

# CONSERVACIÓN DE MURCIÉLAGOS EN ECOSISTEMAS VITÍCOLAS PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE LA POLILLA DEL RACIMO

PROYECTOS DE COOPERACIÓN RELACIONADOS CON EXPERIENCIAS INNOVADORAS Y SOSTENIBLES ENTRE PRODUCTORES Y CENTROS DE INVESTIGACIÓN CON CULTIVOS ADAPTADOS AL CAMBIO CLIMÁTICO Y PRODUCIDOS CON MODELOS AGROECOLÓGICOS

Nº Expediente: AGCOOP\_D/2018/029

Consorcio formado por:

*Enguera*  
■ Bodegas

VNIVERSITAT  
ID VALÈNCIA

Proyecto financiado por:





# ÍNDICE

<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>1. OBJETIVOS Y CRONOGRAMA DEL PROYECTO .....</b>	<b>6</b>
<b>2. RESULTADOS DE LABORES TÉCNICAS.....</b>	<b>7</b>
2.1. Instalación de refugios para murciélagos y mantenimiento y conservación de los refugios. ....	7
2.2. Determinación de la oferta de insectos y estudio de la biología de la polilla del racimo. ....	11
2.2. Determinación de la diversidad de especies de murciélagos y nichos de alimentación.....	15
2.2.1. Ensayo de determinación de la actividad de quirópteros mediante transectos. ....	15
2.2.1. Ensayo de determinación de la actividad de quirópteros mediante grabaciones estáticas.....	17
2.3. Determinación de la dieta de los murciélagos. ....	21
2.3.1. Especies de murciélagos detectados por análisis filogenético.....	24
2.3.2. Especies de artrópodos presentes en heces de <i>Pipistrellus sp.</i> .....	24
2.4. Ensayo de ocupación de cajas-refugio.....	28
2.5. Conclusiones.....	31
<b>3. DIVULGACIÓN DE LOS RESULTADOS Y CONCIENCIACIÓN AMBIENTAL.....</b>	<b>33</b>
3.1. Modificación de la página web del proyecto.....	33
3.2. TAREA 3.2. Proyecto de educación ambiental y cajas-refugio. ....	34
3.3. TAREA 3.3. Promoción del vino del proyecto. ....	36
3.4. TAREA 3.4. Grabación de videos del proyecto. ....	39
3.5. TAREA 3.5. Divulgaciones científicas. ....	40
<b>4. ANÁLISIS DE DATOS REDACCIÓN DE INFORMES Y DEFINICIÓN DE ESTRATEGIAS.....</b>	<b>45</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1:</b> Número de cajas-refugio para murciélagos colocadas según el tipo de modelo, la zona de estudio/finca y la orientación. ....	<b>7</b>
<b>Tabla 2:</b> Total individuos identificados agrupados por artópodos en las fincas de las dos zonas de estudio agrupados por fincas: zona estudio Enguera (Antolí y Toñuna) zona de estudio Fontanars (Casa Corones y Casa Lluch). ....	<b>13</b>
<b>Tabla 3:</b> Especies de murciélagos detectadas en los transectos realizados en Enguera y Fontanars dels Alforins durante el año 2019. ....	<b>16</b>

<b>Tabla 4:</b> Listado de especies y grupos de especies en régimen de protección especial detectadas con las grabaciones de ultrasonido estáticas en Fontanars dels Alforins y Enguera durante en 2019 y 2020. 4 .....	<b>19</b>
<b>Tabla 5:</b> Muestras de guano de murciélagos recogidas en Enguera y Fontanars dels Alforins durante el año 2020 .....	<b>23</b>
<b>Tabla 6:</b> Listado de especies presa de <i>Pipistrellus sp.</i> procedentes del análisis genético de las heces con un grado de equivalencia igual o superior al 98% en la base de datos de GenBank .....	<b>27</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

---

<b>Figura 1:</b> Detalle de ubicación de las cajas-refugio para murciélagos en la zona de estudio de Enguera, finca Antolí con finca testigo (izquierda) y finca El Chalet (derecha). .....	<b>8</b>
<b>Figura 2:</b> Detalle de ubicación de las cajas-refugio para murciélagos en la zona de estudio de Fontanars dels Alforins, finca Casa Corones y Finca testigo. Se pueden apreciar las seis cajas-refugio de doble compartimento separados en la parte superior izquierda de la imagen ubicadas en la parcela de la sierra. .....	<b>8</b>
<b>Figura 3:</b> Colocación de postes en el viñedo. Detalle de falcado de postes con rocas y hormigonado. .....	<b>9</b>
<b>Figura 4:</b> Detalle de colocación de las cajas-refugio y caja colocada en el viñedo. .....	<b>9</b>
<b>Figura 5:</b> Labores de conservación de las cajas refugio, reparación y resposición de los postes. .....	<b>10</b>
<b>Figura 6:</b> Hotel de murciélagos (centro) y detalle de la colocación de los postes (derecha) .....	<b>10</b>
<b>Figura 7:</b> Trampa delta utilizada para capturar adultos de <i>Lobesia botrana</i> .7 .....	<b>11</b>
<b>Figura 8:</b> Parcela experimental de la zona de Enguera utilizada para el seguimiento de la polilla del racimo. .....	<b>11</b>
<b>Figura 9:</b> Curva de vuelo de <i>Lobesia botrana</i> del año 2019 en la parcela ubicada en el término de Moixent, a 1,2 km de la zona de estudio de Fontanars dels Alforins. Fuente: Aitor Gavara Vidal. .....	<b>12</b>
<b>Figura 10:</b> Curva de vuelo de <i>Lobesia botrana</i> del año 2020 en las zonas de estudio de Fontanars dels Alforins y Enguera. .....	<b>12</b>
<b>Figura 11:</b> Trampa de luz utilizada para conocer la diversidad y abundancia de insectos de hábitos nocturnos .....	<b>13</b>
<b>Figura 12:</b> Trabajo de identificación de insectos en el laboratorio. .....	<b>13</b>
<b>Figura 13:</b> Dinámica poblacional de órdenes de insectos capturados entre mayo y octubre de 2019 mediante trampas de luz en la finca de Casa Corones y Casa Lluch en Fontanars dels Alforins. .....	<b>14</b>
<b>Figura 14:</b> Dinámica poblacional de órdenes de insectos capturados entre mayo y octubre de 2019 mediante trampas de luz en la finca de Casa Lluch en Fontanars dels Alforins. .....	<b>14</b>
<b>Figura 15:</b> Transectos realizados en la zona de estudio de Enguera (A) y Fontanars dels Alforins (B) durante el ensayo de censo de murciélagos de 2019. La línea naranja que corta las fincas representa el transecto. Las fincas en las que se han colocado cajas-refugio se presentan de color marrón (Antolí en Enguera y Casa Corones en Fontanars dels Alforins) y de color verde las fincas testigo (Toñuna en Enguera y Casa Lluch en Fontanars dels Alforins). .....	<b>15</b>

<b>Figura 16:</b> Actividad de los murciélagos registrada en cruces de murciélagos durante los transectos realizados en la zona de estudio de Fontanars dels Alforins (izquierda) y Enguera (derecha) durante el año 2019.....	17
<b>Figura 17:</b> Ubicación de los cruces de actividad de murciélagos en el transecto de la zona de estudio de Enguera (A) y Fontanars dels Alforins (B) durante el año 2019.....	17
<b>Figura 18:</b> Diversidad y frecuencia de aparición de las especies de murciélagos detectadas durante las dos anualidades en las dos zonas (Enguera y Fontanars del Alforins).....	18
<b>Figura 19:</b> Media de la actividad de los murciélagos durante las dos anualidades (2019-2020) en las dos zonas de estudio.....	20
<b>Figura 20:</b> Promedio de actividad de los murciélagos durante las dos anualidades (2019-2020) en las cuatro fincas de estudio. Antolí (Enguera) y Corones (Fontanars), con presencia de cajas-refugio y Toñuna (Enguera) y Casa Lluch (Fontanars) sin cajas-refugio.....	20
<b>Figura 21:</b> Evolución de la actividad de los murciélagos a lo largo de la noche en el mes de junio (periodo de cría) en la zona de Fontanars dels Alforins. Finca con cajas refugio (Corones), finca sin cajas refugio (Casa Lluch). cajas-refugio. ....	21
<b>Figura 22:</b> Evolución de la actividad de los murciélagos a lo largo de la noche en el mes de junio (periodo de cría) de los años 2019 y 2020 la zona de Enguera. Finca con cajas refugio (Antolí), finca sin cajas refugio (Toñuna). ....	21
<b>Figura 23:</b> Resultado de la amplificación de los genes COI (izquierda) y 16S rDNA (derecha) en muestras de guano. ....	23
<b>Figura 24:</b> Filogenia molecular que muestra las relaciones entre las secuencias de <i>Pipistrellus</i> obtenidas en nuestro análisis (Contigs) y las disponibles en Genbank. ....	24
<b>Figura 25:</b> Porcentaje de distribución de insectos presa de murciélagos según el tipo de alimentación de muestras de guano. ....	25
<b>Figura 26:</b> Lecturas (reads) del gen COI alineadas con la secuencia de referencia de <i>Lobesia botrana</i> disponible en Genbank. ....	26
<b>Figura 27:</b> Revisión de caja refugio mediante el uso de una linterna. ....	28
<b>Figura 28:</b> Evolución del porcentaje de ocupación de las cajas refugio a lo largo de las dos anualidades en las dos zonas de estudio (Enguera y Fontanars dels Alforins).....	29
<b>Figura 29:</b> Evolución del número total de murciélagos de las cajas refugio a lo largo de las dos anualidades en las dos zonas de estudio (Enguera y Fontanars dels Alforins)...	29
<b>Figura 30:</b> Evolución del número total de murciélagos de las cajas refugio a lo largo de las dos anualidades en las dos zonas de estudio (Enguera y Fontanars dels Alforins)...	30
<b>Figura 31:</b> Media de ocupación de las cajas refugio en función de la orientación de las mismas durante los dos años del proyecto.....	30
<b>Figura 32:</b> Modificación de la página web del proyecto.....	33
<b>Figura 33:</b> Captura de pantalla del canal de Bodegas Enguera en youtube, donde se muestra el vídeo promocional de las noches de los murciélagos. ....	34
<b>Figura 34:</b> Extracto del dossier de prensa que detalla el cartel de la primera Noche de Murciélagos celebrada el 20 de septiembre de 2019 en los viñedos donde se lleva a cabo el proyecto cooperación.....	34
<b>Figura 35:</b> Imágenes tomadas durante las dos noches de murciélagos celebradas el 26 de julio y 20 de septiembre de 2019 en los viñedos donde se desarrolla el proyecto cooperación.....	35
<b>Figura 36:</b> Presentación de la caja-refugio durante la segunda noche de murciélagos (izquierda) y fotos del interior y exterior de la caja utilizada como medida de divulgación de los resultados del proyecto cooperación. ....	36

<b>Figura 37:</b> Render del vino ALIATS que concentra los valores de sostenibilidad, agricultura ecológica y control de plagas por medio de murciélagos reflejados en las acciones del proyecto cooperación.....	37
<b>Figura 38:</b> Jornada de presentación del vino Aliats en el salón de actos del Jardín Botánico de la Universidad de Valencia.....	37
<b>Figura 39:</b> Presentación del vino Aliats en varios comercios de la ciudad de Valencia. ....	38
<b>Figura 40:</b> Diseño del nuevo vino Aliats blanco.....	38
<b>Figura 41:</b> Reparto de Aliats en la ciudad de Valencia mediante el servicio en bicicleta de la empresa Encicle. ....	39
<b>Figura 42:</b> Fotos aéreas de las cajas refugio ubicadas en la zona de estudio de Enguera y durante la colocación de una caja en Fontanars dels Alforins. Selección del material gráfico utilizado para la divulgación del proyecto cooperación.....	39
<b>Figura 43:</b> Captura de pantalla de la web de Bodegas Enguera que hace referencia a la Jornada de Vinos con Murciélagos en febrero de 2020.....	40
<b>Figura 44:</b> Captura de pantalla de la web agrovidar que hace referencia a la Jornada Agroecológica de La Rioja celebrada el 26 y 27 de marzo de 2019. ....	40
<b>Figura 45:</b> Imágenes de la cata en El Corte Inglés Hipercor del 9 de marzo de 2019 en la que se presentó el Proyecto Cooperación.....	41
<b>Figura 46:</b> Captura de pantalla del técnico coordinador del proyecto Juan Martínez junto a Enric Navarro, periodista del programa Terra Viva de APUNT emitido el 14 de junio de 2019. ....	41
<b>Figura 47:</b> Imagen del reportaje emitido por Enguera TV para la producción y consumo responsable y la divulgación del proyecto cooperación.. ....	42
<b>Figura 48:</b> Captura a de pantalla de la web de À punt. En la imagen, el coordinador técnico del proyecto, Juan Martínez y Hu Zhao, periodista de Loving Comunitat Valenciana. ....	42
<b>Figura 49:</b> Captura del reportaje llevado a cabo por Enguera Televisión. ....	43
<b>Figura 50:</b> Captura del reportaje llevado a cabo por Enguera Te Vé. ....	43
<b>Figura 52:</b> Recorte del reportaje realizado por 5 barricas en febrero de 2020. ....	43
<b>Figura 53:</b> Cartel del congreso de ciencias gastronómicas de noviembre de 2020. ....	44

## 1. OBJETIVOS Y CRONOGRAMA DEL PROYECTO.

Este proyecto tiene como **objetivo general** potenciar el control biológico de la polilla del racimo de la vid mediante el establecimiento de refugios para murciélagos en el ecosistema vitícola. Se trata de la plaga de mayor importancia en la viticultura a nivel mundial y todavía no se han demostrado la capacidad del murciélagos de controlar la plaga.

Este objetivo general se conseguirá a partir de la consecución de los siguientes **objetivos específicos**:

1. Adaptar el ecosistema vitícola para favorecer la conservación de murciélagos mediante el establecimiento de refugios.
2. Estudiar la biología de la polilla del racimo.
3. Estudiar la ecología de murciélagos que habitan en el viñedo y determinar el efecto de los refugios en las poblaciones de murciélagos.
4. Concienciar a la sociedad de los problemas de conservación de los murciélagos y divulgar sus servicios ecosistémicos a través del vino del proyecto.

Proyecto Cooperación UV-Bodegas Enguera "Conservación de murciélagos en ecosistemas vitícolas para el control de la polilla del racimo"														2021								
Tareas	2018				2019				2020				2021									
Número de mes	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4
<b>TAREA 1: INSTALACIÓN Y MANTENIMIENTO DE CAJAS REFUGIO</b>																						
Tarea 1.1: Instalación de cajas nido y mantenimiento																						
Tarea 1.2: Ensayo ocupación de cajas nido																						
<b>TAREA 2: ECOLOGÍA DE MURCIÉLAGOS Y POLILLA DEL RACIMO</b>																						
Tarea 2.1: Seguimiento de la plaga y oferta de insectos																						
Tarea 2.2: Censos de murciélagos y hábitos de caza																						
Tarea 2.3: Estudio de la dieta de los murciélagos																						
Tarea 2.4: Ensayo ocupación caja refugio																						
<b>TAREA 3: DIVULGACIÓN DE RESULTADOS</b>																						
Tarea 3.1: Modificación de la página web para el proyecto																						
Tarea 3.2: Proyecto educación ambiental y cajas refugio																						
Tarea 3.3: Promoción del vino del proyecto																						
Tarea 3.4: Grabación de videos del proyecto																						
Tarea 3.5: Divulgaciones científicas																						
<b>TAREA 4: DIVULGACIÓN DE RESULTADOS</b>																						
Tarea 4.1: Definición estrategia gestión																						
Tarea 4.2: Elaboración de informes																						

## 2. RESULTADOS DE LABORES TÉCNICAS.

### 2.1. Instalación de refugios para murciélagos y mantenimiento y conservación de los refugios.

Los resultados de esta tarea se dividen en tres acciones: colocación de cajas-refugio en la zona de estudio para potenciar la presencia de murciélagos, construcción de una casa de murciélagos cavernícolas para la conservación de especies amenazadas y colocación de un hotel de murciélagos para el incremento de las poblaciones de murciélagos y la mejora de la divulgación del proyecto.

#### Colocación cajas-refugio

La colocación de cajas-refugio constituye una parte esencial del proyecto puesto que contribuye al desarrollo de colonias de cría a lo largo de un territorio amplio. Esta estrategia es esencial para potenciar el control biológico de cualquier plaga por medio de murciélagos.

Las cajas se colocaron en las dos zonas de estudio en las que se lleva a cabo el proyecto: Fontanars dels Alforins y Enguera. Estas dos zonas son una muestra representativa de las condiciones ambientales de la viticultura en la Comunidad Valenciana. Por una parte, encontramos el clima mediterráneo cálido y húmedo de Enguera que es similar al presente en las comarcas del Campo de Turia y en menor medida de La Marina Baja. El clima de la zona de estudio de Fontanars dels Alforins es un clima mediterráneo continental con grandes contrastes día-noche. Por otra parte, la presión de la plaga de la polilla del racimo es mayor en la zona de Fontanars dels Alforins que en la zona de Enguera por lo que es interesante potenciar la actividad de los murciélagos en ambas zonas para realizar futuros estudios de control biológico de la polilla del racimo.

Las características tanto climáticas como agronómicas de las dos zonas de estudio permiten obtener información muy representativa de la viticultura en la Comunidad Valenciana. El diseño de distribución de las cajas-refugio que se ha establecido sienta las bases para valorar el papel de los murciélagos en el control biológico de la polilla del racimo en la viticultura valenciana.

**Tabla 1:** Número de cajas-refugio para murciélagos colocadas según el tipo de modelo, la zona de estudio/finca y la orientación.

MODELO	ZONA/FINCA	E	N	O	S	TOTAL
Compartimentos Comunicados	Enguera/Antoli	4	6	4	5	19
	Enguera/Chalet	4	4	4	2	14
	Fontanars/Corones	6	6	6	6	24
	Total	14	16	14	13	57
Compartimentos Separados	Enguera/Antoli	5	5	4	5	19
	Enguera/Chalet	4	3	4	3	14
	Fontanars/Corones	6	5	6	5	22
	Fontanars/Corones-Sierra	3		3		6
	Total	18	13	17	13	61
<b>TOTAL</b>		<b>32</b>	<b>29</b>	<b>31</b>	<b>26</b>	<b>118</b>

Se colocaron en el mes de abril de 2019 un total de 118 cajas-refugio de dos modelos diferentes (doble compartimento en madera con compartimentos comunicados (C) y doble compartimento en madera con compartimentos separados (S)) en las dos zonas de estudio. Cada zona cuenta con una finca testigo colindantes donde no se han instalado refugios (Fincas Casa Lluch en Fontanars y Toñuna en Enguera). Las cajas fueron colocadas en postes de madera a 3 m de altitud. En cada poste se colocaron 2 cajas refugio y se distribuyeron por toda la finca buscando las orientaciones N, S, E y O. El elevado número de repeticiones permite el tratamiento estadístico de los datos para la determinación del modelo de caja y la orientación más favorable para el desarrollo de los murciélagos en el viñedo. La tabla 1 detalla el número de cajas colocadas en las distintas fincas en función del modelo y las orientaciones. Cada caja cuenta con una numeración en la que se refleja la finca en la que se ubica, el modelo, la orientación y el número de caja. Por ejemplo: **ACE01** (Finca: Antolí, Modelo de caja: Compartimento Comunicado, Orientación: Este, Número de caja: 01)



**Figura 1:** Detalle de ubicación de las cajas-refugio para muricélagos en la zona de estudio de Enguera, finca Antolí con finca testigo (izquierda) y finca El Chalet (derecha). 1



**Figura 2:** Detalle de ubicación de las cajas-refugio para muricélagos en la zona de estudio de Fontanars dels Alforins, finca Casa Corones y Finca testigo. Se pueden apreciar las seis cajas-refugio de doble compartimento separados en la parte superior izquierda de la imagen ubicadas en la parcela de la sierra.

A continuación, se detalla la ubicación exacta de las cajas-refugio en las distintas fincas, Enguera (Figura 1) y Fontanars dels Alforins (Figura 2). La zona de Fontanars presenta una

parcela aislada en la Finca Casa Corones denominada Sierra, donde también se colocaron un total de 6 cajas-refugio con el objetivo de llevar a cabo los primeros ensayos de control de la polilla del racimo exclusivamente con murciélagos cuando las poblaciones sean lo suficientemente grandes.

Las cajas-refugio se fabricaron expresamente para este proyecto siguiendo las pautas de diseño planteadas en la anualidad 2018. Las cajas se colocaron en postes de madera de 4 m de longitud y fueron instalados en las 3 fincas de las dos zonas de estudio. Para la colocación de los postes se contrató un servicio integral con dos restroexcavadoras y cuatro albañiles que se encargaban de colocar piedras en los agujeros donde serían colocados los postes los que finalmente eran fijados al terreno con una capa de hormigón y una de tierra. Posteriormente, las cajas-refugio fueron colocadas por el mismo servicio en colaboración con el equipo técnico del proyecto (Figuras 3 y 4).



**Figura 3:** Colocación de postes en el viñedo. Detalle de falcado de postes con rocas y hormigonado. 3



**Figura 4:** Detalle de colocación de las cajas-refugio y caja colocada en el viñedo.

Para garantizar el buen estado de las cajas-refugio se llevaron a cabo labores de mantenimiento desde finales del mes de octubre (Fig. 5). Estas labores se han centrado en la recolocación de algunos postes caídos debido a los episodios de gota fría, la sustitución de cajas-refugio dañadas, la limpieza interior de las cajas en las que habían anidado avispas que podrían dificultar la ocupación de los murciélagos y la aplicación de un protector para prolongar su vida útil (aceite de linaza y barniz) en su parte exterior.



**Figura 5:** Labores de conservación de las cajas refugio, reparación y reposición de los postes.

### Hotel de murciélagos

El hotel de murciélagos fue colocado en la finca de El Chalet, junto al edificio de la bodega durante la primera quincena del mes de noviembre. Se utilizaron postes de 5 m de altura y 12 cm de diámetro los cuales fueron enterrados 1 m en una zapata de hormigón con el objetivo de fijar convenientemente el hotel al terreno.

Este refugio permite el desarrollo de miles de murciélagos fisurícolas así como la hibernación de estos en este refugio lo que se espera contribuya a la pronta colonización de las cajas-refugio en primavera. Al mismo tiempo, al tratarse de una caja-refugio de considerables dimensiones (1x1,25x1,5m) llama la atención de los visitantes a la bodega y esto favorece la divulgación del proyecto.



**Figura 6:** Hotel de murciélagos (centro) y detalle de la colocación de los postes (derecha)

## 2.2. Determinación de la oferta de insectos y estudio de la biología de la polilla del racimo.

### Estudio de la plaga de la polilla del racimo

Para el estudio de la biología de la polilla del racimo se llevó a cabo un ensayo para el seguimiento de la plaga mediante el uso de trampas delta con difusores de feromona (Fig. 7). El ensayo se llevó a cabo en una parcela de cada zona de estudio en la que para controlar la polilla del racimo se aplica la técnica de la confusión sexual desde el año 2007.



**Figura 7:** Trampa delta utilizada para capturar adultos de *Lobesia botrana*.

Para evitar interferencias entre los difusores utilizados para el control de la plaga y las trampas destinadas al seguimiento se delimitó un bloque de una superficie mayor de 0,5 ha en el cual se colocaron las trampas delta (Figura 8). Las trampas se cambiaron cada 15 días.



**Figura 8:** Parcela experimental de la zona de Enguera utilizada para el seguimiento de la polilla del racimo.

En el año 2019 no se observaron capturas de adultos en las trampas delta a lo largo de todo el ensayo. Es posible que los vientos dominantes, el escaso nivel de plaga (en la zona de Enguera), o la orientación de la parcela hayan afectado a la efectividad del muestreo.

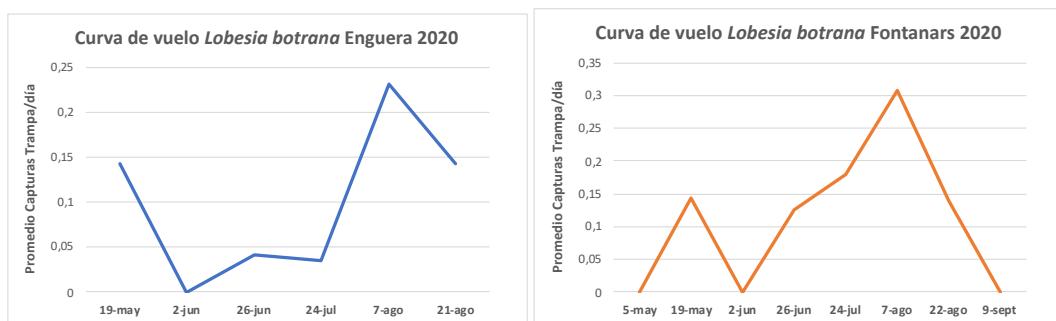
Dada la relevancia de este resultado para la investigación, se contaron con los datos de la curva de vuelo de la polilla del racimo obtenida por Aitor Gavara Vidal durante el desarrollo de los ensayos de su tesis doctoral en los que realizó el seguimiento de *Lobesia botrana* las parcelas de la bodega Celler del Roure, ubicadas a 1,2 km de las fincas de la zona de estudio de Fontanars dels Alforins.



**Figura 9:** Curva de vuelo de *Lobesia botrana* del año 2019 en la parcela ubicada en el término de Moixent, a 1,2 km de la zona de estudio de Fontanars dels Alforins. Fuente: Aitor Gavara Vidal.

Como se aprecia en la Figura 9, la plaga presenta tres generaciones siendo la segunda y la tercera las más importantes. El pico máximo de la plaga tiene lugar a finales del mes de junio existiendo otro pico importante a finales del mes de agosto. Es muy importante tener en cuenta estos resultados para relacionarlos con la actividad de los murciélagos.

En el año 2020 se obtuvieron capturas en las trampas delta tanto en la zona de estudio de Enguera como en Fontanars (Fig. 10). Si bien los datos de capturas fueron muy escasos debido a la influencia de la confusión sexual, se confirma el pico de máximo vuelo de la polilla del racimo en la tercera generación (agosto).



**Figura 20:** Curva de vuelo de *Lobesia botrana* del año 2020 en las zonas de estudio de Fontanars dels Alforins y Enguera.

### Determinación de la oferta de insectos

Desde mayo hasta octubre de 2019 se llevaron a cabo muestreos de insectos con trampas de luz (Fig. 11) para conocer la oferta de insectos disponibles para los murciélagos en el ecosistema. Se colocaba una trampa de luz en cada finca cada 15 días y esta permanecía iluminada durante toda la noche. Los insectos caían en la trampa de luz y eran recogidos al amanecer y se guardaban en botes de muestras convenientemente etiquetados, conservándose en congelador para su posterior identificación en el laboratorio (Fig. 12).



**Figura 31:** Trampa de luz utilizada para conocer la diversidad y abundancia de insectos de hábitos nocturnos



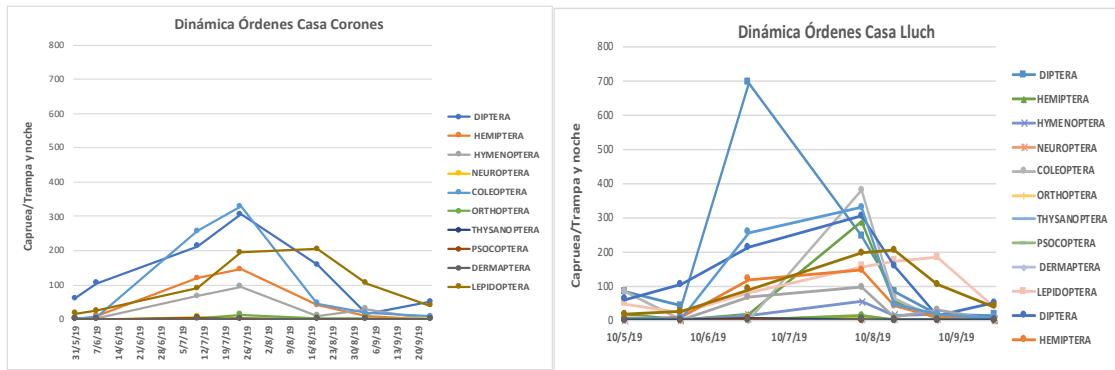
**Figura 42:** Trabajo de identificación de insectos en el laboratorio.

La determinación de la oferta de insectos se trata de un ensayo complementario al ensayo de la dieta del murciélagos. Los resultados de dieta son fundamentales para conocer las especies de insectos susceptibles de ser depredados por los murciélagos. Al no haber obtenido resultados del ensayo de dieta en esta anualidad 2019 se obtuvieron los siguientes órdenes de insectos (Tabla 2)

**Tabla 2:** Total individuos identificados agrupados por artrópodos en las fincas de las dos zonas de estudio agrupados por fincas: zona estudio Enguera (Antolí y Toñuna) zona de estudio Fontanars (Casa Corones y Casa Lluch).

ÓRDENES	Antolí	%	Toñuna	%	Casa Corones	%	Casa Lluch	%	Total general	%
Diptera	1902	44,54	890	32,74	905	32,29	1182	40,19	4879	38,32
Lepidoptera	1228	28,76	966	35,54	673	24,01	699	23,77	3566	28,01
Coleoptera	628	14,71	344	12,66	663	23,65	535	18,19	2170	17,04
Hemíptera	249	5,83	273	10,04	325	11,59	382	12,99	1229	9,65
Hymenoptera	240	5,62	112	4,12	202	7,21	111	3,77	665	5,22
Neuroptera	7	0,16	15	0,55	11	0,39	7	0,24	40	0,31
Dermaptera	1	0,02	2	0,07	1	0,04	0	0,00	4	0,03
Psocoptera	0	0,00	16	0,59	2	0,07	0	0,00	18	0,14
Thysanoptera	0	0,00	72	2,65	3	0,11	0	0,00	75	0,59
Orthoptera	15	0,35	28	1,03	18	0,64	25	0,85	86	0,68
TOTAL	4270	100	2718	100	2803	100	2941	100	12732	100

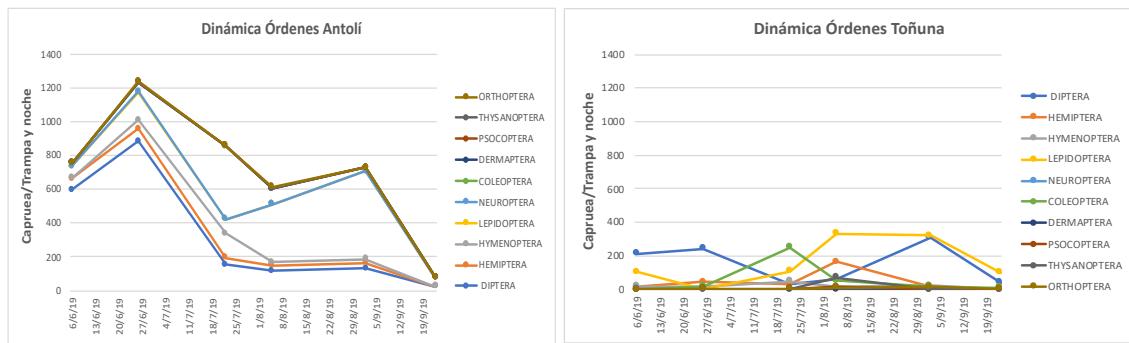
Se han identificado un total de 12.732 artrópodos de los cuales los dípteros representaban el grupo más numeroso con el 38% de las capturas seguido de los lepidópteros (28%) y en menor medida coleópteros (17%) y hemípteros (10%).



**Figura 53:** Dinámica poblacional de órdenes de insectos capturados entre mayo y octubre de 2019 mediante trampas de luz en la finca de Casa Corones y Casa Lluch en Fontanars dels Alforins.

En cuanto a la dinámica poblacional de los distintos órdenes se observan diferencias importantes entre las distintas zonas de estudio. La mayor parte de capturas en la zona de Fontanars dels Alforins (Finca Casa Corones y Casa Lluch) se concentran entre los meses de mayo y septiembre (Fig. 13). Con un nivel de capturas por debajo de los 50 insectos por trampa el primer y segundo día de muestreo. Mientras que en el caso de la zona de estudio de Enguera (Finca Antolí y Toñuna) encontramos un número de capturas mayor e importantes diferencias en los niveles de artrópodos entre las dos fincas (Fig. 14).

Las diferencias tanto en los niveles de capturas como entre las fincas de estudio pueden deberse a las importantes diferencias climatológicas que existen entre Fontanars dels Alforins y Enguera.



**Figura 64:** Dinámica poblacional de órdenes de insectos capturados entre mayo y octubre de 2019 mediante trampas de luz en la finca de Casa Lluch en Fontanars dels Alforins.

Los datos de los insectos identificados en 2019 pudieron relacionarse con los análisis genéticos de la dieta del murciélagos en 2020. Los datos de dieta se exponen en el apartado 2.3 de esta memoria.

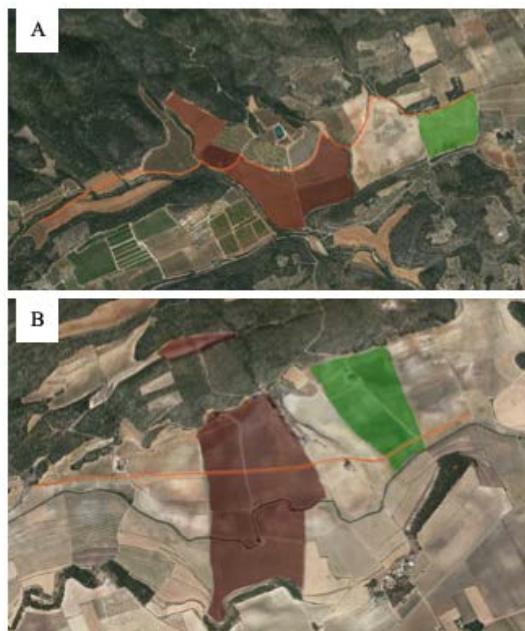
## 2.2. Determinación de la diversidad de especies de murciélagos y nichos de alimentación.

Para determinar la diversidad de especies de murciélagos y conocer la actividad en las zonas de estudio se llevaron a cabo dos tipos de ensayos: transectos y grabaciones estáticas. Para la toma de datos se ha utilizado una grabadora de ultrasonidos (Song Meter SM4BAT), con el micrófono SMM-U1 y, en el caso de los transectos, se utilizó un GPS incorporado a la misma grabadora. Las grabaciones fueron procesadas con el software de análisis de ultrasonidos Kaleidoscope.

### 2.2.1. Ensayo de determinación de la actividad de quirópteros mediante transectos.

#### Metodología.

Para los transectos se realizaron recorridos en coche a 20 km/h con el micrófono de la grabadora en el exterior del vehículo y con una periodicidad de 15 días (14 transectos en Enguera y 12 en Fontanars dels Alforins) durante la anualidad de 2019. El transecto atravesaba la zona de estudio abarcando las parcelas con cajas y sin cajas-refugio y tenía una longitud aproximada de 2,5 km (Fig. 15). Para determinar la ubicación exacta de los puntos donde fueron detectados los murciélagos se incorporó un GPS a la grabadora de ultrasonidos (Song Meter SM4BAT).



**Figura 75:** Transectos realizados en la zona de estudio de Enguera (A) y Fontanars dels Alforins (B) durante el ensayo de censo de murciélagos de 2019. La línea naranja que corta las fincas representa el transecto. Las fincas en las que se han colocado cajas-refugio se presentan de color marrón (Antolí en Enguera y Casa Corones en Fontanars dels Alforins) y de color verde las fincas testigo (Toñuna en Enguera y Casa Lluch en Fontanars dels Alforins).

#### Resultados

Se detectó un total de 277 cruces de murciélagos (Tabla 3). En la zona de estudio de Enguera fueron registrados hasta 100 cruces más que en la zona de Fontanars dels Alforins (189

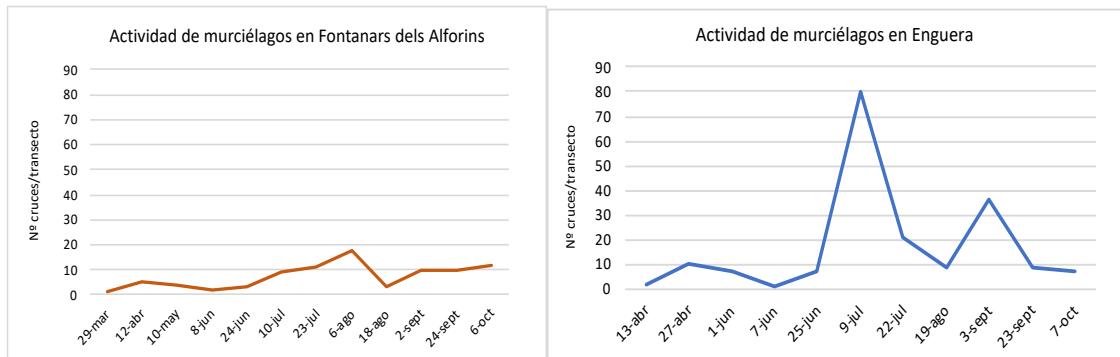
frente a 88 cruces). La diversidad de especies fue similar en las dos zonas de estudio y las diferencias en cuanto a actividad podrían deberse a diferencias ambientales entre las dos zonas.

Es importante destacar que las especies del género *Pipistrellus* concentran más del 80% de los cruces detectados. Se trata de un grupo de especies muy antropófilas y las más numerosas en la Península Ibérica. Además, son las que mayoritariamente ocupan las cajas-refugio y concretamente se ha demostrado que *Pipistrellus pygmaeus* controla la plaga de *Chilo suppressalis*.

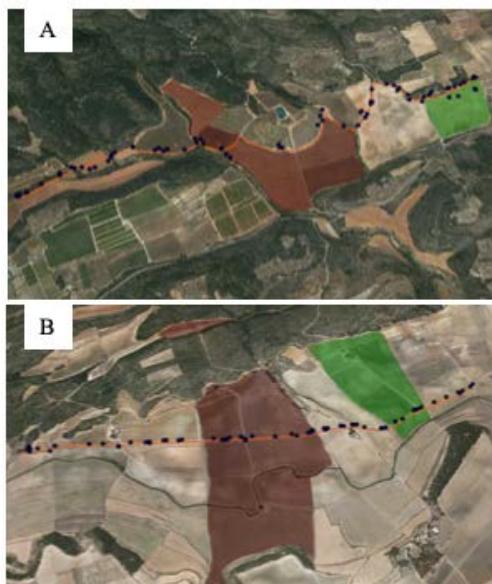
**Tabla 3:** Especies de murciélagos detectadas en los transectos realizados en Enguera y Fontanars dels Alforins durante el año 2019.

Zona de estudio	Fecha de muestreo	Epescus serotinus / Epescus isabellinus	Hypsugo savii	Pipistrellus kuhlii / Pipistrellus nathusii	Pipistrellus pipistrellus	Pipistrellus pygmaeus	Pipistrellus pipistrellus / Pipistrellus pygmaeus	Tadarida teniotis	Sin identificar	Total individuos	Total audios
Enguera	13/4/19	1							1	2	189
	27/4/19	1		2	5	1			1	10	
	1/6/19			4	3					7	
	7/6/19		1							1	
	25/6/19			4	3					7	
	9/7/19	1	1	17	16	45				80	
	22/7/19	2		14	4				1	21	
	5/8/19									0	
	19/8/19	2		5		1			1	9	
	3/9/19	6	1	7	5	15			2	36	
	23/9/19			2	1	3	3			9	
	7/10/19	3		2		1	1			7	
											277
Fontanars dels Alforins	29/3/19						1			1	88
	12/4/19			2	1	1			1	5	
	10/5/19				2		2			4	
	8/6/19		1			1				2	
	24/6/19			1		2				3	
	10/7/19			5	1	2			1	9	
	23/7/19			2		3	1	1	4	11	
	6/8/19	2		8	3	4			1	18	
	18/8/19			2	1					3	
	2/9/19	1	1	4	1	2		1		10	
	24/9/19	4		1		5				10	
	6/10/19	10				2				12	

Los meses de julio y agosto fueron los que mayor actividad registraron siendo el pico de 80 individuos detectados en Enguera la cifra más alta (Fig. 16). Ese día se detectaron casi el 30% del total de pases. La mayor actividad de los murciélagos coincidiría con el vuelo de la tercera generación de la polilla del racimo.



**Figura 86:** Actividad de los murciélagos registrada en cruces de murciélagos durante los transectos realizados en la zona de estudio de Fontanars dels Alforins (izquierda) y Enguera (derecha) durante el año 2019.



**Figura 97:** Ubicación de los cruces de actividad de murciélagos en el transecto de la zona de estudio de Enguera (A) y Fontanars dels Alforins (B) durante el año 2019.

Al contrario de lo que se esperaba, la actividad de los murciélagos no se concentra en las fincas donde están colocadas las cajas refugio. Esto podría ser porque durante esa anualidad (2019) todavía no existía una gran población de murciélagos en las cajas-refugio, por lo que podría ser algo que varíe conforme pasen los años y se establezca una población de murciélagos mayor en el viñedo. Esta variación sí se contempla con las estaciones estáticas de escucha que abarcan 2019 y 2020, que se comentarán en el siguiente apartado.

### 2.2.1. Ensayo de determinación de la actividad de quirópteros mediante grabaciones estáticas.

#### Metodología

Se realizaron grabaciones de ultrasonidos en 4 estaciones estáticas, dos de estas estaciones correspondían a parcelas donde se había colocado cajas-refugio (Antolí: en Enguera, Corones: en Fontanars del Alforins) y otras dos alejadas de la zona donde fueron colocadas las cajas refugio, en las parcelas control (Toñuna en el caso de Enguera y Casa Lluch en el caso de Fontanars del Alforins). Como se pretendía estudiar la actividad de los murciélagos en el viñedo, la grabadora

se situó en una posición central en cada una de las parcelas, fijada a la propia viña y con el micrófono en posición vertical a una altura aproximada de 1,2 metros del suelo.

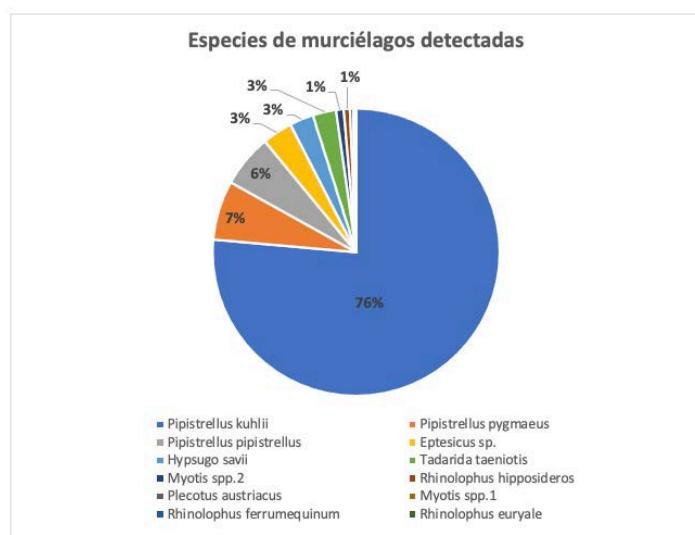
Algunas especies son más difíciles de detectar mediante un transecto, debido a que son menos frecuentes, a que sus características de vuelo elevado las hacen difícilmente detectables, o a que el tipo de llamada de ecolocación que utilizan es muy débil y deben pasar muy cerca de la grabadora para poder ser detectadas. Esto origina que, algunas especies, como es el caso del género *Rhinolophus* o *Plecotus*, puedan no ser detectadas durante los transectos. Por ello, con el fin de realizar un análisis estadístico más robusto, se realizaron grabaciones continuas desde la puesta de sol hasta el amanecer durante las dos anualidades.

Para realizar el análisis estadístico de las grabaciones y la obtención de gráficos se han tomado los valores de pases/noche (cantidad de veces que un murciélago ha pasado por el rango de acción de la grabadora y ha generado un registro), para cada día desde el mes desde abril hasta final de agosto de los dos años.

Los análisis estadísticos se realizaron mediante SPSS y fueron T-student, ANOVA y Modelo Lineal General Multivariante realizándose posthoc (Tukey), aplicando los factores de corrección necesarios a cada caso.

## Resultados

A lo largo de los dos años de estudio se han grabado un total de 238 noches de grabación y 73 677 pistas de audio, las cuales han sido analizadas individualmente con el programa de análisis de ultrasonidos Kaleidoscope. En total, se han detectado 12 especies de murciélagos, algunas de ellas no pudieron ser identificadas mediante transectos y están incluidas en régimenes de protección especial al estar consideradas como vulnerables o amenazadas (Tabla 4).



**Figura 108:** Diversidad y frecuencia de aparición de las especies de murciélagos detectadas durante las dos anualidades en las dos zonas (Enguera y Fontanars del Alforins).

La especie que concentra más del 75% de los pases de actividad detectados es *Pipistrellus kuhlii* (Fig. 18). Con el 7 y el 6% se encuentran las especies *Pipistrellus pipistrellus* y *Pipistrellus pygmaeus*. Estas tres especies de murciélagos, que juntas constituyen casi el 90% de los pases de actividad son precisamente las que han sido encontradas en las cajas refugio al ser especies de hábitos fisurícolas y muy antropófilas.

A pesar de tener una representación anecdótica (1%) con respecto a la actividad de *Pipistrellus*, algunos quitópteros, como los pertenecientes a los géneros *Myotis* y *Rhinolophus*, tienen un gran valor conservacional y han sido detectados en los dos años de estudio.

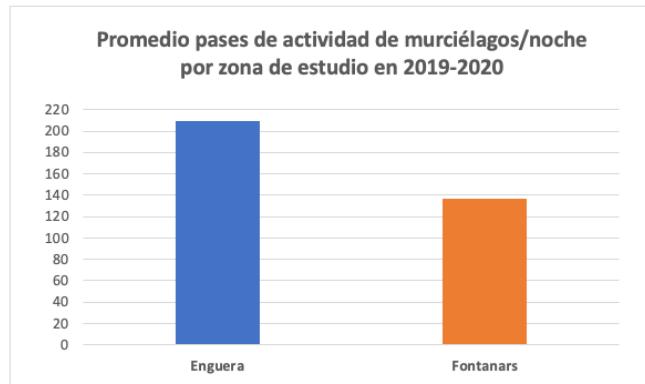
**Tabla 4:** Listado de especies y grupos de especies en régimen de protección especial detectadas con las grabaciones de ultrasonido estáticas en Fontanars dels Alforins y Enguera durante en 2019 y 2020.

Género	Especie	Estado de conservación
(Myotis spp.1)	<i>M.daubentonii</i>	Lista Roja de la UICN de 2013: LC (preocupación menor), anexo IV de la directiva Hábitats. En España está recogida en el Listado de especies silvestres de protección especial.
	<i>M.capaccinii</i>	Lista Roja de la UICN de 2013: VU (vulnerable), por tendencia decreciente de la población. Lista Roja de la UE de 2007: VU (vulnerable), anexos II y IV de la directiva Hábitats. En España es la especie más amenazada y la única catalogada como en peligro de extinción.
	<i>M.escalerae</i>	No está incluido en la Lista Roja de la UICN ni en la de la UE, anexo II de la Directiva Hábitats. En España se menciona en el Listado de Especies de Protección Especial.
	<i>M.emarginatus</i>	Lista Roja de la UICN de 2013: LC (preocupación menor) por tendencia desconocida de la población. Lista Roja de la UE de 2007: LC (preocupación menor), anexos II y IV de la Directiva Hábitats. En España se considera una especie vulnerable.
Myotis grandes	<i>M.myotis</i>	Lista Roja de la UICN 2013: LC (preocupación menor) por tendencia estable de la población. Por la Lista Roja de la UE de 2007: LC (preocupación menor), anexos II y IV de la Directiva Hábitats. En España se cataloga como vulnerable.
	<i>M.blythii</i>	Lista Roja de la UICN 2013: LC (preocupación menor) por tendencia estable de la población. Por la Lista Roja de la UE de 2007: LC (preocupación menor), anexos II y IV de la Directiva Hábitats. En España se cataloga como vulnerable.
(Myotis spp.1)	<i>R.euryale</i>	Lista Roja de la UICN de 2013: NT (casi amenazada) por tendencia decreciente de la población. Lista Roja de la UICN de 2007: VU (vulnerable), anexos II y IV de la Directiva Hábitats. En España está recogida en el Listado de Especies Silvestres de Protección Especial, considerándose vulnerable, en peligro en algunas regiones.
	<i>R.ferrumequinum</i>	Lista Roja de la UICN de 2006: LC (preocupación menor) por tendencia estable de la población. Lista Roja de la UE: NT (casi amenazada), anexos II y IV de la Directiva Hábitats. En España está recogida en el Listado de especies silvestres de protección especial, considerándose vulnerable.
	<i>R.hipposideros</i> :	Lista Roja de la UICN: LC (preocupación menor) por tendencia estable de la población. Lista Roja de la UE: NT (casi amenazada), anexos II y IV de la Directa Hábitats. En España está recogida en el Listado de Especies Silvestres de Protección Especial.
Plecotus	<i>P.austriacus</i> :	Lista Roja de la UICN de 2013: LC (preocupación menor) por tendencia desconocida de la población. Lista Roja de la UE de 2007: LC (preocupación menor), anexo IV de la directiva hábitats. En España está recogida en el Listado de especies silvestres de protección especial sin considerarse amenazado.

Es importante destacar que las señales de ecolocación de algunas de las especies presentadas en la tabla 4 son muy similares. Es el caso por ejemplo de los grupos del género *Myotis*, en los que se ha llegado a identificar hasta dos grupos de especies reflejados en la tabla como “*Myotis pequeños*” y “*Myotis grandes*” haciendo alusión al tamaño de los murciélagos que comprenden cada uno de los grupos. Esto hace necesario complementar el método de muestreo por ultrasonidos con capturas para poder confirmar la especie.

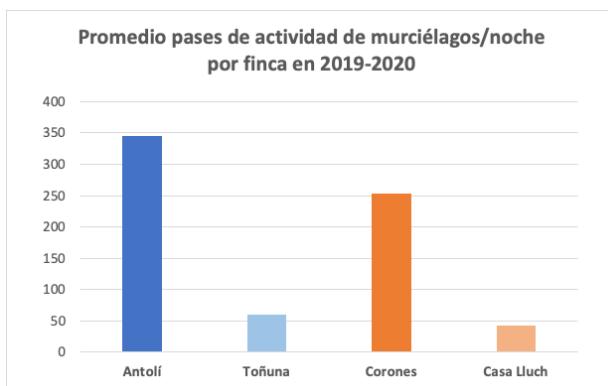
Tras analizar las diferencias de la actividad de los murciélagos entre las diferentes zonas de estudio mediante la realización de una  $t_{student}$  se han obtenido diferencias estadísticas

significativas en cuanto a la actividad de los murciélagos en las dos zonas de muestreo ( $t=2,065$ ;  $g.l=204,48$ ;  $P=0,040$ ) (Fig. 19).



**Figura 119:** Media de la actividad de los murciélagos durante las dos anualidades (2019-2020) en las dos zonas de estudio.

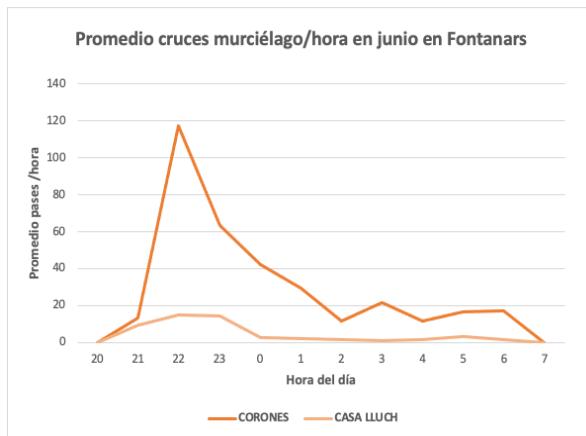
Si realizamos esta comparativa entre fincas las diferencias de actividad de murciélagos se acentúa aun más ( $F=16,141$ ;  $g.l=4$ ;  $P=0,000$ ) siendo muy superior la actividad en las fincas donde se colocaron cajas refugio: Antoli (Enguera) y Casa Corones (Fontanars) (Fig. 20).



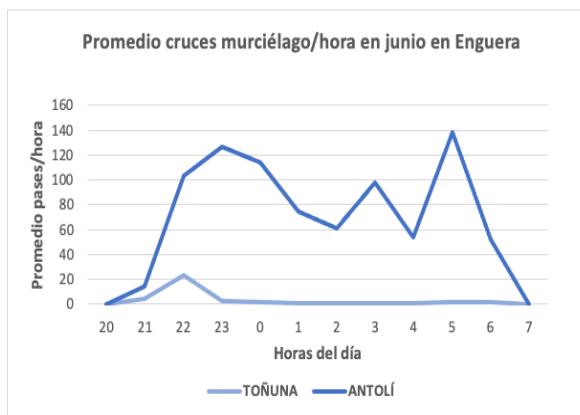
**Figura 20:** Promedio de actividad de los murciélagos durante las dos anualidades (2019-2020) en las cuatro fincas de estudio. Antolí (Enguera) y Corones (Fontanars), con presencia de cajas-refugio y Toñuna (Enguera) y Casa Lluch (Fontanars) sin cajas-refugio.

Del análisis posthoc de Tukey, se obtubieron dos subconjuntos homogéneos (Casa Lluch y Toñuna  $P= 0,911$ ; y Antolí y Corones  $P=0,503$ ), encontrándose pues que las parcelas con presencia de cajas-refugio presentaron una mayor actividad que aquellas que no tenían cajas-refugio instaladas.

En cuanto a la actividad de los murciélagos a lo largo de la noche, se observó que el pico de actividad se producía aproximadamente una hora después del anochecer, siendo más elevado este pico en las parcelas en las que fueron colocadas las cajas-refugio (Fig. 21 y 22). Para medir este parámetro se tomó como referencia el mes de junio, mes de mayor actividad debido a que es la época de cría, y se midió la media de pases por hora desde la puesta de sol hasta el amanecer. En el caso de junio, la puesta de sol varía desde las 21:23 (el día 1) a las 21:33 (el día 30):



**Figura 21:** Evolución de la actividad de los murciélagos a lo largo de la noche en el mes de junio (periodo de cría) en la zona de Fontanars dels Alforins. Finca con cajas refugio (Corones), finca sin cajas refugio (Casa Lluch). cajas-refugio.



**Figura 22:** Evolución de la actividad de los murciélagos a lo largo de la noche en el mes de junio (periodo de cría) de los años 2019 y 2020 la zona de Enguera. Finca con cajas refugio (Antolí), finca sin cajas refugio (Toñuna).

Se observa cómo en todas las fincas el pico máximo de actividad se produce a la misma hora (entre las 22 y las 23 horas), pero este pico de actividad es más acentuado en las parcelas donde se colocaron cajas-refugio. En el caso de Enguera se observa una actividad considerablemente superior en la parcela de Antolí y un elevado pico de actividad a entre las 5 y las 6 de la madrugada. Esto seguramente sea debido a que en Enguera se registró una colonia de cría de *P.kuhlii* en una de las cajas cercanas a la ubicación de la grabadora. Este segundo pico de actividad se correspondería por tanto con la vuelta de las madres a la caja-refugio justo antes del amanecer. El hecho de que la actividad se mantenga tan elevada en el caso de Antolí es muy positivo para el objetivo del presente estudio, ya que parece indicar que, durante la época de cría, las madres se alejan menos de su refugio para cazar, por lo que su actividad de depredación de insectos se centraría en el viñedo.

### 2.3. Determinación de la dieta de los murciélagos.

Los componentes de la dieta no pueden establecerse o cuantificarse mediante observaciones de campo directas en la mayoría de las especies de murciélagos, y la identificación

de las presas generalmente se basa en el examen de los restos fecales. Para la determinación de la dieta del murciélagos, se realizaron inicialmente observaciones de restos de insectos en el binocular con la ayuda de una clave de identificación de restos de artrópodos en heces de murciélagos (Identification of Arthropod Fragments in Bat Droppings, Catherine McAney, Caroline Shiel, Claire Sullivan and James Fairley, Vol. 17).

Estas claves son utilizadas para realizar análisis básicos de la dieta del murciélagos, pero cuando se trata de murciélagos del género *Pipistrellus*, mayoritarios en Enguera y Fontanars dels Alforins, es realmente complicado encontrar restos de insectos lo suficientemente grandes como para realizar una identificación precisa de las especies de insectos que constituyen la dieta de los murciélagos. **Tras haber realizado esta práctica, desaconsejamos este análisis de estudio de la dieta para las especies de quirópteros pertenecientes a este género**, si bien, pueden ser interesantes para murciélagos del género *Myotis* o *Rhinolophus*. Además, la identificación morfológica se vuelve casi imposible cuando el sistema digestivo del depredador macera a la presa en partículas finas, e incluso puede existir un sesgo de identificación en organismos donde no hay maceración.

Los métodos recientes basados en el ADN proporcionan herramientas alternativas para refinar nuestra comprensión de las relaciones tróficas y dilucidar presas no caracterizadas en el contenido intestinal o en las heces. El uso de técnicas moleculares para caracterizar el ADN de presas se ha aplicado con éxito en muchos organismos, pero cuando se aplica la PCR a una muestra que contiene múltiples ADNs (como suele ser el caso en los estudios de dieta donde el ADN del depredador podría ser dominante en la muestra), se deben aplicar técnicas de enriquecimiento de PCR específicas. En este informe, los resultados que se presentan son los obtenidos tras el análisis genético de las heces de los murciélagos que ocuparon las cajas refugio durante el periodo de estudio. Es importante hacer hincapié en que el ADN de los insectos sufre una importante degradación cuando éstos son digeridos por los murciélagos. Además, esta degradación puede variar en función de la especie de insecto, por lo que más que cuantificar el número de individuos que come cada murciélagos en el viñedo, obtenemos una visión de la composición general de su dieta.

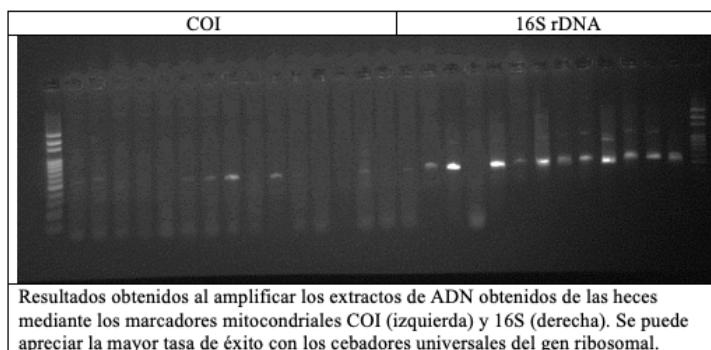
## Metodología

Se recolectaron muestras de heces de los murciélagos presentes en las cajas refugio, mayoritariamente pertenecientes a la especie *Pipistrellus kuhlii* tanto en Enguera como en Fontanars (Tabla 5). Cada muestra estaba compuesta de 2 pelets de guano que fueron transportadas en un tubo eppendorf, convenientemente etiquetado al laboratorio de la Universitat de València para su conservación en frío (-20°C) previo al análisis molecular. Las muestras fueron procesadas aislando el ADN total mediante kits de extracción comerciales (kit NucleoSpin, Macherey-Nagel™).

**Tabla 5:** Muestras de guano de murciélagos recogidas en Enguera y Fontanars dels Alforins durante el año 2020

	Nº Muestras de guano de murciélagos		
	Enguera	Fontanars	Total
Marzo	7		7
Abril	20	9	29
Mayo	6	9	15
Junio	12	6	18
Julio	7	8	15
Agosto	15	13	28
Septiembre	19	20	39
Octubre	14	14	28
Total	100	79	179

Teniendo en cuenta que los análisis previos basados en la variación de secuencia en genes mitocondriales proporcionaron buena resolución para discriminar entre especies de artrópodo, se decidió utilizar el fragmento estándar del gen COI usado como código de barras de ADN (Folmer, 1994) y uno de los genes ribosómicos de la mitocondria (16SrDNA). El fragmento correspondiente se amplificó utilizando el perfil térmico de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de 94°C durante 15 min para la activación de la polimerasa (HotStart), seguido de 38 ciclos de 94°C durante 30s, 50°C durante 30s, 72°C durante 30s si una extensión final a 72°C durante 20 min. Los productos de PCR amplificados (Fig. 23) se utilizaron para la construcción de librerías y secuenciación en el equipo MiSeq (Illumina) de los Servicios científico-técnicos de la Universidad de Valencia.



**Figura 23:** Resultado de la amplificación de los genes COI (izquierda) y 16S rDNA (derecha) en muestras de guano.

El resultado de la secuenciación masiva da lugar a lecturas (*reads*) que pueden ser comparadas directamente con la información disponible en el banco de datos genéticos *Genbank* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>). GenBank es una base de datos pública que contiene secuencias de nucleótidos de millones de especies y es distribuida por el Centro Nacional para la Información de Biotecnología (NCBI). La comparación de nuestras secuencias con la base de datos se realizó mediante BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), un programa informático de alineamiento capaz de comparar rápidamente una secuencia problema contra una gran cantidad de secuencias que se encuentren en una base de datos. Para cada lectura se obtuvieron “hits” (secuencias significativamente similares) de la base de datos y el porcentaje de similaridad entre la secuencia obtenida del guano y el “hit” existente en Genbank.

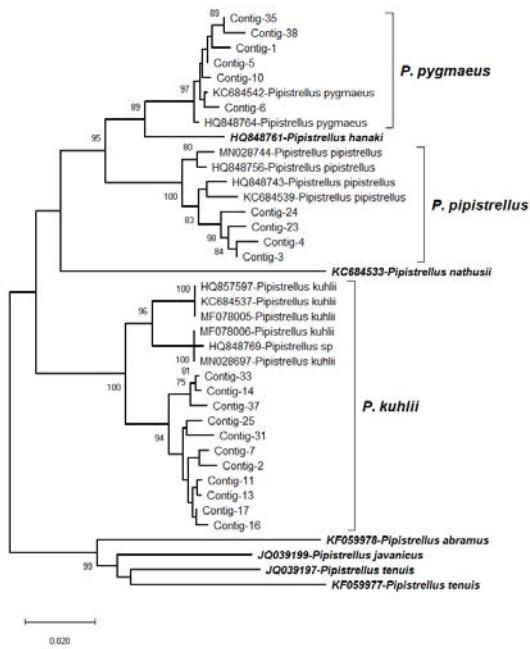
El porcentaje de similaridad nos permite identificar de forma indirecta el ADN de quirópteros o artrópodos a nivel de familia, género o incluso especie. En numerosas publicaciones

centradas en el estudio del 'Código de barras de ADN' se encuentran unos valores umbral de distancia genética que permiten aproximar la identificación a nivel de orden, familia, género o incluso especie (Burgar, *et al.* 2014; Clare, *et al.* 2014; Zeale, *et al.* 2011). Además, debe tenerse presente que el ADN de los murciélagos sigue presente en sus heces mediante el arrastre de pelos o células del animal. Con el objetivo de determinar las especies de murciélagos que ocupan las cajas instaladas en campo (que se asocian las muestras de guano recogidas), se realizaron análisis filogenéticos de las secuencias asignadas a quirópteros.

## Resultados

### 2.3.1. Especies de murciélagos detectados por análisis filogenético.

La mayor parte de las secuencias obtenidas de las muestras de guano (= Contigs) se corresponden a murciélagos del género *Pipistrellus*, principalmente de la especie *P. kuhlii*, pero también de *P. pipistrellus* y *P. pygmaeus*. Tal y como se observa en la figura 24, la práctica totalidad de las especies de *Pipistrellus kuhlii* secuenciadas corresponden a una subespecie que no ha sido identificada hasta la fecha. Podríamos estar, por tanto, ante un resultado de gran valor científico que contribuiría a mejorar el conocimiento de las especies de murciélagos presentes en la Comunitat Valenciana.



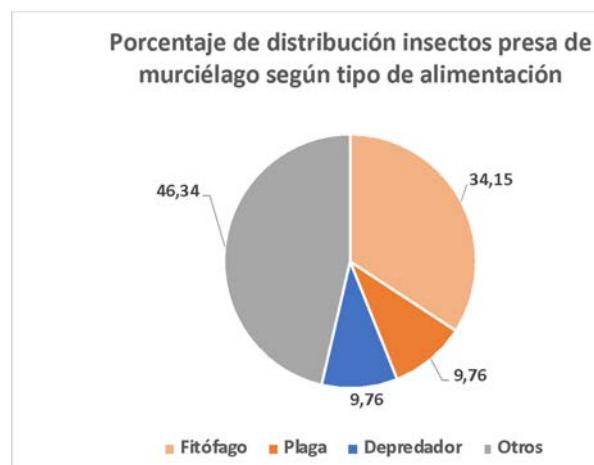
**Figura 24:** Filogenia molecular que muestra las relaciones entre las secuencias de *Pipistrellus* obtenidas en nuestro análisis (Contigs) y las disponibles en Genbank.

### 2.3.2. Especies de artrópodos presentes en heces de *Pipistrellus sp.*

Se han obtenido más de 12 millones de lecturas (Enguera = 12.685.752; Fontanars = 12.969.290), con un mínimo de 100.000 reads por muestra y de 2.79 millones de reads por mes y localidad analizados. Como se ha indicado, cada secuencia de DNA se asocia a un orden, familia, género o especie en función de la similaridad/distancia.

De entre todas las secuencias de DNA de artrópodos obtenidas, se han encontrado 41 especies pertenecientes a 2 clases (Insecta y Arachnida) y 12 órdenes (Tabla 6). En todos los casos se ha obtenido un valor de equivalencia en los hits obtenidos por BLAST sobre la base de datos Genbank igual o superior al 98% de similaridad, o lo que es equivalente, una distancia del 2% (Tabla 6). Para facilitar la presentación de resultados, los artrópodos han sido clasificados en función de su interés agrícola en cinco grupos: fitófagos, plagas, depredadores, parasitoides, otros (descomponedores, hematófagos, otros), (Fig. 25).

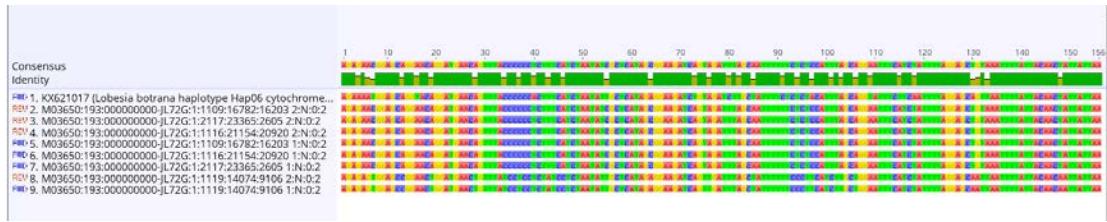
El 46,34% de las especies identificadas se han clasificado como “Otros: insectos con otros hábitos de alimentación” y a este grupo pertenecen las hormigas, los psocópteros y numerosas especies de dípteros. Por su interés para la salud pública cabe destacar la presencia de mosquitos del género *Aedes* y de *Culex quinquefasciatus* entre las especies de dípteros identificados, por ser transmisor de *Wuchereria bancrofti*, nematodo causante de Elefantiasis. No se ha confirmado la presencia de *Aedes albopictus* entre las especies detectadas.



**Figura 25:** Porcentaje de distribución de insectos presa de murciélagos según el tipo de alimentación de muestras de guano.

El siguiente grupo más numeroso lo forman los fitófagos, con el 43,91%, de los cuales 4 especies son consideradas plagas agrícolas de mayor o menor relevancia. La plaga más importante identificada con este método ha sido *Bactrocera oleae*, la mosca del olivo, que es considerada la plaga más importante de la olivicultura Española y particularmente en la zona de estudio donde ha sido encontrada esta secuencia (Enguera). Entre las familias encontradas (usando un umbral del 85-90% de similaridad), se detectaron algunas de interés vitícola por ser importantes plagas del viñedo como los Cicadelidae (entre los que se encuentra el mosquito verde, plaga en los viñedos de estudio) y Tortricidae. A esta última familia pertenece *Lobesia botrana*.

Si bien el análisis de los datos del gen 16S rDNA no han confirmado la presencia de polilla del racimo, los análisis realizados con el método COI confirman la presencia de la plaga entre las presas de murciélagos (Fig. 26).



**Figura 26:** Lecturas (reads) del gen COI alineadas con la secuencia de referencia de *Lobesia botrana* disponible en Genbank.

Por los resultados obtenidos, parecería que la plaga *Lobesia botrana* no representa una parte fundamental de la dieta de los murciélagos *Pipistrellus*, aunque se deben tener en cuenta varios factores. Es posible que el uso de la confusión sexual como estrategia eficaz de control de la plaga y la localizada actividad de los murciélagos en los viñedos de estudio influyen en los resultados del análisis. Además, una degradación excesiva del DNA de *Lobesia botrana* también podría ser la causa. A pesar de ello, a tenor de estos datos, se confirma la gran diversidad de fitófagos y especies plaga que depredan los murciélagos, incluyendo *Lobesia botrana*.

En cuanto a los enemigos naturales, tan solo se ha confirmado la presencia de 4 especies de depredadores, todas ellas generalistas: *Argiope trifasciata* y *Gibbaranea occidentalis* (Arachnida: Araneae), *Sympetrum fonscolombii* (Odonata: Libellulidae), *Stenus intermedius* (Coleoptera: Staphylinidae). También se han identificado un gran número de secuencias pertenecientes a otras familias de depredadores de interés agrícola, como son los Anthocoridae, Nabidae, Coccinellidae, Chrysopidae, Mantidae, Reduviidae y Syrphidae (datos no mostrados). Los parasitoides, por su parte, no han sido detectados a nivel de especie, si bien se han encontrado parasitoides de interés agrícola como los Ichneumonidae y Braconidae. Cabe destacar la ausencia de especies o familias pertenecientes a la superfamilia Chalcidoidea, en la cual se encuentran la mayoría de los parasitoides responsables del control biológico de numerosas plagas agrícolas. Tampoco se han encontrado secuencias de Apidae, familia a la que pertenecen la mayoría de las abejas que son importantes polinizadores. La ausencia de estos insectos en la dieta de *Pipistrellus sp.* podría deberse a sus hábitos diurnos.

**Tabla 6:** Listado de especies presa de *Pipistrellus sp.* procedentes del análisis genético de las heces con un grado de equivalencia igual o superior al 98% en la base de datos de GenBank

Listado de especies presa de quiropteros ( <i>Pipistrellus sp.</i> ) encontrados en Hits obtenidos por BLAST sobre la base de datos Genbank con grado de coincidencia superior al 98%				
Espece	Clase	Orden	Familia	Hábito
Argiope trifasciata	Arachnida	Araneae	Araneidae	Depredador
Gibaranea occidentalis	Arachnida	Araneae	Araneidae	Depredador
Drasterius sp. UPOL RK0063	Insecta	Coleoptera	Elateridae	Fitófago
Egadroma sp. NLGa NLG-2014	Insecta	Coleoptera	Carabidae	Fitófago
Stenus intermedius	Insecta	Coleoptera	Staphylinidae	Depredador
Bactrocera oleae	Insecta	Diptera	Tephritidae	Plaga
Chironomus riparius	Insecta	Diptera	Chironomidae	Otros
Culex quinquefasciatus	Insecta	Diptera	Culicidae	Otros
Dohrniphora apharea	Insecta	Diptera	Phoridae	Otros
Drosophila melanogaster	Insecta	Diptera	Drosophilidae	Plaga
Lonchoptera uniseta	Insecta	Diptera	Lonchopteridae	Otros
Scaptomyza elmoi	Insecta	Diptera	Drosophilidae	Otros
Scaptomyza himalayana	Insecta	Diptera	Drosophilidae	Otros
Scaptomyza pallida	Insecta	Diptera	Drosophilidae	Otros
Tipula sp. PMO 200011	Insecta	Diptera	Tipulidae	Otros
Cloeon peregrinator	Insecta	Ephemeroptera	Baetidae	Otros
Adelphocoris lineolatus	Insecta	Hemiptera	Miridae	Plaga
Adelphocoris suturalis	Insecta	Hemiptera	Miridae	Fitófago
Adelphocoris triannulatus	Insecta	Hemiptera	Miridae	Fitófago
Lygus pratensis	Insecta	Hemiptera	Miridae	Plaga
Nezara viridula	Insecta	Hemiptera	Pentatomidae	Fitófago
Lasius grandis	Insecta	Hymenoptera	Formicinae	Otros
Lasius japonicus	Insecta	Hymenoptera	Formicinae	Otros
Lasius platythorax	Insecta	Hymenoptera	Formicinae	Otros
Lasius productus	Insecta	Hymenoptera	Formicinae	Otros
Lasius psammophilus	Insecta	Hymenoptera	Formicinae	Otros
Sympetrum fonscolombii	Insecta	Odonata	Libellulidae	Depredador
Anacridium aegyptium	Insecta	Orthoptera	Acrididae	Fitófago
Anacridium incisum	Insecta	Orthoptera	Acrididae	Fitófago
Phaneroptera sp. MAA-2007	Insecta	Orthoptera	Tettigoniidae	Fitófago
Trigonidium cicindeloides	Insecta	Orthoptera	Trigonidiidae	Fitófago
Trigonidium sp. Moz	Insecta	Orthoptera	Trigonidiidae	Fitófago
Atlantopsocus personatus	Insecta	Psocoptera	Psocidae	Otros
Cuneopalpus cyanops	Insecta	Psocoptera	Elipsocidae	Otros
Myopsocus sp. KY298	Insecta	Psocoptera	Myopsocidae	Otros
Trichopsocus dalii	Insecta	Psocoptera	Trichopsocidae	Otros
Neopsylla siboi	Insecta	Siphonaptera	Hystrichopsyllidae	Otros
Echinothrips americanus	Insecta	Thysanoptera	Thripidae	Fitófago
Scolothripstakahashii	Insecta	Thysanoptera	Thripidae	Fitófago
Thripsalliorum	Insecta	Thysanoptera	Thripidae	Fitófago
Thripsssp. 1 YF-2010	Insecta	Thysanoptera	Thripidae	Fitófago

## 2.4. Ensayo de ocupación de cajas-refugio.

### Metodología.

Las 118 cajas-refugio se revisaron cada 15 días desde el mes de abril de 2019 hasta octubre y mensualmente desde noviembre hasta marzo. Durante la revisión se utilizó un espejo con el que se iluminó el interior de la caja proyectando con este la luz del sol. Los días nublados y a primeras horas de la mañana se utilizó una linterna de gran potencia (Fig. 27). Durante las observaciones se anotaba el número de individuos presentes y el comportamiento en el que se encontraban (interior o exterior) para cada modelo de caja. También se hacían anotaciones sobre el estado de conservación de las cajas-refugio y la existencia de avispas que pudieran influir en la ocupación de las cajas-refugio.

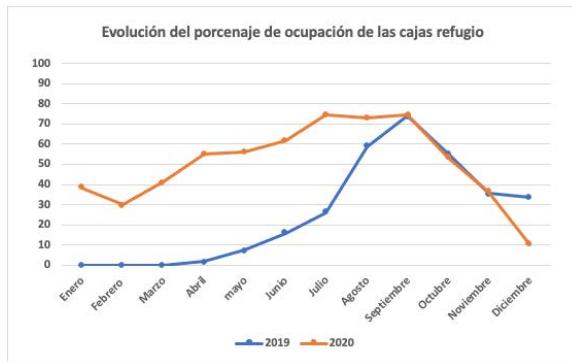
Los análisis estadísticos se realizaron mediante SPSS y fueron T-student, ANOVA y Modelo Lineal General Multivariante realizándose posthoc (Tukey), aplicando los factores de corrección necesarios a cada caso.



**Figura 27:** Revisión de caja refugio mediante el uso de una linterna.

### Resultados.

Durante la primera anualidad el 95% de las cajas-refugio se ocuparon una vez y en la segunda anualidad este porcentaje se incrementó al 100%. Este resultado es de gran importancia puesto que refleja que los modelos, ubicación y soportes son favorables para la ocupación de los murciélagos y por tanto se concluye que se ha implementado un diseño exitoso para favorecer la conservación de murciélagos en el agroecosistema.



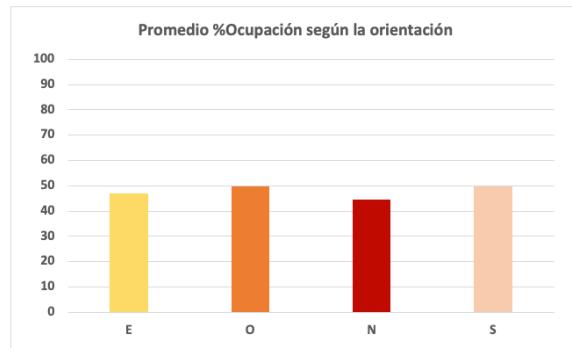
**Figura 28:** Evolución del porcentaje de ocupación de las cajas refugio a lo largo de las dos anualidades en las dos zonas de estudio (Enguera y Fontanars dels Alforins)

Si analizamos la evolución del porcentaje de ocupación de cajas-refugio se aprecia un incremento exponencial de la ocupación desde que fueron colocadas (enero 2019) desde el mes de abril hasta septiembre. En el año 2020 la ocupación ha sido mayor que el año anterior casi todos los meses. El pico máximo de ocupación rozó el 80% desde julio a septiembre de 2020, lo que coincide con la época de cría y los primeros vuelos e independización de los juveniles, que comienzan a separarse de la colonia maternal para buscar refugios alternativos. A partir de octubre la ocupación de las cajas comienza a descender, ya que los murciélagos buscan otro tipo de refugios para llevar a cabo su hibernación. No obstante, se comprobó que durante los meses de invierno existía actividad por parte de los murciélagos en el viñedo, presentándose además un porcentaje de ocupación de las cajas superior al 30% durante la práctica totalidad del año 2020. Esto se debe a que el género *Pipistrellus* no lleva a cabo una hibernación estricta durante los meses más fríos y aunque podría ocupar las cajas refugio para hibernar son utilizadas fundamentalmente como refugio de día.

La figura 29 representa la evolución del número de murciélagos que ocupan las cajas refugio a lo largo del año. Tan solo un año después de haber iniciado el estudio, el número de murciélagos que ocupa los refugios se ha duplicado, pasando de poco más de 200 en 2019 a más de 400 en 2020. El número máximo de murciélagos observados en el interior de una caja refugio fue en el mes de julio durante una de las “Noches de los murciélagos” realizada en Enguera, en la que se contabilizaron 138 murciélagos saliendo del refugio al anochecer.



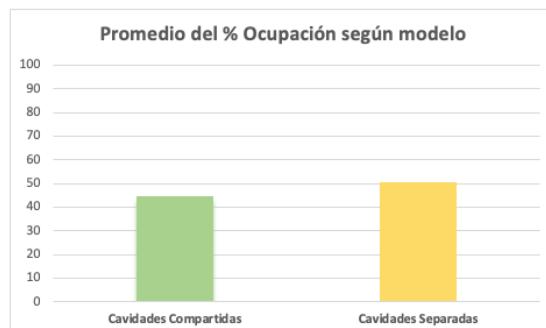
**Figura 29:** Evolución del número total de murciélagos de las cajas refugio a lo largo de las dos anualidades en las dos zonas de estudio (Enguera y Fontanars dels Alforins)



**Figura 30:** Evolución del número total de murciélagos de las cajas refugio a lo largo de las dos anualidades en las dos zonas de estudio (Enguera y Fontanars dels Alforins)

Cuando analizamos el porcentaje de ocupación en función de la orientación de los refugios vemos que los murciélagos no manifiestan una preferencia clara por alguna de las orientaciones, ni siquiera por la orientación Este, considerada como la más favorable para el Sudeste de la Península Ibérica. La figura 30 refleja el porcentaje de ocupación en función de la orientación para el total de las cajas-refugio, pero si analizamos cada una de las fincas los resultados son similares, no se encontraron diferencias significativas en cuanto al posible efecto de la orientación sobre la ocupación de las cajas ( $F=0,752$ ;  $g.l=3$ ;  $P=0,523$ ).

Sin embargo, el modelo de refugio sí que influyó a la hora de obtener mayores ocupaciones. Tal y como muestra la figura 31, los modelos de cavidades separadas tuvieron una mayor ocupación de media ( $F=0,633$ ;  $g.l=109$ ;  $P=0,036$ ).



**Figura 31:** Media de ocupación de las cajas refugio en función de la orientación de las mismas durante los dos años del proyecto.

Por último, se analizó si existía un efecto de interacción entre el modelo de la caja y la orientación que pudiera explicar variaciones a la hora de su ocupación. Para ello se realizó un análisis de Modelo Lineal General multivariante, no observándose evidencias estadísticas de dicha interacción ( $F=0,148$ ;  $g.l=3$ ;  $P=0,931$ ).

En un principio se pensó que el modelo de cavidades comunicadas interiormente podía ofrecer mayor atractivo para los murciélagos, ya que podían escoger durante el día moverse de una cavidad a otra sin salir al exterior de la caja. No obstante, la predilección por las cajas con cavidades separadas nos lleva a pensar que quizás la elección esté más relacionada con la

temperatura. Las cajas con cavidades separadas probablemente conserven una temperatura más regular en su cavidad interior al no incidirle directamente el sol. Parece que los murciélagos prefieren ocupar las cavidades interiores (más cercanas al poste) especialmente durante los meses de agosto y septiembre (Fig. 31). Este comportamiento está menos expuesto al sol por lo que los murciélagos pueden estar buscando temperaturas más frescas durante los meses de máxima insolación en los compartimentos interiores de las cajas refugio.

Sería un punto interesante a comprobar en estudios futuros la diferencia de temperatura durante el día en los dos modelos de cajas para poder probar esta hipótesis.

## 2.5. Conclusiones.

1. Los modelos de caja-refugio implementados, soportes y orientaciones son adecuados para la ocupación por parte de los murciélagos ya que el 100% de las cajas han sido ocupadas al menos en una ocasión.
2. Los murciélagos muestran su preferencia por los modelos de caja refugio de doble compartimento en madera con los compartimentos separados.
3. El porcentaje de ocupación máximo se registró en el segundo año de estudio siendo próximo al 80%. Las poblaciones de murciélagos por su parte se duplicaron en el segundo año de estudio para una población total máxima de casi 500 murciélagos.
4. La actividad de los murciélagos fue mucho mayor en las parcelas donde se encontraban las cajas refugio. Además, parecen disminuir su radio de caza cuando se encuentran criando, por lo que disponer de colonias de cría en el mismo viñedo es de gran importancia cuando se pretenden llevar a cabo estrategias de control biológico.
5. El periodo de máxima actividad de los murciélagos coincide con el desarrollo de las generaciones de polilla del racimo más dañinas para el cultivo (segunda y tercera generación). Además, la máxima actividad de los murciélagos durante la noche (primeras horas de la noche), coincide con la máxima actividad de vuelo de la polilla del racimo.
6. Existe una importante diversidad de especies de murciélagos en las zonas de estudio algunos de los cuales se encuentran en peligro de extinción.
7. *Pipistrellus kuhlii* es la especie que se ha detectado mayoritariamente tanto en los pases de actividad como en los resultados de dieta, encontrándose en menor medida las especies *Pipistrellus pipistrellus* y *Pipistrellus pygmaeus*.
8. Los resultados genéticos han confirmado la presencia de una subespecie de *Pipistrellus kuhlii* no secuenciada hasta la fecha para el gen 16D rDNA y que es la que se encuentra mayoritariamente en los viñedos de Enguera y Fontanars dels Alforins. Podríamos estar ante una nueva subespecie de *Pipistrellus kuhlii*.
9. Se han encontrado una gran diversidad de especies de insectos depredados por *Pipistrellus spp.* entre las que se encuentran varias familias de depredadores generalistas, pero también numerosas especies de insectos fitófagos, como las especies plaga *Bactrocera oleae* (mosca del olivo) y *Lobesia botrana* (polilla del racimo).

10. Aunque se han detectado algunas familias de parasitoides (Ichneumonidae y Braconidae) entre las presas de *Pipistrellus spp*, no se han encontrado ni especies ni familias pertenecientes a la superfamilia Chalcidoidea o a la familia Apidae. Estas familias son de gran importancia agrícola por incluir parasitoides responsables del control biológico de numerosas plagas o especies polinizadoras de cultivos, respectivamente.

No hay precedentes de estudios similares desarrollados en Europa sobre control de plagas con murciélagos con el alcance que se ha planteado en este proyecto. Por ello, y para la mejora de la ejecución del proyecto se plantearon unos puntos de mejora en la anualidad 2019. Estos aspectos fueron abordados y corregidos en la anualidad 2020 y se detallan en el punto 4 de esta memoria.

### 3. DIVULGACIÓN DE LOS RESULTADOS Y CONCIENCIACIÓN AMBIENTAL.

#### 3.1. Modificación de la página web del proyecto.

Se llevaron a cabo modificaciones de la página web con el objetivo de hacer pública toda la información del proyecto. También se adaptó la página web para llevar a cabo el cumplimiento de la normativa de divulgación (Fig. 32). En la segunda anualidad se le dio a la web un aspecto más visual, aportando los datos del proyecto cooperación de una forma más atractiva y accesible.



Figura 32: Modificación de la página web del proyecto.

La información que se hace pública en la página web sigue la estructura planteada en la memoria y contiene la siguiente información:

1. Título y descripción del proyecto. Breve descripción del proyecto.
2. Vídeo resumen del proyecto. Vídeo de 4 min en el que se explica brevemente los objetivos del proyecto, así como parte de la metodología empleada y los integrantes del proyecto cooperación.
3. Vídeo de divulgación de resultados de la anualidad 2018. Se trata de un vídeo realizado por AGROVIDAR como parte de una jornada de divulgación de agricultura ecológica en la que el coordinador del proyecto cooperación, Juan Martínez Barberá, fue invitado para exponer los resultados del proyecto.
4. Video presentación de los resultados de la anualidad 2019. Grabación completa de 1 hora de la jornada realizada en el Jardín Botánico de la Universidad de Valencia en febrero de 2020 en la que se exponen los resultados parciales del proyecto y se realiza la presentación del vino Aliats.
5. Publicaciones científicas. Todavía no se han desarrollado publicaciones científicas de los resultados del proyecto. No obstante, se incluyen los trabajos previos realizados con anterioridad por Bodegas Enguera en la misma temática. Es importante reflejar que se trata de trabajos que sentaron las bases del proyecto pero que difieren del proyecto cooperación en su metodología, planteamiento e integrantes.
6. Declaración del origen de las ayudas. Declaración formal en la que se refleja el origen público de la ayuda que permite llevar a cabo el proyecto cooperación.

### 3.2. Proyecto de educación ambiental y cajas-refugio.

Las labores de educación ambiental se plantearon en dos grupos de acciones: celebración de noches de murciélagos y proyecto cajas-refugio.

#### La Noche de Murciélagos

En 2019 se llevaron a cabo dos noches de murciélagos en los meses de julio y septiembre. En 2020, cuando las condiciones sanitarias lo permitieron, se retomaron estas jornadas, realizándose 5 más de junio a septiembre. Estas jornadas han tenido una gran acogida por el público y se han incorporado a la oferta enoturística de la bodega. Esta oferta se plasmó en un vídeo promocional que da a conocer la existencia de estas jornadas entre el público general, el cual se difundió a través de redes sociales:

<https://www.youtube.com/watch?v=wvIkBDXJM3s&t=3s> (Fig.33)



**Figura 33:** Captura de pantalla del canal de Bodegas Enguera en youtube, donde se muestra el vídeo promocional de las noches de los murciélagos.

En estas jornadas se explica el proyecto a los asistentes, se les habla sobre las características de los murciélagos presentes en el viñedo, se realiza una cata del vino Aliats y, por último, se acude a una caja-refugio a observar la salida de los murciélagos al anochecer (Fig.34).

#### PROGRAMACIÓN DEL EVENTO LA NOCHE DE LOS MURCIÉLAGOS

**19:00.** Presentación del Proyecto Cooperación:

Intervenciones:

Juan Ramón Iglesias (Gerente, Bodegas Enguera)  
Juan Salvador Martínez (Responsable Investigador, Universitat de València)  
Maite Mares Andrés (Jefa de servicio de Transferencia de Tecnología. Conselleria de agricultura desarrollo rural emergencia climática y transición ecológica. Generalitat Valenciana)  
Matilde Marín (Alcaldesa de Enguera)

**19:45.** Explicación de la metodología del proyecto.

Juan Martínez (Responsable I+D+i Bodegas Enguera)  
Sandra Córdoba (Técnico investigador Universitat de València)

**20:15.** Salida de los murciélagos.

**21:00.** Vino de honor y cena.

**Figura 34:** Extracto del dossier de prensa que detalla el cartel de la primera Noche de Murciélagos celebrada el 20 de septiembre de 2019 en los viñedos donde se lleva a cabo el proyecto cooperación en Enguera.

En 2019, previo a la primera noche de murciélagos se hizo llegar un dossier de prensa a los medios de comunicación especializados en vino en la Comunidad Valenciana con gran poder de difusión: El Mundo, El Levante y Las Provincias.

En 2020, las noches de los murciélagos tuvieron que realizarse completamente en el exterior, siguiendo las medidas sanitarias en vigor de cada momento, lo que incluía restricciones de aforo. Aun así, alrededor de 200 personas disfrutaron de estas jornadas durante este año, lo que, sumando las dos anualidades, hace un total de casi 350 personas. (Fig. 35). Actualmente, en 2021, ya hay nuevas fechas para las Batnights de este año, la primera de ellas el 1 de mayo, debido a la gran demanda de esta actividad.



**Figura 35:** Imágenes tomadas durante las dos noches de murciélagos celebradas el 26 de julio y 20 de septiembre de 2019 en los viñedos donde se desarrolla el proyecto cooperación.

Por otra parte, estos eventos contaron con artículos redactados por los periodistas convocados a las jornadas. Concretamente se publicó un artículo en El Levante el 16 de agosto de 2019 <https://www.levante-emv.com/vinos/2019/08/16/enguera-organiza-jornada-reivindicar-papel/1911679.html> y otro artículo en Las Provincias el 20 de septiembre de 2019 <https://www.lasprovincias.es/planes/noche-murcielagos-bodegas-20190920003511-ntvo.html>. Además, se llevó también a cabo una fuerte difusión del evento en las redes sociales de Bodegas Enguera <https://www.instagram.com/bodegasenguera/?hl=es>

“La Noche de murciélagos” tiene un fuerte carácter de divulgación del proyecto cooperación, contribuyendo a la mejora de los conocimientos de agricultura ecológica de los participantes, fomentando la concienciación por el medio ambiente y la conservación de especies protegidas y son de gran utilidad para dar a conocer las acciones desarrolladas en el proyecto cooperación.

### Proyecto Caja-refugio.

El proyecto “Caja-refugio” es una acción complementaria a “La Noche de Murciélagos”. Se trata de un proyecto en el que se anima a agricultores, pero también a particulares a la colocación de cajas-refugio para la lucha contra las plagas por medio de murciélagos. Este proyecto permite la adquisición de las cajas refugio a toda persona interesada en colocar refugios para murciélagos en sus propiedades, ya sea una casa de campo o una finca agrícola.



**Figura 36:** Presentación de la caja-refugio durante la segunda noche de murciélagos (izquierda) y fotos del interior y exterior de la caja utilizada como medida de divulgación de los resultados del proyecto cooperación.

Las cajas-refugio (Fig. 36) se adquieren en la misma tienda de la bodega y se comercializan por un precio de 35€, Bodegas Enguera destina el 100% de los beneficios del proyecto a las labores de conservación de murciélagos que desarrolla en el centro de investigación Enguera Planet. Junto a la caja se incluyen instrucciones de colocación y se ofrece labores de asesoramiento del equipo técnico de la bodega para instalarlas de la forma más eficiente.

En 2019 se vendieron un total de 40 cajas-refugio entre agricultores y, mayoritariamente particulares de la Comunidad Valenciana. Durante el 2020 el número de ventas aumentó, existiendo, entre otros, un pedido de 20 cajas de una bodega del sur de Italia (Alois Lageder) con la intención de implantar el método de control biológico de plagas con murciélagos en sus viñedos. Dada la gran acogida de la iniciativa se está planteando realizar un proyecto paralelo de ciencia ciudadana para realizar un seguimiento de la ocupación de estas cajas por los propios particulares que las adquieran y destinar un porcentaje de los beneficios a la colocación de más refugios para murciélagos fisurícolas.

### 3.3. Promoción del vino del proyecto.

En septiembre de 2019 se finaliza el diseño del vino y se contrata al suplemento de *El Mundo*, 5 barricas, un publirreportaje que permite la divulgación de los resultados del proyecto a través del nuevo vino (Fig. 37).



**Figura 37:** Render del vino ALIATS que concentra los valores de sostenibilidad, agricultura ecológica y control de plagas por medio de murciélagos reflejados en las acciones del proyecto cooperación.

El vino ALIATS representa la alianza entre el hombre y los murciélagos para la lucha contra las plagas y contribuye de una manera rápida y visual a la divulgación de los valores de sostenibilidad, cuidado del medio ambiente y agricultura ecológica que concentra este proyecto cooperación. Al mismo tiempo se destaca el factor origen, tanto del vino como de la iniciativa, al estar rotulado el nombre en valenciano y no en castellano. El vino ALIATS constituye el elemento tangible con el que difundir los resultados y valores del proyecto cooperación.

Para la promoción del vino, se realizó una jornada de presentación en el Jardín Botánico de la Universidad de Valencia en febrero de 2020 (Fig. 38). En ella se presentaron también los resultados de la primera anualidad del proyecto, y se terminó con una cata de Aliats en el umbracle del propio jardín. De este acto se realizó un vídeo promocional del vino, que se difundió por redes sociales: <https://www.youtube.com/watch?v=zNLDK06WD6E>



**Figura 38:** Jornada de presentación del vino Aliats en el salón de actos del Jardín Botánico de la Universidad de Valencia.

Las acciones de promoción del vino del proyecto originaron que varias tiendas de alimentación ecológica, sostenible y de km 0 de la ciudad de Valencia se interesaran por el producto. Son varios los comercios que comercializan el vino y cuentan, además, con folletos y material donde explican su origen, haciendo por tanto mención al proyecto y a los obtenidos.



**Figura 39:** Presentación del vino Aliats en varios comercios de la ciudad de Valencia.

Este hecho está produciendo un gran impacto en el proyecto. Los establecimientos que venden Aliats hacen una gran promoción del producto tanto en sus establecimientos (Fig.39) como en redes sociales, lo que origina que cada vez más consumidores se interesen por la iniciativa y acudan a las Noches de los Murciélagos, donde pueden informarse sobre el proyecto cooperación de primera mano.

La buena acogida de Aliats ha originado que se plantee ampliar esta familia de vinos para la primavera del año 2021, elaborando un blanco con su mismo sello, del que ya se ha realizado el diseño (Fig.40)



**Figura 40:** Diseño del nuevo vino Aliats blanco.

Durante los meses de confinamiento, Bodegas Enguera ha potenciado el canal de venta online, ofreciendo además un servicio de reparto en la ciudad de Valencia con 0 emisiones al realizarlo en bicicleta (Fig. 41). Debido a la crisis sanitaria, la venta de vinos online aumentó, siendo Aliats de los vinos más demandados mediante este servicio. Se aprovechó esta acción para divulgar entre los clientes que compraban Aliats los resultados del proyecto a través de la ficha de divulgación de la anualidad 2019, folleto resultados anualidad 2019 “De vinos con murciélagos”



**Figura 41:** Reparto de Aliats en la ciudad de Valencia mediante el servicio en bicicleta de la empresa Encicle.

### 3.4. Grabación de videos del proyecto.

Las acciones de esta tarea se llevan a cabo a lo largo del proyecto cooperación. En la anualidad 2019 se grabaron numerosas tomas aéreas del viñedo en las que se encuentran las cajas-refugio con el fin de obtener tomas recurso para la promoción del proyecto a través de redes sociales. Al mismo tiempo, estas fotos y vídeos se utilizaron en los vídeos de cierre del proyecto y promoción del vino ALIATS.



**Figura 42:** Fotos aéreas de las cajas refugio ubicadas en la zona de estudio de Enguera y durante la colocación de una caja en Fontanars dels Alforins. Selección del material gráfico utilizado para la divulgación del proyecto cooperación.

En 2020 se elaboraron los vídeos promocionales tanto de Aliats como de La Noche de los Murciélagos, ya presentados en la Tarea 3.2 y 3.3.

Parte del contenido gráfico del que hace referencia esta tarea y llevado a cabo durante las dos anualidades puede encontrarse en el Facebook o Instagram de Bodegas Enguera <https://www.instagram.com/bodegasenguera/?hl=es>. En la figura 42 se presentan algunas imágenes tomadas durante el año 2019.

### 3.5. Divulgaciones científicas.

La divulgación científica del proyecto se ha visto fuertemente condicionado por la actual crisis sanitaria, ya que la participación en congresos y jornadas técnicas estaba contemplada en esta anualidad 2020. No obstante, en el mes de febrero, previo al inicio de la crisis en nuestro país, se llevó a cabo una jornada de presentación de los primeros resultados extraídos en la primera anualidad del proyecto bajo el nombre “De Vinos con Murciélagos” (Fig.43). Esta jornada, celebrada en el salón de actos del Jardín Botánico, contó con una gran asistencia y acogida. En ella se presentó el proyecto, se compartieron los datos obtenidos en la primera anualidad y se realizó la presentación oficial del vino del proyecto “Aliats”. La presentación fue grabada en vídeo y se promocionó por redes sociales. Está también en la página web de Bodegas Enguera (apartado de Enguera Planet) a disposición pública.



**Figura 43:** Captura de pantalla de la web de Bodegas Enguera que hace referencia a la Jornada de Vinos con Murciélagos en febrero de 2020.

El año anterior, el 27 de marzo de 2019 se llevó a cabo una ponencia titulada “Conservación de murciélagos en ecosistemas vitícolas para el control biológico de la polilla del racimo. Proyecto Cooperación UV-Bodegas Enguera” en las Jornadas Agroecológicas de La Rioja (Fig. 44). En la que se presentó el inicio del proyecto. El vídeo de la ponencia se promocionó posteriormente por las redes sociales y está presente en la web de Bodegas Enguera.



**Figura 44:** Captura de pantalla de la web agrovidar que hace referencia a la Jornada Agroecológica de La Rioja celebrada el 26 y 27 de marzo de 2019.

## OTRAS ACCIONES DE DIVULGACIÓN

Paralelamente a las acciones de divulgación planteadas en la memoria se llevaron a cabo diversas acciones en las que se divulgaron los resultados del proyecto y se enumeran a continuación:

1. Presentación del proyecto en una cata de vinos en El Corte Inglés Hipercor. 9 marzo de 2019 (Fig. 45).



**Figura 45:** Imágenes de la cata en El Corte Inglés Hipercor del 9 de marzo de 2019 en la que se presentó el Proyecto Cooperación..

2. Reportaje Terra Viva publicado el 14 de junio de 2019 en el que se explica con detalle los objetivos y metodología llevada a cabo durante el proyecto cooperación. <https://apuntmedia.es/va/a-la-carta/programes/vist-en-tv/terra-viva/14-06-2019-terra-viva> (Fig. 46).



**Figura 46:** Captura de pantalla del técnico coordinador del proyecto Juan Martínez junto a Enric Navarro, periodista del programa Terra Viva de APUNT emitido el 14 de junio de 2019.

3. Reportaje Enguera TV publicado el 27 de octubre de 2019 dentro del objetivo 12 de la agenda 2030 de producción y consumo responsable (Fig. 47) [https://www.youtube.com/watch?v=4CP0-5LS\\_IA](https://www.youtube.com/watch?v=4CP0-5LS_IA).



**Figura 47:** Imagen del reportaje emitido por Enguera TV para la producción y consumo responsable y la divulgación del proyecto cooperación..

4. Divulgación del proyecto cooperación durante las visitas a Bodegas Enguera, inclusión del resumen del proyecto dentro de la guía de enoturismo de la bodega. Desde abril de 2019 todos los integrantes del equipo de enoturismo de Bodegas Enguera conocen los detalles del proyecto cooperación. Se llevó a cabo una sesión para explicar los objetivos y metodologías con el fin de que se difundieran por medio de las visitas a la bodega de manera adecuada.
5. Aparición del proyecto en el episodio 5 del programa Loving Comunitat Valenciana de À punt, emitido en diciembre de 2020 sobre el control biológico de plagas en el viñedo. [https://www.apuntmedia.es/programes/loving-comunitat-valenciana/programes/noves-experiencies\\_134\\_1344385.html](https://www.apuntmedia.es/programes/loving-comunitat-valenciana/programes/noves-experiencies_134_1344385.html) (Fig. 48)



**Figura 48:** Captura a de pantalla de la web de À punt. En la imagen, el coordinador técnico del proyecto, Juan Martínez y Hu Zhao, periodista de Loving Comunitat Valenciana.

6. Reportaje de Enguera TV emitido en julio de 2020 donde se explica con detalle el proyecto, las acciones de divulgación llevadas a cabo en torno a él y el vino elaborado en homenaje a los murciélagos del proyecto.
- <https://www.youtube.com/watch?v=5pSII-YcTj4&t=41s> (Fig.49)



**Figura 49:** Captura del reportaje llevado a cabo por Enguera Televisión.

7. Reportaje emitido por Enguera Te Vé en julio de 2020 sobre las Noches de los Murciélagos llevadas a cabo en la bodega para dar a conocer el proyecto entre el público general. <https://www.youtube.com/watch?v=-X6fn6CXlwQ> (Fig.50)



**Figura 50:** Captura del reportaje llevado a cabo por Enguera Te Vé.

8. Aparición en varios medios de prensa escrita y digital, que se hicieron eco tanto del proyecto como del nuevo vino producto del mismo (Aliats) (Fig.51):
  - Semana vitivinícola (11 febrero de 2020)
  - Las Provincias (13 febrero 2020)
  - 5 barricas (14 febrero de 2020)
  - El Levante (21 febrero 2020)

#### Aliats: ¿Y si Batman fuera enólogo?

14 febrero, 2020



**Figura 51:** Recorte del reportaje realizado por 5 barricas en febrero de 2020.

9. Participación en el congreso de ciencias gastronómicas de la UV (17,18,19 de noviembre de 2020) celebrado de forma telemática (Fig.52). En él pudimos hablar sobre la importancia de la conservación de la biodiversidad en la agricultura y del presente proyecto cooperación.



**Figura 52:** Cartel del congreso de ciencias gastronómicas de noviembre de 2020.

## 4. ANÁLISIS DE DATOS REDACCIÓN DE INFORMES Y DEFINICIÓN DE ESTRATEGIAS.

Este apartado de estrategia de gestión constituye un balance de los puntos de mejora planteados en la anualidad 2019 a abordados en la anualidad 2020. Se plantean del mismo modo propuestas a considerar para la continuación del proyecto.

### PROPUESTAS DE MEJORA PROYECTO COOPERACIÓN UV-BODEGAS ENGUERA

La crisis sanitaria condicionó los puntos de mejora planteados en la primera anualidad del proyecto cooperación. A pesar de ello, las acciones contempladas en la memoria inicial se han desarrollado satisfactoriamente, si bien en algunos aspectos como la divulgación, no han podido llevarse a cabo con exactitud las medidas planteadas, surgiendo por otra parte otras acciones que han potenciado la divulgación de resultados.

A continuación, se detallan aquellas medidas de mejora propuestas en 2019 en el informe parcial de resultados y su estado de desarrollo actual en 2020:

#### Inspección de cajas-refugio

- 1. Mejorar el censo de colonias de cría en el interior de las cajas:** Para esta mejora se requería de la presencia de estudiantes en prácticas y estudiantes de TFG de la UV que estaba previsto que acudieran a jornadas formativas en la bodega, observaran el proyecto y la metodología de primera mano y ayudaran a realizar recuentos simultáneos en la época de cría. Este punto no pudo llevarse a cabo como tal, puesto que al inicio de la crisis se suspendieron los convenios de prácticas y la mayoría de TFGs se convirtieron en bibliográficos para evitar riesgos de contagio del Covid-19. No obstante, cuando las condiciones sanitarias lo permitieron, se realizaron batnights abiertas al público que permitieron contabilizar el número total de murciélagos en las dos colonias de cría más numerosas que tuvimos (138 murciélagos en la colonia de cría de Enguera y 97 en la colonia de cría de Fontanars).
- 2. Realizar un mantenimiento a las cajas-refugio:** Tras dos años en uso, las cajas-refugio presentaban claros signos de desgaste debido a las condiciones meteorológicas. Por ello, durante el invierno de 2020 se procedió a la aplicación de aceite de linaza y barnizado de la casi totalidad de las cajas (no fue posible realizar el tratamiento de todas debido a que, como se ha comentado en apartados anteriores, existían cajas ocupadas durante todo el año, por lo que aquellas que estaban ocupadas por murciélagos no se trataron para evitar generar molestias a los animales). Además, aquellas cajas que presentaban holguras en el anclaje han sido fijadas correctamente de nuevo para evitar futuras caídas y, en los casos extremos donde se había abierto algún lateral de la caja, esta se ha sustituido completamente por una caja nueva. Se ha limpiado el interior de las cajas-

refugio de nidos de avispa papelera, que podían ser peligrosos para los murciélagos que las ocuparan (o disuadirles de su ocupación) y también se retiraron nidos de avispa alfarera ya vacíos que ocupaban gran cantidad del espacio interior de algunas cajas, reduciendo su espacio útil para los murciélagos. Las cajas se encuentran actualmente en perfecto estado para su ocupación, por lo que podemos decir que este punto de mejora se ha cumplido en esta anualidad.

### **Censos mediante transectos**

3. **Mejorar metodología censos:** Tras la primera anualidad se observó cómo el censo mediante transectos no estaba detectando la presencia de especie menos frecuentes en el viñedo y no se obtenía una cantidad de datos elevada para realizar un análisis estadístico robusto. Es por ello que durante el 2020 la metodología de censos se adaptó exclusivamente a estaciones de escucha estáticas, método utilizado ampliamente para realizar estudios de actividad en murciélagos. De este modo, se lograron aumentar los datos de cruces/noche obtenidos, se muestraron muchas más noches (238 en total) y se acotó espacialmente mejor el estudio de las parcelas con cajas-refugio y las parcelas control. La metodología de censos ha permitido analizar estadísticamente diferencias significativas en cuanto a la actividad de los murciélagos, que era uno de los objetivos del presente estudio, por lo que podemos decir que este punto de mejora se cumplió en 2020.

### **Análisis de ultrasonidos**

4. **Mejorar análisis de ultrasonidos:** También se hacía referencia a la necesidad de contactar con expertos para diferenciar especies similares a nivel de ultrasonidos como *P.kuhlii/P.nathusii*. Durante 2020 se mantuvieron conversaciones con SECEMU, a la que se realizaron algunas consultas con grabaciones dudosas sobre estas especies, confirmándonos que, en nuestros datos, no se había detectado *P.nathusii* y, presuntamente, todos los audios registrados parecen pertenecer a *P.kuhlii*. Además, estaba previsto que la persona del equipo encargada de llevar a cabo el análisis mejorara sus conocimientos en 2020 asistiendo a un curso de formación en Bristol organizado por la empresa americana Wildlife Acoustics (diseñadora del software kaleidoscope y de la grabadora utilizada para nuestros ensayos). Este curso no pudo realizarse de forma presencial debido a que coincidió con el confinamiento y los vuelos fueron cancelados. No obstante, la organización adaptó el curso para ofrecerlo de forma online mediante videoconferencia, con lo que pudo realizarse. Además, los meses de confinamiento y restricciones ofrecieron adicionalmente cursos gratuitos sobre diferentes aspectos técnicos del programa de análisis de ultrasonidos y reuniones semanales para compartir dudas y experiencias con otros expertos del resto del mundo

mediante videoconferencias. Podemos decir por tanto que el análisis de ultrasonidos se ha visto sustancialmente mejorado.

5. **Obtener versión pro kaleidoscope:** en 2019 hacíamos referencia a la necesidad de adquirir una licencia del software kaleidoscope para realizar el análisis de ultrasonidos de forma más rápida. En 2020 se adquirió esta licencia, consiguiéndose así analizar más de 73 000 pistas de audio, lo que ha redundado en una mayor calidad de los estadísticos realizados. Damos por tanto este punto de mejora como conseguido en esta anualidad.

### **Análisis estadístico**

6. **Consideración de nuevos métodos de análisis estadístico:** en este punto tratábamos la necesidad de tratar los datos estadísticos de forma correcta para conseguir así extraer unas conclusiones del proyecto válidas. Durante la anualidad de 2020 la persona del equipo encargada de llevar a cabo el análisis se formó mediante clases online sobre distintos métodos y sobre la utilización del programa de tratamiento estadístico SPSS. Esto ha permitido extraer las relaciones entre los factores que han afectado a la ocupación de las cajas-refugio y a la actividad de los murciélagos tal y como se pretendía. Por lo tanto, se ha realizado un análisis estadístico de los datos de las dos anualidades y podemos decir que este punto de mejora se ha conseguido cumplir en 2020.

### **Determinación de la oferta de insectos disponible**

7. **Mejorar metodología identificación de insectos:** Para la mejora de la identificación de insectos se contactó con un entomólogo experto en microlepidópteros. Desafortunadamente, debido a la crisis sanitaria no se pudieron concretar las jornadas de formación en identificación de microlepidópteros que se tenía previstas para el equipo. No obstante, sí que se ha conseguido disponer de datos de las especies concretas presentes en la dieta de los murciélagos (análisis de guano) que era otro de los propósitos de este punto de mejora. Esto junto con el interés del equipo en retomar la formación en la identificación de microlepidópteros hace que la consecución de este punto de mejora sea conseguible al 100% en las próximas anualidades.
8. **Mejorar el almacenamiento de muestras de insectos:** El cambio del almacenamiento de muestras estaba previsto, pero debido al confinamiento y a que muchos de los meses no se pudo acceder a laboratorio y se realizó la mayor parte del trabajo desde casa, finalmente no se llevó a cabo por problemas logísticos. No obstante, las muestras siguen almacenadas en un congelador individual por si es necesaria su posterior consulta.

### **Análisis genético**

9. **Mejorar sistema de extracción ADN:** durante 2019 no se consiguió apenas extraer material genético con el protocolo empleado. En 2020 se recogieron muchas más muestras de guano y en mayor cantidad y se implementaron otros protocolos (descritos en el apartado 2.3 de la memoria) que sí lograron una extracción de ADN suficiente como para generar una identificación de muchas de las especies de artrópodos presentes en la dieta de los murciélagos en 2020. El apartado de análisis genético se vio especialmente afectado por la crisis del COVID-19, puesto que, entre otros factores, el acceso al laboratorio fue limitado durante un largo periodo de tiempo. A pesar de ello, este punto ha conseguido mejorarse con creces respecto a la anualidad anterior, dándolo por cumplido.
10. **Realizar análisis de ADN de las especies de murciélagos:** otro de los puntos a mejorar sobre el análisis genético trataba sobre conocer las especies de murciélagos que ocupaban las cajas-refugio. Gracias a los nuevos métodos de extracción y secuenciación empleados, esto se ha conseguido, pudiendo identificar 3 especies diferentes de murciélagos (descritos en el apartado 2.3). Damos por tanto este punto de mejora por conseguido.

## **PROPUESTAS DE MEJORA PARA LA CONTINUACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.**

1. Puesto que se trata de la especie mayoritaria presente en el viñedo, se propone realizar una campaña de capturas de adultos de murciélagos para caracterizar la subespecie de *Pipistrellus kuhlii* detectada en los viñedos de Fontanars dels Alforins y Enguera. Esta acción puede tener un gran valor científico y nos permitirá conocer mejor la biología de los murciélagos presentes en las zonas de estudio.
2. Completar una caracterización morfológica y molecular más adecuada de la diversidad de insectos/artrópodos presentes en las fincas estudiadas para permitir la identificación de secuencias sin equivalencia en Genbank y definir de una manera más ajustada los umbrales de identificación de artrópodos que componen la dieta de los murciélagos a nivel de familia, género o especie. Existen numerosas secuencias de DNA que, dado que no tenían un porcentaje de similaridad con la base de datos superior o igual al 98% no ha sido posible identificarla como especie. Se plantea una identificación más exhaustiva de las especies de artrópodos que potencialmente puedan ser más relevantes en la dieta de los quirópteros.
3. **Llevar a cabo ensayos específicos de control biológico de *Lobesia botrana*** incrementando la superficie del viñedo sin presencia de la confusión sexual y utilizando varias fincas testigo en la que no se lleven a cabo tratamientos. Dado el éxito de este proyecto, una vez confirmada la elevada población de murciélagos, estando además localizada en las proximidades de los refugios, podría ser el momento de probar la

capacidad del murciélagos para controlar la plaga de la polilla del racimo. **Por ello, se propone continuar la investigación al menos dos años más.**