



**DIRECTRICES PARA EL CONTROL BIOLÓGICO
DE LA AVISPILLA DEL CASTAÑO
(*Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu)
MEDIANTE EL USO DEL PARASITOIDE
*Torymus sinensis***

Este documento recoge recomendaciones para la suelta de *Torymus sinensis*, organismo de control biológico de la avispa del castaño (*Dryocosmus kuriphilus*), sin perjuicio del cumplimiento de la normativa desarrollada por la Comunidades Autónomas al respecto en sus respectivos territorios.

1. ANTECEDENTES. Control biológico con *Torymus sinensis*

Unos veinte años después de la detección de la avispa del castaño en Japón, se empezaron a utilizar variedades resistentes de castaño con resultados esperanzadores. Sin embargo, en los años 70 se observó de nuevo un incremento significativo de los daños por lo que, tras investigar diferentes parasitoides específicos chinos, se inició el control biológico con *Torymus sinensis* Kamijo. A final de los años 80, después de sucesivas introducciones de *Torymus sinensis* se considera que la plaga de avispa del castaño está controlada.

También en USA, donde se detectó la plaga en 1974, se inició el control biológico en 1977 con *Torymus sinensis*.

En Italia, después de una estrecha colaboración con los investigadores japoneses, en 2005 se iniciaron las primeras sueltas del parasitoide *Torymus sinensis*.

En Francia, el control biológico con este parasitoide se inició en 2011.

En Hungría y en Croacia las primeras sueltas de *Torymus sinensis* se realizaron en 2014.

La experiencia y los conocimientos han mostrado **un amplio consenso científico en que el uso de *Torymus sinensis* como agente de control biológico junto con el potencial de los parasitoides naturales debe ser considerado la mejor solución posible para controlar la plaga invasora de la avispa del castaño.**

Se debe tener en cuenta que desde las primeras sueltas del parasitoide hasta que resulta efectivo el control biológico transcurren varios años (4-8). Durante los primeros años de suelta, la población de *T. sinensis* se dispersará muy lentamente, mientras que con el paso de los años, la dispersión será cada vez más rápida y exponencial.

2. CICLO BIOLÓGICO DE *Dryocosmus kuriphilus* Y DE SU PARASITOIDE *Torymus sinensis*

Biología de *D. kuriphilus*

Es una especie univoltina y teliotoca, es decir, con partenogénesis obligada y sólo hembras en sus poblaciones (los machos nunca se han detectado): la puesta de hembras no fecundadas genera descendencia femenina.

En verano, se depositan los huevos en el interior de las yemas del castaño (a veces en el nervio de la hoja).

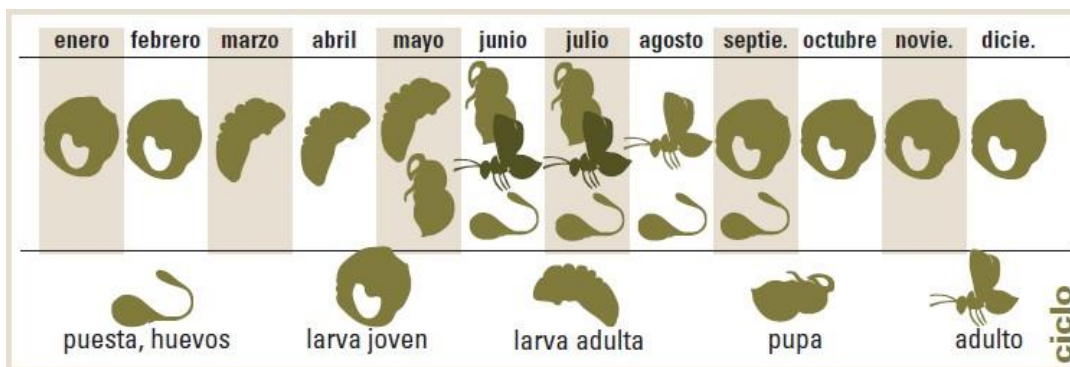


Fotos 1 y 2. Oviposición de *Dryocosmus kuriphilus*.

Material_divulgativo_dryocosmus_kuriphilus-2015.pdf (Junta de Andalucía) y C. Castro, UAB.

Hacen la puesta en grupos de 3 a 5 huevos en el interior de la yema. Cada hembra puede poner entre 100 y 150 huevos a lo largo de sus 10 días de vida. Debido a que varias hembras pueden ovipositar en la misma yema, ésta puede albergar más de 20 huevos. La eclosión se produce en unos 40 días. Es extremadamente lento el desarrollo de la larva de primer estadio, abarcando todo el otoño y el invierno. En la primavera siguiente, antes del inicio de la actividad vegetativa del castaño, tan pronto como se incrementa la temperatura, se reanuda la actividad de las larvas y, por efecto de las toxinas que secretan, comienza el desarrollo de las agallas.

Las larvas se alimentan durante 20-30 días antes de pupar. Dependiendo de la localidad (altitud, exposición) y del cultivar de castaño, la pupación sucede entre mediados de mayo y mediados de julio (coincidiendo con la floración masculina) y dura unos 15 días. Los adultos emergen desde el final de mayo hasta fin de agosto, principalmente entre junio y julio. Viven unos 10 días. Desde que las larvas invernantes comiezan a formar las agallas hasta que de ellas emergen los adultos pasan entre 30 y 70 días. La emergencia se prolonga entre 1 y 2 meses en función de las condiciones de la zona y año.



Ciclo biológico de *Dryocosmus kuriphilus* Centro de Sanidad Forestal de Calabanzos. Junta de Castilla y León.

D. kuriphilus puede dispersarse de forma natural mediante sus vuelos y con la ayuda del viento: La dirección de dispersión preferente se corresponde con la de los vientos predominantes en la zona. Velocidades del viento de 0,15 a 0,45 m/s inducen a los adultos a iniciar el vuelo ayudándose por las corrientes. Con velocidades del viento superiores a 0,73 m/s su actividad de vuelo cesa, no obstante con velocidades más altas (2,15 m/s), el insecto es literalmente arrastrado desde los árboles.

A su vez se ha detectado transporte pasivo de adultos en vehículos, además del que pueda producirse mediante movimiento de material vegetal de castaños infestado (salvo frutos y semillas).

El hecho de que se pueda fundar una población a partir de un solo individuo, junto a su gran capacidad reproductiva, provoca un crecimiento muy rápido de las poblaciones. Se trata de una especie invasora que en Europa no dispone de enemigos naturales, por lo que su densidad de población y dispersión no se ven actualmente limitadas en nuestro territorio.



Foto 3. Adultos en el interior de agalla. Jerry A. Payne, USDA Agricultural Research Service, Bugwood.org

En Francia, Italia y Portugal, entre otros, se recurre a la liberación del parasitoide *Torymus sinensis*, depredador natural en el país de origen de *Dryocosmus kuriphilus*, para realizar un control biológico de la plaga.

Biología del parasitoide *Torymus sinensis*

Torymus sinensis (Kamijo, 1982) es un insecto micro himenóptero de la familia *Torymidae*, originario de China y que se alimenta exclusivamente a expensas de *Dryocosmus kuriphilus*. Su afinidad por la avispa es específica, tiene una generación por año (especie univoltina) y su ciclo biológico está perfectamente sincronizado con el de su huésped.

a) Ciclo biológico

Los estados que constituyen el ciclo de vida de *Torymus sinensis* son huevo, larva, pupa y adulto. El insecto macho y hembra se diferencian principalmente en el ovopositor de la hembra, mucho más largo (ver fotos 1 y 2)

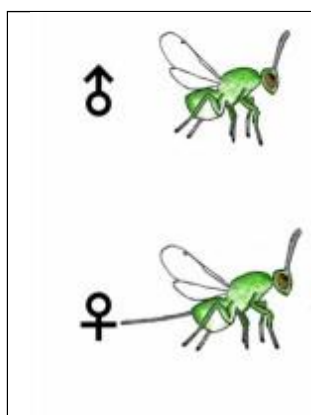
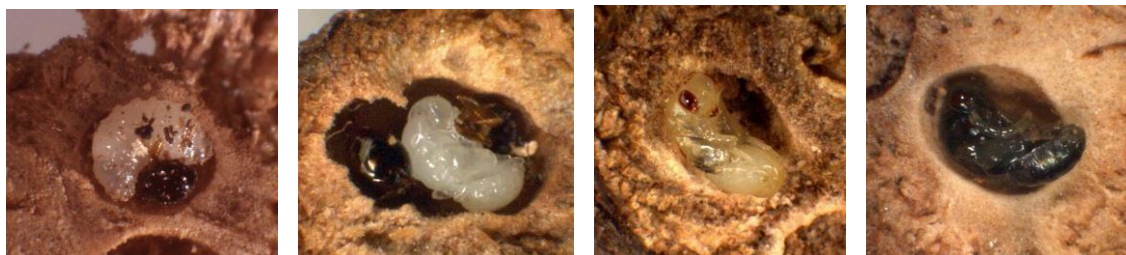


Foto4. Diferenciación macho-hembra (Fuente: www.greenwoods-services.com). Foto 5. Hembra con el ovopositor visible

Cuando llega la primavera, las nuevas agallas de *Dryocosmus kuriphilus* se desarrollan. Es entonces cuando empiezan a salir los *T. sinensis* de las agallas secas del año anterior. Las hembras y los machos dispondrán de un periodo de 6 días previo a la ovoposición para aparearse (tienen reproducción sexual a diferencia de *Dryocosmus*). Una vez que las hembras del insecto están fecundadas, estas buscarán las agallas nuevas (verdes y recién formadas) en cuyo interior depositarán un huevo. A continuación, las larvas de *Torymus* se alimentarán de las larvas de la avispa, bien sobre la superficie del cuerpo de la larva del hospedante o sobre la pared de la cámara larval. Cada larva individual de *T. sinensis* sustituirá a una larva de la avispa en el interior de la agalla, permaneciendo en su interior hasta la siguiente primavera, pasando el invierno en diapausa y estado larval-pupal (ver diagramas del ciclo biológico).



Fotos 6 a 9. Desarrollo larval-pupal de *Torymus sinensis* durante las épocas de otoño e invierno en agalla seca. Nótese los restos del *Dryocosmus* devorado en el interior de la agalla (partes negras). Fuente: Università di Torino (DIVAPRA).

De media una hembra es capaz de poner 70 huevos y la aparición de los individuos coincide con la época de fruto del castaño. La esperanza de vida de estas hembras es de aproximadamente 37 días lo que facilita durante ese tiempo su seguimiento y estudio en campo. En condiciones adecuadas, tales como temperaturas que rondan los 15 grados y fuentes de alimento alternativo como la miel, la esperanza de vida aumenta pudiendo sobrevivir hasta 4 meses. Ante la inminente extinción de su huésped, el insecto es capaz de entrar en una diapausa prolongada de aproximadamente 2 años.



Diagrama 1. Ciclo biológico *Torymus sinensis*
(Fuente: Azienda Agricola Gabbio & Miguel de Iacovo)

b) Biología relacionada con la suelta

A diferencia de otras especies de *Torymus*, *T. sinensis* posee un ovipositor más largo, permitiéndole parasitar agallas más grandes, adaptándose mejor a la superficie del cuerpo de la larva de *D. kuriphilus*. Además de esta característica morfológica, el insecto consigue sincronizarse al ciclo del huésped, convirtiéndolo en un agente de control biológico altamente eficiente.

c) Dispersión

Durante los primeros años tras la suelta, *T. sinensis* buscará poblaciones de *Dryocosmus* dispersándose muy lentamente lo que hace recomendable comenzar la suelta lo antes posible una vez sobrepasado el nivel mínimo de afectación de los castaños establecido. Una vez adaptados, crecerán y se dispersarán más rápidamente llegando a unir poblaciones en dos puntos de suelta de 8 kilómetros de distancia en 5 años y distancias de 20 kilómetros en 7 años.



Foto 10. Estado de las agallas en el momento de la ovoposición de *T. sinensis*. Fuente: Provincia Autonoma Di Bolzano Alto Adige

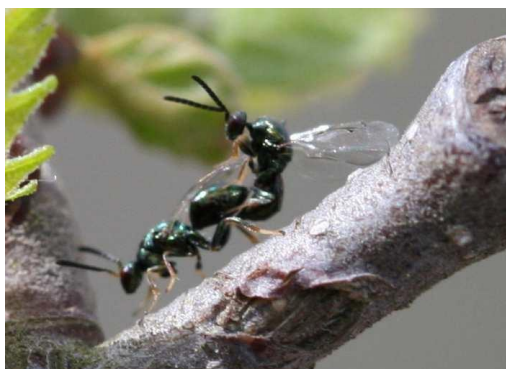


Foto 11. Apareamiento entre hembra y macho de *T. sinensis*. Fuente: Università dei Torino (DIVAPRA)



Foto 12. Larva de *Torymus* dentro de una agalla seca en invierno (Fuente: Chambres D'agriculture Languedoc-Roussillon)



Foto 13. *T. sinensis* sobre la agalla en Abril



Foto 14. Suelta de insectos de *Torymus sinensis*. (Fuente: Chambres D'agriculture Languedoc-Roussillon)

3. PROTOCOLO DE ACTUACIÓN. Suelta de *Torymus sinensis*

a) Determinación de la zona

Los criterios que se deben aplicar para la determinación de las zonas de suelta son los siguientes:

- Continuidad del cultivo/arboleda del castaño
- Elevado nivel de afectación de los castaños de la zona por la avispa para facilitar el establecimiento y crecimiento rápido del parasitoide (más de 100 agallas por árbol)
- Posición estratégica de la zona: el área de suelta en una zona elevada facilita su dispersión a zonas circundantes menos elevadas.
- Ausencia de tratamientos químicos

En el caso de estar los castaños situados en un espacio natural protegido, también se deberá observar la normativa específica.

b) Elección del momento óptimo

Ésta debe realizarse en el momento óptimo para el parasitismo, acoplamiento de los ciclos de *Torymus sinensis* y de *Dryocosmus kuriphilus*, y dependerá de la fenología de la zona de suelta en ese año en concreto (normalmente entre los meses de abril y mayo) y de las variedades de castaño presentes. La época óptima para la suelta del *Torymus sinensis* es 15 días después de la aparición de las primeras hojas en las yemas apicales (Nivel fenológico BBCH10) (Ver tabla 1), momento en el que las hojas ya estarán desplegándose o recién desplegadas (Nivel fenológico BBCH11), y las agallas ya comenzarán a ser visibles y se estarán desarrollando pero aun estarán tiernas y en su interior *Dryocosmus kuriphilus* se encontrará aún en fase larvaria temprana (en estado de larva L1-L3). Se puede introducir posteriormente pero disminuye el periodo en el que el parasitoide realice un parasitismo eficaz, es decir, se reduce el control efectivo de la plaga.






 <p>BBCH00</p>	<p>BBCH02</p>	 <p>BBCH03</p>
<p>BBCH00. Yema durmiente</p>	<p>BBCH02. Comienza la hinchazón de la yema</p>	<p>BBCH03. Fin del hinchamiento de la yema</p>
 <p>BBCH07</p>	 <p>BBCH10</p>	 <p>BBCH11</p>
<p>BBCH07. La yema comienza a abrirse o a brotar</p>	<p>BBCH10. Se caen las escamas o pérulas y empiezan a aparecer las primeras hojas (Pérula: Conjunto de brácteas y sépalos no diferenciados)</p>	<p>BBCH11. Primera hoja extendida</p>
	<p>BBCH19</p>	 <p>BBCH51</p>
<p>BBCH15. Más hojas desplegadas, pero aún no han alcanzado su tamaño final</p>	<p>BBCH19. Todas o casi todas la hojas ya desplegadas y con tamaño final</p>	<p>BBCH51. Aparición de la primera inflorescencia masculina (amento)</p>

Tabla 1 Codificación BBCH para *Castanea sativa*: Para facilitar la recogida de datos se han caracterizado las fases fenológicas del castaño en su brotación utilizando como base el documento "Manuale per monitoraggio fenologico di Castanea sativa" elaborado por Italian Phenological Network (IPHEN).

Dado que a la empresa suministradora del parasitoide hay que avisarla con cierto tiempo, es necesario prever el momento óptimo de la suelta con unos 15 días de antelación. Dicha estimación se basará en la velocidad a la que evolucionan las yemas, el follaje y las agallas y las previsiones de tiempo habrá en los próximos 15 días, entre otros.

c) Dosis de suelta

Una única suelta de 100 – 120 hembras fecundadas (y 70 machos), es suficiente para inocular / controlar un área de 2 – 3 Ha. Con esta dosis, se empezarán a observar resultados del control de la avispa del castaño en unos 3 - 4 años, obteniéndose un óptimo control al cabo de 6 - 7 años aproximadamente. Esta sería la dosis recomendada para productores que necesitan un control rápido del problema.

En zonas de arboleda públicas, parques naturales... se pueden realizar sueltas a una densidad más baja. Las sueltas se espaciarían en el tiempo, hasta alcanzar una dosis final de 1 suelta cada 2 – 3 Ha, momento en el cuál se pararía de realizar las sueltas. En este caso, el tiempo necesario para realizar el control de la plaga aumentará (hasta 2 – 3 años más).

d) Almacenamiento de las dosis hasta el día de la suelta

El *Torymus sinensis* puede parasitar agallas en campo durante 15-30 días. *T.s.* puede vivir más pero ya sin parasitar por lo que ya no sería útil.

En cautividad dentro del bote a una temperatura de entre 12-15°C, puede vivir 1 semana pues el bote lleva algo de alimento, aunque necesitaría presencia de luz durante al menos 10-12 horas/día.

A partir de la semana, la mortalidad empezará a aumentar, y para mantenerlos en estado óptimo, se debe renovar la alimentación (con aguamiel) y sacar los insectos a temperatura ambiente (18-20°C) alrededor de 1 hora cada 2-3 días para que se activen y alimenten. Aun así, la mortalidad aumentará bastante aunque haya algunos individuos que puedan vivir hasta 1 mes o más.

e) Transporte del envase

Los botes o cajas se transportarán a temperaturas rigurosamente controladas para evitar que eventuales fluctuaciones térmicas dañen la integridad y calidad del producto. Durante el transporte, los botes o las cajas con las probetas se introducirán en un contenedor isotérmico y se mantendrán a temperaturas frescas con la ayuda de acumuladores de hielo, debiéndose evitar mediante cartones u otros el contacto directo de dichos acumuladores con las cajas de *Torymus sinensis*. En el caso de que el viaje sea largo y las temperaturas altas, se debe controlar cada cierto tiempo los acumuladores para asegurar que estos siguen congelados, si no, substituir por unos nuevos. La temperatura se deberá mantener entre los 12-15°C. Es importante no dejar el contenedor isotérmico expuesto a la luz directa del sol y, en el caso de estacionar el vehículo, deberá estar rigurosamente en una zona sombreada porque el calentamiento excesivo podría causar la muerte de los insectos. Siempre con el objetivo de proteger el contenido, las cajas o botes no deberán girarse ni ser sometidas a fuertes golpes.

f) Realización de la suelta

Una vez alcanzado el destino, se debe extraer el bote o la caja del contenedor isotérmico y esperar algunos minutos para que los insectos se habitúen a la temperatura ambiental. Poco a poco los insectos se adaptarán a la nueva temperatura y se observará que éstos empezarán a moverse rápidamente.

Abrir los contenedores con los parasitoides con la boca hacia arriba. Los insectos tienen fototropismo positivo, por lo que se verán atraídos hacia la luz y saldrán espontáneamente, de no ser así se recomienda envolver el vial en papel oscuro que no deje pasar la luz. En caso de ligera lluvia o frío (en el momento de suelta), ponerlo en posición contraria (boca abajo) y golpear ligeramente las paredes del contenedor sobre las agallas / hojas, de modo que caigan sobre éstas y se refugien entre / debajo de las hojas.

La suelta debe realizarse en un grupo pequeño de plantas (2 – 3) dentro de un área aproximada de 50 m² (distancia entre árboles de unos 4 m). De este modo facilitaremos que en la siguiente generación, machos y hembras puedan encontrarse más fácilmente.

Se recomienda no depositar los viales en el suelo o dejarlos apoyados en ramas sin vigilancia, por la posibilidad de ataque por parte de depredadores (hormigas y arañas principalmente)



Foto 15. Suelta de *Torymus sinensis*. GreenWoodService. www.tecnologia-ambiente.it/vespa-del-castagno-cinipide-

g) Puntos críticos:

El establecimiento de los parasitoides puede fallar en el caso de que en el área de suelta se realicen tratamientos químicos. Los adultos viven en campo de 3 a 4 semanas, por lo que no se debe tratar en ese periodo. Se recomienda una gestión biológica del área de suelta.

La población del parasitoide está influenciada por diversas variables, bióticas y abióticas, así como el manejo de la masa forestal, que determina la velocidad del crecimiento poblacional del parasitoide.

Algunas de las más representativas son:

- **Manejo del cultivo:** Los tratamientos químicos, la eliminación de agallas (podas, etc.) así como la quema previa o posterior a la introducción del parasitoide dificultarán su establecimiento.
- **Presencia de hiperparasitoides:** En cada ambiente diferente, encontramos una biocenosis diversa determinada por las especies vegetales presentes y las interacciones entre las distintas especies que la forman. Si hay biocenosis, en particular de cinípidos autóctonos, caracterizadas por la presencia de numerosos hiperparasitoides, estos podrían adaptarse de sus huéspedes originales al *T. sinensis* e influir, por tanto, negativamente sobre el crecimiento poblacional del parasitoide.
- **Porcentaje de machos y hembras:** En caso de falta de cópula, *T. sinensis* se reproduce por partenogénesis arrenótoca: de huevos no fecundados se obtienen sólo machos. La disminución del número de hembras puede conducir a la extinción de la población en el año sucesivo.
- **Condiciones climáticas y ambientales particularmente adversas:** Diversas investigaciones han demostrado la alta capacidad de *T. sinensis* a adaptarse y sobrevivir en condiciones desfavorables. Se ha demostrado su supervivencia en agallas marcescentes y en agallas atacadas por chancro y, por tanto, especialmente endurecidas. Pero, como cualquier otro organismo vivo, es susceptible a reducciones poblacionales en condiciones adversas (no siempre obvias) y particularmente peligrosas durante los primeros años de suelta.

h) Qué sucede en el castañar después de la suelta

1. En primavera se desarrollan las nuevas agallas de la avispa.
2. Empiezan a salir los *Torymus sinensis* de las agallas secas del año anterior y se aparean (la hembra del *Torymus sinensis* se distingue del macho por la presencia del ovipositor).
3. Las hembras fecundadas de *T. sinensis* buscan agallas nuevas y depositan un huevo en su interior. Posteriormente la larva de *Torymus* se alimentará de la larva de la avispa.
4. Cada larva individual de *T. sinensis* sustituirá a un larva de la avispa en el interior de la agalla. Permanecerá en su interior hasta la siguiente primavera.

i) Qué hacer para preservar el *Torymus sinensis* tras su suelta

1. No efectuar tratamientos con insecticidas en el castañar, fundamentalmente durante primavera.

2. Tras la suelta de *Torymus sinensis*, se recomienda no podar o quitar vástagos hasta que la planta entre en reposo en invierno.
3. Durante el invierno se podrán efectuar labores de poda de las ramas, eliminándose únicamente las partes leñosas (más gruesas), y dejando sobre el terreno todas aquellas que tengan agallas hasta pasadas 2 primaveras. En general, el objetivo es preservar todas las agallas, teniendo en cuenta que una pequeña parte del *Torymus* podrá emerger pasados 2 años.
4. Se recomienda no quemar los restos de poda o limpieza del castaño hasta tener garantizada la implantación del parasitoide en la zona.
5. Conviene mantener zonas con flores junto a los castaños objeto de sueltas dado que los ejemplares adultos de *Torymus sinensis* las necesitan para alimentarse de su polen y néctar.

j) Información

Es necesario que los particulares y propietarios estén informados de los trabajos que se han realizado y que se tiene previsto realizar, sobre la avispa y la suelta del parasitoide *Torymus sinensis*, por ello una buena comunicación y coordinación de las actividades resulta primordial.

En el punto de liberación, conviene realizar una pequeña marca con pintura y colocar un cartel que informe que es un punto de suelta de *Torymus sinensis* y las recomendaciones de cuidados culturales que hay que seguir.

Esta es una zona de suelta de *Torymus sinensis* para frenar a la avispa del castaño

Zona de suelta controlada del parasitoide *Torymus sinensis* con fines experimentales para estudiar la viabilidad de su empleo en la lucha contra la avispa del castaño

Para que se pueda establecer el parasitoide en la zona y comenzar el control de la plaga es muy importante que en estos puntos de suelta se cumplan las siguientes normas:

- ✓ No usar ningún tipo de insecticida en un radio de 100 metros desde el lugar de suelta, sobre todo en primavera principios de verano.
- ✓ Desde el momento de la suelta del parasitoide (abril-mayo) y hasta mediados de noviembre no se realizará ninguna poda.
- ✓ Los restos de poda (tanto hojas como ramas) no se eliminarán hasta pasadas 2 primaveras después de la poda, con el fin de dar tiempo a la salida de todos los *Torymus* del interior de la agallas.

Para más información diríjase a los AGENTES MEDIOAMBIENTALES de la zona, Of. Comarcal de Villafranca del Bierzo 987 542 409, Ponferrada 987 409 313, Vega de Espinareda 987 564 916, Bembibre 987 514 050, Truchas 987 670 312, Astorga 987 616 634. S. T. de Medio Ambiente de LEÓN 987 296 000 ó al Centro de Sanidad Forestal de Calabazanos 979 770 403 sanidad.forestal@icvl.es.

TU COLABORACIÓN ES NECESARIA PARA LOGRAR FRENAR LOS GRAVES DAÑOS QUE CAUSA LA PLAGA DE LA AVISPILLA DEL CASTAÑO ¡¡¡GRACIAS POR TU COLABORACIÓN!!!

Logos: Junta de Castilla y León, Diputación de León, Centro de Sanidad Forestal de Calabazanos.

Ejemplo de cartel informativo facilitado por el Servicio de Defensa del Medio Natural de la JCyL.

4. EMPRESAS AUTORIZADAS PARA LA COMERCIALIZACIÓN DE *Torymus sinensis*

El R.D. 951/2014 de 14 de noviembre (publicado en el B.O.E. con fecha 16 de diciembre de 2014) por el que se regula la comercialización de determinados medios de defensa fitosanitaria, modificado

mediante el Real Decreto 534/2017, de 26 de mayo, establece los requisitos para la comercialización de determinados medios de defensa fitosanitaria, y regular la comunicación exigida para la misma, a que se refieren los artículos 44 y 45 de la Ley 43/2002, de 20 de noviembre, de Sanidad Vegetal, así como su registro oficial para conocimiento de las Administraciones Públicas y de cualesquiera otras partes interesadas.

De acuerdo con lo establecido en el artículo 5.1 del mencionado Real Decreto se habilita la consulta pública del Registro de Medios de Defensa Fitosanitaria regulados por dicha normativa, incluidos los Organismos de Control Biológico, con la finalidad de informar de la situación administrativa de todas las comunicaciones y solicitudes de autorización realizadas.

(<https://www.mapa.gob.es/app/omdfocb/default.aspx>)

En el anterior enlace y de cara a la adquisición de *Torymus sinensis*, organismo de control biológico de la avispa del castaño (*Dryocosmus kuriphilus*), se pueden consultar aquellas empresas que han sido autorizadas para la comercialización del citado parasitoide hasta la fecha en España.

5. SEGUIMIENTO Y EVALUACIÓN DE LA EFICACIA

Una vez que se realizado la suelta controlada de *Torymus sinensis* en una zona, se deberá realizar un seguimiento de las poblaciones del parasitoide para comprobar que las tasas de parasitación son adecuadas y verificar que se están reduciendo los niveles de población *Dryocosmus kuriphilus*. Para ello, se tendrán en cuenta los siguientes indicadores:

- Se aconseja que en el primer año tras la suelta no se recojan ni diseccionen agallas para no entorpecer el establecimiento del parasitoide. El número de agallas a recoger para estimar la instalación del parasitoide debe ser entre 5.000 – 10.000 agallas en un área aproximada de 10 -15 m de radio alrededor del punto de suelta. Dependerá de las condiciones particulares del punto de suelta, densidad de infestación, y tiempo transcurrido desde la introducción del parasitoide.
- Las agallas, una vez recogidas, se pueden diseccionar para determinar la presencia de larvas de parasitoides (en verano) o evolucionar en cajas cerradas con ventilación (agallas recogidas en invierno) para la posterior identificación de los adultos emergidos.
- La periodicidad de los muestreos será quincenal desde la primera suelta.
- Las prospecciones se harán desde mediados de abril hasta mediados de agosto, en base a las indicaciones fenológicas de Moriya *et al.* (2003)¹.

¹ MORIYA, S., SHIGA, M., ADACHI, I. Classical biological control of the Chestnut gall wasp in Japan. 1st International Symposium on Biological Control of Arthropods

- El primer año se muestrearán solo los árboles en los que se liberaron parasitoides, ya que la regulación de la plaga por parte del parasitoide será efectiva en las proximidades del punto de liberación (INRA, 2014)². El segundo año se muestrearán también los circundantes a aquellos en los que se liberaron parasitoides el primer año. El tercer año se muestrearán los circundantes a los del año anterior, y así sucesivamente hasta cubrir toda la parcela. Como referencia, se ha comprobado que *T. sinensis* es capaz de desplazarse hasta un radio de 5 km en 3 años (*Programme de lutte contre le Cynips*, 2014)³.
- La tasa de parasitismo se puede estimar como el % de agallas parasitadas por *T. sinensis*. Se tomarán agallas de cada árbol en el que se haya liberado el parasitoide y serán llevadas a laboratorio para evaluar la emergencia de *T. sinensis* de acuerdo con el protocolo del INRA (2014). Se pueden establecer 4 niveles de eficacia de establecimiento del parasitoide [bajo (1): 0-25%, medio (2): 26-50%, alto (3): 51-75%, muy alto (4): 76-100%].

² INRA (2014) <https://www6.inra.fr/cynips-chataignier/Le-projet/em-Torymus-sinensis-em>. Accessed on 27/11/2015

³ Programme de lutte contre le cynips (2014) Union Interprofessionnelle Châtaigne Périgord Limousin Midi Pyrénées