014).

En el caso de *D. kuriphilus*, esta especie no se encuentra actualmente recogida por el CEEEI, pese a que, según la definición, es una especie exótica, introducida y establecida en un ecosistema del territorio nacional, y representa un agente de cambio y amenaza para la diversidad biológica nativa, en este caso, los castaños, que están recogidos en la Directiva Hábitats 92/43/CEE 9260 como “*Bosques de Castanea sativa*” (RUBIO, 2009). Además, representa una especie plaga económica que afecta al sector del castaño (EPPO, 2002; CABI, 2015). Por estos motivos y también motivado por la realización de esta tesis, a finales de 2019, distintos grupos de investigación españoles (Museo Nacional de Ciencias Naturales, Universidad Complutense de Madrid, Universidad de Santiago de Compostela y IFAPA Centro de Churriana, entre otros) hemos realizado y entregado un informe al Ministerio para Transición Ecológica y el Reto Demográfico para la inclusión de *D. kuriphilus* en el CEEEI (ver página 280, *Modelo de análisis de riesgos para la inclusión de la especie Dryocosmus kuriphilus en el Catálogo Español de Especies exóticas Invasoras*). Actualmente, durante la escritura de esta tesis, aún no se ha incluido, pero los responsables de este Ministerio nos han informado de que todos los informes (científico y administrativo) han sido favorables. Por lo tanto, uno de los resultados finales de esta tesis es (muy probablemente) la inclusión de *D. kuriphilus* en el CEEEI, ayudando a que se legisle para así proteger los castaños españoles y nuestro patrimonio natural y cultural, además de la toma de decisión de la liberalización de *T. sinensis* (ver página 45, *Torymus sinensis*).

Para finalizar este apartado, ponemos de manifiesto la gran importancia y relevancia de que diferentes organismos científicos colaboren con las administraciones públicas para elaborar diferentes informes acerca de la inclusión en el CEEEI de especies con carácter invasor distribuidas en el territorio español que aún no estén presentes. Especies como *Cydalima perspectalis* (Walker, 1859), defoliadora de boj o *Halyomorpha halys* Stål, 1855, plaga agrícola de diferentes cultivos, son dos especies introducidas que están suponiendo graves problemas en nuestras especies autóctonas y aún no están contempladas en el CEEEI para la actuación de las autoridades pertinentes. Hasta que estos informes no sean emitidos desde las iniciativas científicas a los organismos oficiales del Estado, estaremos desprotegidos legalmente en su contra, dificultando muchas veces las actuaciones de carácter técnico para gestionar sus poblaciones y agravando, por tanto, los efectos nocivos contra el medio natural, nuestro patrimonio y nuestra biodiversidad.





10. Control biológico

El control biológico puede ser definido como el uso por parte del ser humano de una especie concreta para la disminución de las poblaciones de una especie objetivo, aprovechando una estrategia biológica característica (VAN DEN BOSCH *et al.*, 1982, MURDOCH *et al.*, 1985; DEBACH & ROSEN, 1991). Existen varios tipos de control biológico: el basado en depredación/parasitismo y el basado en patógenos (hongos, virus o bacterias). Enfocándonos en el primer tipo y siguiendo esta definición, se pueden definir unas características concretas para completar qué es un buen control biológico. De esta manera, se puede evaluar qué especie es susceptible de ser empleada como control biológico y cuál no puede ser empleada como tal, o bien, cuál no puede definirse como tal (FLINT & DREISTADT, 1998):

1) Control dirigido y específico. El agente de control tiene que ser empleado contra una especie en concreto (i. e.: no existen controles biológicos contra insectos en general, pues éstos son más de un millón de especies con biología muy diferentes entre ellos). La elección de una especie especialista contra una especie plaga objetivo producirá poco o ningún efecto nocivo colateral del enemigo natural hacia otros organismos no objetivo. Además, al establecerse una relación bitrófica, se establecerán relaciones de densodependencia, por lo que esta pequeña comunidad biológica se autorregulará considerando cada una de sus poblaciones. En el caso de organismos generalistas, esta densodependencia no existe con la especie objetivo, pues pueden alimentarse de otras especies nativas no objetivo y producir perturbaciones en el medio y comunidades biológicas. Si, además, este control biológico es recurso-dependiente de la especie plaga objetivo, se conseguirá una regulación directa y sin ningún tipo de problemática indirecta asociada por esta acción humana.

2) Enemigo natural. Si la relación del control biológico es la de antagonista o enemigo natural de la especie control en su zona de distribución original, se pueden emular estos vínculos tróficos en el área invadida. Al ser un enemigo natural, con una historia natural conjunta y con mecanismos de coevolución implicados, el uso de esta especie aumentará la eficacia, incidencia y velocidad del control biológico para disminuir la población de la especie plaga. Esta coevolución implica que el control biológico presentará toda una serie de adaptaciones a los posibles mecanismos de defensa o tolerancia que puede presentar la especie plaga, encaminados a superar éstas y ser exitoso en el ataque y consumo del recurso. Además, al ser una especie adaptada al ciclo vital de su especie recurso, presenta una sincronización fenológica y de actividad que puede optimizar el control de la especie objetivo, no pudiendo atacar (o teniendo más dificultad) a otras especies con ciclos vitales o biología diferentes. En definitiva, cuanto más específica sea la especie control biológico de una plaga, mayor índice de éxito y menores perturbaciones secundarias se producirán.

INTRODUCCIÓN



3) Periodo de asentamiento y durabilidad. El periodo del control es a relativamente largo término, con frecuencia permanente; por ello, que la especie control pueda asentarse sin reforzar el asentamiento con sueltas anuales es importante tanto a nivel de que se ajusten las sus ciclos biológicos, como a nivel de tamaño de población, como a nivel económico. Sin embargo, un nivel de asentamiento elevado implica que el agente de control no pueda ser eliminado del medio fácilmente, sobre todo tratándose de organismos de pequeño tamaño o incluso microscópicos. Por el contrario, un grado de asentamiento elevado en un área objetivo en la que se efectúa la acción de control biológico es beneficioso a múltiples niveles, ya que la especie no se dispersará a otras zonas, sino que se quedará asentada en su zona de liberación, evitándose así problemáticas asociadas. Un organismo altamente móvil o con gran capacidad de dispersión no se asentará correctamente en la zona objetivo donde se encuentra la plaga, o en su defecto, una vez haya descendido la población de la especie plaga, se moverá hacia otras áreas. Este hecho es especialmente preocupante con controles biológicos realizados con organismos que no sean especialistas, ya que una gran población polífaga y móvil puede tener efectos y consecuencias imprevisibles y probablemente negativos sobre la biodiversidad autóctona.

4) Fácil sustracción del medio. Una vez la acción de regulación de la población de la especie objetivo ha sido exitosa, el control biológico debe ser eliminado por completo o reducido en un porcentaje alto, puesto que se trata de un organismo, la mayor parte de las veces, foráneo o con un tamaño de población alto en comparación con las condiciones normales sin actuación humana. Es posible que este organismo control pueda verse obligado a asociarse tróficamente con especies nativas no objetivo para poder sobrevivir en condiciones de no encontrar su recurso objetivo, pudiendo generar perturbaciones en el medio y suponer una amenaza para las especies autóctonas (ver página 52, *Especies invasoras*). Por ello, tener un plan de sustracción definido debería de ser condición altamente recomendada antes de soltar (o aumentar la población de) un organismo de control biológico en el medio natural.

5) Solución económica. La relación coste/beneficio de su aplicación debe ser muy favorable e implica que no tiene por qué invertirse mucho dinero en el control biológico. El control biológico incluye costes de producción como los costes de cría y de almacenamiento, así como los costes del personal encargado de la crianza, la liberación y el seguimiento de las poblaciones. Que toda la inversión económica en estos procesos sea inferior al beneficio que se va a recuperar tras la acción del control biológico es indispensable para poder llevar a cabo esta acción humana. Los recursos económicos son limitados y es posible que las estrategias de control no salgan rentables para poder regular las poblaciones del organismo objetivo. También, reducir excesivamente los costes en el control biológico no está recomendado, ya que la calidad de éste podrá disminuir, bajando su efectividad contra la especie plaga (e. g.: reducir costes en los alimentos o en gastos de personal, manteniendo desatendidos o en malas condiciones a los agentes de control biológico). Pensando únicamente bajo el prisma económico, el control biológico no deja de ser una inversión económica en la que se pierde un dinero a corto plazo para obtener un beneficio a medio/largo plazo, normalmente beneficios

INTRODUCCIÓN



en forma de la recuperación de los cultivos afectados para su explotación como antes de la plaga. Sin embargo, al ser una acción humana, cercana a las decisiones de la administración pública, también puede traducirse en beneficio político o social, en forma de mantener la tranquilidad y el apoyo del sector afectado y evitar sus presiones.

6) Evita plagas secundarias. Al igual que una especie introducida, un control biológico puede producir perturbaciones en las comunidades biológicas en las que entra, de tal forma que las poblaciones de estos organismos pueden aumentar sus poblaciones, llegando a ser superpoblaciones o plagas (BROWN *et al.*, 2007; LOZANO & DE DIOS, 2018; ROY *et al.*, 2016). En este caso, comunidades biológicas complejas con muchas relaciones tróficas pueden verse alteradas, produciendo estos efectos adversos de plagas secundarias. El estudio de cada tipo de control biológico no es sólo único por cada especie que se emplee con este fin, sino que depende de la zona de liberación, donde existen composiciones y estructuras de comunidades diferentes. Por ello, llevar a cabo estudios previos y de seguimiento es muy importante, antes de tomar decisiones precipitadas y que produzcan alteraciones en las comunidades de especies autóctonas.

7) No existen problemas de intoxicaciones o de vectorización de patógenos. Puede darse el caso de que las especies de control biológico pueden ser portadoras de patógenos o ser especies nocivas para el ser humano o la biodiversidad autóctona. La elección de un control biológico que a su vez sea vector de transmisión de enfermedades en salud pública es extraño y altamente no recomendado. Sin embargo, sí que pueden existir casos de que los controles biológicos pueden producir perjuicios a la salud en el ser humano, como es el caso de las picaduras producidas por insectos depredadores (e. g: control biológico con *Zelus renardii* Kolenati, 1857 (Hemiptera: Reduviidae), conocida en castellano como una “chinche asesina”), que puede producir dolor intenso, eritemas y producir sintomatologías graves en algunos casos. Otro caso más común es que el control biológico pueda ser portador de enfermedades de salud vegetal y que pueda ser transmisor de éstas, iniciando nuevos focos de infección en la vegetación nativa. Este punto debería ser de importancia capital a la hora de seleccionar o no una especie como controlador biológico, puesto que estos daños que podrían ocasionar podrían ser verdaderamente graves, mucho más que los que pudiera producir la propia plaga de no controlarse con dicho agente.

8) Se puede usar dentro del Control Integrado de Plagas. Es decir, que pueda ser aplicado junto con una variedad de métodos complementarios, como físicos, mecánicos, químicos, biológicos, genéticos, legales y culturales para el control de plagas. Esta compatibilidad, siempre que sea posible, aumenta la eficacia de la regulación de la población de la especie objetivo, usando diferentes vías, haciendo más viable la paliación de daños y la recuperación de la productividad antes de la introducción de la especie plaga.

En el caso de *T. sinensis* para controlar las poblaciones de *D. kuriphilus*, este parasitoide no cumpliría todas las características de un buen controlador biológico. El punto 1 (Control dirigido y específico) junto con el punto 2 (Enemigo natural) es confuso, ya que *T. sinensis* potencialmente

INTRODUCCIÓN



puede atacar a la fauna autóctona, creando un escenario de incertidumbre sobre qué pasará con esta especie en el futuro si no es recurso-dependiente de *D. kuriphilus* y no se establecen relaciones de densodependencia con esta plaga. Realmente, tampoco es demasiado claro el papel de enemigo natural de *T. sinensis* sobre *D. kuriphilus* en China, su zona de procedencia, ya que los estudios no son demasiado accesibles o directamente son parciales, ya que simplemente es la especie más común que aparece parasitándola. Sin conocer qué ocurre con la composición y estructura del resto de las especies de las comunidades de Cynipini en China, no se puede saber realmente si es el enemigo natural específico de *D. kuriphilus*, o bien, si es la especie más común de esta comunidad biológica (MURAKAMI, 1981). Realmente, dado que el estudio en campo en China es complicado y que no se dispone de la información necesaria, no se conoce el rango de hospedador real de *T. sinensis* en su zona de procedencia, pudiendo ser tanto una especie especialista como generalista. Únicamente se está empezando a conocer el rango de hospedador en las áreas donde se está liberando como controlador biológico, obteniendo como resultado que es más amplio del esperado en un primer momento. El punto 3 (Periodo de asentamiento y durabilidad) es variable, dependiendo de las diferentes zonas de suelta, probablemente debido a la climatología local, donde *T. sinensis* está mejor o peor adaptado (página 82; NIEVES-ALDREY *et al.*, 2019), tardando más o menos tiempo en establecerse en el área y con tamaños de población diferenciadas. En las áreas donde se asienta *T. sinensis* se mantiene en el tiempo y ejerce su acción contra *D. kuriphilus* y sus poblaciones aumentan, hasta tal punto que se expande hacia áreas limítrofes, como ocurrió con la entrada de este parasitoide en Cataluña, País Vasco y Navarra desde Francia. Por lo tanto, su grado de asentamiento puede llegar a ser alto en ciertas zonas, aunque la especie también se puede dispersar fácilmente, deslocalizando la zona de acción del control biológico y desplazándose hacia áreas no objetivo (i.e.: de Francia a España a través de los Pirineos). Junto con este hecho, debido a su pequeño tamaño y a que no existe ningún plan para su eliminación del medio, *T. sinensis* difícilmente podrá ser sustraído del medio en caso de que sea necesario, uniéndose a su capacidad para poder parasitar especies de Cynipini nativas. Por lo tanto, *T. sinensis* no cumpliría la característica 4 (Fácil sustracción del medio). Respecto al punto 5 (Solución económica), cada individuo de *T. sinensis* está valorado en aproximadamente 1€ y sus sueltas en España han sido de varios millones de ejemplares en Comunidades Autónomas como Galicia. Esto unido a los gastos de personal para su liberación sumaría un total de varios millones de euros destinados a esta tarea. Actualmente no existen producciones locales de *T. sinensis* en España, la inmensa mayoría procede de importación desde Italia, aunque se están estableciendo proyectos de producción local de este parasitoide. Como se comentó anteriormente, el control biológico es una inversión económica en la que los primeros años pueden existir cuantiosas pérdidas hasta que llegan a regularse las poblaciones de plaga y se empiezan a generar beneficios. Como la liberalización de sus sueltas son relativamente recientes, aún es pronto para saber si en España es una solución económica (actualmente, el balance de la inversión es negativo). Sin embargo, en otros países, sí que es una inversión rentable, ya que se ha producido la reducción de las poblaciones de *D. kuriphilus* de forma profunda, aunque aún no se ha consolidado la recuperación del mercado de la castaña (MEIER, 2019). *Torymus*

INTRODUCCIÓN



sinensis cumple satisfactoriamente y sin contrapartidas aparentes las características 6, 7 y 8 de un buen agente de control biológico, quedando el resto de los puntos abiertos a debate. Respecto a este apartado de control biológico, la presente tesis doctoral está enfocada en aportar conocimiento sobre los puntos 1, 2 y 3.

Existen casos previos en los que una especie empleada como controladora biológica contra especie/especies objetivo no resulta como se esperaba *a priori*, sino que se producen daños no previstos en la fauna y flora nativa. Por ejemplo, en España se encuentra la especie *Harmonia axyridis* (Pallas, 1773) (Coleoptera: Coccinellidae), una especie procedente de las estepas asiáticas y que depreda sobre diferentes especies de pulgones (BROWN *et al.*, 2007; ROY *et al.*, 2016). Esta especie ha sido importada por todo el mundo para la regulación de pulgones y sus plagas vinculadas, incluyendo nuestro territorio y Portugal (SESMA & GIL-TAPETADO, 2020). Sin embargo, esta especie empleada como controlador biológico resultó una especie competidora y en ocasiones depredadora de los coccinélidos autóctonos, produciendo, en cambio problemas alérgicos a humanos y de desplazamiento de la entomofauna nativa (ROY *et al.*, 2006; 2016). Por estas razones, esta especie utilizada como agente de control biológico se encuentra actualmente y desde 2013 en el Catálogo Nacional de Especies Exóticas Invasoras (MINISTERIO DE AGRICULTURA, ALIMENTACIÓN Y MEDIO AMBIENTE, 2013). Parecido a éste, es el caso de *Z. renardii*, un redúvido norteamericano empleado en el control biológico de diferentes artrópodos objetivo (DAVRANOGLU, 2011; LOZANO & DE DIOS, 2018; GOULA *et al.*, 2019). Esta especie es altamente generalista y depreda muchas especies diferentes y posee una alta capacidad de dispersión y asentamiento (LOZANO & DE DIOS, 2018), siendo un controlador biológico poco efectivo. En el caso de liberarse en una zona con una población elevada de una especie plaga, depredará sobre ella, pero también depredará cualquier otra especie no objetivo del sistema, siendo sometida a una presión y un vínculo trófico a la que no estaría en condiciones normales. Además, esta especie puede producir picaduras dolorosas al ser humano y, dado que su población está aumentando en sus zonas invadidas, es probable que estos casos aumenten con el tiempo (ROBINSON, 2005; MIRALLES-NÚÑEZ *et al.*, 2021). Sin embargo, pese a todas estas problemáticas asociadas a *Z. renardii*, aún existen estudios que recomiendan su uso y exportación (LICCARDO *et al.*, 2020). Tanto estos dos casos como el de esta presente tesis relacionada con *T. sinensis* y *D. kuriphilus* son excelentes casos de la dicotomía entre producción y la conservación asociados a insectos.



¿POR QUÉ ESTA TESIS?

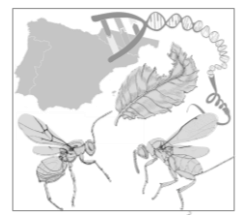


Esta tesis doctoral aborda mediante diferentes enfoques la problemática de la especie invasora *Dryocosmus kuriphilus*, *plaga del castaño*, así como la liberación en el medio natural para su control de la especie también foránea *Torymus sinensis*. El foco de esta tesis doctoral se centra en un problema de plagas y control biológico intentando comprender sus implicaciones tanto en lo que se refiere estrictamente a la problemática silvícola y forestal como a su repercusión socioeconómica, y en la conservación del patrimonio natural. La cría en el laboratorio para la posterior liberación en la naturaleza de *T. sinensis* como controlador biológico de la plaga del castaño se había facilitado, primero en distintos países donde comenzó la plaga y posteriormente en España, sobre la base de estudios previos incompletos o sesgados que asumían una alta especificidad de dicho agente de control sobre su hospedador. Sin embargo, el uso masivo de *T. sinensis* plantea una serie de interrogantes e incertidumbres que los estudios previos, sesgados y orientados directamente a la producción forestal, no habían tenido en cuenta, referidos a aspectos clave de la biología gallícola, parasitoide y de la biología de las especies del género *Torymus*. Algunos ejemplos de estos aspectos son el conocimiento estricto del rango de hospedador (cuánto de especialista o generalista son las especies), cuáles son las especies cercanas filogenéticamente (y así conocer las especies con más riesgo de hibridación y sus tiempos de divergencia a lo largo de la historia evolutiva), la competencia interespecífica o la plasticidad fenotípica de las agallas y la influencia climática.

Para tener una visión amplia, considerando de forma pormenorizada la biología de las especies, se han seguido diferentes puntos de vista. Éstos son el biogeográfico, el ecológico y el filogenético. Estos enfoques no son excluyentes, sino que poseen relaciones y retroalimentaciones entre ellos, construyéndose los contenidos de esta tesis doctoral sobre estos pilares. Considerando estos enfoques, la tesis doctoral está dividida en tres capítulos referidos a cada uno de ellos, que recopilan y organizan ocho artículos científicos (actualmente siete publicados y uno en proceso de publicación). Además, se incluyen anexos de otros trabajos publicados derivados de la tesis doctoral, como dos contribuciones con especies nuevas para la ciencia (*Parochthiphila carinata* y *Mesopolobus delafuentei*) y otra con la reconstrucción histórica de la invasión de *D. kuriphilus* en Galicia, así como el informe para la inclusión de *D. kuriphilus* en el Catálogo Español de Especies Exóticas Invasoras.

El primer capítulo, referido a cuestiones relacionadas con Biogeografía, se titula DISTRIBUCIÓN REAL Y POTENCIAL DE *D. KURIPHILUS* Y *T. SINENSIS*. Este capítulo se ha elaborado e incluido en esta tesis doctoral para mostrar e ilustrar cómo es y cómo ha sido la colonización en España de *D. kuriphilus* y dónde se ha liberado o ha dispersado de manera natural *T. sinensis*. El conocimiento de dónde se encuentran las especies relacionadas con esta tesis doctoral es indispensable para poder estudiarlas de forma óptima, conociendo todos los focos de la plaga y dónde se encuentra actualmente (2020-2021) la especie que se utiliza como controlador biológico de la misma. Esto no es únicamente interesante desde el punto de vista científico sino lo es, especialmente, desde la perspectiva de la gestión, tanto desde el punto de

¿POR QUÉ ESTA TESIS?



vista de la producción forestal como de la conservación de las especies nativas. De este modo, eliminamos el déficit de conocimiento wallaceano para *D. kuriphilus* y *T. sinensis* en España. Este capítulo lo componen tres artículos y se complementa con el artículo GIL-TAPETADO *et al.*, 2021a del anexo. Los artículos que lo componen son: GIL-TAPETADO *et al.*, 2018, NIEVES-ALDREY *et al.*, 2019 y GIL-TAPETADO *et al.*, 2020.

El segundo capítulo, referido a cuestiones relacionadas con la Ecología (relaciones con el clima, comunidades biológicas y relaciones interespecíficas parasitoide-hospedador), se titula RELACIONES DE *D. KURIPHILUS* CON EL AMBIENTE Y LA ENTOMOFAUNA PARASITOIDE. Este capítulo se ha elaborado e incluido en esta tesis doctoral para mostrar cómo influye, por una parte, las diferentes climatologías ibéricas (mediterránea y eurosiberiana) en la formación de las agallas de *D. kuriphilus*, y, por otra, la fauna local e introducida de parasitoides asociada con esta especie plaga e invasora en distintas partes de España. En este último punto se pone de manifiesto la alta capacidad que tiene *D. kuriphilus* para reclutar parasitoides nativos y haber fundado *de novo* una comunidad biológica en nuestro territorio. Hay que considerar que España contiene diferentes subunidades climáticas y geográficas, y esto ayuda a entender las relaciones de *D. kuriphilus* en esta región peninsular, que puede ser comparada con un continente en miniatura. Al tener en cuenta esta respuesta diferencial, podemos obtener respuestas más concretas y menos generales, así como comprender cómo se comporta *D. kuriphilus* en diferentes escenarios de temperatura, precipitación, y con diferentes componentes de las comunidades nativas de parasitoides. Además, en este capítulo se incluyen dos conceptos biológicos ampliados, novedosos y relacionados con *D. kuriphilus*, por una parte, la biogeografía de islas dentro del continente (ver página 35, *Parasitoides* y *Superfamilia Chalcidoidea*; GIL-TAPETADO *et al.*, 2021b) y la sincronización/escape de *D. kuriphilus* de los parasitoides nativos por la ventana de oportunidad del ataque, que es dependiente del tamaño de la pared de la agalla (GIL-TAPETADO *et al.*, 2021c). Los artículos que lo componen son: GIL-TAPETADO *et al.*, 2021b, GIL-TAPETADO *et al.*, 2021c y GIL-TAPETADO *et al.*, 2021d.

El tercer capítulo, referido a cuestiones relacionadas con Filogenia (relaciones filogenéticas y tiempos de divergencia), se titula FILOGENIA DE *T. SINENSIS* Y LOS RIESGOS DE SU LIBERACIÓN EN EL MEDIO NATURAL. Este capítulo se ha elaborado e incluido en esta tesis doctoral para mostrar cómo está configurado el género *Torymus* asociado a agallas de Cynipidae, cuáles son las especies más cercanas filogenéticamente a *T. sinensis* y los tiempos de divergencia entre estas especies. De esta manera, podemos comprender mejor los riesgos de hibridación entre las especies nativas de *Torymus* y *T. sinensis*. Aprovechando este estudio molecular, se han estudiado complementariamente más aspectos acerca del género *Torymus*, como qué biología fue ancestral, la especialista o la generalista, qué procesos y mecanismos evolutivos han seguido estas especies o si existen especies crípticas entre las especies descritas de este grupo. Todo este conocimiento debería de ser una base previa acerca de *Torymus* y de *T. sinensis*, que debería haber sido ya estudiada antes de empezar la liberación de esta especie en el medio natural como controlador biológico, y

¿POR QUÉ ESTA TESIS?



así haber minimizado algunas de las incertidumbres y preguntas planteadas. Los artículos que lo componen son: GIL-TAPETADO *et al.*, 2021e y GIL-TAPETADO *et al.*, no publicado.

Por lo tanto, esta tesis doctoral reúne 5 años de trabajo de diferentes grupos de investigación y de entidades académicas: Museo Nacional de Ciencias Naturales, Universidad Complutense de Madrid y Universidad de Santiago de Compostela. Esta tesis plantea ampliar los límites del conocimiento existente (o bien reducir los diferentes déficits de conocimiento, Tabla 3) acerca de las especies *D. kuriphilus* y *T. sinensis*, sus interrelaciones, y sus relaciones con el ambiente y con la fauna nativa, así como la biología de los parasitoides y gallícolas y su historia evolutiva. Como cualquier tesis doctoral, la presente tesis también aporta nuevo conocimiento al mundo científico y a la humanidad (Figura 30).

Tabla 3. Recopilación y definición de los siete grandes déficits de conocimiento sobre la biodiversidad, siguiendo a HORTAL *et al.*, 2015.

Déficit de conocimiento	Definición
Linneano	La mayoría de las especies en la Tierra no se han descrito ni catalogado; este concepto puede extenderse a especies extintas.
Wallaceano	El conocimiento sobre la distribución geográfica de la mayoría de las especies es incompleto, siendo en general inadecuado a todas las escalas.
Prestoniano	Falta de conocimiento sobre la abundancia de especies, y los datos sobre la dinámica espacial y temporal de las poblaciones son a menudo escasos.
Darwiniano	Falta de conocimiento sobre el árbol de la vida, así como sobre la historia evolutiva de las especies y la evolución de sus rasgos.
Raunkiærano	Falta de conocimiento sobre los rasgos funcionales de las especies y sus funciones ecológicas.
Hutchinsoniano	Falta de conocimiento sobre las respuestas y los niveles de tolerancia de las especies a las condiciones abióticas (es decir, su nicho escenopoético).
Eltoniano	Falta de conocimiento sobre las interacciones ecológicas entre las especies, así como sus efectos sobre la supervivencia y la eficacia biológica (fitness) de los individuos.

¿POR QUÉ ESTA TESIS?

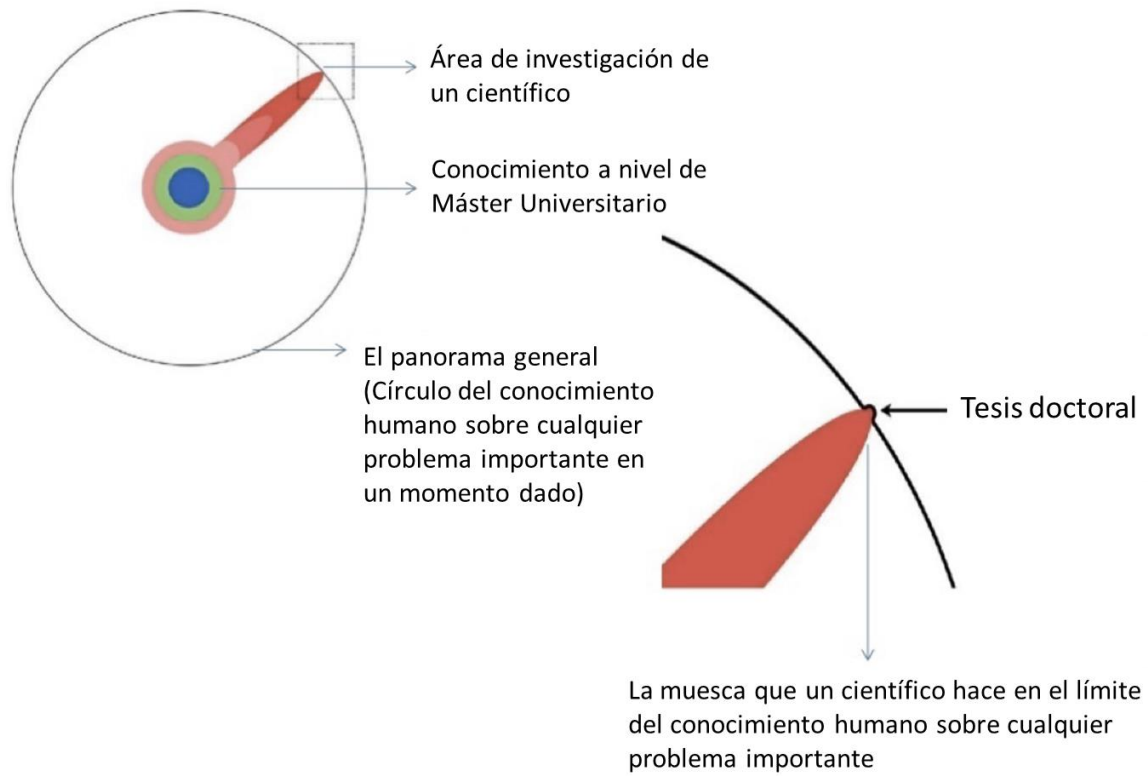
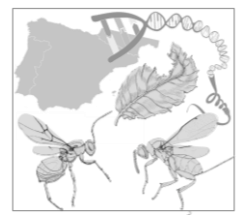


Figura 30. Diagrama de la ampliación de los límites del conocimiento por una tesis doctoral (Modificado de la ilustración de Matthew Might, *The illustrated guide to a Ph.D.* MIGHT, 2010).

“Keep pushing.”



OBJETIVOS



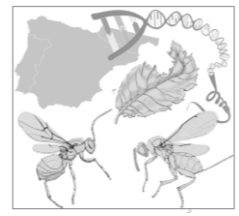
El objetivo principal de esta tesis doctoral es contribuir a aumentar el conocimiento acerca de la problemática de *Dryocosmus kuriphilus*, *Torymus sinensis* y la fauna nativa, con especial enfoque en tres disciplinas biológicas: Biogeografía, Ecología y Filogenia, así como en otros campos, como la Taxonomía y la descripción de nuevas especies, y la Gestión (mediante la elaboración de un informe para la inclusión de *D. kuriphilus* en el Catálogo Español de Especies Exóticas Invasoras). Los objetivos específicos centrados en este marco de trabajo se enumeran a continuación:

I) OBJETIVOS RELACIONADOS CON LA AMPLIACIÓN DEL CONOCIMIENTO DE LA DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA EN ESPAÑA DE *DRYOCOSMUS KURIPHILUS* Y *TORYMUS SINENSIS*.

- ☞ Conocer y caracterizar la distribución actual de *D. kuriphilus* en España (al menos hasta 2019-2020).
- ☞ Conocer la distribución potencial de *D. kuriphilus* en España, realizando modelos de distribución de especies para poder identificar y predecir cuáles son las zonas más idóneas donde esta especie invasora se puede establecer.
- ☞ Realizar modelos de dispersión anual de *D. kuriphilus* en España a diferentes escalas para poder predecir el avance de esta especie invasora por los diferentes territorios.
- ☞ Conocer y caracterizar la distribución actual de *T. sinensis* en España (al menos hasta 2019-2020).
- ☞ Conocer y caracterizar la dispersión de *T. sinensis* en España y a través de sus fronteras políticas y geográficas.
- ☞ Conocer las tasas de parasitismo y el tamaño de las poblaciones de *T. sinensis* en diferentes partes de España.



OBJETIVOS



II) OBJETIVOS RELACIONADOS CON LA AMPLIACIÓN DEL CONOCIMIENTO DE LA ECOLOGÍA DE *DRYOCOSMUS KURIPHILUS*, *TORYMUS SINENSIS* Y SUS COMUNIDADES BIOLÓGICAS.

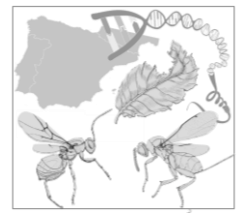
- ☞ Estudiar la variabilidad en la morfología de las agallas de *D. kuriphilus* dependiendo de la variabilidad climatológica presente en la península ibérica en función de la latitud (mediterránea y eurosiberiana).
- ☞ Conocer las comunidades biológicas de parasitoides (Chalcidoidea) y otra entomofauna nativa reclutados por *D. kuriphilus* en dos áreas importantes para el castaño de España (Málaga y Galicia).
- ☞ Conocer cuánto tiempo tardan en colonizar los parasitoides nativos las agallas de *D. kuriphilus*.
- ☞ Conocer qué características morfológicas de las agallas de *D. kuriphilus* facilitan o impiden el parasitismo de la fauna nativa e introducida.
- ☞ Estudiar la influencia de las variables climáticas y meteorológicas en las agallas de *D. kuriphilus* y su parasitismo.
- ☞ Examinar el papel de *T. sinensis* en las comunidades biológicas de parasitoides reclutadas por *D. kuriphilus* en Galicia y Málaga.
- ☞ Relacionar el rápido reclutamiento de parasitoides por parte de las agallas de *D. kuriphilus* con hipótesis y teorías biológicas.



III) OBJETIVOS RELACIONADOS CON LA AMPLIACIÓN DEL CONOCIMIENTO DE LA FILOGENIA DE *TORYMUS* Y LOS RIESGOS DE LA LIBERALIZACIÓN DE *TORYMUS SINENSIS*.

- ☞ Recuperar las relaciones filogenéticas de las especies de *Torymus* asociadas a la familia Cynipidae, incluyendo a *T. sinensis*.
- ☞ Conocer los tiempos de diversificación de las especies de *Torymus* asociadas a la familia Cynipidae.

OBJETIVOS



- ☞ Relacionar la filogenia de las especies de *Torymus* asociadas a la familia Cynipidae con su ecología y obtener nuevo conocimiento englobando estas dos disciplinas.

- ☞ Caracterizar a las especies de *Torymus* asociadas a la familia Cynipidae como generalistas o especialistas y definir estos términos para este grupo concreto.

- ☞ Estudiar qué fue antes en el grupo de los *Torymus* asociados a la familia Cynipidae, las especies generalistas o las especialistas.

- ☞ Relacionar la filogenia de las especies de *Torymus* asociadas a la familia Cynipidae con el tiempo evolutivo y las posibles causas de su diversificación y aparición de los grupos especialistas/generalistas.

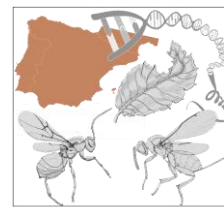
- ☞ Conocer los riesgos ambientales de la suelta de *T. sinensis* en el medio natural (hibridación y rango de hospedador).

- ☞ Identificar las especies de *Torymus* nativas más cercanas filogenéticamente a *T. sinensis* e investigar la posible hibridación entre ellas considerando los tiempos de divergencia de los sublinajes respectivos

- ☞ Conocer qué especies de Cynipidae nativos son más vulnerables al ataque de *T. sinensis*, cuáles son sus características y cuál ha sido hasta el momento actual la incidencia de esta especie exótica sobre ellas.



CAPÍTULO I: Distribución real y potencial de *D. kuriphilus* y *T. sinensis*



Este capítulo, relacionado con la Biogeografía, trata de conocer dónde están distribuidas las especies foráneas *D. kuriphilus* y *T. sinensis* en España, considerando el papel invasor de la primera y el papel de controlador biológico, y con posibles riesgos ambientales de la segunda. Como se comentó previamente, eliminar el déficit de conocimiento wallaceano y hutchinsoniano acerca de estas especies, una plaga y otra agente de control biológico, ayuda tanto a labores de gestión como a labores de conservación, caracterizando las áreas donde están presentes y cuáles de ellas son más vulnerables. Los trabajos que componen este capítulo son:

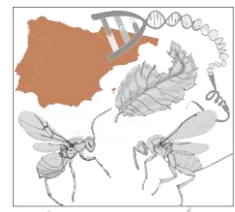
I. GIL-TAPETADO D, GÓMEZ JF, CABRERO-SAÑUDO FJ, & NIEVES-ALDREY JL. (2018). Distribution and dispersal of the invasive Asian chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera: Cynipidae), across the heterogeneous landscape of the Iberian Peninsula. *European Journal of Entomology*, 115: 575-586. URL: https://www.eje.cz/artkey/eje-201801-0055_distribution_and_dispersal_of_the_invasive_asian_chestnut_gall_wasp_dryocosmus_kuriphilus_hymenoptera_cynipi.php Página 70.

II. NIEVES-ALDREY JL, GIL-TAPETADO D, GAVIRA ÓN, BOYERO JR, POLIDORI C, LOMBARDEO, MJ, BLANCO D, REY C, RODRÍGUEZ-ROJO MP, VELA JM, & WONG ME. *Torymus sinensis* Kamijo, a biocontrol agent against the invasive chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu in Spain: its natural dispersal from France and first data on establishment after experimental releases. *Forest systems*, 28(1): e001. URL: <https://revistas.inia.es/index.php/fs/article/view/14361> Página 82.

III. GIL-TAPETADO D, RODRÍGUEZ-ROJO MP, VALDERAS SABIDO A, & NIEVES-ALDREY JL. (2020). Newly invaded territories by *Dryocosmus kuriphilus* in Spain and first records of *Torymus sinensis* in the Sistema Central. *Forest systems*, 29(2), 219-225. URL: <https://revistas.inia.es/index.php/fs/article/view/16384> Página 93.

En estos trabajos se detalla la distribución de *D. kuriphilus* y *T. sinensis* en España. En GIL-TAPETADO *et al.*, 2018 se relaciona la presencia de *D. kuriphilus* con la idoneidad del territorio como medida de calidad de las áreas para satisfacer el nicho ecológico de la especie bajo el prisma del nicho climático y las variables que lo condicionan. En este artículo se desarrolla una metodología novedosa acerca de la modelización de distribución de especies, concretamente en la elaboración de pseudoausencias y *background*, que ha sido utilizada en otros trabajos posteriores como ROSAS-RAMOS *et al.*, (2020), POLIDORI *et al.*, (2021) (en el que se detalla profundamente esta metodología), SARDÓN-GUTIÉRREZ *et al.*, (2021), GÓMEZ *et al.*, 2021 y GIL-TAPETADO *et al.*, no publicado (premiado en los VI Premios Nacionales de Entomología para Jóvenes Investigadores de la Asociación Española de Entomología de 2021). También en este artículo se desarrollan modelos predictivos de dispersión, considerando la dispersión natural de *D. kuriphilus*. Sin embargo, las predicciones no han funcionado correctamente, debido a los movimientos de castaños infestados dentro de los territorios, distorsionando y no encajando la realidad con los resultados del artículo, que consideraban la mayor capacidad de dispersión natural de *D. kuriphilus*. Es decir, la realidad de la dispersión de *D. kuriphilus* ha sido peor que los modelos de dispersión que

CAPÍTULO I: Distribución real y potencial de *D. kuriphilus* y *T. sinensis*



consideraban el peor de los escenarios, como puede verse en GIL-TAPETADO *et al.*, (2021a) (en los anexos de esta tesis doctoral). Además, en GIL-TAPETADO *et al.*, 2018, se comunica la presencia de *D. kuriphilus* en los dos Reales Jardines Botánicos de la ciudad de Madrid, el Real Jardín Botánico de Madrid, ubicado en el centro de la capital y el Real Jardín Botánico Alfonso XIII ubicado en el campus de la Universidad Complutense. La presencia de *D. kuriphilus* en la ciudad de Madrid es discutida en GIL-TAPETADO & NIEVES-ALDREY, 2018, al no existir una razón clara de cómo ha podido llegar esta especie invasora a la ciudad sin una, *a priori*, movilización de castaños.

En NIEVES-ALDREY *et al.*, 2019, se estudia la presencia de *T. sinensis* en España y su incidencia en *D. kuriphilus* en diferentes partes de la geografía nacional. En este artículo se destacan las diferencias de tasas de parasitismo entre dos regiones, Málaga (Andalucía) y Galicia, siendo mayor en la primera zona, pudiendo deberse a una mejor climatología en el primer territorio. Estas diferencias también pueden ser detectadas en las comunidades biológicas de parasitoides reclutados por *D. kuriphilus*, discutiéndose en GIL-TAPETADO *et al.*, (2021b) (en el capítulo II de esta tesis doctoral). En NIEVES-ALDREY *et al.*, 2019 se describe la dispersión natural de *T. sinensis* en la península ibérica desde Francia por el corredor oeste de los Pirineos, a través de Navarra hacia el interior y el País Vasco. En esta área es donde aparece una mayor tasa de parasitismo en España, siendo una zona donde no se ha soltado *T. sinensis* de forma deliberada en programas de control y donde mayor puede ser su efecto en las poblaciones de *D. kuriphilus*. Esto pone de manifiesto la alta capacidad dispersiva de *T. sinensis*, una característica que entra en contradicción con uno de los factores (el punto 4, fácil sustracción del medio después de su uso) que califican la idoneidad de una especie para su uso como agente de control biológico.

En GIL-TAPETADO *et al.*, 2020, se actualizan los mapas de distribución de *D. kuriphilus* de GIL-TAPETADO *et al.*, 2018, poniendo el foco en el Sistema Central de la península ibérica. En este artículo se pone de manifiesto que la probabilidad de dispersión de *D. kuriphilus* y colonizar los castaños del Sistema Central era *a priori* baja, teniendo en cuenta que la única ruta natural de colonización desde las localidades infectadas de Portugal cercanas a la frontera con España, a través de la Sierra de Gata. Sin embargo, en este artículo se describen varios puntos de presencia de *D. kuriphilus* en el Sistema Central. En el trabajo se concluye que dichos focos no están relacionados con los de presencia de la especie citados en la ciudad de Madrid y tampoco con los portugueses más cercanos a la frontera española, sino que son debidos a una movilización humana de castaños infestados. Por otra parte, en este trabajo se describe la primera cita de *T. sinensis* en un medio natural de la zona central de la península ibérica y se discute si la presencia de esta especie se debe a dispersión desde otras zonas o, más probablemente a liberación sin autorización. También se pone de manifiesto la rápida capacidad de reclutamiento de *D. kuriphilus* de la fauna parasitoide presente en *Quercus*, atacando las agallas de los castaños en su mismo año de colonización en la zona. Las razones de esta capacidad de reclutamiento se abordan en GIL-TAPETADO *et al.*, 2021b (en el capítulo II de esta tesis doctoral).



Distribution and dispersal of the invasive Asian chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera: Cynipidae), across the heterogeneous landscape of the Iberian Peninsula

DIEGO GIL-TAPETADO^{1,2}, JOSÉ F. GÓMEZ², FRANCISCO J. CABRERO-SAÑUDO² and JOSÉ L. NIEVES-ALDREY¹

¹ Museo Nacional de Ciencias Naturales, José Gutiérrez Abascal 2, Madrid 28006, Spain; e-mail: mcnna38@mncn.csic.es

² Universidad Complutense de Madrid, Comunidad de Madrid, Spain; e-mails: diego.gil@ucm.es, jf.gomez@bio.ucm.es, fjcabrero@bio.ucm.es

Key words. Hymenoptera, Cynipidae, *Dryocosmus kuriphilus*, Asian chestnut gall wasp, invasive species, niche models, dispersal, distribution, Iberian Peninsula

Abstract. *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera: Cynipidae), also known as the Asian chestnut gall wasp, is a non-native invasive species that has recently appeared in many regions of Europe, including the Iberian Peninsula. This species is an important pest of chestnut trees in several regions and is of concern for foresters in these areas. The results of this research revealed 14 different hotspots of infestation of *D. kuriphilus* and resulted in the development of models that predict the distribution of *D. kuriphilus* in Spain over the next 37 years (2019–2055). These results indicate a rapid spread in all Spanish chestnut forests and identify areas that are theoretically highly suitable and susceptible to colonization by this cynipid based on predictions of three different niche models. Although *D. kuriphilus* is able to induce galls on all chestnut trees, the models indicate that there are differences in the suitability of the different regions for this species. This differential suitability results in some areas having better environmental conditions than others for *D. kuriphilus*, which is a factor that should be taken into account in its management and biological control. This study of the current distribution, patterns of dispersal using GIS and potentially suitable areas for *D. kuriphilus*, using niche models will assist in the management and control of this pest in Spain.

INTRODUCTION

The Asian chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, 1951 (Hymenoptera: Cynipidae), is a cynipid species native to southern China, where it induces galls on all species of *Castanea* Mill. (Fagaceae). Taxonomically, it is included in the tribe Cynipini (Hymenoptera: Cynipidae), a large group of cynipids commonly known as oak gall wasps, with approximately 1000 species that induce galls on plants in the family Fagaceae, especially *Quercus* L. (Nieves-Aldrey, 2001). *Dryocosmus kuriphilus* is univoltine, involving parthenogenetic thelytokous reproduction, which means that only females are known. The adult females are small insects of approximately 2 mm in length and their life expectancy is only approximately ten days. Adults emerge from galls between May and August and lay eggs in chestnut buds that will develop into galls the next spring (Yasumatsu, 1951; CABI, 2015), which prevents the formation of healthy shoots and leaves (Maltoni et al., 2012).

Dryocosmus kuriphilus induces galls on new shoots, stipules and leaves of chestnut (*Castanea* spp.). It has been reported that *D. kuriphilus* adversely affects chestnut trees by reducing fruit production by up to 80% (EFSA,

2010), modifying plant architecture (Gehring et al., 2017) and even rarely negatively affecting the survival of trees (Payne et al., 1975). This cynipid is distributed in different regions around the world where chestnut forests are present, such as Japan (Oho & Umeya, 1975), North America (Payne et al., 1975) and Europe (Brussino et al., 2002).

Gall wasp proliferation and invasiveness in newly colonized areas is facilitated by the absence of natural enemies (Stone et al., 2002). Despite the recruitment of numerous indigenous parasitoids by *D. kuriphilus* after its arrival in Europe, which shifted onto this new resource from the Cynipini parasitoid communities on oaks, none were able to control this invasive species (Aebi et al., 2006, 2007; Cooper & Rieske, 2007; Quacchia et al., 2012). As these native parasitoids are not effective in controlling the abundance of *D. kuriphilus*, there have been attempts to control it using its natural enemy, *Torymus sinensis* Kamijo, 1982 (Hymenoptera: Torymidae) (Moriya et al., 1989; Murakami et al., 2001). This torymid, also a native of China, has been used in different countries against *D. kuriphilus* with good results (Moriya et al., 2003; Cooper & Rieske, 2007; Quacchia et al., 2012; Matošević et al., 2016; Ferracini et al., 2018).

In addition to short-distance dispersal (SDD) by flying and wind-assisted passive transportation (Graziosi & Rieske, 2012), the dispersal of *D. kuriphilus* has also been facilitated by passive long-distance dispersal (LDD). Such dispersal mainly occurs through the trade in and transport of infested chestnut trees from chestnut nurseries. These chestnut trees have dormant buds in which *D. kuriphilus* had previously laid eggs in their place of origin (Bernardo et al., 2013). LDD is considered to be the most important factor determining the dispersal of *D. kuriphilus*, especially the colonization of distant areas (Quacchia et al., 2008; Gilioli et al., 2013). By this means of dispersal, *D. kuriphilus* arrived in Catalonia in 2012 (northeast Iberian Peninsula) (EPPO, 2012; Pujade-Villar et al., 2013), spread to other Spanish regions, such as Galicia (northwest Iberian Peninsula) and Málaga (Andalusia, southern Iberian Peninsula), and arrived in Portugal in 2014 (EPPO, 2014). Some authors have suggested that the rapid spread of *D. kuriphilus* is related to the genetics of the European populations of this species (Bonal et al., 2018; Avtzis & Matosevic, 2013).

Chestnut trees in Spain occur in the wet northern part of the country, except the Pyrenees; they are also present in the Midwest and southern half of Spain, although a few trees are also found in various urban areas and gardens throughout Spain. Therefore, all the mentioned areas are likely to be susceptible to *D. kuriphilus* and should also be monitored and managed.

One of the most important tools that can be used for monitoring invasive species in different areas are species distribution models, which assess the potential of a region for invasion (Jiménez-Valverde et al., 2011). By overlapping different climatic variables and the current distribution of a species, it is possible to infer the requirements or ecological preferences of *D. kuriphilus*, such as, optimal temperatures (Bonsignore & Bernardo, 2018). Taking this into account, predictions regarding the presence or absence of populations in a particular area can be made using mathematical models that describe the potential distributions of species. For this gall-inducing species, the distribution of its hosts can be used as a predictor of its potential distribution (Nieves-Aldrey et al., 2006; Rodríguez et al., 2015).

Therefore, updating the knowledge on gall wasp occurrence in Spain and providing tools for monitoring its spread may fill the gaps in its geographic distribution and will facilitate management. In this study, we aim to (a) characterize the current distribution of *D. kuriphilus* in Spain, (b) predict the spread of this species regarding only its SDD, taking into account that there are no new LDD events that affect their natural dispersal, and (c) identify the most suitable areas in Spanish forests using niche models.

MATERIALS AND METHODS

Current distribution of *D. kuriphilus* in Spain

We obtained georeferenced, nation-wide and unpublished records from the Spanish Ministry of Agriculture (MAGRAMA, 2015), departments of forests and biodiversity of Catalonia (MNBC, 2015) and Andalusia (JAND, 2015), research by Perez-Otero et al. (2017) and the Biodiversidad Virtual database (BVdb) (BVdb, 2018a). These 24,916 georeferenced records

of *D. kuriphilus* in Spain were combined in two maps showing where this species of cynipid was present, one for 2012 to 2015, the early period of the spread, and another for 2012 to 2018, the current distribution. Most of the records are for the Catalanian region (Fig. 1A) mainly because of the quality of the information provided by MNBC. As the number of records per unit area for Catalanian was higher than that for other regions, a lower number of records was used to homogenize the number of locations where *D. kuriphilus* was present. This method prevents a possible bias that would result if all 414 locations for Catalanian were used to evaluate the model performance as it would suppress other data on the niche of *D. kuriphilus* in this region. Maximum and minimum values of each climatic variable for all the records for the Catalanian region were taken into account, and equal proportions of data points were selected for each area (Fig. 2).

Based on the information available up to 2018, it is assumed that, in the absence of any control of *D. kuriphilus*, this cynipid wasp is still present and abundant in areas where it was recorded in previous years. In addition, *D. kuriphilus* has been able to spread by SDD and colonize adjacent areas.

A map of the distribution of *C. sativa* was created using georeferenced records from different sources: the GBIF (Global Biodiversity Information Facility) (GBIF Data Portal, 2018), MAGRAMA (unpublished data) and BVdb (BVdb, 2018b). Data from GBIF and BVDB were appropriately processed and filtered, and possible inconsistencies, such as locations with very low georeferenced accuracy or errors, were deleted and only the records from the period 1997 to 2018 were selected for homogenization with other records. All these chestnut tree records were used to predict the spread and potential distribution of *D. kuriphilus* in Spain.

This dataset constitutes an approximation of the current distribution of chestnut trees in Spain, especially the large number of trees of commercial interest and those of public heritage. However, it is assumed that some chestnut trees were not included because they were not georeferenced or referenced in official and inaccessible data sources.

Differences among values of bioclimatic variables for Spain were analyzed using a paired Student t-tests with a Bonferroni correction based on a similar number of locations for each of the regions considered.

Models of dispersal of *D. kuriphilus*

The models were used to identify chestnut trees that could theoretically be threatened by *D. kuriphilus* in the next 37 years (2019–2055). These models were constructed using the distribution map of all the records of *C. sativa* in Spain, the values of the mean annual linear rate of SDD for *D. kuriphilus* (6.6 km/year), and the maximum annual rate of 11 km/year based on the results of Gilioli et al. (2013). Due to a lack of data regarding the mean rate of dispersal for this cynipid species in Spain, the information derived from this approach was used to determine the annual rate of dispersal in threatened areas. Previous research, such as that of Gilioli et al. (2013), provides many parameters describing the dispersal of *D. kuriphilus*. However, in Spain, research on this pest began only recently and there are several factors that can affect the dispersal of *D. kuriphilus* (Fernandez-Conradi et al., 2017), which have not yet been measured. Other examples of parameters that can influence the dispersal of *D. kuriphilus* are wind, precipitation and temperature. In fact, the annual range of high temperatures may affect *D. kuriphilus* development and activity (Bonsignore & Bernardo, 2018) because, as *D. kuriphilus* is an ectotherm, low temperatures can limit or reduce its dispersal, while high temperatures can increase its dispersal ability. We aimed to study these aspects because of the lack of previous

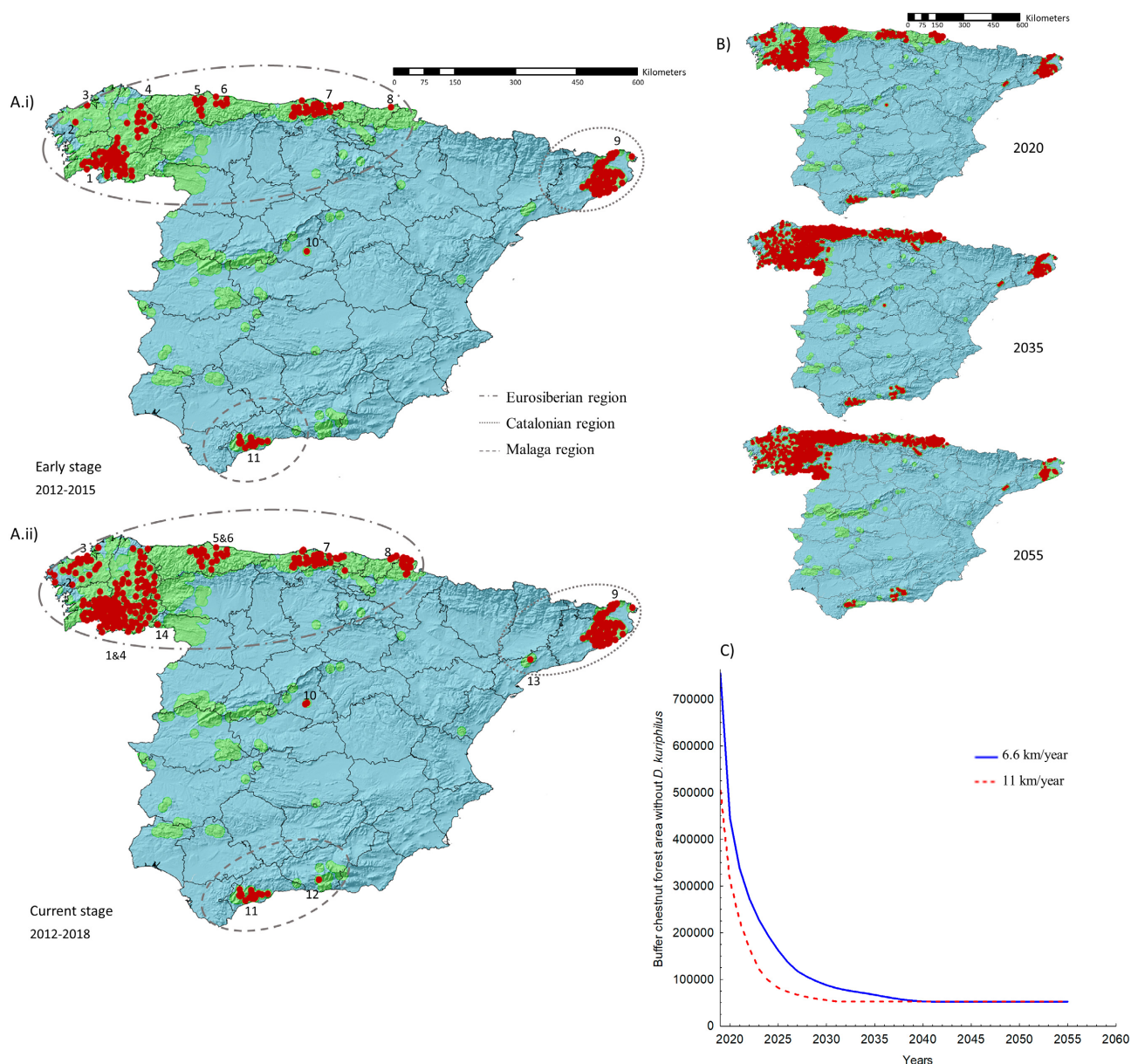


Fig. 1. A.i: Map showing the distribution of *D. kuriphilus* early in its colonization of Spain (up to April 2015). Red spots indicate the presence of *D. kuriphilus*, green spots uninfested chestnuts. Circles indicate infestation hotspots: 1 – West Ourense and East Pontevedra, 2 – Val do Dubra, 3 – A Coruña, 4 – East Lugo, 5 and 6 – central areas of Asturias, 7 – East Cantabria and West Vizcaya, 8 – Pasajes (Guipuzcoa), 9 – Catalonia, 10 – Madrid, and 11 – Sierra de las Nieves. A.ii: Current distribution of *D. kuriphilus* (up to May 2018). The current hotspots are 1&4 – West and South Galicia and El Bierzo, 2 – Val do Dubra, 3 – A Coruña, 5&6 – Central Asturias, 7 – East Cantabria and West Vizcaya, 8 – East Cantabria and West Basque Country, 9 – Catalonia, 10 – Madrid, 11 – Sierra de las Nieves, 12 – Lanjarón, 13 – Prades, and 14 – Alta Sanabria. B: Predicted gall wasp distribution in 2020, 2025 and 2035 using a mean SDD of 6.6 km/year. C: Predicted decrease in non-infested chestnut trees from 2019 to 2055. The solid line is that obtained using a mean rate of dispersal of 6.6 km/year, while the dashed line the maximum rate of 11 km/year.

studies on infestation rates of *D. kuriphilus* in Spain. The probability that an individual would infest a chestnut tree within its range of dispersal was based on the maximum distance it is able to disperse. For these models, LDD was not considered because it is impossible to predict.

The annual increase in the distribution of *D. kuriphilus* in Spain was analyzed using a buffer tool based on the total set of locations where it was present. This method used 6.6 and 11 km/year as the annual mean and maximum rates, respectively, to obtain the possible dispersal or influence area. By overlapping the buffers surrounding chestnut trees, new infestations of chestnut trees in subsequent years were predicted. This process was repeated itera-

tively until predictions for ten years were obtained. ArcGIS 10.1 (ESRI, 2010) software was used to generate the maps.

A graph of the estimated fitted curves of the infestation rate was also created, which shows that the area over which *C. sativa* occurs where *D. kuriphilus* is absent would decrease due to the possible expansion of the species each year based on the dispersal values. The estimated area was calculated using the overall trend in *D. kuriphilus* dispersal, which can stabilize at an asymptote or intersect the y-axis, indicating that it would hypothetically be able to infest all the chestnut trees in this area. These fitted curves were obtained using CurveExpert Professional 2.4 (Hyams, 2010).

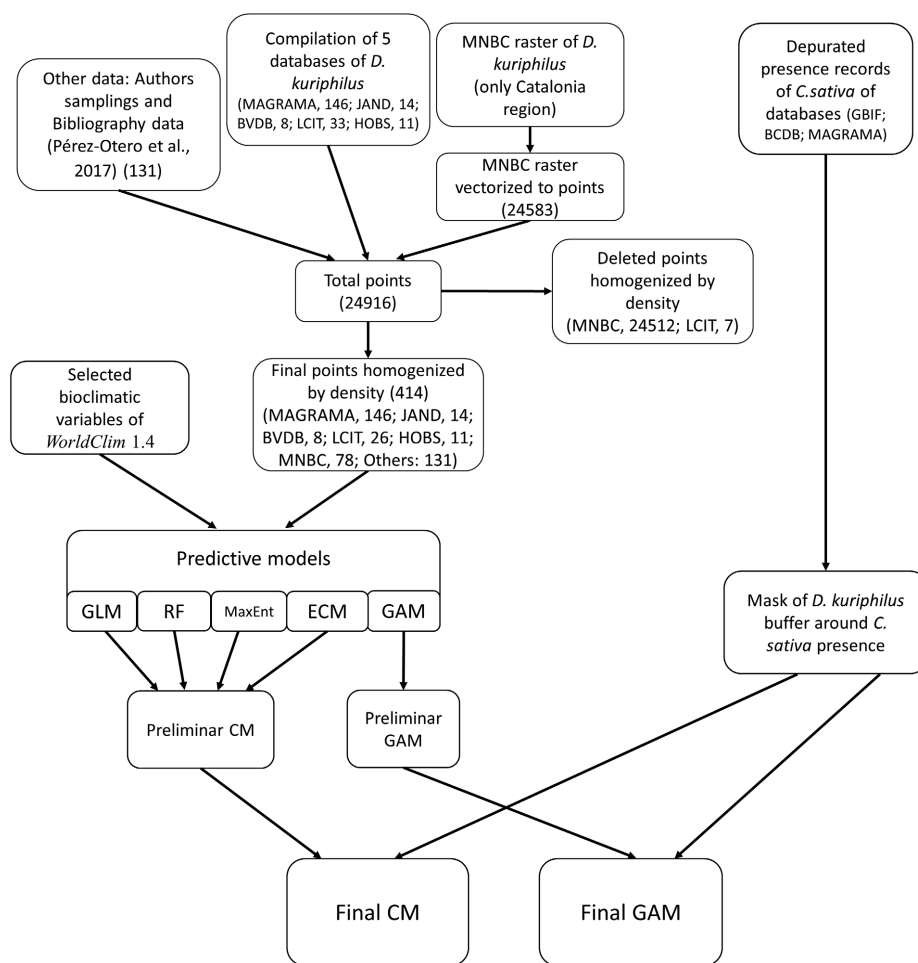


Fig. 2. PRISMA diagram of the methodology used in this study. This diagram includes the documentation of the search, the inclusion process and criteria for homogenizing the presence records, and a summary of the predictions of the models.

Models of the distribution of *D. kuriphilus*

For a better understanding of the incidence of *D. kuriphilus* and its possible future spread throughout Spain, five different types of predictive distribution models were constructed. The models were a generalized linear model (GLM), generalized additive model (GAM) (Guisan et al., 2002), random forest (RF) model (Breiman, 2001), maximum entropy (MaxEnt) model (Phillips et al., 2006; Phillips & Dudik, 2008) and environmental coverage model (ECM) (Jiménez-Valverde et al., 2011).

Furthermore, since all the records refer to galls on chestnut trees, it must be considered that the presence or absence of chestnut trees cannot be considered as a simple variable in the model but has to be considered as a limiting variable (Rodríguez et al., 2015). This means that at any point where chestnut trees were not recorded, the presence of *D. kuriphilus* galls could also not be recorded, even though dispersing adults of *D. kuriphilus* could potentially be found there. To solve this problem, this cynipid was considered a priori to be unable to disperse beyond the maximum or mean SDD values. Consequently, buffer areas around infested chestnut trees or with a high probability of infestation with the chestnut wasp were identified. This total buffer area of influence of *D. kuriphilus* was used as a limit on the preliminary models (Fig. 2).

The selection of bioclimatic variables was determined by the phenology of the adult cynipid. The adult stage occurs only for a short period of time, between May and August (Bernardo et al., 2013; Pérez-Otero et al., 2017), with the highest abundance in Spain recorded in the months of June and July (Gil-Tapetado

et al., unpubl. data); therefore, only summer variables were used in this analysis. Therefore, the chosen summer variables were extracted from WorldClim version 1.4 (Hijmans et al., 2005) at a scale of 30 arc seconds (Table 1). The variables bio08 (Mean Temperature in Wettest Quarter) and bio09 (Mean Temperature in Driest Quarter) were not included in the analysis due to their anomalous pattern in Spain and the great difference in values for areas that were very close together. Later, an iterative variance inflation factor (VIF) (Lin et al., 2011) analysis was conducted, which deleted correlated variables (VIF > 5). The chosen and non-correlated bioclimatic variables were bio03 (Isothermality), bio07 (Temperature Annual Range), bio16 (Precipitation of Wettest Quarter), bio17 (Precipitation of Driest Quarter).

ECMs are potential distribution models that take into account the fundamental niche, i.e., the potential suitability of an area, depending on the ranges in the values of the environmental variables for the habitat in which a species is located. Following Jiménez-Valverde et al. (2011), all bioclimatic variables were transformed, normalized and checked to verify that there were no discrepancies among them using the software Biomapper (Hirzel et al., 2007). Then, an iterative ecological niche factor analysis (Hirzel et al., 2002) was performed to obtain factors and eliminate redundant information. The correlations between bioclimatic variables are represented by a similarity dendrogram that includes only those that were not auto correlated. Subsequently, following the broken stick criterion used in the program, the first 6 factors were selected. Using these 6 factors, a discriminant model (using presences and pseudo absences) was generated in STATISTICA

Table 1. Bioclimatic variables from WorldClim 1.4 (except bio08 and bio09) and the altitude and codes used to refer to them in this study. The variables used in the environmental coverage model (ECM) are indicated by 1, while the variables used in the generalized linear (GLM), environmental coverage (ECM), maximum entropy (MaxEnt) and random forest (RF) models are indicated by 2. Mean, standard deviation (SD), and maximum (MAX) and minimum values (MIN) for the locations where *D. kuriphilus* is present in all regions and three different regions in Spain (Euro Siberian, Catalanian and Malaga) are also included in the description of the area occupied by this cynipid wasp.

Variable	Code	Total regions				Euro Siberian region				Catalonian region				Malaga region			
		MEAN	SD	MAX	MIN	MEAN	SD	MAX	MIN	MEAN	SD	MAX	MIN	MEAN	SD	MAX	MIN
Altitude	Alt	465.1	300.2	147	-1	403.6	276.9	1447	-1	305.9	256.7	934	1	750.8	189.0	1145	115
Annual mean temperature ¹	bio01	13.5	1.5	17.9	7.7	12.7	1.2	14.9	7.7	14.4	1.3	16.2	11	14.8	0.9	17.9	13.1
Mean diurnal range [mean of monthly (max temp–min temp)] ¹	bio02	8.6	1.4	11.8	5.8	8.4	1.2	10.3	5.8	7.3	0.4	8.7	6.9	10.3	0.4	11.8	8.6
Isothermality (bio02·bio07)·100 ^{1,2}	bio03	3.8	0.3	4.4	3	3.9	0.2	4.4	3.5	3.1	0.1	3.5	3	4.0	0.0	4	3.8
Temperature seasonality (standard deviation·100) ¹	bio04	481.6	63.9	664.5	319.4	446.1	57.1	549.1	319.4	546.6	10.7	576.7	515.5	522.1	20.5	626	457
Max temperature of warmest month ¹	bio05	26.0	2.3	31.1	22.1	24.5	1.3	28.2	22.1	26.8	1.1	28.2	23.8	29.3	0.3	31.1	29.1
Min temperature of coldest month ¹	bio06	35.2	17.1	7.9	-2.1	3.4	1.9	7.9	-2.1	3.9	1.3	5.8	0.3	3.7	1.2	7.6	0.4
Temperature annual range (bio05–bio06) ^{1,2}	bio07	22.5	2.9	30.7	15.2	21.1	2.8	26	15.2	22.9	0.6	24.8	22	25.6	1.1	30.7	22.1
Mean temperature of warmest quarter ¹	bio10	19.9	1.8	24.2	14.8	18.6	0.9	21.1	14.8	21.6	1.2	23.1	18.3	21.9	0.6	24.2	21.5
Mean temperature of coldest quarter	bio11	7.6	1.6	12.3	1.6	7.3	1.7	10.7	1.6	7.7	1.3	9.6	4.6	8.6	1.1	12.3	5.7
Annual precipitation	bio12	952.5	225.0	1557	444	1098.7	167.8	1557	765	763.7	73.8	916	564	718.7	42.2	786	546
Precipitation of wettest month	bio13	130.5	31.1	242	56	148.4	27.5	242	102	98.9	6.9	110	81	108.6	5.3	119	71
Precipitation of driest month	bio14	28.2	17.1	70	1	35.3	12.6	70	16	36.7	7.0	51	19	28.0	0.7	8	1
Precipitation seasonality (coefficient of variation) ¹	bio15	41.6	16.1	72	19	37.0	8.9	49	20	25.0	4.1	35	19	67.1	2.0	72	51
Precipitation of wettest quarter ²	bio16	354.2	84.3	606	156	400.5	71.3	606	268	240.0	13.5	264	200	323.4	17.5	352	201
Precipitation of driest quarter ²	bio17	114.2	60.7	259	16	139.1	42.7	259	75	149.2	19.7	186	94	21.4	2.1	33	16
Precipitation of warmest quarter ¹	bio18	128.9	67.2	278	21	152.6	48.8	278	75	176.7	26.4	223	118	29.6	2.7	33	21
Precipitation of coldest quarter ¹	bio19	321.1	104.2	596	127	373.5	85.5	596	205	159.6	11.6	186	127	311.2	18.5	341	199

(Statistica-StatSoft Inc, 2009). By means of the second Mahalanobis distance (Farber & Kadmon, 2003), the environmental favourability for *D. kuriphilus* was calculated for each location. A location was considered to be potentially suitable for this species if its favourability was similar to or higher than the lowest favourability recorded for the localities where it was present, and a favourability map was generated. Moreover, using the calculated factors and presence data for *D. kuriphilus*, a raster layer was obtained using the algorithm BIOCLIM (Hijmans et al., 2005) implemented in the program DIVA-GIS (Hijmans et al., 2004). Finally, an ECM model map was generated in ArcGIS, which combined the favourability map and the BIOCLIM model.

The GLMs, GAMs and RF models were analyzed using R version 3.3.1 (R Development Core Team, 2008) in RStudio 0.99.903 (RStudio Team, 2016) using the dismo 1.1-4 (Hijmans et al., 2017), mgcv 1.8-23 (Wood, 2018) and randomForest 4.6-14 (Breiman & Cutler, 2018) packages. The MaxEnt models were constructed using the Maximum Entropy Species Distribution Modelling software, version 3.4.1 (Phillips et al., 2006; Phillips & Dudik, 2008). The Area under curve (AUC) values (Fielding & Bell, 1997) and explained deviance/variance of all models are presented in Table 2. The AUC values for the model evaluation were calculated using a random 30% of the total number of locations where *D. kuriphilus* was present.

A consensus model (CM) was also constructed using averages from the GLM, GAM, MaxEnt model, RF model and ECM. The decision regarding which models to include in this ensemble was made according to (1) the standard deviation per pixel of each resulting consensus model resulting from the combination of different models and (2) the comparison among models according to pixel favourability values based on the Euclidean dissimilarity

Table 2. Summary of the results of the four models used to construct the consensus model. This summary includes the type of absence (Type), percentage of the deviance or variance explained (Exp.Dev/Var %), and (AUC) values of the area under the curve for each model.

Model	Type	Exp.Dev/Var (%)	AUC
GLM	Weighted background	57	0.70
ECM	Only presences	95	–
RF	Pseudo absences	80	0.96
MAXENT	Weighted background	–	0.86

distance among the individual models. Similar models were included in CM in order to obtain a prediction of the favourability for this species, whereas dissimilar models were considered as different hypotheses.

RESULTS

Current distribution of *D. kuriphilus* in Spain

The map of the distribution of *D. kuriphilus* in Spain, which includes all the records available in May 2018, reveals that this species has a disjunct distribution (Fig. 1A), likely caused by LDDs due to human activity, such as chestnut forestry, although sporadically isolated trees can become infested resulting from SDD. The hotspots of *D. kuriphilus* occur in three different regions in this country: one Euro Siberian area and two separate Mediterranean areas; the regions of Catalonia and Malaga. In the early stages of colonization by *D. kuriphilus* in 2015, there were eleven different areas where the chestnut wasp was present in Spain, 8 in the Euro Siberian region of Spain (1–8) and 3 in the two Mediterranean regions (9–11): West Ourense and East Pontevedra (1), Val do Dubra (A Coruña) (2), A Coruña (3), East Lugo (4), central Asturias (in two separate areas, 5 and 6), East Cantabria and West Basque Country (7), Navarra and East Basque Country (8), Catalonia (Barcelona and Gerona) (9), Madrid (10) and Valle del Genal and Sierra de las Nieves (Malaga) (11) (Fig. 1A). Currently, in 2018, the spread of *D. kuriphilus* by SDD into adjacent areas has occurred as the hotspots 1 and 4 have become one continuous hotspot (1&4) as well as has the hotspots 5 and 6 (5&6). Hotspot 1&4 now includes the region of El Bierzo, along with Galicia, one of the most important areas for producing chestnuts. Hotspot 8, in the north, has become a continuous area of infected chestnut trees extending towards the south of France. In addition, there are two new hotspots in the Mediterranean region, Lanjarón (12), Prades (13), and one new hotspot in the Euro Siberian region, Alta Sanabria (14). It has also been recorded infesting trees in the central area of Spain, such as, the Tiétar valley

Table 3. Summary of the results of the paired student t-tests between bioclimatic variables from WorldClim 1.4 and altitude for three different regions where *D. kuriphilus* is present. Eur is the Euro Siberian region, Cat the Catalanian region, and Mal the Malaga region.

	Variables	t-value	p		Variables	t-value	p		
Alt	Cat vs. Eur	-2.366	0.021	*	bio10	Cat vs. Eur	12.828	0.000	**
	Cat vs. Mal	-7.857	0.000	**		Cat vs. Mal	-1.200	0.234	
	Eur vs. Mal	-5.612	0.000	**		Eur vs. Mal	-16.673	0.000	**
bio01	Cat vs. Eur	6.973	0.000	**	bio11	Cat vs. Eur	2.198	0.031	*
	Cat vs. Mal	-1.519	0.133			Cat vs. Mal	-3.052	0.003	*
	Eur vs. Mal	-9.041	0.000	**		Eur vs. Mal	-4.982	0.000	**
bio02	Cat vs. Eur	-5.235	0.000	**	bio12	Cat vs. Eur	-10.492	0.000	**
	Cat vs. Mal	-27.835	0.000	**		Cat vs. Mal	2.891	0.005	*
	Eur vs. Mal	-8.226	0.000	**		Eur vs. Mal	12.729	0.000	**
bio03	Cat vs. Eur	-21.909	0.000	**	bio13	Cat vs. Eur	-9.287	0.000	**
	Cat vs. Mal	-49.853	0.000	**		Cat vs. Mal	-7.091	0.000	**
	Eur vs. Mal	-3.331	0.001	**		Eur vs. Mal	7.382	0.000	**
bio04	Cat vs. Eur	10.384	0.000	**	bio14	Cat vs. Eur	2.042	0.045	*
	Cat vs. Mal	6.892	0.000	**		Cat vs. Mal	28.891	0.000	**
	Eur vs. Mal	-6.822	0.000	**		Eur vs. Mal	19.528	0.000	**
bio05	Cat vs. Eur	7.866	0.000	**	bio15	Cat vs. Eur	-7.488	0.000	**
	Cat vs. Mal	-14.308	0.000	**		Cat vs. Mal	-56.176	0.000	**
	Eur vs. Mal	-18.726	0.000	**		Eur vs. Mal	-20.854	0.000	**
bio06	Cat vs. Eur	1.985	0.051	*	bio16	Cat vs. Eur	-11.960	0.000	**
	Cat vs. Mal	0.219	0.827			Cat vs. Mal	-25.362	0.000	**
	Eur vs. Mal	-1.614	0.111			Eur vs. Mal	4.843	0.000	**
bio07	Cat vs. Eur	3.494	0.001	**	bio17	Cat vs. Eur	3.384	0.001	**
	Cat vs. Mal	-10.441	0.000	**		Cat vs. Mal	38.226	0.000	**
	Eur vs. Mal	-7.985	0.000	**		Eur vs. Mal	22.097	0.000	**
bio08	Cat vs. Eur	19.336	0.000	**	bio18	Cat vs. Eur	4.226	0.000	**
	Cat vs. Mal	22.819	0.000	**		Cat vs. Mal	34.266	0.000	**
	Eur vs. Mal	-2.522	0.014	*		Eur vs. Mal	17.861	0.000	**
bio09	Cat vs. Eur	-1.891	0.062		bio19	Cat vs. Eur	-13.142	0.000	**
	Cat vs. Mal	-4.360	0.000	**		Cat vs. Mal	-42.780	0.000	**
	Eur vs. Mal	-16.075	0.000	**		Eur vs. Mal	2.824	0.006	*

* Significant value; ** Significant value using Bonferroni correction.

(Ávila), El Jerte valley (Cáceres) and Sierra de S. Vicente (Toledo), but the phytosanitary authorities have effectively eliminated this pest from this area by cutting and burning all the early galls. Therefore, this area is not included in the distribution or dispersal models. In Table 1, there are the ranges in altitude and climatic variables recorded for the areas where *D. kuriphilus* is currently present, which are used as an approximation of the ecological characteristics of this exotic cynipid in Spain. The Madrid hotspot (10) was not included in the comparison of regions since only two records of the presence of *D. kuriphilus* are recorded for this hotspot. The comparison of the bioclimatic values for the different regions revealed significant differences between most of the values and wide variation in all bioclimatic variables among the regions, indicating that this species occurs in areas with very different climatic conditions (Table 3).

Models of dispersal of *D. kuriphilus*

The dispersion model predicts that the area of infested chestnut trees in Spain is expected to increase over the next thirty-seven-years (2019–2055) (Fig. 1B). The maps also show the rapid spread of this cynipid across Spain from first presence to saturation between the years 2032 and 2041, when the potential occupation curves for both annual dispersal rates become asymptotic (Fig. 1C). This deceleration of potential occupation would hypothetically leave only 4% of Spanish forests not infested with *D. kuriphilus*,

indicating the theoretical advance and final distribution of this species in Spain. This pattern only occurs because of the disjunct distribution of *C. sativa* on the Iberian Peninsula, with only chestnut forests in the centre of the Iberian Peninsula remaining uninfested via SDD. However, these forests would still be vulnerable to new *D. kuriphilus* LDD events. The declining curves of the mean and maximum dispersal were adjusted to a reciprocal form with correlation coefficients of 0.99 for each annual dispersal rate. However, they have a breakpoint at $x_{6.6km} = 2041$ and $x_{11km} = 2032$ in terms of the mean and maximum dispersal, respectively, with both models predicting constant dispersal and an asymptote at 52,317.5 km² at the end of this period. Considering these predictions, only ≈ 20.7% of the total area of chestnut forest in Spain would not be infested with *D. kuriphilus*. The equations for the best fitting curves for the theoretical decrease in area for mean and maximum dispersal up to a particular year are as follows:

$$y_{6.6km} = \frac{1}{-1.69 E^{-3} + 8.378 E^{-7} x}$$

$$y_{11km} = \frac{1}{-2.863 E^{-3} + 1.419 E^{-6} x}$$

where *y* is the area of chestnut forest without *D. kuriphilus*, and *x* a particular year. The first equation is for mean dispersal and the second for maximum dispersal.

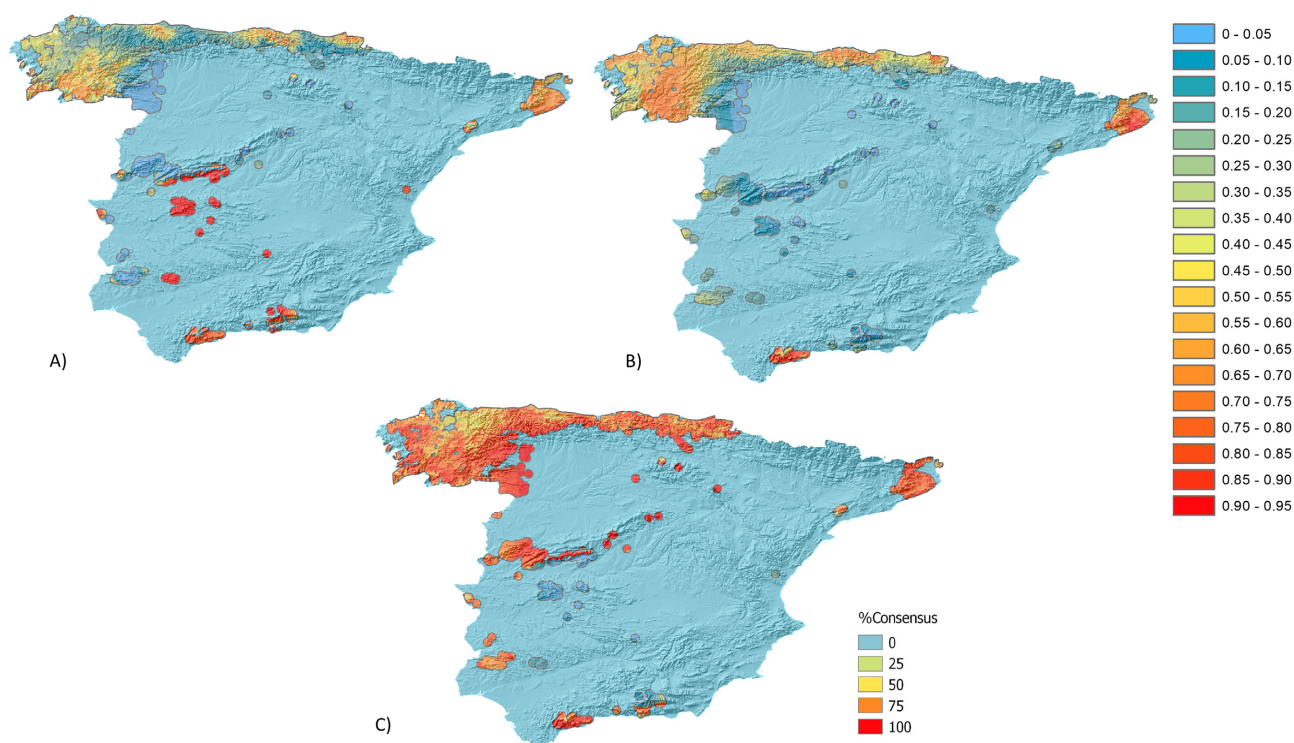


Fig. 3. Maps showing the predicted potential distribution of *D. kuriphilus* in Spain: (A) generalized additive model map, (B) consensus model map, (C) map of the percentage dissimilarity in the areas predicted by the two models. Areas bounded by black lines indicate the total area of *C. sativa* forest in Spain.

The distribution maps for different years (Fig. 1B) show the patterns of distribution of *D. kuriphilus* throughout Spain, with a considerable increase in the area infested in the northwest corner of the Euro Siberian region. According to the mean dispersal model, the hotspots in the Euro Siberian region will unite into a continuously infested area in the year 2031.

Models of the distribution of *D. kuriphilus*

The maps of the potential distribution of *D. kuriphilus* in Spain predicted by the models are shown in Fig. 3: the GAM (Fig. 3A) and mean CM of the GLM, ECM, MaxEnt model and RF model (Fig. 3B). The decision to separate the GAM from the CM was their higher pixel values of favourability compared to the predictions of the other four models for the west-central areas of Spain, as the average of the total ensemble of these models would result in a very different prediction for areas in west-central Spain. Of the total number of pixels in this west-central area, 69% had standard deviations of between 28 and 42, resulting in areas with values of low consensus between models (Fig. 3C). In addition, GAM was not included in CM because the prediction of this model differs from those of the other models (mean Euclidean distance = 0.72 between the GAM and other models).

Both final maps of the distribution of *D. kuriphilus* are similar but their suitability values per pixel differ ($R^2=0.358$); the GAM suitability values are mostly higher in the west-central and southern areas of Spain, but lower in the northern part. The range of variation and suitability predicted by GAM are, respectively, greater and a lower

than predicted by CM ($\text{Mean}_{\text{GAM}}=0.37$, $\text{SD}_{\text{GAM}}=0.31$; $\text{Mean}_{\text{CM}}=0.40$, $\text{SD}_{\text{CM}}=0.26$). Very high suitability values predicted by GAM (>0.85) in practically all areas in the west-central and southern Spain where *C. sativa* is present, whereas the high values predicted by CM are in the *D. kuriphilus* hotspots in the Mediterranean regions of Catalonia (9) and Malaga (11). The map of the percentage dissimilarity (Fig. 3C) shows the areas that are similarly predicted by GAM and CM and those with the lowest discrepancy. The predictions of the two models for these areas are similar. The comparison of the bioclimatic variables associated with *D. kuriphilus* presence and favourability in the different regions (Table 3) indicate they are very similar in the Euro Siberian region and differ significantly in the west-central area of Spain.

DISCUSSION

Current distribution of *D. kuriphilus* in Spain

Dryocosmus kuriphilus effectively colonized Spain by LDD, with at least, 11 entry points between the years 2012 and 2015, and was then most likely transported from infested areas by the trade in chestnut trees. However, new hotspots of *D. kuriphilus* occurrence were detected, highlighting the role of LDD in the establishment of new hotspots in a region. There are currently a total of 14 such hotspots in Spain.

The main cause of the occurrence of multiple hotspots of *D. kuriphilus* is related to human activity and it is likely that it is driven by the transport of *Castanea* trees and seedlings for commercial purposes related to chestnut forestry. Such transport should be controlled and prevented

from areas where this cynipid is known to occur or by transporting only trees that have undergone an appropriate quarantine. Many cases of invasion could be prevented by quarantine, during which the imported trees are kept at a sealed location during the period of the annual reproductive cycle of the chestnut wasp. This would be the best way to prevent further LDD of *D. kuriphilus* to other areas where the chestnut trees are not infested, although it would be difficult given the cryptic nature of the early galls of *D. kuriphilus*.

It is interesting that *D. kuriphilus* is in Madrid (10) and Pasajes (8) (Guipuzcoa, in the north of Spain), as these areas are isolated and its arrival there must be a result of city-wide LDD events. This is also recorded for the hot-spots at Lanjarón (12) and Prades (13). Specifically, in the city of Madrid, this cynipid is restricted to the Royal Botanical Garden Alfonso XIII of Ciudad Universitaria (Madrid) and the Royal Botanical Garden of Madrid. These locations are surrounded by urban areas, and the last chestnut trees that were planted in these green spaces more than 3 years ago (2012) came from El Bierzo (1&4), where this cynipid was first recorded in 2017. This could indicate that LDD in this case is due to a factor other than the transport of chestnut trees, such as, the transport of other propagules. In addition, sporadic and intermittent hosts can have a profound effect on the dispersal of *D. kuriphilus* (Rieske, 2007) and it is likely there are other unknown factors that affect the spread of cynipids. The presence of *D. kuriphilus* at Pasajes could have been due to the transport of chestnut trees into this area, although it is also possible that it was by a sequence of SDD events from France. However, there are no published georeferenced data that show how the dispersal of this cynipid has occurred in this area.

Regarding the climatic characteristics associated with *D. kuriphilus* records (Table 1), which are assumed to relate to this gall wasp's ecological requirements, they all seem to be correlated with the niche of *Castanea* trees. However, as these records are for three separate areas, different climatic conditions can affect the ecophysiology of this wasp and its host plant (Stone et al., 2002). The ecophysiology of the host plant can indirectly affect the cynipid and may also determine the level of suitability of each area and, therefore, it is a factor that should be taken into account. Differences between the two Mediterranean regions and the Euro Siberian region are related to high rates of precipitation and lower temperatures in the Euro Siberian region, while the opposite occurs in other regions. As *C. sativa* is widely distributed in Spain in areas not subject to prolonged droughts in summer and with well-drained and permeable soils, high precipitation, and low temperatures (Conedera et al., 2004; Pereira-Lorenzo et al., 2012), it is likely that chestnut trees in drier areas occur under worse ecological conditions, which affects tree growth and gall formation, and as a consequence are less suitable for *D. kuriphilus* (Gil-Tapetado et al., unpubl.). With respect to the two Mediterranean regions, it is not by chance that all sites are similar to one another except in terms of altitude because of the climatic compensation between latitude and

altitude. However, this pattern can also occur in very cold areas in the north of Spain, where frosts occur and the viability of *C. sativa* and *D. kuriphilus* is likely to be less.

Overall, the models used in this paper indicate that areas that are highly suitable for *D. kuriphilus* exist in different regions independent of the difference in the variables recorded in each region. This high suitability could indicate that all these regions in Spain are suitable for *D. kuriphilus* (Fig. 3A).

Models of dispersal of *D. kuriphilus*

The hypothetical distribution of *D. kuriphilus* presented in this paper (Fig. 1B) depends mainly on the presence of chestnut trees, and thus is very sensitive to changes caused by the introduction of new locations for *C. sativa* in Spain. The existence of non-georeferenced individuals of chestnut trees is highly likely, and they can worsen the hypothetical trend in dispersal identified in this paper. This possibility highlights the importance of knowing the distribution of *C. sativa* and indicates that it is indispensable that all these trees in Spain are georeferenced in order to achieve a highly accurate monitoring of the status of the pest cynipid. The theoretical final distribution of *D. kuriphilus* in Spain in the year 2055 indicates that two-thirds of the chestnut trees will be infested by this wasp. These first approximations of the possible future framework of spread of *D. kuriphilus* in Spain also indicate that the high dispersal ability of *D. kuriphilus* may be a major concern for chestnut forestry. However, many parameters that affect the dispersal of this wasp are still unknown, and others cannot be taken into account either because they are analytically complex or a lack of information. Therefore, the parameters that determine the presence of *D. kuriphilus* are related to their probability of establishment or infestation (Jerde & Lewis, 2007), their intrinsic population growth rate (Neubert & Caswell, 2000) and natural or artificial barriers and elements of resistance, such as wind direction or the presence of urban structures that may affect the rate of dispersal, as well as the frequency of introductions and size of propagules. Another factor to take into account is the sensitivity of *D. kuriphilus* to the volatiles produced by chestnut trees (Germinara et al., 2011), similar to what occurs in other galling insects, such as fig wasps (Chalcidoidea: Agaonidae) (Ahmed et al., 2009) and other cynipids, such as *Antistrophus rufus* Gillette, 1891 (Tooker et al., 2002). These volatiles may affect the dispersal of this species and may attract individuals to specific areas where there are high densities of chestnut trees or with particular characteristics. Indeed, attractant and repellent volatiles and wind speed and direction are factors that increase the complexity of the patterns of dispersal.

The climatic conditions of the regions included in this study are very different (see Table 3), presumably indicating that *D. kuriphilus* is not limited by ecological requirements apart from the presence of *Castanea* trees. As a consequence of LDD events due to human activity in Spain (see Fig. 1A), and since *D. kuriphilus* can become established in any chestnut forest, this cynipid could occur in better or worse areas depending on its ecological niche.

The above limitations may have skewed the results of this study but may also indicate how the dispersal of *D. kuriphilus* is not ecologically restricted except by the spatial configuration of *C. sativa* trees and that the maximum distance *D. kuriphilus* can spread and the areas it is potentially able to colonize each year is determined by its SSD. Within this framework, the stabilization of the infested area may occur quickly, and, in the absence of control measures and based on the dispersal rate of *D. kuriphilus*, the spread should end in 2032 if there are no new infestation hotspots due LDD events. These two types of dispersal are the most important and influential determinants of the patterns of dispersion (Liebhold & Tobin, 2008) because new introductions can modify all the predictions based on SDD (Gilioli et al., 2013).

Although all the data on the presence of *D. kuriphilus* was collected in 2018, the monitoring of specific areas of Spain for *D. kuriphilus* has continued, especially in the areas of Malaga (11), West and South Galicia and El Bierzo (1&4). Predictions of the rates of spread noticeably differ, being greater in reality than that predicted by the models, even though the parameters included in these models are not restrictive.

Models of the distribution of *D. kuriphilus*

The models are limited in their predictions as many variables were not included due to a lack of data, such as, the biotic interactions between autochthonous fauna (Zimmermann et al., 2010), chalcid parasitoids of oak gall communities, and the experimental release of biocontrol species and the natural enemy, *T. sinensis*, in specific areas, or other variables that are not measurable, such as local wind direction and the fitness of individual chestnut trees. The variables considered are those associated with summer conditions, the only period in the cynipid cycle when this insect experiences the environment outside of the micro-environment of the gall (Yasumatsu, 1951; Bernardo et al., 2013). As cynipid larvae develop within galls, the climatic conditions in other seasons affect *Castanea* tree gall tissues but do not directly affect the wasp, which reduces the effects of some of the variables in ecological niche models of the requirements of *D. kuriphilus*.

The different models (Fig. 3A, B) predict different suitability values for different areas in Spain. The GAM (Fig. 3A) indicates that the west-central and southern areas of Spain are the most suitable areas for *D. kuriphilus*. However, there are also areas of high suitability near the northern hotspots of *D. kuriphilus*, which greatly affect the predictions of the model for these areas, perhaps due to a commission error, and decreases the predictive potential of this analysis. Based on this model, the zones in the west-central areas of Spain, where *D. kuriphilus* is currently not present and potentially free of SDD events are the areas likely to experience the greatest theoretical settlement given their high suitability. Thus, preventing LDD events in this area is critical because *D. kuriphilus* cannot reach this highly suitable area by SDD. Therefore, a special monitoring of the transportation of *C. sativa* trees in these areas should be developed in order to prevent *D. kuriphilus* spreading into

these chestnut forests. In fact, LDD events are reported for these areas (sites of Ávila, Cáceres and Toledo provinces), where developing galls of *D. kuriphilus* galls were detected, but quickly destroyed by the forestry authorities. Its presence there was not included in the models because galls were destroyed before adult emergence, making it impossible for it to disperse and become established in the west-central area of Spain. The CM (Fig. 3B) indicates that the hotspots in Catalonia (9) and Malaga (11) are the areas with the highest suitability; however, most of the northern chestnut forests also have high values. Unlike GAM, CM indicates that all of the chestnut tree areas in the northern part of Spain are very suitable, not only those close to where the pest is recorded. This fact may indicate that most of Spain is suitable for *D. kuriphilus*; however, there are differences in the levels of these high values. The CM may indicate that Mediterranean regions have the best conditions and are the most suitable areas for *D. kuriphilus*, possibly due to their high or moderate temperatures, which favour the development of this species (Bonsignore & Bernardo, 2018). Differences between the Euro Siberian and Mediterranean regions (Tables 1 and 3) include hotter temperatures and lower precipitation in the latter and greater probability of frost occurring during winter in the former, negatively affecting chestnut development (Casasoli et al., 2004). Therefore, the concept of suitability used here is based on the environmental conditions that could affect the life cycle of *D. kuriphilus*, especially those that can modify its development in chestnut forests. As discussed previously the ecological requirements of chestnut trees are also highly suitable for this pest and coincide with predictions of CM of intermediate rates of precipitation and mild temperatures in all the chestnut forests in Spain (Table 1). These are the optimal habitat conditions for *C. sativa*. The map of the percentage dissimilarity in the areas predicted by the two models (Fig. 3C) shows that they agree in terms of the suitability values in most of the region except the west-central areas. Although there are differences in these areas, the models similarly predict high or low suitability values in most of the zones, even if there are a few differences between them, for example, in Malaga (11) and West and South Galicia and El Bierzo (1&4).

The two models agree in that certain areas are of high suitability (Fig. 3C), specifically the previously mentioned hotspots. In these areas it is very likely that the conditions are optimal for *D. kuriphilus*, since five ecological niche models indicate these areas are highly suitable. It is crucial to manage these highly suitable areas, the main *D. kuriphilus* hotspots, using biological control based on different methods, such as the introduction of its natural enemy, *T. sinensis*, in order to mitigate this gall wasp adverse effects on the production of chestnuts in these regions. That an area is predicted to be of low suitability does not indicate that *D. kuriphilus* will not become established in these areas; instead, they indicate that the vigour or fitness of *C. sativa* and *D. kuriphilus* is likely to be reduced or adversely affected by the environment in these areas and that these populations are more limited ecologically than those

in areas that are more suitable. This low suitability might be reflected in *D. kuriphilus* inducing smaller or more irregular shaped galls. In addition, it is possible that the sub-optimal conditions in these areas will also prevent *T. sinensis* from becoming established or thriving there. Although the models do not predict areas of low suitability near hotspots, it is possible that a gradient in high suitability could affect the establishment of *T. sinensis*. This fact, together with the information mentioned in Quacchia et al. (2008), could explain the differences in the successful establishment of *T. sinensis* in different areas.

In conclusion, in Spain the spread and infestation of chestnut forests by *D. kuriphilus* is predicted by using models that are based on the distribution of chestnut forests in this area; in addition, this study is the first attempt to understand the spread and habitat selection behaviour of *D. kuriphilus* in this area. The climatic characteristics in the areas where this pest is present do not seem to be important, with the only factor limiting its dispersal and distribution, the presence of chestnut trees. The models, however, indicate areas of greater or lesser suitability where *D. kuriphilus* could occur under different conditions and possibly behave differently. The models of distribution show that because of the configuration of their spatial distribution in this region approximately half of the *Castanea* forests in Spain are likely to be colonized by *D. kuriphilus* as a result of SDD and predict two scenarios for the areas that are highly suitable. Areas close to where *D. kuriphilus* is known to be present are the most likely to be colonized by this pest, however, the occurrence of new LDD events resulting in this pest arriving from another country, the main type of dispersal of *D. kuriphilus* between countries, could greatly change the situation.

ACKNOWLEDGEMENTS. We acknowledge all persons and institutions that collaborated in the collection of presence data for *D. kuriphilus*, O. Gavira, M.J. Lombardero of the University of Santiago de Compostela; J. Andoni Zabala of Diputación Foral de Bizkaia; R. Vallejo Bombín, Jefe de Área de Inventario y Estadísticas Forestales; J. Heras Dolader of the Direcció General del Medi Natural i Biodiversitat; S. Gutiérrez of Dirección General de Montes y Conservación de la Naturaleza; A. Pulido of Junta de Andalucía; P. del Estal of the University Politécnica de Madrid, C. Rey, P.A. Refoyo Román, D. Padilla and A. Ordóñez, J.M. Sesma, I. Gómez and Á. Izuzquiza of Biodiversidad Virtual. They provided the data and information necessary for this study.

REFERENCES

- AEBI A., SCHÖNRÖGGE K., MELIKA G., ALMA A., BOSIO G., QUACCHIA A., PICCIAU L., ABE Y., MORIYA S., YARA K., SELJAK G., STONE G.N. 2006: Parasitoid recruitment to the globally invasive chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus*. In Ozaki K., Yukwa J., Ohgushi T. & Price P.W. (eds): *Ecology and Evolution of Gall-forming Arthropods and their Associates*. Springer, Tokyo, pp. 103–121.
- AEBI A., SCHÖNRÖGGE K., MELIKA G., QUACCHIA A., ALMA A. & STONE G.N. 2007: Native and introduced parasitoids attacking the invasive chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus*. — *EPPO Bull.* **37**: 166–171.
- AHMED S., COMPTON S.G., BUTLIN R.K. & GILMARTIN P.M. 2009: Wind-borne insects mediate directional pollen transfer between desert fig trees 160 kilometers apart. — *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **106**: 20342–20347.
- AVTZIS D.N. & MATOSEVIC D. 2013: Taking Europe by storm: a first insight in the introduction and expansion of *Dryocosmus kuriphilus* in central Europe by mtDNA. — *J. For. Soc. Croatia* **137**: 387–394.
- BERNARDO U., IODICE L., SASSO R., TUTORE V.A., CASCONI P. & GUERRIERI E. 2013: Biology and monitoring of *Dryocosmus kuriphilus* on *Castanea sativa* in Southern Italy. — *Agric. For. Entomol.* **15**: 65–76.
- BONAL R., VARGAS-OSUNA E., MENA J.D., APARICIO J.M., SANTORO M. & MARTÍN A. 2018: Looking for variable molecular markers in the chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus*: first comparison across genes. — *Sci. Rep.* **8**: 5631, 9 pp.
- BONSIGNORE C.P. & BERNARDO U. 2018: Effects of environmental parameters on the chestnut gall wasp and its complex of indigenous parasitoids. — *Sci. Nat.* **105**: 20, 14 pp.
- BVDB (BIODIVERSIDAD VIRTUAL DATABASE) 2018a: *Insectarium Virtual*. URL: <http://www.biodiversidadvirtual.org/insectarium> (last accessed 22 May 2018).
- BVDB (BIODIVERSIDAD VIRTUAL DATABASE) 2018b: *Herbarium Virtual*. URL: <http://www.biodiversidadvirtual.org/herbarium> (last accessed 22 May 2018).
- BREIMAN L. 2001: Random forests. — *Mach. Learn.* **45**: 5–32.
- BREIMAN L. & CUTLER A. 2018: *RandomForest. Breiman and Cutler's Random Forests for Classification and Regression (R package)*. URL: <https://cran.r-project.org/web/packages/randomForest/randomForest.pdf>
- BRUSSINO G., BOSIO G., BAUDINO M., GIORDANO R., RAMELLO F. & MELIKA G. 2002: Dangerous exotic insect for the European chestnut. — *Informat. Agrar.* **58**: 59–61.
- CABI (CENTRE FOR AGRICULTURE AND BIOSCIENCES INTERNATIONAL) 2015: *Invasive Species Compendium CABI Datasheets Dryocosmus kuriphilus*. URL: <http://www.cabi.org/isc/datasheet/20005> (last accessed 22 Aug. 2018).
- CASASOLI M., POT D., PLOMION C., MONTEVERDI M.C., BARRENECHE T., LAUTERI M. & VILLANI F. 2004: Identification of QTLs affecting adaptive traits in *Castanea sativa* Mill. — *Plant Cell Environ.* **27**: 1088–1101.
- CONEDERA M., MANETTI M.C., GIUDICI F. & AMORINI E. 2004: Distribution and economic potential of the sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill) in Europe. — *Ecol. Mediterr.* **30**: 179–193.
- COOPER W.R. & RIESKE L.K. 2007: Community associates of an exotic gallmaker, *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera: Cynipidae), in Eastern North America. — *Ann. Entomol. Soc. Am.* **100**: 236–244.
- EFSA (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY) 2010: Risk assessment of the oriental chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* for the EU territory and identification and evaluation of risk management options. — *EFSA J.* **8**: 16–19.
- EPPO (EUROPEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION) 2012: *First Report of Dryocosmus kuriphilus in the Czech Republic* URL: <https://gd.eppo.int/reporting/article-1968> (last accessed 06 Jun. 2016).
- EPPO (EUROPEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION) 2014: *First report of Dryocosmus kuriphilus in Portugal* URL: <https://gd.eppo.int/reporting/article-2823> (last accessed 06 Jun. 2016).
- ESRI (ENVIRONMENTAL SYSTEMS RESEARCH INSTITUTE) 2010: *ArcGis 10.0 Geographical Information System* URL: <http://www.esri.es/es/> (last accessed 22 Aug. 2018).
- FARBER O. & KADMON R. 2003: Assessment of alternative approaches for bioclimatic modeling with special emphasis on the Mahalanobis distance. — *Ecol. Model.* **160**: 115–130.
- FERNANDEZ-CONRADI P., BOROWIEC N., CAPDEVIELLE X., CASTAGNEYROL B., MALTONI A., ROBIN C., SELVI F., VAN HALDER I.,

- VÉTILLARD F. & JACTEL H. 2017: Plant neighbour identity and invasive pathogen infection affect associational resistance to an invasive gall wasp. — *Biol. Invas.* **20**: 1459–1473.
- FERRACINI C., BERTOLINO S., BERNARDO U., BONSIGNORE C.P., FACCOLI M., FERRARI E., LUPI D., MAINI S., MAZZON L., NUGNES F., ROCCO A., SANTI F. & TAVELLA L. 2018: Do *Torymus sinensis* (Hymenoptera: Torymidae) and agroforestry system affect native parasitoids associated with the Asian chestnut gall wasp? — *Biol. Control* **121**: 36–43.
- FIELDING A.H. & BELL J.F. 1997: A review of methods for the assessment of prediction errors in conservation presence/absence models. — *Environ. Conserv.* **24**: 38–49.
- GBIF DATA PORTAL 2018: *Castanea sativa*. URL: <http://www.gbif.net> (last accessed 22 Aug. 2018).
- GEHRING E., BELLOSI B., QUACCHIA A. & CONEDERA M. 2017: Assessing the impact of *Dryocosmus kuriphilus* on the chestnut tree: branch architecture matters. — *J. Pest Sci.* **91**: 189–202.
- GERMINARA G.S., DE CRISTOFARO A. & ROTUNDO G. 2011: Chemical cues for host location by the chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus*. — *J. Chem. Ecol.* **37**: 49–56.
- GILIOLI G., PASQUALIB S., TRAMONTINIC S. & RIOLO F. 2013: Modelling local and long-distance dispersal of invasive chestnut gall wasp in Europe. — *Ecol. Model.* **263**: 281–290.
- GRAZIOSI I. & RIESKE L.K. 2012: Local spread of an exotic invader: using remote sensing and spatial analysis to document proliferation of the invasive Asian chestnut gall wasp. — *iForest* **5**: 255–261.
- GUISAN A., EDWARDS JR. T.C. & HASTIE T. 2002: Generalized linear and generalized additive models in studies of species distributions: setting the scene. — *Ecol. Model.* **157**: 89–100.
- HIJMANS R.J., GUARINO L., BUSSINK C., MATHUR P., CRUZ M., BARRANTES I. & ROJAS E. 2004: *DIVA-GIS, Ver. 4.0. A Geographic Information System for the Analysis of Species Distribution Data*. URL: <http://www.divagis.org> (last accessed 22 Aug. 2018).
- HIJMANS R.J., CAMERON S.E., PARRA J.L., JONES P.G. & JARVIS A. 2005: Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. — *Int. J. Climatol.* **25**: 1965–1978.
- HIJMANS R.J., PHILLIPS S., LEATHWICK J. & ELITH J. 2017: *dismo. Species Distribution Modeling. (R package)* URL: <https://cran.r-project.org/web/packages/dismo/dismo.pdf>.
- HIRZEL A.H., HAUSSER J., CHESSER D. & PERRIN N. 2002: Ecological-niche factor analysis: How to compute habitat-suitability maps without absence data? — *Ecology* **83**: 2027–2036.
- HIRZEL A.H., HAUSSER J. & PERRIN N. 2007: *Biomapper 4.0 Laboratory for Conservation Biology*. URL: <http://www2.unilch/biomapper/> (last accessed 22 Aug. 2018).
- HYAMS D.G. 2010: *CurveExpert Software*. URL: <http://www.curveexpert.net> (last accessed 22 Aug. 2018).
- JERDE C.L. & LEWIS M.A. 2007: Waiting for invasions: A framework for the arrival of nonindigenous species. — *Am. Nat.* **170**: 1–9.
- JIMÉNEZ-VALVERDE A., PETERSON A.T., SOBERON J., OVERTON J.M., ARAGÓN P. & LOBO J.M. 2011: Use of niche models in invasive species risk assessments. — *Biol. Invas.* **13**: 2785–2797.
- JAND (JUNTA DE ANDALUCÍA) 2015: *Geo-Referred Data on Dryocosmus kuriphilus Presence*. URL: <https://www.juntadeandalucia.es/agriculturaypesca/ifapa/servifapa/contenidoAlf?id=091a7cca-4a5e-4d56-85f6-5570dcf7b43a&l=expresiones> (last accessed 22 Aug. 2018).
- LIEBHOLD A.M. & TOBIN P.C. 2008: Population ecology of insect invasions and their management — *Annu. Rev. Entomol.* **53**: 1–542.
- LIN D., FOSTER D.P. & UNGAR L.H. 2011: VIF-Regression: A fast regression algorithm for large data. — *J. Am. Stat. Assoc.* **493**: 232–247.
- MAGRAMA (MINISTERIO DE AGRICULTURA, ALIMENTACIÓN Y MEDIO AMBIENTE OF SPAIN) 2015: *Red Natura 2000*. URL: <http://www.magrama.gob.es/es/biodiversidad/temas/espacios-prottegidos/red-natura-2000/default.aspx> (last accessed 22 Aug. 2018) [in Spanish].
- MALTONI A., MARIOTTI B., JACOBS D.F. & TANI A. 2012: Pruning methods to restore *Castanea sativa* stands attacked by *Dryocosmus kuriphilus*. — *New Forests* **43**: 869–885.
- MATOŠEVIĆ D., LACKOVIĆ N., MELIKA G., KOS K., FRANČIĆ I., KRISTON E. & ROT M. 2016: Biological control of invasive *Dryocosmus kuriphilus* with introduced parasitoid *Torymus sinensis* in Croatia, Slovenia and Hungary. — *Period. Biolog.* **117**: 471–477.
- MNBC (DIRECCIÓ GENERAL DEL MEDI NATURAL I BIODIVERSITAT OF CATALONIA) 2015: *Cartografia dels Habitats a Catalunya*. Geo-referred data on *Dryocosmus kuriphilus* presence. URL: <https://www.iberley.es/legislacion/orden-aam-355-2012-2-noviembre-establecen-zonas-delimitadas-plaga-dryocosmus-kuriphilus-10235217> (last accessed 22 Aug. 2018).
- MORIYA S., INOUE K., OTAKE A., SHIGA M. & MABUCHI M. 1989: Decline of the chestnut gall wasp population, *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae) after the establishment of *Torymus sinensis* Kamijo (Hymenoptera: Torymidae). — *Appl. Entomol. Zool.* **24**: 231–233.
- MORIYA S., SHIGA S. & ADACHI I. 2003: Classical biological control of the chestnut gall wasp in Japan. In *Proceedings of the 1st International Symposium on Biological Control of Arthropods, Honolulu, Hawaii, January 14–18, 2002*. United States Department of Agriculture, Forest Service, Washington, pp. 407–415.
- MURAKAMI Y., TODA S. & GYOUTOKU Y. 2001: Colonization of imported *Torymus (Syntomaspis) sinensis* Kamijo (Hymenoptera: Torymidae) parasitic on the chestnut gall wasp (Hymenoptera: Cynipidae). Success in the eighteenth year after release in Kumamoto. — *Proc. Assoc. Pl. Prot. Kyushu* **47**: 132–134.
- NIEVES-ALDREY J.L. 2001: *Fauna Ibérica, Vol. 16, Hymenoptera: Cynipidae*. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Madrid, 636 pp. [in Spanish].
- NIEVES-ALDREY J.L., GÓMEZ J.F., HERNÁNDEZ-NIEVES M. & LOBO J.M. 2006: Los Cynipidae (Hymenoptera) de la Comunidad de Madrid: lista anotada, mapas de distribución, riqueza y estatus de conservación. — *Graellsia* **62**: 371–402 [in Spanish].
- NEUBERT M.G. & CASWELL H. 2000: Density-dependent vital rates and their population dynamic consequences. — *J. Math. Biol.* **41**: 103–121.
- OHO N. & UMEYA K. 1975: Occurrence of the chestnut gall wasp in the People's Republic of China. — *Shokubutsu Boeki* **29**: 463–464 [in Japanese].
- PAYNE J.A., MENKE A.S. & SCHROEDER P.M. 1975: *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae), an oriental chestnut gall wasp in North America. — *Coop. Econ. Insect Rep.* **25**: 903–905.
- PEREIRA-LORENZO S., BALLESTER A., CORREDOIRA E., VIEITEZ A.M., AGNANOSTAKIS S., COSTA R., BOUNOUS G., BOTTA R., BECCARO G.L., KUBISIAK T.L., CONEDERA M., KREBS P., YAMAMOTO T., SAWAMURA Y., TAKADA N., GOMES-LARANJO J. & RAMOS-CABRERA A.M. 2012: Chestnut. In *Badenes M.L. & Byrne D.H. (eds): Fruit Breeding*. Springer, New York, 875 pp.
- PÉREZ-OTERO R., CRESPO D. & MANSILLA J.P. 2017: *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, 1951 (Hymenoptera: Cynipidae) in Galicia (NW Spain): pest dispersion, associated parasitoids

- and first biological control attempts. — *Arquiv. Entomol.* **17**: 439–448.
- PHILLIPS S.J. & DUDIK M. 2008: Modeling of species distributions with Maxent: new extensions and a comprehensive evaluation. — *Ecography* **31**: 161–175.
- PHILLIPS S.J., ANDERSON R.P. & SCHAPIRE R.E. 2006: Maximum entropy modelling of species geographic distributions. — *Ecol. Model.* **190**: 231–259.
- PUJADE-VILLAR J., TORRELL A. & ROJO M. 2013: Primeres troballes a la península Ibèrica de *Dryocosmus kuriphilus* (Hym., Cynipidae), una espècie de cinípid d'origen asiàtic altament perillosa per al castanyer (Fagaceae). — *Orsis Organ. Sist.* **27**: 295–301 [in Catalan].
- QUACCHIA A., MORIYA S., BOSIO G., SCAPIN I. & ALMA A. 2008: Rearing, release and the prospect of establishment of *Torymus sinensis*, biological control agent of the chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus*, in Italy. — *Biocontrol* **53**: 829–839.
- QUACCHIA A., FERRACINI C., NICHOLLS J.A., PIAZZA E., SALADINI M.A., TOTA F., MELIKA G. & ALMA A. 2012: Chalcid parasitoid community associated with the invading pest *Dryocosmus kuriphilus* in north-western Italy. — *Insect Conserv. Diver.* **6**: 114–123.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM 2008: *R: A Language and Environment for Statistical Computing R Foundation for Statistical Computing*. URL: <http://www.R-project.org> (last accessed 22 Aug. 2018).
- RIESKE L.K. 2007: Success of an exotic gallmaker, *Dryocosmus kuriphilus*, on chestnut in the USA. — *EPPO Bull.* **37**: 172–174.
- RSTUDIO TEAM 2016: *RStudio: Integrated Development for R RStudio*. URL: <http://www.rstudio.com/> (last accessed 22 Aug. 2018).
- RODRÍGUEZ A., GÓMEZ J.F. & NIEVES-ALDREY J.L. 2015: Modeling the potential distribution and conservation status of three species of oak gall wasps (Hymenoptera: Cynipidae) in the Iberian range. — *J. Insect Conserv.* **19**: 921–934.
- STATISTICA-STATSOFT INC 2009: *STATISTICA Portable, Ver. 8.0*. URL: www.statsoft.com (last accessed 22 Aug. 2018).
- STONE G.N., SCHÖNROGGE K., ATKINSON R.J., BELLIDO D. & PUJADE-VILLAR J. 2002: The population biology of oak gall wasps (Hymenoptera: Cynipidae). — *Annu. Rev. Entomol.* **47**: 633–668.
- TOOKER J.F., KÖNIG W.A. & HANKS L.M. 2002: Altered host plant volatiles are proxies for sex pheromones in the gall wasp *Antistrophe rufus*. — *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **99**: 15486–15491.
- WOOD S. 2018: *mgcv. Mixed GAM Computation Vehicle with Automatic Smoothness Estimation (R package)*. <https://cran.r-project.org/web/packages/mgcv/index.html>
- YASUMATSU K. 1951: A new *Dryocosmus* injurious to chestnut trees in Japan (Hym., Cynipidae). — *Mushi* **22**: 89–93.
- ZIMMERMANN N.E., EDWARDS JR. T.C., GRAHAM C.H., PEARMAN P.B. & SVENNING J. 2010: New trends in species distribution modelling. — *Ecography* **33**: 985–989.

Received April 5, 2018; revised and accepted September 10, 2018
Published online October 16, 2018



RESEARCH ARTICLE

OPEN ACCESS

Torymus sinensis Kamijo, a biocontrol agent against the invasive chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu in Spain: its natural dispersal from France and first data on establishment after experimental releases

José-Luis Nieves-Aldrey¹, Diego Gil-Tapetado¹, Oscar N. Gavira², Juan R. Boyero², Carlo Polidori⁴, María J. Lombardero³, Diana Blanco³, Carmen Rey del Castillo¹, M. Pilar Rodríguez-Rojo⁴, José M. Vela² and M. Eva Wong²

¹Museo Nacional de Ciencias Naturales (CSIC), José Gutiérrez Abascal 2, 28006 Madrid, Spain. ²Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera, Centro IFAPA de Málaga, Laboratorio de Entomología Agrícola, Cortijo de la Cruz s/n, 29140 Málaga, Spain. ³Universidad de Santiago de Compostela, Escuela Politécnica Superior, Campus de Lugo, Spain. ⁴Universidad de Castilla La Mancha, Instituto de Ciencias Ambientales (ICAM), Avda. Carlos III, s.n.; Campus Real Fábrica de Armas 45005 Toledo, Spain.

Abstract

Aim of study: The globally invasive gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, 1951 (Cynipidae: Cynipini), reached Spain seven years ago and is already regarded as an important pest of chestnuts (*Castanea* spp.) in this country as well as worldwide. In this paper, we present comprehensive data on the establishment in Spain of *Torymus sinensis* Kamijo, 1982 (Chalcidoidea: Torymidae), an effective non-native natural enemy of this pest, as a result of both natural dispersal and settlement after controlled releases since 2015.

Area of study: Sites of the Spanish autonomous communities of Galicia, Asturias, Basque Country, Catalonia, Andalusia and Madrid where *D. kuriphilus* is present.

Material and methods: To study the natural dispersal of *T. sinensis* from France, we selected two sampling sites in Catalonia, six in the Basque Country and two in Navarra known for their heavy Asian chestnut gall wasp (ACGW) infestation; to study *T. sinensis* establishment after authorized controlled releases by the concerned authorities, the field samplings were done mainly in Galicia (35 sites) and Andalusia (8 sites). Additionally an experimental release study was made in Madrid.

Main Results: Our results showed that *T. sinensis* has spread throughout Spain by natural dispersal across the French border and now occurs in Catalonia (two sites), the Basque Country (three sites) and Navarra (one site) but not in the neighbouring region of Cantabria. The percentage of parasitism by *T. sinensis* on *D. kuriphilus* is higher in the Basque Country sites, which are close to the French border, thus indicating that its establishment in these localities is not recent. After controlled releases, *T. sinensis* has been successfully established in five release sites in Andalusia (Valle del Genal and Sierra Blanca, Málaga Province) and one release site in Madrid. However, in the region of Galicia (NW Spain), where the number of authorized releases has been higher, the establishment of *T. sinensis* still appears to be very low.

Research highlights: Established populations of *T. sinensis* may exert a positive buffer against *D. kuriphilus*-driven chestnut infestation in Spain, similar to what is observed in other invaded European countries.

Additional keywords: Controlled releases, Torymidae, invasive species, Cynipidae, natural spread, biological control.

Abbreviations used: Asian chestnut gall wasp (ACGW); *Torymus sinensis* parasitism rate (TsPR); mean of ACGW larval chambers per gall (MACGW).

Authors' contributions: Conceived and designed the work: JLNA, DGT, JRB, MJL. Performed the experiments and analyzed the data: JLNA, DGT, JRB, ONG, MJL, MEW. Contributed materials/analysis tools: JLNA, DGT, ONG, JRB, MJL, DB, CRC, MPRR, JMV, MEW. Wrote the paper: JLNA, DGT, MJL, CP.

Citation: Nieves-Aldrey, J.-L., Gil-Tapetado, D., Gavira, O.N., Boyero, J.R., Polidori, C., Lombardero, M.J., Blanco, D., Rey del Castillo, C., Rodríguez-Rojo, M.P., Vela, J.M., and Wong, M.E. (2019). *Torymus sinensis* Kamijo, a biocontrol agent against the invasive chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu in Spain: its natural dispersal from France and first data on establishment after experimental releases. Forest Systems, Volume 28, Issue 1, e001. <https://doi.org/10.5424/fs/2019281-14361>

Received: 03 Dec 2018. **Accepted:** 05 Mar 2019.

Copyright © 2019 INIA. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-by 4.0) License.

Funding: This study was financed by an Encomienda de Gestión from MAPAMA to Agencia Estatal CSIC, 16MNES003 awarded to JLNA, DGT, MJL and CP, and by project AGL2016-76262-R (AEI/FEDER, UE) awarded to MJL and JLNA. JRB, JMV, MEW and OG were supported by project PP.PEI.IDF201601.4 de Demanda Institucional from CMAOT to the public research Institution IFAPA. CP was funded by a post-doctoral contract from the Universidad de Castilla-La Mancha.

Competing interests: The authors have declared that no competing interests exist.

Correspondence should be addressed to José Luis Nieves-Aldrey: aldrey@mncn.csic.es

Introduction

The likely polyphyletic genus *Dryocosmus* Giraud (Hymenoptera: Cynipidae) includes 47 species of Cynipini, commonly referred as ‘oak gall wasps’, distributed across the Holarctic and Oriental regions (Ács *et al.*, 2010; Melika *et al.*, 2011; Cerasa *et al.*, 2018). Two of these cynipid species induce galls on *Castanea* spp.; one is the well-known Asian chestnut gall wasp (ACGW), *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, 1951, a species native from China that currently constitutes a severe pest of chestnut trees (*Castanea* spp.) worldwide (EFSA, 2010), while the other is a recently described species, *Dryocosmus zhuli* Liu & Zhu, 2015, also from China (Zhu *et al.*, 2015).

ACGW is one of the few oak gall wasps that are harmful to their *Fagaceae* host plants and thus have economic importance (Kinsey, 1935; Bailey & Stange, 1966; Scutareanu & Roques, 1993; Baldassari & Baronio, 1996; Nieves-Aldrey, 2001). The peculiar life cycle of ACGW (univoltine, with only parthenogenetic females known, whose small first instar larvae are present in overwintering chestnut buds and are thus visually hardly detectable) has undoubtedly contributed to the rapid expansion and settlement of this exotic invasive species, helped by the human-assisted dispersal of infested chestnut from nurseries (Hulme, 2009). The negative effects of ACGW on chestnuts include a reduction in the number of fruits, malformation of the branches and general weakening of the tree (Battisti *et al.*, 2014; Gehring *et al.*, 2018; Avtzis *et al.*, 2019), with consequent chestnut production losses and considerable economic damage to the chestnut tree sector (Brussino *et al.*, 2002; Zhang, 2009; EFSA, 2010).

After the first report of its presence as a pest in 1941 in Japan (Murakami *et al.*, 1980), ACGW became established in several countries, from Korea and United States to Nepal and Canada (Cho & Lee, 1963; Payne *et al.*, 1975; Abe *et al.*, 2007; Huber & Read, 2012). The species arrived in Europe in 2002 (Brussino *et al.*, 2002) and since then spread rapidly throughout neighbouring countries, from Slovenia in 2005 to the Czech Republic in 2012 (Borowiec *et al.*, 2014) and Romania in 2015 (Rádócz *et al.*, 2016). The first published reports of the establishment of ACGW in the Iberian Peninsula (IP) were from Catalonia (northeastern Spain) (DOGCA, 2012; Pujade-Villar *et al.*, 2013), although an earlier detection in 2010 is mentioned in Borowiec *et al.* (2014) (as a personal communication from J. H. Delader), and data on heavy chestnut attacks in the Montseny Natural Park

(Barcelona and Girona) in 2011 were reported by Cristina Castro Torres (in Rubio, 2014).

Since this first Spanish introduction, ACGW has spread throughout the Cantabrian coast (north of the IP) and was reported from the Basque Country and Cantabria in 2013 and from Asturias in 2014. In May 2014, the species was detected in Galicia (northwestern Spain) and northwestern Portugal (Pérez-Otero & Mansilla, 2014). The species was also recorded at the same time (2014) in the Andalusian provinces of Málaga and Granada (southern Spain) Wong *et al.*, 2015, while important chestnut areas in the central and western IP now seem to be unaffected (as of May 2018) (Gil-Tapetado *et al.*, 2018).

In territories where ACGW has been introduced and represents an important forestry pest, the wasps’ protection inside the galls, in addition to potential environmental impacts, makes chemical control ineffective, and efficient natural enemies at the first stages of invasion are lacking. Thus, classical biological control with a parasitoid of *D. kuriphilus* in its native geographic area has been widely used in many invaded countries. This biological control agent is *Torymus sinensis* Kamijo, 1982 (Hymenoptera: Chalcidoidea: Torymidae), a specialist parasitoid with a univoltine life cycle that is synchronised with that of ACGW, which is native to East Asia (Murakami *et al.*, 1980, 2001; Moriya *et al.*, 1989). It should be noted however, that in some invader areas a prolonged life-cycle diapause of *T. sinensis* has been reported as well as the species has shown to be able to adapt to the attack of native cynipid species associated to *Quercus* (*Fagaceae*) (Ferracini *et al.*, 2015a, 2017). Biological control assays with this species were first set up in Japan (Moriya *et al.*, 1989, 2003) and continued in the United States (Cooper & Rieske, 2007) and Europe, where it has been introduced in Italy (Quacchia *et al.*, 2008; Gibbs *et al.*, 2011), France (Borowiec *et al.*, 2014, 2018) and Croatia (Matošević *et al.*, 2014), among other countries (Avtzis *et al.*, 2019). The results of the introduction and effectiveness of ACGW biocontrol were mostly positive (Moriya *et al.*, 2003; Quacchia *et al.*, 2008; Matošević *et al.*, 2014, 2017; Paparella *et al.*, 2016), so that the demand to introduce *T. sinensis* into new areas is growing among the affected chestnut communities (orchards, timber production and natural forests management).

However, the introduction of *T. sinensis* into non-native areas may also represent a possible threat to the native fauna (Gibbs *et al.*, 2011; Ferracini *et al.*, 2018), and studies on balancing the benefits and risks have been carried out (e.g., in Switzerland: Aebi *et al.*, 2011). Accordingly, the two main threats

associated with *T. sinensis* introduction are attacks on non-target cynipid species (Italy: Quacchia *et al.*, 2008; Ferracini *et al.*, 2015b, 2017) and the risk of hybridization and ecological competition with native torymid species (Japan: Moriya *et al.*, 1989, 2003; Yara *et al.*, 2007; Italia: Ferracini *et al.*, 2018; Pogolotti *et al.*, 2018). These two risks are currently being evaluated also in Spain by authors of this paper and will be published elsewhere.

After the introduction and spread of *D. kuriphilus* into the main chestnut production areas of Spain, concerned authorities in the regions (autonomous communities) of Galicia and Andalusia began controlled release assays of *T. sinensis*, authorised by the Spanish Ministry of Agriculture and Fisheries and Food (MAPA). Releases of *T. sinensis* in the affected areas of the Province of Málaga were authorized in 2015, 2016 and 2017, and in the same years, releases were undertaken in large areas of the Autonomous Community of Galicia (Pérez-Otero *et al.*, 2017) and also in Asturias (north of the IP). However, the presence of *T. sinensis* in France since 2011 posed the possibility of natural dispersal of the species into Spain across the French border. The dispersal ability of *T. sinensis* has been discussed by Colombari & Battisti (2016) for the case of Italy suggesting a dispersal rate up to 70 km per year. In the case of Japan, the first country in which *T. sinensis* was introduced as an ACGW control, the estimation of dispersal rates was of less than 1 km/year during the first few years, followed for more rapid and gradual spread in the next years (equal to 12 km) and finally reaching a constant rate of ca 60 km per year (Moriya *et al.*, 1989, 2003). Among the trans-boundary dispersal events of *T. sinensis* that have been published, we can mention the passage of the species from Italy to Switzerland (Aebi *et al.*, 2011), from Italy or Switzerland to France (Borowiec *et al.*, 2014), and from Croatia to Bosnia (Matošević *et al.*, 2014). In the case of Spain, we recently found *T. sinensis* in Catalonia (NE of the IP) (unpublished data) and it has also been independently detected by other authors (Jara-Chiquito & Pujade-Villar, 2018). Given that no *T. sinensis* releases were authorised in Catalonia, its presence in the region is more likely due to dispersal from France. It is thus necessary to see if this parasitoid also occurs in Navarra and the Basque Country (both next to France), where no releases of *T. sinensis* have occurred.

The aim of this paper is twofold: (i) first, we report the dispersal of *T. sinensis* from France into Spain throughout the Basque Country and Navarra and confirm the same path across the eastern border into Catalonia; (ii) second, we provide the first data on the

establishment of *T. sinensis* in Andalusia, Galicia and central Spain after experimental releases.

Materials & Methods

Study sites

Natural dispersion

Sampling and field work were conducted within the framework of three scientific projects focused on ACGW in Spain. The main project, developed at the level of the entire state, had the twofold aim of studying the recruitment of native parasitoids and assessing the environmental risks associated with the introduction of *T. sinensis*. At the same time, similar projects were conducted in the autonomous communities of Andalusia and Galicia.

The chestnut forests of the northern IP form a “continuum” from SW France along the Cantabrian Coast to Galicia. To study the natural dispersal of *T. sinensis* from France, we selected two sampling sites in Catalonia, six in the Basque Country and two in Navarra known for their heavy ACGW infestation, at the east and west corners, respectively, of the border with France, where the Pyrenees are not an effective barrier and both form biological corridors (Table 1, Fig. 1). These areas are isolated and very distant from the Spanish territories where the *T. sinensis* 2015-2017 releases were performed. An additional locality was also sampled in the community of Cantabria, close to the Basque Country, but further away (approximately 200 km) from the French border and at about the same distance from Asturias, where controlled releases were carried out in 2017 (Table 1, Fig. 1).

Establishment after authorized controlled releases

To study *T. sinensis* establishment after controlled releases by the concerned authorities, the field samplings were done mainly in Galicia (NW of the IP) and Andalusia, the Spanish regions where the first experimental releases of *T. sinensis* were authorized and performed. In Andalusia, 8 sites were repeatedly sampled from 2016 to 2018 while in Galicia we sampled 35 sites in 2018. In addition, 2 sites of the Autonomous Community of Asturias were also sampled for this purpose (Table 1).

Experimental release in Madrid

An experimental release of *T. sinensis* was performed in 2017 on infested chestnuts of the Royal Botanical Garden Alfonso XIII of the Universidad Complutense de Madrid (Madrid, Central Spain).

Table 1. Summary of collection sites, numbers of reared *Torymus sinensis* and estimated parasitism rates. AC = autonomous community, Lat = latitude, Long = longitude, ACGW = *Dryocosmus kuriphilus*, Ts = *Torymus sinensis*, TsPR = parasitism rate by *T. sinensis*. A dashed line separates the data corresponding to natural dispersal from France from those regarding establishment after releases and experimental infections. The value of 5.2 is an estimated mean of number chambers/gall and not a direct calculation by dissection.

Locality	Province	AC	Lat.	Long.	Collection Date	Emergence Date
Bera de Bidasoa	Navarra	CF Navarra	43.2833	-1.7029	23/02/2018	03/18
Santesteban	Navarra	CF Navarra	43.1435	-1.6671	23/02/2018	-
Lezo	Guipúzcoa	Basque C.	43.3326	-1.9011	24/02/2018	03/18
Hondarribia	Guipúzcoa	Basque C.	43.3678	-1.8187	24/02/2018	03/18
Jaizkibel	Guipúzcoa	Basque C.	43.3554	-1.8245	24/02/2018	03/18
Urdúliz	Vizcaya	Basque C.	43.3523	-2.9485	24/02/2018	-
Berango	Vizcaya	Basque C.	43.3558	-2.9812	24/02/2018	-
Orozco	Vizcaya	Basque C.	43.0762	-2.9235	24/02/2018	-
Sant Marçal	Barcelona	Catalonia	41.8029	2.4239	30/07/2017	02/18
Sant Hilari	Girona	Catalonia	41.8838	2.4969	31/07/2017	02/18
Botánico UCM	Madrid	Madrid	40.4471	-3.7270	09/02/2018	02/18
Juanar	Málaga	Andalusia	36.5779	-4.8842	29/09/2017	01/18
Juanar	Málaga	Andalusia	36.5779	-4.8842	14/12/2017	01/18
Juanar (2)	Málaga	Andalusia	36.5782	-4.8843	01/02/2017	02-03/17
Juanar (2)	Málaga	Andalusia	36.5782	-4.8843	09-12/2017	01-03/18
Juanar (2)	Málaga	Andalusia	36.5782	-4.8843	01-03/2018	01-04/18
Igualeja	Málaga	Andalusia	36.6292	-5.1111	15/12/2017	02/18
Igualeja (La Sala)	Málaga	Andalusia	36.6194	-5.1348	03/11/2016	01/17
Igualeja (La Sala)	Málaga	Andalusia	36.6194	-5.1348	12/03/2018	03/18
Júzcar (Cerro C)	Málaga	Andalusia	36.6303	-5.1674	06/10/2016	02/17
Júzcar (Cerro C)	Málaga	Andalusia	36.6303	-5.1674	04/12/2017	01/18
Júzcar (Cerro C)	Málaga	Andalusia	36.6303	-5.1674	02-03/2018	02-03/2018
Júzcar	Málaga	Andalusia	36.6182	-5.1442	28/09/2017	02/18
Yunqueira	Málaga	Andalusia	36.7213	-4.9538	11-12/2017	01/2018
Yunqueira	Málaga	Andalusia	36.7213	-4.9538	13/02/2018	02/2018
Puerto Ojén	Málaga	Andalusia	36.5864	-4.8319	14/12/2017	01/18
Premoño	Asturias	Asturias	43.3949	-5.9961	31/03/2018	-
Las Ablanosas	Asturias	Asturias	43.4237	-6.0221	31/03/2018	-
S. Roque de R.	Cantabria	Cantabria	43.2359	-3.7035	25/02/2018	-
Santo Estevo	Ourense	Galicia	42.4173	-7.6855	21/02/2018	-
Vilouxe	Ourense	Galicia	42.3790	-7.6240	21/02/2018	-
+33 sites	Galicia	Galicia	-	-	01/04/2018	-
TOTALS						

Introduced *T. sinensis* were provided by “Agrobio enterprise” that imported the specimens from Italy, the same commercial source that supplied the individuals released in Andalusia. On 16th May, 120 *T. sinensis* (48 males and 72 females), females mated about 10 days old, were released on four branches infested with ACGW galls isolated with gauze sleeves. In February, the isolated galls were collected, moved to

the laboratory and kept under indoor conditions until the emergence of *T. sinensis*.

Field samplings: collecting galls and rearing of parasitoids

With the aim of rearing *T. sinensis* (as well as native parasitoids with a similar life-cycle), whose emergence

Table 1. Continued.

Locality	Number of ACGW galls	Number chambers/gall	Number of Ts ♀	Number of Ts ♂	Total n of Ts	TsPR
Bera de Bidasoa	464	5.2	17	7	24	0.99%
Santisteban	112	-	-	-	-	-
Lezo	256	5.2	43	22	65	4.88%
Hondarribia	244	5.2	10	5	15	1.11%
Jaizkibel	269	5.2	77	39	116	8.29%
Urdúliz	183	-	-	-	-	-
Berango	147	-	-	-	-	-
Orozco	182	-	-	-	-	-
Sant Marçal	200	5.2	10	-	10	0.96%
Sant Hilari	200	5.2	2	-	2	0.19%
Botánico UCM	130	5.2	13	12	25	3.69%
Juanar	175	8.7	2	5	7	0.45%
Juanar	944	8.7	28	13	41	0.49%
Juanar (2)	1,583	4.8	7	1	8	0.10%
Juanar (2)	1,743	4.8	26	30	56	0.66%
Juanar (2)	2,851	4.8	70	48	118	0.86%
Igualeja	548	4.3	3	2	5	0.21%
Igualeja (La Sala)	116	3.7	1	1	2	0.60%
Igualeja (La Sala)	624	3.7	2	-	2	0.09%
Júzcar (Cerro C)	294	5.1	4	7	11	0.73%
Júzcar (Cerro C)	900	5.9	-	6	6	0.11%
Júzcar (Cerro C)	952	5.9	3	-	3	0.05%
Júzcar	175	8.1	4	1	5	0.35%
Yunquera	756	3.6	2	5	7	0.25%
Yunquera	278	3.6	1	-	1	0.09%
Puerto Ojén	279	7.7	1	2	3	0.13%
Premoño	300	-	-	-	-	-
Las Ablanosas	300	-	-	-	-	-
S. Roque de R.	800	-	-	-	-	-
Santo Estevo	75	-	-	-	-	-
Vilouxé	86	-	-	-	-	-
+33 sites	4,871	4.8	-	1	1	0
TOTALS	21,037		326	207	533	

occurs from dry galls after winter, ACGW galls were preferentially collected during the winter and then transferred to indoor laboratory conditions until emergence of the insects. This usually occurred one or two months before the natural outdoor emergence because of the forced conditions of the laboratory. Collected galls were located into cardboard emergence boxes equipped with light extractors and kept in normal indoor laboratory conditions.

For an accurate estimation of the real emergence date of *T. sinensis* in the field, an additional experiment was performed in Juanar (Málaga, Andalusia). Three

infested chestnuts were selected, and the galled branches bagged. A total of 30 bags were placed (10 per tree), encasing an average of 8, 6 and 7 galls per bag. The emergence of *T. sinensis* was checked weekly.

Taxonomic identification

A careful morphological examination of the reared specimens attributed to *T. sinensis* is essential to prevent any possible misidentification with other native torymid parasitoid species. Confusion is particularly possible with three species that are

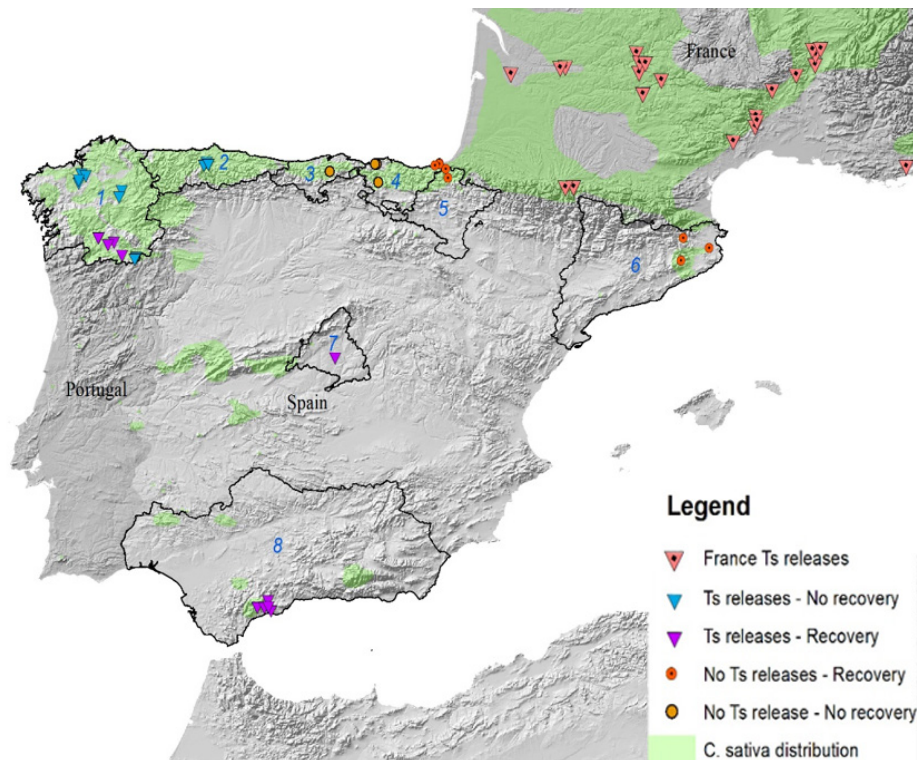


Figure 1. Map of the study area indicating the distribution of *Castanea sativa* in the Iberian Peninsula and southern France. The sites where *T. sinensis* was either released or not and where it was either recovered or not are shown. Autonomous communities: 1, Galicia; 2, Asturias; 3, Cantabria; 4, Basque Country; 5, CF Navarra; 6, Catalonia; 7, Madrid; 8, Andalusia.

morphologically quite similar and taxonomically closely related: *Torymus notatus* (Walker, 1833), *Torymus cyaneus* Walker, 1847 and *Torymus affinis* (Fonscolombe, 1832), and particular attention should be taken with males, which are less easily distinguished. For the identifications, we used the unpublished keys kindly provided by R. R. Askew and C. Thuroczy, as well as additional diagnostic morphological characters (Nieves-Aldrey, unpublished data).

Estimation of parasitism

All the galls collected during the study together with their collection dates, the number of *T. sinensis* individuals recovered per locality, their emergence dates, and parasitism percentages (TsPR) appear in Table 1. To estimate parasitism rate of ACGW by *T. sinensis* we used the following equation

$$\frac{N_{Tsinensis}}{N_{galls} \cdot MACGW} \cdot 100$$

where $N_{Tsinensis}$ is the number of *T. sinensis* individuals per sample; N_{galls} is the number of ACGW galls per sample, and MACGW is the mean of ACGW larval chambers per gall in each locality (see Table 1). This

number was calculated after dissecting at least ten galls for each sampling locality in Andalusia and Galicia. For the samples collected in the Basque Country, Navarra, Madrid and Catalonia, where galls were not dissected, 5.2 chambers per gall was used as an estimated mean number for the remaining Spanish localities (Table 1).

Results

Natural dispersal of *T. sinensis* from France into Spain

Navarra, Basque Country and Cantabria (northern IP)

From the samples collected in Navarra and the Basque Country, we recovered 147 females and 73 males of *T. sinensis*. The species was present in one of the sampled sites from Navarra (Bera de Bidasoa) and in three of the sampling sites in Guipúzcoa Province (Basque Country): Hondarribia, Jaizkibel and Lezo. Compared with the relatively low figures of parasitism to date, from the Spanish sites where were *T. sinensis* was artificially released, the parasitism percentages in

the Basque Country and Navarra were variable but were generally moderate to high (from 0.99% to 8.29%), the relatively high rates at Lezo (4.88%) and especially at Jaizkibel (nearly 8.5%) being remarkable. These data unequivocally show the successful establishment of *T. sinensis* in these two autonomous communities, likely as a result of its natural dispersal from France. All the localities with *T. sinensis* are very close to the border with France, Lezo being the farthest away (approximately 14 km). In contrast, in the samples collected in three sites in Vizcaya Province (Basque Country) (Orozco, Berango and Urdúliz), which are substantially farther from France (approximately 130 km), *T. sinensis* was not present. In addition, samples of ACGW galls collected in S. Roque de Riomiera, in the neighbouring Autonomous Community of Cantabria (225 km from France), did not yield any *T. sinensis* individuals.

Catalonia (northeast IP)

Twelve *T. sinensis* females were reared from ACGW galls collected during the summer in two sites, Sant Marçal and S. Hilari Sacalm, in the Natural Park of Montseny (Barcelona and Girona, Catalonia). The calculated parasitism rate was 0.96% at the first site and 0.19% at the second (Table 1). The specimens successfully emerged in the laboratory from fresh galls collected eight months before (see Table 1), despite the galls being collected in summer and not subsequently enduring a 'cold' period for larval diapause before pupation.

Establishment of *T. sinensis* after releases

Andalusia (southern IP)

A total of 275 individuals of *T. sinensis* (154 females and 121 males) were recovered from 12,218 galls collected in eight sampling sites of Málaga Province, where experimental releases of *T. sinensis* were made in 2015-2017 (Table 1; Fig. 1). The settlement of *T. sinensis* was especially successful in Juanar, where 230 individuals were recovered, with an estimated mean parasitism rate of 0.51% (range 0.10-0.86, $n = 5$), despite the fact that experimental releases were made only in 2015 at this site, with 720 individuals (480 females and 240 males) being released. In addition, 34 *T. sinensis* individuals were recovered from another two sites, Igualeja and Júzcar, in the Valle del Genal, while we also recovered 3 specimens from Puerto de Ojén, which is not too close to Juanar, both being in the Sierra Blanca, and 8 from Yunquera in the Sierra de las Nieves.

To have available accurate data on the phenology of *T. sinensis* in the areas where it has been introduced

is important to determine the best release date for a successful biological control programme with this species. Accordingly, in the experiment performed in 2018 at the site of Juanar, the emergence of *T. sinensis* under field conditions began in mid-March and ended in mid-April, with an emergence peak in late March (Fig. 2). Therefore, this date may be the most appropriate for releasing *T. sinensis* in Andalusia region.

Galicia (northwest IP)

Given the extent and economic importance of the chestnut in Galicia, authorized controlled releases of *T. sinensis* have been important in this region. Up to 220,395 individuals were released in three campaigns (2015-2017) according to Pérez-Otero *et al.* (2017), and even higher numbers were released in the 2018 campaign (704,270 individuals from data of the Xunta de Galicia). However, only 12 individuals have been recovered according to published data, all from release sites in Ourense Province (Pérez-Otero *et al.*, 2017). Our own data even showed null settlement values at different localities. Indeed, from 4,871 galls collected in the winter of 2017 and early spring of 2018 from 33 sites in Galicia, only one male *T. sinensis* was recovered at one site (Riós, Ourense) where controlled release began in 2017. In addition, the species was not recovered from galls collected in winter (2017) from several sites of the Ribeira Sacra region (Central Galicia).

Madrid (central IP)

The experimental release of 120 individual *T. sinensis* on ACGW galls in Madrid returned 25 emerged *T. sinensis* individuals (13 females and 12 males). The success of the experimental infection was high, with a resulting parasitism rate of 3.69%.

Discussion

Natural spread from France

In this work, we report the presence of *T. sinensis* in northern Spain in three autonomous communities at the eastern and western ends of the border with France: the Basque Country, Navarra and Catalonia. Authorized releases of this biological control agent have been made in recent years in Galicia, Asturias and Andalusia, and thus in geographically distant regions from those mentioned above, but no releases have been made to date in communities close to the border with France. Discounting the possibility that the presence of *T. sinensis* in these northern autonomous communities is a result of many illegal or uncontrolled

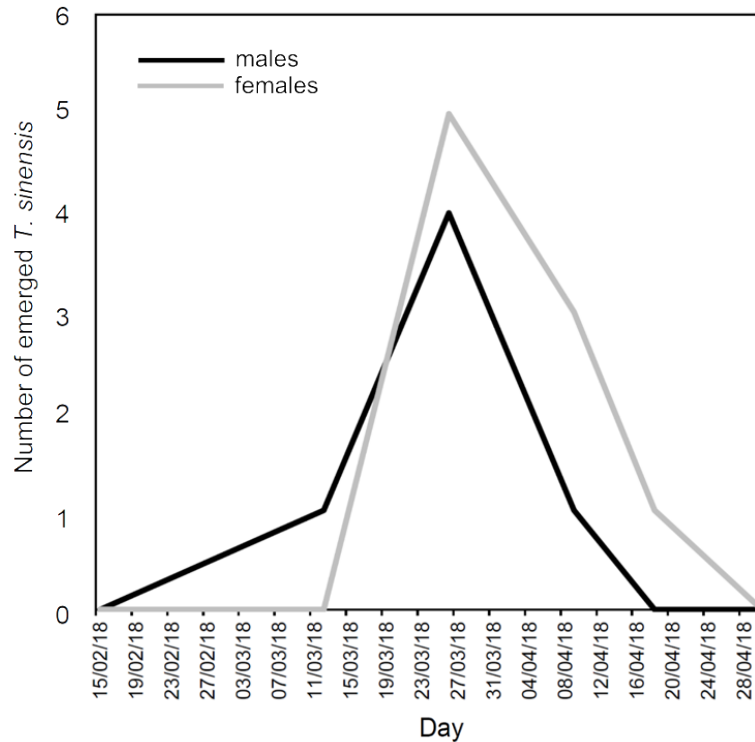


Figure 2. Phenology of *T. sinensis* in the site of Juanar (Málaga) under natural field conditions.

releases, the most likely explanation is that *T. sinensis* has naturally dispersed to these territories from France across the southern border with Spain. Published data of *T. sinensis* releases in France (Borowiec *et al.*, 2014, 2018) show that the closest release sites to Spain are Gironde, Lot, and Hautes-Pyrénées, 172-237 km away from the northern Spanish sampling sites. Taking into account that *T. sinensis* was released in France in 2013 and that the estimated dispersal capacity of this parasitoid is approximately 70 km per year (Colombari & Battisti, 2016), we suggest that *T. sinensis* may have reached the ACGW-infested Spanish areas in 2016. Fast natural dispersal of *T. sinensis* was observed also in Hungary (Melika *et al.*, 2017).

The hypothesis of an early arrival of *T. sinensis* in northern Spain by natural dispersal from France is reinforced by the relatively high parasitism rates shown in Lezo and Jaizkibel (4.8% and 8.2%, respectively). It is largely accepted that *T. sinensis* needs 5-7 years after the first release and or settlement to reach such high rates of parasitism (Quacchia *et al.*, 2008; Borowiec *et al.*, 2014; Matošević *et al.*, 2014, 2017; Ferracini *et al.*, 2018). However, despite this early arrival in the Basque Country and Navarra, our data indicate that the progression into Spain throughout the Cantabrian coast was slow, given the apparent absence of *T. sinensis* in the sampled sites of Vizcaya Province and the neighbouring community of Cantabria. The spread of *T. sinensis* from France towards Spain takes

advantage of the existence of two broad ecological corridors connecting both sides of the eastern and western Pyrenees. As a comparison between the two zones, the dispersal of *T. sinensis* across the western corridor, from France across the Basque Country and Navarra, would be easier than along the eastern corridor connecting France and Catalonia, since the first route has a lower altitude and a milder climate.

With regard to Catalonia, our data confirm the recent publication of the presence of *T. sinensis* in this autonomous region (Jara-Chiquito & Pujade-Villar, 2018). These authors reported a total of 45 individuals (15 males and 30 females) from three localities in Girona Province, close to the sites sampled by us. However, they do not provide data on the parasitism levels.

Establishment after controlled releases

The release programmes with *T. sinensis* carried out from 2015 to 2017 in two large areas of Spain, the whole Galicia region and areas of the Andalusian Province of Málaga yielded different results about its settlement. Whereas in Andalusia, the first successful results came after three years of experimental releases (275 *T. sinensis* were recovered out of 41,420 released, present results), in Galicia (where releases were even more numerous), only 12 out of 220,395 released individuals were recovered in post-release controls

(Pérez-Otero *et al.*, 2017), and only one in our study. Up to now, all available data have shown a low rate of *T. sinensis* implantation in this autonomous community. It is expected however, given the massive releases of *T. sinensis* made by the Xunta of Galicia in 2018 that the situation could significantly change after update the recovery data of 2019. We had not still access to the unpublished data of recoveries from the Xunta of Galicia, but our own data have started to show emergences of *T. sinensis* from galls collected in additional samplings in 2018-2019 (3 females and 2 males recovered to date (February 2019) from galls collected at the site of Merouzo pequeno (Ourense)).

The settlement seems to be particularly successful in Juanar, the first site in Málaga Province where *T. sinensis* was experimentally released in 2015. Despite the lack of further releases in the area since then, more than 200 individuals were recovered from test-release controls in 2018, with an estimated parasitism rate of 0.51%, thus suggesting successful establishment. It is important emphasize however, that the release area in Galicia is much wider than the release area in Andalusia, and the relative sampling effort was much lower in the first one, which may be one of the reasons of the low establishment success in that region.

It is interesting to compare the parasitism rate recorded from the different sampling sites. Values were null or low ($\approx 1\%$) at the release points (Table 1), while they were high at sites in the Basque Country (8.2%), i.e., where *T. sinensis* populations occur because of natural spread from France. The reasons behind this difference is difficult to explain using collected data. It seems not probable that settlement success depends on the time from the releases, since these were done starting back in 2015, possibly even before the arrival of the parasitoid in the northern regions by natural dispersal from France. On the other hand, we cannot exclude an effect of some unknown environmental and climatic conditions (which are extremely variable across the IP, and particularly between the northern and southern coastal areas) on the settlement success (Gil-Tapetado *et al.*, 2018). Additional studies are necessary to understand whether the release of *T. sinensis* is more likely to fail under certain conditions and thus possibly not be useful against ACGW.

The data from the experimental release in Madrid showed successful establishment of the insect in the field, on ACGW galls, which is a promising starting point towards future controlled releases in this and nearby regions where *C. sativa* is present but infection with ACGW have been not detected yet.

We predict that *T. sinensis* will continue its spread over the northern part of the IP, following *C. sativa* forests infested by ACGW, possibly reaching in a few

years many more areas than where it actually occurs today.

Established populations of *T. sinensis* may exert a positive buffer against *D. kuriphilus*-driven chestnut infestation in Spain, similar to what is observed in other invaded European countries.

Acknowledgements

We thank Ricardo Gómez (MAPA), Gerardo Sánchez (MAPA), Isabel Lorenzo (Tragsatec), Fernando Castedo (University of León), David Beltrán (Agrobío), Francisco M. Sánchez, Miguel Arenas and Antonio Pulido (Junta de Andalucía) and Máximo Braña (Sanidad Vegetal, Asturias) for their help and assistance.

References

- Abe Y, Melika G, Stone GN, 2007. The diversity and phylogeography of cynipid gallwasps (Hymenoptera, Cynipidae) of the Eastern Palaearctic and their associated communities. *Oriental Insects* 41: 169–212. <https://doi.org/10.1080/00305316.2007.10417504>
- Ács Z, Challis R, Bihari P, Blaxter M, Hayward A, Melika G, Péntes Z, Pujade-Villar J, Nieves-Aldrey JL, Schönrogge K, Stone GN, 2010. Phylogeny and DNA barcoding of inquiline oak gallwasps (Hymenoptera: Cynipidae) of the Western Palaearctic. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 55: 210–225. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2009.12.004>
- Aebi A, Schöenenberger N, Bigler F, 2011. Evaluating the use of *Torymus sinensis* against the chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus* in the Canton Ticino, Switzerland. *Agroscope Reckenholz-Tanikon Report*. Zürich, Switzerland, 72 pp.
- Avtzis DN, Melika G, Matošević D, Coyle D, 2019. The Asian chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus*: a global invader and a successful case of classical biological control. *J Pest Sci* 92: 107–115. <https://doi.org/10.1007/s10340-018-1046-1>
- Bailey SF, Stange LA, 1966. The twig wasp of cork oak-its biology and control. *J Econ Entomol* 59: 663–68. <https://doi.org/10.1093/jee/59.3.663>
- Baldassari N, Baronio P, 1996. Infestazioni di *Callirhytis rufescens* (Mayr) (Hy. Cynipidae) su *Quercus pubescens* Willd. E *Q. robur* L. nella bonifica di Maccarese (Roma). *Informatore Fitopatologico* 1: 19–22.
- Battisti A, Benvegnù I, Colombari F, Haack RA, 2014. Invasion by the chestnut gall wasp in Italy causes significant yield loss in *Castanea sativa* nut production. *Agricultural Forest Entomol* 16: 75–79. <https://doi.org/10.1111/afe.12036>

- Borowiec N, Thaon M, Brancaccio L, Warot S, Vercken E, Fauvergue X, Ris N, Malausa JC, 2014. Classical biological control against the chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera, Cynipidae) in France. *Plant Protection Quarterly* 29(1):7–10.
- Borowiec N, Thaon M, Brancaccio L, Cailleret B, Ris N, Vercken E, 2018. Early population dynamics in classical biological control: establishment of the exotic parasitoid *Torymus sinensis* and control of its target pest, the chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus*, in France. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 166: 367–379. <https://doi.org/10.1111/eea.12660>
- Brussino G, Bosio G, Baudino M, Giordano R, Ramello F, Melika G, 2002. Pericoloso insetto esotico per il castagno europeo. *Informatore agrario* 37: 59–61.
- Cerasa G, Lo Verde G, Caleca V, Massa, Nicholls JA, Melika G, 2018. Description of *Dryocosmus destefanii* new species (Hymenoptera: Cynipidae: Cynipini) from *Quercus suber* L. in Italy. *Zootaxa* 4370 (5): 535–548. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4370.5.5>
- Cho DY, Lee SO, 1963. Ecological studies on the chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, and observations on the damages of the chestnut trees by its insect. *Korean J Plant Protect* 2:47–54.
- Colombari F, Battisti A, 2016. Native and introduced parasitoids in the biocontrol of *Dryocosmus kuriphilus* in Veneto (Italy). *EPP0 Bulletin* 46: 275–285. <https://doi.org/10.1111/epp.12297>
- Cooper WR, Rieske LK, 2007. Community associates of an exotic gallmaker, *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera: Cynipidae), in Eastern North America. *Annals Entomol Soc Amer* 100: 236–244. [https://doi.org/10.1603/0013-8746\(2007\)100\[236:CAOAE\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0013-8746(2007)100[236:CAOAE]2.0.CO;2)
- DOGC (Diari Oficial de la Generalitat de Catalunya), 2012. ORDRE AAM/355/2012, de 2 de novembre, per la qual s'estableixen les zones delimitades per la plaga *Dryocosmus kuriphilus*. *DOGC Núm.* 6253: 56194–56196.
- EFSA (European Food Safety Authority), 2010. Risk assessment of the oriental chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* for the EU territory and identification and evaluation of risk management options. *EFSA Journal* 8:16–19.
- Ferracini C, Gonella E, Ferrari E, Saladini MA, Picciau L, Tota F, Pontini M, Alma A, 2015a. Novel insight in the life cycle of *Torymus sinensis*, biocontrol agent of the chestnut gall wasp. *BioControl* 60: 169–177. <https://doi.org/10.1007/s10526-014-9633-4>
- Ferracini C, Ferrari E, Saladini MA, Pontini M, Corradetti M, Alma A, 2015b. Non-target host risk assessment for the parasitoid *Torymus sinensis*. *BioControl* 60: 593–594. <https://doi.org/10.1007/s10526-015-9676-1>
- Ferracini C, Ferrari E, Pontini M, Hernández Nova LK, Saladini MA, Alma A, 2017. Post-release evaluation of non-target effects of *Torymus sinensis*, the biological control agent of *Dryocosmus kuriphilus* in Italy. *BioControl* 62: 445–456. <https://doi.org/10.1007/s10526-017-9803-2>
- Ferracini C, Bertolino S, Bernardo U, Bonsignore CP, Faccoli M, Ferrari E, Lupi D, Maini S, Mazzon L, Nugnes F, Rocco A, Santi F, Tavella L, 2018. Do *Torymus sinensis* (Hymenoptera: Torymidae) and agroforestry system affect native parasitoids associated with the Asian chestnut gall wasp? *Biological Control* 121: 36–43. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.01.009>
- Gehring E, Bellosi B, Quacchia A, Conedera M, 2018. Assessing the impact of *Dryocosmus kuriphilus* on the chestnut tree: branch architecture matters. *Journal of Pest Science* 91: 189–202. <https://doi.org/10.1007/s10340-017-0857-9>
- Gibbs M, Schönrogge K, Alma A, Melika G, Quacchia A, Stone GN, Aebi A, 2011. *Torymus sinensis* a viable management option for the biological control of *Dryocosmus kuriphilus* in Europe? *BioControl* 56: 527–538. <https://doi.org/10.1007/s10526-011-9364-8>
- Gil-Tapetado D, Gómez JF, Cabrero-Sañudo FJ, Nieves-Aldrey JL, 2018. Distribution and dispersal of the invasive Asian chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera: Cynipidae), across the heterogeneous landscape of the Iberian Peninsula. *Europ J Entomol* 115: 575–586. <https://doi.org/10.14411/eje.2018.055>
- Huber J T, Read J, 2012. First record of the oriental chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae), in Canada. *J Entomol Soc Ontario* 143: 125–128.
- Hulme PE, 2009. Trade, transport and trouble managing invasive species pathways in an era of globalization. *J Appl Ecol* 46: 10–18. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2008.01600.x>
- Jara-Chiquito JL, Pujade-Villar J, 2018. *Torymus sinensis* Kamijo, 1982 (Hymenoptera, Torymidae) has arrived in Spain. *Bulleti de la Institutio Catalana d'Historia Natural* 82: 3–4.
- Kinsey AC, 1935. The Economic importance of the Cynipidae. *J Econom Entomol* 28: 86–91. <https://doi.org/10.1093/jee/28.1.86>
- Matošević D, Quacchia A, Kriston E, Melika G, 2014. Biological control of the invasive *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera: Cynipidae) – an overview and the first trials in Croatia. *South-East European Forestry* 5(1): 3–12. <https://doi.org/10.15177/see-for.14-05>
- Matošević D, Lacković N, Kos K, Kriston E, Melika G, Rot M, Pernek M, 2017. Success of classical biocontrol agent *Torymus sinensis* within its expanding range in Europe. *J Appl Entomol* 141(9): 758–767. <https://doi.org/10.1111/jen.12388>
- Melika G, Tang CT, Nicholls J, Yang MM, Stone GN, 2011. Four new species of *Dryocosmus* gallwasps from Taiwan (Hymenoptera: Cynipidae, Cynipini). *Internat Scholarly*

- Research Notices: Zoology, 2011 (Article ID 725180), 1–17.
- Melika G, Bozsó M, Schwéger Sz, Krocskó G, Juhász E, Kriston É, Krizbai L, 2017. Biological control of the invasive *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera: Cynipidae) in Hungary. *Hungarian Agricultural Research* 4 (December): 16–23.
- Moriya S, Inoue K, Ôtake A, Shiga M, Mabuchi M, 1989. Decline of the chestnut gall wasp population, *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae) after the establishment of *Torymus sinensis* Kamijo (Hymenoptera: Torymidae). *Appl Entomol Zool* 24:231–233. <https://doi.org/10.1303/aez.24.231>
- Moriya S, Shiga M, Adachi I, 2003. Classical biological control of the chestnut gall wasp in Japan: Proceedings of the 1st International symposium on biological control of arthropods (ed. by RG van Driesche) USDA Forest Service, Washington, USA, pp. 407–415.
- Murakami Y, Ao HB, Chang CH, 1980. Natural enemies of the chestnut gall wasp in Hopei Province, China (Hymenoptera: Chalcidoidea). *Appl Entomol Zool* 15:184–186. <https://doi.org/10.1303/aez.15.184>
- Murakami Y, Toda S, Gyoutoku Y, 2001. Colonization of imported *Torymus* (*Syntomaspis*) *sinensis* Kamijo (Hymenoptera: Torymidae) parasitic on the chestnut gall wasp (Hymenoptera: Cynipidae). Success in the eighteenth year after release in Kumamoto. *Proc Ass Plant Protect Kyushu* 47:132–134. <https://doi.org/10.4241/kyubyochu.47.132>
- Nieves-Aldrey JL, 2001. Fauna Ibérica Vol 16 Hymenoptera: Cynipidae Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Madrid, Spain.
- Paparella, F, Ferracini C, Portaluri A, Manzo A, Alma A, 2016. Biological control of the chestnut gall wasp with *T. sinensis*: a mathematical model. *Ecolog Model* 338:17–36. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2016.07.023>
- Payne JA, Menke AS, Schroeder PM, 1975. *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, (Hymenoptera: Cynipidae), an oriental chestnut gall wasp in North America. U.S. Department of Agriculture Cooperative Economic Insect report 25, pp 903–905.
- Pérez-Otero R, Mansilla JP, 2014. El cinípido del castaño *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, 1951 llega a Galicia (NO de la Península Ibérica). *Arquivos Entomolóxicos* 12: 33-36.
- Pérez-Otero R, Crespo D, Mansilla JP, 2017. *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, 1951 (Hymenoptera: Cynipidae) in Galicia (NW Spain). Pest dispersion, associated parasitoids and first biological control attempts. *Arquivos Entomolóxicos* 17: 439-448.
- Pogolotti C, Cuesta-Porta V, Pujade-Villar J, Ferracini C, 2018. Seasonal flight activity and genetic relatedness of *Torymus* species in Italy. *Agric Forest Entomol*. DOI: [10.1111/afe.12316](https://doi.org/10.1111/afe.12316). <https://doi.org/10.1111/afe.12316>
- Pujade-Villar J, Torrel A, Rojo M, 2013. Primeres troballes a la península Ibérica de *Dryocosmus kuriphilus* (Hym., Cynipidae), una especie de cinípido d'origen asiàtic altament perillosa per al castanyer (Fagaceae). *Orsis* 27: 295-301.
- Quacchia A, Moriya S, Bosio G, Scapin I, Alma A, 2008. Rearing, release and settlement prospect in Italy of *Torymus sinensis*, the biological control agent of the chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus*. *BioControl* 53 829–839. <https://doi.org/10.1007/s10526-007-9139-4>
- Radóczy L, Szilágyi A, Nagy M, Kovács G, Melika G, 2016. Asian sweet chestnut gallwasp, *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera, Cynipidae): first record for Romania. *North-Western J Zool* 12(1): 201-204.
- Rubio R, 2014. La avispa del castaño en España: Cronología y perspectivas. European Chestnut meeting. Biocastanea. Ponferrada, León, Spain. 11-13 sep. 2014.
- Scutareanu P, Roques A, 1993. L'entomofaune nuisible aux structures reproductrices mâles et femelles des chênes en Roumanie. *J Appl Entomol* 115: 321-328. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1993.tb00398.x>
- Wong ME, Gavira O, Vela JM, Rodríguez C, Sánchez Callado FM, Boyero JR, 2015. La avispa del castaño (*Dryocosmus kuriphilus*) en el Sur de España: primeros resultados sobre fenología y control biológico por parasitoides. IX Congreso Nacional de Entomología Aplicada, libro de resúmenes, Valencia, Spain, 19-23 octubre 2015, pp. 179.
- Yara K, Sasawaki T, Kunimi Y, 2007. Displacement of *Torymus beneficus* (Hymenoptera: Torymidae) by *T. sinensis*, an indigenous and introduced parasitoid of the chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera: Cynipidae), in Japanese chestnut fields: possible involvement in hybridization. *Biological Control* 42: 148–154. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2007.04.017>
- Zhang ZY, 2009. Study approaches on the chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu in China. *Acta Horticulturae* (ISHS) 844: 425–432. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2009.844.59>
- Zhu DH, Liu ZL, Yang XH, Su CH, Liu P, 2015. New Gall Wasp Species Attacking Chestnut Trees: *Dryocosmus zhuli* n. sp. (Hymenoptera: Cynipidae) on *Castanea henryi* from Southeastern China. *Journal of Insect Science* 15(1): 156. <https://doi.org/10.1093/jisesa/iev118>



Newly invaded territories by *Dryocosmus kuriphilus* in Spain and first records of *Torymus sinensis* in the Sistema Central

Diego Gil-Tapetado (Gil-Tapetado, D.)¹, María del Pilar Rodríguez-Rojo (Rodríguez-Rojo, M. P.)², Ángel Valderas Sabido (Valderas, A.)³, Jose Luis Nieves-Aldrey (Nieves-Aldrey J. L.)⁴

¹Universidad de Santiago de Compostela, Escola Politécnica Superior de Enxeñaría, Departamento de Producción Vexetal e Proxectos de Enxeñaría, Rúa Benigno Ledo, 2, 27002 Lugo. ²Universidad de Castilla-La Mancha, Facultad de Ciencias Ambientales y Bioquímica, Avda. Carlos III, s/n Edificio Sabatini, 45071 Toledo. ³Agrupación de Cooperativas Valle del Jerte, Ctra. Nacional 110, km 381, 10614 Valdastillas (Cáceres). ⁴Museo Nacional de Ciencias Naturales (CSIC), José Gutiérrez Abascal 2, 28006 Madrid.

Abstract

Aim of study: To update the distribution of *Dryocosmus kuriphilus*, the Asian chestnut gall wasp, focusing on the central area of the country (Sistema Central). Gall samplings of these areas were carried to obtain the first records of parasitoids on *D. kuriphilus* in this area.

Area of study: Spain and, especially, the Sistema Central.

Material and methods: Georeferenced new records were used to produce a map with the updated distribution of *D. kuriphilus* as of 2019. Galls were collected and stored in emergence boxes. Parasitoids that emerge from these galls were collected and identified at the most detailed taxonomic level.

Main results: The alien species *D. kuriphilus* was found in the Spanish Sistema Central. Infestation focal points were detected in the Valle del Jerte (South of Sierra de Gredos), Sierra de Francia and in the mountains southwest of Madrid. In all detected focal points of infestation, the available evidence indicates that introduction was caused by the accidental mobilization of infested chestnut material. Alongside other parasitoids recruited by *D. kuriphilus*, we found individuals of *Torymus sinensis*, constituting the first records of this foreign species in the Sistema Central.

Research highlights: We updated the previously published distribution of *D. kuriphilus* in Spain, an alien species and pest of chestnut forests and orchards. We also reported the first list of recruited parasitoids by *D. kuriphilus* and, more specifically, the first records of *T. sinensis* in the Sistema Central.

Keywords: Asian chestnut gall wasp; *Torymus sinensis*; parasitoids; galls; Iberian Peninsula; pest species; alien species.

Authors' contributions: Conceived and designed the work: DGT, JLNA. Performed the experiments and analyzed the data: DGT, MPRR, JLNA. Contributed materials/data: DGT, MPRR, AV, JLNA. Wrote the paper: DGT, JLNA.

Citation: Gil-Tapetado, D., Rodríguez-Rojo, M.P., Valderas, A., Nieves-Aldrey, J. L. (2020). Newly invaded territories by *Dryocosmus kuriphilus* in Spain and first records of *Torymus sinensis* in the Sistema Central. *Forest Systems*, Volume 29, Issue 2, eSC06. <https://doi.org/10.5424/fs/2020292-16384>.

Received: 14 Jan 2020 **Accepted:** 23 Jul 2020

Copyright © 2020 INIA. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-by 4.0) License

Funding agencies/institutions	Project / Grant
Encomienda de Gestión from MAPAMA to Agencia Estatal CSIC. Awarded to JLNA.	16MNES003

Competing interests: The authors have declared that no competing interests exist.

Correspondence should be addressed to Diego Gil-Tapetado: diego.gil@ucm.es

Introduction

The Asian chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, 1951 (Hymenoptera: Cynipidae) is an alien species from China and a pest of different *Castanea* spp. in Japan, Korea, North America and Europe (Oho & Umeya, 1975; Payne *et al.*, 1976; Brussino *et al.*, 2002; Gehring *et al.*, 2019). This gall-maker and parthenogenetic species is distributed in most of the *Castanea sativa* Mill. forests and timber and chestnut production stands of Europe (EFSA,

2010), including the Iberian Peninsula (IP) (Gil-Tapetado *et al.*, 2018). Although *D. kuriphilus* was introduced in Europe (specifically in Italy) in 2002 (Brussino *et al.*, 2002), this species arrived into the IP in 2012 in Catalonia, in the northeast of the IP, next to the French border of the Pyrenees (Pujade-Villar *et al.*, 2013). In 2014, this species was found in Galicia (northwest IP) (Pérez-Otero & Mansilla, 2014) and Andalusia (specifically in Málaga, southern IP). Considering the natural dispersal distance of *D. kuriphilus* has been established to be an average of 6.6 km/year (Gilioli *et*

al., 2013), it is very unlikely that this species reached these remote territories without continuity among chestnut trees in only two years. This fact might be explained by the main cause of dispersion of this alien species: the movement of plant material, such as seedlings or grafts, from infested chestnuts (Quacchia *et al.*, 2008; Gilioli *et al.*, 2013). In Portugal, *D. kuriphilus* was also introduced in 2014 in the north-western territory (EPPO, 2014) but was separated ~35 km from the nearest border with Spain and was probably an independent focal point.

In Spain, *D. kuriphilus* was detected in many other territories since 2012 (Gil-Tapetado *et al.*, 2018). This previous article shows a total of 14 *D. kuriphilus* focal points throughout the Spanish territory and were disjointly distributed, with all of them except the initial one in Catalonia, caused by the dispersal of infested chestnut tree material. These focal points are related to the *D. kuriphilus* of 2018, which were found in all northern and southern mountain enclave areas of Spain, with the absence of this alien cynipid in the centre of the IP, except in the Madrid focal point. This *D. kuriphilus* focal point is located within the city of Madrid in two botanical royal gardens (RJB Alfonso XIII and RJB Madrid). The origin of the infestation of these planted *C. sativa* trees is uncertain because the last chestnut trees that were transported to these royal gardens came from non-infested areas before 2012 (Gil-Tapetado & Nieves-Aldrey, 2018). Omitting this isolated focal point, the mountain system in which chestnut trees are embedded in the central area of Spain, the Sistema Central, did not have any focal point of *D. kuriphilus* presence until 2018. Although it is true that there is a continuity of chestnut trees between Galicia (north-western IP) and the Sistema Central through Portugal (EPPO, 2014), it would take *D. kuriphilus* many years to arrive through its own natural dispersion.

A remarkable fact about the biological invasion of *D. kuriphilus* is the fast process of native chalcid parasitoid (Chalcidoidea: Cynipidae) recruitment that this alien cynipid has (Aebi *et al.*, 2006; Lombardero & Cabaleiro, 2015; Pérez-Otero *et al.*, 2017). Native chalcid parasitoids are the main population controllers of native cynipids; and they seem to be attracted to *D. kuriphilus* galls as hosts (Aebi *et al.*, 2006; Cooper & Rieske, 2007; Matošević & Melika, 2013; Quacchia *et al.*, 2012), making this cynipid-chalcid biological community have greater species richness. In addition, the establishment of these communities is very fast because in the same years in which *D. kuriphilus* is introduced in a territory, the native parasitoids can detect and oviposit in its galls as a host (Lombardero & Cabaleiro, 2015; Pérez-Otero *et al.*, 2017). This fast recruitment is remarkable because of the

absence of any other species of cynipid-inducing galls in *C. sativa* in the Western Palearctic. Together, the low regulatory capacity of native fauna of parasitoids on *D. kuriphilus* has led to the need for the releases of *Torymus sinensis* Kamijo, 1982 (Hymenoptera: Torymidae), as a biological control against this pest species (Moriya *et al.*, 2003; Quacchia *et al.*, 2008; Gibbs *et al.*, 2011; Borowiec *et al.*, 2018; Nieves-Aldrey *et al.*, 2019). After experimental releases of *T. sinensis* in large affected areas of Spain, the legal use and release of this biological control has been recently authorised by the Spanish government (November 2019).

In this work, we provide information about the current distribution of *D. kuriphilus* in Spain as of 2019, updating the previous information published in Gil-Tapetado *et al.* (2018), and we report new focal points in the chestnut forest and crops in the mountains of Sistema Central, Spain. Additionally, we provide the first records of chalcid parasitoid fauna associated with this alien cynipid in this area, including the striking presence of *T. sinensis* in one of the study sites.

Materials and methods

Area of study

Through communication with the different Spanish administrations, we were informed of the detection of *D. kuriphilus* in new areas throughout Spain and its expansion for the previous cited focal areas. We have paid a special attention to the Spanish Sistema Central where *D. kuriphilus* and *T. sinensis* were not previously found.

The Sistema Central, located in the centre of the IP, has foothills of 500 to 1200 m a.s.l. and a maximum altitude of 2592 m a.s.l.; these foothills divide the Iberian Plateau. This division forms the North and South Iberian sub-plateaus, two extensive plains that are highly continental. The Sistema Central is a mountain range in the middle of the Iberian territory that preserves cooler and more humid conditions due to its altitude, and it is capable of harbouring flora such as chestnut trees as well as plants linked to humid areas with moderate temperatures. In addition, the Sistema Central is linked to the Portuguese territory of Serra da Estrela, which also has chestnut trees that form a semi-continuous mass of *C. sativa* towards the north-east of the IP (Galicia).

Chestnut trees of the Sistema Central are mainly located in the west of this range, in the southwest of Community of Madrid and Ávila, the north of Toledo (Sierra de Gredos), the north of Cáceres, and the south of Salamanca

(Sierra de Béjar, Sierra de Francia and Sierra de Gata). Additional Spanish chestnut forests were also prospected, as the Sierra de Aracena, in Andalusia (Huelva). All these areas were visited by the authors to confirm the presence of *D. kuriphilus* galls.

Gall sampling and parasitoid identification

Three areas were visited and sampled: Sierra de Francia, Valle del Jerte, and mountains southwest of Madrid. Samples of *D. kuriphilus* galls were collected between the ground and a height of two metres along a half hour transect in each sampled locality. Collected *D. kuriphilus* galls were stored in plastic bags and transported to the Museo Nacional de Ciencias Naturales of Madrid (MNCN). A fraction of collected galls were stored in emergence cardboard boxes, equipped with skylight extractors, under indoor room conditions in the MNCN. The other fraction of galls was dissected and examined, and the adult and immature stages of the individuals within them were identified at the most detailed level possible.

Adult *D. kuriphilus* and parasitoids that were collected were stored in 70% ethanol vials and dry mounted for morphological examination and identification under light microscopy. The larvae collected from gall dissections were stored in 96% ethanol vials for examination under scanning electron microscopy (SEM) with the low vacuum technique as described in Nieves-Aldrey *et al.* (2005) and Gómez *et al.* (2008). Samples of adults and larvae were stored in the Entomological Collection of the MNCN. Chalcid parasitoids were identified by the senior author using some taxonomic key references (Graham & Gisjwist, 1998; Nieves-Aldrey, 1984; Gómez *et al.*, 2008) as well as more recent published and unpublished information (Al-Khatib *et al.*, 2014, Askew and Thúroczy (unpublished); Nieves-Aldrey (unpublished)).

Map building

The map of this short article was elaborated by modifying the map of Gil-Tapetado *et al.* (2018) and including the new *D. kuriphilus* focal points appearing before this published article. These new focal points and the *D. kuriphilus* expansion data come from different official sources: the Ministerio para la Transición Ecológica of Spain, Servicio de Defensa del Medio Natural of Junta of Castilla y León, Dirección General de Agricultura, Ganadería y Alimentación of Community of Madrid, Cooperative Association Valle del Jerte and Junta of Andalusia.

The map was elaborated using ArcGIS v 10.3 (ESRI, 2014).

Results and discussion

Distribution update of *D. kuriphilus*

The distribution of *D. kuriphilus* has been modified in some areas of Spain (Fig. 1), expanding throughout Galicia to cover almost the entire territory of this region (1). The adjoining infested areas to Galicia (1), the El Bierzo (León) and Alta Sanabria (Zamora), have also been extended. The infested area of Serranía de Ronda and Valle del Genal (12), south of the IP, has been expanded. The Catalanian region (5 and 6) has not been modified with the data we have, and the entire chestnut territory is invaded by *D. kuriphilus*. We do not have general data on the rest of the infested areas: Asturias (2), Cantabria-West Basque Country-North Burgos (3) and Navarra-East Basque Country (4). However, in the last surveys in the Navarra territory (4), near the French border, we observed an apparent decrease in the populations of *D. kuriphilus*. This observed *D. kuriphilus* population decrease may be related to the natural dispersion of *T. sinensis* into Navarra from France (Nieves-Aldrey *et al.*, 2019), across the ecological corridor of the west of the Pyrenees, through the mass of chestnuts trees and the *D. kuriphilus* in them. The focal point of Madrid (11) has not changed due to its isolation from chestnut forests.

There were four newly detected focal points of *D. kuriphilus*. All were prospected by different official institutions, a priori discarding the presence of *D. kuriphilus* in previous years, either for not having been detected or for having successfully destroyed the detected infested chestnut material without possibility of propagation. One of these new focal points was detected in the south region in the Tejeda-Almijara (13), between the focal points of Lanjarón (14) and Serranía de Ronda and Valle del Genal (12). This focal point is relatively isolated and separated from the other two nearest focal points, and its infestation by *D. kuriphilus* is likely due to the movement of infested chestnut material from other areas to this one.

The other three new focal points are related to the Sistema Central mountain range: Sierra de Francia (7), Valle del Jerte (8) and southwest of Madrid (10). The appearance of these new areas might be due to 1) the natural dispersal of *D. kuriphilus* from neighbouring focal points or 2) the artificial dispersal caused by the movement of infested material to distant areas with no local presence of this invasive cynipid. *A priori*, the Sistema Central should have a low probability of the arrival of *D. kuriphilus* by natural dispersal due to this area is far away from the other infested areas of the Iberian Peninsula. These focal points are separated up to ~50 km, meaning it is unlikely that they were infested by each other or by the focal point of the city of Madrid through the natural dispersion of

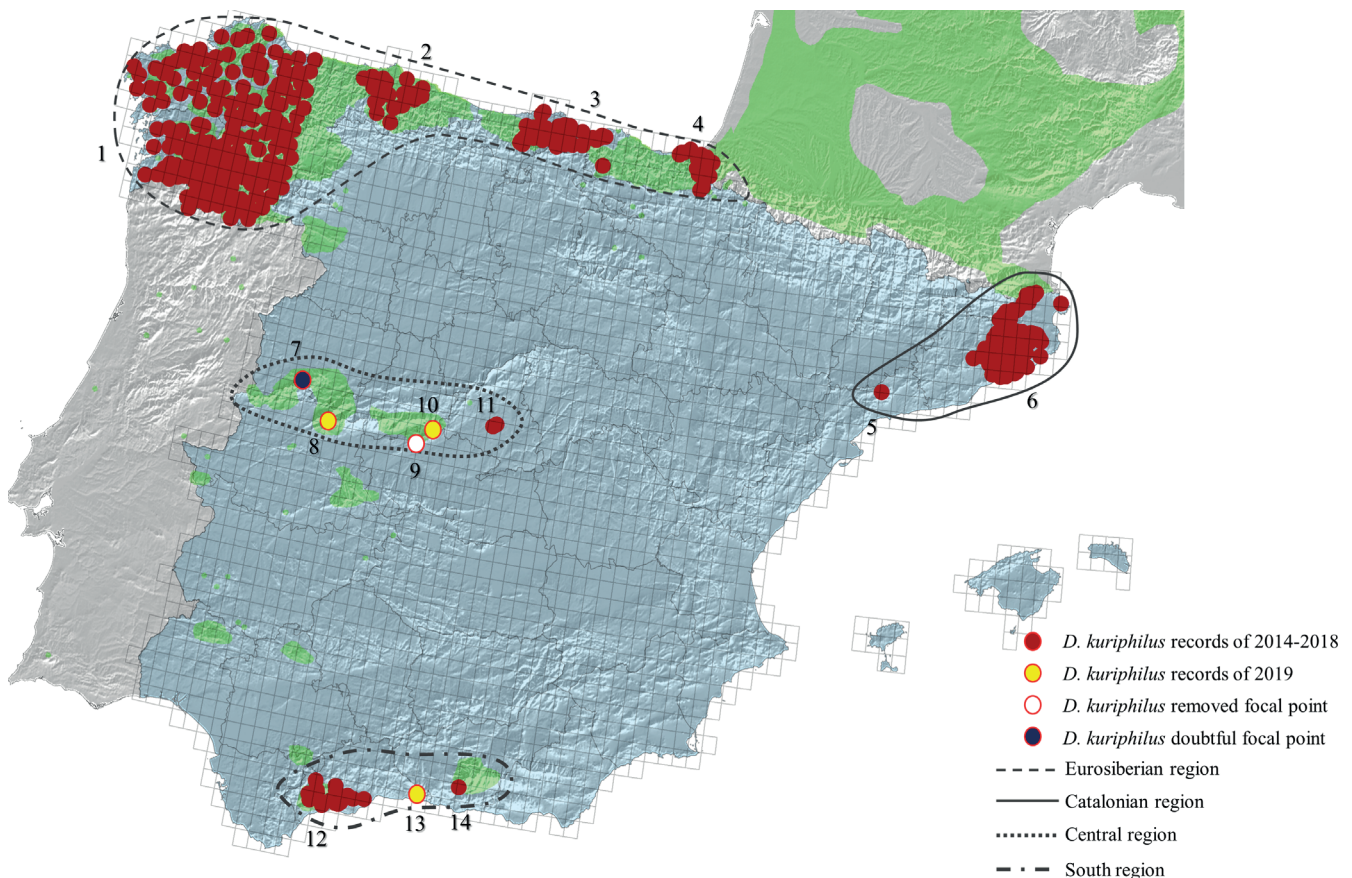


Figure 1. Distribution of *D. kuriphilus* in Spain until 2019. The red dots show an updated distribution of *D. kuriphilus* with respect to the focal points described in Gil-Tapetado *et al.* (2018). The yellow dots indicate the new *D. kuriphilus* focal points described in this brief communication. Different line types indicate the infested areas by *D. kuriphilus* in Spain. The colour green indicates the presence of *C. sativa* in the Iberian Peninsula and south of France. The names of each updated focal point related to each geographical area are in the Eurosiberian region: 1) Galicia-El Bierzo-Alta Sanabria; 2) Asturias; 3) Cantabria-West Basque Country-North Burgos; and 4) Navarra-East Basque Country. Catalanian region: 5) Prades; 6) Montseny. Central region: 7) Sierra de Francia; 8) Valle del Jerte; 9) Sierra de San Vicente; 10) Southwest of Madrid; 11) Madrid. South región: 12) Serranía de Ronda-Valle del Genal; 13) Sierra de Tejera-Almijara; 14) Lanjarón.

D. kuriphilus. In addition, the nearest focal point to the Portuguese frontier is ~50 km away. Thus, these recently produced *D. kuriphilus* focal points are probably due to the accidental mobilization of infested chestnut material, which caused the new introductions. As Gil-Tapetado *et al.* (2018) indicated in their survey, without quarantine measures, the chestnut forests at the centre of the IP were only vulnerable to *D. kuriphilus* dispersal mediated by human transport and could be colonized only in short-medium terms in this manner. In this brief communication, we inform about this statement, with the beginning of the *D. kuriphilus* problems forming from chestnut production in the Sistema Central.

In the focal area of Valle del Jerte, our prospecting indicate that the presence of *D. kuriphilus* was earlier than 2019. In this area, the gall abundance did not coincide with a first-year invasion scenario, and it is probable that the infestation occurred in 2017 or 2018 and went undetected.

The Government of Castilla y León informed us that the different infested chestnut trees found in the Sierra de Francia (7) were eliminated by cutting off the tree canopy

and burning it. However, these measures were taken in May and June, when the *D. kuriphilus* adult can emerge, and they may have oviposited and infested nearby chestnut tree buds. Therefore, the settlement of *D. kuriphilus* in the Sierra de Francia area remains in doubt in 2019. The infested chestnuts of this area came from Asturias and Galicia, confirming its introduction by transport through human forestry activities. A similar event occurred in the Sierra de San Vicente (9), near the Sierra de Gredos in Toledo in 2016. In this area, infested chestnut trees were reported and eliminated by burning galls. *A priori*, this control measure seems to be effective because no new presence of *D. kuriphilus* has been reported in this area since 2016 (Gil-Tapetado *et al.*, 2018).

In 2019, at the time this distribution update was written, the Sierra de Aracena and Picos de Aroche Natural Park (Huelva, Andalusia) was the last most important Spanish chestnut forest without *D. kuriphilus*, after our own prospecting. This area is a priority area of control, and chestnut trees and *Castanea* forestry material should be quarantined to prevent new introductions

Table 1. Sampling localities. The geographical location, province and focal area name, collection date and number of collected galls and number of female individuals of *D. kuriphilus* and emergency date, number of individuals by sex and identification to species level of the parasitoids of each sample are indicated. * Data from gall dissection.

Locality	Latitude	Longitude	Province	Focal Area	Sampling Date	N galls	N <i>D. kuriphilus</i>	Emergency Date	Parasitoid species	♀	♂	indet	
Cabezuela del Valle	40.213	-5.790	Cáceres	Valle del Jerte	09/06/2019	60	11	13/06/2019	<i>Sycophila biguttata</i>	1	-	-	
	40.214	-5.798	Cáceres	Valle del Jerte	09/06/2019	38	0	-	-	-	-	-	
	40.214	-5.796	Cáceres	Valle del Jerte	09/06/2019	53	19	-	-	-	-	-	
El Cabaco	40.563	-6.129	Salamanca	Sierra de Francia	29/09/2019	0	0	-	-	-	-	-	
Sequeros	40.513	-6.027	Salamanca	Sierra de Francia	29/09/2019	0	0	-	-	-	-	-	
Rozas de Puerto Real	40.310	-4.505	Madrid	Southwest of Madrid	26/06/2019	1	0	-	-	-	-	-	
Cadalso de los Vidrios	40.298	-4.463	Madrid	Southwest of Madrid	26/06/2019	154	6	26/06/2019*	<i>Eupelmus</i> sp. (larva)	-	-	1	
									<i>Sycophila</i> sp. (larva)	-	-	1	
									<i>Ectoparasitoid</i> (larva)	-	-	1	
									<i>Pteromalidae</i> (pupa)	-	-	1	
									<i>Torymus sinensis</i> (larva)	-	-	2	
									01/07/2019	<i>Mesopolobus tibialis</i>	2	-	-
										<i>Ormyrus pomaceus</i>	3	-	-
									08/07/2019	<i>Sycophila variegata</i>	1	1	-
										<i>Eupelmus urozonus</i>	5	5	-
									25/09/2019	<i>Eupelmus urozonus</i>	1	-	-
	<i>Cecidostiba fungosa</i>	-	2	-									
15/07/2019	<i>Sycophila flavicollis</i>	1	-	-									
27/11/2019	<i>Eurytoma pistaciae</i>	-	1	-									
09/01/2020	<i>Torymus sinensis</i>	6	4	-									

of this alien species and an almost complete invasion of Spanish chestnut forests.

Parasitoid collection

Reared parasitoids from samples of galls of *D. kuriphilus* collected in the site of Cadalso de los Vidrios (Community of Madrid) confirm the fast recruitment of native chalcid parasitoid fauna by *D. kuriphilus*, accounting for a minimum of nine different species. This recruitment of parasitoids by this alien cynipid would have occurred after only one year of presence in the chestnut forests of the Sistema Central. All emerged chalcid parasitoids were native and generalists and belonged to different native cynipid communities (Gómez *et al.*, 2006) (Table 1). The species *Cecidostiba fungosa* (Geoffroy, 1785), *Sycophila biguttata* (Swederus, 1795) and *Sycophila flavicollis* (Walker, 1834) were rare in our *D. kuriphilus* gall samples throughout the IP from 2016 to 2018, with the focal point mainly located in Galicia (1) and Serranía de Ronda-Valle del Genal (12), and in the parasitoid list of Catalonia region (5-6) in the work by Jara-Chiquito *et al.* (2020) (Fig. 1). Although the data are very fragmented and scarce, it is possible there are differences in the communities of parasitoids in different areas of the IP as well as in the recruitment of native fauna (Gil-Tapetado *et al.*, unpublished).

Considering the dissection data of *D. kuriphilus* galls, the early finding of *Torymus* (*Syntomaspis*) larvae in Cadalso de los Vidrios, preliminarily identified as *T. sinensis*, was intriguing and must be emphasized. This

fact was later confirmed by the rearing of emerging *T. sinensis* adults from this sample (Table 1). The unexpected and surprising presence of this species in this locality of the Community of Madrid would be explained with two hypotheses: 1) the natural dispersal of *T. sinensis* from the nearest area where this biological control agent was experimentally released, the RJB Alfonso XIII in the city of Madrid; or 2) a possible unauthorized release of *T. sinensis* were made in this site, given that there are no records of such releases being authorized or made by the Community of Madrid. We think the first hypothesis is highly unlikely. In fact, although Madrid is 63 km distant from Cadalso de los Vidrios and, therefore, has a similar range about of 60 km/year of dispersal capacity for the species reported by Moriya *et al.* (2003), the date of establishment in Madrid is quite recent and with a low percentage (spring of 2018, 3.69%, Nieves-Aldrey *et al.*, 2019). This would imply a very fast dispersal event, only one year, to colonize the distant apart chestnut trees of Cadalso de los Vidrios, due to our rearing of *T. sinensis* in this last site are dated in 2019 and the species needs an entire year for its establishment.

In conclusion, *D. kuriphilus* has continued to expand through the IP, both by natural dispersal and dispersal facilitated by human activities. This alien species has recruited as a minimum of nine parasitoid species at one site of the Sistema Central in the same year as *D. kuriphilus* was reported in this area and with the simultaneous presence of its biological control, *T. sinensis*, an alien species that is for the first time recorded from a natural area of the Community of Madrid.

Acknowledgements

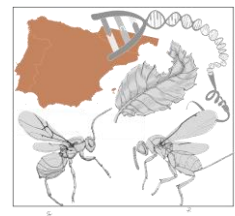
We thank Ramón Rodríguez and Vicente Rodríguez (Servicio de Defensa del Medio Natural de la Junta de Castilla y León) for sharing information about sightings of galls of *D. kuriphilus* from Sierra de Francia (Salamanca). We also thank to Jesús Montoro Louvier (Dirección General de Agricultura, Ganadería y Alimentación de la Community of Madrid) for his help and sharing the information about the infested site by *D. kuriphilus* in Cadalso de los Vidrios.

References

- Al Khatib F, Fusu L, Cruad A, Gibson G, Borowiec N, Rasplus J-Y, Ris N, Delvare G, Fadel. 2014. An integrative approach to species discrimination in the *Eupelmus urozonus* complex (Hymenoptera, Eupelmidae), with the description of 11 new species from the Western Palearctic. *Syst Entomol* 39: 806-862. <https://doi.org/10.1111/syen.12089>
- Aebi A, Schönrogge K, Melika G, Alma A, Bosio G, Quacchia A, Picciau L, Abe Y, Moriya S, Yara K, Seljak G, Stone GN, 2006. Parasitoid recruitment to the globally invasive chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus*. *Galling arthropods and their associates* (ed. by Ozaki K, Yukawa J, Ohgushi T, Price PW), pp. 103-121. Springer, Tokyo. https://doi.org/10.1007/4-431-32185-3_9
- Borowiec N, Thaon M, Brancaccio, Cailleret B, Ris N, Vercken E, 2018. Early population dynamics in classical biological control: establishment of the exotic parasitoid *Torymus sinensis* and control of its target pest, the chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus*, in France. *Entomol Exp Appl* 29: 103. <https://doi.org/10.1111/eea.12660>
- Brussino G, Bosio G, Baudino M, Giordano R, Ramello F, Melika G, 2002. Dangerous exotic insect for the European chestnut. *Informatore Agrario* 58: 59-61. [In Italian]
- Cooper WR, Rieske LK, 2007. Community associates of an exotic gallmaker, *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera: Cynipidae), in eastern North America. *Ann Entomol Soc Am* 100(2): 236-244. [https://doi.org/10.1603/0013-8746\(2007\)100\[236:CAOAE\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0013-8746(2007)100[236:CAOAE]2.0.CO;2)
- EFSA (European Food Safety Authority), 2010. Risk assessment of the oriental chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* for the EU territory and identification and evaluation of risk management options. *EFSA J* 8: 16-19. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1619>
- EPPO (European Plant Protection Organization), 2014. First report of *Dryocosmus kuriphilus* in Portugal URL: <https://gd.eppo.int/reporting/article-2823>
- ESRI (Environmental Systems Research Institute), 2014. ArcGis 10.3 Geographical Information System URL: <https://www.esri.es/es-es/home>
- Gehring E, Bellosi B, Reynaud N, Conedera M., 2019. Chestnut tree damage evolution due to *Dryocosmus kuriphilus* attacks. *J Pest Sci* 1-13. <https://doi.org/10.1007/s10340-019-01146-0>
- Gibbs M, Schönrogge K, Alma A, Melika G, Quacchia A, Stone GN, Aebi A, 2011. *Torymus sinensis*: a viable management option for the biological control of *Dryocosmus kuriphilus* in Europe?. *BioControl* 56(4): 527-538. <https://doi.org/10.1007/s10526-011-9364-8>
- Gilioli G, Pasqualib S, Tramontinic S, Riolo F, 2013. Modelling local and long-distance dispersal of invasive chestnut gall wasp in Europe. *Ecol Model* 263: 281-290. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2013.05.011>
- Gil-Tapetado D, Gómez JF, Cabrero-Sañudo FJ, Nieves-Aldrey JL, 2018. Distribution and dispersal of the invasive Asian chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera: Cynipidae), across the heterogeneous landscape of the Iberian Peninsula. *Eur J Entomol* 115: 575-586 <https://doi.org/10.14411/eje.2018.055>
- Gil-Tapetado D, Nieves-Aldrey JL, 2018. Un invasor inesperado: la avispa del castaño. *El Guadarramista*. *Tribuna Verde*. <https://elguadarramista.com/2018/01/13/un-invasor-inesperado-la-avispa-del-castano/>[In Spanish]
- Gómez J, Hernandez Nieves M, Garrido Torres A, Askew RR, Nieves-Aldrey J. 2006. Los Chalcidoidea (Hymenoptera) asociados con agallas de cinípidos (Hymenoptera, Cynipidae) en la comunidad de madrid. *Graellsia* 62: 293-331. <https://doi.org/10.3989/graelisia.2006.v62.iExtra.122>
- Gómez JF, Nieves-Aldrey JL, Hernández Nieves M, 2008. Comparative morphology, biology and phylogeny of terminal-instar larvae of the European species of Toryminae (Hym., Chalcidoidea, Torymidae) parasitoids of gall wasps (Hym. Cynipidae). *Zool J Linn Soc* 154: 676-721 <https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.2008.00423.x>
- Graham MWR de V, Gijswit M, 1998. Revision of the European species of *Torymus* Dalman (Hymenoptera: Torymidae). *Zool Verh Leiden* 317: 1-202.
- Jara-Chiquito JL, Askew RR, Pujade-Villar J, 2020. The invasive ACGW *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera: Cynipidae) in Spain: native parasitoid recruitment and association with oak gall inducers in Catalonia. *Forestry* 93(1): 178-186. <https://doi.org/10.1093/forestry/cpz061>
- Lombardero MJ, Cabaleiro C, 2015. Primeros resultados del seguimiento de *Dryocosmus kuriphilus* en castaños en Lugo. IX Spanish National Congress of Applied Entomology. Valencia, Spain, October 2015

- Matošević D, Melika G, 2013. Recruitment of native parasitoids to a new invasive host: first results of *Dryocosmus kuriphilus* parasitoid assemblage in Croatia. *Bull Insectol* 66(2): 231-238.
- Moriya S, Shiga S, Adachi I, 2003. Classical biological control of the chestnut gall wasp in Japan. In *Proceedings of the 1st International Symposium on Biological Control of Arthropods*, Honolulu, Hawaii, January 14-18, 2002. United States Department of Agriculture, Forest Service, Washington, pp: 407-415.
- Nieves-Aldrey JL, 1984. Observaciones sobre los torimidos (Hym., Chalcidoidea, Torymidae) asociados con agallas de cinípidos (Hym., Cynipidae) sobre *Quercus* spp. en la zona centro-Occidental de España. *Boletín de la Asociación española de Entomología* 8: 121-134.
- Nieves-Aldrey JL, Vårdal H, Ronquist FR, 2005. Comparative morphology of terminal-instar larvae of Cynipoidea: phylogenetics implications. *Zool Scr* 34: 15-36. <https://doi.org/10.1111/j.1463-6409.2005.00175.x>
- Nieves-Aldrey JL, Gil-Tapetado D, Gavira O, Boyero JR, Polidori C, Lombardero MJ, *et al.*, 2019. *Torymus sinensis* Kamijo, a biocontrol agent against the invasive chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu in Spain: its natural dispersal from France and the first data on establishment after experimental releases. *Forest Syst* 28 (1) <https://doi.org/10.5424/fs/2019281-14361>. <https://doi.org/10.5424/fs/2019281-14361>
- Oho N, Umeya K, 1975. Chestnut gall wasp is found in the People's Republic of China. *Shokubutsu Boeki* 29: 463-464 (in Japanese)
- Payne JA, Green RA, Lester CD, 1976. New nut pest: an oriental chestnut gall wasp in North America. *Annual Report of the Northern Nut Growers Association*, 67: 83-86
- Pérez-Otero R, Mansilla JP, 2014. El cinípido del castaño *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, 1951 llega a Galicia (NO de la Península Ibérica). *Arquivos Entomológicos* 12: 33-36.
- Pérez-Otero R, Crespo D, Mansilla JP, 2017. *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, 1951 (Hymenoptera: Cynipidae) in Galicia (NW Spain): pest dispersion, associated parasitoids and first biological control attempts. *Arquivos Entomológicos* 17: 439-448.
- Pujade-Villar J, Torrell A, Rojo M, 2013. Primeres troballes a la península Ibèrica de *Dryocosmus kuriphilus* (Hym., Cynipidae), una espècie de cinípid d'origen asiàtic altament perillosa per al castanyer (Fagaceae). *Orsis: organismes i sistemes*, 27, 295-301.
- Quacchia A, Moriya S, Bosio G, Scapin I, Alma A, 2008. Rearing, release and the prospect of establishment of *Torymus sinensis*, biological control agent of the chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus*, in Italy. *BioControl* 53, 829-839. <https://doi.org/10.1007/s10526-007-9139-4>
- Quacchia A, Ferracini C, Nicholls JA, Piazza E, Saladini MA, Tota F, Melika G, Alma A, 2012. Chalcid parasitoid community associated with the invading pest *Dryocosmus kuriphilus* in north-western Italy. *Insect Conserv Diver* 6, 114-123. <https://doi.org/10.1111/j.1752-4598.2012.00192.x>

CAPÍTULO I: Distribución real y potencial de *D. kuriphilus* y *T. sinensis*

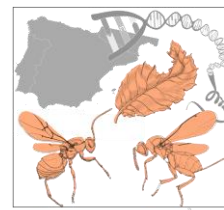


En la naturaleza nada ocurre en forma aislada. Cada fenómeno afecta a otro y es, a su vez, influenciado por éste; y es generalmente el olvido de este movimiento y de esta interacción universal lo que impide a nuestros naturalistas percibir con claridad las cosas más simples.

- Friedrich Engels - El papel del trabajo en la transformación del mono en hombre



CAPÍTULO II: Relaciones de *D. kuriphilus* con el ambiente y la entomofauna parasitoide



Este capítulo, relacionado con la Ecología (relaciones con el clima, comunidades biológicas y relaciones interespecíficas parasitoide-hospedador), trata de conocer cómo son las relaciones entre *D. kuriphilus* y el clima en España peninsular, y cómo son las relaciones entre esta especie invasora y la fauna nativa de parasitoides, así como con *T. sinensis* en las zonas donde se ha liberado al medio. Como se comentó previamente, eliminar el déficit de conocimiento eltoniano acerca de *D. kuriphilus*, *T. sinensis* y los parasitoides calcidoideos nativos, ayuda tanto a labores de gestión como a labores de conservación, reconociendo las áreas donde están presentes y cuáles de ellas son más vulnerables. Los trabajos que componen este capítulo son:

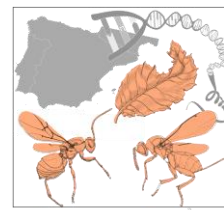
IV. GIL-TAPETADO D, CABRERO-SAÑUDO FJ, POLIDORI C, GÓMEZ JF, & NIEVES-ALDREY JL. (2021d). Climate as a possible driver of gall morphology in the chestnut pest *Dryocosmus kuriphilus* across Spanish invaded areas. *Bulletin of Entomological Research*, 111(2): 160-173. URL: <https://www.cambridge.org/core/journals/bulletin-of-entomological-research/article/abs/climate-as-a-possible-driver-of-gall-morphology-in-the-chestnut-pest-dryocosmus-kuriphilus-across-spanish-invaded-areas/B1ACA765CE2BFA00DE7F748A97108814> Página 103.

V. GIL-TAPETADO D, CASTEDO-DORADO F, NIEVES-ALDREY JL, & LOMBARDEO MJ. (2021c). Gall size of *Dryocosmus kuriphilus* limits down-regulation by native parasitoids. *Biological Invasions*, 23(4), 1157-1174. URL: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10530-020-02427-x> Página 117.

VI. GIL-TAPETADO D, CABRERO-SAÑUDO FJ, GÓMEZ JF, ASKEW RR, & NIEVES-ALDREY JL. (2021b). Differences in native and introduced chalcid parasitoid communities recruited by the invasive chestnut pest *Dryocosmus kuriphilus* in two Iberian territories. *Bulletin of Entomological Research*, 111(3): 307-322. URL: <https://www.cambridge.org/core/journals/bulletin-of-entomological-research/article/differences-in-native-and-introduced-chalcid-parasitoid-communities-recruited-by-the-invasive-chestnut-pest-dryocosmus-kuriphilus-in-two-iberian-territories/A95DAAEE4165ED39AEA7598ABE7BE1ED> Página 135.

En estos trabajos se analiza la influencia climática de diferentes áreas de España en *D. kuriphilus* y las relaciones a nivel de comunidad biológica y de parasitismo entre esta especie plaga y los parasitoides nativos y foráneos. En GIL-TAPETADO *et al.*, (2021d) se relaciona el tamaño y forma de las agallas de *D. kuriphilus* en diferentes partes de España, observando que en el sur éstas son de un mayor tamaño independientemente del número de cámaras larvarias que posean (las agallas de *D. kuriphilus* son multiloculares), lo que sugiere que existen factores externos que condicionan la morfología de éstas. Estos factores pueden ser probablemente climáticos, ya que en las zonas montañosas del sur de la península ibérica existen condiciones de temperatura y humedad que pueden conllevar que el castaño pueda producir agallas de mayor tamaño en comparación con zonas más frías y con mucha más precipitación, como es el caso de Galicia. Esto coincide con los modelos de idoneidad de GIL-TAPETADO *et al.*, 2018 (en el primer capítulo de esta tesis), siendo mayor en Málaga que el Galicia; y con GIL-TAPETADO *et al.*, 2021a (en los anexos de esta tesis), siendo mayor la idoneidad/abundancia de *D. kuriphilus* en las zonas más cálidas.


CAPÍTULO II: Relaciones de *D. kuriphilus* con el ambiente y la entomofauna parasitoide



En GIL-TAPETADO *et al.*, (2021c) se relacionan las características climáticas y propias de las agallas de *D. kuriphilus* que pueden influir y modificar el parasitismo de las especies de parasitoides nativos reclutados por esta especie invasora. Las agallas de *D. kuriphilus*, al igual que otras agallas de Cynipidae, crecen durante su desarrollo, modificando su morfología y tamaño a lo largo del tiempo, siendo además posiblemente influidas por las variables meteorológicas y climáticas. En este trabajo obtenemos que el ancho de la pared de las agallas (i.e: la longitud desde la superficie externa de la agalla a la superficie interna de la cámara larvaria) es la variable limitante del parasitismo de las especies nativas. Como la mayoría de las especies de parasitoides nativas reclutadas por *D. kuriphilus* son generalistas y no están sincronizadas con esta especie invasora, estas especies atacan las agallas de forma oportunista. Al atacar de forma oportunista, hacia el verano, cuando las agallas ya están maduras, el tamaño de la pared puede actuar como barrera física, al ser mayor ésta que la longitud del ovipositor de los parasitoides. Por lo tanto, las agallas de *D. kuriphilus* poseen una ventana de vulnerabilidad a los parasitoides durante su formación hasta que alcanzan un tamaño determinado, cuando pueden “escapar” del ataque de sus antagonistas. Por ello, las especies especialistas y sincronizadas, como *T. sinensis*, tienen mayor éxito que la mayoría de la fauna de parasitoides nativos, atacando a las agallas de *D. kuriphilus* durante su ventana de vulnerabilidad.

En GIL-TAPETADO *et al.*, (2021b) se describen las comunidades biológicas de parasitoides asociadas a *D. kuriphilus* en dos zonas diferentes de España: Málaga y Galicia. En este trabajo se analiza tanto los índices de diversidad como la estructura de la comunidad en las dos zonas y se recopila la información acerca de los parasitoides descritos reclutados por *D. kuriphilus* en España. En este trabajo se describen como especies reclutadas a cuatro parasitoides nativos que poseen una biología muy similar a la de *T. sinensis* y que son probablemente ecológicamente análogos: *Aulogygnus balani* Pujade-Villar, 1991, *Aulogygnus bicolor* (Askew, 1975), *Aulogygnus obscuripes* Mayr, 1877 y *T. notatus* (junto con *Aulogygnus arsames* (Walker, 1838) en Galicia; GIL-TAPETADO *et al.*, 2021c). Estas especies conforman parte de la subcomunidad invernante y muestran una sincronización alta con *D. kuriphilus*, atacándola durante su ventana de vulnerabilidad (GIL-TAPETADO *et al.*, 2021c). Estas especies podrían haber sido alternativas nativas a *T. sinensis* para el control biológico de *D. kuriphilus* potenciando su conservación en sus comunidades biológicas asociadas. Además, *T. notatus* es una especie hermana de *T. sinensis* (POGOLOTTI *et al.*, 2019; GIL-TAPETADO *et al.*, 2021e), candidata a especie con la que podría hibridar, aunque este riesgo es muy bajo o nulo (GIL-TAPETADO *et al.*, 2021e). En GIL-TAPETADO *et al.*, (2021b) se relaciona el rápido reclutamiento de parasitoides por *D. kuriphilus* con la teoría de Biogeografía de Islas, con islas dentro de los continentes, actuando los castaños como zona/árbol no colonizable por los parasitoides al no poseer agallas antes de la introducción de esta especie invasora, pero actuando como islas tras la invasión. Al estar distribuidos los castaños y los robles juntos, formando bosques mixtos y presentar los *Quercus* agallas de Cynipidae y parasitoides nativos, las agallas de *D. kuriphilus* han sido atacadas y colonizadas rápidamente por estas especies como si “hubieran surgido islas dentro de los continentes” (ver página 35, *Parasitoides y Superfamilia Chalcidoidea*).

Climate as a possible driver of gall morphology in the chestnut pest *Dryocosmus kuriphilus* across Spanish invaded areas

Diego Gil-Tapetado¹ , Francisco José Cabrero-Sañudo², Carlo Polidori³,
Jose F. Gómez² and José Luis Nieves-Aldrey¹

Research Paper

Cite this article: Gil-Tapetado D, Cabrero-Sañudo FJ, Polidori C, Gómez JF, Nieves-Aldrey JL (2020). Climate as a possible driver of gall morphology in the chestnut pest *Dryocosmus kuriphilus* across Spanish invaded areas. *Bulletin of Entomological Research* 1–14. <https://doi.org/10.1017/S0007485320000450>

Received: 29 January 2020

Revised: 3 June 2020

Accepted: 8 July 2020

Keywords:

Dryocosmus kuriphilus; galls; Iberian Peninsula; latitudinal gradient; morphology; rainfall; temperature

Author for correspondence:

Diego Gil-Tapetado,

Email: diego.gil@ucm.es

¹Departamento de Biodiversidad y Biología Evolutiva, Museo Nacional de Ciencias Naturales (CSIC), José Gutiérrez Abascal 2, Madrid 28006, Spain; ²Departamento de Biodiversidad, Ecología y Evolución, Universidad Complutense de Madrid, José Antonio Novais 2, Madrid 28040, Spain and ³Departamento de Ciencias Ambientales, Universidad de Castilla La Mancha. Avda. Carlos III s/n., Toledo 45071, Spain

Abstract

The alien cynipid wasp *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, 1951 is a serious pest of chestnuts (*Castanea* spp.) in Japan, North America and Europe, causing fruit losses while inducing galls in buds. While *D. kuriphilus* galls have a recognizable and roughly invariable globular shape, their size varies, reaching up to 4 cm in diameter. Among other factors, such variation may depend on different climatic conditions in different attacked areas. Here, we sampled and measured 375 *D. kuriphilus* galls from 25 localities throughout the Iberian Peninsula, including both cold and rainy northern (Eurosiberian) areas and warm and dry central-southern (Mediterranean) areas, to test the effects of climate and geographical location on gall morphology. The analyses indicate that gall mass and volume follow a pattern that can be associated with a climatic cline. In particular, the Eurosiberian galls were smaller than the Mediterranean galls according to differences in climatic conditions. In the southern areas, the greater insolation regime does not allow the chestnut trees to be distributed at lower altitudes, but the high rainfall and humidity regime of the mountain enclaves allow their presence. These conditions of insolation and precipitation seem to influence the morphological characteristics of the galls of *D. kuriphilus*.

Introduction

Dryocosmus kuriphilus Yasumatsu, 1951 (Hymenoptera: Cynipidae), the Asian chestnut gall wasp, represents a severe pest of chestnut (*Castanea* Mill.) forests in invaded areas throughout Europe, Asia and North America (Ōtake, 1980; Moriya *et al.*, 2003; EFSA, 2010; Avtzis *et al.*, 2019). Originally distributed in China, this gall wasp has recently been dispersed through human action (transport of seedlings) in many non-native territories where the absence of native natural enemies and lack of competition with native oak gall-wasp species allow high densities of galls to easily develop in chestnut trees. In addition, the *Castanea* species present in Europe is *Castanea sativa*, which is different from its native hosts in China and which does not have any type of resistance adaptation against *D. kuriphilus*. This small cynipid (approximately 2 mm in body length) consists only of females (obligate parthenogenetic cycle), with adults emerging from June to August (Pérez-Otero *et al.*, 2017) and laying eggs in chestnut buds, after which galls develop during the next spring (Yasumatsu, 1951; EPPO, 2005; CABI, 2015). The galls are irregular, rather globular in shape, greenish or reddish and unilocular or multilocular. By developing on the midribs of leaves and on petioles, stems, stipules and male catkins, galls have negative effects on the plant, including reduction in fruit production, branch shortening and general weakening or even tree death (Payne *et al.*, 1975; Battisti *et al.*, 2014; Gehring *et al.*, 2018), leading to important economic damage (Brussino *et al.*, 2002; Zhang, 2009; EFSA, 2010). On the other hand, the development of *D. kuriphilus* within its galls are clearly beneficial for the insect since they protect against hydrothermal stress and improve nutrition for the larvae, and they may have evolved to provide a protection against natural enemies (Price *et al.*, 1987).

On the Iberian Peninsula (IP), *D. kuriphilus* first reached Catalonia (northeastern IP) in 2012 (EPPO, 2012; Pujade-Villar *et al.*, 2013; Nieves-Aldrey *et al.*, 2019), then spread towards other Spanish regions, including many northern-northwestern areas of Spain as well as the chestnut forest of Malaga Province (southern IP) in 2014 and the city of Madrid in 2016 (Gil-Tapetado *et al.*, 2018). This cynipid arrived in northwestern Portugal in 2014 (EPPO, 2014) in an area adjacent to northwestern Spain. The distribution of *D. kuriphilus* in the IP matches the distribution of its host plant throughout the IP, which is a climatically heterogeneous territory. Indeed, the IP is divided into three main types of biogeographic regions: the



Gall size of *Dryocosmus kuriphilus* limits down-regulation by native parasitoids

Diego Gil-Tapetado · Fernando Castedo-Dorado · José Luis Nieves-Aldrey ·
María J. Lombardero

Received: 28 April 2020 / Accepted: 23 November 2020
© Springer Nature Switzerland AG 2021

Abstract The success of invasive species largely depends on the resistance offered by the native communities. *Dryocosmus kuriphilus* is a cynipid native from China that is a serious pest of chestnuts worldwide. This species recruits natural enemies in the areas of introduction; nevertheless, their role in regulating pest population is frequently questioned, although the causes are not clear. We sampled parasitoids from 12,525 galls collected in 192 sites in four geographic areas differing in climate and residence time of the wasp of Galicia (NW Iberian Peninsula). We also dissected 2994 galls to assess the effects of gall characteristics on parasitism level. We

found a rich community of native enemies that contributed to biotic resistance against the invasive: 19 species of native parasitoids were feeding on the wasp, with mortalities ranging from 14 to 37%. Rarefaction analyses indicated that this species list accounts for most of the native enemies that attack *D. kuriphilus* in inland Galicia. However, percent parasitism of *D. kuriphilus* by native parasitoids decreased greatly with time since introduction. This was because galls became larger, more thickly walled, and with more *D. kuriphilus* per gall as the abundance of *D. kuriphilus* increased. As the galls became larger and more populated, a declining fraction of the *D. kuriphilus* within were parasitized by native enemies (decrease from > 25% parasitism to < 2% as gall size increased from 0.2 to 3 cm³). Consequently, native parasitoids may play a role in slowing the invasive at low densities, but this effect becomes increasing inconsequential in highly invaded areas.

Electronic supplementary material The online version of this article (<https://doi.org/10.1007/s10530-020-02427-x>) contains supplementary material, which is available to authorized users.

D. Gil-Tapetado · M. J. Lombardero (✉)
Unidad de gestión ambiental y forestal sostenible,
Universidad de Santiago de Compostela, EPSE. Rúa
Benigno Ledo S/N, 27002 Lugo, Spain
e-mail: mariajosefa.lombardero@usc.es

F. Castedo-Dorado
GEOINCA Research Group, Escuela de Ingeniería
Agraria y Forestal, Universidad de León, Campus de
Ponferrada. Avda. de Astorga s/n, 24401 Ponferrada,
León, Spain

J. L. Nieves-Aldrey
Museo Nacional de Ciencias Naturales (CSIC), José
Gutiérrez Abascal 2, 28006 Madrid, Spain

Keywords Invasive species · Asian chestnut gall wasp · Natural enemies · Gall morphology · Climate · Residence time

Introduction

The introduction of non-native species can alter and threaten diverse biological systems and can also cause

Differences in native and introduced chalcid parasitoid communities recruited by the invasive chestnut pest *Dryocosmus kuriphilus* in two Iberian territories

Research Paper

Cite this article: Gil-Tapetado D, Cabrero-Sañudo FJ, Gómez JF, Askew RR, Nieves-Aldrey JL (2021). Differences in native and introduced chalcid parasitoid communities recruited by the invasive chestnut pest *Dryocosmus kuriphilus* in two Iberian territories. *Bulletin of Entomological Research* **111**, 307–322. <https://doi.org/10.1017/S000748532000067X>

Received: 7 September 2019

Revised: 12 April 2020

Accepted: 29 September 2020

First published online: 1 December 2020


Keywords:

Alien species; Asian chestnut gall wasp; biological communities; ecology; Iberian Peninsula; Spain; *Torymus sinensis*

Author for correspondence:

D. Gil-Tapetado,

Email: diego.gil@ucm.es

D. Gil-Tapetado¹ , F.J. Cabrero-Sañudo², J.F. Gómez², R.R. Askew³ and J.L. Nieves-Aldrey¹

¹Departamento de Biodiversidad y Biología Evolutiva, Museo Nacional de Ciencias Naturales (CSIC), José Gutiérrez Abascal 2, 28006 Madrid, Spain; ²Departamento de Biodiversidad, Ecología y Evolución, Universidad Complutense de Madrid, José Antonio Novais 2, 28040 Madrid, Spain and ³Le Bourg est, 24510 St Marcel du Périgord, France

Abstract

Dryocosmus kuriphilus (Hymenoptera: Cynipidae) is a global invasive gall wasp and a pest of chestnuts (*Castanea* spp.). A study of the Chalcidoidea parasitoid community of *D. kuriphilus* was undertaken over two years, from March 2017 to March 2019, at 15 sites in south and northwest Spain (Málaga and Galicia regions). More than 18,000 galls were collected, and 1153 parasitoids belonging to 22 species of seven chalcidoid families, plus two individuals of an inquiline Cynipidae, *Synergus facialis*, emerged. Richness was higher in the Málaga region, with 20 species, while 17 parasitoids and one inquiline were identified in Galicia. The parasitism rate of native chalcid parasitoid species in both regions was low. *Eupelmus urozonus* and *Mesopolobus lichtensteini* were the most abundant native species. *Mesopolobus tibialis* was a dominant species in south Spain, while *Ormyrus pomaceus* was a dominant species in northwest Spain. Our results revealed the existence of a sub-community of univoltine, probably host specialized, parasitoids in south Spain, which overwinter in galls, exhibiting a similar life cycle to *Torymus sinensis*. These species were *Torymus notatus*, *Aulogymnus bicolor*, *Aulogymnus obscuripes* and *Aulogymnus balani*. Data on the recovery of *T. sinensis* after release in the south Spain region show it to be well established, but its numbers are still low in northwest Spain.

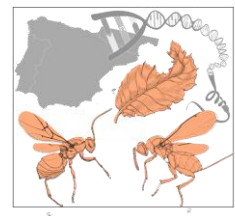
Introduction

Non-native species are being introduced into many countries with increasing frequency. These exotic organisms can threaten and damage ecosystems, biodiversity, agriculture and even human health (Wittenberg and Cock, 2001; Pimentel *et al.*, 2005; Pejchar and Mooney, 2009). Biological invasions present important problems in different facets of human society, such as environmental, human health and agricultural production issues. Biological invasions lead to pest problems that can cause considerable economic damage due to losses of agricultural and forestry crops. Additionally, exotic species can disturb ecosystems and trophic networks through the displacement and extinction of native species (Gurevitch and Padilla, 2004), causing environmental damage and biodiversity loss (Vitousek *et al.*, 1996; Pimentel *et al.*, 2005). The damage to biodiversity and the economy produced by non-native species are due to their high propensity for dispersal and explosive production of large populations during the first years of an invasion resulting from their establishment in an environment without their natural enemies; the ‘enemy-release hypothesis’ (Williamson, 1996; Crawley, 1997). In the case of arthropodan biological invasions, one of the most important groups related to natural enemies is the parasitoids (Quicke, 1997; Schönrogge *et al.*, 2006), mostly belonging to the order Hymenoptera that have theoretically co-specified with their hosts through adaptations to overcome their hosts’ defences (top-down relations), and the hosts modifying their defences to avoid being parasitized (bottom-up relations) (Stone *et al.*, 2002).

Invasions by gall-inducing insects such as gall wasps (Hymenoptera: Cynipidae) present difficulties for pest control because these organisms spend most of their life cycle concealed inside a vegetal structure (the gall) which is part of the host plant (Rohfritsch and Shorthouse, 1982). As cynipids are in their larval and pupal stages inside galls, many types of pest control, such as chemical biocides, are ineffective (Cooper and Rieske, 2007). Therefore, knowledge of their association with natural parasitoid enemies, most of which belong to the superfamily Chalcidoidea (Askew *et al.*, 2006, 2013), can indicate which of the parasitoid species have potential as biological control agents and would be candidates for intentional introductions to new regions.

© The Author(s), 2020. Published by Cambridge University Press. This is an Open Access article, distributed under the terms of the Creative Commons Attribution licence (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted re-use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

CAPÍTULO II: Relaciones de *D. kuriphilus* con el ambiente y la entomofauna parasitoide

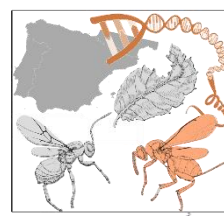


Las especies que sobreviven no son las más fuertes, ni las más rápidas, ni las más inteligentes; sino aquellas que se adaptan mejor al cambio.

- Charles Darwin - El origen de las especies



CAPÍTULO III: Filogenia de *T. sinensis* y los riesgos de su liberación en el medio natural



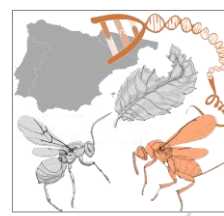
Este capítulo, relacionado con la Filogenia (relaciones filogenéticas y tiempos de divergencia) y con los riesgos que supone para la fauna nativa la liberación de *T. sinensis* en el medio natural, trata de conocer cómo son las relaciones entre *T. sinensis* y el resto de las especies de *Torymus* autóctonas en España, así como con las especies de Cynipidae nativas que inducen agallas en *Quercus*. Eliminar el déficit de conocimiento darwiniano y raunkiærano acerca de *T. sinensis* ayuda tanto a labores de gestión como a labores de conservación, localizando las áreas donde están presentes y cuáles de ellas son más vulnerables. Los trabajos que componen este capítulo son:

VII. GIL-TAPETADO D, DURÁN-MONTES P, GARCÍA-PARÍS M, LÓPEZ-ESTRADA EK, SÁNCHEZ-VIALAS A, JIMÉNEZ-RUIZ Y, GÓMEZ JF, & NIEVES-ALDREY JL. (2021e). Host specialization is ancestral in *Torymus* (Hymenoptera, Chalcidoidea) cynipid gall parasitoids. *Zoologica Scripta*, URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/zsc.12515?af=R> Página 154.

VIII. GIL-TAPETADO D, DURÁN-MONTES P, LÓPEZ-ESTRADA EK, POLIDORI C, CABRERO-SAÑUDO FJ, GÓMEZ JF, GARCÍA-PARÍS M, JIMÉNEZ-RUIZ Y, REY C, RODRÍGUEZ-ROJO MP & NIEVES-ALDREY JL. (manuscrito no publicado). *Torymus sinensis* against the invasive chestnut gall wasp: high potential for non-target hosts although unlikely hybridization with native species. Página 184.

En estos trabajos se analizan las relaciones entre las especies de *Torymus* asociadas a agallas de Cynipidae para crear conocimiento básico acerca de este grupo de himenópteros, estudiándose los posibles riesgos que representa una introducción de una nueva especie foránea más en el medio natural, como es *T. sinensis*. En GIL-TAPETADO *et al.*, (2021e) se recupera una filogenia molecular de las especies de *Torymus* asociadas a Cynipidae y se estudian los tiempos de divergencia de estas especies, así como las relaciones evolutivas de las especies especialistas y generalistas. Como las definiciones de especialistas y generalistas son laxas, hemos categorizado las especies mediante características biológicas, como cuántas especies o géneros parasita, si pueden parasitar agallas simples o también complejas, si poseen fenologías al principio del año o múltiples, etc. A partir de los resultados, hemos obtenido que existen tres grupos diferentes de estos *Torymus*, dos compuestos por especies especialistas y uno con especies tanto especialistas como generalistas. Observando la reconstrucción de los caracteres ancestrales, resolvemos que en los *Torymus* asociados a Cynipidae la biología especialista es anterior a la generalista y que ésta surge tras la diversificación de sus hospedadores, durante el Mioceno, cuando el clima en el Holártico experimenta una transición de tropical continuo a estacional. Esto favoreció la radiación de las especies de *Quercus* y la aparición de especies de hoja perenne (los robles perennes, marcescentes y caducos de nuestros días) al tiempo que se produjo una gran diversificación de especies de los Cynipidae y su adaptación a diferentes condiciones ecológicas. Al irse formando nuevos recursos por explotar y mediante el mecanismo de ‘ecological fitting’ (AGOSTA *et al.*, 2010) y el ‘Stockholm paradigm’ (BROOKS *et al.*, 2019), en el que los

CAPÍTULO III: Filogenia de *T. sinensis* y los riesgos de su liberación en el medio natural






hospedadores potenciales poseen características que coinciden con el “nicho de parasitación”, los parasitoides pueden perder su especialización y volverse generalistas. En GIL-TAPETADO *et al.*, (2021e) se describe también que existen dos especies de *Torymus*, *Torymus rubi* (Schrank, 1781) y *Torymus bedeguaris* (Linnaeus, 1758), que efectuaron un cambio importante de hospedadores, pasando de parasitar agallas en especies de *Quercus* (*Fagaceae*) a parasitar agallas en especies de *Rosa* y *Rubus* (*Rosaceae*); así como la aparición de tres especies, *Torymus auratus* (Müller, 1764), *Torymus geranii* (Walker, 1833) y *Torymus nobilis* Boheman, 1834, que parasitan agallas de cinípidos en tres estratos diferentes, respectivamente, aéreo, zona baja y subterráneo. También se han detectado dos complejos de especies crípticas en *Torymus flavipes* (Walker, 1833) y en *Torymus cyaneus* Walker, 1847, existiendo una posible especie ibérica a describir dentro de este último complejo (trabajo en proceso). Por último, se destacan las relaciones entre *T. sinensis* y el resto de las especies de *Torymus*, indicando que, entre las especies de la fauna nativa, *T. notatus* es su especie más cercana filogenéticamente. Estas especies son morfológicamente muy parecidas y se desconocen los límites de sus distribuciones por el Paleártico, siendo candidatas a posible hibridación. Sin embargo, considerando los tiempos de divergencia entre estas especies de *Torymus*, se puede observar que la divergencia entre *T. notatus* y *T. sinensis* (7.91 millones de años) es mucho mayor que las de otras especies, como entre *T. rubi* y *T. bedeguaris* (4.94 millones de años) o entre *T. geranii* y *T. nobilis* (1.78 millones de años). Estas divergencias entre especies parecen indicar que las diferencias geográficas entre *T. notatus* y *T. sinensis* han producido una separación grande entre ellas y que la probabilidad real de hibridar entre ambas especies es muy baja o nula. Este tema también se desarrolla en GIL-TAPETADO *et al.*, (no publicado).

En GIL-TAPETADO *et al.*, (manuscrito no publicado) se evalúan dos posibles riesgos ambientales relacionados con la suelta de *T. sinensis*: la hibridación y el rango de hospedador. Al igual que en GIL-TAPETADO *et al.*, (2021e), se aborda la relación de hibridación de *T. sinensis* con otras especies de *Torymus*, incluyendo a *T. beneficus*, una especie con la que se ha demostrado que sí existe hibridación efectiva. Los resultados indican que la posibilidad de hibridación de *T. sinensis* con otras especies nativas de Europa de *Torymus*, incluyendo a *T. notatus*, es muy baja o nula a diferencia de lo observado con *T. beneficus* en Japón. Respecto al rango de hospedador, se han hecho diferentes experimentos utilizando agallas de Cynipidae nativos en *Quercus*, tanto en laboratorio como en el campo, observando los comportamientos de *T. sinensis* y su parasitismo. Los resultados indican que existen algunas especies de Cynipidae nativas que sí son atacadas por *T. sinensis* en condiciones obligadas y con elección (ofreciéndoles tanto agallas de *D. kuriphilus* como de Cynipidae nativas). Se observa una clara preferencia de *T. sinensis* hacia las agallas simples formadas en hojas, como las que presenta *P. quercusilicis* o *A. curator* formadas al principio de la primavera, y que son similares a las que induce *D. kuriphilus*. Esto parece indicar que el rango de hospedador de *T. sinensis* no es estrictamente específico/monófago sobre *D. kuriphilus*, sino que determinadas agallas con características similares son susceptibles de ser atacadas por este parasitoide foráneo.

ORIGINAL ARTICLE

Host specialization is ancestral in *Torymus* (Hymenoptera, Chalcidoidea) cynipid gall parasitoids

Diego Gil-Tapetado^{1,2}  | Patricia Durán-Montes²  | Mario García-París¹  |
E. Karen López-Estrada¹  | Alberto Sánchez-Vialas¹  | Yolanda Jiménez-Ruiz¹  |
Jose F. Gómez²  | Jose Luis Nieves-Aldrey¹ 

¹Museo Nacional de Ciencias Naturales (CSIC), Madrid, Spain

²Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Biodiversidad, Ecología y Evolución, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, Spain

Correspondence

Diego Gil-Tapetado, Museo Nacional de Ciencias Naturales (CSIC), José Gutiérrez Abascal 2, Madrid 28006, Spain.
Email: diego.gil@ucm.es

Funding information

Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Grant/Award Number: CGL2015-66571-P MINECO-FEDER; Ministerio de Ciencia e Innovación, Grant/Award Number: PID2019-110243GB-I00/AEI/10.13039/501100011033; Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, Grant/Award Number: AGL2016-76262-R and 16MNES003

Abstract

The host range of parasitoids varies greatly among species: Some only parasitize one to a few hosts (specialists), while others parasitize multiple species or a variety of host types (generalists). The direction of most host range shifts in parasitoid groups, that is from generalist to specialist or, alternatively, from specialist to generalist, is unknown. To explore the origin of host range shifts, we studied a clade within the genus *Torymus* (Hymenoptera, Chalcidoidea) that includes both generalist and specialist parasitoids of Cynipidae (Hymenoptera). We analysed the phylogenetic relationships of the species of *Torymus* on the basis of two gene fragments (*cox1* and *ITS2*) of 246 specimens and performed an ancestral state reconstruction of the specialist/generalist trait. Our results revealed the following: (a) The ancestral state of this group of *Torymus* is specialist, with the generalist state evolving through a loss of specialization. (b) The species *Torymus cyaneus* and *Torymus flavipes* both have a strong genetic structure, suggesting the existence of different biological identities. (c) There has been a host plant shift in the lineage(s) leading to *Torymus rubi* and *Torymus bedeguaris* from galls on *Quercus* to those on *Rosaceae*. (d) The alien species *Torymus sinensis* and the native European species *Torymus notatus* are phylogenetically closely related. (e) Speciation within *Torymus* was likely associated with the diversification of their cynipid hosts, which itself was driven by the dramatic changes in climate and vegetation that occurred during the Miocene.

KEYWORDS

cryptic species, Cynipidae, host plant shift, host range, Torymidae, *Torymus sinensis*

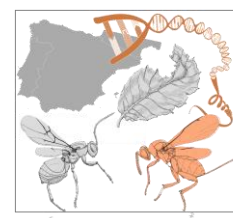
1 | INTRODUCTION

The superfamily Chalcidoidea is a cosmopolitan and highly diverse group of Hymenoptera. To date, about 22,500 species have been described for the superfamily

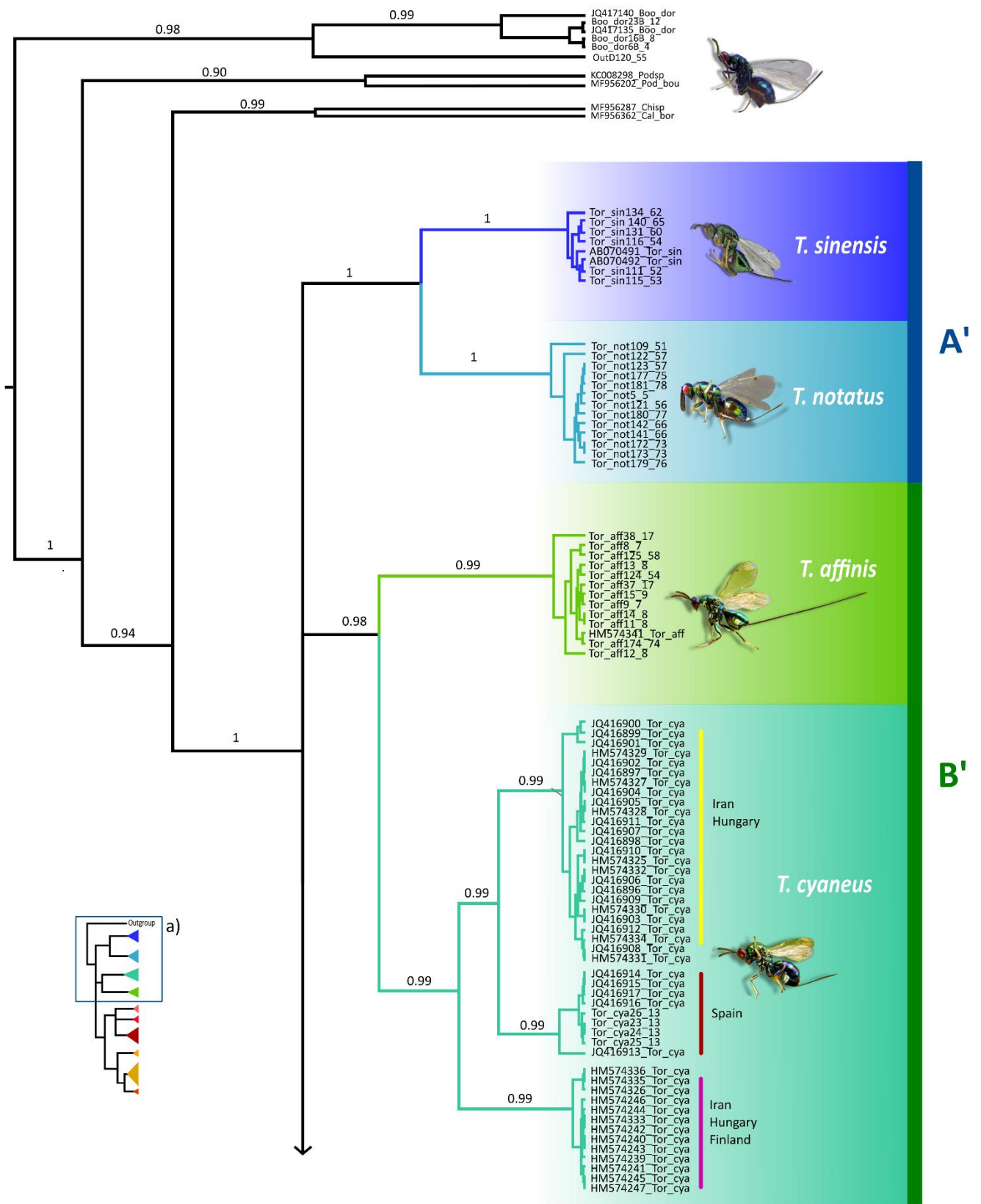
(Noyes, 2021); however, the actual number of species has been estimated to be up to half a million (Heraty et al., 2012). These species present a variety of feeding strategies, depending on their interactions, such as predation, gall induction, nectarivory/pollination and

García-París and Nieves-Aldrey contributed equally to this work.

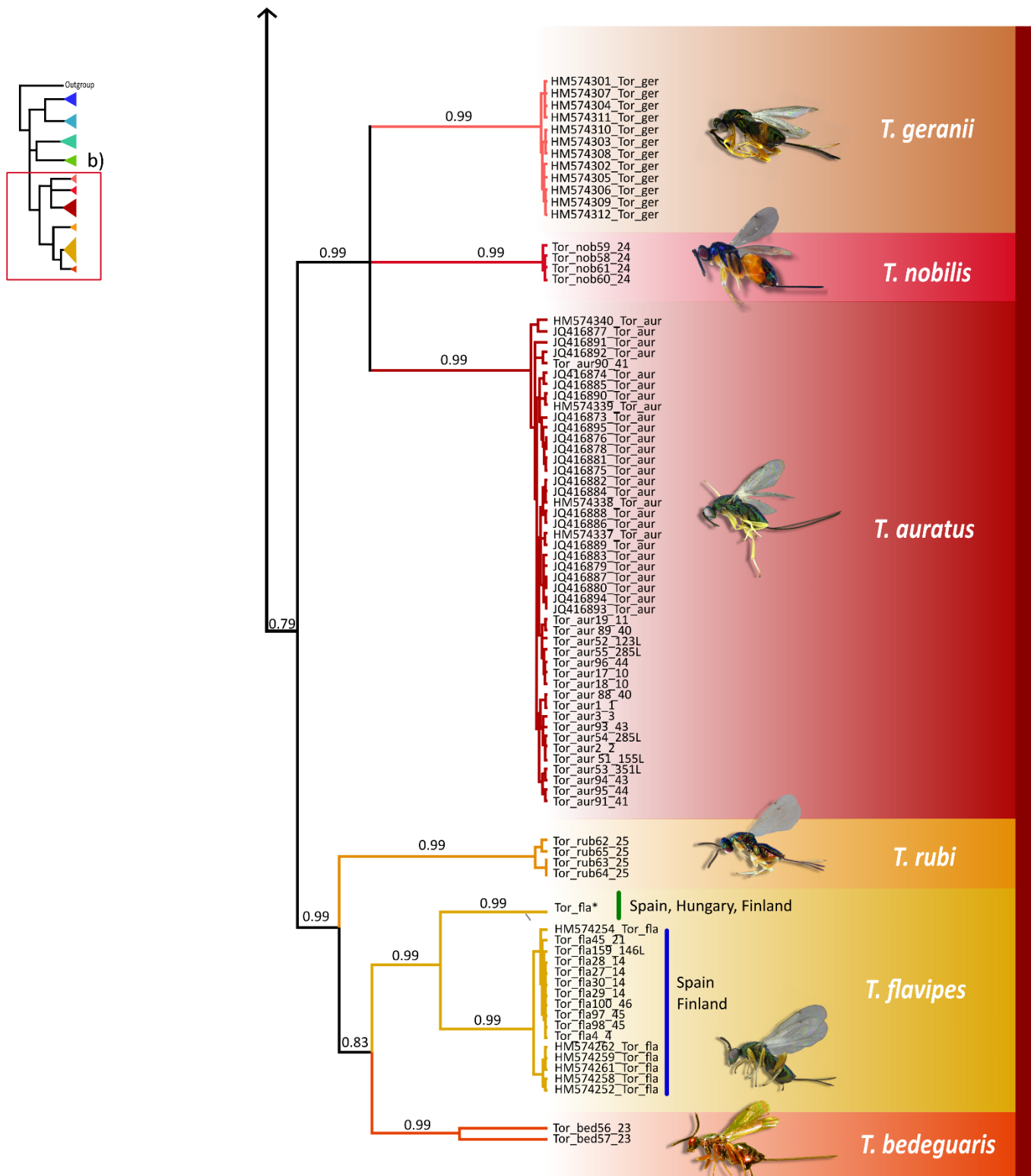
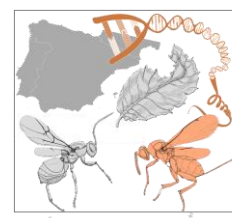
CAPÍTULO III: Filogenia de *T. sinensis* y los riesgos de su liberación en el medio natural



Material suplementario de GIL-TAPETADO *et al.*, 2021e.



CAPÍTULO III: Filogenia de *T. sinensis* y los riesgos de su liberación en el medio natural



Supplementary material 1. MrBayes phylogram of *Torymus* based on *cox1*. Black values over nodes represent posterior probability; red values under nodes represent the mean age of the clade; age range is shown in parentheses. a) Clade A', composed of *T. notatus* and *T. sinensis*; clade B', of *T. affinis* and *T. cyaneus* and the outgroup. b) Clade C, composed of *T. auratus*, *T. nobilis*, *T. geranii*, *T. bedeguaris*, *T. rubi* and *T. flavipes*. Note the different composition of clades A' and B' in this phylogeny compared with clades A and B in the *ITS2* phylogeny (compare with Fig. 1). Clade C is composed of the same species in both phylogenies. *sequence voucher names are in Tor_fla

1 ***Torymus sinensis* against the invasive chestnut gall**
2 **wasp: high potential for non-target hosts although**
3 **unlikely hybridization with native species**

4 Diego Gil-Tapetado¹, Patricia Durán Montes², E. Karen López-Estrada¹, Carlo Polidori⁵,
5 Francisco José Cabrero-Sañudo², José F. Gómez², Mario García París¹, Yolanda Jiménez Ruiz¹,
6 Carmen Rey del Castillo¹, M. Pilar Rodríguez-Rojo⁴ and José-Luis Nieves-Aldrey¹

7
8 ⁽¹⁾ Museo Nacional de Ciencias Naturales (CSIC)
9 Calle José Gutiérrez Abascal 2, 28006 Madrid, Spain

10
11 ⁽²⁾ Universidad Complutense de Madrid
12 Facultad de Ciencias Biológicas. Departamento de Biodiversidad, Ecología y Evolución
13 Calle Jose Antonio Novais 12, 28040 Madrid, Spain

14
15 ⁽³⁾ Università Degli Studi di Milano. Dipartimento di Scienze e Politiche Ambientali.
16 Via Celoria 26, 20133, Milan, Italy.

17
18 ⁽⁴⁾ Universidad de Castilla La Mancha, Instituto de Ciencias Ambientales (ICAM), Avda. Carlos
19 III, s.n.; Campus Real Fábrica de Armas 45005 Toledo, Spain.

20 Corresponding author: Diego Gil-Tapetado; email: diego.gil@ucm.es.

21 ORCID IDs:

22 Diego Gil-Tapetado: <https://orcid.org/0000-0002-2147-4040>

23 Patricia Durán Montes: <https://orcid.org/0000-0002-3426-2370>

24 E. Karen López-Estrada: <https://orcid.org/0000-0001-5539-4826>

25 Carlo Polidori: <https://orcid.org/0000-0003-4834-0752>

26 Francisco José Cabrero-Sañudo: <https://orcid.org/0000-0001-8477-3593>

27 Jose F. Gómez: <https://orcid.org/0000-0001-9553-6614>

28 Mario García París: <https://orcid.org/0000-0002-9361-9405>

29 Yolanda Jiménez Ruiz: <https://orcid.org/0000-0002-1458-8082>

30 Carmen Rey del Castillo: <https://orcid.org/0000-0003-1078-9255>

31 M. Pilar Rodríguez-Rojo: <https://orcid.org/0000-0001-5449-9386>

32 José-Luis Nieves-Aldrey: <https://orcid.org/0000-0002-4711-7455>

33
34 Author contributions. Conceived and designed the work: DGT, PDM, JFG, MGP, JLNA

35 Performed the experiments and analyzed the data: DGT, PDM, KLE, FJCS, YJR, JLNA

36 Contributed materials/analysis tools: DGT, KLE, CRC, MPRR, YJR, JLNA

37 Wrote the paper: DGT, JFG, CP, FJCS, MGP, JLNA

38
39 The manuscript contains ** pages of text, *** tables and *** figures.

40
41 Running title: Risks of *Torymus sinensis*

42
43 Funding. Research projects from MEC (Spain), CGL2015-66571-P MINECO-FEDER,
44 AGL2016-76262-R (AEI/FEDER, UE); Evaluación de la distribución y daños de *Dryocosmus*
45 *kuriphilus*, plaga del castaño, en el noroeste ibérico: biología, fenología y control natural por
46 parasitoides nativos (AGL2016-76262-R); and Encomienda de Gestión from MAPAMA to
47 Agencia Estatal CSIC, 16MNES003. Competing interests. The authors have declared that no
48 competing interests exist.

49 **ABSTRACT**

50 A common strategy to limit the negative impact of biological invasions is biological control
51 through the import and release of alien natural enemies. However, such biological control plans
52 do not avoid environmental risks, including predation and parasitoidism, as competition and
53 hybridization with non-target native fauna. Here, we studied in Spain the parasitoid wasp,
54 *Torymus sinensis* Kamijo 1982 (Hymenoptera: Torymidae), which was introduced to Europe
55 from Asia to control the invasive Asian chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu,
56 1951 (Hymenoptera: Cynipidae). By collecting non-target native cynipid galls and by
57 performing field and laboratory experiments, we found that while *T. sinensis* rarely attacks
58 native gall wasps in the studied areas (although perhaps because of low natural densities), with
59 only one gall of *Andricus curvator* (Hartig, 1840) having been parasitized in natural conditions,
60 the potential host range observed in the laboratory can easily be extended to many species of
61 native cynipids, with oviposition observed in galls of eight of 11 species tested, spanning five
62 genera. On the other hand, hybridization between this introduced parasitoid and its
63 phylogenetically closest native *Torymus* species does not seem to occur, since no inter-species
64 matings were observed in the laboratory and no hybridization or introgression events have been
65 detected between the topologies of one nuclear (*ITS2*) or mitochondrial (*coxI*) gene in molecular
66 analysis. Overall, our results indicate that *T. sinensis* may act as a parasitoid of native cynipids
67 and perhaps potentially displace their native parasitoids, and therefore its release as a biological
68 control agent, although certainly useful, may accompany non-desired effects that must be
69 carefully monitored.

70

71 **Keywords**

72 *Dryocosmus kuriphilus*, gall wasps, host range, biological control, environmental risks

73 **INTRODUCTION**

74 Biological invasions are currently considered one of the main human-induced drivers of
75 ecological disturbance and subsequent biodiversity loss (Lodge, 1993; Schmidtz & Simberloff,
76 1997; IPBES, 2019). They directly impact on the conservation of biological communities by
77 producing numerous and sometimes irreversible changes in invaded areas which affect
78 ecosystems and native biological communities (Vitousek *et al.*, 1996; Messing & Wright, 2006;
79 Roy & Wajnberg, 2008). Biological invaders include pests that can also cause substantial
80 economic losses through decreases in the production of crops, fruits, or wood, among others
81 ecosystems services (Pimentel, 2014; Hall, 2019). Numerous techniques have been developed to
82 limit the economic damage of such pests, including biological control strategies (DeBach &
83 Rosen, 1991). Classical biocontrol agents are closely related to the natural enemies of a target
84 pest (DeBach & Rosen, 1991; Landis *et al.*, 2000), making this control more efficient and with
85 fewer environmental risks. Numerous studies demonstrate the success of pest control using
86 natural enemies (Beddington *et al.*, 1978; Hokkanen & Sailer, 1985; Van Lenteren, 2000;
87 Waage, 2012).

88 However, classical biological control implies the introduction of foreign species, which
89 may involve environmental risks. Indeed, exotic biocontrol agents could decrease the abundance
90 and distribution of non-target native species through 1) direct impacts due to predation or
91 parasitoidism; 2) indirect impacts such as competition or displacement; 3) novel disease
92 introduction; 4) biodiversity loss due to hybridization; and 5) impacts on other introduced
93 biocontrol agents (van Driesche & Hoddle, 2016; van Lenteren *et al.*, 2006). This does not seem
94 uncommon: there are many examples of biological control agents that caused unexpected
95 damages to native biological communities and ended up being considered as invasive species,
96 such the ladybird *Harmonia axyridis* (Pallas, 1773) (Coleoptera: Coccinellidae) (Roy *et al.*,
97 2006; Roy & Wajnberg, 2008), the leafhopper assassin bug *Zelus renardii* Kolenati, 1857
98 (Hemiptera: Reduviidae) (Rosenheim *et al.*, 1999) and the thistle head weevil *Rhinocyllus*
99 *conicus* Frölich, 1792 (Coleoptera: Curculionidae) (Louda *et al.*, 1997). Undesired effects of the

100 introduction of these species include the strong attack of non-target native species, sometimes
101 even other beneficial species used as a biological control in agricultural systems (e.g. Rose *et*
102 *al.*, 2005; Louda *et al.*, 1997). Hence, the potential impacts of introducing an exotic biocontrol
103 agent must be evaluated.

104 Here, we studied the parasitoid wasp, *Torymus sinensis* Kamijo 1982 (Hymenoptera:
105 Chalcidoidea: Torymidae), which was introduced in Europe from Asia to control the invasive
106 Asian chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, 1951 (Hymenoptera: Cynipidae).
107 *Dryocosmus kuriphilus* is considered the most important insect pest affecting the *Castanea* trees
108 in Asia, North America, and Europe (Oho & Umeya, 1975; Payne *et al.*, 1975; Brussino *et al.*,
109 2002). This species, also native from China, constitutes a pest in chestnut orchards and forests,
110 causing a progressive loss of the photosynthetic biomass and affecting chestnut production, by
111 inducing high densities of galls on the tree. This causes a reduction in chestnut fruit and wood
112 production and sometimes even seriously harming and weakening the tree (EFSA, 2010;
113 Gehring *et al.*, 2018; 2019). The high invasiveness and strong effects of this pest are mainly due
114 to the lack of natural enemies in the invaded regions (Aebi *et al.*, 2007; Quacchia *et al.*, 2013;
115 Gil-Tapetado *et al.*, 2021a), in addition to an efficient reproduction as a parthenogenetic and r-
116 strategist species (EFSA, 2010).

117 The only currently effective way of dealing with *D. kuriphilus* in invaded areas is
118 biological control by its natural enemy, *T. sinensis* (Otake *et al.*, 1984; Quacchia *et al.*, 2008;
119 Gibbs *et al.*, 2011), due to their synchronized life cycle (Aebi *et al.*, 2007; Quacchia *et al.*,
120 2013; Nieves-Aldrey *et al.*, 2019; Gil-Tapetado *et al.*, 2021a). Like all introduced species, *T.*
121 *sinensis* may negatively impact the autochthonous fauna (Gibbs *et al.*, 2011) by attacking native
122 cynipids (Ferracini *et al.*, 2015a; 2017), hybridizing with native *Torymus* species (Yara *et al.*,
123 2010; Pogolotti *et al.*, 2019) and competing with other native parasitoids. In addition, the
124 settlement of *T. sinensis* seems to vary in different areas of biological control application
125 (Nieves-Aldrey *et al.*, 2019), modulating the degree of impact on native fauna (the greater the

126 settlement, the greater the impact). In Spain, the impacts on non-target hosts and hybridization
127 with other *Torymus* species have not been evaluated.

128 To resolve uncertainties about the potential risks of *T. sinensis* in native species: (i) we
129 collected non-target, native cynipid galls to evaluate the natural host range for this introduced
130 wasp in Spain. (ii) In addition, we performed observational experiments in field and in
131 laboratory in which mated *T. sinensis* females were exposed to non-target hosts under no-choice
132 conditions and to native and *D. kuriphilus* galls, under choice conditions. (iii) To investigate the
133 hybridization of *T. sinensis* with native *Torymus* species, we recovered two molecular
134 phylogenies based on nuclear and mitochondrial markers to find gene introgressions and
135 hybridization events and compared the divergence time among species of *Torymus*.

136

137 **MATERIAL AND METHODS**

138 To answer and to explore the different risks and aspects related to the release of *T. sinensis*, we
139 have followed the work scheme shown in Fig. 1.

140 Study area

141 Field and laboratory experiments were carried out during the period 2016–2018 in different
142 areas of Spain, namely: in the Northwest (Galicia, Campus Lugo), in the North (Cantabria, San
143 Roque de Riomiera), in the Central region (Madrid, in the Sierra de Guadarrama and the Royal
144 Botanical Garden Alfonso XIII of the Complutense University of Madrid, UCM), and in the
145 South (Andalusia, Málaga, Valle del Genal). All these areas were previously assessed as
146 infested by *D. kuriphilus* (Gil-Tapetado *et al.* 2018). In the northern, central and southern areas,
147 *T. sinensis* seems to have effectively established, while in the northwest region, *T. sinensis* is
148 not completely established, at least according to spring of 2019 data (Nieves-Aldrey *et al.*,
149 2019) (Fig. 2).

150 Field sampling

151 To evaluate the potential host range of *T. sinensis*, a sampling campaign of native cynipid galls
152 was performed in the Sierra de Guadarrama in spring-summer of 2017 and 2018. Galls were in a
153 state of fresh and early or intermediate maturity which allow oviposition of *T. sinensis*, so that
154 cynipid are in their larvae stage (Table 1). The galls were collected mainly from *Quercus*
155 *pyrenaica* Willd., *Quercus ilex* L. and *Quercus suber* L., and these samples were used in the
156 host range indoor laboratory experiments. The galls of *D. kuriphilus* used in experiments come
157 from the Cantabria site, the Real Jardín Botánico Alfonso XIII and the Campus Terra of
158 Santiago de Compostela University in Lugo (Gil-Tapetado *et al.*, 2018), and were also collected
159 during spring-summer of 2017 and 2018 (Table 1). Part of these galls of native and alien
160 cynipids were collected to perform the laboratory experiments and the remaining galls were
161 bagged to carry out the field experiments (Fig. 3A-B).

162 *Torymus sinensis* individuals used in these experiments were provided by ‘Agrobio
163 enterprise’©, which imported the specimens from Italy in -10°C and dark conditions, remaining
164 these individuals in lethargy and *a priori* avoiding the mating among them. Specimens were
165 selected and were kept under laboratory conditions for two days, ensuring that mating was
166 established. Subsequently, the females of *T. sinensis* were separated to perform the host range
167 experiments.

168 To elaborate the molecular phylogeny, specimens of *T. sinensis*, as well as those of
169 other *Torymus* species and the outgroups, used in the molecular phylogeny, are the same as
170 those used in a recent study (Gil-Tapetado *et al.* 2021c) that focused on *Torymus* species
171 associated with cynipid hosts, while the DNA sequences of *Torymus beneficus* Yasumatsu and
172 Kamijo, 1979 were retrieved from GenBank (Yara *et al.* 2006; 2010).

173

174 Host range in field experiments

175 The potential host range of *T. sinensis* was tested in the region of Madrid through bagging of
176 tree branches infested with cynipid galls. Branches of several native oaks (*Quercus* spp.) were

177 selected to study the native cynipid galls, while *Castanea sativa* chesnut branches were selected
178 to study *D. kuriphilus* galls. This no choice oviposition field experiment (NCOF) consisted of
179 covering a tree branch in the field with the presence of target or non-target native galls with a
180 semipermeable mesh bag. Each mesh has a sufficient pore size to allow the entry of air and
181 water but preventing the entry and exit of even small insects, *a priori* avoiding the interference
182 of other parasitoid species in the experiment and the dispersal of *T. sinensis* in the field. In each
183 branch, 40 specimens of *T. sinensis* (25♀/15♂) were released and after a three-month period,
184 the galls were collected. We conducted these experiments on four native species of cynipid-galls
185 species with simple or complex external morphology (*Plagiotrochus australis* (Mayr, 1882) on
186 *Q. ilex*, *Andricus curvator* Hartig, 1840 and *Biorhiza pallida* (Olivier, 1791) on *Q. pyrenaica*,
187 *Andricus quercusramuli* (Linnaeus, 1761) on *Q. faginea* and *Pseudoneuroterus saliens* (Kollar,
188 1857) on *Q. suber*). These last two cynipid species were selected to observe the host range of *T.*
189 *sinensis* with galls morphologically different from those of *D. kuriphilus*. Four of these
190 experiments were performed for each species.

191 Ex situ host range experiments

192 Based on Ferracini *et al.*, (2015a), two types of experiments were performed to test the host
193 range of *T. sinensis* indoors: 1) choice oviposition tests (COT), presenting, at once, both target
194 and non-target cynipid-galls; and 2) no choice oviposition tests (NCOT), presenting only a
195 target or non-target gall species.

196 In the COT, three mated females of *T. sinensis* were exposed to galls of their main host,
197 *D. kuriphilus*, and non-target galls of Cynipidae for 30 minutes in a Petri dish (diameter 10 cm)
198 with a white background underneath using a binocular stereomicroscope (Fig. 3C). During that
199 time, the following behaviours were annotated: 1) attraction towards any gall (the female walks
200 towards the gall and on its surface) and vibrotaxis or antennal drumming (the female makes
201 antenatal movements along the gall surface), 2) oviposition attempts (the female inserts her
202 ovipositor lasting less than 1 minute) and 3) successful oviposition. A successful oviposition is
203 considered when the female oviposits for at least one minute, even though there is no certainly

204 that the female has laid an egg. Twenty replicas of this experiment could be performed with the
205 species *B. pallida*, *Neuroterus quercusbaccarum* (Linnaeus, 1758), *Pl. australis* and
206 *Plagiotrochus quercusilicis* (Fabricius, 1798) as they were the most abundant species in our
207 collected gall samples. Data from the COT experiments with sufficient replicates were analyzed
208 using a χ^2 test. In particular, we tested whether there were differences in preference (i.e. number
209 of behaviours observed in different galls) towards *D. kuriphilus* galls over non-target galls.

210 In the NCOT experiments, three mated females of *T. sinensis* were placed under the
211 same conditions as the COT experiments, but in this case, they were presented separately only
212 with galls of the following cynipids: *A. curvator*, *Pl. australis*, *B. pallida*, *D. kuriphilus* *Pl.*
213 *quercusilicis*, *N. quercusbaccarum*, *A. quercusramuli*, *Andricus grossulariae* Giraud, 1859;
214 *Neuroterus tricolor* (Hartig, 1841); *Ps. saliens* and *Synophrus hispanicus* Pujade-Villar, 2009.
215 The same behaviours of the COT experiments were recorded except for the antennal drumming.
216 For the NCOT experiments, we analyzed the following variables: number of oviposition
217 attempts, number of successful ovipositions, their ratio, and attraction, i.e. the ratio between the
218 number of successful ovipositions and the number of total tested galls by species as an estimate
219 of overall attraction to gall species. Finally, we listed them in order to the proportions ((attempt
220 ovipositions + successful oviposition)/number of galls), and (successful oviposition)/(attempt
221 ovipositions + successful ovipositions)).

222

223 Hybridization of *T. sinensis*

224 A phylogenetic analysis has been performed to check hybridization signals between Asian
225 *Torymus* (*T. sinensis* and *T. beneficus*) and European *Torymus* (*Torymus cyaneus* Walker, 1847,
226 *Torymus notatus* (Walker, 1833), *Torymus affinis* (Fonscolombe, 1832), *Torymus auratus*,
227 *Torymus nobilis*, *Torymus geranii*, *Torymus bedeguaris*, *Torymus rubi* and *Torymus flavipes*).
228 Two genes were selected for sequencing, nuclear Internal transcribed spacer 2 (*ITS2*) and
229 mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I (*coxI*). The contigs were assembled and edited

230 using Sequencher 5.4.6 (Gene Codes, 2016). Two matrices were formed, one for the *coxI* gen
231 and another for the *ITS2*. The *ITS2* matrix was aligned using MAFFT (Kato & Standley, 2013;
232 Mafft, 2018), and the *coxI* was aligned manually, after that it was translated into amino acids
233 with Mesquite (Maddison & Maddison, 2018). Bayesian inference analysis was conducted to
234 the *ITS2* matrix using Mr. Bayes v3.2.6 (Ronquist *et al.*, 2012) and to the *coxI* matrix using
235 BEAST v1.8.2 (Drummond *et al.*, 2012) on the CIPRES Science Gateway online platform
236 (Miller *et al.*, 2010). For both matrices, JModelTest (Darriba *et al.*, 2012) was used to determine
237 the best nucleotide substitution model for our data. We did two independent runs of 100 million
238 generations, sampling every 1000 with 4 chains per run and the burn-in factor was 0.25. The
239 nucleotide substitution models determined for both genes in Bayesian analysis was GTR + I +
240 G. The resulting trees were visualized with FigTree 1.4.3 (Rambaut, 2014) and edited with
241 Inkscape and Adobe Photoshop CC. Two separated topologies were presented to show possible
242 hybridizations between species.

243 Additionally, observational mating experiments were performed between *T. sinensis*
244 males and females with phylogenetically close native *Torymus* species. These species were *T.*
245 *cyaneus*, *T. notatus* and *T. affinis*. These mating experiments were performed for 30 minutes
246 considering four different behaviours: attraction, contact between antennae, courtship mating
247 and mating.

248

249 **RESULTS**

250 Host range in field experiments

251 In 2017 we conducted 35 NCOF experiments with three species: *B. pallida* and *A. curvator* on
252 *Q. pyrenaica*, and *Pl. australis* on *Q. ilex*. The results were negative in all cases and we did not
253 recover *T. sinensis* larvae or adults from the galls used in these field experiments.

254 In May 2018, we conducted 65 additional NCOF experiments, on 10 galls from
255 different cynipid-gall species at 13 different sites in Madrid, Cantabria, and Andalusia. In all the

256 NCOF experiments the results were negative regarding the implantation of *T. sinensis* except in
257 galls of the sexual generation of *A. curvator*, in which we recovered 5♂ of *T. sinensis*. This fact
258 reconfirm that the implantation of *T. sinensis* in native cynipid oak galls is possible in the field.
259 The attraction of *A. curvator* to *T. sinensis* was also confirmed in the COT and NCOT
260 experiments performed in the laboratory (see below).

261 Ex situ host range experiments

262 We performed 44 tests in the laboratory with galls of 11 different Cynipidae species. The results
263 indicated that there was attraction and ovipositor insertion the in galls in all cases except for *A.*
264 *quercusramuli*, *Ps. saliens* and *S. hispanicus*. The highest frequency of attraction and insertion
265 successful for oviposition, apart from *D. kuriphilus*, is produced with the galls of the sexual
266 generations of *A. curvator* and two *Plagiotrochus* species: *Pl. quercusilicis* and *Pl. australis*
267 (Fig. 3G-I). However, it could not determine whether egg laying occurred and whether *T.*
268 *sinensis* larvae developed in the galls used in the tests.

269 In the COT experiments we found that *T. sinensis* preferentially parasitized *D.*
270 *kuriphilus* (Fig. 3D-F) but this Torymid can also parasitize non-target galls too (Fig. 4). There
271 were significant differences in the vibrotaxis behaviour of *T. sinensis*, choosing primarily *D.*
272 *kuriphilus* instead of *B. pallida* ($p=0.004$) and *Pl. quercusilicis* ($p=0.02$). Nevertheless, there
273 were no differences in vibrotaxis between *D. kuriphilus* and *N. quercusbaccarum* ($p=0.27$).
274 Also, there were significant differences on the oviposition attempts between *D. kuriphilus* and
275 two native galling species (*B. pallida* and *Pl. quercusilicis*) ($p \leq 0.002$), making more attempts
276 to oviposit on galls of the former and less on the latter, while no differences were found
277 between *N. quercusbaccarum* and *D. kuriphilus* ($p=0.32$). For ovipositions for +1 minute (a
278 proxy of successful ovipositions), the preference for *D. kuriphilus* is significantly maintained
279 over the species *Pl. quercusilicis* ($p=0.000$) and *N. quercusbaccarum* ($p=0.000$) and there is
280 not a significant preference from *B. pallida* and *D. kuriphilus* (Fig. 4).

281 For the species *A. curvator*, *A. quercusramuli*, *N. politus*, *Ps. saliens* and *Trigonaspis*.
282 there were not enough of samples to develop a statistical analysis (Table 1; we did not obtain
283 enough galls from *A. curvator* during the preparation of these experiments). Although there
284 were not enough galls of these species for a statistical analysis, we have observed that *T.*
285 *sinensis* did not have any attraction or ovipositing behaviour towards *N. politus*, *Ps. saliens* and
286 *S. hispanicus* in the presence of *D. kuriphilus* galls. In contrast, *T. sinensis* can oviposit in *A.*
287 *curvator* and on the semi-subterranean galls on stolons induced by sexual generations of
288 *Trigonaspis* (Fig. 3J) but not on the filamentous catkin galls of *A. quercusramuli*, which only
289 elicit attraction/vibrotaxis in the presence of *D. kuriphilus*. *Torymus sinensis* only oviposited (~1
290 minute) on the galls of *Trigonaspis* and not on galls of *D. kuriphilus* during these 30 minutes.

291 For the NCOT experiments, the cynipids that underwent the most ovipositions were *A.*
292 *curvator* and *Pl. australis*; the second most-attacked species was *B. pallida*, the main host of *T.*
293 *affinis*. *Dryocosmus kuriphilus*, received attraction and ovipositions similar to these previous
294 species. The species that did not receive any *T. sinensis* interaction were *A. quercusramuli*, *Ps.*
295 *saliens* and *S. hispanicus*. The rest of the species (*A. grossulariae*, *Pl. quercusilicis*, *N.*
296 *quercusbaccarum* and *N. tricolor*) infrequently underwent oviposition.

297 Hybridization of *T. sinensis*

298 The *ITS2* and *cox1* phylogenies showed similar relationships among species (Figs. 5 & 6). In the
299 *ITS2* phylogeny (Fig. 5), the species *T. sinensis* and *T. beneficus* form part of the same subclade.
300 This clade is related with *T. notatus*. The clade of *T. sinensis*, *T. beneficus* and *T. notatus* is in
301 turn related with *T. cyaneus* and these species, in turn, with a clade composed by the subclade of
302 *T. affinis* and another subclade with the rest of studied species of *Torymus*. However, in the
303 *cox1* phylogeny (Fig. 6), the clade of *T. sinensis*, *T. beneficus* and *T. notatus* forms a polytomy
304 with a clade composed by *T. cyaneus* and *T. affinis* and another composed by the rest of studied
305 species of *Torymus* (*T. auratus*, *T. nobilis*, *T. geranii*, *T. bedeguaris*, *T. rubi* and *T. flavipes*).
306 The species *T. cyaneus* presents two subclades in the *ITS2* phylogeny and three subclades in the
307 *cox1* phylogeny. In the *ITS2* phylogeny, *T. auratus*, *T. nobilis* and *T. geranii* form a clade

308 related with *T. bedeguaris* and *T. rubi*, and all these species form a sister subclade with *T.*
309 *flavipes*. In the *cox1* phylogeny, *T. auratus*, *T. nobilis* and *T. geranii* form a clade related with *T.*
310 *bedeguaris*, *T. rubi*, and *T. flavipes*. As in the case of *T. cyaneus*, *T. flavipes* presents two
311 subclades in the *ITS2* and *cox1* phylogenies.

312 No hybridization or introgression events between *T. sinensis*, *T. beneficus* and European
313 *Torymus* species have been detected among the *cox1* and *ITS2* topologies (Figs. 4 & 5).
314 However, introgressions of *T. beneficus* in the *T. sinensis* clade were detected in the *ITS2*
315 phylogeny (Fig. 5), forming the same nuclear subclade. The species *T. beneficus* and *T. notatus*
316 are the closest species to *T. sinensis*. The divergence time between *T. sinensis* and *T. notatus*
317 (23.62 Mya, 12.85-36.42 95% HPD bounds), is greater than that of *T. sinensis* and *T. beneficus*
318 (10.33 Mya, 4.71-18.60 95% HPD bounds). Therefore, *T. sinensis* and *T. beneficus* are
319 phylogenetically closer than the clade of *T. sinensis* and *T. beneficus* with *T. notatus*.
320 Divergence time among *Torymus* closest species is similar (~23-29 Mya) in all cases except
321 between *T. sinensis* and *T. beneficus*. The divergence time of *T. sinensis* and *T. beneficus* is
322 more similar, even shorter than that observed among detected biological entities of *T. flavipes*
323 and *T. cyaneus* species (~13-18 Mya).

324 Additionally, no mating attempts between *T. sinensis* and the native species *T. cyaneus*
325 and *T. notatus* have been observed in the laboratory hybridization experiments. The only
326 interactions observed among the *Torymus* species studied were courtship dance and antennae
327 contact. These behaviours were always initiated by males and were ignored by females.

328

329 **DISCUSSION**

330 **Host range in field experiments**

331 Our field experiments highlight another concern, i.e. the possible effects of competition exerted
332 by *T. sinensis* towards native parasitoids, when attacking non-target galls. Ferracini *et al.*
333 (2015a) stated the possibility of *T. sinensis* oviposition in non-target Italian native cynipid hosts.

334 In fact, these authors indicated that three *T. sinensis* males emerged from field-collected *B.*
335 *pallida* galls and also observed *T. sinensis* females leading eggs on *A. curvator* galls under
336 laboratory conditions. This host range expansion of *T. sinensis* in Italy was later confirmed by
337 Ferracini *et al.* (2017). Our results confirm such possibility since we have found *T. sinensis*
338 emerged from galls of *A. curvator* experimentally infected with this species. The number of *T.*
339 *sinensis* recovered from that native galls were low, but the number of *T. sinensis* in the
340 experiments was also low. Under conditions of a high *T. sinensis* population in the field with a
341 decreasing of *D. kuriphilus* populations, native galls could become target hosts for this non-
342 native parasitoid. In Spain, despite that the populations of *T. sinensis* released for control of *D.*
343 *kuriphilus* remain still low (Nieves-Aldrey *et al.*, 2019), this may change in near future, in areas
344 where *T. sinensis* will successfully and rapidly settle and get higher densities. Then, it would be
345 possible that this non-native species could parasitize and affect native cynipid-gall populations.

346 In fact, we question the role of *T. sinensis* as a specific natural enemy of *D. kuriphilus*.
347 There is no doubt that the control exerted by this species on *D. kuriphilus* is efficient, but we do
348 not know if this control is really directed only against this cynipid species or on cynipid species
349 with simple gall morphology (as *D. kuriphilus*, *A. curvator* or *B. pallida*). The election of *T.*
350 *sinensis* as biological control of *D. kuriphilus* and its natural enemy is *a priori* based on the fact
351 that it is the species with the highest abundance in the biological communities of this species in
352 China, which means that it is the species that has the greatest effect on the population regulation
353 of this cynipid. However, parasitoid communities of the other native cynipid species in their
354 native range have not yet been studied, and it is possible that *T. sinensis* is not the most
355 specialist and effective natural enemy against *D. kuriphilus*, but rather the most abundant
356 parasitoid in the biological communities of cynipids in China and is a more polyphagous species
357 than described.

358 *Ex situ* host range experiments

359 In accordance with Ferracini *et al.* (2015a), our results highlight how *T. sinensis* has a broader
360 host range, and this foreign parasitoid is attracted by non-target hosts (Table 2, Fig. 4). *Torymus*

361 *sinensis* even appears to be attracted to underground tree stratum galls, such as those of sexual
362 generations of species of *Trigonaspis* (Fig. 3J). However, in a posterior analysis of some of the
363 galls used in the experiments, where *T. sinensis* oviposits, no eggs were detected inside the
364 larval chamber. We cannot assume that there could not be eggs in all the galls used in the COT
365 and NCOT experiments. Moreover the findings from these *ex situ* experiments do not imply the
366 viability of *T. sinensis* larvae in native galls. Considering the native species of Cynipidae used
367 in the experiments and the morphology of the galls, *T. sinensis* seems to be particularly attracted
368 to globular and simple galls, like those of *D. kuriphilus*, as *Pl. quercusilicis*, *A. curvator* or *N.*
369 *quercusbaccarum* (sexual generation) (Table 2). Also, there are differences between the COT
370 and NCOT experiments, obtaining more total ovipositions (attempts and +1 minute) in the COT,
371 a preference for *D. kuriphilus* over the native galls in the most of cases. It is possible that the
372 ovipositions on native galls in the COT experiments were because of the volatile attractants of
373 *Castanea/D. kuriphilus* (Borges, 2018) may have confused the females. However, in the NCOT
374 experiments there was no possibility that these attractants were present. In addition, it is striking
375 that in the NCOT experiments, there is a high percentage of successful ovipositions of *T.*
376 *sinensis* on galls of native species, which may indicate that in the absence of *D. kuriphilus*, *T.*
377 *sinensis* can parasitise non-target species. This may be an indication that there is no close
378 specificity and consequent density dependence between *T. sinensis* and *D. kuriphilus* and that *T.*
379 *sinensis* can remain in the natural environment in oak gall communities once the pest is reduced
380 or mitigated. The result of the highest parasitism in *A. curvator* coincides with the result of field
381 experiments with this native species, suggesting that this non-target species is the most
382 vulnerable to *T. sinensis*. Also, this interconnection between *T. sinensis* and potentially
383 parasitising native Cynipini galls, which may be related to a parasitism niche, fits with the
384 'ecological fitting' hypothesis (Agosta *et al.*, 2010) and the 'Stockholm paradigm' (Brooks *et al.*,
385 2019). The fact that there are galls with a morphology and phenology compatible with the
386 parasitism niche of *T. sinensis* may mean that in an alien area, this alien species may be more
387 polyphagous than *a priori* is described. It is therefore of vital importance to study which species

388 are potentially vulnerable to the release of a foreign species before biological control
389 programmes are carried out.

390 *Torymus sinensis* is reported to be an effective biological control agent of *D. kuriphilus*
391 in different countries (e. g: Borowiec *et al.*, 2014; Ferracini *et al.*, 2015b; 2019). In Spain, a pest
392 decline was reported in the border area with France in Navarra (Nieves-Aldrey *et al.*, 2019) and
393 Catalonia regions (Managers of the Natural Park of the Zona Volcànica de la Garrotxa and the
394 Natural Park of Montseny, personal communication), which can be attributed to natural
395 dispersion of the parasitoid from this country. Nevertheless, in some Spanish territories *T.*
396 *sinensis* did not show a high efficacy as control agent (Nieves-Aldrey *et al.*, 2019), although its
397 establishment and effect on *D. kuriphilus* is expected to increase in future.

398 Hybridization of *T. sinensis*

399 Our results confirm that the sister species of *T. sinensis* is *T. beneficus* as indicated by previous
400 studies (Yara, 2006; Yara *et al.*, 2010; Montagna *et al.*, 2018; Viviani *et al.*, 2019; Viciriuc *et*
401 *al.*, 2021) (Fig. 6). The geographic closeness between these species could indicate a more recent
402 separation, as shown our divergence times (Fig. 6). In fact, there are no deep differences
403 between *T. sinensis* and *T. beneficus* *ITS2* sequences (Fig. 5) but only in the *cox1*, forming sister
404 subclades (Fig. 6). This can also be appreciated in other *Torymus* groups such as *T. flavipes* or
405 *T. cyaneus*, with different biological entities within each species (Fig. 5 & 6) (Gil-Tapetado *et*
406 *al.*, 2021b). However, in *T. flavipes* or *T. cyaneus* there are differences in both *cox1* and *ITS2*
407 genes, remarking a deeper diversification among the biological entities that these species
408 complexes encompass in comparison with *T. sinensis* and *T. beneficus*.

409 The sister species of *T. sinensis* and *T. beneficus* is *T. notatus*, as other authors also
410 indicate (Pogolotti *et al.*, 2019; Gil-Tapetado *et al.*, 2021b). *Torymus sinensis* and *T. notatus* are
411 very similar despite the geographic distance of both native distributions and the morphological
412 differentiation among these species is usually complicated (Gil-Tapetado *et al.*, 2021a).

413 Hybridization between *T. notatus* and *T. sinensis* would be *a priori* risk in the biological control

414 programs based on *T. sinensis* in foreign areas (Pogolotti *et al.*, 2019; Gil-Tapetado *et al.*,
415 2021b). We detected specimens of *T. sinensis* in the *T. notatus* clade, however, we believe that
416 these specimens are misidentifications of *T. notatus*. These specimens identified as *T. sinensis*
417 correspond to the article by Viviani *et al.*, (2019), who have not considered the species *T.*
418 *notatus* (the authors only consider the hybridization between *T. sinensis* and the native species
419 *T. auratus*, *T. geranii* and *T. flavipes*). In fact, the authors comment that they obtain two
420 haplotypes of *T. sinensis* in their results, which could correspond to the species *T. sinensis* itself
421 and the native *T. notatus*.

422 Despite the phylogenetic closeness of *T. notatus* and *T. sinensis*, their shared
423 morphological characters and their similar life cycle (Pogolotti *et al.*, 2019; Gil-Tapetado *et al.*,
424 2021c), the divergence time between these species is the same as the rest of *Torymus* sister
425 species (except *T. beneficus*) (Fig. 6). This fact means that *a priori*, the possibility that *T.*
426 *notatus* and *T. sinensis* may hybridize should be like the possibility that two other sister species
427 of *Torymus* may also hybridize with each other (e.g.: *T. auratus* with *T. flavipes*). This last fact
428 has not been observed so far in nature. Moreover, neither non-hybridization nor introgression
429 events have been detected in our phylogenies (Figs. 5-6). Therefore, the probability of
430 hybridization between *T. sinensis* and *T. notatus* is surely null or very low considering our data,
431 minimizing this risk of *T. sinensis* in its release as biological control. In addition, hybridization
432 experiments did not yield any relevant results, females ignoring in all cases other species males.

433 Related to the hybridization of *T. sinensis* with the Japanese native species *T. beneficus*
434 (Yara *et al.*, 2010; Montagna *et al.*, 2018), both species are morphologically very similar, the
435 ratio between the ovipositor and the length of the body, and the emergence date being used as
436 characters to distinguish them (Yara, 2006). Thus, the best way to distinguish these *Torymus*
437 species is based on molecular markers (Yara, 2006; Yara *et al.*, 2010). In addition,
438 morphologically and molecularly intermediate individuals also appear in surveys which are true
439 hybrids (Yara *et al.*, 2010; Viciriuc *et al.*, 2021). Considering this fact and the divergence time
440 of these two species and the biological entities of *T. flavipes* and *T. cyaneus*, there are two

441 different possibilities: either 1) that *T. sinensis*, *T. beneficus* and the biological entities of *T.*
442 *flavipes* and *T. cyaneus* are all species and the detected biological entities must be described; or
443 2) that the biological entities of *T. flavipes* and *T. cyaneus* belong to infraspecific levels and *T.*
444 *beneficus* must be synonymized with *T. sinensis* as assigned *T. beneficus* to a subspecies of *T.*
445 *sinensis*.

446

447 **CONCLUSION**

448 We consider that *Torymus sinensis* as a biological control agent for *Dryocosmus kuriphilus* is an
449 important tool that greatly contributes to solve the chestnut production problem produced by
450 this pest worldwide. However, releases of this parasitoid may imply problems regarding the
451 conservation of autochthonous fauna, as it has happened with other species (Roy *et al.*, 2006;
452 Roy & Wajnberg, 2008, Rosenheim *et al.*, 1999, Louda *et al.*, 1997). This paper shows that the
453 hybridization risk is low or null while mistarget over simple morphological oak galls is possible,
454 as indicated by previously published articles (Ferracini *et al.*, 2015). However, this paper does
455 not address the possible displacement effect of *T. sinensis* on other native parasitoid species, it
456 has already been reported in other Mediterranean areas (Ferracini *et al.*, 2018).

457 In addition, we highlight the previous non-consideration of *T. notatus* as an alternative
458 control species for *D. kuriphilus*. *Torymus notatus* was not considered in any previous work
459 until 2019 (Pogolotti *et al.*, 2019; Gil-Tapetado *et al.*, 2021a; 2021c), years after the release of
460 *T. sinensis* in different foreign areas. This native *Torymus* is a parasitoid with the same biology,
461 ecology, and a similar host range as *T. sinensis* (Gil-Tapetado *et al.*, 2021a, 2021c), and is
462 susceptible to have been used as a biological control by conservation, as well as the rest of the
463 native species of the overwinter subcommunity (Gil-Tapetado *et al.*, 2021a). The biological
464 control study with *T. notatus* should have been carried out earlier, but now, although there are
465 indications of its efficacy against *D. kuriphilus*, it is too late. *Torymus sinensis* has already
466 become established in the natural environment and its elimination once its biological control is
467 complete seems difficult if it can become integrated in the cynipid communities of oak trees and

468 probably cannot be reversed. Undoubtedly, a biological control with *T. notatus* would also have
469 negatively affected susceptible native cynipid species, such as *A. curvator*, but at least the
470 imbalance would have been made by a species already present in the natural environment.
471 Despite the clues provided by this work, only subsequent monitoring during the following years
472 after release will be able to indicate whether the role of *T. sinensis* as an effective biological
473 control on *D. kuriphilus* is clearly favorable for the real biodiversity threat or detrimental to the
474 native fauna of cynipid-galls.

475

476 **ACKNOWLEDGMENTS**

477 The molecular part of this study was funded by the projects grants CGL2015-66571-P,
478 MINECO-FEDER and PID2019-110243GB-100 / AEI/10.13039/501100011033 (Ministerio de
479 Ciencia, Innovación y Universidades, Spain) to MG-P. The field work and lab experiments were
480 funded by AGL2016-76262-R (AEI/FEDER, UE) and Encomienda de Gestión from MAPAMA
481 to Agencia Estatal CSIC, 16MNES003 to JLNA. We thank Carmen D. Soria for the help in
482 language editing. We are also grateful to Richard Askew and Csaba Thuróczy for let us use their
483 unpublished keys on Chalcidoidea associated to oak gall wasps.

484

485 **REFERENCES**

- 486 Aebi, A., Schönrogge, K., Melika, G., Quacchia, A., Alma, A., & Stone, G. N. (2007). Native
487 and introduced parasitoids attacking the invasive chestnut gall wasp *Dryocosmus*
488 *kuriphilus*. *EPPO bulletin*, 37(1), 166-171.
- 489 Agosta SJ, Janz N, & Brooks DR. (2010). How specialists can be generalists: resolving the
490 "parasite paradox" and implications for emerging infectious disease. *Zoologia (Curitiba)*, 27(2):
491 151-162.
- 492 Barnett, A. (2001). Safety in numbers. *New Sci.*, 169, 38–41.
- 493 Beddington, J. R., Free, C. A., & Lawton, J. H. (1978). Characteristics of successful natural
494 enemies in models of biological control of insect pests. *Nature*, 273(5663), 513-519.
- 495 Borges, R. M. (2018). The galling truth: Limited knowledge of gall-associated volatiles in
496 multitrophic interactions. *Frontiers in plant science*, 9, 1139.
- 497 Borowiec, N., Thaon, M., Brancaccio, L., Warot, S., Vercken, E., Fauvergue, X., ... & Malausa,
498 J. C. (2014). Classical biological control against the chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus*
499 (Hymenoptera, Cynipidae) in France. *Plant Protection Quarterly*, 29(1), 7.

- 500 Borowiec, N., Thaon, M., Brancaccio, L., Cailleret, B., Ris, N., & Vercken, E. (2018). Early
501 population dynamics in classical biological control: establishment of the exotic parasitoid
502 *Torymus sinensis* and control of its target pest, the chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus*,
503 in France. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 166(5), 367-379.
- 504 Brooks, D. R., Hoberg, E. P., & Boeger, W. A. (2019). *The Stockholm paradigm: climate*
505 *change and emerging disease*. University of Chicago Press.
- 506 Brown, P. M. J., Adriaens, T., Bathon, H., Cuppen, J., Goldarazena, A., Hägg, T., ... & Roy, D.
507 B. (2007). *Harmonia axyridis* in Europe: spread and distribution of a non-native coccinellid.
508 In *From Biological Control to Invasion: the Ladybird Harmonia axyridis as a Model*
509 *Species* (pp. 5-21). Springer, Dordrecht.
- 510 Brussino G., Bosio G., Baudino M., Giordano R., Ramello F. & Melika G. (2002) Dangerous
511 exotic insect for the European chestnut. *Informatore Agrario*. 58, 59–61. [In Italian]
- 512 Cooper, W. R., & Rieske, L. K. (2007). Community associates of an exotic gallmaker,
513 *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera: Cynipidae), in eastern North America. *Annals of the*
514 *Entomological Society of America*, 100(2), 236-244.
- 515 Cooper, W. R. & Rieske, L. K. (2010). Gall structure affects ecological associations of *Dryocosmus*
516 *kuriphilus* (Hymenoptera: Cynipidae). *Environ Entomol* 39:787–797.
517 <https://doi.org/10.1603/EN09382>
- 518 Courchamp, F., Clutton-Brock, T., & Grenfell, B. (1999). Inverse density dependence and the
519 Allee effect. *Trends in ecology & evolution*, 14(10), 405-410.
- 520 Darriba, D., Taboada G.L., Doallo R., & Posada D. (2012). jModelTest 2: more models, new
521 heuristics and parallel computing. *Nature Methods*. 9(8): 772.
- 522 DeBach, P., & Rosen, D. (1991). *Biological control by natural enemies*. CUP Archive.
- 523 DOGC (Diari Oficial de la Generalitat de Catalunya), 2012. ORDRE AAM/355/2012, de 2 de
524 novembre, per la qual s'estableixen les zones delimitades per la plaga *Dryocosmus kuriphilus*.
525 DOGC Núm. 6253: 56194-56196.
- 526 Dorado, F. J., Pujade-Villar, J., Muñoz-Adalia, E. J., Vinagrero, J. C., Diez-Casero, J. J., &
527 Fernández-Fernández, M. M. (2020). Characterization of native parasitoid community
528 associated with the invasive pest *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera: Cynipidae) in
529 Cantabria (northern Spain). *Scandinavian Journal of Forest Research*, 35(7), 334-340.
- 530 Drummond, A.J., Suchard, M.A., Xie, D. & Rambaut, A. (2012) Bayesian phylogenetics with
531 BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular Biology and Evolution*, 29, 1969– 1973.
- 532 EFSA (European Food Safety Authority) (2010). Risk assessment of the oriental chestnut gall
533 wasp, *Dryocosmus kuriphilus* for the EU territory and identification and evaluation of risk
534 management options. *EFSA Journal*, 8, 16-19.
- 535 Facon, B., Crespin, L., Loiseau, A., Lombaert, E., Magro, A., & Estoup, A. (2011). Can things
536 get worse when an invasive species hybridizes? The harlequin ladybird *Harmonia axyridis* in
537 France as a case study. *Evolutionary applications*, 4(1), 71-88.
- 538 Ferracini, C., Gonella, E., Ferrari, E., Saladini, M. A., Picciau, L., Tota, F., ... & Alma, A.
539 (2015). Novel insight in the life cycle of *Torymus sinensis*, biocontrol agent of the chestnut gall
540 wasp. *BioControl*, 60(2), 169-177.
- 541 Ferracini, C., Ferrari, E., Saladini, M. A., Pontini, M., Corradetti, M., & Alma, A. (2015). Non-
542 target host risk assessment for the parasitoid *Torymus sinensis*. *BioControl*, 60(5), 583-594.

- 543 Ferracini, C., Ferrari, E., Pontini, M., Nova, L. K. H., Saladini, M. A., & Alma, A. (2017). Post-
544 release evaluation of non-target effects of *Torymus sinensis*, the biological control agent of
545 *Dryocosmus kuriphilus* in Italy. *BioControl*, 62(4), 445-456.
- 546 Ferracini, C., Bertolino, S., Bernardo, U., Bonsignore, C. P., Faccoli, M., Ferrari, E., ... &
547 Tavella, L. (2018). Do *Torymus sinensis* (Hymenoptera: Torymidae) and agroforestry system
548 affect native parasitoids associated with the Asian chestnut gall wasp?. *Biological Control*, 121,
549 36-43.
- 550 Ferracini, C., Ferrari, E., Pontini, M., Saladini, M. A., & Alma, A. (2019). Effectiveness of
551 *Torymus sinensis*: a successful long-term control of the Asian chestnut gall wasp in
552 Italy. *Journal of Pest Science*, 92(1), 353-359.
- 553 Gehring, E., Bellosi, B., Quacchia, A., & Conedera, M. (2018). Assessing the impact of
554 *Dryocosmus kuriphilus* on the chestnut tree: branch architecture matters. *Journal of pest*
555 *science*, 91(1), 189-202.
- 556 Gehring, E., Bellosi, B., Reynaud, N., & Conedera, M. (2019). Chestnut tree damage evolution
557 due to *Dryocosmus kuriphilus* attacks. *Journal of Pest Science*, 1-13.
- 558 Gene Codes Corporation. (2016). Sequencher ® 5.4.6 DNA sequence analysis software. Ann
559 Arbor. MI. USA. url: <http://genecodes.com>
- 560 Gibbs, M., Schönrogge, K., Alma, A., Melika, G., Quacchia, A., Stone, G. N., & Aebi, A.
561 (2011). *Torymus sinensis*: a viable management option for the biological control of *Dryocosmus*
562 *kuriphilus* in Europe?. *BioControl*, 56(4), 527-538.
- 563 Gil-Tapetado, D., Gomez, J. F., Cabrero-Sanudo, F. J., & Nieves-Aldrey, J. L. (2018).
564 Distribution and dispersal of the invasive Asian chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus*
565 (Hymenoptera: Cynipidae), across the heterogeneous landscape of the Iberian
566 Peninsula. *European Journal of Entomology*, 115, 575-586.
- 567 Gil-Tapetado, D., Cabrero-Sañudo, F. J., Gómez, J. F., Askew, R. R., & Nieves-Aldrey, J. L.
568 (2021a). Differences in native and introduced chalcid parasitoid communities recruited by the
569 invasive chestnut pest *Dryocosmus kuriphilus* in two Iberian territories. *Bulletin of*
570 *Entomological Research*, 1-16.
- 571 Gil-Tapetado, D., Castedo-Dorado, F., Nieves-Aldrey, J. L., & Lombardero, M. J. (2021b) Gall
572 size of *Dryocosmus kuriphilus* limits down-regulation by native parasitoids. *Biological*
573 *Invasions*, 1-18.
- 574 Gil-Tapetado D, Durán-Montes P, García-París M, López-Estrada EK, Sánchez-Vialas A, Jiménez-
575 Ruiz Y, Gómez JF, & Nieves-Aldrey JL. (2021c). Host specialization is ancestral in *Torymus*
576 (Hymenoptera, Chalcidoidea) cynipid gall parasitoids. *Zoologica Scripta*,
- 577 Hall, C. M. (2019). Biological invasion, biosecurity, tourism, and globalisation. In *Handbook of*
578 *globalisation and tourism*. Edward Elgar Publishing.
- 579 Hokkanen, H. M., & Sailer, R. I. (1985). Success in classical biological control. *Critical*
580 *Reviews in Plant Sciences*, 3(1), 35-72.
- 581 IPBES (2019) Nature's dangerous decline unprecedented; species extinction rates
582 accelerating. <https://www.ipbes.net/news/Media-Release-Global-Assessment>. Accessed 04 Apr
583 2021.
- 584 Katoh, K. & Standley, D.M. (2013). MAFFT Multiple Sequence Alignment Software Version
585 7: Improvements in Performance and Usability. *Molecular Biology and Evolution*. 30 (4): 772-
586 780.

- 587 Kos, K., Kriston, E., & Melika, G. (2015). Invasive chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus*
588 (Hymenoptera: Cynipidae), its native parasitoid community and association with oak gall wasps
589 in Slovenia. *European Journal of Entomology*, 112(4), 698.
- 590 Landis, D. A., Wratten, S. D., & Gurr, G. M. (2000). Habitat management to conserve natural
591 enemies of arthropod pests in agriculture. *Annual review of entomology*, 45(1), 175-201.
- 592 Lewis, S. L., & Maslin, M. A. (2015). Defining the anthropocene. *Nature*, 519(7542), 171-180.
- 593 Lodge, D. M. (1993). Biological invasions: lessons for ecology. *Trends in ecology &*
594 *evolution*, 8(4), 133-137.
- 595 Louda, S. M., Kendall, D., Connor, J., & Simberloff, D. (1997). Ecological effects of an insect
596 introduced for the biological control of weeds. *Science*, 277(5329), 1088-1090.
- 597 Maddison, W. P. & D.R. Maddison. (2018). Mesquite: a modular system for evolutionary
598 analysis. Version 3.51. [Computer software]. url: <http://www.mesquiteproject.org>
- 599 Mafft. (2018). European Bioinformatics Institute. url: <http://www-ebi-ac-uk/Tools/msa/mafft>
- 600 Messing, R. H., & Wright, M. G. (2006). Biological control of invasive species: solution or
601 pollution?. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 4(3), 132-140.
- 602 Miller, M.A., Pfeiffer, W. & Schwartz, T., (2010). Creating the CIPRES Science Gateway for
603 inference of large phylogenetic trees. Gateway Computing Environments Workshop (GCE),
604 New Orleans, LA, pp. 1–8.
- 605 Montagna, M., Gonella, E., Mereghetti, V., Magoga, G., Ferrari, E., Pontini, M., ... & Alma, A.
606 (2019). Molecular species delimitation of the Asian chestnut gall wasp biocontrol agent released
607 in Italy. *Insect Systematics & Evolution*, 50(3), 327-345.
- 608 Nieves-Aldrey, J. L., Gil-Tapetado, D., Gavira, O., Gallardo, J. R. B., Polidori, C., Lombardero
609 Díaz, M. J., ... & Creus, E. W. (2019). *Torymus sinensis* Kamijo, a biocontrol agent against the
610 invasive chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu in Spain: its natural dispersal
611 from France and the first data on establishment after experimental releases. *Forest*
612 *systems*, 28(1), 3.
- 613 Otake, A., Moriya, S., & Shiga, M. (1984). Colonization of *Torymus sinensis* KAMIJO
614 (Hymenoptera: Torymidae), a Parasitoid of the Chestnut Gall Wasp, *Dryocosmus kuriphilus*
615 YASUMATSU (Hymenoptera: Cynipidae), Introduced from China. *Applied Entomology and*
616 *Zoology*, 19(1), 111-114.
- 617 Oho N. & Umeya K. (1975) Occurrence of the chestnut gall wasp in the People's Republic of
618 China. *Shokubutsu Boeki*, 29: 463-464 [in Japanese].
- 619 Payne J.A., Menke A.S. & Schroeder P.M. (1975). *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu
620 (Hymenoptera: Cynipidae), an oriental chestnut gall wasp in North America. *Cooperative*
621 *economic insect report*, 25. 903–905.
- 622 Pimentel, D. (2014). *Biological invasions: economic and environmental costs of alien plant,*
623 *animal, and microbe species.* CRC press.
- 624 Pogolotti, C., Cuesta-Porta, V., Pujade-Villar, J., & Ferracini, C. (2019). Seasonal flight activity
625 and genetic relatedness of *Torymus* species in Italy. *Agricultural and forest entomology*.
- 626 Quacchia, A., Moriya, S., Bosio, G., Scapin, I., & Alma, A. (2008). Rearing, release and
627 settlement prospect in Italy of *Torymus sinensis*, the biological control agent of the chestnut gall
628 wasp *Dryocosmus kuriphilus*. *BioControl*, 53(6), 829.

- 629 Quacchia, A., Ferracini, C., Nicholls, J. A., Piazza, E., Saladini, M. A., Tota, F., ... & Alma, A.
630 (2013). Chalcid parasitoid community associated with the invading pest *Dryocosmus kuriphilus*
631 in north-western Italy. *Insect Conservation and Diversity*, 6(2), 114-123.
- 632 Rambaut, A. (2014). FigTree v1.4.3. [Computer software]. Institute of Evolutionary Biology,
633 Univ. Edinburgh. url: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>
- 634 Ronquist, F., Nieves-Aldrey, J.L., Buffington, M.L., Liu, Z., Liljeblad, J. & Nylander, J.A.A.
635 (2015). Phylogeny, Evolution and Classification of Gall Wasps: The Plot Thickens. *PLoS ONE*.
636 10 (5): e0123301
- 637 Rose, K. E., Louda, S. M., & Rees, M. (2005). Demographic and evolutionary impacts of native
638 and invasive insect herbivores on *Cirsium canescens*. *Ecology*, 86(2), 453-465.
- 639 Rosenheim, J. A., Limburg, D. D., & Colfer, R. G. (1999). Impact of generalist predators on a
640 biological control agent, *Chrysoperla carnea*: direct observations. *Ecological Applications*, 9(2),
641 409-417.
- 642 Roy, H., Brown, P., & Majerus, M. (2006). *Harmonia axyridis*: a successful biocontrol agent or
643 an invasive threat?. In *An ecological and societal approach to biological control* (pp. 295-309).
644 Springer, Dordrecht.
- 645 Roy, H., & Wajnberg, E. (2008). From biological control to invasion: the ladybird *Harmonia*
646 *axyridis* as a model species. *BioControl*, 53(1), 1-4.
- 647 Schmitz, D. C., & Simberloff, D. (1997). Biological invasions: a growing threat. *Issues in*
648 *Science and Technology*, 13(4), 33-40.
- 649 Taylor, C. M., & Hastings, A. (2005). Allee effects in biological invasions. *Ecology*
650 *Letters*, 8(8), 895-908.
- 651 van Driesche, R., & Hoddle, M. S. (2016). Non-target effects of insect biocontrol agents and
652 trends in host specificity since 1985. *CAB Reviews*, 11(44), 1-66.
- 653 van Lenteren, J. C. (2000). Success in biological control of arthropods by augmentation of
654 natural enemies. In *Biological control: measures of success* (pp. 77-103). Springer, Dordrecht.
- 655 van Lenteren, J. C., Bale, J., Bigler, F., Hokkanen, H. M. T., & Loomans, A. J. M. (2006).
656 Assessing risks of releasing exotic biological control agents of arthropod pests. *Annu. Rev.*
657 *Entomol.*, 51, 609-634.
- 658 Viciriuc, I. M., Thaon, M., Moriya, S., Warot, S., Zhang, J., Aebi, A., Ris, N., Fusu, L. &
659 Borowiec, N. (2021). Contribution of integrative taxonomy to tracking interspecific
660 hybridizations between the biological control agent *Torymus sinensis* and its related
661 taxa. *Systematic Entomology*.
- 662 Vitousek, P. M., D'Antonio, C. M., Loope, L. L., & Westbrooks, R. (1996). Biological invasions
663 as global environmental change. *American scientist*, 84, 468.
- 664 Viviani, A., Bernardi, R., Cavallini, A., & Rossi, E. (2019). Genotypic Characterization of
665 *Torymus sinensis* (Hymenoptera: Torymidae) after its Introduction in Tuscany (Italy) for the
666 biological control of *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera: Cynipidae). *Journal of Insect*
667 *Science*, 19(4), 17.
- 668 Waage, J. (2012). *Biological control: measures of success*. Springer Science & Business Media.
- 669 Ware, R., Yguel, B., & Majerus, M. (2009). Effects of competition, cannibalism and intra-guild
670 predation on larval development of the European coccinellid *Adalia bipunctata* and the invasive
671 species *Harmonia axyridis*. *Ecological Entomology*, 34(1), 12-19.

- 672 Xunta de Galicia (2020). Informe parasitación *Torymus sinensis* 2020
673 [https://mediorural.xunta.gal/sites/default/files/temas/forestal/sanidade-](https://mediorural.xunta.gal/sites/default/files/temas/forestal/sanidade-forestal/201009_Informe_parasitacion_Dk.pdf)
674 [forestal/201009_Informe_parasitacion_Dk.pdf](https://mediorural.xunta.gal/sites/default/files/temas/forestal/sanidade-forestal/201009_Informe_parasitacion_Dk.pdf) Accessed 25 May 2021.
- 675 Yara, K. (2006). Identification of *Torymus sinensis* and *T. beneficus* (Hymenoptera:
676 Torymidae), introduced and indigenous parasitoids of the chestnut gall wasp *Dryocosmus*
677 *kuriphilus* (Hymenoptera: Cynipidae), using the ribosomal ITS2 region. *Biological*
678 *Control*, 36(1), 15-21.
- 679 Yara, K., Sasawaki, T., & Kunimi, Y. (2010). Hybridization between introduced *Torymus*
680 *sinensis* (Hymenoptera: Torymidae) and indigenous *T. beneficus* (late-spring strain), parasitoids
681 of the Asian chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera: Cynipidae). *Biological*
682 *Control*, 54(1), 14-18.

683 **TABLES**

684

685 **Table 1.** Collected galls of cynipid species used in all the experiments. The list includes the
 686 species, gall generation type and the number of galls.

Species	Generation type	N galls
<i>Dryocosmus kuriphilus</i> Yasumatsu, 1951	Asexual	237
<i>Neuroterus quercusbaccarum</i> (Linnaeus, 1758)	Sexual	164
<i>Plagiotrochus quercusilicis</i> (Fabricius, 1798)	Sexual	150
<i>Neuroterus tricolor</i> (Hartig, 1841)	Sexual	40
<i>Biorhiza pallida</i> (Olivier, 1791)	Sexual	34
<i>Andricus curvator</i> Hartig 1840	Sexual	33
<i>Plagiotrochus australis</i> (Mayr, 1882)	Sexual	24
<i>Andricus quercusramuli</i> (Linnaeus, 1761)	Sexual	15
<i>Pseudoneuroterus saliens</i> (Kollar, 1857)	Sexual	11
<i>Andricus grossulariae</i> Giraud, 1859	Sexual	9
<i>Synophrus hispanicus</i> Pujade-Villar, 2009	Sexual	5
<i>Neuroterus politus</i> Hartig, 1840	Sexual	5
<i>Trigonaspis</i> sp.	Sexual	4

687

688

689

690 **Table 2.** Results of NCOT experiments with *T. sinensis* on *D. kuriphilus* (target species) and
 691 native Cynipid-gall species (non-target). Generation type is indicated in parentheses (parth:
 692 parthenogenetic; bisex: bisexual). % Successful ovip. represents the proportion of successful
 693 ovipositions over the total ovipositions (successful + attempts) and attraction (= ratio between
 694 the number of successful ovipositions (N Successful ovip) and the number of galls used in the
 695 experiments). The species are ordered by the attraction, from highest to lowest.

Species	N galls	N Attempts ovip	N Successful ovip	% Successful ovip	Attraction
<i>Andricus curvator</i> (sex)	27	7	53	88.3	222.2
<i>Plagiotrochus australis</i> (sex)	24	16	22	57.9	158.3
<i>Biorhiza pallida</i> (sex)	6	4	5	55.6	150
<i>Dryocosmus kuriphilus</i> (asex)	8	4	4	50	100
<i>Andricus grossulariae</i> (sex)	9	7	1	12.5	88.9
<i>Plagiotrochus quercusilicis</i> (sex)	55	11	15	57.7	47.3
<i>Neuroterus quercusbaccarum</i> (sex)	67	15	6	28.6	31.3
<i>Neuroterus tricolor</i> (sex)	40	0	3	100	7.5
<i>Andricus quercusramuli</i> (sex)	10	0	0	0	0
<i>Pseudoneuroterus saliens</i> (sex)	11	0	0	0	0
<i>Synophrus hispanicus</i> (sex)	5	0	0	0	0

696

697

698 **FIGURES**

699

700

701

702

703

704

705

706

707

708

709

710

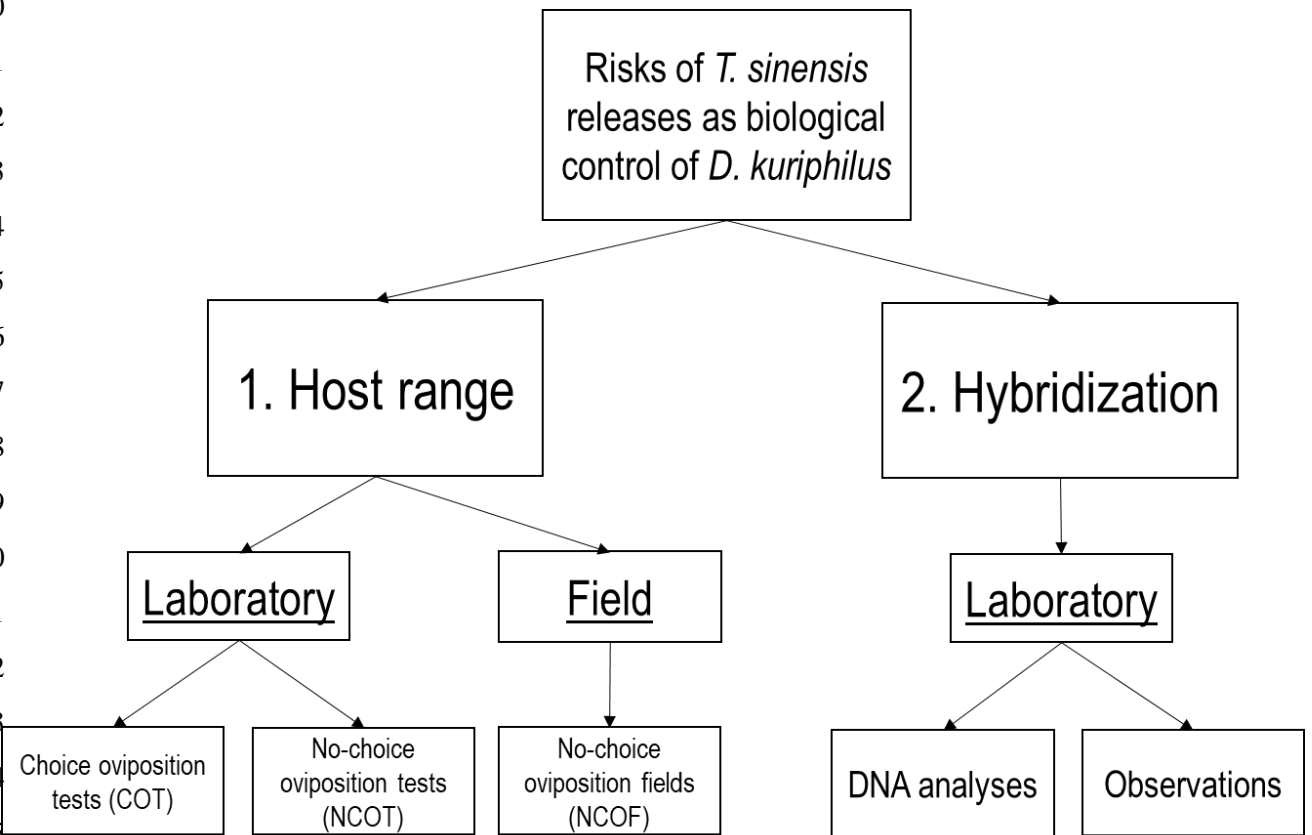
711

712

713

714

715



716 **Figure 1.** Work flow of experiments carried out in this article. To evaluate the risks of *T.*
717 *sinensis* releases in Spain, we focused on the (1) host range and (2) hybridization. We
718 elaborated different methodologies in field and in laboratory, depending on material
719 requirements: 1) To evaluate the host range of *T. sinensis*, focused on the native species of
720 cynipids, we performed both laboratory and field experiments. Laboratory experiments
721 consisted in choice oviposition tests (COT) and no choice oviposition tests (NCOT). Field
722 experiments consisted in no choice oviposition bagging releases (NCOF). 2) To evaluate the
723 risk of hybridization of *T. sinensis* with other native species of *Torymus*, we performed both
724 DNA analyses with *ITS2* and *coxI* markers and mating observations.

725

726

727

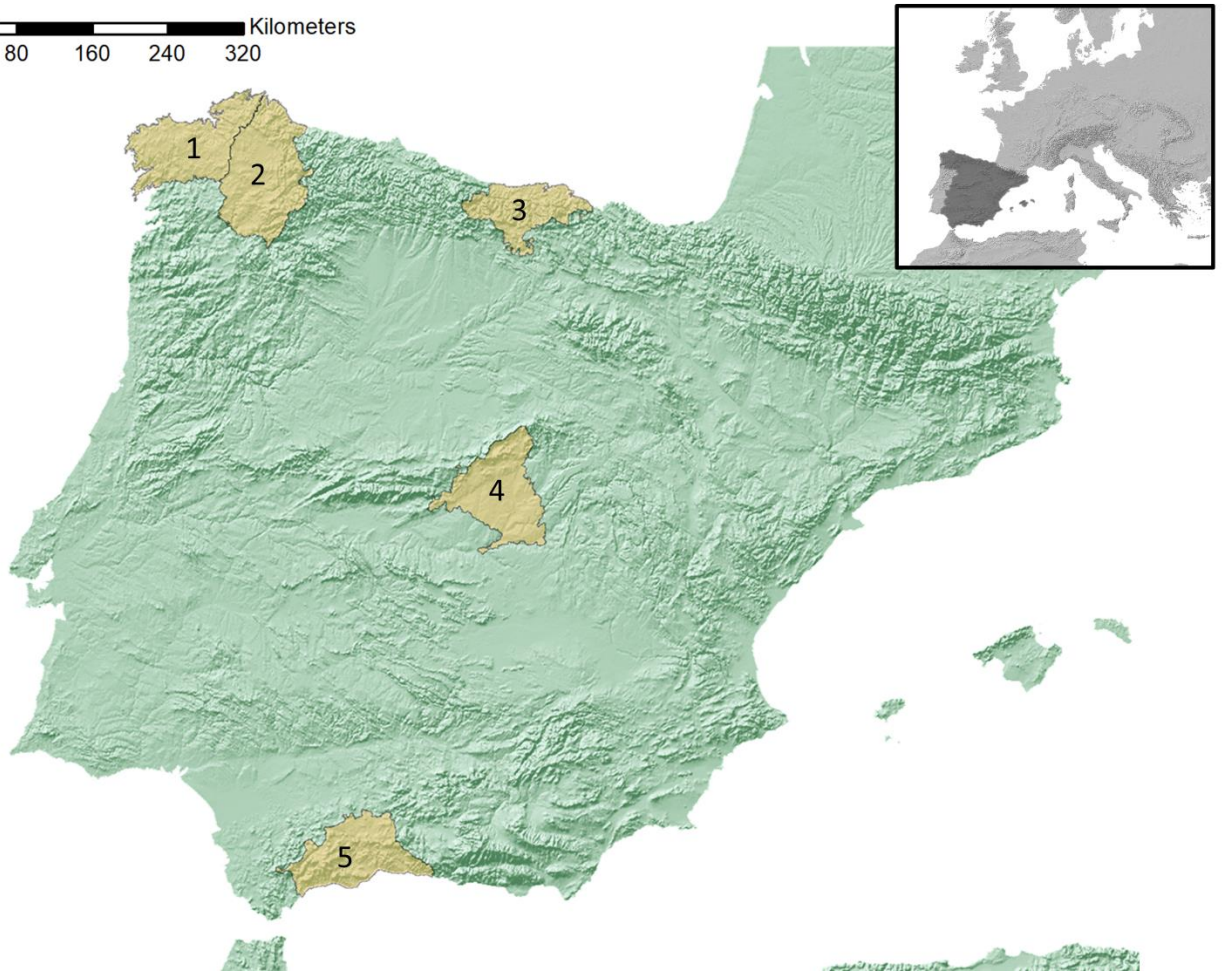
728

729

730

731

0 40 80 160 240 320 Kilometers



732

733 **Figure 2.** Map of Spanish areas that we sampled (both *Torymus* and cynipid species) to perform
734 the experiments in this article. 1) A Coruña, 2) Lugo (1 and 2 belonging to Galicia), 3)
735 Cantabria, 4) Madrid, 5) Málaga (belonging to Andalusia).

736

737

738

739

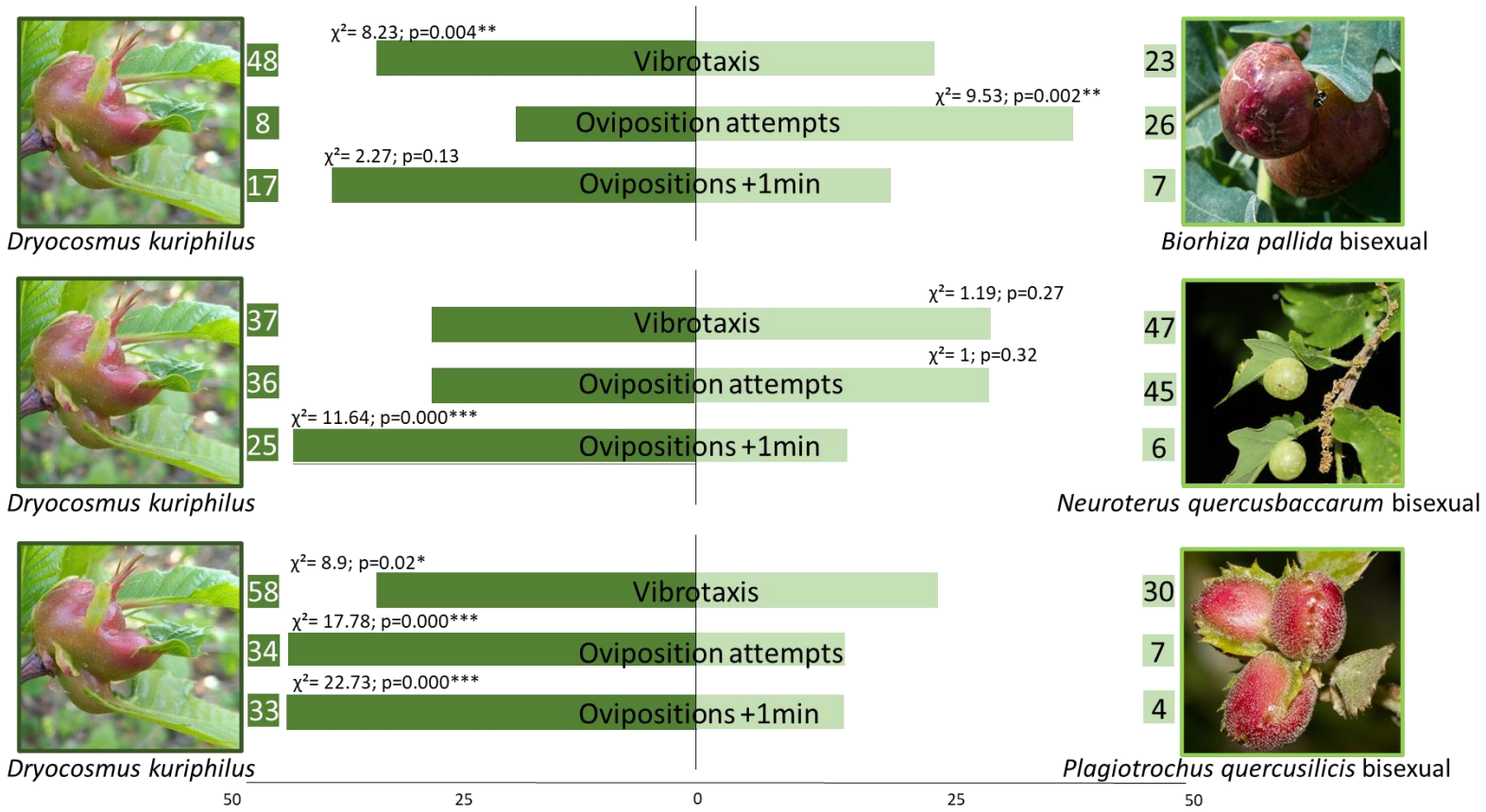
740
741
742
743
744
745
746
747
748
749
750
751
752
753
754
755
756
757
758
759
760
761
762
763
764
765
766
767
768
769
770
771
772
773
774
775



Figure 3. Photographs of bagging releases of *Torymus sinensis* in infested chestnut branches with *D. kuriphilus* (A-B); an example of no choice oviposition tests (NCOT) of Petri dish with *Neuroterus tricolor* (C); females of *T. sinensis* ovipositing on *D. kuriphilus* galls in the COT and NCOT (D-F); females of *T. sinensis* ovipositing on oak galls of the sexual generations of *Plagiotrochus quercusilicis* (G), *Biorhiza pallida* (H), *Neuroterus quercusbaccarum* (I) and *Trigonaspis* sp. (J) in the COT and NCOT.

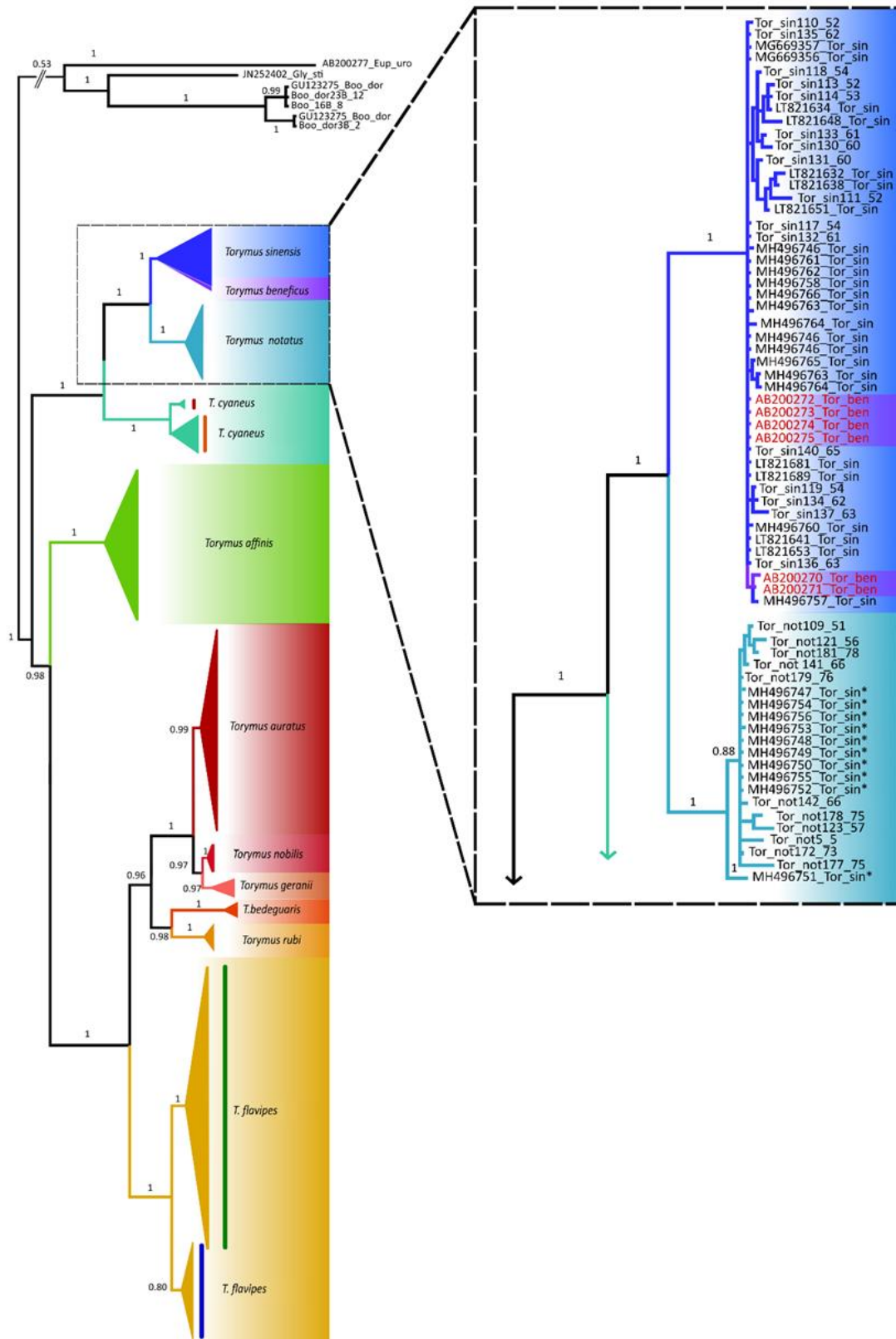
776

777



778 **Figure 4.** Differences in choice oviposition tests (COT) of *T. sinensis*, considering three
 779 behaviours: vibrotaxis, oviposition attempts and oviposition of more than one minute. Female
 780 individuals of *T. sinensis* were exposed to the galls of *D. kuriphilus* (target) and native species
 781 of Cynipidae (non-target; bisexual generations of *Biorhiza pallida*, *Neuroterus*
 782 *quercusbaccarum* and *Plagiotrochus quercusilicis*). Dark green bars indicate the predilection of
 783 *T. sinensis* to *D. kuriphilus* and pale green bars to native species of Cynipidae. Numbers in
 784 green squares indicate the total numbers of each behaviours of *T. sinensis*. Chi-square and
 785 signification results are shown (*<0.05; **<0.01; ***<0.001).

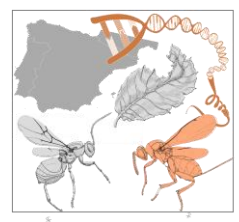
786



787 **Figure 5.** Left: Phylogram of *Tormyus* gen *ITS2* based on BEAST. If no support values are
 788 indicated, posterior probabilities < 0.95. Right: Phylogram focused on the clade of *T. notatus*,
 789 *T. sinensis* and *T. beneficus*. Sequences marked in red indicate those of *T. beneficus* that are
 790 inside the *T. sinensis* clade. Sequences marked with asterisks indicate those sequences identified
 791 as *T. sinensis* that are inside of the *T. notatus* clade.

793 **Figure 6.** Left: Phylogram of *Torymus* gen *coxI* based on BEAST. If no support values are
794 indicated, posterior probabilities < 0.95. Black numbers represent the posterior probability of
795 each branch, red numbers the age of the branch and white numbers along with the grey bars
796 represent the age range. Right: Phylogram focused on the clade of *T. notatus*, *T. sinensis* and *T.*
797 *beneficus*.

CAPÍTULO III: Filogenia de *T. sinensis* y los riesgos de su liberación en el medio natural

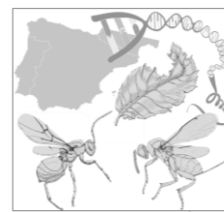


[...] Que cada adaptación evolutiva tiene que costar algo, midiendo esos costes en pérdida de oportunidades para hacer otras cosas, es tan cierto como esa joya de la sabiduría económica tradicional: "No existen las comidas gratis".

- Richard Dawkins - El Fenotipo Extendido



DISCUSIÓN GENERAL



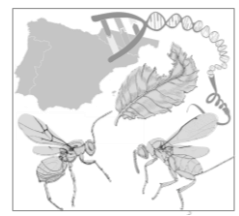
Esta tesis doctoral reúne el trabajo de 5 años, de más de 10 investigadores y el del autor del texto, Diego Gil Tapetado. En los ocho artículos que la integran, junto con los tres que la acompañan como anexos, se ha tratado de contribuir y aportar nuevos conocimientos acerca del trinomio *D. kuriphilus*-*T. sinensis*-especies nativas. A su vez, en esta tesis se puede configurar otro trinomio diferente: especie invasora-control biológico-conservación. Como se ha analizado y discutido a lo largo de esta tesis doctoral, existen numerosas incógnitas e incertidumbres acerca del control biológico de *D. kuriphilus* por *T. sinensis* sobre las que hemos intentado aportar nuevo conocimiento para intentar comprenderlas. Sin embargo, al igual que enuncia la frase inicial de esta tesis, el aporte de nuevo conocimiento ha traído nuevas serias dudas acerca de los riesgos de la introducción de *T. sinensis* en el medio natural y los problemas que puede conllevar en la conservación de las especies nativas.

En esta sección se van a tratar tres puntos diferentes: I. El rol real de *T. sinensis* como controlador biológico de *D. kuriphilus*; II. Agricultura vs. Conservación; y III. Recomendaciones para el futuro. En esta discusión general no se van a tratar los aspectos ya discutidos previamente en los artículos individuales de los anteriores capítulos, sino que se pretende ir más allá de estos contenidos. Aunque los tres temas han sido mencionados en dichos artículos, son consecuencia de una visión global del problema que aborda esta tesis doctoral y el avance del conocimiento que supone. Esta discusión general es una parte una reflexión final tras conocer todo lo anterior.

I. EL ROL REAL DE *T. SINENSIS* COMO CONTROLADOR BIOLÓGICO DE *D. KURIPHILUS*

Torymus sinensis está considerada como el enemigo natural de *D. kuriphilus* y ejerce una regulación poblacional efectiva sobre esta especie plaga mediante los habituales programas de control biológico (QUACCHIA *et al.*, 2008; BOROWIEC *et al.*, 2014; MATOŠEVIĆ *et al.*, 2015; FERRACINI *et al.*, 2019; CARDOSO *et al.*, 2021). Si bien es cierto que no en todas las áreas se asienta de la misma manera (NIEVES-ALDREY *et al.*, 2019), es probable que, a lo largo de los años, tras nuevas introducciones progresivas en el medio de más individuos, *T. sinensis* acabe ejerciendo su papel de controlador poblacional de *D. kuriphilus* de manera efectiva. Desde este punto de la gestión de la plaga de *D. kuriphilus*, así como del sector del castaño, esto representa, sin duda, una buena noticia. Sin embargo, aplicando una visión multidimensional, como la de la conservación de la naturaleza o la propia de la teoría del control biológico, existen aspectos de *T. sinensis* que producen estas incertidumbres y riesgos comentados anteriormente (ver página 152, *Filogenia de T. sinensis y los riesgos de su liberación en el medio natural*). Si bien, en esta tesis doctoral indicamos que el riesgo de hibridación entre especies nativas de *Torymus* es mínimo por los tiempos de divergencia entre *T. sinensis* y *T. notatus* (GIL-TAPETADO *et al.*, 2021e), la especie más cercana filogenéticamente, existen dos riesgos que pueden convertirse en un problema en un futuro cercano: el ataque de *T. sinensis* a las especies de Cynipidae nativas y la competencia interespecífica con las

DISCUSIÓN GENERAL



especies de parasitoides también nativas. El primero de ellos es explorado en esta tesis doctoral, indicando, al igual que FERRACINI *et al.* (2015) que *T. sinensis* es capaz de parasitar a especies de Cynipidae nativas. Estas especies parasitadas no inducen agallas en *Castanea* (sólo *D. kuriphilus* lo hace en el Paleártico occidental), sino en diferentes especies de *Quercus*. Este hecho es análogo (aunque invertido) con el reclutamiento de parasitoides nativos por parte de *D. kuriphilus*, es decir, las especies clasificadas como generalistas que forman parte de la comunidad de gallícolas de *Quercus* pueden pasar a las de *Castanea* de *D. kuriphilus*, tanto como *T. sinensis* puede pasar de *D. kuriphilus* a formar parte de la comunidad de gallícolas de *Quercus* (FERRACINI *et al.*, 2015; GIL-TAPETADO *et al.*, no publicado). Esto no quiere decir que *T. sinensis* sea una especie generalista y que pueda atacar a todo tipo de especies nativas de Cynipidae, sino que tiene un rango de hospedador más amplio del que *a priori* tiene descrito. Por otro lado, *Torymus sinensis* es una especie que tiene una fenología ligada a la formación de las agallas a principio de primavera, emergiendo de agallas viejas y lignificadas tras pasar el invierno en ellas (por ello está descrita como parte de la subcomunidad invernante de *D. kuriphilus*) (KOS *et al.*, 2015; GIL-TAPETADO *et al.*, 2021b). Son las agallas de Cynipidae nativos presentes en el Paleártico occidental que se forman a principios de primavera, como las de la generación bisexuada de *A. curvator*, *P. quercusaustralis*, *P. australis* o *B. pallida*, las que están siendo precisamente atacadas por *T. sinensis*. Analizando la morfología de estas agallas y comparándolas con las de *D. kuriphilus*, se puede observar que existen similitudes físicas entre ellas, siendo por un lado simples, con forma de ensanchamiento semiesférico, sin presencia de estructuras antiparasitoides ni lignificación durante el desarrollo del cinípido y presentes dentro de las hojas de las plantas hospedadoras (en *A. curvator*, *P. quercusaustralis*, *P. australis* y las foliares de *D. kuriphilus*) o formando un nodo terminal (en *B. pallida* y las de brote de *D. kuriphilus*) (Figura 31).



Figura 31: Agallas foliares. De izquierda a derecha: Agallas de *D. kuriphilus*, *A. curvator* y *P. australis*. Autores de las fotografías: Diego Gil Tapetado y Jordi Clavell.

Estas agallas comparten morfología externa y únicamente se diferencian por la planta hospedadora, aunque éstas son de la familia *Fagaceae* y filogenéticamente cercanas. Por ello, considerando además la hipótesis del ‘*ecological fitting*’ (AGOSTA *et al.*, 2010) y el ‘*Stockholm paradigm*’ (BROOKS *et al.*, 2019) (i.e: las especies poseen y adquieren características directamente relacionadas con su zona nativa

DISCUSIÓN GENERAL



y se han adaptado a las condiciones de ésta, pero que pueden servirles en otras zonas o condiciones diferentes a las nativas/originales de la misma forma o incluso más eficientemente), es muy posible que *T. sinensis* no sea una especie monófaga de *D. kuriphilus*, sino que realmente posea un “nicho de parasitación”. Éste puede ser definido como “agallas en fagáceas que se desarrollan a principio de primavera con morfología simple presentes en hojas o en brotes”. Este “nicho de parasitación” también lo poseen otras especies de parasitoides nativas del Paleártico occidental, como *T. notatus*, *A. bicolor*, *A. balani* o *A. obscuripes*, por lo que *a priori* parecen ser ecológicamente análogas, al compartir la mayor parte de su rol en las comunidades (nicho eltoniano) (GIL-TAPETADO *et al.*, 2021b). Estas especies nativas invernantes parasitan tanto a *A. curvator*, a *P. quercusilicis* y a *P. australis* (ASKEW *et al.*, 2013), como a *D. kuriphilus*. Siguiendo la hipótesis del ‘*ecological fitting*’, si *T. sinensis* está adaptada en China a este “nicho de parasitación”, al ser introducida en otro territorio, toda agalla de Cynipidae nativo que siga esta definición puede ser susceptible de ser atacada por este parasitoide. Lo mismo se aplica a *T. notatus*, una especie adaptada a “agallas en fagáceas que se desarrollan a principio de primavera con morfología simple presentes en hojas o en brotes”, en este caso en *Quercus*, pero que tras la introducción de *D. kuriphilus* en los castaños, también ha sido capaz de parasitarla. Este mecanismo evolutivo está presente en el género *Torymus* asociado a Cynipidae y es *a priori* importante en la historia natural de este grupo (GIL-TAPETADO *et al.*, 2021e).

Una de las incógnitas acerca de *T. sinensis* es el verdadero rango de hospedador de esta especie, ya que, en China, su zona de rango nativo, la entomofauna de Cynipidae es altamente desconocida, hasta niveles de déficit de conocimiento linneano. Para ilustrar esto, fue en 2019 cuando se iniciaron los estudios de esta fauna gallícola china, al viajar a esta zona un grupo de investigadores europeos (entre ellos el Dr. José Luis Nieves Aldrey y el Dr. Graham N. Stone). Esto supone que existe una gran brecha de conocimiento entre el conocimiento aplicado con *T. sinensis* y el conocimiento básico necesario para comprender y minimizar todos los posibles riesgos acerca de su suelta. Por ejemplo, la elección de *T. sinensis* como especie controladora de la avispa del castaño se basó en el estudio de únicamente la comunidad parasitoide china asociada a *D. kuriphilus*. La selección de *T. sinensis* como enemigo natural de *D. kuriphilus* se basó en que ésta era la especie más abundante en los muestreos y esto no tiene por qué significar necesariamente que sea una especie monófaga, especialista o, en definitiva, el enemigo natural específico de la avispa del castaño. Al no conocerse las comunidades biológicas del resto de Cynipidae nativos en *Castanea* o en otros géneros de *Fagaceae* en China, no podemos asegurar que *T. sinensis* no parasite a otras especies gallícolas. Los estudios preliminares de las especies de Cynipidae en China muestran que muchas de estas agallas poseen una morfología externa simple y que, siguiendo lo anteriormente expuesto, es posible que *T. sinensis* pueda ser capaz de parasitarlas. De hecho, recientes investigaciones aún sin publicar desvelan que *T. sinensis* sí que está asociada a especies de *Quercus* en China (Graham N. Stone, comunicación personal), por lo que el rango de hospedador de esta especie no es tan específico como *a priori* estaba descrito.

DISCUSIÓN GENERAL



Considerando estas observaciones, lo más adecuado debería haber sido explorar todas las comunidades de Cynipidae nativas de China y estudiar las composiciones específicas de cada comunidad gallícola, observando qué especies comparten entre ellas y haber seleccionado entre las especies que parasiten *D. kuriphilus* a aquella más exclusiva y, por lo tanto, enemigo natural específico de la avispa del castaño. Esta especie exclusiva de las comunidades de *D. kuriphilus* sí que poseería unas características que la podrían definir como un enemigo natural específico que regulara las poblaciones de la avispa del castaño a vez que sea incapaz de parasitar a la fauna nativa de Cynipidae. También es muy probable que no exista una especie con estas características dentro de las comunidades nativas de *D. kuriphilus* y que sean todas polífagas. Sin embargo, esto debería analizarse y al menos asegurar que la elección de *T. sinensis* como mejor especie controladora biológica de la avispa del castaño es la elección más correcta dentro de todas las posibilidades existentes.

Pese a esto, con este conocimiento se puede plantear la pregunta de cuál es el verdadero rol de *T. sinensis* con *D. kuriphilus*, si bien este parasitoide regula sus poblaciones con diferente eficacia según circunstancias. Es posible que puedan estar ocurriendo dos sucesos diferentes que estén sesgando también la concepción del rango de hospedador de *T. sinensis*:

1) Que se esté observando la regulación de *D. kuriphilus*, porque efectivamente ésta es la especie más abundante en el medio: al producirse superpoblaciones y plagas de *D. kuriphilus*, en el momento actual, la probabilidad de encuentro de estas agallas en relación con las agallas de Cynipidae nativas por *T. sinensis* es mayor que la probabilidad de encuentro de las agallas de Cynipidae nativas en *Quercus*. Esto podría ser altamente beneficioso en sistemas poco diversos o en zonas de monocultivos de castaños, donde haya incidido la plaga de *D. kuriphilus* y no existan masas de *Quercus* cercanos, aunque al menos en España, estas zonas no son especialmente destacables. Esta mayor probabilidad de encuentro de agallas de *D. kuriphilus* depende del concepto de disponibilidad de recurso, puesto que, si es el más abundante, será el más explotado por los consumidores. Sin embargo, esto entra en conflicto con el hecho de que sea un buen controlador biológico, ya que, si *T. sinensis* regula de forma efectiva a *D. kuriphilus* y se reduce su población, su disponibilidad bajará, equiparándose a la probabilidad de encontrar agallas de especies nativas en *Quercus*. Además, al existir una alta disponibilidad de recursos, las poblaciones de *T. sinensis* pueden llegar a ser también grandes, pudiendo llegar a ser reclutados por las agallas de Cynipidae nativas en altas cantidades, ejerciendo de regulador poblacional no objetivo y desplazando a las especies de parasitoides nativas, lo que sería un gran problema de conservación del patrimonio natural.

2) Que no se esté observando el efecto de la regulación de *T. sinensis* sobre los Cynipidae nativos. Los estudios de seguimiento de cómo está influyendo *T. sinensis* en las comunidades biológicas de las especies de Cynipidae nativas sobre *Quercus* cercanos o inmersos en las zonas de castaños invadidos por *D. kuriphilus* son limitados y no existen actualmente en la mayor parte del territorio (el único

DISCUSIÓN GENERAL



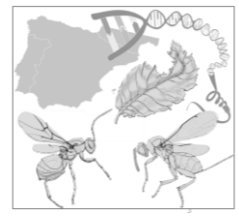
programa de seguimiento activo actualmente de *D. kuriphilus* de carácter científico-técnico es el de IFAPA-Churriana en Málaga). Este seguimiento de las comunidades de Cynipidae es relativamente sencillo de llevar a cabo siempre y cuando se disponga de instalaciones cercanas a las zonas de muestreo para almacenar las agallas destinadas a que emerjan los parasitoides de su interior, y, lo más importante, personal investigador y técnico que conozca y pueda identificar las especies, tanto de Cynipidae como de sus parasitoides emergidos. Este seguimiento en el campo es probablemente la única manera de conocer el alcance de la introducción de *T. sinensis* en las comunidades de Cynipidae nativas y observar directamente su impacto sobre ellas. Los análisis en laboratorio también son importantes para apoyar estos estudios *in situ*, pero son estos últimos los que pueden ofrecer una visión más realista, al estar realizados sobre el mismo territorio, disminuyendo los costes de transporte en beneficio de una mayor cantidad de observaciones más continuadas.

Considerando todo esto, también cabe pensar hasta qué punto la liberación de *T. sinensis* por la mayoría de los sistemas de castaños de todo el mundo ha sido segura para la fauna autóctona y cuántos parámetros pros y contras y escenarios se habían contemplado antes de su liberación. Trabajos como el de GIBBS *et al.* (2011), ya ponían de manifiesto los riesgos de la liberación de esta especie en el medio y que no fueron estudiados en profundidad antes de los programas de control biológico de *T. sinensis*. Algunos de estos riesgos se han convertido en amenazas como el rango de hospedador más amplio de *T. sinensis* (FERRACINI *et al.*, 2015; GIL-TAPETADO *et al.*, no publicado) o su alta capacidad de dispersión (NIEVES-ALDREY *et al.*, 2019), y, por tanto, su alta dificultad para ser extraída del medio. Previamente a GIL-TAPETADO *et al.*, 2021e no existía un trabajo previo y base crítica que recogiera la historia natural de los *Torymus* asociados a Cynipidae, que indicara que realmente no hay especies que sean altamente especialistas en este grupo. Incluso *T. affinis*, una especie que muy probablemente ha coevolucionado con *B. pallida*, puede ser capaz de parasitar otras agallas, como las de *A. curvator*, poniendo de manifiesto que el riesgo de que las especies de *Torymus* asociadas a Cynipidae no sean especies con un rango de hospedador monófago. En este trabajo se concluye que no existe una especialización por una especie sino por una morfología o tipo de agalla específico, lo que hemos denominado previamente “nicho de parasitación”. Con esto, se quiere destacar la importancia de la ciencia básica y la importancia de la generación de conocimiento para eliminar todo tipo de déficit (HORTAL *et al.*, 2015) antes de tomar medidas de carácter aplicado. Sólo con un alto conocimiento de las especies se podrán aplicar medidas eficaces en el medio sin riesgos de amenazas para nuestro patrimonio natural.

II. AGRICULTURA VS. CONSERVACIÓN

Esta tesis doctoral plantea un importante debate acerca de dos posturas muchas veces contrarias a la hora de entender el medio natural: la agricultura, enfocada en la explotación de los recursos vegetales y la mejora de los cultivos para el aprovechamiento humano; y la conservación, enfocada en la protección

DISCUSIÓN GENERAL



de los recursos naturales (entre ellos los vegetales y animales) para preservar la naturaleza y el patrimonio que representa. Este debate está presente y se puede visualizar en la suelta de *T. sinensis* en el medio natural como agente de control biológico y los riesgos que presenta contra la fauna autóctona.

Considerando los riesgos que comprende la liberación de *T. sinensis* (GIBBS *et al.*, 2011) y que estos programas de control han sido implementados antes de realizar los estudios que evalúan esos riesgos, como FERRACINI *et al.* (2015) sobre el rango de hospedador, o GIL-TAPETADO *et al.* (2021e) sobre la hibridación con las especies de *Torymus* nativas, el mejor escenario posible con *T. sinensis* es aquel en el que se establezca una densodependencia con *D. kuriphilus*, disminuyendo las poblaciones de este parasitoide con las de su especie plaga objetivo. Sin embargo, al obtener los indicios del verdadero “nicho de parasitación” de *T. sinensis* y reconocer que no es realmente una especie recurso-dependiente, se puede plantear que la medida de la introducción de este parasitoide foráneo en nuestros territorios beneficia a la agricultura, pero perjudica a la conservación.

El uso e introducción de una especie foránea en una zona fuera de su rango de distribución autóctona es muchas veces problemática, ya que su comportamiento puede acabar siendo invasor, como una plaga o acabar impactando negativamente en las especies autóctonas. Una de las diferencias principales en estas introducciones de especies foráneas es si han sido accidentales, siendo las principales y vinculadas a las problemáticas de plagas y de especies exóticas invasoras; o, intencionadas, siendo ejemplos de ello, el mascotismo o el control biológico. El control biológico es una gran alternativa al control químico tradicional y es *a priori* menos perjudicial para la fauna no objetivo, estando directamente relacionado con resolver un problema económico y de viabilidad para la actividad agrícola y silvícola. Sin embargo, como se ha mencionado previamente (ver página 56, *Control biológico*), este control biológico no siempre es acertado, normalmente debido a que no se han realizado suficientes estudios previos acerca de los posibles riesgos que supone la entrada de una nueva especie foránea en un sistema natural. En los ejemplos mencionados, *H. axyridis* y *Z. renardii*, son dos especies empleadas como controladores biológicos que han resultado fallidas y nefastas, puesto que, si bien poseen respuesta contra las plagas (LICCARDO *et al.*, 2020), han resultado claramente perjudiciales para la fauna nativa: la primera especie compite con las especies de coccinélidos autóctonos, además de producir alergias a humanos, y la segunda es altamente generalista, causa picaduras en el ser humano y su población ha aumentado considerablemente en las zonas que ha colonizado. Por ello, la primera especie ha pasado de ser una especie controladora biológica a estar contemplada en el CEEEI, y la segunda debería entrar en proceso de inclusión. De confirmarse el impacto negativo de *T. sinensis* en la fauna nativa, debería considerarse un debate claro entre su uso como controlador biológico o contemplarse como una especie invasora más. Su inclusión en el catálogo CEEEI es poco probable, debido a su importancia comercial y económica, al demostrarse que su presencia reduce las poblaciones de *D. kuriphilus*, y es bastante posible que existan gobiernos autonómicos que se opongan a esta medida, al igual que ha ocurrido en el caso de los eucaliptos en España

DISCUSIÓN GENERAL

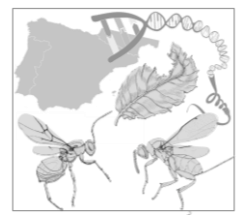


(LA VOZ DE GALICIA, 2020b). Teniendo en cuenta lo expuesto, debería de considerarse este caso como un ejemplo de cómo poder actuar frente a futuras plagas mediante el uso de una especie foránea como control biológico.

También existe un debate referido a esta dicotomía, y es el grado del intervencionismo humano en la naturaleza. Si bien existen pocos sistemas naturales en el planeta con los que el ser humano no haya interactuado, el tipo de impacto puede ser diferencial y gradual. También, considerando que la agricultura implica un grado de interacción profunda con el medio natural, pudiendo ser también gradual, entre extensivo o intensivo, la conservación de la naturaleza también lo puede ser por el tipo de acción que se emprenda. La conservación puede ser desde totalmente pasiva, hasta el punto de ignorar los medios naturales y dejar que éstos sigan su sucesión sin ningún tipo de intervención, a totalmente activos, invirtiendo recursos y fondos económicos en la realización de infraestructuras destinadas a la protección concreta de, por ejemplo, un organismo vivo o un paisaje determinado mediante la intervención directa. En el primer caso, incluso una omisión total de la relación entre el ser humano y el medio natural podría considerarse una conservación pasiva, como, por ejemplo, no tener la posibilidad de entrar ni realizar ninguna actividad dentro de ciertos territorios. De esta manera, todo lo que ocurra dentro de ese territorio será por la misma interacción de la naturaleza, desentendiéndonos de los sucesos internos de esta área y, por lo tanto, minimizando al máximo posible los posibles riesgos y posibles amenazas que podemos producir los seres humanos. Estas dinámicas poseen ciertos problemas asociados, como los efectos borde y la incidencia de las actividades humanas en ellos, o la posible no aplicación en muchos casos, como cuando sí que existe un aprovechamiento directo de los recursos. Poniendo el ejemplo de los castaños ibéricos infestados por *D. kuriphilus*, el dejar estos al libre albedrío sin intervención podría causar daños irreparables en los árboles y dejaría un vacío económico importante a las poblaciones humanas que aprovechan las castañas y la madera. Además, todos los castaños están protegidos por la Directiva Hábitats 92/43/CEE 9260 como “*Bosques de Castanea sativa*” (RUBIO, 2009), siendo un caso peculiar, al unirse en esta figura de protección tanto los intereses en conservación del patrimonio natural como los intereses de aprovechamiento en agricultura y silvicultura. Además, en este caso, la no intervención no es posible, ya que los castaños, de por sí, son árboles altamente utilizados por muchas poblaciones humanas con gran interés cultural. En este caso, es la conservación activa, la más habitual, la que se emplea en el caso de los castaños de *C. sativa*. Sin embargo, es bastante dudoso que la liberación de *T. sinensis* sea una acción de conservación para proteger a los castaños, y no únicamente una acción para paliar el problema económico que supone la plaga de *D. kuriphilus*.

Siguiendo este enfoque, en el que el castaño es tanto patrimonio natural, cultural como importante desde el punto de vista económico, cualquier acción que desempeñe su protección debería de ser válida, siendo *T. sinensis* una buena solución al problema de la plaga de *D. kuriphilus*. El verdadero problema es la conservación de las especies de Cynipidae nativas. Si la conservación de los castaños es

DISCUSIÓN GENERAL



importante por su papel en la economía, ¿no importan nada aquellas especies que no aporten beneficio económico? La importancia económica de las avispa de las agallas es mínima y su uso tradicional cada vez está más en desuso, pero por ello, ¿no merecen ninguna protección aquellas especies que no aporten directamente nada al desarrollo económico humano? Esta visión antropocentrista puede acabar reluciendo en el debate de agricultura vs. conservación en el ámbito del trinomio *D. kuriphilus*-*T. sinensis*-especies nativas o especie invasora-control biológico-conservación, considerando finalmente que el interés humano siempre prima por encima de cualquier otro posible interés. De ser así, las especies se convierten únicamente en organismos servilistas a los designios de las acciones humanas, no importando su interés intrínseco como patrimonio natural, así como de toda la humanidad. La conservación, al igual que la agricultura, es una actividad humana, en la que nosotros somos los responsables directos. Por ello, en muchos ámbitos cada vez hay más aceptación en denominar a la era actual el Antropoceno (CRUTZEN, 2006; LEWIS & MASLIN, 2015).

El interés y la importancia intrínseca de todas las especies vivientes y extintas reside en que cada una de ellas ha sido una solución de la vida a los problemas que representa el ambiente y sus condiciones abióticas, con diferentes grados de hostilidad y adversidades. Cada especie representa una línea de organismos que han sobrevivido hasta ahora, o hasta un tiempo determinado, durante millones de años, siendo seleccionados aquellos ejemplares mejores adaptados a sus condiciones ambientales coetáneas, mediante una gran cantidad de generaciones de individuos que han nacido, se han desarrollado, se han reproducido y han muerto; y que han podido servir de alimento a otros organismos, tanto como ellos han usado a otros para su sustento. Las labores de conservación deberían de ser iguales para todas las especies vulnerables con independencia de su valor añadido para las actividades humanas, aunque los fondos destinados a estas acciones sean limitados. Sin embargo, pese a conocer las limitaciones económicas, caer en la trampa de “*sólo protejo aquello que vale dinero*” va en contra de las premisas anteriormente citadas. Por ejemplo, en el caso de las avispa de las agallas, estos insectos han conseguido un mecanismo a través de millones de años de evolución que les permite inducir nuevas estructuras a las plantas, con las que protegen y alimentan a sus larvas, haciendo este proceso indispensable para su supervivencia. Este estilo de vida debería de ser ya lo suficientemente interesante desde el punto de vista de la Biología y el naturalista como para darle un valor añadido para su conservación. También, desde un punto de vista más humanista, unos ciclos de vida tan complejo como los de Cynipidae y sus comunidades biológicas (ver página 15, *Inductores de agallas y familia Cynipidae*) son verdaderamente extraordinarios y fascinantes como para suscitar un interés para su protección por el ser humano. Por eso, insistimos en que cualquier especie merece ser conservada, teniendo o no, ningún valor añadido, más allá de coexistir con nosotros en este tiempo concreto del planeta Tierra.

DISCUSIÓN GENERAL



III. RECOMENDACIONES PARA EL FUTURO.

Como se ha comentado previamente, esta tesis se ha basado en los dos trinomios *D. kuriphilus*-*T. sinensis*-especies nativas y especie invasora-control biológico-conservación. La relación entre estos componentes puede ser considerada desde dos puntos de vista: 1) el concreto del caso; y 2) como ejemplo de interacciones sociales, económicas y científicas, de una problemática que puede volver a ocurrir.

1) Las recomendaciones para el futuro en este caso concreto no pueden ser tomadas sin conocer el escenario actual de la distribución de *D. kuriphilus* y *T. sinensis* en la península ibérica (GIL-TAPETADO *et al.*, 2018; 2020; NIEVES-ALDREY *et al.*, 2019). El escenario actual es irreparable y muy probablemente los impactos y perturbaciones en el medio han causado la imposibilidad del retorno a las condiciones previas a la invasión de la avispa del castaño. Aun así, se puede seguir analizando cómo ha sido este caso en concreto y, de esta forma, poder pensar en lo que se debería haber hecho en estadios o escenarios previos al actual.

La especie *D. kuriphilus* está ampliamente distribuida por la inmensa mayoría de los castaños y cultivos de castaña españoles y, en la actualidad, limitar actualmente su dispersión resulta inviable. En GIL-TAPETADO *et al.*, (2018; 2021a), así como en GILIOLI *et al.*, (2013) se resalta la importancia de la limitación de la dispersión indirecta por movimientos de castaños infestados (LDD, *long dispersal distance*, en inglés). Esta LDD, a diferencia de la dispersión natural intrínseca de *D. kuriphilus*, es debida totalmente a las actividades humanas, y puede ser controlada y regulada mediante legislación. Las medidas de control de esta dispersión artificial deberían estar enfocadas a prohibir o restringir la movilización de los castaños por diferentes partes de la península ibérica y a su importación desde otros países. Únicamente la parada de movilización y la aplicación de cuarentenas de un año en su área de origen podrían haber sido medidas suficientes para detectar la presencia de castaños infestados por *D. kuriphilus*, que no hubieran sido aptos para su venta y transporte. De esta manera, al hacerse una cuarentena anual, estos cinípidos realizarían su ciclo vital, detectándose las agallas en las plantas infestadas, pudiendo retirarse a tiempo en estas áreas de cuarentena, o incluso descartando los árboles con altos niveles de infestación. Esta labor podría ser realizada en los viveros que venden los castaños, donde además podría aplicarse una normativa con permisos de movilidad de castaños certificados con ausencia de *D. kuriphilus*. De esta manera, se aplicarían sanciones económicas de disuasión para poder controlar estos movimientos de castaños sin comprobar si poseen *D. kuriphilus*, lo que habría evitado su LDD por todo el territorio español. Estas sanciones deberían haberse aplicado según las normativas presentes de sanidad vegetal o implementarse nuevas que restringieran estos movimientos de material vegetal infestado, sancionando a los dueños de las plantas afectadas o a los viveros de procedencia. Esta es una dura medida contra los propietarios, pero entendiendo cómo se ha dispersado *D. kuriphilus*, no cabe duda de que la inmensa mayoría de focos aislados han sido provocados por movimientos de castaños, que han sido transportados por un propietario concreto. Esos

DISCUSIÓN GENERAL



propietarios que no han revisado si sus castaños estaban infestados, son los responsables directos de la dispersión de *D. kuriphilus* por LDD en un nuevo territorio. Por ello, como responsables, deberían ser el foco de atención para estas sanciones. Sin embargo, esto sólo debería ser así, siempre y cuando los viveros que venden los castaños también hubieran aplicado unas medidas concretas de sanidad vegetal para la venta de estas plantas o material vegetal. Si un propietario conocedor de las normativas de movimiento de plantas infestadas es engañado, el máximo responsable del foco de *D. kuriphilus* debería ser el viverista que ha engañado al comprador, aplicándose entonces la sanción económica disuasoria al vivero. La redacción, detalles y cómo aplicar estas medidas, distan mucho de esta tesis doctoral y de los conocimientos legislativos y judiciales del presente doctorando, pero se quiere hacer hincapié en la responsabilidad que los propietarios deberían tener del material vegetal que están movilizando desde diferentes partes de España y del mundo, ya que pueden contener especies potencialmente invasoras y plagas muy perjudiciales para la biodiversidad autóctona. Son los propietarios de los castaños los que han producido la dispersión de *D. kuriphilus* por gran parte del mundo y esto debe de ser tenido en cuenta, ya que esto denota también otras problemáticas asociadas al problema del *D. kuriphilus*, como son la falta de comunicación entre el mundo de la administración y de la ciencia con el mundo rural, explicado claramente sobre la base de las consecuencias de la entrada de una especie plaga en cultivos de interés local en determinadas áreas del territorio nacional. En este apartado no se pretende señalar como culpable a un sector concreto de la población, pero sí se pretende resaltar las responsabilidades reales y en la falta de comunicación directa y control de la administración pública en la regulación del transporte de castaños infestados dentro y desde fuera de los límites nacionales.

Respecto a *T. sinensis*, seguimos defendiendo que la liberalización de su suelta es la más acertada, no por estar de acuerdo con su aplicación como controlador biológico sin haberse realizado todas las pruebas pertinentes para conocer sus riesgos ambientales (GIBBS *et al.*, 2011; FERRACINI *et al.*, 2015; GIL-TAPETADO *et al.*, 2021; no publicado), sino por la poca utilidad de las restricciones que se estaban realizando. Tanto las sueltas experimentales masivas realizadas por algunas Comunidades Autónomas, como los individuos encontrados en zonas probablemente debidos a sueltas ilegales (GIL-TAPETADO *et al.*, 2020), como la entrada por dispersión natural desde Francia (NIEVES-ALDREY *et al.*, 2019), suponen circunstancias que ya de por sí imposibilitan la regulación de la presencia de *T. sinensis* en España. Incluso, antes de la liberalización de *T. sinensis* en España, ya existían poblaciones asentadas de individuos en diferentes regiones, como Málaga o Navarra (y probablemente Cataluña) y otras con proyectos de introducción anual de esta especie como controladora biológica, como Galicia, Málaga o El Bierzo. La presencia de *T. sinensis* en España era inevitable y lo más probable es que ya será permanente. Sin embargo, al igual que en el caso de *D. kuriphilus*, se puede analizar y realizar comentarios acerca de su introducción en escenarios previos al actual. Uno de los aspectos más importantes acerca de la entrada de *T. sinensis* como controlador biológico sin riesgos era conocer correctamente mediante estudios científicos cómo se comporta esta especie en su área nativa. Como se comentó en el primer apartado de la

DISCUSIÓN GENERAL

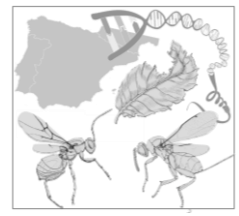


discusión (ver página 216), conocer el papel real de esta especie posiblemente hubiera supuesto un cambio respecto a las condiciones iniciales de sus sueltas en zonas alóctonas. La realización de estudios previos a la introducción de cualquier especie foránea, aunque sea *a priori* beneficiosa para las actividades humanas o el medio natural, es de vital importancia para conocer las repercusiones de dicha introducción en un medio diferente al que ha estado adaptada y conviviendo durante millones de años. Con esto, pueden existir dos posturas diferentes, volviendo a pensar en la dicotomía entre la agricultura y la conservación (ver página 220), posiciones más liberales favoreciendo a la agricultura a base de la introducción de una especie foránea sin importar las especies nativas y el patrimonio natural, o la prohibición de la entrada de cualquier especie foránea, sin importar los posibles beneficios socioeconómicos que conlleva el desarrollo de la actividad agrícola en un territorio.

Todos los estudios de esta tesis doctoral deberían de haberse realizado previamente a cualquier tipo de suelta de *T. sinensis* en España, así como cualquier introducción de una especie foránea debería hacerse posteriormente a su evaluación exhaustiva como especie inocua para el medio natural. Sin embargo, las presiones y preocupaciones del sector que está sufriendo la plaga, los productores de castaño, hacían necesario cuanto antes explorar posibles soluciones para la plaga de *D. kuriphilus* y *T. sinensis* estaba designada como una solución infalible y, hasta cierto punto, “prodigiosa”. De nuevo, en este caso se puede observar otra mala comunicación entre la administración y ciencia con el mundo rural, puesto que en muchos casos se ha llegado a desconocer realmente qué era la especie *T. sinensis* (e. g: LAVOZDEGALICIA, 2019), llegando a informar de que es un depredador o que es posible su suelta preventiva antes de la presencia de *D. kuriphilus* en la zona, siendo aspectos incorrectos desde el punto de vista de la biología del parasitoide. Además, las campañas de buena publicidad acerca de *T. sinensis* pueden también relacionarse con un posible conflicto de intereses. *A priori*, puede resultar extraño que científicos que han estudiado y recomendado la suelta de *T. sinensis* posteriormente estén relacionados con empresas de cría y producción en cautividad de esta especie como control biológico para su venta. Todo este marco, unido a condiciones políticas de descontento de la población y de un sector económico que puede ser localmente fuerte ha influido para que los trabajos científicos no hayan podido llevarse a cabo en plazos determinados y que no hayan estado sincronizados con los tiempos reales de gestión del territorio. Además, cada vez existe una mayor burocracia relacionada con la realización de proyectos científicos y de contratación, que asfixia, que implica realizar muchos trámites, y es inflexible y contraria a una realidad cambiante y dinámica, siendo también espontáneas y muchas veces inesperadas, las problemáticas relacionadas con especies invasoras y plagas.

Por último, conocer nuestro medio natural y las especies que lo representan también resulta de vital importancia para poder saber en profundidad cómo actuar ante problemáticas de control de plagas y de conservación del medio natural. En el caso de *D. kuriphilus*-*T. sinensis*-especies nativas, resulta flagrante el error de no haber estudiado en profundidad la fauna nativa de *Torymus*, puesto que ya existía

DISCUSIÓN GENERAL



en las zonas de infestación de *D. kuriphilus* una especie similar a *T. sinensis*, *T. notatus*, con un nicho de parasitación y biología análogos. Esta especie pudo haber sido considerada como una alternativa autóctona a *T. sinensis* que podría haber sido estudiada como posible control biológico de *D. kuriphilus* sin la introducción de ninguna nueva especie alóctona. El control biológico por conservación de especies hubiera sido una herramienta por explorar al incrementar el número de *T. notatus* en el medio. Aunque probablemente también hubiera habido problemas de conservación de la fauna de Cynipidae y el desplazamiento de otras especies de parasitoides nativas, al menos, estos daños serían causados por una especie autóctona y éstos podrían reducirse.

2) Como ejemplo de caso de trinomio especie invasora-control biológico-conservación, conocer este caso, puede servir para que no vuelva a ocurrir en futuras invasiones biológicas o problemáticas relacionadas con la introducción de especies foráneas. *A priori*, antes de recurrir a cualquier solución de tipo curativo, deberían establecerse medidas de tipo preventivo, como ha podido ser la cuarentena de castaños y de material vegetal derivado de éste. La cuarentena y control de mercancías de tipo biológico es fundamental para evitar la entrada de especies foráneas con posible carácter invasor y, aunque es costoso, siempre podrá ser más rentable que afrontar las pérdidas producidas por la plaga y las medidas de control curativas. Esto sería un cambio de visión cortoplacista y reaccionario a uno más largoplacista y planificado. También, obtener una red de comunicación internacional científico-técnica basada en plagas y especies invasoras, puede ser beneficioso para preparar y advertir a otros países y territorios de la posible entrada y problemática de una especie foránea. Conocer los casos de lo ocurrido en otros territorios puede ayudar a establecer medidas de prevención para evitar o para disminuir la colonización de una especie invasora, minimizando las amenazas y los daños ocasionados por éstas, a la vez que se establecen relaciones internacionales para el freno de una de las principales amenazas globales para la biodiversidad (IPBES, 2019).

Es importante estudiar siempre antes de la suelta en el medio natural a la especie que va a actuar como controladora biológica como si fuera un modelo estándar, conociendo de manera profunda una serie de características de su biología (como las presentadas en FLINT & DREISTADT, 1998) para evitar problemas derivados de esta introducción y, a su vez, optimizar los programas de control biológico. Los estudios realizados de GIL-TAPETADO *et al.*, (2021c, 2021d) corroboran que es importante considerar las temperaturas, las precipitaciones y los tamaños de las agallas como factores determinantes para una correcta optimización de las sueltas de *T. sinensis* y que éstas sean así más efectivas contra *D. kuriphilus*. También, como se ha repetido varias veces a lo largo de esta tesis, conocer el rol real de una especie para saber si es un enemigo natural monófago o no de la especie plaga es fundamental para establecerla como un control biológico eficaz y con un mínimo impacto negativo en conservación del medio. Como se ha comentado antes, no es algo novedoso que una especie tratada *a priori* como control biológico y que se ha introducido en un medio foráneo como tal, pase a ser considerada como especie invasora y como

DISCUSIÓN GENERAL



problemática para la conservación del patrimonio natural (e. g: *H. axyridis*, ROY *et al.*, 2006, 2016). Al tratarse de especies foráneas, no conocemos realmente cómo responderán en un medio natural totalmente nuevo para ellas y que puedan llegar a comportarse como especies invasoras depende de muchos factores, que muchas veces pueden estar relacionados con las características buscadas en el control biológico. Por ejemplo, el grado de asentamiento puede ser beneficioso y perjudicial a la vez, ya que, si un control biológico se establece, puede significar su eficacia contra la especie plaga, pero también puede ser perjudicial en el caso de que provoque daños al medio natural.

En definitiva, si bien el caso de *D. kuriphilus*-*T. sinensis*-especies nativas parece hoy en día irreversible, puede servir como un ejemplo de gestión multidisciplinar para otros casos en el futuro. También, considerando el mundo cada vez más globalizado, las problemáticas asociadas a especies invasoras y plagas asociadas serán cada vez más habituales, a la vez que éstas estarán vinculadas de forma estrecha con conflictos a nivel económico, administrativo y social. Por ello, la importancia de esta tesis doctoral reside en exponer y aumentar el conocimiento acerca de un caso concreto y real, a nivel nacional, en el que únicamente mediante múltiples enfoques, se pueden mostrar y dibujar posibles líneas de actuación sobre cómo actuar ante estos problemas para la economía y, sobre todo, en la opinión del autor de esta tesis doctoral, para la conservación de nuestra fauna y flora, que representa nuestro patrimonio natural y territorial.

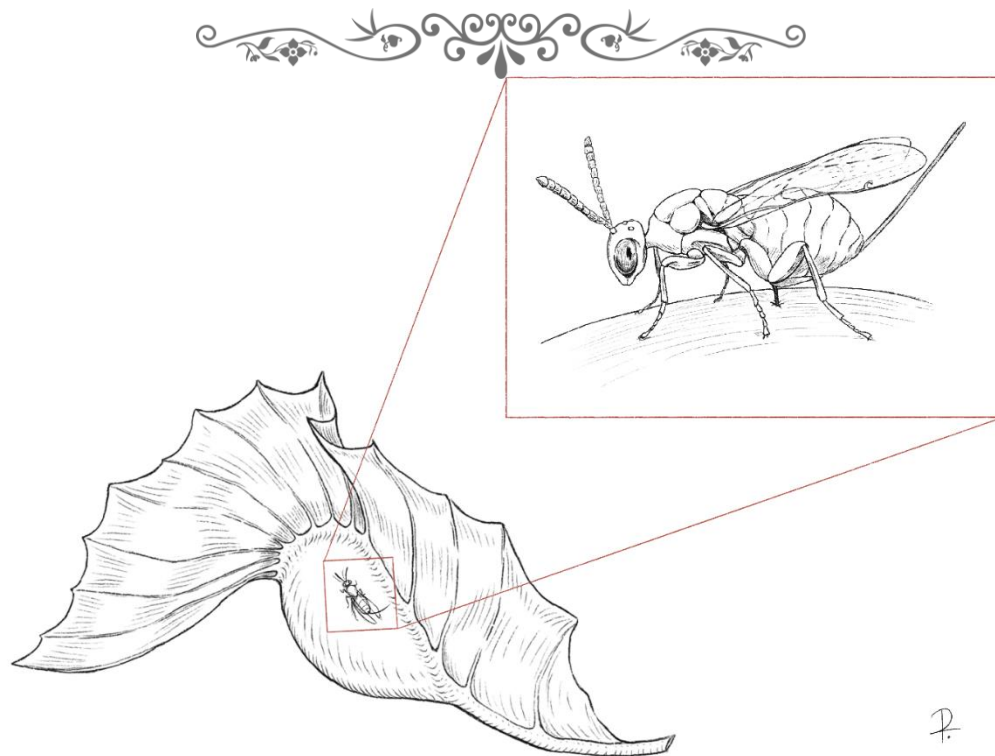
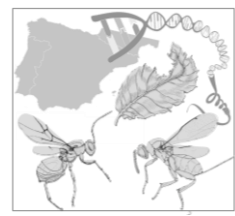


Figura 32 (extra): Comparación del tamaño de un ejemplar hembra de *T. sinensis* y la agalla de *D. kuriphilus*.

Autora de la ilustración: Patricia Durán Montes.

Trabajos en preparación y futuras líneas de investigación



Además de los siete artículos publicados que incluye esta tesis, se encuentran en proceso avanzado de elaboración y serán objeto de próxima publicación los trabajos que enumeramos a continuación.

1.- “*Torymus sinensis* against the invasive chestnut gall wasp: high potential for non-target hosts although unlikely hybridization with native species”. En este trabajo, en avanzado estado de elaboración, como resultado de experimentos de campo y de laboratorio efectuados con *T. sinensis*, se explora la potencialidad de esta especie en el ataque a agallas de cinípidos nativas así como la de la posible hibridación con las especies autóctonas de *Torymus*.

2.- “Primer estudio en España de impacto ambiental sobre especies de cinípidos no objetivo y sus parasitoides, como resultado de la liberación en el medio natural de *Torymus sinensis* Kamijo para el control de la avispa del castaño *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu”. Se ha llevado a cabo un estudio de impacto ambiental sobre las comunidades de cinípidos nativos en las áreas de España en que se ha liberado *T. sinensis* para el control biológico de la avispa del castaño *D. kuriphilus*, principalmente en Galicia y Málaga. A lo largo de dos años de estudio se han colectado en las zonas afectadas un total de 25.277 agallas de *D. kuriphilus* y 4.484 agallas de cinípidos nativos, de las cuales 4.258 correspondieron a agallas en especies de *Quercus*. Se identificaron 41 especies de cinípidos nativos de 10 géneros diferentes. De las agallas de cinípidos autóctonos se obtuvieron 1.255 ejemplares de especies inquilinas de cinípidos y 6.361 de especies parasitoides (Chalcidoidea). De los cinípidos inquilinos identificamos 15 especies, de las cuales solo una, *Synergus facialis* Hartig, 1840, ha sido reclutada por la especie plaga del castaño, *D. kuriphilus*. La comunidad parasitoide en cinípidos autóctonos en las zonas estudiadas está integrada de 64 especies de 7 diferentes familias de Chalcidoidea. Todas las especies parasitoides reclutadas por *D. kuriphilus* desde su llegada a España, excepto una, provienen de las comunidades parasitoides de cinípidos nativos en especies de *Quercus*. El análisis de las comunidades de parasitoides en especies nativas de cinípidos, hasta el momento no ha detectado presencia de *T. sinensis*. La ausencia de dicha especie, que está siendo utilizada como control biológico, se ha verificado tanto en las zonas donde se ha liberado de forma controlada como en las áreas donde se ha detectado en *D. kuriphilus* como consecuencia de dispersión natural desde Francia.

3.- Fauna secundaria asociada a las agallas de la avispa del castaño *D. kuriphilus* en España (Hymenoptera, Cynipidae). Las agallas de *D. kuriphilus* (Hymenoptera, Cynipidae) especie invasora plaga del castaño, además de la fauna primaria de parasitoides que ha sido rápidamente reclutada por la especie invasora desde su aparición en España, albergan una rica y variada fauna secundaria que utiliza la agalla como refugio o recurso trófico. Como resultado de los muestreos que hemos realizado a lo largo de dos años para estudiar la fauna de parasitoides asociada a agallas de la avispa del castaño en España, hemos obtenido una rica fauna secundaria de artrópodos, que ha sido de

Trabajos en preparación y futuras líneas de investigación



novo reclutada por dicha especie invasora desde su introducción en nuestro país. Existen pocos datos publicados de esta fauna en Europa y los resultados preliminares que aquí aportamos son los primeros que se recogen en España. A lo largo de dos años se han colectado más de 25.000 agallas de *D. kuriphilus* en todas las zonas afectadas de España, principalmente en Galicia y Andalucía (Málaga). La fauna secundaria en las agallas incluye insectos (Hexapoda) y ácaros oribátidos (Acari). Entre los insectos hay representantes de 8 órdenes: Collembola, Hemiptera, Diptera, Coleoptera, Psocoptera, Hymenoptera, Thysanoptera y Lepidoptera. Las familias de insectos representadas son 30: 9 de coleópteros, 9 de himenópteros, 5 de dípteros, 3 de hemípteros, y una de cada uno de los órdenes de lepidópteros, psocópteros, tisanópteros y colémbolos. El número total de especies representado en las muestras de fauna secundaria estudiadas se estima en más de 40, de 24 géneros identificados. Cabe destacar el hallazgo en agallas colectadas en la Sierra de las Nieves (Málaga) de una nueva especie para la ciencia del género *Parochthiphila* (Diptera, Chamaemyiidae).

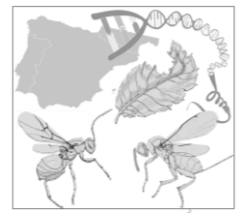
Otras líneas de trabajo e investigación futura que se abren con relación a esta tesis doctoral se enumeran a continuación:

☞ Profundizar en el estudio y redefinir taxonómicamente el grupo de especies de *Torymus* asociadas a Cynipidae abordado en GIL-TAPETADO *et al.*, 2021e. Este grupo de *Torymus* posee caracteres morfológicos y ecológicos que pueden ayudar a interpretar sus relaciones filogenéticas y relacionarlas con la taxonomía tradicional basada en caracteres de la morfología externa. Considerando la base filogenética previa podemos obtener una taxonomía más estable y natural que la que previamente se ha seguido en este grupo. Como consecuencia última es necesario elaborar una clave de identificación actualizada de las especies de *Torymus* asociadas a agallas de Cynipidae sobre la base de los nuevos estudios morfológicos realizados y las evidencias filogenéticas moleculares encontradas.

☞ Estudiar en profundidad los complejos crípticos de especies dentro de *Torymus flavipes* y *Torymus cyaneus*, sobre todo en el caso de esta última especie, ya que existen indicios de que el linaje ibérico es diferente de los dos linajes de Centroeuropa. Además, poder analizar la posibilidad de la existencia de un complejo de especies crípticas en *T. cyaneus* nos puede ayudar a resolver el problema nomenclatural que plantea esta especie en la actualidad, ya que no existe holotipo ni ha sido designado un neotipo.

☞ Análogamente, indagar en el complejo críptico de especies de *Bootanomyia dorsalis* (Fabricius, 1798) (= *Megastigmus dorsalis*). Al igual que indican trabajos previos, este parasitoide de la familia Megastigmidae posee dos sublinajes dentro de la especie. La observación de los caracteres morfológicos

Trabajos en preparación y futuras líneas de investigación



de diferentes individuos revela que existe una gran diversidad en las estructuras de antenas y coloración, pudiendo separarse los ejemplares en dos grupos a este nivel. Sin embargo, realizando las comparaciones de los mismos individuos a nivel genético, obtenemos un sublinaje que posee una gran variabilidad de caracteres y otro sublinaje morfológicamente homogéneo, pero conteniendo este último individuos idénticos morfológicamente a algunos del primer sublinaje. Por lo tanto, las diferencias morfológicas observables en los individuos de *B. dorsalis* no corresponde con su filogenia.

☞ Realizar estudios de seguimiento y control a medio y largo plazo de las comunidades asociadas a agallas de Cynipidae nativas y compararlas con las realizadas sobre las comunidades reclutadas por la especie invasora *D. kuriphilus*. Estos estudios son esenciales para comprender la dinámica de dichas comunidades en el transcurso del tiempo y evaluar tanto el grado de afectación de *T. sinensis* sobre las comunidades de cinípidos nativos como los posibles desequilibrios en la composición de las comunidades nativas de parasitoides.

☞ Analizar la relación entre el surgimiento anual de las hojas de los castaños y la formación de las agallas en diferentes partes de Galicia y su influencia con el clima. Esto nos permitirá analizar y observar patrones de crecimiento de las agallas, así como la obtención de modelos empíricos que nos permitan efectuar predicciones de dónde y cuándo se formarán antes. A su vez, estos modelos podrían ayudar a determinar los momentos en los que las agallas de *D. kuriphilus* son más vulnerables al parasitismo y optimizar su control biológico mediante el uso de *T. sinensis*.



CONCLUSIONES



Las conclusiones de esta tesis doctoral se enumeran a continuación encuadradas en su ámbito de estudio. Todas las conclusiones son importantes y conllevan la ampliación de los límites del conocimiento acerca de la problemática de *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, 1951 y *Torymus sinensis* Kamijo, 1982 y de la biología parasitoide y gallícola:

I) CONCLUSIONES RELACIONADAS CON LA AMPLIACIÓN DEL CONOCIMIENTO DE LA DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA EN ESPAÑA DE *DRYOCOSMUS KURIPHILUS* Y *TORYMUS SINENSIS*.

☞ Describimos la distribución actual de *D. kuriphilus* en España, al menos hasta 2019-2020, como ampliamente distribuida por la mayor parte de los bosques y plantaciones de castaño, con la excepción de la Sierra de Aracena (Huelva) donde aún no ha llegado la plaga. *Dryocosmus kuriphilus* se distribuye en España en el norte peninsular, en Galicia, Asturias, Cantabria, País Vasco y Navarra, en el norte e interior de Cataluña; en el interior, en el Sistema Central, en Comunidad de Madrid (incluyendo sus dos ubicaciones urbanas en el Real Jardín Botánico de Madrid y el Real Jardín Botánico Alfonso XIII) y Cáceres (con focos temporales con probabilidad de asentamiento en Salamanca y Toledo) y en el sur, en Andalucía, en Málaga y en Granada.

☞ La distribución potencial de *D. kuriphilus* en España mediante modelos de distribución de especies indica que existen áreas con mayor y menos idoneidad dentro del territorio. Las zonas predichas con mayor idoneidad en la que la especie invasora se puede establecer son el norte de la península ibérica, concretamente, en sus zonas más de interior; noreste y en el sur peninsular.

☞ Los modelos de dispersión anual predicen un avance continuo y rápido por las zonas con presencia de castaño en España. Sin embargo, estas estimas han fallado, ya que el avance por España de *D. kuriphilus* ha sido más rápido del estimado, debido a los múltiples transportes de castaños infestados de la actividad silvicultural y forestal, creando nuevos focos y desvirtuando los modelos de predicción.

☞ Describimos la distribución actual de *T. sinensis* en España, al menos hasta 2019-2020, la mayoría como resultado de liberaciones experimentales de los programas de control biológico. *Torymus sinensis* está presente y se ha extendido por esta causa en Galicia, Asturias, Madrid y Málaga (Andalucía). Este parasitoide alóctono está también presente en España, en Cataluña, Navarra y País Vasco, debido a su dispersión natural desde Francia.

☞ La capacidad de dispersión estimada de *T. sinensis* es de 70 km/año, lo que, relativizando a su propio tamaño, se puede considerar alta. Su dispersión natural desde Francia hacia España se ha

CONCLUSIONES



realizado por los dos corredores de costa a ambos lados de los Pirineos, uno en el este, hacia Cataluña y otro en el oeste, hacia Navarra. Esta especie se encuentra en la ciudad de Madrid debido a los ensayos científicos de parasitismo realizados en esta tesis, así como también se ha detectado en áreas del suroeste de la Comunidad, probablemente como resultado de sueltas no autorizadas, anteriores a la liberalización del uso de este agente de control por el Ministerio para la Transición Ecológica y Reto Demográfico.

☞ Las tasas de parasitismo y el tamaño de las poblaciones de *T. sinensis* en España, al menos hasta 2019-2020, son bajas, con un porcentaje máximo estimado de parasitismo del 8,29%. Las mayores tasas de parasitismo se encuentran en la zona de Navarra, donde *T. sinensis* ha llegado por dispersión natural desde Francia.



II) CONCLUSIONES RELACIONADAS CON LA AMPLIACIÓN DEL CONOCIMIENTO DE LA ECOLOGÍA DE *DRYOCOSMUS KURIPHILUS*, *TORYMUS SINENSIS* Y SUS COMUNIDADES BIOLÓGICAS.

☞ Existe una variabilidad en la morfología de las agallas de *D. kuriphilus* dependiendo de las diferentes condiciones climatológicas presentes en la península ibérica en función de la latitud (mediterránea y eurosiberiana). Las agallas de *D. kuriphilus* ubicadas en las áreas de muestreo de la provincia de Málaga (Andalucía) son de mayor tamaño que las ubicadas en las áreas de estudio del norte de España (e. g: Galicia). Estas diferencias de tamaño no son debidas a la densidad de individuos, sino que están relacionadas con otros factores, como las condiciones climatológicas de las zonas donde están presentes las agallas.

☞ Desde la introducción en España de *D. kuriphilus* se ha producido un reclutamiento muy rápido por parte de esta especie de comunidades de parasitoides nativos, en su mayor parte de la superfamilia Chalcidoidea (Hymenoptera). En el total del territorio español el número de especies reclutadas suma un total de 34. Las comunidades biológicas de parasitoides nativos reclutados por *D. kuriphilus* en España son, por lo general, de carácter generalista, compuestas por especies oportunistas y polífagas. En las zonas estudiadas de Galicia y Andalucía las especies más comunes de dicha comunidad son *Eupelmus urozonus* Dalman, 1820 y *Mesopolobus lichtensteini* (Mayr, 1903). Existe un reemplazo de especies entre las comunidades de Málaga y de Galicia, entre *Mesopolobus tibialis* (Westwood, 1833) y *Ormyrus*

CONCLUSIONES



pomaceus (Geoffroy, 1785), respectivamente. Existe también una subcomunidad invernante con especies de parasitoides nativos que tienen una biología análoga a *T. sinensis*, presente en el sur peninsular y compuesta por: *Torymus notatus* (Walker, 1833), *Aulogymnus bicolor* (Askew, 1975), *Aulogymnus obscuripes* (Mayr, 1877) y *Aulogymnus balani* Pujade i Villar, 1991; y en Galicia por *Aulogymnus arsames* (Walker, 1838). Es de destacar el hallazgo en Galicia en las agallas de *D. kuriphilus* de una especie inquilina de cinípido del género *Synergus*, lo que representa la segunda cita en Europa. También existe otra rica fauna secundaria de artrópodos asociada a las agallas de *D. kuriphilus*, actualmente en estudio, en la que cabe destacar la nueva especie de díptero recientemente descrita, *Parochthiphila carinata* Carles-Tolrá, 2019.

☞ Existe un factor limitante en las agallas de *D. kuriphilus* que dificulta el parasitismo de la fauna parasitoide nativa: el grosor de las paredes de las agallas y de sus cámaras larvales. El grosor y dureza de la pared constituyen una barrera física que impide que el ovipositor de los parasitoides generalistas que atacan fases tardías de crecimiento de las agallas puedan penetrar en las cámaras larvares. Por ello, se pone de manifiesto que sólo aquellas especies parasitoides que estén sincronizadas con el comienzo del crecimiento de las agallas de *D. kuriphilus* son verdaderamente efectivas contra esta especie plaga, como lo son *T. sinensis* y otras especies nativas de la subcomunidad invernante.

☞ Existe una relación entre el parasitismo y las variables climáticas, siendo mayor en las zonas más cálidas, probablemente debido a mejores condiciones ambientales, que facilitan el aumento de su actividad.

☞ El papel de *T. sinensis* en las comunidades biológicas de parasitoides reclutadas por *D. kuriphilus* es diferente en las dos áreas principales de estudio (Galicia y Málaga), al menos hasta 2019-2020. En Málaga, *T. sinensis* se asentó más rápidamente comenzando a tener un papel efectivo de control de la especie plaga, mientras que en Galicia, hasta el momento de concluir este estudio, el asentamiento y control efectivo están siendo más lentos.

☞ El rápido reclutamiento de parasitoides por parte de *D. kuriphilus* puede ser explicado por la teoría de biogeografía de islas aplicando un modelo de “islas dentro de los continentes”. Antes de la llegada de *D. kuriphilus* a los castaños, estos árboles funcionaban como zonas no colonizables y eran ignorados por los parasitoides, que se movían entre los diferentes *Quercus* con presencia de agallas de cinípidos nativos, al encontrarse en una estructura de bosques mixtos. Al introducirse *D. kuriphilus* en los castaños e inducir agallas potencialmente parasitables por los parasitoides nativos, los castaños han cambiado de ser zonas no colonizables a zonas colonizables o islas dentro de la misma zona ya colonizada o continente. Por lo tanto, como la distancia entre *Quercus* y *Castanea* es muy pequeña, y siguiendo la idea de “islas dentro de los continentes”, se puede explicar que este reclutamiento sea rápido, incluso en el mismo año de introducción de *D. kuriphilus* en un área.



CONCLUSIONES



III) CONCLUSIONES RELACIONADAS CON LA AMPLIACIÓN DEL CONOCIMIENTO DE LA FILOGENIA DE *TORYMUS* Y LOS RIESGOS DE LA LIBERALIZACIÓN DE *TORYMUS SINENSIS*.

☞ Mediante marcadores moleculares, hemos recuperado las relaciones filogenéticas de las especies de *Torymus* asociadas a la familia Cynipidae, incluyendo a *T. sinensis*, elaborando un marco filogenético no explorado antes en profundidad. Los resultados señalan la presencia de tres grupos de especies diferentes, dos complejos de especies crípticas (*Torymus flavipes* (Walker 1833) y *Torymus cyaneus* Walker, 1847), revelan las relaciones entre las especies y los cambios de hospedadores en el transcurso de la evolución de las especies del género (de *Quercus* a *Rosaceae*), así como la diferenciación y especialización entre estratos en altura de los *Quercus* hospedadores, los tiempos de divergencia entre especies y una topología que revela la cercanía filogenética entre las especies hermanas de *Torymus*.

☞ La filogenia de las especies de *Torymus* asociadas a la familia Cynipidae es congruente con la ecología de este grupo, indicando 1) cambios en las plantas hospedadoras de las agallas que parasitan, 2) especialización entre estratos en altura de los *Quercus* hospedadores, y 3) la determinación por especie de su rango de hospedador especialista o generalista. Esta última característica permite poder indagar en patrones evolutivos y tratar de hipotetizar qué ocurrió antes durante la historia natural de este grupo, la especialización o la generalización del rango de hospedador.

☞ Los resultados de la filogenia indican que, en el grupo de los *Torymus* asociados a la familia Cynipidae, las especies especialistas fueron anteriores a las generalistas, datando este último grupo del Serravalliense (Mioceno) hace 13.51 millones de años.

☞ La causa de la aparición de grupos generalistas en los *Torymus* asociados a la familia Cynipidae es probablemente debida a la diversificación de sus hospedadores, los cinípidos, que ocurrió hace 20,21 millones de años, anterior pero cercano a la fecha de aparición de los sublinajes generalistas de *Torymus*. Este proceso de diversificación produjo la aparición de nuevos recursos potencialmente parasitables, lo que coincide con la generalización de algunos linajes de *Torymus*, encajando con la hipótesis de ‘*ecological fitting*’.

☞ La especie de *Torymus* nativa candidata a hibridación con *T. sinensis* considerando los resultados de nuestra filogenia es *Torymus notatus* (Walker, 1833). Esta especie, perteneciente a la subcomunidad invernante reclutada por *D. kuriphilus*, especie hermana de *T. sinensis* y muy similar morfológicamente a ésta, ha sido ignorada en estudios previos acerca de la problemática de la suelta de *T. sinensis* hasta 2019. Sin embargo, los tiempos de divergencia de estos sublinajes indican que la separación

CONCLUSIONES



entre *T. sinensis* y *T. notatus* es similar a la del resto de diversificaciones de especies de *Torymus*, lo que minimiza el riesgo de hibridación.

☞ Los resultados de los experimentos de preferencia de hospedador por *T. sinensis* hacia agallas de especies de Cynipidae nativos indican que las de estructura simple, ubicación en la hojas y que se forman a principios de primavera son más vulnerables al ataque de esta especie foránea (i. e: aquellas que poseen una forma y fenología similar a las de *D. kuriphilus*). Esto encaja a su vez con la hipótesis de ‘*ecological fitting*’ y el ‘*Stockhold paradigm*’, pudiendo acabar adaptándose *T. sinensis* a parasitar estas agallas en el medio natural porque encajan con su “nicho de parasitación”. Sin embargo, en experimentos de laboratorio, también se ha encontrado que *T. sinensis* pueden sentirse atraído y ovipositar en una variedad de agallas diferentes, entre las que podemos mencionar como caso extremo las semi-subterráneas de formas sexuales de especies de *Trigonaspis*.

☞ Por experimentos de campo y de laboratorio hemos encontrado evidencias de que las agallas de Cynipidae en *Quercus* (Cynipini) nativas pueden ser parasitadas por *T. sinensis*.

☞ Deben realizarse más estudios científicos ahondando en la problemática del trinomio *D. kuriphilus*-*T. sinensis*-especies nativas para poder responder mejor las preguntas e incógnitas que aún subyacen, como la repercusión real que existe en las relaciones interespecíficas de competencia entre *T. sinensis* y otras especies de parasitoides nativos.

☞ Es necesario establecer programas de seguimiento de las comunidades de parasitoides nativos reclutados por *D. kuriphilus*, así como la actividad como controlador biológico de *T. sinensis* a lo largo del tiempo. De la misma manera, debería de establecerse programas de seguimiento y control en áreas afectadas de las comunidades de parasitoides asociadas a las especies de Cynipidae nativas, a fin de explorar y determinar empíricamente los posibles desequilibrios en las comunidades afectadas y por ende en el medio natural.

☞ Es necesario establecer una legislación más consistente y extensa acerca de las especies invasoras, la forma de prevenir su introducción y cómo regular su posible control mediante la introducción de otras especies foráneas como controladores biológicos. Deben de agilizarse ciertos procesos administrativos y los plazos para poder proporcionar por parte de las administraciones una respuesta más rápida que implique una mayor capacidad de adaptación a las necesidades sociales que demanden una solución de carácter técnico. La temática y objetivos de esta tesis es un ejemplo práctico de cómo podrían abordarse ciertas problemáticas similares en el futuro.



BIBLIOGRAFÍA



Nota: Esta bibliografía hace referencia a los apartados de introducción, encabezados de los capítulos y discusión general. Cada artículo en el interior de esta tesis doctoral contiene su propia bibliografía.

ÁCS Z, MELIKA G, PÉNZES Z, PUJADE-VILLAR J, & STONE GN. (2007). The phylogenetic relationships between *Dryocosmus*, *Chilaspis* and allied genera of oak gallwasps (Hymenoptera, Cynipidae: Cynipini). *Systematic Entomology*, 32(1): 70–80.

ADLER H. (1881). Über den Generationswechael der Nichen-Gallwespen. *Deutsche Entomologische Zeitschrift*, 21: 209-248.

AGOSTA SJ, JANZ N, & BROOKS DR. (2010). How specialists can be generalists: resolving the "parasite paradox" and implications for emerging infectious disease. *Zoologia (Curitiba)*, 27(2): 151-162.

ÁLVAREZ-ÁLVAREZ P, BARRIO M, CASTEDO-DORADO F, DÍAZ-VARELA RA, FERNÁNDEZ JL, MANSILLA P, PÉREZ-OTERO R, PINTOS-VARELA, C, RIESCO, G, RODRÍGUEZ-SOALLEIRO, RJ, SALINERO MC. (2000). Manual de selvicultura del Castaño en Galicia. Santiago de Compostela, España: University of Santiago Press. 95 pp. URL: <http://www.agrobyte.com/publicaciones/castano/indice.html> (último acceso: 05 Ago. 2021).

ASKEW, R. R. (1971). *Parasitic Insects*. New York, EEUU. American Elsevier Publishing Company. 316 pp.

ASKEW RR, MELIKA G, PUJADE-VILLAR J, SCHOENROGGE K, STONE GN, & NIEVES-ALDREY JL. (2013). Catalogue of parasitoids and inquilines in cynipid oak galls in the West Palaeartic. *Zootaxa*, 3643(1): 1-133.

ASKEW RR, PLANTARD O, GOMEZ JF, NIEVES MH, & NIEVES-ALDREY JL. (2006). Catalogue of parasitoids and inquilines in galls of Aylacini, Diplolepidini and Pediaspidini (Hym., Cynipidae) in the West Palaeartic. *Zootaxa*, 1301(1): 1-60.

BECCARO G, ALMA A, BOUNOUS G, & GOMES-LARANJO J. (2019). *The Chestnut Handbook: Crop & Forest Management*. Boca Ratón, EEUU. CRC Press. 379 pp.

BECK KG, ZIMMERMAN K, SCHARDT JD, STONE J, LUKENS RR, REICHARD S, RANDALL, J, CANGELOSI, AA, COOPER, D, & THOMPSON JP. (2008). Invasive species defined in a policy context: Recommendations from the Federal Invasive Species Advisory Committee. *Invasive Plant Science and Management*, 1(4): 414-421.

BERNARDO U, IODICE L, SASSO R, TUTORE VA, CASCONI P, & GUERRIERI E. (2013). Biology and monitoring of *Dryocosmus kuriphilus* on *Castanea sativa* in Southern Italy. *Agricultural and Forest Entomology*. 15: 65–76.

BENEDICT MQ, & ROBINSON AS. (2003). The first releases of transgenic mosquitoes: an argument for the sterile insect technique. *Trends in parasitology*, 19(8): 349-355.

BLANCO E, MACIA MJ, & MORALES R. (1999). Medicinal and veterinary plants of El Caurel (Galicia, northwest Spain). *Journal of Ethnopharmacology*, 65(2): 113-124.

BOE (BOLETÍN OFICIAL DEL ESTADO) (2007). LEY 42/2007, de 13 de diciembre, del Patrimonio Natural y de la Biodiversidad. *Boletín oficial del Estado*, 299: 51275- 51327.

BOE (BOLETÍN OFICIAL DEL ESTADO) (2011). Real Decreto 1628/2011, de 14 de noviembre, por el que se regula el listado y catálogo español de especies exóticas invasoras. *Boletín oficial del Estado*, 298: 132711-132735.

BONAL R, VARGAS-OSUNA E, MENA JD, APARICIO JM, SANTORO M, & MARTÍN A. (2018). Looking for variable molecular markers in the chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus*: first comparison across genes. *Scientific Reports*, 8(1): 1-9.

BIBLIOGRAFÍA



- BOROWIEC N, THAON M, BRANCACCIO L, WAROT S, VERCKEN E, FAUVERGUE X, RIS N, & MALAUSA JC. (2014). Classical biological control against the chestnut gall wasp '*Dryocosmus kuriphilus*' (Hymenoptera, Cynipidae) in France. *Plant Protection Quarterly*, 29(1): 7-10.
- BOURTZIS, K. (2008). *Wolbachia*-based technologies for insect pest population control. *Transgenesis and the Management of Vector-borne Disease*, 104-113.
- BRAVO, A., LIKITVIVATANAVONG, S., GILL, S. S., & SOBERÓN, M. (2011). *Bacillus thuringiensis*: a story of a successful bioinsecticide. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 41(7): 423-431.
- BROOKS, D. R., HOBERG, E. P., & BOEGER, W. A. (2019). *The Stockholm paradigm: climate change and emerging disease*. University of Chicago Press.
- BROWN PMJ, ADRIAENS T, BATHON H, CUPPEN J, GOLDARAZENA A, HÄGG T, KENIS M, KLAUSNITZER BEM, KOVÁŘ I, LOOMANS AJM, MAJERUS MEN, NEDVED O, PEDERSEN J, RABITSCH W, ROY HE, TERNOIS V, ZAKHAROV IA, & ROY DB. (2007). *Harmonia axyridis* in Europe: spread and distribution of a non-native coccinellid. In *From biological control to invasion: the ladybird Harmonia axyridis as a model species* (pp. 5-21). Springer, Dordrecht.
- BUFFINGTON ML, & MORITA SI. (2009). Not all oak gall wasps gall oaks: the description of *Dryocosmus rileypokei*, a new, apostate species of Cynipini from California. *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 111(1): 244-253.
- BURKS BD. (1979). Superfamily Cynipoidea. En KROMBEIN, KV, HURD JR PD, SMITH DR, & BURKS BD. (eds). *Catalog of Hymenoptera in America north of Mexico 1*. Washington, DC: Smithsonian Institution Press. 1198 pp.
- CABI (CENTRE FOR AGRICULTURE AND BIOSCIENCES INTERNATIONAL). (2015). Invasive Species Compendium CABI Datasheets *Dryocosmus kuriphilus*. URL: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/20005> (último acceso: 05 Ago. 2021).
- CAMPOGALEGO. (2019) La cosecha de castaña cae un 25% por la avispa y la sequía. *Campo Galego. Xornal Dixital Agrario*. URL: <https://www.campogalego.es/la-avespilla-del-castano-y-la-sequia-reducen-la-cosecha-de-castana-en-mas-de-un-25/> (último acceso: 05 Ago. 2021).
- CAMUS A. (1929). Les chataigniers. Monographie des genres *Castanea* et *Castanopsis*. En: Paul Lechevalier P. (ed). *Encyclopédie Economique de Sylviculture*. Paris, Francia. Le Chevalier.
- CARDOSO J, ALMEIDA MT, & BENTO A. (2021). Controllo biológico de *Dryocosmus kuriphilus* yasumatsu com o parasitoide *Torymus sinensis* Kamijo. *Millenium*, 2(14): 91-99.
- CARLES-TOLRÁ M, GIL-TAPETADO D, & NIEVES-ALDREY JL. (2019). *Parochthiphila (Euestelia) carinata* sp.n.: a new chamaemyiid species from Spain (Diptera: Chamaemyiidae) reared from galls of *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae). *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*, 64: 21-26.
- CAUDULLO G, WELK E, & SAN-MIGUEL-AYANZ J. (2017). Chorological maps for the main European woody species. *Data in brief*, 12: 662-666.
- COLAUTTI RI, RICCIARDI A, GRIGOROVICH IA, & MACISAAC HJ. (2004). Is invasion success explained by the enemy release hypothesis?. *Ecology Letters*, 7(8): 721-733.
- COLAUTTI RI, & MACISAAC HJ. (2004). A neutral terminology to define 'invasive' species. *Diversity and distributions*, 10(2): 135-141.
- CONEDERA M, KREBS P, TINNER W, PRADELLA M, & TORRIANI D. (2004). The cultivation of *Castanea sativa* (Mill.) in Europe, from its origin to its diffusion on a continental scale. *Vegetation History and Archaeobotany*, 13(3): 161-179.

BIBLIOGRAFÍA



- CRUTZEN PJ. (2006). The “anthropocene”. In Ehlers E, & T Krafft (Eds.): *Earth system 621 science in the Anthropocene*: 13-18. Springer. Berlin, Alemania.
- DANE F, LANG P, HUANG H, & FU Y. (2003). Intercontinental genetic divergence of *Castanea* species in eastern Asia and eastern North America. *Heredity*, 91(3): 314-321.
- DE VERE GRAHAM MWR, & GIJSWIJT MJ (1998). *Revision of the European Species" Torymus" Dalman (Hymenoptera: Torymidae)*. *Zoologische Verhandelingen, Leiden*, 317: 1-202.
- DEBACH P, & ROSEN D. (1991). *Biological control by natural enemies*. Cambridge University Press; 2ª edición. 456 pp.
- DAVRANOGLU LR. (2011). *Zelus renardii* (Kolenati, 1856), a new world reduviid discovered in Europe (Hemiptera: Reduviidae: Harpactorinae). *Entomologists Monthly Magazine*, 147(1766): 157.
- DÍAZ-VARELA ER, ÁLVAREZ-ÁLVAREZ P, ROCES-DÍAZ JV, & RODRÍGUEZ-MORALES B. (2018). The contribution of chestnut orchard recovery projects for effective area-based conservation: Two cases in Asturias (North-West Spain). *Thematic Review*, 26.
- DINI F, SARTOR C, & BOTTA R. (2012). Detection of a hypersensitive reaction in the chestnut hybrid ‘Bouche de Bétizac’ infested by *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu. *Plant Physiology and Biochemistry*, 60: 67-73.
- DOGC (Diari Oficial de la Generalitat de Catalunya). (2012). ORDRE AAM/355/2012, de 2 de novembre, per la qual s’estableixen les zones delimitades per la plaga *Dryocosmus kuriphilus*. *DOGC*, 6253: 56194-56196. URL: <https://vlex.es/vid/per-estableixen-delimitades-plaga-406452494> (último acceso: 05 Ago. 2021).
- EFSA (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY). (2010). Risk assessment of the oriental chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* for the EU territory and identification and evaluation of risk management options. *EFSA Journal*, 8: 16–19.
- EPPO (EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION). (2012). EPPO Global Database: *Dryocosmus kuriphilus* (DRYCKU) URL: <https://gd.eppo.int/taxon/DRYCKU> (último acceso: 05 Ago. 2021).
- EUROPEAN COMMISSION. (2013). Environment: New EU Action to protect biodiversity against problematic invasive species. URL: https://ec.europa.eu/commission/presscorner/detail/en/IP_13_818 (último acceso: 05 Ago. 2021).
- EUROPEAN COMMISSION. (2014). Invasive Alien Species. URL: https://ec.europa.eu/environment/nature/invasivealien/index_en.htm (último acceso: 05 Ago. 2021).
- EVANS D. (1965). The Life History and Immature Stages of *Synergus pacificus* McCracken and Egbert (Hymenoptera: Cynipidae) 1. *The Canadian Entomologist*, 97(2): 185-188.
- FERRACINI C, FERRARI E, SALADINI MA, PONTINI M, CORRADETTI M, & ALMA A. (2015). Non-target host risk assessment for the parasitoid *Torymus sinensis*. *BioControl*, 60(5): 583-594.
- FERRACINI C, FERRARI E, PONTINI M, SALADINI MA, & ALMA A. (2019). Effectiveness of *Torymus sinensis*: a successful long-term control of the Asian chestnut gall wasp in Italy. *Journal of Pest Science*, 92(1): 353-359.
- FLINT ML, & DREISTADT SH. (1998). *Natural enemies handbook: the illustrated guide to biological pest control* (Vol. 3386). University of California Statewide Integrated Pest Management Program. 154 pp.
- FORBES AA, BAGLEY RK, BEER MA, HIPPEE AC, & WIDMAYER HA. (2018). Quantifying the unquantifiable: why Hymenoptera, not Coleoptera, is the most speciose animal order. *BMC Ecology*, 18(1): 1-11.



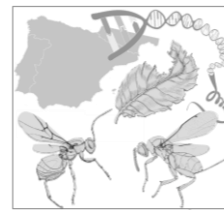
- GAHAN AB, & FAGAN MM. (1923). The type species of the genera of Chalcidoidea or chalcid-flies. *Bulletin of the United States National Museum*, 124.
- GEHRING E, BELLOSI B, QUACCHIA A, & CONEDERA M. (2018). Assessing the impact of *Dryocosmus kuriphilus* on the chestnut tree: branch architecture matters. *Journal of Pest Science*, 91: 189–202.
- GERMINARA GS, DE CRISTOFARO A, & ROTUNDO G. (2011). Chemical cues for host location by the chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus*. *Journal of Chemical Ecology*, 37(1): 49-56.
- GIBBS M, SCHÖNROGGE K, ALMA A, MELIKA G, QUACCHIA A, STONE GN, & AEBI A. (2011). *Torymus sinensis*: a viable management option for the biological control of *Dryocosmus kuriphilus* in Europe?. *BioControl*, 56(4): 527-538.
- GIL-TAPETADO D, & NIEVES-ALDREY JL. (2018). Un invasor inesperado: la avispa del castaño. *El Guadarramista*. URL: <https://elguadarramista.com/2018/01/13/un-invasor-inesperado-la-avispa-del-castano> (último acceso: 05 Ago. 2021).
- GIL-TAPETADO D, CABRERO-SAÑUDO FJ, GÓMEZ JF, ASKEW RR, & NIEVES-ALDREY JL. (2021b). Differences in native and introduced chalcid parasitoid communities recruited by the invasive chestnut pest *Dryocosmus kuriphilus* in two Iberian territories. *Bulletin of Entomological Research*, 111(3): 307-322.
- GIL-TAPETADO D, CABRERO-SAÑUDO FJ, POLIDORI C, GÓMEZ JF, & NIEVES-ALDREY JL. (2021d). Climate as a possible driver of gall morphology in the chestnut pest *Dryocosmus kuriphilus* across Spanish invaded areas. *Bulletin of Entomological Research*, 111(2): 160-173.
- GIL-TAPETADO D, CASTEDO-DORADO F, LOMBARDEO MJ, MARTEL J, & ÁLVAREZ-ÁLVAREZ P. (2021a). Spatial propagation and patterns of abundance of *Dryocosmus kuriphilus* throughout an invaded region. *Journal of Applied Entomology*, 145(1-2): 10-25.
- GIL-TAPETADO D, CASTEDO-DORADO F, NIEVES-ALDREY JL, & LOMBARDEO MJ. (2021c). Gall size of *Dryocosmus kuriphilus* limits down-regulation by native parasitoids. *Biological Invasions*, 23(4), 1157-1174.
- GIL-TAPETADO D, DURÁN-MONTES P, GARCÍA-PARÍS M, LÓPEZ-ESTRADA EK, SÁNCHEZ-VIALAS A, JIMÉNEZ-RUIZ Y, GÓMEZ JF, & NIEVES-ALDREY JL. (2021e). Host specialization is ancestral in *Torymus* (Hymenoptera, Chalcidoidea) cynipid gall parasitoids. *Zoologica Scripta*, doi: 10.1111/zsc.12515.
- GIL-TAPETADO D, GOMEZ JF, CABRERO-SANUDO FJ, & NIEVES-ALDREY JL. (2018). Distribution and dispersal of the invasive Asian chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera: Cynipidae), across the heterogeneous landscape of the Iberian Peninsula. *European Journal of Entomology*, 115: 575-586.
- GIL-TAPETADO D, RODRÍGUEZ-ROJO MP, VALDERAS SABIDO A, & NIEVES-ALDREY JL. (2020). Newly invaded territories by *Dryocosmus kuriphilus* in Spain and first records of *Torymus sinensis* in the Sistema Central. *Forest Systems*, 29(2), 219-225.
- GILIOLI G, PASQUALI S, TRAMONTINI S, & RIOLO F. (2013). Modelling local and long-distance dispersal of invasive chestnut gall wasp in Europe. *Ecological Modelling*, 263: 281-290.
- GODFRAY HCJ. (1994). *Parasitoids: Behavioral and Evolutionary Ecology*. Princeton, New Jersey, Princeton University Press. 484 pp.
- GOMEZ JF, NIEVES-ALDREY JL & HERNÁNDEZ-NIEVES M. (2008). Comparative morphology, biology and phylogeny of terminal-instar larvae of the European species of Toryminae (Hym., Chalcidoidea, Torymidae) parasitoids of gall wasps (Hym. Cynipidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 154 (4): 676–721.

BIBLIOGRAFÍA



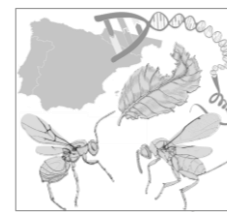
- GÓMEZ SR, GIL-TAPETADO D, GARCÍA-GILA J, BLASCO-ARÓSTEGUI J, & POLIDORI C. (2021). The leaf beetle *Labidostomis lusitanica* (Coleoptera: Chrysomelidae) as an Iberian pistachio pest: projecting risky areas. *Pest Management Science*. [10.1002/ps.6624](https://doi.org/10.1002/ps.6624)
- GOULA M, LIZANA F & MIRALLES-NÚÑEZ A. (2019). New records of the Nearctic leafhopper assassin bug, *Zelus renardii* Kolenati, 1857 in the Iberian Peninsula (Hemiptera: Heteroptera: Reduviidae). *Butlletí de la Institució Catalana d'Història Natural*, 83: 219-222.
- GRISSELL EE. (1976). *A revision of western Nearctic species of Tormus Dalman (Hymenoptera: Tormidae)*. University of California Publications in Entomology 79 pp
- GRISSELL EE. (1995). *Toryminae (Hymenoptera:Chalcidoidea:Torymidae): A Redefinition, Generic Classification, and Annotated World Catalog of Species*. Associated Publishers. 470 pp.
- HAJEK AE, & EILENBERG J. (2018). *Natural enemies: an introduction to biological control*. Cambridge University Press. 440 pp.
- HIGLEY LG, & PEDIGO LP. (1996). *Economic thresholds for integrated pest management* (Vol. 9). University of Nebraska Press. 327 pp.
- HEARN J, BLAXTER M, SCHÖNRÖGGE K, NIEVES-ALDREY JL, PUJADE-VILLAR J, HUGUET E, DREZEN JM, SHORTHOUSE JD, & STONE GN. Genomic dissection of an extended phenotype: Oak galling by a cynipid gall wasp. *PLoS Genetics*, 15: e1008398.
- HERATY JM, BURKS RA, CRUAUD A, GIBSON GA, LILJEBLAD J, MUNRO J, RASPLUS J-Y, DELVARE G, JANŠTA P, GUMOVSKY A, HUBER J, WOOLLEY JB, KROGMANN L, HEYDON S, POLASZEK A, SCHMIDT S, DARLING DC, GATES MW, MOTTERN J, MURRAY E, MOLIN AD, TRIAPITSYN S, BAUR H, PINTO JD, VAN NOORT S, GEORGE J, YODER M, & YODER M. (2013). A phylogenetic analysis of the megadiverse Chalcidoidea (Hymenoptera). *Cladistics*, 29(5): 466-542.
- HORTAL J, DE BELLO F, DINIZ-FILHO JAF, LEWINSOHN TM, LOBO JM, & LADLE RJ. (2015). Seven shortfalls that beset large-scale knowledge of biodiversity. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 46: 523-549.
- HUBER LL. (1927). A taxonomic and ecological review of the north American chalcid-flies of the genus *Callimome*. *Proceedings of the United States National Museum*. 70(14): 1-114.
- HUFFAKER CB, MESSENGER PS, & DEBACH P. (1971). The natural enemy component in natural control and the theory of biological control. In *Biological control* (16-67). Springer, Boston, MA.
- ICZN (INTERNATIONAL COMMISSION ON ZOOLOGICAL NOMENCLATURE). (1944). Opinion 155 On the status of the names *Callimome* Spinola, 1811, *Misocampe* Latreille, 1818, and *Torymus* Dahnan, 1820 (class Insecta, order Hymenoptera). *Opinions and declarations rendered by the International Commission on Zoological Nomenclature*, 2: 227-238.
- ICZN (INTERNATIONAL COMMISSION OF ZOOLOGICAL NOMENCLATURE). (1999). *International code of zoological nomenclature* [the Code]. Fourth edition. The International Trust for Zoological Nomenclature. Natural History Museum of London. 306 pp. [online version at <http://www.iczn.org/iczn/index.jsp>]
- IPBES [Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services]. (2019). Global assessment report of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services, Brondízio ES, Settele J, Díaz S, Ngo HT. (eds). IPBES secretariat, Bonn, Germany. 1144 pp.
- ITURBE-ORMAETXE I, WALKER T, & O'NEILL SL. (2011). Wolbachia and the biological control of mosquito-borne disease. *EMBO Reports*, 12(6): 508-518.

BIBLIOGRAFÍA



- JANŠTA P, CRUAUD A, DELVARE G, GENSON G, HERATY J, KŘÍŽKOVÁ B, & RASPLUS JY. (2018). Torymidae (Hymenoptera, Chalcidoidea) revised: molecular phylogeny, circumscription and reclassification of the family with discussion of its biogeography and evolution of life-history traits. *Cladistics*, 34(6): 627-651.
- JEFFRIES MJ, & LAWTON JH. (1984). Enemy free space and the structure of ecological communities. *Biological journal of the Linnean Society*, 23(4): 269-286.
- JIN XR, TIAN SB, ZHAO SE, & SUN HX. (1995). Studies on control of gall formation of *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu. *Scientia Silvae Sinicae*, 31: 77– 80.
- JOHNSON GP. (1988). Revision of *Castanea* sect *Balanocastanon* (Fagaceae). *Journal of the Arnold Arboretum*: 25-49.
- KAARTINEN R, STONE GN, HEARN J, LOHSE K, & ROSLIN T. (2010). Revealing secret liaisons: DNA barcoding changes our understanding of food webs. *Ecological Entomology*, 35(5): 623-638.
- KATO K, & HIJII N. (1997). Effects of gall formation by *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hym., Cynipidae) on the growth of chestnut trees. *Journal of Applied Entomology*, 121(1-5): 9-15.
- KATO K, & HIJII N. (2001). Ovipositional traits of the chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera: Cynipidae). *Entomological Science*, 4(3): 295-299.
- KEANE RM, & CRAWLEY MJ. (2002). Exotic plant invasions and the enemy release hypothesis. *Trends in Ecology & Evolution*, 17(4): 164-170.
- KOS K, KRISTON E. & MELIKA G. (2015). Invasive chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera: Cynipidae), its native parasitoid community and association with oak gall wasps in Slovenia. *European Journal of Entomology*, 112(4): 698–704.
- LAVOZDEGALICIA (2019). Galicia cría en vivero al depredador natural de la avispiña del castaño. *La Voz de Galicia*. URL: https://www.lavozdeg Galicia.es/noticia/ourense/maceda/2018/03/17/galicia-cria-vivero-depredador-natural-avispiña-castano/0003_201803G17P24992.htm (último acceso: 05 Ago. 2021).
- LAVOZDEGALICIA. (2020a). Os Ancares y O Courel no llegan al 10 % de la producción habitual de castaña. *La Voz de Galicia*. URL: https://www.lavozdeg Galicia.es/noticia/lugo/2020/11/18/os-ancares-courel-llegan-10-produccion-habitual-castana/0003_202011L18C3991.htm (último acceso: 05 Ago. 2021).
- LAVOZDEGALICIA (2020b). La Justicia rechaza que el eucalipto sea clasificado como una especie invasora. *La Voz de Galicia*. URL: <https://www.lavozdeg Galicia.es/noticia/somosagro/forestal/2020/11/13/justicia-rechaza-eucalipto-clasificado-especie-invasora/00031605290113810247680.htm> (último acceso: 05 Ago. 2021).
- LANG P, DANE F, & KUBISIAK TL. (2006). Phylogeny of *Castanea* (Fagaceae) based on chloroplast trnT-L-F sequence data. *Tree Genetics & Genomes*, 2: 132–139.
- LEWIS SL, & MASLIN MA. (2015). Defining the anthropocene. *Nature*, 519: 171-180.
- LICCARDO A, FIERRO A, GARGANESE F, PICCIOTTI U, & PORCELLI, F. (2020). A biological control model to manage the vector and the infection of *Xylella fastidiosa* on olive trees. *PloS one*, 15(4): e0232363.
- LILJEBLAD J, RONQUIST F, NIEVES-ALDREY JL, FONTAL-CAZALLA F, ROS-FARRE P, GAITROS D, & PUJADE-VILLAR J. (2008). A fully web-illustrated morphological phylogenetic study of relationships among oak gall wasps and their closest relatives (Hymenoptera: Cynipidae). *Zootaxa*, 1796(1): 1-73.
- LOMOLINO MV, RIDDLE BR, & WHITTAKER RJ. (2016). *Biogeography*, 5th edn. Sunderland, Massachusetts, USA: Oxford University Press. 730 pp.

BIBLIOGRAFÍA



- LORU L, MANNU R, GUERRIERI E, & PANTALEONI RA. (2021). Disentangling the effects of the invasive pest, *Dryocosmus kuriphilus*, and the introduction of the biocontrol agent, *Torymus sinensis*, on native parasitoids in an isolated insular chestnut-growing area. *Biological Control*, 162: 104724.
- LOZANO BR, & DE DIOS MÁG. (2018). The invasive species *Zelus renardii* (Kolenati, 1857) (Hemiptera, Reduviidae) in Spain and comments about its global expansion. *Transactions of the American Entomological Society*, 144(3): 551-558.
- LÜQUAN, ZDHYZ, & YANPING HXY. (2007). Sequencing and Phylogenetic Analysis of the wasp Gene of Wolbachia in a Gallwasp Species, *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera: Cynipidae). *Scientia Silvae Sinicae*, 3.
- MACARTHUR RH, & WILSON EO. (2001). *The Theory of Island Biogeography*, vol.1. Princeton, New Jersey, USA: Princeton University Press. 203 pp.
- MADERSPACHER, F. (2021). Cecidology: Anatomy of a biohack. *Current Biology*, 31(9): R430-R433.
- MANOS PS, ZHOU ZK, & CANNON CH. (2001). Systematics of *Fagaceae*: phylogenetic tests of reproductive trait evolution. *International Journal of Plant Sciences*, 162(6): 1361-1379.
- MANOS PS, & STEELE KP. (1997). Phylogenetic analyses of “higher” *Hamamelididae* based on plastid sequence data. *American Journal of Botany*, 84(10): 1407-1419.
- MATOŠEVIĆ D, LACKOVIĆ N, MELIKA G, KOS K, FRANIĆ I, KRISTON E, BOZSÓ M, SELJAK G, & ROT M. (2015). Biological control of invasive *Dryocosmus kuriphilus* with introduced parasitoid *Torymus sinensis* in Croatia, Slovenia and Hungary. *Periodicum Biologorum*, 117(4): 471-477.
- MAY R M, HASSELL MP, ANDERSON RM, & TONKYN DW. (1981). Density dependence in host-parasitoid models. *The Journal of Animal Ecology*, 50: 855-865.
- MEIER L. (2019). Tendencias globales y perspectivas futuras para el sector de la castaña. Session A. Economía y evolución del sector del castaño. Economy and sectorial evolution. Biocastanea 2019. 15 noviembre 2019. URL: <https://videos.unileon.es/series/60aca0988f42084e5d8b4585> (último acceso: 05 Ago. 2021).
- MELIKA G, PUJADE-VILLAR J, ABE Y, TANG C, NICHOLLS J, WACHI N, IDE T, YANG M, PÉNZES, Z, CSÓKA G, & STONE GN. (2010). Palaearctic oak gallwasps galling oaks (*Quercus*) in the section *Cerris*: re-appraisal of generic limits, with descriptions of new genera and species (Hymenoptera: Cynipidae: Cynipini). *Zootaxa*, 2470: 1-79.
- MELIKA G, TANG CT, NICHOLLS JA, YANG MM, & STONE GN. (2011). Four new species of *Dryocosmus* gallwasps from Taiwan (Hymenoptera: Cynipidae: Cynipini). *International Scholarly Research Notices*.
- MELLANO MG, BECCARO GL, DONNO D, MARINONI DT, BOCCACCI P, CANTERINO S, CERUTTI AK, & BOUNOUS G. (2012). *Castanea* spp. biodiversity conservation: collection and characterization of the genetic diversity of an endangered species. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 59(8): 1727-1741.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA, ALIMENTACIÓN Y MEDIO AMBIENTE. (2013). *Harmonia axyridis*. *Catálogo Español de Especies Exóticas Invasoras*. URL: https://www.miteco.gob.es/es/biodiversidad/temas/conservacion-de-especies/harmonia_axyridis_2013_tcm30-69885.pdf (último acceso: 05 Ago. 2021).
- MIGHT M. (2010). *The Illustrated Guide to a Ph.D.* URL: <https://matt.might.net/articles/phd-school-in-pictures/#print> (último acceso: 05 Ago. 2021).
- MIRALLES-NÚÑEZ A, PRADERA C, & FRUCTUOSO JAP. (2021). La problemática de las especies exóticas: el caso de las picaduras producidas por *Zelus renardii* Kolenati, 1857 (Hemiptera: Reduviidae) en España. *Archivos Entomológicos*, 24: 133-138.

BIBLIOGRAFÍA



- MISOF B, LIU S, MEUSEMANN K, PETERS RS, DONATH A, MAYER C, ET AL. (2014). Phylogenomics resolves the timing and pattern of insect evolution. *Science*, 346(6210): 763-767.
- MLYNAREK JJ. (2015). Testing the enemy release hypothesis in a native insect species with an expanding range. *PeerJ*, 3: e1415.
- MONUMENTALTREES. (2021). The thickest, tallest, and oldest sweet chestnut trees (*Castanea sativa*) worldwide. URL: <https://www.monumentaltrees.com/es/arboles/castano/records/> (último acceso: 05 Ago. 2021).
- MOONEY HA, & HOBBS RJ. (2000). *Invasive species in a changing world*. Washington, EEUU: Island Press.
- MOONEY HA, MACK R, MCNEELY JA, MCNEELY JA, NEVILLE LE, SCHEI PJ, & WAAGE JK. (2005). *Invasive alien species: a new synthesis* (Vol. 63). Island press. 368 pp.
- MORIYA S, INOUE K, OTAKE A, SHIGA M, & MABUCHI M. (1989). Decline of the chestnut gall wasp population, *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae) after the establishment of *Torymus sinensis* Kamijo (Hymenoptera: Torymidae). *Applied Entomology and Zoology*, 24(2): 231-233.
- MUMFORD JD, & NORTON GA. (1984). Economics of decision making in pest management. *Annual Review of Entomology*, 29(1): 157-174.
- MUNRO JB, HERATY JM, BURKS RA, HAWKS D, MOTTERN J, CRUAUD A, RASPLUS J-Y & JANSTA P. (2011). A molecular phylogeny of the Chalcidoidea (Hymenoptera). *PloS one*, 6(11): e27023.
- MURAKAMI Y. (1981). The parasitoids of *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae) in Japan and the introduction of a promising natural enemy from China (Hymenoptera: Chalcidoidea). *Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu University*, 25(4): 167-174.
- MURDOCH WW, CHESSON J, & CHESSON PL. (1985). Biological control in theory and practice. *The American Naturalist*, 125(3): 344-366.
- NIKOLOULI K, COLINET H, RENAULT D, ENRIQUEZ T, MOUTON L, GIBERT P, SASSU F, CÁCERES C, STAUFFER C, PEREIRA R, & BOURTZIS K. (2018). Sterile insect technique and *Wolbachia* symbiosis as potential tools for the control of the invasive species *Drosophila suzukii*. *Journal of Pest Science*, 91(2): 489-503.
- NIEVES-ALDREY JL. (1984). Observaciones sobre los torímidos (Hym., Chalcidoidea, Torymidae) asociados con agallas de cinípidos (Hym., Cynipidae) sobre *Quercus* spp. en la zona centro-Occidental de España. *Boletín de la Asociación española de Entomología*. 8:121-134
- NIEVES-ALDREY JL. (1998). Insectos que inducen la formación de agallas en las plantas: una fascinante interacción ecológica y evolutiva. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*, 23: 3-12.
- NIEVES-ALDREY JL. (2001). *Fauna Ibérica, Vol. 16, Hymenoptera: Cynipidae*. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Madrid, 636 pp.
- NIEVES-ALDREY JL, & GIL-TAPETADO D. (2019). Evaluación del impacto de la introducción en el medio natural de *Torymus sinensis* como organismo de control biológico de la especie *Dryocosmus kuriphilus*, sobre las poblaciones de cinípidos y parasitoides nativos. Encargo a La Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas de servicio técnico por la administración (MAPAMA). Expediente: 16MNES003. Informe final no publicado. 150 pp.
- NIEVES-ALDREY JL, GIL-TAPETADO D, & ASKEW RR. (2020). *Mesopolobus delafuentei* sp. nov.: a new pteromalid species from Spain (Hymenoptera: Pteromalidae), with notes on other parasitoids associated with *Andricus crispator* Tscheck (Hymenoptera: Cynipidae), a gall wasp on cork oaks. En: A. Melic (ed) *40 años sin Félix. Homenaje al Dr. Rodríguez de la Fuente.*, Zaragoza (España), m3m monografías 3er milenio. Sociedad Entomológica Aragonesa (SEA), 10: 103-110.



- NIEVES-ALDREY JL, GIL-TAPETADO D, GAVIRA ÓN, BOYERO JR, POLIDORI C, LOMBARDEO, MJ, BLANCO D, REY C, RODRÍGUEZ-ROJO MP, VELA JM, & WONG ME. *Torymus sinensis* Kamijo, a biocontrol agent against the invasive chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu in Spain: its natural dispersal from France and first data on establishment after experimental releases. *Forest Systems*, 28(1): e001
- NIEVES-ALDREY JL., GÓMEZ JF., NIEVES MH, & LOBO JM. (2006). Los Cynipidae (Hymenoptera) de la Comunidad de Madrid: lista anotada, mapas de distribución, riqueza y estatus de conservación. *Graellsia*, 62(Extra): 371-402.
- NIEVES-ALDREY JL, NICHOLLS JA, TANG CT, MELIKA G, STONE GN, PUJADE-VILLAR J, BUFFINGTON M, MALDONADO Y, & MEDIANERO E. (2021). Re-description and systematic re-appraisal of the genus *Kokkocynips* Pujade-Villar & Melika (Hymenoptera: Cynipidae: Cynipini), including new combinations of Nearctic species and the description of a new species from Panama. *Zootaxa*, 4938(2): 205-232.
- NOYES JS. (2019). *Universal Chalcidoidea Database*. URL. <http://www.nhm.ac.uk/chalcidoids> (último acceso: 05 Ago. 2021).
- OVERHOLT WA, NGI-SONG AJ, OMWEGA CO, KIMANI-NJOGU SW, MBAPILA J, SALLAM MN, & OFOMATA V. (1997). A review of the introduction and establishment of *Cotesia flavipes* Cameron in East Africa for biological control of cereal stemborers. *International Journal of Tropical Insect Science*, 17(1): 79-88.
- PAYNE JA, MENKE AS, & SCHROEDER PM. (1975). *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae), an oriental chestnut gall wasp in North America. *Cooperative Economic Insect Report*, 25: 903-905.
- QUICKE DL. (1997). *Parasitic Wasps*. Netherlands, Springer. 470 pp.
- PARDO-DE-SANTAYANA M, TARDÍO J, BLANCO E, CARVALHO AM, LASTRA JJ, SAN MIGUEL E, & MORALES R. (2007). Traditional knowledge of wild edible plants used in the northwest of the Iberian Peninsula (Spain and Portugal): a comparative study. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 3(1), 1-11.
- PENZÉS Z, TANG CT, STONE GN, NICHOLLS JA, SCHWEGER S, BOZSO M, & MELIKA G. (2018). Current status of the oak gallwasp (Hymenoptera: Cynipidae: Cynipini) fauna of the Eastern Palearctic and Oriental Regions. *Zootaxa*, 4433(2): 245-289.
- PEREIRA-LORENZO S, BALLESTER A, CORREDOIRA E, VIEITEZ AM, AGNANOSTAKIS S, COSTA R, ... RAMOS-CABRER AM. (2012). Chestnut. En Badenes ML, & Byrne DH. (Eds.) *Fruit breeding. Handbook of Plant Breeding* (pp. 729-769).
- PEREIRA-LORENZO S, COSTA R, ANAGNOSTAKIS S, SERDAR U, YAMAMOTO T, SAITO T, RAMOS-CABRER AM, LING Q, BARRENECHE T, ROBIN C, BOTTA R, CONTESSA C, CONEDERA M, MARTÍN LM, MARTÍN A, GOMES-LARANJO J, VILLANI F, & CARLSON JE. (2016). Interspecific hybridization of chestnut. En *Polyploidy and Hybridization for Crop Improvement* (pp. 377-407). CRC Press.
- PÉREZ-OTERO, R, & MANSILLA JP. (2014). El cinípido del castaño *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, 1951 llega a Galicia (NO de la Península Ibérica). *Archivos Entomológicos*, 12: 33-36.
- POGOLOTTI C, CUESTA-PORTA V, PUJADE-VILLAR J, & FERRACINI C. (2019). Seasonal flight activity and genetic relatedness of *Torymus* species in Italy. *Agricultural and Forest Entomology*, 21(2): 159-167.
- POLIDORI C, GARCÍA-GILA J, BLASCO-ARÓSTEGUI J, & GIL-TAPETADO D. (2021). Urban areas are favouring the spread of an alien mud-dauber wasp into climatically non-optimal latitudes. *Acta Oecologica*, 110: 103678.
- POLILOV AA. (2012). The smallest insects evolve anucleate neurons. *Arthropod Structure & Development*, 41(1): 27-32.

BIBLIOGRAFÍA



- POLILOV AA. (2017). Anatomy of adult *Megaphragma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), one of the smallest insects, and new insight into insect miniaturization. *PloS one*, 12(5): e0175566.
- POWER ME. (1992). Top-down and bottom-up forces in food webs: do plants have primacy. *Ecology*, 73(3): 733-746.
- PUJADE-VILLAR J. (1985). Révision des cynipides de la Collection Giraud M.N.H.N. à Paris (Hym., Cynipidae). *Revue Française d'Entomologie*, 7: 39-44.
- PUJADE-VILLAR J, ROS-FARRÉ P, & MELIKA G. (2003). Revision of the genus *Chilaspis* Mayr, 1881 (Hymenoptera: Cynipoidea: Cynipidae). In *Annales de la Société Entomologique de France*, 39(2): 167-178.
- PUJADE-VILLAR J, TORRELL A, & ROJO M. (2013). Primeres troballes a la península Ibèrica de *Dryocosmus kuriphilus* (Hym., Cynipidae), una espècie de cinípid d'origen asiàtic altament perillosa per al castanyer (Fagaceae). *Orsis*, 27: 295-301.
- QUACCHIA A, MORIYA S, BOSIO G, SCAPIN I, & ALMA A. (2008). Rearing, release and settlement prospect in Italy of *Torymus sinensis*, the biological control agent of the chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus*. *BioControl*, 53(6): 829-839.
- RAMIREZ W. (1974). Coevolution of Ficus and Agaonidae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 61(3): 770-780.
- ROBINSON, WH. (2005). Urban Insects and Arachnids. A Handbook of Urban Entomology. Cambridge University Press. 472 pp.
- ROCES-DÍAZ JV, JIMÉNEZ-ALFARO B, CHYTRÝ M, DÍAZ-VARELA ER, & ÁLVAREZ-ÁLVAREZ P. (2018). Glacial refugia and mid-Holocene expansion delineate the current distribution of *Castanea sativa* in Europe. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 491: 152-160.
- ROCES-DIAZ JV, DÍAZ-VARELA ER, BARRIO-ANTA M, & ÁLVAREZ-ÁLVAREZ P. (2018). Sweet chestnut agroforestry systems in North-western Spain: Classification, spatial distribution and an ecosystem services assessment. *Forest Systems*, 27(1): 10.
- ROH JY, CHOI JY, LI MS, JIN BR, & JE YH. (2007). *Bacillus thuringiensis* as a specific, safe, and effective tool for insect pest control. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17(4): 547-559.
- ROININEN H, PRICE PW, & TAHVANAINEN J. (1996). Bottom-up and top-down influences in the trophic system of a willow, a galling sawfly, parasitoids and inquilines. *Oikos*, 77: 44-50.
- ROSAS-RAMOS N, MAS-PEINADO P, GIL-TAPETADO D, RECUERO E, RUIZ JL, & GARCÍA-PARÍS M. (2020). Catalogue, distribution, taxonomic notes, and conservation of the Western Palearctic endemic hunchback beetles (Tenebrionidae, *Misolampus*). *ZooKeys*: 963, 81.
- RONQUIST F, NIEVES-ALDREY JL, BUFFINGTON ML, LIU Z, LILJEBLAD J, & NYLANDER JA. (2015). Phylogeny, evolution and classification of gall wasps: the plot thickens. *PloS one*, 10(5): e0123301.
- ROY HE, BROWN PM, ADRIAENS T, BERKVEN N, BORGES I, CLUSELLA-TRULLAS S, ET AL. (2016). The harlequin ladybird, *Harmonia axyridis*: global perspectives on invasion history and ecology. *Biological Invasions*, 18(4): 997-1044.
- ROY H, BROWN P, & MAJERUS M. (2006). *Harmonia axyridis*: a successful biocontrol agent or an invasive threat?. In *An ecological and societal approach to biological control* (pp. 295-309). Springer, Dordrecht.
- RUBIO A. (2009). 9260. Bosques de *Castanea sativa*. 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. 64 pp.

BIBLIOGRAFÍA



- SARDÓN-GUTIÉRREZ S, GIL-TAPETADO D, GÓMEZ JF, & NIEVES-ALDREY JL. (2021). Ecological niche modelling of species of the rose gall wasp *Diplolepis* (Hymenoptera: Cynipidae) on the Iberian Peninsula. *European Journal of Entomology*, 118: 31-45.
- SARTOR C, DINI F, MARINONI DT, MELLANO MG, BECCARO GL, ALMA A, QUACCHIA A, & BOTTA R. (2015). Impact of the Asian wasp *Dryocosmus kuriphilus* (Yasumatsu) on cultivated chestnut: Yield loss and cultivar susceptibility. *Scientia Horticulturae*, 197: 454-460.
- SEDDAIU S, CERBONESCHI A, SECHI C, & MELLO A. (2017). *Gnomoniopsis castaneae* associated with *Dryocosmus kuriphilus* galls in chestnut stands in Sardinia (Italy). *iForest-Biogeosciences and Forestry*: 10(2), 440.
- SESMA JM, & GIL-TAPETADO D. La expansión de *Harmonia axyridis* (Pallas, 1773) en la Península Ibérica (Coleoptera: Coccinellidae). *Biodiversidad Virtual news Publicaciones Científicas*, 9 (110): 1-7.
- SHORTHOUSE JD, & ROHFRIETSCH O. (1992). Biology of insect-induced galls. New York, EEUU: Oxford University Press. 296 pp.
- SIMBERLOFF, D. (2010). Invasive species. En: Sodhi NS & Ehrlich PR (Eds) *Conservation biology for all*, 131-152.
- STILING P, & ROSSI AM. (1997). Experimental manipulations of top-down and bottom-up factors in a tri-trophic system. *Ecology*, 78(5): 1602-1606.
- TANG CT, MIKO I, NICHOLLS JA, SCHWÉGER S, YANG MM, STONE GN, SINCLAIR F, BOZSÓ M, MELIKA G, & PÉNZES Z. (2016). New *Dryocosmus* Giraud species associated with *Cyclobalanopsis* and non-*Quercus* host plants from the Eastern Palaearctic (Hymenoptera, Cynipidae, Cynipini). *Journal of Hymenoptera Research*, 53: 77-163.
- TÉLLEZ TR, LÓPEZ EMDR, GRANADO GL, PÉREZ EA, LÓPEZ RM, & GUZMÁN JMS. (2008). The water hyacinth, *Eichhornia crassipes*: an invasive plant in the Guadiana River Basin (Spain). *Aquatic Invasions*, 3(1): 42-53.
- TOKUHISA E. (1981). Number of eggs deposited by the chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Cynipidae). In *Proceedings of the Association for Plant Protection of Kyushu*, 27: 154-156.
- TOWNES H. (1958). Some biological characteristics of the Ichneumonidae (Hymenoptera) in relation to biological control. *Journal of Economic Entomology*, 51(5): 650-652.
- TOWNES H. (1971). Ichneumonidae as biological control agents. In *Proceedings Tall Timbers conference on ecological animal control by habitat management*, 3: 25-27 Tallahassee, Florida. pp. 235-248.
- UGOLINI F, MASSETTI L, PEDRAZZOLI F, TOGNETTI R, VECCHIONE A, ZULINI L, & MARESI G. (2014). Ecophysiological responses and vulnerability to other pathologies in European chestnut coppices, heavily infested by the Asian chestnut gall wasp. *Forest ecology and management*, 314: 38-49.
- VAN DEN BOSCH R, MESSENGER PS, & GUTIERREZ AP. (1982). *An introduction to biological control*. New York, EEUU: Plenum Press. 268 pp.
- VAN NOORT S, & COMPTON SG. (1996). Convergent evolution of agaonine and sycoecine (Agaonidae, Chalcidoidea) head shape in response to the constraints of host fig morphology. *Journal of Biogeography*, 23(4): 415-424.
- VAN VALEN, L. (1973). A new evolutionary law. *Evolutionary Theory*, 1: 1-30.
- VARGAS P, & ZARDOYA R. (2012). *El árbol de la vida: sistemática y evolución de los seres vivos*. Madrid, España: International Union of Biological Sciences. 597 pp

BIBLIOGRAFÍA



- VISENTIN I, GENTILE S, VALENTINO D, GONTHIER P, & CARDINALE F. (2012). *Gnomoniopsis castanea* sp. nov. (Gnomoniaceae, Diaporthales) as the causal agent of nut rot in sweet chestnut. *Journal of Plant Pathology*, 94(2): 411-419.
- WALDE SJ, & MURDOCH WW. (1988). Spatial density dependence in parasitoids. *Annual Review of Entomology*, 33(1): 441-466.
- XUNTA DE GALICIA. (2021). La Xunta inicia la suelta de 1,6 millones de individuos del parásito *torymus sinensis* para consolidar su lucha contra la avispa del castaño URL. https://www.xunta.gal/notas-de-prensa/-/nova/56711/xunta-inicia-solta-1-6-millons-individuos-parasito-torymus-sinensis-para-consolidar?langId=es_ES (último acceso: 05 Ago. 2021).
- YASUMATSU K. (1951). A new *Dryocosmus* injurious to chestnut trees in Japan. *Mushi. Journal of Fukuoka Entomological Society*, 22: 89-92.
- ZABALOU S, RIEGLER M, THEODORAKOPOULOU M, STAUFFER C, SAVAKIS C, & BOURTZIS K. (2004). *Wolbachia*-induced cytoplasmic incompatibility as a means for insect pest population control. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(42): 15042-15045.
- ZAVADA A. (2003). Definition of subgenera and a reassessment of species groups of *Torymus* Dalman (Hymenoptera: Torymidae), based on Palaearctic material. *Phegea* 31(3): 109.
- ZHU DH, HE YY, FAN YS, MA MY, & PENG DL. (2007). Negative evidence of parthenogenesis induction by *Wolbachia* in a gallwasp species, *Dryocosmus kuriphilus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 124(3): 279-284.
- ZOHARY D, & HOPF M. (2000). *Domestication of plants in the Old World: The origin and spread of cultivated plants in West Asia, Europe and the Nile Valley*, 3ª Edición. Oxford, Reino Unido: Oxford University press. 316 pp.





Los anexos de esta tesis doctoral se enumeran a continuación. Todos ellos están orientados a ampliar el conocimiento acerca de la problemática de *D. kuriphilus* y *T. sinensis* en el contexto del desarrollo de esta tesis, complementando sus objetivos y aportando nuevo contenido:

I. CARLES-TOLRÁ M, GIL-TAPETADO D, & NIEVES-ALDREY JL. (2019). *Parochthiphila (Euestelia) carinata* sp.n.: a new chamaemyiid species from Spain (Diptera: Chamaemyiidae) reared from galls of *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae). *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*, 64: 21-26. URL: http://sea-entomologia.org/BSEA64_Indice.pdf Página 250.

II. NIEVES-ALDREY JL, GIL-TAPETADO D, & ASKEW RR. (2020). *Mesopolobus delafuentei* sp. nov.: a new pteromalid species from Spain (Hymenoptera: Pteromalidae), with notes on other parasitoids associated with *Andricus crispator* Tscheck (Hymenoptera: Cynipidae), a gall wasp on cork oaks. En: A. Melic (ed) *40 años sin Félix. Homenaje al Dr. Rodríguez de la Fuente.*, Zaragoza (España), m3m monografías 3er cer milenio. Sociedad Entomológica Aragonesa (SEA), 10: 103-110. URL: <http://sea-entomologia.org/Publicaciones/M3M/RESUMENESm3m10.pdf> Página 256.

III. GIL-TAPETADO D, CASTEDO-DORADO F, LOMBARDERO MJ, MARTEL J, & ÁLVAREZ-ÁLVAREZ P. (2021a). Spatial propagation and patterns of abundance of *Dryocosmus kuriphilus* throughout an invaded region. *Journal of Applied Entomology*, 145(1-2): 10-25. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jen.12836> Página 264.

IV. Modelo de análisis de riesgos para la inclusión de la especie *Dryocosmus kuriphilus* en el Catálogo Español de Especies exóticas Invasoras. Página 280.

V. Modelo de argumentación científica para las propuestas de inclusión (o exclusión) de taxones en el Catálogo Español de Especies Exóticas Invasoras: *Dryocosmus kuriphilus*. Página 298.

PAROCHTHIPHILA (EUESTELIA) CARINATA SP.N.: A NEW CHAMAEMYIID SPECIES FROM SPAIN (DIPTERA: CHAMAEMYIIDAE) REARED FROM GALLS OF DRYOCOSMUS KURIPHILUS YASUMATSU (HYMENOPTERA: CYNIPIDAE)

Miguel Carles-Tolrá¹, Diego Gil-Tapetado² & José Luis Nieves-Aldrey³

¹ Avda. Príncipe de Asturias 30, ático 1, E-08012 Barcelona, Spain. diptera@outlook.com

² Dpto. de Biodiversidad, Ecología y Evolución. Facultad de Ciencias Biológicas (UCM), 28040 Madrid, Spain. diego.gil@ucm.es

³ Museo Nacional de Ciencias Naturales (CSIC). José Gutiérrez Abascal 2, 28006 Madrid (Spain). aldrey@mncn.csic.es

Abstract: The Asian chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae) is a global pest of chestnuts (*Castanea*). After being reported by the first time from Spain in 2012, the species has rapidly spread over the distribution area of wild and cultivated chestnuts in the Iberian Peninsula. Since the invasion *D. kuriphilus* has recruited *de novo* a rich community of hymenopterous parasitoids as well as other arthropods secondarily associated with the galls. Here we describe a new species of *Parochthiphila* (Diptera Chamaemyiidae), one of the dipteran species that make up the secondary fauna of arthropods associated with galls of the chestnut gall wasp. The new species was collected in the Sierra de las Nieves Natural Park, an important protected area in Andalusia (southern Spain). The new species is related to *P. stackelbergi* and the two differ by morphological external and genital characters.

Key words: Diptera, Chamaemyiidae, *Parochthiphila sp.n.*, Asian chestnut gall wasp, *Castanea*, secondary fauna of galls, Sierra de las Nieves mountains, Spain.

Parochthiphila (Euestelia) carinata sp.n.: especie nueva de camémido (Diptera: Chamaemyiidae) de España obtenida de agallas de Dryocosmus kuriphilus Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae)

Resumen: La avispa oriental asiática *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae) es una plaga global de los castaños (*Castanea*). Después de que se encontrara por primera vez en España en el año 2012, la especie se ha extendido rápidamente por la mayor parte del área de distribución de los castaños silvestres y cultivados de la Península Ibérica. Desde el comienzo de la invasión *D. kuriphilus* ha reclutado *de novo* una rica comunidad de himenópteros parasitoides, así como de otros artrópodos secundariamente asociados a sus agallas. Aquí describimos una especie nueva de *Parochthiphila* (Diptera Chamaemyiidae), una de las especies de dípteros que integran la comunidad secundaria de artrópodos en las agallas de la avispa del castaño. La especie nueva se encontró en el Parque Natural de la Sierra de las Nieves, una importante área natural de Andalucía (sur de España). La especie nueva está relacionada con *P. stackelbergi* y las dos difieren por caracteres morfológicos externos y genitales.

Palabras clave: Diptera, Chamaemyiidae, *Parochthiphila sp.n.*, avispa del castaño, *Castanea*, fauna secundaria de las agallas, Sierra de las Nieves, España.

Taxonomy/Taxonomía: *Parochthiphila (Euestelia) carinata* Carles-Tolrá **sp.n.**

Introduction

The Asian chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, 1951 (Hymenoptera, Cynipidae) is a species native of China that currently constitutes one of the more severe pests of chestnuts (*Castanea* spp) worldwide (EFSA, 2010). After being introduced in 2002 in Europe, the species arrived at Spain in 2012, recorded from galls collected in Catalonia. Since then, this alien cynipid rapidly spread towards different regions of Spain and Portugal helped by human accidental introduction (Gil-Tapetado *et al.*, 2018).

For the control of the pest, classical biological control using *Torymus sinensis* Kamijo 1982 (Hymenoptera: Torymidae), a parasitoid wasp also native of China, has been developed in European countries as Italy, France and more recently also in Spain (Nieves-Aldrey *et al.*, 2019). Besides the introduced biological control agent *T. sinensis*, *D. kuriphilus* has also recruited a rich community of parasitoids coming mainly from the parasitoid communities associated with native oak gall wasps (Cynipidae: Cynipini). These rich communities are composed mainly by chalcidoids parasitoid (Hymenoptera, Chalcidoidea), and are being currently studied by two of us (DGT and JLNA) (Gil-Tapetado *et al.*, in prep.).

Out of the primary parasitoid fauna recruited by the galls of *D. kuriphilus* in Spain, this new resource in the envi-

ronment had also attracted a rich secondary fauna of many arthropods. The secondary fauna associated to *D. kuriphilus* has received comparatively less attention and is consequently much more poorly known than the primary fauna. Taking part of a wider study of the secondary arthropod fauna associated with galls of *D. kuriphilus*, which will be published elsewhere, here we present the finding of a specimen of the family Chamaemyiidae.

The Chamaemyiidae (Diptera: Acalyptata) include small (2-5 mm), usually densely greyish, pruinose flies. Adults feed on the sweet excretion of aphids and coccids. It is very likely that larval feeding on Homoptera is a shared feature of all members of the family. The larvae are very effective predators on many aphid and coccoid pests (there are records feeding on aphid, woolly aphids, scale insects and the nymphs of gall-forming psyllid). It currently comprises more than 200 described species worldwide, with over 140 known from the Palaearctic Region. Most Chamaemyiidae are infrequently found by general collecting techniques (water traps, interception flight traps, Malaise traps...).

One of the integrant of the above-mentioned secondary fauna belongs to a new species of the genus *Parochthiphila* Czerny, 1904 and is described below.



Fig. 1. Chestnut trees in Sierra de las Nieves, close to Yunquera (Málaga Province, Spain).

The genus *Parochthiphila* is identifiable by the following combination of features: lunule bare and narrow from anterior to posterior margin; 1 pair of convergent postocellar bristles; first flagellomere elongate, upper anterior corner pointed; apical section of veins A1+CuA2 extending far beyond apex of cell cup; head in profile subquadrate; and frons with a black transverse band. This last one is the quickest and easiest character to recognize this genus.

Little is known on the biology of this genus, but the larvae are predators of coccids on the roots or leaf sheaths of grasses. Adults of *Parochthiphila* can be numerous when sweeping grassland and coastal biotopes.

This genus includes 21 Palearctic species, 11 of them have been recorded from Europe and 4 from Spain.

All the information about the family Chamaemyiidae has been obtained from Beschovski & Merz (1998), Carles-Tolrá & Báez (2002), McLean (1998) and Tanasijtshuk (1968, 1984, 1986).

Material and methods

Samplings were made from March 2017 to March 2018 in selected localities of Sierra de las Nieves, Valle del Genal, Serranía de Ronda y Sierra Blanca (Málaga Province, Spain), selected from sites with heavy infestation on chestnuts (*Castanea sativa*) by *D. kuriphilus*. Among the sampling points of Malaga, the locality of Yunquera (Fig. 1) stands out, because is situated in the Sierra de las Nieves Natural Park (proposed

and considered as a new National Park in the spring of 2019). The future National Park of Sierra de las Nieves is listed within the World Network of Biosphere Reserves due to its high richness, highlighting the Spanish fir (*Abies pinsapo*) and the mountain Portuguese oak (*Quercus faginea* var. *alpestris*). However, the knowledge and inventory of arthropod fauna of the Sierra de las Nieves is incomplete and new records and undescribed species can still be found, as is the case of this *Parochthiphila* sp.n. At least 200 galls were collected in each sampling site. Galls of *D. kuriphilus* (Fig. 2) were introduced in cardboard boxes equipped with skylight extractors and kept under room normal conditions. Boxes were checked fortnightly and the emerging insects were stored in 96% ethanol vials until study.

Results

***Parochthiphila (Euestelia) carinata* Carles-Tolrá sp.n.**
Fig. 3-18.

DESCRIPTION. Head black, dusted. Head: 1.67 times wider than high. Frons grey dusted, with two clear transverse black bands in the anterior half. Frons 0.45 width of the head. Face grey with narrow keel between antennal bases, and with a wide blackish band below the antennae. Gena narrow, with a row of peristomal bristles. Eye:gena = 4.75. Antennae completely black, only third segment yellowish at base of the arista. Arista bicolored, whitish, base blackish. Proboscis



2



3



4

Fig. 2. Galls of *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu on *Castanea sativa*. **Fig. 3, 4.** Habitus of *Parochthiphila* (*Euestelia*) *carinata* sp.n. in dorsolateral and lateroventral view, respectively.

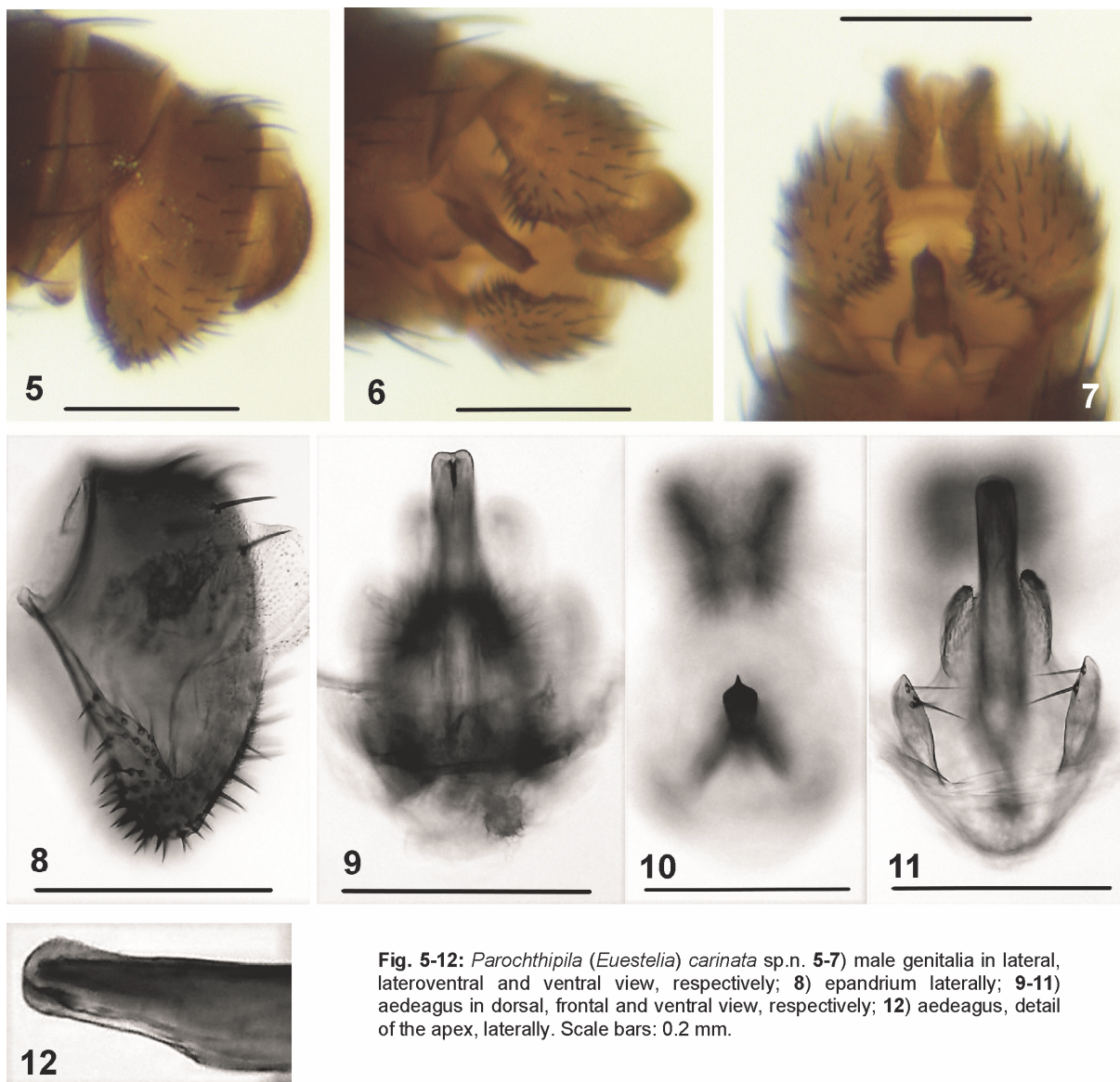


Fig. 5-12: *Parochthipila (Euestelia) carinata* sp.n. **5-7)** male genitalia in lateral, lateroventral and ventral view, respectively; **8)** epandrium laterally; **9-11)** aedeagus in dorsal, frontal and ventral view, respectively; **12)** aedeagus, detail of the apex, laterally. Scale bars: 0.2 mm.

short, yellowish; palpi short, dilated apically, blackish. Chaetotaxy: 1 ocellar, 2 fronto-orbitals, 1 outer vertical, 1 inner vertical, 1 postocellar.

Thorax: black with bluish reflections, grey dusted. Scutum: stripes absent. Anepisternum bare. Chaetotaxy: 1 postpronotal, 1 presutural supra-alar, 2 notopleurals, 1 postsutural supra-alar, 2 postalars, 0+2 dorsocentrals, 4 rows acrostichals anteriorly and 2 rows acrostichals posteriorly (last pair acrostichals situated between anterior and posterior dorsocentrals), prescutellar acrostichals absent, anepisternals absent, 2 katepisternals (anterior very short), 2 pairs scutellars (apicals longer).

Wing clear, veins brownish, distance between R-M and dM-Cu twice the length of dM-Cu. Halteres white.

Legs bicolored: femora brown, apices yellow. Tibiae yellow, hind tibia with a preapical brown ring. Tarsi yellow, fore tarsi: segments 2-5 darkened, mid and hind tarsi: segments 3-5 darkened.

Abdomen: blackish, with bluish reflections, tergites without spots.

Genitalia brown (Fig. 3-5): epandrium haired (Fig. 5), with distinct anteroventral spine-like setae (Fig. 6, 7); pregonite broad apically (Fig. 14); postgonite blackish apically

(Fig. 5-7, 15); aedeagus slightly curved distally (Fig. 13), apex tapered (Fig. 12, 13), with a distinct apicodorsal keel (carina) (Fig. 9, 10, 12, 13).

Length: 2.5 mm.

Female unknown.

TYPE MATERIAL: Holotype male: Spain: Málaga, Yunquera, 27.7.2017 (gall), 1-15.8.2017 (fly), 846 m asl, 36.731517, -4.943083, *Ex gall D. kuriphilus* on *C. sativa*, J.L. Nieves leg. Holotype preserved in alcohol (70°) and deposited in the private collection of the first author.

DISCUSSION: according to the key to Palaearctic *Parochthiphila* by Tanasijtshuk, 1986, the new species belongs to subgenus *Euestelia* Enderlein, 1927 (anepisternal setae and clear stripes on scutum absent) and to *nigripes* species-group (2-3 dorsocentrals). *Parochthiphila (Euestelia) carinata* sp.n. keys out to *P. (E.) stackelbergi* Tanasijtshuk, 1968. The new species clearly differ from the following features of *P. (E.) stackelbergi* (Tanasijtshuk, 1968, 1986): 1+2 dorsocentrals (Fig. 19: 150), hind tibia with very light bands or without them, epandrium haired, without spine-like setae (Fig. 19: 145), postgonites not blackish apically (Fig. 19: 146) and

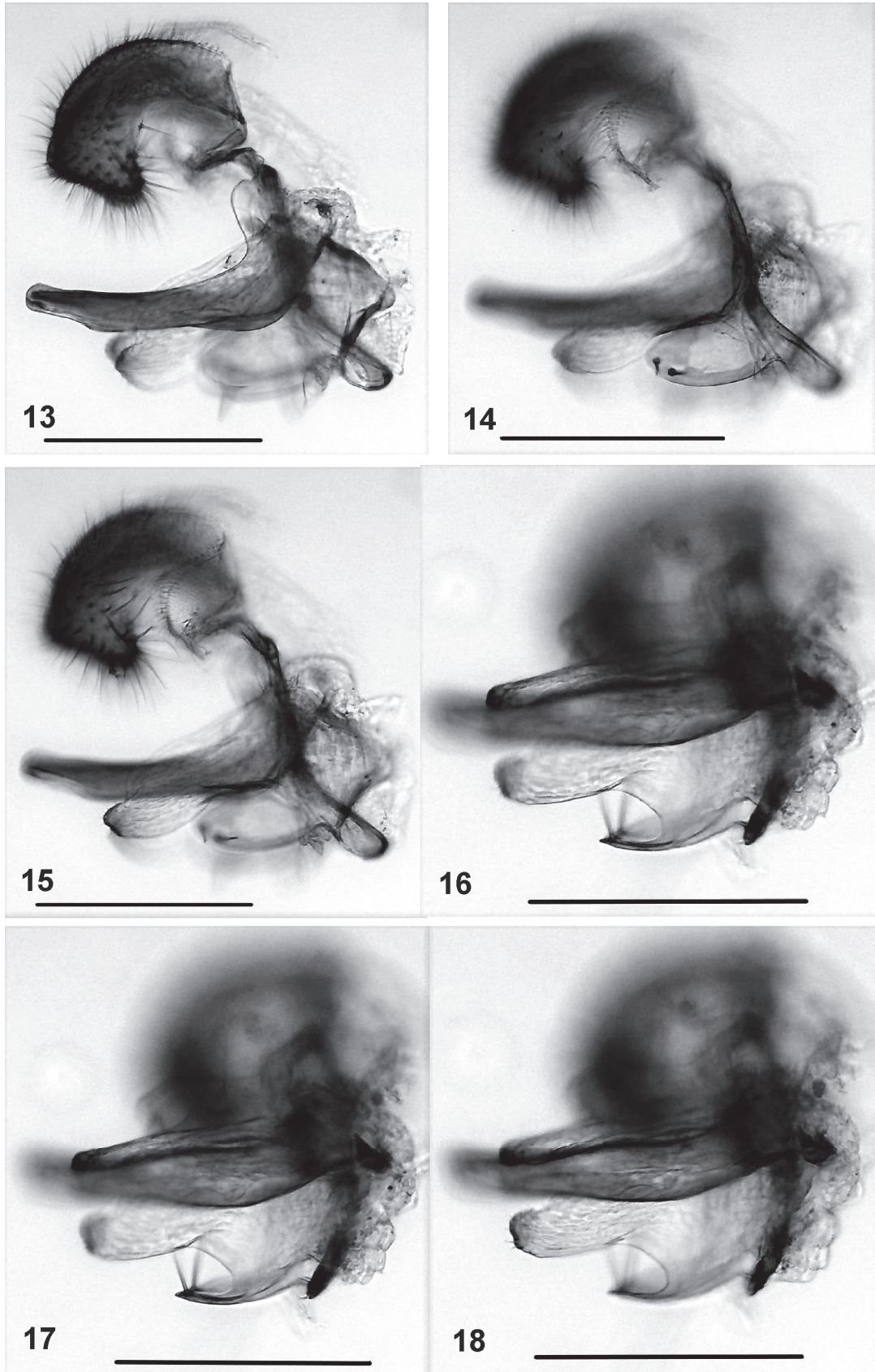


Fig. 13-18: *Parochthipila (Euestelia) carinata* sp.n. **13-15)** aedeagal complex laterally: **13)** aedeagus in focus; **14)** pregonite in focus; **15)** postgonite in focus; **16-18)** aedeagal complex lateroventrally: **16)** gonites in focus; **17)** pregonite in focus; **18)** postgonite in focus. Scale bars: 0.2 mm.

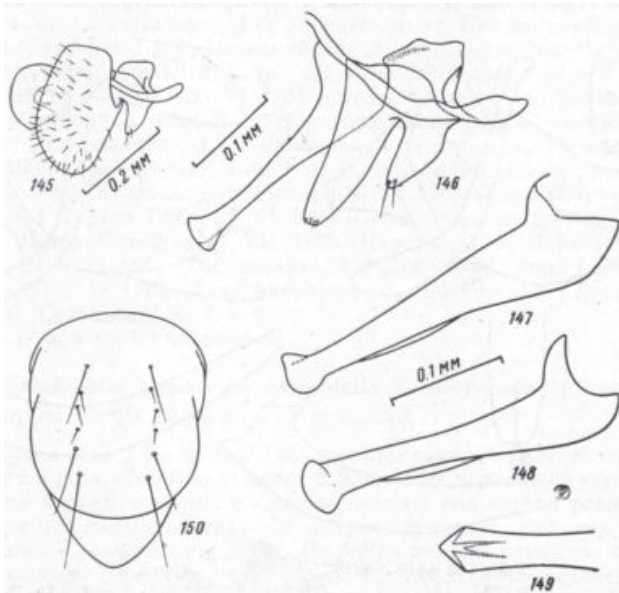


Fig. 19: *Parochthiphila (Euestelia) stackelbergi* Tanasijtshuk. 145) genitalia, 146) aedeagal complex, 147, 148) aedeagus, 149) apex of aedeagus, 150) thorax. (after Tanasijtshuk, 1986).

aedeagus apically characteristically expanded (Fig. 19: 146-148) and pointed (Fig. 19: 149).

ETYMOLOGY: the specific name refers to the apical keel (carina) of the aedeagus. Carinatum (Latin) = keel.

BIOLOGY: unknown, but reared from a gall of *D. kuriphilus*. The gall was collected on 27 July 2017 and the fly emerged the first fortnight of August 2017. The presence of this *Parochthiphila* as secondary fauna of this alien cynipid is hypothetically due to the Homoptera larval depredation, being these species associated to the *D. kuriphilus* galls on chestnut trees.

DISTRIBUTION: hitherto only known from Sierra de las Nieves in southern Spain.

Acknowledgements

The first author is greatly indebted to Olavi Kurina (Estonian University of Life Sciences, Tartu, Estonia) for his invaluable help translating Russian text to English. This study was financed by an Encomienda de Gestión from MAPAMA to Agencia Estatal CSIC, 16MNES003 awarded to JLNA and DGT. The senior author thanks Pilar Rodríguez Rojo for her great assistance in the samplings.

References

- BESCHOVSKI, V.L. & B. MERZ 1998. Contribution to the knowledge of the Chamaemyiidae (Diptera), with particular reference to the fauna of Switzerland. *Bull. Soc. Ent. Suisse*, **71**: 83-106.
- CARLES-TOLRÁ, M. & M. BÁEZ 2002. Chamaemyiidae: 151. In: Carles-Tolrá Hjorth-Andersen, M. (coord.): Catálogo de los Díptera de España, Portugal y Andorra (Insecta). *Monografías S.E.A.*, **8**: 323 pp. Reference available at www.sea-entomologia.org
- EFSA (European Food Safety Authority) 2010. Risk assessment of the oriental chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* for the EU territory and identification and evaluation of risk management options. *EFSA Journal*, **8**: 16-19.
- Gaimari, S.D. 2013. Fauna Europaea: Chamaemyiidae. In: Beuk, P. & Pape, T. (eds.): *Fauna Europaea: Diptera Brachycera. Fauna Europaea version 2.6.2*. <http://www.fauna-eu.org>.
- GIL-TAPETADO, D., J.F. GÓMEZ, F.J. CABRERO-SAÑUDO & J.L. NIEVES-ALDREY 2018. Distribution and dispersal of the invasive Asian chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus*, across the heterogeneous landscape of the Iberian Peninsula. *European Journal of Entomology*, **115**: 575-586.
- MCLEAN, I.F.G. 1998. 3.40. Chamaemyiidae: 415-423. In Papp, L. & Darvas, B. (eds.): *Contributions to a Manual of Palaearctic Diptera (with special reference to flies of economic importance)*. Volumes 3: Higher Brachycera. Science Herald, Budapest. 880 pp.
- NIEVES-ALDREY, J.L., D. GIL-TAPETADO, O. GAVIRA, J.R. BOYERO, C. POLIDORI, M.J. LOMBARDEO, D. BLANCO, C. REY DEL CASTILLO, M.P. RODRÍGUEZ-ROJO, J.M. VELA & E. WONG 2019. *Torymus sinensis* Kamijo, a biocontrol agent against the invasive chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu in Spain: its natural dispersal from France and the first data on establishment after experimental releases. *Forest Systems*, **28** (1): pp. <https://doi.org/10.5424/fs/2019281-14361>
- TANASIJTSHUK, V.N. 1968. Palaearctic species of the genus *Parochthiphila* (Diptera, Chamaemyiidae). *Ent. Obozr.*, **47**(3): 388-398.
- TANASIJTSHUK, V.N. 1984. Family Chamaemyiidae: 220-232. In Soós, A. and Papp, L. (eds.): *Catalogue of Palaearctic Diptera. Volume 9. Micropezidae-Agromyzidae*. Elsevier Sci. Publ., Amsterdam & Akadémiai Kiadó, Budapest. 460 pp.
- TANASIJTSHUK, V.N. 1986. Chamaemyiidae. *Fauna USSR*, **14**(7): 1-336. *Acad. Sci. USSR Zool. Inst., New Series*, **134**. (in Russian).

MESOPOLOBUS DELAFUENTEI SP. NOV.: A NEW PTEROMALID SPECIES FROM SPAIN (HYMENOPTERA: PTEROMALIDAE), WITH NOTES ON OTHER PARASITIDS ASSOCIATED WITH *ANDRICUS CRISPATOR* TSHECK (HYMENOPTERA: CYNIPIDAE), A GALL WASP ON CORK OAKS

José Luis Nieves-Aldrey¹, Diego Gil-Tapetado² & Richard Askew³

¹ Museo Nacional de Ciencias Naturales (CSIC). José Gutiérrez Abascal 2, 28006 Madrid (Spain). aldrey@mncn.csic.es

² Dpto. de Biodiversidad, Ecología y Evolución. Facultad de Ciencias Biológicas (UCM), 28040 Madrid, Spain. diego.gil@ucm.es

³ Le Bourg, St Marcel du Périgord, 24510 Ste Alvère, France. olynx@btinternet.com

Abstract: A new species of *Mesopolobus* von Rosen: *Mesopolobus delafuentei* sp. nov. Nieves-Aldrey & Askew (Hymenoptera: Pteromalidae) is described from southern Spain. The new species is a parasitoid, reared from galls of the oak gall wasp *Andricus crispator* Tscheck (Hymenoptera: Cynipidae), a cynipid that induces galls on young offshoots of the cork oak (*Quercus suber* [Fagaceae]). The species is dedicated to the memory of **Dr. Félix Rodríguez de la Fuente** a pioneer of wildlife conservation in Spain. The singularity of the new species within *Mesopolobus*, it is here included in the genus with some doubts, is emphasised and discussed. Additionally, we give data on the poorly studied parasitoid community associated with the galls of *A. crispator* in Spain and it is compared to published data from other countries. From galls collected at two sites in Andalusia and two in Galicia, seven species from five families of Chalcidoidea were reared.

Key words: Hymenoptera, Pteromalidae, Cynipidae, gall wasps, parasitoids, new species, *Quercus suber*, Spain.

Mesopolobus delafuentei sp. nov.: especie nueva de pteromárido (Hymenoptera: Pteromalidae) de España, con notas sobre otros parasitoides asociados con la avispa de las agallas del alcornoque *Andricus crispator* Tscheck (Hymenoptera: Cynipidae)

Resumen: Se describe una nueva especie de *Mesopolobus* Von Rosen del sur de España: *Mesopolobus delafuentei* sp. nov. Nieves-Aldrey & Askew (Hymenoptera: Pteromalidae). La nueva especie es un parasitoides en agallas del cinípido *Andricus crispator* Tscheck (Hym., Cynipidae) en el alcornoque (*Quercus suber* [Fagaceae]) y está dedicada al **Dr. Félix Rodríguez de la Fuente**, pionero de la conservación de la naturaleza en España. Se discute la singularidad de la nueva especie dentro del género *Mesopolobus*, explicando que se incluye en dicho género con ciertas dudas. Por otra parte, se aportan por primera vez datos de la comunidad de Chalcidoidea parasitoides asociados a *Andricus crispator* en España y se comparan con los datos publicados de otros países. De agallas colectadas en dos localidades de Andalucía y dos de Galicia se aporta una lista de siete especies de calcidoideos de cinco familias.

Palabras clave: Hymenoptera, Pteromalidae, Cynipidae, avispas de las agallas, parasitoides, especie nueva, *Quercus suber*, España.

Taxonomy / Taxonomía: *Mesopolobus delafuentei* Nieves-Aldrey & Askew sp. nov.

Introduction

In the frame of a large study assessing the environmental impact of the release of *Torymus sinensis* Kamijo, 1982 (Hymenoptera: Torymidae) against the Asian chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, 1951 (Hymenoptera: Cynipidae), samples of the parasitoid communities associated with native gall wasps were collected in areas where *T. sinensis* was released, mainly in Galicia and Andalusia (Nieves-Aldrey & Gil-Tapetado, 2019). One of the native cynipid species sampled was *Andricus crispator* Tscheck, 1871, a rare species only quite recently found in Spain (Nieves-Aldrey, 2001, 2009). *Andricus crispator* is sparsely recorded, with a predominantly circummediterranean distribution extending east to Jordan and Iran, but with some additional records from central Europe: Austria, Hungary, and also the Netherlands. In most of its distribution area its host plant is Turkish oak (*Quercus cerris* L.) (Fagaceae), with the exceptions of Iran, where it develops on *Quercus castaneifolia* C.A Von Meyer, and in Spain and North Africa (Tunisia) where the host plant is cork oak (*Quercus suber* L.).

Galls of *A. crispator* (Figs 3E, 3F, 3G) are formed on both sides of the leaves and consist of gregarious, oval, individual cells (about 2.5 mm diameter), covered with radiating hairs, and resulting in noticeable deformation of the leaf. In Spain, the galls of *A. crispator* are peculiar because they always develop on first shoots, or very young plants, of the cork oak, and so are found only close to the ground. In this respect the galls are unique among those of all other gall wasps associated with *Quercus suber*. As happens with other oak gall wasps, the situation occupied by the gall is an important factor in determining the composition of its parasitoid fauna (Askew, 1961), and galls developing in specialized situations may attract a relatively specific associated parasitoid fauna.

The parasitoid community associated with *A. crispator* is relatively poorly known, with just a few records from the populations of *A. crispator* mainly in Hungary (Askew *et al.*, 2013). However, records of parasitoids from Spain, because of the relative rarity of *A. crispator*, are virtually absent. The genus *Mesopolobus* is one of the largest genera of Pteromalidae: Pteromalinae with about 130 described species world-wide, the great majority distributed in the Holarctic Region (Noyes, 2014). In the parasitoid community associated with oak gall wasps in the West Palaearctic, *Mesopolobus* is one of the major components (Askew *et al.*, 2013). Ten of the 12 species recorded from this region have also been reported from the Iberian Peninsula (Nieves-Aldrey [1983], Garrido & Nieves-Aldrey [1990, 1999], Gómez *et al.* [2006]).

The objective of this work is to contribute the first comprehensive data on the parasitoid community associated with galls of *Andricus crispator* in Spain, including the description of a new species of pteromalid that is here described within the genus *Mesopolobus*. The species honours the memory of **Dr. Félix Rodríguez de la Fuente** on the centenary of his birth. **Dr Rodríguez de la Fuente** is one of the people who contributed most to the conservation of wildlife in Spain and he was a model for a whole generation of biologists and naturalists in this country.

Material and Methods

Collecting and Rearing

Material was collected at sampling sites in two regions of Spain, both with a mixture of sweet chestnuts (*Castanea sativa* Mill.) and cork oaks (*Quercus suber*): Valle del Genal (Málaga, Andalusia, southern Spain), and Galicia (northwestern Spain). Galls were collected in both regions during several visits between April 2018 and February 2019. Galls of *A. crispator* were collected, stored in rearing cages equipped with skylight extractors and maintained in indoor room conditions. They were checked daily until emergence of adult insects had ceased.

Specimen Preparation

For observation under a scanning electron microscope (SEM), the specimens were dissected in 96% ethanol, air dried, mounted on a stub and coated with gold. Micrographs were taken by a FEI QUANTA 200 microscope (high vacuum technique) for several standardized views. The forewings were mounted on slides in Euparal and were later examined under a Wild MZ8 stereo microscope. Images of the adult habitus and gall dissections were taken with a NIKON Coolpix 4500 digital camera attached to a Wild MZ8 stereomicroscope. Measurements were performed with a calibrated micrometer scale attached to an ocular of the light microscope. The terminology of morphological structures and abbreviations follows Graham (1969). Measurements and abbreviations used include the following: the post-ocellar distance (POL) is the distance between the inner margins of the posterior ocelli; the ocellar-ocular distance (OOL) is the distance from the outer edge of a posterior ocellus to the inner margin of the compound eye. Fn refers to a segment of funicle and Cn to a segment of the clava. Tn refers to the tergites of the gaster.

Results

Mesopolobus delafuentei Nieves-Aldrey & Askew sp. nov.

Figs 1-3.

DESCRIPTION. Female (holotype) (Fig. 1A). Length 1.9 mm. Head and mesosoma green to green-blue, distinctly blue dorsally; gaster dark green with bluish green tints laterally, T1 dorsally shining bluish green except for a broad, purple-black posterior border, T2-T6 purplish black, T7 dark bluish green. Antenna with scape and pedicel mostly pale yellow, the pedicel faintly brownish dorsally; flagellum pale brown, the anelli and funicle segments ventrally yellowish. Eyes red. Mandibles and palps mostly pale yellow, the mandibular teeth brown. Coxae coloured as thorax, legs otherwise pale yellow, meso-

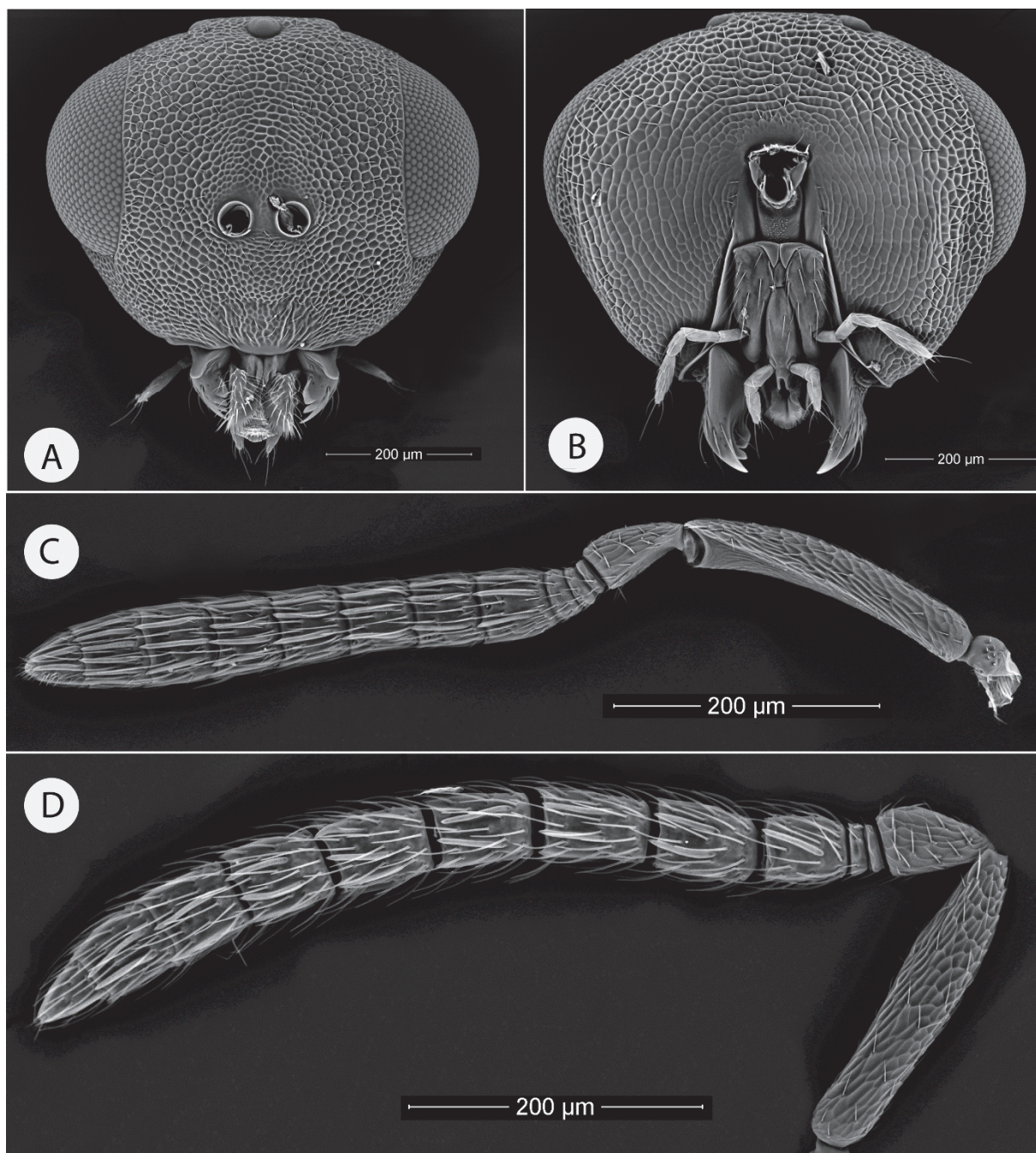


Fig. 1: *Mesopolobus delafuentei* sp. nov., **A)** female head, anterior view; **B)** head posterior view; **C)** female antenna; **D)** male antenna.

and metafemora basally and dorsally weakly brownish, pretarsi and most of fifth tarsal segments fuscous. Wings clear, fore wing with a faint fuscous streak descending from the stigma; venation pale testaceous except contrastingly brown parastigma and stigmal vein. Tegula pale yellow.

Head 1.15x as broad as mesoscutum, in dorsal view 2.25x as broad as long; temple 0.25x as long as eye; POL 1.8x OOL; interocular distance two-thirds of head breadth; occiput not margined. Head in front view (Fig. 1A) 1.3x as broad as high, genae slightly buccate; eyes separated by 1.38x their height; toruli with lower margins just above level of lower orbits but much further from lower margin of anterior ocellus than from anterior margin of clypeus (19 : 11); malar space slightly greater than half the height of an eye; oral fossa 1.7x malar space; malar sulcus faintly defined with a very small suborbital fovea; clypeus with reticulate sculpture and only a few weak and irregular striae laterally which scarcely extend onto the face, anterior margin of clypeus very slightly produced without emargination. Left mandible with 3 teeth, right with 4 teeth. Antenna (Fig. 1C) with scape reaching only to lower edge of anterior ocellus, about 6x as long as broad, weakly curved; pedicel plus flagellum 0.8x as long as width of head; pedicel in profile about twice as long as apical depth and about 0.85x as long as anelli

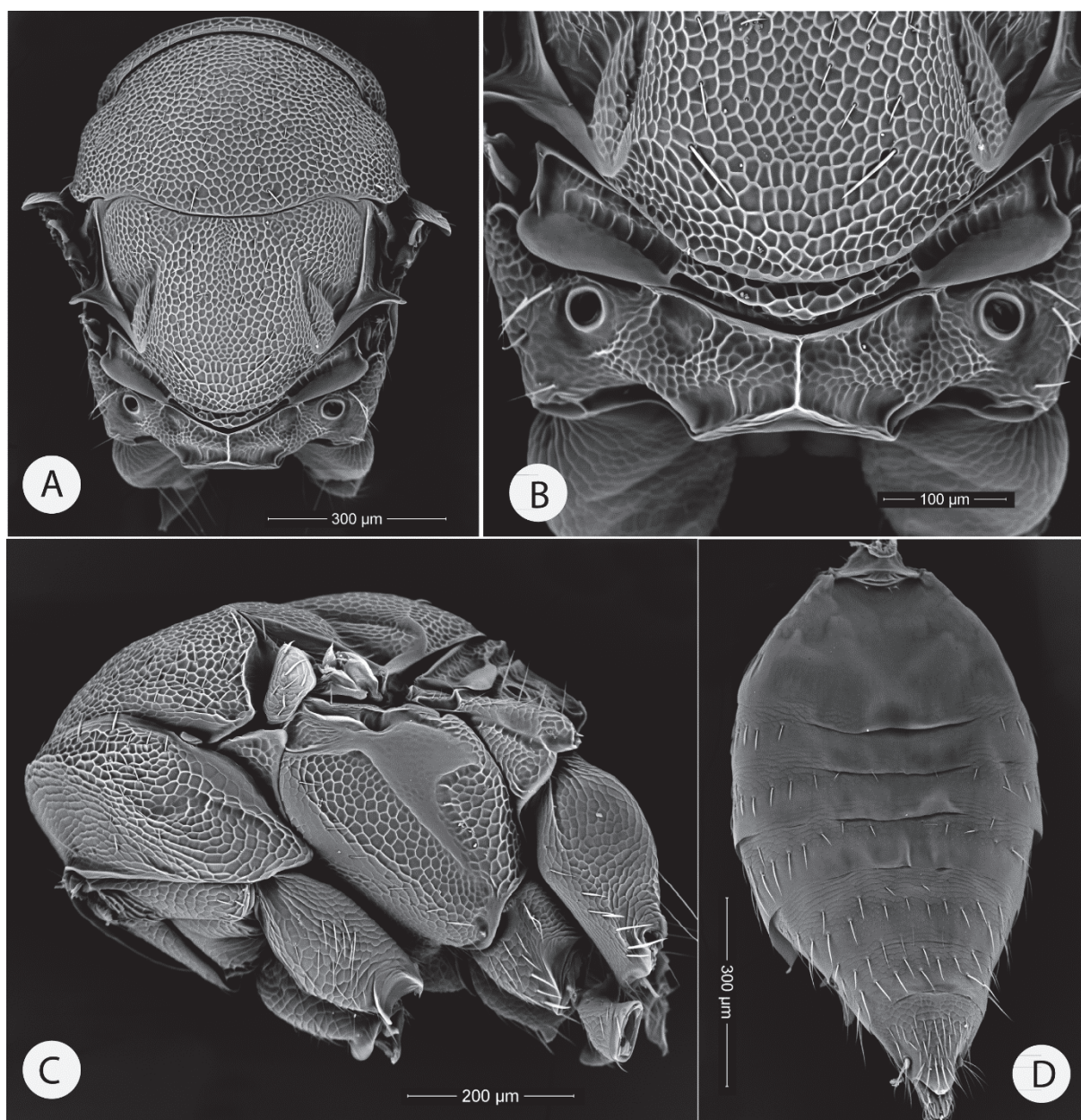


Fig. 2: *Mesopolobus delafuentei* sp. nov. female. **A)** mesosoma dorsal view; **B)** propodeum; **C)** mesosoma lateral view; **D)** metasoma dorsal view.

plus F1; flagellum fusiform comprised of 3 anelli, 5 funicle segments and 3 claval segments; first anellus discoid about 4x as broad as long, third anellus about 2.5x as broad as long and about as broad as pedicel; F1 subquadrate, broader than pedicel (17 : 12), F2 to F5 subequal in length but slightly broadening progressively so that F5 is about 1.2x as broad as long; clava scarcely broader than F5, somewhat shorter than combined length of F3 to F5 (43 : 48); C3 with a small ventral pad of micropilosity; placoid sensilla in a single, even, transverse row on each funicle and claval segment, each reaching slightly beyond the apex of its segment; setation on flagellum rather sparse and adpressed.

Mesosoma almost 1.7x as long as broad. Pronotum descending almost vertically to the neck, collar narrower than mesoscutum, short, medially only about one-fifteenth of length of mesoscutum, its anterior edge sharp and slightly raised in the middle, with strongly raised reticulate sculpture and a transverse row of short setae but without a smooth and shiny strip along its posterior margin (Figs. 2A, 2C). Mesoscutum (Fig. 2A) 1.6x as broad as long, strongly and rather coarsely reticulate on disc with rather smaller areoles laterally, with a few shallow, piliferous punctures and sparsely distributed, decumbent, white setae which are only slightly longer than diameter of the areoles excepting a pair of longer setae subapically; scutellum about 1.1x as long as broad, reticulately sculptured much as mesoscutum and axillae except for a short, median, wedge-shaped longitudinal band of smaller areoles anteriorly and a frenum defined by larger areoles but without a frenal groove; dorsellum with coarse,

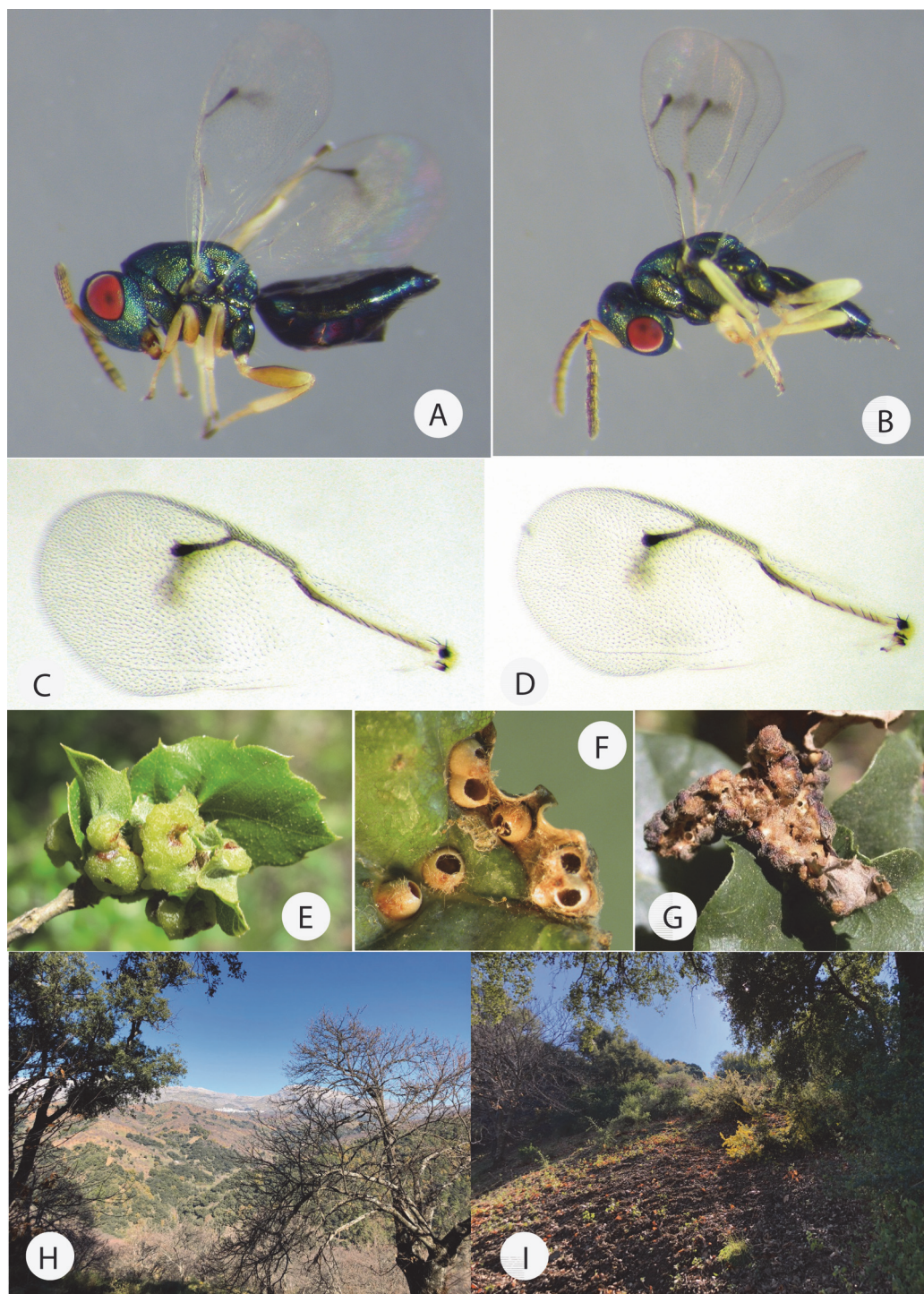


Fig. 3. A-D: *Mesopolobus delafuentei* sp. nov. **A)** female habitus; **B)** male habitus; **C)** forewing female; **D)** forewing male. **E-G):** fresh and old galls of *Andricus crispator* on *Quercus suber*. **H-I):** the type locality (Málaga, Pujerra), mixed forest of cork oaks, algerian oaks and sweet chestnuts.

irregular reticulate sculpture. Propodeum (Fig. 2B) medially about one-quarter the length of the scutellum, nucha short; median area 2.8x as broad as long with reticulate panels and almost straight median carina, plicae developed only anteriorly; spiracle large and rounded, at least half as long as the median carina and separated from metanotum by less than half of its diameter. Postspiracular sclerite reticulate. Mesepisternum with upper triangular part almost smooth and ventral extension with very faint and hardly raised sculpture (Fig. 2C). Metafemur rather swollen, about 3x as long as wide.

Fore wing lengths costal cell: marginal vein : stigmal vein: postmarginal vein as 100 : 43 : 39 : 43; costal cell bare on upper surface, lower surface with apical one-third setose and one complete setal row extending almost to the base; basal fold with 2 or 3 setae only, basal cell bare; speculum large, extending beyond middle of marginal vein and open below (Fig. 3C).

Metasoma (Fig. 2D) obovate, as long as head plus mesosoma and almost as broad as mesoscutum (14:15), 1.8x as long as broad; T1 occupying about one-sixth of gaster length, its posterior margin straight; tip of hypopygium at about two-thirds gaster length; ovipositor sheath slightly projecting.

Male (Fig. 3B). Length 1.5 – 1.7 mm. Colouration much as female except body mostly green with reduced blue tints, femora and tibiae almost entirely pale yellow, and the dark fascia behind the stigma of the forewing is sometimes more strongly developed. Gaster without a pale subbasal band or spot (Fig. 3B). Antennal scape with upper three-quarters slightly swollen; pedicel plus flagellum relatively longer, 1.5x head breadth; pedicel about as long as first three flagellar segments; flagellum filiform (Fig. 1D), composed of 2 transverse anelli, 6 funicle and 3 claval segments, F1 broader than pedicel and about as long or slightly longer than broad, F2 slightly longer than broad, F3 - F6 1.4 to 1.6x as long as broad; clava slightly longer than combined lengths of F5 and F6; sensilla on funicle and claval segments in a single, sparse, transverse row with short setae standing out at about 35° to 40°. Middle legs, wings (Fig. 3D) and maxillary palps all apparently without the secondary sexual characters seen in some other species of *Mesopolobus*. Gaster fully twice as long as broad; petiole short, transverse and almost smooth.

VARIATION: The fuscous streak beneath the stigma (Figs 3C, 3D) on the fore wing of both sexes is variable in expression and is sometimes faint.

TYPE MATERIAL: The female holotype and all other material seen (140 females, 78 males) are from a single reared collecting event: SPAIN; Andalucía, Málaga, Pujerra, 36° 22' 37.56'' N, 5° 50' 42.72 W, 691m. (Figs 3H, 3I), ex galls *Andricus crispator* Tschek, 1871 (sexual generation) (Hymenoptera: Cynipidae) on *Quercus suber* L., collected 8.ii.2019 (J.L. Nieves-Aldrey). Holotype and 40 paratypes (20 females, 20 males) are deposited in MNCN (Madrid), 2 female and 3 male paratypes in Askew's personal collection. Remaining material is in MNCN. 1 male, 2 females dissected for SEM observation and mounted on stubs included in the type series.

ETYMOLOGY: The first author is honored to describe this species after **Dr. Félix Rodríguez de la Fuente**, naturalist, excellent communicator and pioneer of conservation in Spain, a figure who knew how to awaken in me, as in many other young Spaniards of the time, an early vocation for zoology, and love and fascination for Nature.

DISCUSSION: *Mesopolobus delafuentei* has an unusual combination of characters. It runs quite readily to *Mesopolobus* Westwood in Graham's (1969) keys (both sexes) to genera of European Pteromalinae, but not in the key of Bouček & Rasplus (1991), or that of Bouček & Heydon (1997) to American pteromalid genera. The combination of possessing 3 anelli and 5 funicle segments in the female (but 2 and 6 in the male), low antennal insertion only just above lower eye level, 3 left and 4 right mandibular teeth and the absence of distinct striate sculpture on clypeus and lower face are a suite of characters shared by several species of *Mesopolobus*, but the absence of distinct reticulate sculpture on mesepisternum, relatively short marginal vein scarcely longer than the stigmal vein and a fascia behind the stigma, entire and weakly produced clypeal margin, and a very short propodeum with incomplete plicae, large rounded spiracles and irregularly reticulate median area, are together distinctive. Notably the male lacks middle leg ornamentation and a pale subbasal gastral fascia. *Mesopolobus delafuentei* cannot easily be assigned to any described subgenus of *Mesopolobus*.

The female of *M. delafuentei* runs, in Graham's (1969) key to females of *Mesopolobus* species, only as far as couplet 15. Here it presents a combination of characters in the two alternatives, having a mesoscutum that is 1.6x as broad as long and punctures (although these are very shallow) together with a mesosoma 1.7 times as long as broad. In Graham's (1969) key to males of *Mesopolobus*, the male *M. delafuentei* runs out at *M. incultus* (Walker, 1834) which it resembles in having a relatively short marginal vein, clypeus and face not striate, and pale femora. The antenna of *M. incultus*, however, has only five funicle segments with flagellar segment 3 anelliform, the propodeal spiracles of *M. incultus* are oval and comparatively small, the venation of *M. incultus* is uniformly pale testaceous, the oral fossa of *M. incultus* is narrower than that of *M. delafuentei*, and there are many other differences between the two species.

Von Rosen studied European *Mesopolobus* species in detail (eg. Rosen, 1958), but there is no indication in any of his papers that he had encountered *M. delafuentei*. We are forced to the conclusion that *M. delafuentei* is a previously undescribed species. Its assignment to the genus *Mesopolobus* is done with less confidence.

BIOLOGY: Known only as a parasitoid in galls of *A. crispator* (sex. gen.) on *Q. suber* in which it most probably had developed upon the gall inducer, although like other species of *Mesopolobus* associated

with cynipid oak galls, it is probably polyphagous and able to develop as a primary parasitoid of the host cynipid and also as a secondary parasitoid through other chalcidoid parasitoids (Askew, 1961). It should be noted that all of our material came from a single sample of galls collected in February at Pujerra (Málaga). No specimens emerged from a sample collected at the same site in May, or from other sites in Andalusia, or in Galicia.

The chalcidoid community associated with galls of the sexual generation of *Andricus crispator* in Spain

Details of five collections of sexual galls of *Andricus crispator* from *Quercus suber* at four localities in Spain, two in the south (Pujerra and Algatocín, Málaga, Andalusia) and two in the north-west (Trelle and Robledo da Lastra, Ourense, Galicia), are shown in Table I, including numbers of emergent host cynipids and associated Chalcidoidea.

Table I. Collections of sexual galls of *Andricus crispator* from *Quercus suber* at four localities in Spain

Collection No.	1	2	3	4	5
Site	Pujerra	Pujerra	Algatocín	Trelle	Robledo da Lastra
Date of collection	10.v.2018	8.ii.2019	10.iv.2017	12.vi.2018	13.vi.2018
Number of galls	28	60	4	19	4
Emergences:					
CYNIPIIDAE					
<i>Andricus crispator</i>	131♀47♂	–	1♀	–	3♂
PTEROMALIDAE					
<i>Mesopolobus dubius</i>	–	–	–	6♀ 3♂	1♂
<i>M. mediterraneus</i>	1♀	–	–	1♀ 1♂	–
<i>M. dela Fuentei</i> sp. nov.	–	141♀78♂	–	–	–
TORYMIDAE					
<i>Liodontomerus</i> sp.	–	1♂	–	–	–
ORMYRIDAE					
<i>Ormyrus pomaceus</i>	–	1♂	–	–	–
EUELMIDAE					
<i>Eupelmus (Macroneura) vesicularis</i> aggregate	–	3♂	–	–	–
EULOPHIDAE					
<i>Aulogymnus arsames</i>	–	21♀6♂	–	–	–
<i>A. balani</i>	2♀	–	–	–	–
<i>Pediobius rotundatus</i>	15♀	–	–	–	–

None of our gall collections is large and two are very small, but four of the collections together produced chalcidoid parasitoids belonging to five families. The largest sample, 60 galls, collected in February at Pujerra yielded the most chalcid individuals and species, including 219 *Mesopolobus dela Fuentei* together with 27 *Aulogymnus arsames* (Walker, 1833), 3 *Eupelmus (Macroneura) vesicularis* aggregate (Retzius, 1783) and singletons of a *Liodontomerus* species and *Ormyrus pomaceus* (Geoffroy, 1785). This is the only collection in which any of these species was found. From the other Pujerra sample, collected in May, 178 gall wasps emerged plus 15 *Pediobius rotundatus* (Fonscolombe, 1832), two *Aulogymnus balani* Pujade-Villar, 1991 and a single *Mesopolobus mediterraneus* (Mayr, 1903). From the limited data available, it would seem that sexual generation galls of *A. crispator* are especially liable to support species of *Mesopolobus*.

Previous to the present study, data on the parasitoid inhabitants of *A. crispator* galls were almost exclusively from collections made in Austria and Hungary from *Q. cerris* L. (Askew *et al.*, 2013). Comparing the eastern European data to that from Spain (Table I), but excluding *M. dela Fuentei*, *A. arsames* contributes 63% of 440 chalcidoids reared in eastern Europe and 43.5% of 62 chalcidoids in Spain, and all *Aulogymnus* (five species) comprise 78% of the chalcidoids in eastern Europe whilst two species contribute 47% in Spain. Similarly, four species of *Mesopolobus* make up 17% of all chalcidoids in eastern Europe and, without *M. dela Fuentei*, two species comprise 21% in Spain. *Pediobius rotundatus* has a Mediterranean – Middle Eastern range and is common in the Iberian Peninsula as a parasitoid, especially in galls of *Plagiotrochus* Mayr, 1881; it is not known from Austria or Hungary.




Acknowledgements

This study was granted by an Encomienda de Gestión from MAPAMA to Agencia Estatal CSIC, 16MNES003 awarded to JLNA. We thank María Pilar Rodríguez for assisting with field work and sampling.

References

- Askew, R.R. 1961. A study of the biology of species of the genus *Mesopolobus* Westwood (Hymenoptera: Pteromalidae) associated with cynipid galls on oak. *Transactions of the Royal Entomological Society of London*, **113**: 155-173.
- Askew, R.R., G. Melika, J. Pujade-Villar, K. Schönrogge, G.N. Stone & J.L. Nieves-Aldrey 2013. Catalogue of parasitoids and inquilines in cynipid oak galls in the West Palaearctic. *Zootaxa*, **3643** (1): 1-133.
- Bouček, Z. & S.L. Heydon 1997. Pteromalidae, in *Annotated Keys to the Genera of Nearctic Chalcidoidea (Hymenoptera)*. G.A.P. Gibson, J.T. Huber, J.B. Woolley (eds), NRC Research Press, Ottawa, 794 pp.
- Bouček, Z. & J.-Y. Rasplus 1991. Illustrated key to West-Palaearctic genera of Pteromalidae (Hymenoptera: Chalcidoidea). INRA, Paris, 140 pp.
- Garrido Torres, A., & J. L. Nieves-Aldrey 1990. Catálogo actualizado de los pteromálidos de la Península Ibérica e Islas Baleares (Hym., Chalcidoidea, Pteromalidae). *Boln. Asoc. esp. Entom.*, **14**: 71-87.
- Garrido Torres, A. & J.L. Nieves-Aldrey 1999. Pteromálidos de la Comunidad de Madrid: faunística y catálogo. *Graellsia*, **55**: 9-147
- Gómez, J. F., M. Hernández Nieves, A. M. Garrido Torres, R. R. Askew & J.L. Nieves-Aldrey 2006. Los Chalcidoidea (Hymenoptera) asociados con agallas de cinípidos (Hymenoptera, Cynipidae) en la Comunidad de Madrid. *Graellsia*, **62** (nº extr.): 293-331.
- Graham, M.W.R. de V. 1969. The Pteromalidae of north-western Europe (Hymenoptera: Chalcidoidea). *Bulletin of the British Museum (Natural History) Entomology*, supplement, **16**: 1-908.
- Nieves-Aldrey, J. L. 1983. Sobre las especies de *Mesopolobus* (Hym., Pteromalidae) asociadas con agallas de cinípidos en *Quercus spp.* de Salamanca. *Boln. Asoc. Esp. Entom.*, **7**: 9-18.
- Nieves-Aldrey, J. L. 2001. *Hymenoptera, Cynipidae*, pp. 1-636 In: M. A. Ramos, J. Alba-Tercedor, X. Bellés-i-Ros, J. Gosálbez-i-Noguera, A. Guerra-Sierra, E. Macpherson-Mayol, F. Martín-Piera, J. Serrano-Marino and J. Templado-González, [eds.], Fauna Ibérica. Vol. 16. Mus. Nacl. Cien. Nat., CSIC, Madrid.
- Nieves-Aldrey, J.L. 2009. Confirmación de la presencia en España de *Andricus crispator* Scheck y *A. fidelensis* Kieffer, cinípidos inductores de agallas en *Quercus suber* L. (Hymenoptera., Cynipidae). *Boletín de la sociedad entomológica aragonesa*, **45**: 429-437.
- Nieves-Aldrey, J.L. & D. Gil-Tapetado 2019. Evaluación del impacto de la introducción en el medio natural de *Torymus sinensis* como organismo de control biológico de la especie *Dryocosmus kuriphilus*, sobre las poblaciones de cinípidos y parasitoides nativos. Encargo a La Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas de servicio técnico por la administración (MAPAMA). Expediente: 16MNES003. Informe final no publicado. 150 pp.
- Noyes, J.S. 2014. *Universal Chalcidoidea Database*. World Wide Web electronic publication. Available from: <http://www.nhm.ac.uk/entomology/chalcidooids/index.html> (accessed December 2014).
- Rosen, H. von 1958. Zur Kenntnis der europäischen Arten des Pteromaliden-Genus *Mesopolobus* Westwood 1833 (Hym., Chalc.). *Opuscula entomologica*, **23**: 203-240.

Spatial propagation and patterns of abundance of *Dryocosmus kuriphilus* throughout an invaded region

Diego Gil-Tapetado¹  | Fernando Castedo-Dorado²  | María J. Lombardero¹  |
José Martel³  | Pedro Álvarez-Álvarez⁴ 

¹Unidade de Xestión Ambiental e Forestal Sostible. Escola Politécnica Superior de Enxeñaría. Rúa Benigno Ledo, Universidade de Santiago de Compostela, Lugo, Spain

²GEOINCA Research Group. Escuela de Ingeniería Agraria y Forestal. Campus de Ponferrada. Avda. de Astorga s/n, Universidad de León, Ponferrada, Spain

³Xunta de Galicia, Dirección Xeral de Planificación e Ordenación Forestal, Servizo de Saude e Vitalidade do Monte, San Lázaro s/n, Santiago de Compostela, Spain

⁴Departamento de Biología de Organismos y Sistemas, Escuela Politécnica de Mieres, Universidad de Oviedo, Calle Gonzalo Gutiérrez de Quirós s/n, Mieres, Spain

Correspondence

Pedro Álvarez-Álvarez, Departamento de Biología de Organismos y Sistemas, Escuela Politécnica de Mieres, Universidad de Oviedo, Calle Gonzalo Gutiérrez de Quirós s/n, Mieres, Spain.
Email: alvarezpedro@uniovi.es

Funding information

This work was supported by a research grant from FEDER/Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (AGL2016-76262-R).

Abstract

Dryocosmus kuriphilus (Hymenoptera: Cynipidae) was first detected in Galicia (NW Spain) in 2014. The wasp then began to spread by stratified dispersal, with the local abundance increasing thereafter. In this study, we analysed location data on wasp-attacked trees, with the following aims: (i) to determine the relative importance of short distance dispersal (SDD) and long-distance dispersal (LDD) on the geographical expansion of the wasp; and (ii) to assess whether the spatial clusters of areas with high and low numbers of attacked trees correspond to areas with different infestation levels and thus whether these areas can be considered suitable proxies for pest abundance. A Random Forest algorithm was used to identify the factors that best discriminate hotspot and coldspot areas. Distance matrix analysis was used considering a conservative expansion rate of the population front of 14 km/year as the threshold for distinguishing SDD and LDD events. Gradients of attacked tree abundance were delineated using the Getis-Ord G_i^* statistic. Although LDD events represented a small proportion of the locally dispersing offspring, they determined the rate of spread across the landscape. The infestation level differed significantly between hotspot and coldspot areas, which were therefore used as proxies for *D. kuriphilus* population abundance. Factors that were favourable or unfavourable in relation to population abundance were mainly associated with maximum temperatures in the summer months. Metrics of composition and configuration of host plant habitat proved less important than the time since invasion and the effect was partly masked by tree diversity at community scale.

KEYWORDS

Asian chestnut gall wasp, biological invasions, chestnut trees, Galicia, pest species, stratified dispersal

1 | INTRODUCTION

The Asian chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, 1951, (Hymenoptera: Cynipidae) is native to China, but occurs as an exotic species in chestnut forests and orchards in Japan, North America and Europe (EPPO, 2005), where it became established

after accidental introduction. This species constitutes an economic pest that affects several species of the genus *Castanea* worldwide (Brussino et al., 2002; EFSA, 2010; EPPO, 2005).

The adult wasps are active fliers, but mainly rely on the wind for long-distance dispersal (Rieske, 2007). Local dispersal results in continuous spread along an invasion front. Using a model-based

ANÁLISIS DE RIESGOS

El sistema de evaluación empleado es un análisis de riesgos adaptado del sistema empleado en otros países europeos (Irlanda y Reino Unido) y se basa en los estudios de diferentes especialistas: Hiebert y Stubbendieck (1993), Panetta (1993), Tucker y Richardson (1995), Reichard y Hamilton (1997), Pheloung *et al.* (1999), Daehler y Carino (2000), FAO (2003), Daehler *et al.* (2004), Weber y Gut (2004) y DEFRA (1995).

Metodología detallada

Escenario - Evaluación

El análisis se basa en una evaluación que responde a diez preguntas diseñadas para determinar el nivel de riesgo y asigna a la especie una categoría (riesgo alto, medio o bajo) según las puntuaciones obtenidas. Las puntuaciones se justifican y argumentan con un comentario o referencia a las evidencias científicas y técnicas publicadas. Se consideran valores de bajo riesgo entre 0-12 puntos, riesgo medio entre 13-19 y alto riesgo los valores superiores a 19.

Las especies de riesgo alto se consideran susceptibles de competir con las especies silvestres autóctonas, alterar su pureza genética o los equilibrios ecológicos para la fauna española y deberán ser sometidas a la evaluación detallada y el ranking en la Etapa 2.

Las especies de “riesgo medio”, en aplicación del principio de precaución, se asimilan a las consideradas de “riesgo alto”. Para maximizar el principio de precaución, además, se ha modificado el sistema de puntuación original desarrollado por Irlanda y Reino Unido y se ha asignado la mayor puntuación a las situaciones en la que se produzca una incertidumbre o un desconocimiento por falta de estudios científico-técnicos.

EVALUACIÓN PARA LA ESPECIE *Dryocosmus kuriphilus*

1. DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE Y SUS REQUERIMIENTOS

a. Taxonomía:

Phylum: Arthropoda; Clase: Insecta; Orden: Hymenoptera; Familia: Cynipidae; Tribu: Cynipini; Género *Dryocosmus* Giraud, 1859; Especie: *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, 1951

Sinónimos: Ninguno. El nombre común en castellano es avispiña del castaño.

b. Descripción:

Dryocosmus kuriphilus, la avispiña del castaño, es una especie gallicola (Hymenoptera: Cynipidae), conocidas principalmente por la inducción de agallas. Las agallas (zoocecidias) se pueden definir como unas estructuras vegetales en plantas que resultan de la modificación de un órgano normal de una planta (como una hoja, un fruto, una rama, etc.) por la acción de una especie animal, para su protección, alimentación y alojamiento en su estadio larval y pupal, siendo además un fenotipo extendido de esta (Rohfritsch & Shorthouse, 1982; Nieves-Aldrey, 2001). La especie *D. kuriphilus* es una especie autóctona del centro y este de China, induciendo agallas en diferentes especies de castaños. En el medio natural, *D. kuriphilus* induce la formación de estas estructuras sobre la mayoría de las especies del género *Castanea*: en su área de distribución nativa induce agallas en las especies *Castanea mollissima*, *C. henryi* y *C. seguinii*; en los territorios invadidos, *D. kuriphilus* induce agallas en *C. crenata* en Japón, en *C. dentata* en Norteamérica y en *C. sativa* en Europa, así como en la mayoría de los híbridos entre este y *C. mollissima* y *C. crenata* (CABI, 2019).

La avispiña del castaño solo se reproduce por partenogénesis telitoca (Yasumatsu, 1951; Jin *et al.*, 1995), presentando solo hembras, que tienen descendencia directa semiclónica, sin intermediación de machos ni recombinación genética con otro individuo, poseyendo una variabilidad genética baja o nula (Bonal *et al.*, 2018).

La descripción morfológica de esta especie en cada uno de sus estadios es la siguiente (modificado de CABI, 2019 y de Yasumatsu, 1951):

Huevos: son depositados por las hembras en las yemas de los castaños entre junio y septiembre, dependiendo de la latitud o de la temperatura anual. Los huevos son ovales, de color blanco lechoso, de 0,1-0,2 mm de largo.

Larva: Mide 2,5 mm de largo cuando está completamente desarrollada, es de color blanco lechoso, sin ojos y ápora.

Pupa: Mide 2,5 mm de largo, al igual que la larva. El color varía de blanco a marrón oscuro y a negro, según la maduración del individuo de larva a adulto.

Adulto: La hembra adulta de *D. kuriphilus* tiene una longitud promedio de 2.5-3 mm, con la coloración del cuerpo negra; patas, escapo y pedicelos de antenas, ápice de clípeo y mandíbulas de color marrón amarillento; la cabeza está finamente esculpida; scutum, mesopleuron y gáster están altamente pulidos, lisos; propodeo con tres carinas longitudinales distintas; propodeo, pronoto fuertemente esculpido; scutum con dos surcos (notaulos) bien marcados y completos, que convergen en la parte

posterior del mesoescudo; celda radial de ala anterior abierta; antenas de 14 segmentos, con segmentos apicales no expandidos en una maza.

La hembra adulta tiene semejanza con la avispa de las agallas de roble turco, *Dryocosmus cerriphilus* Giraud, 1859, ambas del mismo género, conocida por inducir agallas en *Quercus cerris*, árbol introducido y poco abundante en la Península Ibérica. La especie *D. cerriphilus* tiene el vértex de la cabeza con grandes marcas de color rojo amarillento, las antenas poseen 15 segmentos, el propodeo sin la carina longitudinal media, mientras que en *D. kuriphilus* el vértex de la cabeza es negro, las antenas segmentadas en 14 artejos y el propodeo con la carina longitudinal mediana distinta. La especie *D. cerriphilus* no está presente en la Península Ibérica, siendo las especies europeas más parecida morfológica y filogenéticamente a *D. kuriphilus* las del género *Plagiotrochus* Mayr, 1881. Ambos géneros, *Dryocosmus* y *Plagiotrochus*, se diferencian porque el primero posee un mesoescudo y mesopleuras lisas e induce agallas en *Q. cerris* o en especies del género *Castanea*, mientras que el segundo posee un mesoescudo y mesopleuras, al menos en parte, con escultura coriácea, alutácea o transversalmente estriada e induce agallas en especies perennifolias de *Quercus*: *Q. suber*, *Q. ilex* y *Q. coccifera*.

Las agallas inducidas por *D. kuriphilus* son estructuras en forma de elipsoide irregular, sin defensas externas como otras agallas de cinípidos; de apariencia blanda y nada lignificada durante el desarrollo del individuo inductor; uniloculares o multiloculares, que pueden alojar desde uno a múltiples individuos en su interior; de 5-20 mm de diámetro; de color verde o rojo, según la incidencia solar; conteniendo a menudo porciones de hojas, tallos y estípulas en desarrollo. Se desarrollan mayoritariamente en ramillos jóvenes, en estípulas de las hojas o en el nervio central de las hojas. Este hecho implica que los tres tipos de agallas más habituales son de brote, de hoja y de estípula. En ocasiones se pueden observar también agallas en los amentos y en la flor femenina, o en yemas durmientes. Después de la emergencia del adulto, la agalla se seca y se lignifica, pudiendo permanecer unida al árbol (habitualmente en agallas de brote) o caer con las hojas en otoño (habitualmente en las agallas de hoja y de estípula).

c. Estado de conservación y usos:

Ninguno en general.

d. Ecoetología (comportamiento, alimentación y reproducción):

Ciclo de vida

Esta especie, al poseer una biología gallícola, tiene un ciclo de vida muy íntimamente ligado a su hospedador, el castaño. El ciclo de una generación de *D. kuriphilus* comienza cuando una hembra partenogenética deposita un huevo en el interior de la yema del castaño en verano. El huevo eclosiona y la larva emerge de este, a la vez que se empieza a producir las primeras respuestas de la cecidogénesis (formación de la agalla), pasando el invierno en el interior de la agalla. La agalla empieza a crecer y a ser conspicua a mediados de primavera, durante la brotación y la formación de las hojas del castaño. A la vez, las estructuras en la que se ubica la agalla de *D. kuriphilus* (brote, hoja o estípula) se acortan y se modifican, además de formarse en el interior el tejido nutritivo del que se alimenta la larva. La larva continúa creciendo hasta pupar a finales de primavera o principios del verano, emergiendo la hembra adulta en verano, ovipositando en una yema de castaño y

dando lugar a la siguiente generación. La fenología de la avispa del castaño ha sido detalladamente estudiada en España para las condiciones climáticas de la Comunidad Autónoma de Galicia (Lombardero & Cabaleiro, 2015; Pérez-Otero *et al.*, 2017) y de Andalucía (Wong *et al.*, 2018).

Reproducción

La especie *D. kuriphilus* posee un tipo de reproducción partenogenética telitoca, es decir, que la hembra de la especie puede producir descendencia semiclónica sin la cópula con un macho, dando siempre nuevas hembras. Este tipo de reproducción unisexual permite la formación de una descendencia con una baja variabilidad genética (Bonal *et al.*, 2018), pero es altamente eficaz si las condiciones ambientales no suponen un riesgo para su asentamiento y desarrollo. Además, permite a *D. kuriphilus* la puesta de huevos fértiles casi inmediatamente tras su emergencia de la agalla. Este hecho, unido al gran número de huevos que puede tener una sola hembra (de más de 70 de media, datos propios) convierten a esta especie en un *r*-estratega muy eficaz (Pianka, 1970). Asimismo, al no existir enemigos naturales que ejerzan un control efectivo de sus poblaciones en las áreas de introducción, se produce el fenómeno de plaga.

Alimentación

Al poseer una biología gallícola y estar íntimamente relacionada con su especie hospedadora, en la mayor parte de su ciclo de vida su único alimento es el castaño. Al igual que otros cinípidos, *D. kuriphilus* es considerado como un herbívoro especializado endofítico y masticador. No causa un daño directo por alimentación a las estructuras normales del árbol, al no actuar como un defoliador, minador, barrenador, chupador ni picador, sino que al igual que el resto de especies de la Familia Cynipidae se alimenta del tejido nutritivo que se produce por la propia inducción de la agalla (Nieves-Aldrey, 2001; Stone *et al.*, 2002).

Se desconoce cuál es el papel de la alimentación en el estado adulto y cuánto supone en la supervivencia del individuo. En general, los himenópteros adultos suelen alimentarse de néctar en las flores, lo que podría ser el caso también para los adultos de *D. kuriphilus*.

Mortalidad

La mortalidad de *D. kuriphilus* está principalmente asociada a sus principales enemigos naturales, los parasitoides (ver apartado Depredación). Esta fauna, representada por avispas de la Superfamilia Chalcidoidea ovipositan dentro de las agallas, devorando las larvas de los parasitoides a las larvas de *D. kuriphilus* (Askew & Shaw, 1986; Stone *et al.*, 2002). En los países que ha invadido esta especie no posee sus enemigos naturales específicos. Sin embargo, sí posee una comunidad de parasitoides nativos provenientes de las especies autóctonas de cinípidos asociados a quercíneas (Aebi *et al.*, 2006, 2007; Quacchia *et al.*, 2013; Jara-Chiquito *et al.*, 2016). La mayoría de estas especies nativas tienen biología generalista (Askew *et al.*, 2013; Noyes, 2019), por lo que han formado una nueva comunidad biológica en los castaños, al encontrar en las agallas de *D. kuriphilus* un recurso sin explotar.

Se han documentado casos de mortalidad de *D. kuriphilus* producidos por hongos patógenos en el interior de las agallas (Graziosi & Rieske, 2015; Magro *et al.*, 2010) También existen casos documentados en que las heladas pueden llegar a producir un efecto de mortalidad en los primeros estadios de formación de la agalla al producir

una necrosis del tejido, que conlleva una reducción en la viabilidad de la larva de *D. kuriphilus* (Gil-Tapetado *et al.*, 2018)

Comportamiento

El comportamiento de *D. kuriphilus* destaca por su biología gallícola. La inducción de agallas por los cinípidos es un proceso complejo dentro del mundo animal (Nieves-Aldrey, 2001; Stone *et al.*, 2002) y resulta llamativo, ya que además de presentar una biología intermedia entre el parasitismo y la herbivoría especializada, representa un fenotipo extendido de la propia especie (Dawkins, 1982). La inducción de agallas es un proceso obligatorio de todo cinípido, que lo limita y relaciona íntimamente con su planta hospedadora. Así, la especie *D. kuriphilus* solo puede inducir agallas en árboles del género *Castanea*.

Dispersión

La dispersión natural anual de *D. kuriphilus* se ha estimado en 6,6 km de media, y está ligada a la presencia de castaños (Gilioli *et al.*, 2013). Los modelos de dispersión basados en este radio anual de dispersión natural en España, sin tener en cuenta posibles variables que frenen su avance, mostraron ya la rapidez de su potencial expansión por todo el territorio (Gil-Tapetado *et al.*, 2018). Aún así esta dispersión potencial fue superada en algunas regiones de España. Ello fue debido a que el mayor vector de su dispersión por el territorio ha sido la movilización accidental de plantas para repoblación o púas para injerto. Esta dispersión influenciada por el hombre es la responsable de la actual distribución disjunta de *D. kuriphilus* por las diferentes zonas con presencia de bosques y plantaciones del género *Castanea* en España (Gil-Tapetado *et al.*, 2018).

Depredación

El factor fundamental para tener en cuenta en la dinámica de las poblaciones de *D. kuriphilus* es el parasitismo por parte de especies de parasitoides nativos (Askew & Shaw, 1986; Stone *et al.*, 2002). Las agallas de *D. kuriphilus* se encuentran en castaños que, en algunos casos, forman bosques mixtos con quercíneas y, en otros, se encuentran muy próximos a masas o pies más o menos aislados de quercíneas. Estas quercíneas albergan, de forma natural, a cinípidos nativos que son parasitados por parasitoides también nativos.

Tras la invasión de *D. kuriphilus*, las especies de parasitoides nativos, sobre todo las de biología generalista (Askew *et al.*, 2013; Noyes, 2019), han encontrado en las agallas de *D. kuriphilus* un nuevo recurso sin explotar, parasitando las larvas de su interior. La cercanía entre los pies y/o las masas de castaños y de quercíneas ha facilitado que el reclutamiento de estos antagonistas haya sido rápido. Así, casi en el mismo año de su introducción, *D. kuriphilus* ya puede tener parasitoides nativos asociados (Lombardero & Cabaleiro, 2015; Pérez-Otero *et al.*, 2017; Gavira *et al.*, 2018). Se trata de un caso raro en la naturaleza, ya que suelen hacer falta varios años para que la fauna nativa vaya siendo reclutada por la especie invasora (Grabenweger *et al.*, 2010).

Otro factor que estaría facilitando el reclutamiento de parasitoides nativos por *D. kuriphilus* es la aparente falta de defensas de su agalla frente a la parasitación. Mientras que agallas de otras especies de cinípidos presentan estructuras defensivas externas (espinas, sustancias pegajosas, pilosidad, rugosidad, etc.) e internas (amplitud y vacío entre el exterior y la cámara larvaria, lignificación, etc.), la agalla de *D. kuriphilus* solo presenta como mecanismo de defensa cámaras vacías y con una frecuencia baja o variable. La falta de defensas de la agalla de *D. kuriphilus* le podría convertir en un hospedador objetivo “fácilmente parasitable”, que explicaría,

en parte, el rápido reclutamiento de parasitoides nativos, formando la nueva comunidad biológica. Sin embargo, actualmente las poblaciones de parasitoides nativos asociados a *D. kuriphilus* no son suficientemente abundantes ni efectivas para regular las poblaciones de esta especie invasora (Quacchia *et al.*, 2013). Dado que otras alternativas de control (químico, trampas cromáticas, etc) no son eficaces o presentan limitaciones ambientales, se está empleando en diferentes lugares del mundo (así como en España) a la especie *Torymus sinensis* Kamijo 1982 para su control biológico. Este parasitoide, también procedente de China, presenta una buena sincronización con el ciclo vital de *D. kuriphilus*, parasitando sus agallas en un estadio de formación temprano, resultando más eficaz que los parasitoides nativos según la bibliografía (Moriya *et al.*, 1989; Quacchia *et al.*, 2008; Borowiec *et al.*, 2014). Sin embargo, en España, actualmente *T. sinensis* no está siendo eficaz en el control (Nieves-Aldrey *et al.*, 2019), posiblemente debido a su reciente introducción. El uso de esta especie introducida como control biológico también puede traer consigo otra problemática en el ámbito de la conservación, como el desplazamiento de parasitoides nativos o el parasitismo de agallas nativas no objetivo. Actualmente los autores han demostrado que la hibridación con especies nativas cercanas, como *Torymus notatus* (Walker, 1833), la especie más cercana filogenéticamente (Pogolotti *et al.*, 2018) es poco probable, debido a los tiempos de divergencia entre especies (Gavira *et al.*, 2018; Gil-Tapetado *et al.*, no publicado). Aunque según la bibliografía el papel de los parasitoides nativos en el control no es muy relevante, los autores de esta evaluación han encontrado especies asociadas y reclutadas por *D. kuriphilus* que cumplen el mismo rol en la comunidad que *T. sinensis* (Gil-Tapetado *et al.*, no publicado). Estas especies poseen el mismo ciclo vital que *T. sinensis* y parasitan un grupo reducido de especies gallícolas, pudiendo considerarse como parasitoides especialistas. Entre ellas destaca *T. notatus*, la especie más cercana filogenéticamente, muy parecida morfológicamente y con un ciclo de vida similar, parasitando también a *D. kuriphilus* en un desarrollo temprano de la agalla.

e. Selección de hábitat:

La avispa del castaño, como todo cinípido, tiene su hábitat ligado a su planta hospedadora, en el caso de *D. kuriphilus*, a árboles del género *Castanea*. Aunque se han documentado la existencia de clones híbridos interespecíficos y de variedades resistentes (Shimura, 1972; Dini *et al.*, 2012; Sartor *et al.*, 2015; Míguez Soto *et al.*, 2018), en estos clones y variedades resistentes la hembra llega a ovipositar en el interior de las yemas, indicando una selección generalista y *r*-estratega del hospedador (Dini *et al.*, 2012).

Un factor para tener en cuenta acerca de la elección del hábitat es que *D. kuriphilus*, al ser dispersada por el hombre a través del transporte de yemas infestadas, los individuos no han seleccionado de manera natural el punto de presencia en el que se encuentran. Según la idoneidad del territorio en la que se encuentra esta especie en España (Gil-Tapetado *et al.*, 2018), existen zonas subóptimas de presencia de *D. kuriphilus*, que posiblemente con una dispersión y selección de hábitat natural, sin interferencia antrópica de movimiento de castaños, podrían no haber sido escogidas.

f. Distribución natural e introducciones:

La distribución natural de *D. kuriphilus* es China, concretamente los bosques de *Castanea mollissima*, *C. seguinii* y *C. henryi* del centro y este de este país (CABI, 2019). Las introducciones de *D. kuriphilus* han sido secuenciales desde 1950 hasta la actualidad, distribuyéndose de forma disjunta por diferentes zonas del Holártico

con presencia de *Castanea* (CABI, 2019). La introducción de *D. kuriphilus* por todo el mundo ha sido la siguiente: la primera cita de *D. kuriphilus* en una zona alóctona fuera de China fue en el año 1941 en Japón (Oho & Umeya, 1975). Más de veinte años después, se citaría en 1963, en Corea (Cho & Lee, 1963) y posteriormente en 1974, se citó en Estados Unidos de América (Payne *et al.*, 1976) y en Nepal en 1999 (Abe *et al.*, 2007). En el siglo XXI, *D. kuriphilus* llegaría al Paleártico occidental, siendo Italia el primer país europeo afectado en 2002 (Brussino *et al.*, 2002). Pocos años más tarde, se detectaría en Francia (Quacchia *et al.*, 2008) y Eslovenia en 2005 (Jaksa, 2006), en Suiza (Förster *et al.*, 2009) y Hungría en 2009 (Csóka *et al.*, 2009), Croacia (EPPO, 2011) y Holanda en 2010 (NPPO, 2010), y en Eslovaquia (Pástor *et al.*, 2017), República Checa y Alemania en 2012 (EPPO, 2014). También ha sido detectada posteriormente en Portugal (Bento, 2014), Grecia (Michaelakis *et al.*, 2016), Turquía (EPPO, 2014), Bosnia-Herzegovina (Delalic, 2016) y Gran Bretaña (Malumphy, 2015).

En el año 2012 se detectó por primera vez *D. kuriphilus* en España, en concreto en Cataluña, aunque la detección de agallas secas indica que se encontraba presente antes de este año (Pujade-Villar *et al.*, 2013). Posteriormente, *D. kuriphilus* se extendió por diversas Comunidades Autónomas, declarándose su presencia en el año 2013 en Cantabria; en 2014 en Galicia (Pérez-Otero & Mansilla, 2014), Andalucía (Wong *et al.*, 2018) y Asturias; y en 2015-17 en Navarra, País Vasco (BV, 2019), León, Zamora y Burgos (Gil-Tapetado *et al.*, 2018). En el año 2016 se detectaron dos focos de *D. kuriphilus* en la ciudad de Madrid, en sus dos Reales Jardines Botánicos, en el Real Jardín Botánico de Madrid y en el Real Jardín Botánico Alfonso XIII (Gil-Tapetado & Nieves-Aldrey, 2018). En el año 2019 se han encontrado focos de presencia de *D. kuriphilus* en el Sistema Central, en Ávila, Extremadura y en localidades del suroeste de la Comunidad de Madrid cercanas a Extremadura.

2. PROBABILIDAD DE ENTRADA, ESTABLECIMIENTO Y DIFUSIÓN

a. Historial de comportamiento invasor:

¿Existe historial de comportamiento invasor de la especie?

Sí, esta especie se ha introducido previamente en Japón (Oho & Umeya, 1975), Norteamérica (Payne *et al.*, 1976) y otros países europeos como Italia (Brussino *et al.*, 2002), Francia (EPPO, 2007), Portugal (Bento, 2014), entre otros, comportándose como una especie invasora en todos ellos, siendo su nivel de infestación muy elevado. Los perjuicios económicos derivados de la pérdida de producción de castaña se han cifrado en un 80% en otros países (Payne *et al.*, 1983; EFSA, 2010). Además, causa malformaciones y acortamientos en las ramas de los castaños al inducir agallas en las yemas terminales (Gehring *et al.*, 2018). Estas malformaciones de ramas, unidas al aborto de las estructuras normales como las hojas o el acortamiento de estas, hacen que la arquitectura normal de copa tupida típica de los castaños se vea afectada (Gehring *et al.*, 2018), pudiendo llegar a producir daños a largo plazo a los suelos, así como un daño paisajístico que puede ser irreversible en un bosque considerado en la Directiva 92/43/CEE. También se han documentado casos de que *D. kuriphilus* puede causar la muerte del castaño hospedador (Moriya *et al.*, 2003).

No - 0
Sí o incierto - 2x

b. Similitud climática entre las áreas nativas (origen) y España:

*Se sugiere utilizar Climatch 2017, p.e.

¿Está presente la especie en una región con condiciones climáticas similares a las presentes en el territorio español?

Esta especie es nativa del centro y del este de China, encontrándose su hábitat natural en una zona climática *a priori* diferente. Aplicando Climatch 2017, el valor resultante de similitud climática entre esta área de China y la Península Ibérica es de 2. Sin embargo, en el trabajo de Gil-Tapetado *et al.* (2018), se demuestra que las condiciones climáticas no afectan tanto a la distribución de *D. kuriphilus* como la presencia de su planta hospedadora, el castaño. En dicho trabajo se encuentran diferencias en la idoneidad del territorio, pero existe presencia de *D. kuriphilus* aún en las zonas de baja idoneidad, indicando su alta plasticidad y unos requisitos ecológicos bajos. Por lo tanto, pese al resultado de Climatch, que resultaría en una puntuación de 0 en este apartado, los autores de este informe elevamos la puntuación de esta categoría a 2 para hacer énfasis en el hecho de que las condiciones climáticas no influyen directamente en el asentamiento de esta especie y en su problemática asociada.

Mayor puntuación en el rango de 0-3 - 0
Mayor puntuación en el rango de 4-7 - 2x
Mayor puntuación en el rango de 8-10 - 3

c. Vías de entrada y propagación:

¿Existen vías de entrada intencional?

No, la entrada y dispersión de esta especie invasora no posee vías de entrada intencional. La primera detección en España (año 2012) (Pújade-Villar *et al.*, 2013), así como en los diferentes focos a lo largo de la geografía ibérica fue debida a entradas de forma accidental. Estas entradas fueron causadas por el movimiento de plántulas de castaño para su plantación y de púas para injertos desde otros países o desde otras regiones de España donde la especie se fue introduciendo (Gil-Tapetado *et al.*, 2018). Estos movimientos fueron producidos no intencionadamente tanto por particulares como por viveros.

No - 0x;
Sí o incierto- 2

¿Existen vías de entrada no intencional?

Sí, la entrada y dispersión de esta especie ha sido indirecta, no intencional, causada por el movimiento de material forestal de reproducción (plántulas de castaño para plantaciones y púas para injertos) desde diferentes lugares del mundo

hacia España. Esta entrada ha sido producida de forma no intencionada tanto por particulares como por viveros. Dentro del territorio nacional, la distribución actual de esta especie es disjunta, producida por el movimiento de plantones y púas dentro del país (Gil-Tapetado *et al.*, 2018), siendo también no intencional. Pese a que ya existía información sobre esta plaga en otros países, los huevos y larvas en el interior de las yemas, al no ser visibles a simple vista y ser aquellas asintomáticas, posiblemente pasaron inadvertidos en las importaciones. Este hecho es especialmente notorio en los primeros años de asentamiento de *D. kuriphilus*, con ausencia de agallas secas de otros años en el árbol infestado que confiere la apariencia de árbol libre de la plaga.

No – 0; Sí o incierto - 2x

3. DISTRIBUCIÓN POTENCIAL, DISPERSIÓN E IMPACTOS

a. Distribución potencial en España en caso de escape o liberación:

¿Son los hábitats españoles adecuados para permitir el establecimiento de la especie?

Sí, el trabajo de Gil-Tapetado *et al.* (2018), sobre distribución potencial y dispersión indica que los hábitats españoles con presencia de castaños son adecuados para esta especie. En este trabajo, además, se indica que existen varias zonas con baja idoneidad de *D. kuriphilus*, pero a pesar de ello se encuentra presente, indicando una alta plasticidad y bajos requisitos ambientales. Se concluye, por tanto, que la presencia de castaño es el factor más importante en el establecimiento de esta especie invasora. Trabajos no publicados por los autores de este informe indican que existen diferencias en el tamaño de las agallas y en la cantidad de huevos de esta especie invasora en diferentes zonas de asentamiento, sugiriendo que existen diferencias en la idoneidad del territorio para esta especie. Sin embargo, aunque existan estas diferencias, no son suficientes como para comprometer la viabilidad de esta especie en ningún área, según los datos actuales. Por lo tanto, cualquier hábitat con presencia de castaño es susceptible de ser colonizado por *D. kuriphilus*.

No – 0; Sí o incierto - 2x

b. Posibles impactos ecológicos:

Si se estableciese la especie, ¿podría afectar de forma negativa a los objetivos de conservación de una región?

Los castañares, como formación forestal están incluidos en el anejo I de la Directiva 92/43/CEE, relativa a la conservación de los hábitats naturales y la flora y fauna silvestres (tipo de hábitat 9260 “Bosques de *Castanea sativa*”) y, por tanto, en el anejo I de la Ley 42/2007, de 13 de diciembre, del Patrimonio natural y de la biodiversidad. Esta relevancia jurídica es consecuencia de su importancia ecológica. Si bien los casos de muerte directa del árbol son raros (Moriya *et al.*, 2003 las agallas de *D. kuriphilus* podrían facilitar la entrada de plagas secundarias o agravar los

efectos de otros organismos patógenos como el chancro (*Chryphonectria parasitica*) o la tinta (*Phytophthora cinnamomi*) (Magro *et al.*, 2010; Turchetti *et al.*, 2010; Meyer *et al.*, 2015). Además, las agallas producen un daño en la arquitectura de ramas del castaño, al causar malformaciones y acortamientos en las mismas, especialmente en las ramas terminales (Gehring *et al.*, 2018) así como el acortamiento o aborto de las hojas.

Junto con la problemática asociada la plaga de *D. kuriphilus*, su presencia ha inducido la formación de una nueva comunidad biológica (Aebi *et al.*, 2006). Al no existir anteriormente ningún cinípido que indujera agallas en los castaños, la presencia de un nuevo recurso sin explotar ha causado un reclutamiento de parasitoides nativos. Ello ha producido una nueva comunidad biológica que supone un cambio y perturbación ecológica con efectos no evaluados hasta la fecha.

No - 0 ; Sí o incierto - 2x ;
--

c. Posibles impactos económicos:

¿Ha producido la especie pérdidas económicas directas o indirectas en su área de distribución natural o donde se ha convertido como invasora?

Sí, ha producido pérdidas económicas directas. Las agallas inducidas por esta especie en el castaño causan pérdidas notables e importantes en la producción de su fruto, la castaña (Payne *et al.*, 1983; EFSA, 2010), así como debilitamiento del árbol (Kato & Hijii, 1997; Moriya *et al.*, 2003), malformaciones de las ramas y del tronco (aspecto importante en masas dedicadas a la producción de madera) (Gehring *et al.*, 2018), incremento del riesgo de contraer otras plagas y enfermedades y de sus efectos sinérgicos (Magro *et al.*, 2010; Turchetti *et al.*, 2010). En Estados Unidos de América e Italia se estiman pérdidas en la producción de castaña de hasta el 80% (Dixon *et al.*, 1986; Payne *et al.*, 1983; EFSA, 2010), aunque para territorio español no existen datos específicos.

Sin impacto económico - 0 Impacto económico bajo - 1 Impacto económico moderado - 2 Impacto económico alto o desconocido - 3x
--

d. Posibles impactos sobre la salud y sanitarios:

¿Es la especie venenosa o supone algún otro riesgo para la salud humana, y/o para la sanidad animal o vegetal debido a sus parásitos o patógenos?

Pese a que ni es venenosa ni es un riesgo para la salud humana, esta especie es puede ser facilitadora de la entrada de patógenos en los castaños como la gnomoniosis (Magro *et al.*, 2010) o el chancro (Turchetti *et al.*, 2010). Además, las altas densidades de esta especie pueden llegar a producir excepcionalmente la muerte en el castaño (Moriya *et al.*, 2003), así como un debilitamiento general en el árbol y producir pérdidas en la calidad de la madera (Kato & Hijii, 1997). Sin

embargo, el riesgo más importante para la sanidad vegetal del castaño es la pérdida del fruto (Payne *et al.*, 1983; EFSA, 2010).

No supone riesgo para la salud humana o la sanidad animal o vegetal – 0
Es venenosa, parásita, portadora de patógenos o parásitos u otras especies exóticas con potencial invasor - 1x

4. MEDIDAS DE MANEJO DE LA ESPECIE

a. Medidas de control. Efectividad y viabilidad de las medidas:

¿Existen métodos de control efectivos que se puedan aplicar?

Sí, se está usando como agente de control biológico *Torymus sinensis*, un enemigo natural de *D. kuriphilus* en su medio natural (Murakami & Gyoutoku, 1995). Este parasitoides ha mostrado un control efectivo de las poblaciones de *D. kuriphilus* en los países que éste ha invadido (Moriya *et al.*, 1989; Quacchia *et al.*, 2008; Borowiec *et al.*, 2014). Sin embargo, en el momento de realización de este informe, en España los buenos resultados de efectividad no se han obtenido todavía (Nieves-Aldrey *et al.*, 2019). El período de asentamiento y de efecto observable del control de poblaciones de *D. kuriphilus* por *T. sinensis* están estimados en 4-10 años (Moriya *et al.*, 1989; Murakami *et al.*, 2001; Borowiec *et al.*, 2018). Además de este periodo de asentamiento largo, la lucha biológica mediante *T. sinensis* supone la introducción de una especie alóctona en el medio, que puede ocasionar perturbaciones en el medio natural y en las comunidades nativas (Gibbs *et al.*, 2011). Estas perturbaciones pueden ser de tres tipos diferentes: parasitismo de otros gallícolas, hibridaciones y desplazamiento de parasitoides nativos.

Sobre los hospedadores nativos, *T. sinensis* podría ovipositar y parasitar especies no objetivo, regulando de forma directa poblaciones que no necesitaran más regulación que la que ejerce la fauna nativa, pudiendo producir descensos de poblaciones no deseados que produjera una cascada de perturbaciones ecológicas. En ensayos de laboratorio se ha observado atracción y parasitismo de *T. sinensis* en agallas nativas como *Biorhiza pallida* (Olivier, 1791) o *Neuroterus quercusbaccarum* (Linnaeus, 1758) (Ferracini *et al.*, 2015), si bien existen diferencias significativas en la predilección de *D. kuriphilus* sobre las especies autóctonas (Ferracini *et al.*, 2017). Ensayos de laboratorio hechos por los autores de este informe con agallas de otras especies, como las subterráneas de *Trigonaspis synaspis* Hartig 1841 han demostrado que puede existir selección y oviposición de *T. sinensis* en agallas *a priori* muy diferentes, lo que podría ser un riesgo y amenaza para las especies de cinípidos nativas.

Por otra parte, el riesgo a que *T. sinensis* hibride con especies nativas parece ser bajo o nulo. De las especies descritas del género *Torymus* en la Península Ibérica que son parasitoides de Cynipidae, la especie más cercana morfológica, comportamental y filogenéticamente, *T. notatus* (Pogolotti *et al.*, 2018), posee un tiempo de divergencia con *T. sinensis* igual al que tiene el resto de las especies del género (Gil-Tapetado *et al.*, no publicado). Esto indicaría que la divergencia entre ambas especies es suficiente para que haya barreras reproductivas y que no existan (o sean muy difíciles de ocurrir) episodios de hibridación, o al menos que puedan existir con la misma probabilidad entre las especies de *Torymus* nativas.

Sin embargo, el mayor problema entre *T. sinensis* y los parasitoides nativos radica en el desplazamiento de estos últimos. Ferracini *et al.* (2018) han demostrado que

según va aumentando el tiempo de liberación de *T. sinensis*, la riqueza de especies de parasitoides nativos en agallas de *D. kuriphilus* va decreciendo, siendo un ejemplo claro de desplazamiento de especies de una comunidad biológica. El efecto combinado entre el parasitismo de otras especies de cinípidos nativos y el desplazamiento de fauna de parasitoides no está comprobado al no ocurrir en la naturaleza.

Altamente eficaz con requisitos bajos en recursos - 0 La metodología de control es eficaz, pero necesita muchos recursos y produce una perturbación y / o destrucción ecológica mínima – 1x Metodología de control no suficientemente eficaz o desconocida - 2

¿Existen factores sociales que puedan dificultar el control de las especies en caso de se establezca?

No, al contrario, tanto la mayor parte de opinión pública como la científica general en España está de acuerdo en que deben de tomarse medidas de control contra esta plaga. Además, las sueltas de su controlador biológico ya están en marcha y *T. sinensis* ha sido liberado al medio natural, aunque con un bajo resultado inicial (Nieves-Aldrey *et al.*, 2019) al haber pasado poco tiempo desde las primeras liberaciones.

Ninguno – 0x Amplia opinión pública que puede favorecer a las especies establecidas – 1 Dificultades asociadas con una respuesta coordinada - 2
--

5. CONCLUSIÓN

RESULTADO TOTAL: 15

Por lo tanto, *Dryocosmus kuriphilus* sería una especie de riesgo medio. En aplicación del principio de precaución, esta especie debería de asimilarse a las consideradas de “riesgo alto”, debiendo ser sometidas a la evaluación detallada y el ranking en la Etapa 2.

Bibliografía citada

- Aebi A, Schönrogge K, Melika G, Alma A, Bosio G, Quacchia A, Picciau L, Abe Y, Moriya S, Yara K, Seljak G & Stone GN (2006) Parasitoid Recruitment to the globally invasive chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus*. In: *Ecology and Evolution of Galling Arthropods and Their Associates* (Ed. Ozaki, K, Yukawa, J, Ohgushi, T & Price, PW), pp. 103–121. Springer-Verlag, Tokyo (JP).
- Aebi, A., Schönrogge, K., Melika, G., Quacchia, A., Alma, A., & Stone, G. N. (2007). Native and introduced parasitoids attacking the invasive chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus*. *EPPO bulletin*, 37(1), 166-171.
- Askew R.R., Melika G, Schönrogge, K, Stone GN and Nieves-Aldrey JL (2013) Catalogue of parasitoids and inquilines in cynipid oak galls in the West Palaearctic. *Zootaxa*, 3643(1), 001-133.
- Askew, R.R., & Shaw, M. R. (1986). Parasitoid communities: their size, structure and development. In *Waage, J and Greathead, D (eds), Insect Parasitoids, 13th Symposium of Royal Entomological Society of London* (pp. 225-264). Academic Press, London: now Elsevier.
- Bento A. 2014. La avispa del castaño, *Dryocosmus kuriphilus*: situación actual y medidas de control en Portugal. <http://roble.intecca.uned.es/fez/view/intecca:VideoAVIP-138236> [consultado el 25-09-2019].
- Bonal, R., Vargas-Osuna, E., Mena, J. D., Aparicio, J. M., Santoro, M., & Martín, A. (2018). Looking for variable molecular markers in the chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus*: first comparison across genes. *Scientific reports*, 8(1), 5631.
- Borowiec, N., Thaon, M., Brancaccio, L., Cailleret, B., Ris, N., & Vercken, E. (2018). Early population dynamics in classical biological control: establishment of the exotic parasitoid *Torymus sinensis* and control of its target pest, the chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus*, in France. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 166(5), 367-379.
- Borowiec, N., Thaon, M., Brancaccio, L., Warot, S., Vercken, E., Fauvergue, X., ... & Malausa, J. C. (2014). Classical biological control against the chestnut gall wasp' *Dryocosmus kuriphilus*' (Hymenoptera, Cynipidae) in France. *Plant Protection Quarterly*, 29(1), 7.
- Brussino G, Bosio G, Baudino M, Giordano R, Ramello F, Melika G, 2002. Dangerous exotic insect for the European chestnut. *Informatore Agrario*, 58(37):59-61
- BV (Biodiversidad Virtual), 2019. Insectarium Virtual. *Dryocosmus kuriphilus*. <https://www.biodiversidadvirtual.org/insectarium/Dryocosmus-kuriphilus-Yasumatsu-1951-cat40702.html> Último acceso: 25-09-2019
- CABI, 2019. Invasive Species Compendium. Wallingford, UK: CAB International. www.cabi.org/isc.
- Cho DY & Lee SO (1963) [Ecological studies on the chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, and observations of the damage caused to the tree by this insect]. *Korean Journal of Plant Protection* 2, 47–54 (in Korean).

Csóka, G., Wittmann, F., & Melika, G. (2009). The oriental sweet chestnut gall wasp (*Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu 1951) in Hungary. *Növényvédelem*, 45(7), 359-360.

Dawkins, R. (1982). *The extended phenotype* (Vol. 8). Oxford: Oxford University Press.

Delalic Z, 2016. First record of quarantine pest, oriental chestnut gall wasp (*Dryocosmus kuriphilus*), in Bosnia and Herzegovina. (Prvi nalaz karantinske stecocine kestenove ose siskarice (*Dryocosmus kuriphilus*) u Bosni i Hercegovini.) Biljni Lekar (Plant Doctor), 44(1):58-65

Dini, F., Sartor, C., & Botta, R. (2012). Detection of a hypersensitive reaction in the chestnut hybrid 'Bouche de Bétizac' infested by *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu. *Plant physiology and biochemistry*, 60, 67-73.

Dixon WN, Burns RE, Stange LA, 1986. Oriental chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae). Entomology Circular, Division of Plant Industry, Florida Department of Agriculture and Consumer Services, No. 287:2pp

EFSA (European Food Safety Authority) (2010) Risk assessment of the oriental chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* for the EU territory and identification and evaluation of risk management options. *EFSA Journal*, 8, 16-19.

EPPO, 2007.- *Dryocosmus kuriphilus* found in the south of France (Alpes Maritimes).- EPPO Reporting Service - Pests & Diseases, 5 (086): 2.- [online] URL: <http://archives.eppo.org/>

EPPO, 2011. EPPO Reporting Service. EPPO Reporting Service. Paris, France: EPPO. http://archives.eppo.org/EPPOReporting/Reporting_Archives.htm

EPPO, 2014. PQR database. Paris, France: European and Mediterranean Plant Protection Organization. <http://www.eppo.int/DATABASES/pqr/pqr.htm>

Ferracini, C., Bertolino, S., Bernardo, U., Bonsignore, C. P., Faccoli, M., Ferrari, E., ... & Rocco, A. (2018). Do *Torymus sinensis* (Hymenoptera: Torymidae) and agroforestry system affect native parasitoids associated with the Asian chestnut gall wasp?. *Biological Control*, 121, 36-43.

Ferracini, C., Ferrari, E., Saladini, M. A., Pontini, M., Corradetti, M., & Alma, A. (2015). Non-target host risk assessment for the parasitoid *Torymus sinensis*. *BioControl*, 60(5), 583-594.

Ferracini, C., Ferrari, E., Pontini, M., Nova, L. K. H., Saladini, M. A., & Alma, A. (2017). Post-release evaluation of non-target effects of *Torymus sinensis*, the biological control agent of *Dryocosmus kuriphilus* in Italy. *BioControl*, 62(4), 445-456.

Förster, B., Castellazzi, T., Colombi, L., Fuerst, E., Marazzi, C., Meier, F., ... & Moretti, G. (2009). First record of the chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus* (Yasumatsu)(Hymenoptera, Cynipidae) in Southern Switzerland. *Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft*, 82(3/4), 271-279.

Gavira, O. N., Wong, M. E., Rodríguez, M. C., Vela, J. M., Boyero, J. R. (2018). Parasitoides Autóctonos de la Avispilla del Castaño en Andalucía. Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural, Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera, 2018. 1-13 p. <https://www.juntadeandalucia.es/agriculturaypesca/ifapa/servifapa/>

- Gehring E, Bellosi B, Quacchia A and Conedera M (2018) Assessing the impact of *Dryocosmus kuriphilus* on the chestnut tree: branch architecture matters. *Journal of Pest Sciences*, 91, 189–202.
- Gibbs, M., Schönrogge, K., Alma, A., Melika, G., Quacchia, A., Stone, G. N., & Aebi, A. (2011). *Torymus sinensis*: a viable management option for the biological control of *Dryocosmus kuriphilus* in Europe?. *BioControl*, 56(4), 527-538.
- Gil-Tapetado D, Gómez JF, Cabrero-Sañudo FJ, and Nieves-Aldrey JL (2018) Distribution and dispersal of the invasive Asian chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera: Cynipidae), across the heterogeneous landscape of the Iberian Peninsula. *European Journal of Entomology*, 115, 575-586
- Gil-Tapetado & Nieves-Aldrey JL (2018). Un invasor inesperado: la avispiella del castaño. El Guadarramista. Tribuna Verde. <https://elguadarramista.com/2018/01/13/un-invasor-inesperado-la-avispiella-del-castano/> [Último acceso: 25/09/2019]
- Gilioli, G., Pasquali, S., Tramontini, S., & Riolo, F. (2013). Modelling local and long-distance dispersal of invasive chestnut gall wasp in Europe. *Ecological Modelling*, 263, 281-290.
- Grabenweger, G., Kehrlí, P., Zweimüller, I., Augustin, S., Avtzis, N., Bacher, S., Freise, J., Girardoz, S., Guichard, S., Heitland, W., Lethmayer, C., Stolz, M., Tomov, R., Volter, L. & Lethmayer, C. (2010). Temporal and spatial variations in the parasitoid complex of the horse chestnut leafminer during its invasion of Europe. *Biological Invasions*, 12(8), 2797-2813.
- Graziosi, I., & Rieske, L. K. (2015). A plant pathogen causes extensive mortality in an invasive insect herbivore. *Agricultural and forest entomology*, 17(4), 366-374.
- Jaksa J (2006) Situation with *Dryocosmus kuriphilus* in Slovenia. EPPO Workshop on *Dryocosmus kuriphilus* Cuneo (IT), 2006-06-26/28. http://archives.eppo.org/MEETINGS/2006_meetings/dryocosmus_presentations/workshop_dryocosmus.htm.
- Jara-Chiquito, J. L., Heras, J., & Pujade-Villar, J. (2016). Primeros datos de reclutamiento de himenópteros parasitoides autóctonos para *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae) en Cataluña (Península Ibérica). *Boletín de la SEA*, (59), 219-226.
- Jin XR, Tian SB, Zhao SE & Sun HX (1995) Studies on control of gall formation of *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu. *Scientia Silvae Sinicae* 31: 77–80.
- Kato K & Hijii N (1997) Effects of gall formation by *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hym, Cynipidae) on the growth of chestnut trees. *Journal of Applied Entomology* 121, 9–15.
- Lombardero, MJ & Cabaleiro, C (2015). Primeros resultados del seguimiento de *Dryocosmus kuriphilus* en castaños en Lugo. IX Congreso Nacional de Entomología Aplicada. Valencia, Spain, Octubre, 2015
- Magro P, Speranza S, Stacchiotti M, Martignoni D, Papparatti B, (2010). Gnomoniopsis associated with necrosis of leaves and chestnut galls induced by *Dryocosmus kuriphilus*. *New Disease Reports*, 21: article 15. <http://www.ndrs.org.uk/article.php?id=021015>
- Malumphy C, (2015). First findings of oriental chestnut gael wasp *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae) in the United Kingdom. *Cecidology*, 30(2):45-47. <http://www.british-galls.org.uk/publications.html>

Meyer, J. B., Gallien, L., & Prospero, S. (2015). Interaction between two invasive organisms on the European chestnut: does the chestnut blight fungus benefit from the presence of the gall wasp?. *FEMS microbiology ecology*, 91(11), fiv122.

Michaelakis A, Papachristos D, Chytas DA, Antonopoulou PD, Milonas PG, Avtzis DN, (2016). First record of *Dryocosmus kuriphilus* in Greece. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 46(2):290-294. [http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/\(ISSN\)1365-2338](http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/(ISSN)1365-2338)

Míguez Soto, B., Martínez Chamorro, E., Fernández López J. (2018) Tolerancia a la avispa del castaño (*Dryocosmus kuriphilus*) en variedades tradicionales de fruto e híbridos interespecíficos. Xunta de Galicia. Consellería del Medio Rural. Agacal. Santiago de Compostela. 16pp

Moriya, S., Inoue, K., Otake, A., Shiga, M., & Mabuchi, M. (1989). Decline of the chestnut gall wasp population, *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae) after the establishment of *Torymus sinensis* Kamijo (Hymenoptera: Torymidae). *Applied Entomology and Zoology*, 24(2), 231-233.

Moriya S, Shiga M & Adachi I (2003) Classical biological control of the chestnut gall wasp in Japan. In: *Proceedings of the 1st International Symposium on Biology Control of Arthropods* (Ed. Van Driesche, RG). Honolulu, Hawaii, pp. 407–415. United States Department of Agriculture, Forest Service, Washington (US).

Murakami Y, Gyoutoku Y (1995) A delayed increase in the population of an imported parasitoid, *Torymus (Syntomaspis) sinensis* (Hymenoptera: Torymidae) in Kumamoto, Southwestern Japan. *Appl Entomol Zool* 30:215–224

Murakami Y, Toda S, Gyoutoku Y (2001) Colonization of imported *Torymus (Syntomaspis) sinensis* Kamijo (Hymenoptera: Torymidae) parasitic on the chestnut gall wasp (Hymenoptera: Cynipidae). Success in the eighteenth year after release in Kumamoto. *Proc Assoc PI Prot Kyushu* 47:132–134

Nieves-Aldrey JL (2001) *Hymenoptera: Cynipidae (Vol. 16)*. Editorial CSIC-CSIC Press. Madrid, España.

Nieves-Aldrey JL, Gil-Tapetado D, Gavira O, Boyero JR, Polidori C, Lombardero MJ, Blanco D, Rey Del Castillo C, Rodríguez-Rojo MP, Vela JM and Wong E (2019) *Torymus sinensis* Kamijo, a biocontrol agent against the invasive chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu in Spain: its natural dispersal from France and the first data on establishment after experimental releases. *Forest Systems*, 28 (1) <https://doi.org/10.5424/fs/2019281-14361>.

Noyes JS (2019) Universal Chalcidoidea Database. World Wide Web electronic publication. <http://www.nhm.ac.uk/chalcidoids>

NPPO The Netherlands, 2010. First finding of *Dryocosmus kuriphilus* in *Castanea sativa* in The Netherlands. Pest Report - The Netherlands. Wageningen, The Netherlands: NPPO The Netherlands, 3 pp

Oho N, Umeya K (1975) Chestnut gall wasp is found in the People's Republic of China. *Shokubutsu Boeki (Plant Protection)* 29: 463-464 (in Japanese)

Pástor, M., Juhásová, G., Juhás, D., Bakay, L., Kollár, J., Bencathacek, T., 2017. Occurrence of oriental chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus* in Slovakia - short communication. *Plant Protection Science*, 53(4), 243-246. <http://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/223995.pdf>

- Payne, J.A.; Green, R.A.; Lester, C.D. 1976. New nut pest: an oriental chestnut gall wasp in North America. Annual Report of the Northern Nut Growers Association, 67: 83-86
- Payne JA, Jaynes RA & Kays SJ (1983) Chinese chestnut production in the United States: practice, problems and possible solutions. *Economic Botany* **37**, 187–200.
- Pérez-Otero R, Crespo D and Mansilla JP (2017) *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, 1951 (Hymenoptera: Cynipidae) in Galicia (NW Spain): pest dispersion, associated parasitoids and first biological control attempts. *Arquivos Entomoloxicos*, **17**, 439–448.
- Pérez-Otero, R. P., & Mansilla J. P. (2014). El cinípido del castaño *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, 1951 llega a Galicia (NO de la Península Ibérica). *Arquivos Entomolóxicos*, (12), 33-36.
- Pianka, E.R. (1970). On r- and K-Selection. *The American Naturalist*. 104 (940): 592-597.
- Pogolotti C, Cuesta-Porta V, Pujade-Villar J, Ferracini C, 2018. Seasonal flight activity and genetic relatedness of *Torymus* species in Italy. *Agric Forest Entomol*. DOI: 10.1111/afe.12316. <https://doi.org/10.1111/afe.12316>
- Pujade-Villar, J., Torrell, A., & Rojo, M. (2013). Primeres troballes a la península Ibèrica de *Dryocosmus kuriphilus* (Hym., Cynipidae), una espècie de cinípid d'origen asiàtic altament perillosa per al castanyer (Fagaceae). *Orsis: organismes i sistemes*, **27**, 295-301.
- Quacchia, A., Ferracini, C., Nicholls, J. A., Piazza, E., Saladini, M. A., Tota, F., ... & Alma, A. (2013). Chalcid parasitoid community associated with the invading pest *Dryocosmus kuriphilus* in north-western Italy. *Insect Conservation and Diversity*, **6**(2), 114-123.
- Quacchia, A., Moriya, S., Bosio, G., Scapin, I., & Alma, A. (2008). Rearing, release and settlement prospect in Italy of *Torymus sinensis*, the biological control agent of the chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus*. *BioControl*, **53**(6), 829.
- Rohfritsch, O., & Shorthouse, J. D. (1982). Insect galls. In *Molecular biology of plant tumors* (pp. 131-152). Academic Press.
- Sartor, C., Dini, F., Marinoni, D. T., Mellano, M. G., Beccaro, G. L., Alma, A., ... & Botta, R. (2015). Impact of the Asian wasp *Dryocosmus kuriphilus* (Yasumatsu) on cultivated chestnut: Yield loss and cultivar susceptibility. *Scientia Horticulturae*, **197**, 454-460.
- Shimura, I. S. A. O. (1972). Breeding of chestnut varieties resistant to chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu. *Jpn Agr Res Q*, **6**, 224-230.
- Stone, G. N., Schönrogge, K., Atkinson, R. J., Bellido, D., & Pujade-Villar, J. (2002). The population biology of oak gall wasps (Hymenoptera: Cynipidae). *Annual review of entomology*, **47**(1), 633-668.
- Turchetti, T., Addario, E., & Maresi, G. (2010). Interactions between chestnut gall wasp and blight: a new criticality for chestnut. *Forest@*.
- Wong, M. E., Gavira, O. N., Rodríguez, M. C., Vela, J. M., Boyero, J. R. (2018). La Avispilla del Castaño en Andalucía. Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural. Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera, 2017. 1-15 p. <https://www.juntadeandalucia.es/agriculturaypesca/ifapa/servifapa/>

Yasumatsu K, 1951. A new *Dryocosmus* injurious to chestnut trees in Japan. *Mushi*, 22:89-92

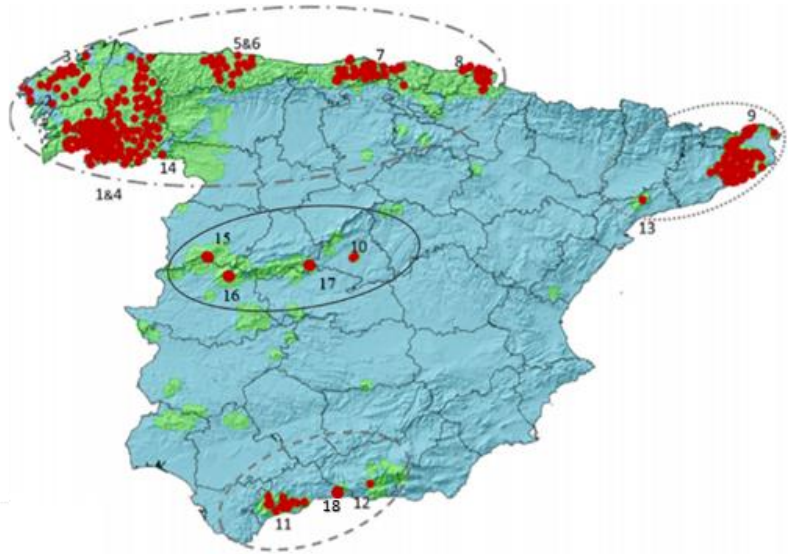
Modelo de argumentación científica para las propuestas de inclusión o exclusión de taxones en el Catálogo Español de Especies Exóticas Invasoras

(Con asterisco* se indican los apartados imprescindibles a cumplimentar)

Nombre científico*	<i>Dryocosmus kuriphilus</i> Yasumatsu, 1951
Observaciones taxonómicas	
Nombre vulgar	Castellano: Avispilla del castaño Catalán: Vespeta del castanyer Gallego: Avespiña do castiñeiro Vasco: ---
Propuesta*	Inclusión en el Catálogo español de especies exóticas invasoras
Responsable de la propuesta*	Diego Gil Tapetado (Universidad Complutense de Madrid)
Expertos, Instituciones o CCAA que apoyan la propuesta	Jose Luis Nieves Aldrey (Museo Nacional de Ciencias Naturales de Madrid; MNCN-CSIC) María Josefa Lombardero Díaz (Universidad de Santiago de Compostela) Carlo Polidori (Instituto de Ciencias Ambientales, Universidad de Castilla-La Mancha) Fernando Castedo Dorado (Universidad de León) Juan Ramón Boyero Gallardo (Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera, IFAPA) Jose Miguel Vela López (Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera, IFAPA) Jose Francisco Gómez Sánchez (Universidad Complutense de Madrid) Francisco José Cabrero Sañudo (Universidad Complutense de Madrid)
Breve resumen de la propuesta y cumplimiento o no de requisitos legales*	Especie inductora de agallas en el castaño, con gran capacidad de dispersión como resultado de introducciones y posteriores movimientos de plantas hospedadoras infectadas en el territorio nacional. Las vías de entrada y la traslocación dentro de España están ligadas al comercio y actividades forestales de castaño. La presencia de esta especie supone un grave perjuicio para los bosques de castaño, tanto para su conservación como para su cultivo y producción de fruto. Por lo tanto, cumple con el Art. 64.1 de la Ley 42/2007 y con el Art. 4.1 del Real Decreto 630/2013, por el que se regula el Catálogo español de especies exóticas invasoras.
Normativa nacional	Solicitud de dictamen sobre la posible introducción en el medio natural de la especie <i>Torymus sinensis</i> como organismo de control biológico de la plaga de <i>Dryocosmus kuriphilus</i> (avisvilla del castaño), que afecta actualmente a la producción de castañas y causa pérdidas económicas en el sector. Ambas especies son originarias de China. CC 14/2015

Normativa comunidades autónomas	---
Normativa europea	<ul style="list-style-type: none"> - Decisión de la Comisión de 27 de junio de 2006 relativa a las medidas provisionales urgentes para prevenir la introducción y propagación en la Comunidad del organismo <i>Dryocosmus kuriphilus</i> Yasumatsu 2006/464/CE - Decisión de Ejecución de la Comisión, de 30 de septiembre de 2014, por la que se deroga la Decisión 2006/464/CE, relativa a las medidas provisionales urgentes para prevenir la introducción y propagación en la Comunidad del organismo <i>Dryocosmus kuriphilus</i> Yasumatsu. DOUE-L-2014-83010 - Reglamento de Ejecución (UE) nº 707/2014 de la Comisión, de 25 de junio de 2014, que modifica el Reglamento (CE) nº 690/2008, por el que se reconocen determinadas zonas protegidas en la Comunidad expuestas a riesgos fitosanitarios específicos. DOUE-L-2014-81399 - Reglamento de Ejecución (UE) 2016/873 de la Comisión, de 1 de junio de 2016, que modifica el Reglamento (CE) nº 690/2008, por el que se reconocen determinadas zonas protegidas en la Comunidad expuestas a riesgos fitosanitarios específicos. DOUE-L-2016-81014
Acuerdos y Convenios Internacionales	<ul style="list-style-type: none"> - Convenio sobre la Diversidad Biológica. CBD. 1992 - Convenio relativo a la vida silvestre y el medio natural en Europa, celebrado en Berna el 19 de septiembre de 1979. - Estrategia Europea sobre Especies Exóticas Invasoras (2004).
Bases de datos y Atlas de Especies Exóticas Invasoras	<ul style="list-style-type: none"> - Escala Mundial: GRIIS (En Japón, Croacia y Rusia), CABI - Escala Europea: EASIN, EPPO
Área de distribución y evolución y tamaño de la población*	<ul style="list-style-type: none"> - Área de distribución natural Bosques de castaños del centro y este de China - Área actual de distribución mundial Se distribuye por bosques y plantaciones de castaños de Asia, Norteamérica y Europa. En Europa se encuentra desde Portugal y Reino Unido hasta Grecia y Turquía, pasando por todos los países de Europa central y meridional. <div style="text-align: center;">  </div> <p style="text-align: center;">(Fuente: CABI)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Distribución en España: CCAA: Andalucía, Asturias, Cantabria, Castilla y León, Cataluña, Extremadura, Galicia, Madrid, Navarra, Región de Murcia, País Vasco,

En España, se citó por primera vez en 2012 en Cataluña, concretamente en Gerona y posteriormente se ha citado en numerosas provincias de la Península:



(Modificado de: Gil-Tapetado et al., 2018)

El nombre de los focos sería: 1&4 – Oeste y Sur de Galicia y El Bierzo, 2 – Val do Dubra, 3 – A Coruña, 5&6 – Centro de Asturias, 7 – Este de Cantabria y Oeste de Vizcaya, 8 – Este de Navarra y Oeste de País Vasco, 9 – Cataluña, 10 – Madrid, 11 – Sierra de las Nieves, 12 – Sierra Nevada, 13 – Prades, 14 – Alta Sanabria. 15 –Peña de Francia, 16 – Valle del Jerte, 17 – Cadalso de los Vidrios, 18 – Sierra Tejada-Almijara.

- Evolución:

Las poblaciones han ido aumentando de forma exponencial en sus lugares de asentamiento, expandiendo el territorio infestado. Este rápido incremento de la población es debido a la reproducción partenogenética de la hembra, que puede reproducirse sin cópula (no existen machos en la especie) y a la falta de reguladores biológicos que la controlen por debajo del umbral económico (uso agrícola), o bien del umbral de daños (uso forestal). Además, el movimiento de castaños por el territorio ha transportado la plaga a diferentes puntos de la geografía española.

<p>Biología y ecología de la especie*</p>	<p><i>Dryocosmus kuriphilus</i>, la avispa del castaño, es un insecto himenóptero del grupo conocido como “avispa de las agallas”, así denominadas por ser capaces de inducir agallas o cecidias en las plantas. Las agallas se pueden definir como unas estructuras morfológicas anormales de las plantas que resultan de la modificación de un órgano normal de la misma (como una hoja, un fruto, una rama, etc.) por la acción de una especie animal, para su protección, alimentación y alojamiento en su estadio larval y pupal. En los casos más complejos la agalla representa además un fenotipo extendido del organismo inductor. La especie <i>D. kuriphilus</i> induce agallas en diferentes especies de castaños. La avispa del castaño solo se reproduce por partenogénesis telítoca, presentando solo hembras, que tienen descendencia directa semiclónica, sin intermediación de machos ni recombinación genética con otro individuo, poseyendo una variabilidad genética baja o nula.</p> <p>Esta especie tiene un ciclo de vida muy íntimamente ligado a su hospedador, el castaño. El ciclo de una generación de <i>D. kuriphilus</i> comienza cuando una hembra partenogénica deposita un huevo en el interior de la yema del castaño en verano. A diferencia de otras especies de avispas de las agallas nativas, el huevo y el primer estadio larval pasan un largo periodo de diapausa invernal y la agalla nueva no comienza a desarrollarse hasta principio de primavera del siguiente año. Después de eclosionar, del huevo emerge la larva y comienzan a producirse las primeras fases de la cecidogénesis (formación de la agalla). La agalla empieza a crecer y a ser conspicua a mediados de primavera del año siguiente, durante la formación de las hojas del castaño. A la vez, las estructuras normales en la que se ubica la agalla de <i>D. kuriphilus</i> (brote, hoja o estípula) se acortan y se modifican, además de formarse en el interior el tejido nutritivo del que se alimenta la larva. La larva continúa creciendo hasta pupar a finales de primavera o principios del verano, emergiendo la hembra adulta en dicha estación, para volver a efectuar la puesta en otra yema de castaño y cerrar así el ciclo de reproducción.</p>
<p>Descripción del hábitat*</p>	<p>- Hábitat en su área de distribución natural Bosques de <i>Castanea mollissima</i>, <i>C. seguinii</i> y <i>C. henryi</i> en China.</p> <p>- Hábitat en su área de introducción: Bosques y plantaciones de castaños. En España los bosques de castaños se encuentran por lo general compartiendo hábitat con especies de <i>Quercus</i> (por lo general robles, quejigos y/o alcornoques, formando un continuo. Las plantaciones de <i>Castanea</i> son híbridas e injertos entre varias especies de castaños.</p>

<p>Vías de entrada y expansión*</p>	<p>La entrada y dispersión de esta especie invasora por el territorio español es indirecta, no intencional, causada por el movimiento de plantones de castaño para su cultivo e injertos desde diferentes lugares del mundo hacia España. Esta entrada ha sido producida de forma no intencional tanto por particulares como por viveros. Dentro del territorio nacional, la distribución actual de esta especie es disjunta, producida por el movimiento de castaños dentro del país, siendo también no intencional. Pese a que ya existía información sobre esta plaga en otros países, también europeos y de la Unión Europea, los primeros estadios del ciclo, los huevos y larvas en el interior de las yemas del castaño, pasaron inadvertidos, con una apariencia de ausencia y libre de <i>D. kuriphilus</i>. Este hecho es especialmente notorio en los primeros años de asentamiento de <i>D. kuriphilus</i>, con ausencia de agallas secas de otros años en el árbol infestado que confiere la apariencia de árbol libre de la plaga, que en realidad está oculta en el interior de las yemas. También posee una dispersión natural de 6.6 km/año.</p>
<p>Similitud climática entre las áreas de origen de la especie y España</p>	<p>Esta especie se distribuye en su medio natural en China, en la región del centro y del este, estando en una zona climática <i>a priori</i> diferente. Sin embargo, se ha demostrado que las condiciones climáticas no afectan tanto como la presencia de castaño a la distribución de <i>D. kuriphilus</i>, indicando una alta plasticidad y unos requisitos ecológicos bajos para esta especie.</p>
<p>Impactos y amenazas*</p>	<p>- Sobre el hábitat Los castañares, como formación forestal, se comportan ecológicamente como un bosque autóctono caducifolio, por lo que están incluidos en el anejo I de la Directiva 92/43/CEE, relativa a la conservación de los hábitats naturales y la flora y fauna silvestres (tipo de hábitat 9260 "Bosques de <i>Castanea sativa</i>") y, por tanto, en el anejo I de la Ley 42/2007, de 13 de diciembre, del Patrimonio natural y de la biodiversidad. Esta relevancia jurídica es consecuencia de su importancia ecológica.</p> <p>- Sobre las especies Si bien los casos de muerte directa del castaño son raros, las agallas de <i>D. kuriphilus</i> pueden debilitar al árbol. Además, produce un daño en la arquitectura vegetal del castaño causando malformaciones y acortamientos en las ramas de los castaños al inducir agallas en las yemas terminales, así como el acortamiento o aborto de las hojas. Esto produce que la copa tupida típica de los castaños desaparezca o se vean zonas despejadas, pudiendo llegar a producir daños a largo plazo a los suelos, así como un daño paisajístico visual que puede ser irreversible en los bosques españoles.</p> <p>- Sobre los recursos económicos asociados al uso del patrimonio natural Las agallas inducidas por esta especie en el castaño causan pérdidas notables e importantes en la producción de su fruto, la castaña, así como debilitamiento del árbol, malformaciones de las ramas para la producción de madera e incremento del riesgo de contraer otras plagas. En Estados Unidos de América e Italia hablan de pérdidas en la</p>

	producción de castaña de hasta el 80%, aunque para territorio español no se poseen estos datos.
Medidas y nivel de dificultad para su control*	Actualmente se usa la liberación de <i>T. sinensis</i> , el enemigo natural de <i>D. kuriphilus</i> en su medio natural como control biológico. Este parasitoide presenta buenos resultados de control efectivo de las poblaciones de <i>D. kuriphilus</i> , aunque en el momento de realización de este informe, en España estos resultados no se han obtenido probablemente debido a su reciente introducción. Los resultados de asentamiento y efecto observable del control de poblaciones de <i>D. kuriphilus</i> por esta especie están estimados en 4-10 años a medio-largo plazo. Además de este periodo de asentamiento largo, la introducción de una nueva especie alóctona en el medio puede ocasionar perturbaciones en el medio natural y en las comunidades nativas de insectos.
Otra información de interés	Perturbación secundaria de la fauna autóctona de parasitoides nativos, al crearse una nueva comunidad biológica en las agallas de <i>D. kuriphilus</i> , que a su vez puede producir desequilibrios en el sistema cinípidos autóctonos-parasitoides. Perturbación secundaria producida por las sueltas del enemigo natural y control biológico de <i>D. kuriphilus</i> , <i>T. sinensis</i> , en el medio natural.
Referencias bibliográficas*	<ul style="list-style-type: none"> - BV (Biodiversidad Virtual), 2019. Insectarium Virtual. <i>Dryocosmus kuriphilus</i>. https://www.biodiversidadvirtual.org/insectarium/Dryocosmus-kuriphilus-Yasumatsu-1951-cat40702.html [Último acceso: 25-09-2019] - CABI, 2019. Invasive Species Compendium. Wallingford, UK: CAB International. www.cabi.org/isc. - EPPO, 2014. PQR database. Paris, France: European and Mediterranean Plant Protection Organization. http://www.eppo.int/DATABASES/pqr/pqr.htm - Ferracini, C., Bertolino, S., Bernardo, U., Bonsignore, C. P., Faccoli, M., Ferrari, E., ... & Rocco, A. (2018). Do <i>Torymus sinensis</i> (Hymenoptera: Torymidae) and agroforestry system affect native parasitoids associated with the Asian chestnut gall wasp? <i>Biological Control</i>, 121, 36-43. - Gil-Tapetado D, Gómez JF, Cabrero-Sañudo FJ, & Nieves-Aldrey JL (2018) Distribution and dispersal of the invasive Asian chestnut gall wasp, <i>Dryocosmus kuriphilus</i> (Hymenoptera: Cynipidae), across the heterogeneous landscape of the Iberian Peninsula. <i>European Journal of Entomology</i>, 115, 575-586 - Moriya, S., Inoue, K., Otake, A., Shiga, M., & Mabuchi, M. (1989). Decline of the chestnut gall wasp population, <i>Dryocosmus kuriphilus</i> Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae) after the establishment of <i>Torymus sinensis</i> Kamijo (Hymenoptera: Torymidae). <i>Applied Entomology and Zoology</i>, 24(2), 231-233. - Pujade-Villar, J., Torrell, A., & Rojo, M. (2013). Primeres troballes a la península Ibèrica de <i>Dryocosmus kuriphilus</i> (Hym., Cynipidae), una espècie de cinípid d'origen asiàtic altament perillosa per al castanyer (Fagaceae). <i>Orsis: organismes i sistemes</i>, 27, 295-301.

Información de contacto*	Diego Gil Tapetado, Calle José Antonio Novais, 2, 28040 Madrid, Universidad Complutense de Madrid, diego.gil@ucm.es, 664102537.
Fecha de la propuesta*	Noviembre/2019

Otra información a adjuntar para la propuesta si se considera oportuno (Otra cartografía, copia de publicaciones científicas o informes técnicos, etc).



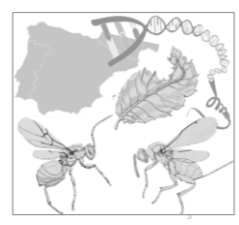
"But in the end, it's only a passing thing, this shadow; even darkness must pass." A new day will come. And when the sun shines it will shine out the clearer".

"Pero al final, todo es pasajero. Como esta sombra, incluso la oscuridad se acaba, para dar paso a un nuevo día. Y cuando el sol brilla, brilla más radiante aún".

- Samsagaz "Sam" Gamyi

J.R.R.Tolkien - El Señor de los Anillos.







DEPARTAMENTO DE BIODIVERSIDAD, ECOLOGÍA Y
EVOLUCIÓN. FACULTAD DE BIOLOGÍA.
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID.



MUSEO NACIONAL DE CIENCIAS
NATURALES DE MADRID.
CONSEJO SUPERIOR DE
INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS.