

# EVALUACIÓN DEL IMPACTO DE LAS CARRETERAS SOBRE LOS INSECTOS MEDIANTE UN NUEVO MÉTODO DE MUESTREO

MÁSTER UNIVERSITARIO EN RESTAURACIÓN DE ECOSISTEMAS

**Presentado por:**

**ALEJANDRA FRANCO SALDARRIAGA**

**Director:**

**MANUEL GARCÍA SÁNCHEZ- COLOMER**  
Área de Ingeniería Ambiental  
Centro de Estudios y Experimentación de Obras Públicas-CEDEX

**Tutor Académico:**

**JUAN ANTONIO DELGADO SAENZ**  
Departamento de Biodiversidad, Ecología y Evolución  
Universidad Complutense de Madrid

**Madrid, 27 de septiembre, 2020**

## ÍNDICE

RESUMEN .....	6
ABSTRACT .....	7
CONTEXTO DEL TRABAJO DE FIN DE MÁSTER .....	8
1. INTRODUCCIÓN .....	9
1.1 Pérdida de diversidad de insectos .....	9
1.2 Importancia de los insectos .....	10
1.3 Causas de la pérdida de biodiversidad de insectos .....	11
1.4 Impactos de las carreteras sobre la abundancia y la distribución de insectos .....	12
1.5 Estrategias para mitigar los impactos generados por las carreteras sobre las comunidades de insectos .....	13
1.6 Métodos utilizados habitualmente para evaluar los impactos generados por las carreteras .....	14
1.7 Planteamiento del problema .....	16
1.8 Justificación del estudio .....	17
1.9 Objetivos .....	18
2. MATERIAL Y MÉTODOS .....	18
2.1 Diseño y pruebas de funcionamiento del captador de insectos .....	18
2.2 Trabajo de campo .....	20
2.2.1 Zonas y unidades de muestreo .....	20
2.2.2 Muestreo de la comunidad de insectos .....	23
2.3 Identificación taxonómica de los insectos recolectados .....	24
2.4 Estimación del impacto de las carreteras sobre la comunidad de insectos .....	25
2.5 Análisis estadísticos .....	25
2.5.1 Riqueza y abundancia de insectos .....	25
2.5.2 Composición de la comunidad de insectos .....	26
3. RESULTADOS .....	29
3.1 Diseño y pruebas de funcionamiento del captador de insectos .....	29
3.2 Muestreo de la comunidad de insectos .....	32
3.2.1 Riqueza y abundancia de insectos .....	32
3.2.2 Composición de la comunidad de insectos .....	35
4. DISCUSIÓN .....	40
4.1 Diseño y pruebas de funcionamiento del captador de insectos .....	40
4.2 Riqueza y abundancia de insectos .....	43
4.3 Composición de insectos .....	47

5. CONCLUSIONES .....	51
6. AGRADECIMIENTOS.....	52
7. BIBLIOGRAFIA .....	53
8. ANEXOS.....	58

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Sitios y autovías utilizadas para el muestreo en campo. Mediante puntos rojos se señalan las autovías visitadas A. Autovía A-231, vía que une León con Burgos; B. Autovía A-7, vía que recorre el Levante; C. Autovía A-40, vía que une Toledo con Cuenca (Mapas tomados de Barbero, 2019 y Michelin, 2020). ....21

Figura 2. Tramos de autovía y viales rurales paralelos en cada uno de los sitios de estudio, A. autovía A-231 (León), B. autovía A-40 (Toledo) y C. autovía A-7 (Valencia). Rutas creadas y guardadas en Google MAPS 2019. En color verde, vial rural norte; en color rojo, autovía; en color azul, vial rural sur. ....22

Figura 3. Instalación del colector de insectos en cada uno de los vehículos utilizados para los muestreos. ....24

Figura 4. Ejemplos hipotéticos que involucran tres islas (A – C) y tres sitios de muestreo en cada una. Las biotas de los sitios A1 – A3 están completamente anidadas, porque las biotas más pobres son subconjuntos de biotas más ricas. Los sitios B1 – B3 tienen la misma riqueza (seis especies cada uno) con tres especies comunes y tres especies exclusivas de cada sitio, es decir, muestran un patrón de recambio espacial. Los sitios C1 – C3 presentan ambos patrones, porque C2 y C3 son subconjuntos de C1 (anidamiento), pero algunas especies se reemplazan entre C2 y C3, que no son subconjuntos entre sí. Modificado de Baselga (2010). ....27

Figura 5. Ejemplos hipotéticos que involucran cuatro especies y dos sitios en cada situación (A-C). En la situación (A) la disminución de la abundancia en las especies 1 y 2 del sitio A1 a A2 está perfectamente equilibrada por el aumento de la abundancia de las especies 3 y 4, mientras que en la situación (B) todas las especies disminuyen su abundancia de B1 a B2. En la situación (C) ambos patrones ocurren, ya que la disminución en la abundancia de las especies 1–3 de C1 a C2 está parcialmente equilibrada por el aumento de la abundancia de la especie 4. Modificado de Baselga (2013). ....28

Figura 6. Diseño del colector de insectos. ....30

Figura 7. Fase de construcción del colector de insectos. A. Detalle de la cara frontal, B. Detalle de la cara trasera; C. Detalle de la cara lateral y D. Detalle de la apertura cara frontal abatible. Fotografías de Javier Plasencia, Madrid 2019. ....30

Figura 8 Instalación del colector y cámara web en el portaequipajes del coche para los ensayos de funcionamiento.....	31
Figura 9. Prueba de la captura de insectos, al finalizar el recorrido por la M-320 (carretera rural desde A-3 a Valdaracete).....	32
Figura 10. Número de individuos capturados/atropellados para cada uno de los órdenes reportados ....	32
Figura 11. A. Número de morfoespecies y B. número de individuos en la autovía, vial rural norte y vial rural sur en León, Toledo y Valencia. Los diagramas muestran los valores (puntos), el valor medio (triángulo) y los intervalos de confianza del 95% (barras). Las letras minúsculas, en negrita y cursiva, muestran las diferencias significativas entre los sitios y las minúsculas entre los tipos de vía, dentro cada uno de los sitios. ....	35
Figura 12. Escalamiento multidimensional no métrico basado en la abundancia de insectos para los cuatro órdenes evaluados (Coleoptera, Diptera, Hemiptera e Hymenoptera) en León, Toledo y Valencia. La composición de órdenes de insectos entre los sitios y tipos de vía en los sitios ( $P < 0,05$ ), Stress = 0,05262333.....	37
Figura 13. Diferencias entre los componentes de la diversidad beta medida a partir de los datos de A. presencia/ausencia (beta.sor: beta.sim vs beta.sne) y B. abundancia (beta.bray: beta.bray.bal vs beta.bray.gra).....	39
Figura 14. Aporte de cada uno de los componentes de diversidad beta, teniendo en cuenta los datos de A. presencia/ausencia (beta.sor: beta.sim vs beta.sne) y B. abundancia (beta.bray: beta.bray.bal vs beta.bray.gra) cuando se comparó la composición de especies entre la autovía y los viales rurales unificados. ....	40
Figura 15. Diferencias entre los componentes de la diversidad beta, cuando se comparó la composición de especies, entre la autovía y los viales rurales unificados, medida a partir de los datos de A. presencia/ausencia (beta.sor: beta.sim vs beta.sne) y B. abundancia (beta.bray: beta.bray.bal vs beta.bray.gra).....	40

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Datos climáticos de las estaciones meteorológicas más próximas a los sitios muestreados. ....	23
Tabla 2. Número de individuos y morfoespecies teniendo en cuenta los nueve órdenes reportados y los cuatro órdenes más abundantes en cada uno de los sitios y tipos de vía.....	34
Tabla 3. ANOVA anidado para el número de morfoespecies y número de individuos colectados. Teniendo en cuenta los sitios y los tipos de vía anidados en los sitios. $p > 0,001$ ***, $p > 0,005$ **...	35
Tabla 4. Abundancia promedio de insectos para cada uno de los órdenes evaluados en los sitios de estudio. Valor Máximo (Máx), Valor mínimo (Mín) y Desviación estándar (Ds). ....	36

Tabla 5. Número de morfoespecies de Coleoptera, Diptera, Hemiptera e Hymenoptera por tipo de vía: Autovía (A), vial rural sur (S), vial rural norte (N), en cada uno de los sitios evaluados. ....37

Tabla 6. Diversidad Beta a partir del índice de disimilitud de Sørensen (beta.sor) y Bray- Curtis (beta.bray) y la contribución de cada uno de sus componentes. Recambio (beta.sim), anidamiento (beta.sne), variación balanceada (beta.bray.bal) y variación por gradientes de abundancia (beta.bray.gra).....38

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 2. Área (Ha) y porcentaje de área (%) de usos del suelo, según Corine Land Cover, 2018, disponible en el Centro Nacional de Información Geográfica (CNIG), 2019, teniendo en cuenta un buffer de 1 km para las unidades de muestreo estudiadas. Se destacan con asteriscos (\*\*) las coberturas con mayor extensión en el área de estudio.....61

Anexo 3. Promedio mensual multianual de precipitación (barras azules) y temperatura (línea roja) para 30 años de medición (1982 y 2012). A. Estación de Santa Martas (A-231), B. Tarancón (A-40) y C. Torrente (A-7). Datos tomados del [Climate-Data.org](https://climate-data.org)/AM OP/ OpenStreetMap (2020). ....62

Anexo 4. Resultados de los ensayos con el captador de insectos. ....63

## RESUMEN

Se estudiaron los impactos de las carreteras sobre los insectos voladores diurnos mediante una nueva técnica, basada en el muestreo de estas infraestructuras, con un colector de insectos, cuyo diseño y prueba de funcionamiento son presentados en esta investigación. Se registró la riqueza, la abundancia y la composición de insectos en tres unidades de muestreo, ubicadas en León, Toledo y Valencia, conformadas por una autovía y dos viales rurales paralelos, con una longitud de 10 km cada uno. Se evaluó si existían diferencias significativas en la riqueza y abundancia de insectos atropellados entre sitios y entre tipos de vía en cada sitio. Se estudió la diversidad beta entre tipos de vía en cada sitio, considerando la partición de esta, en los componentes de recambio (beta.sim) y anidamiento de especies (beta.sne), variación por gradientes de abundancia (beta.bray.gra) y variación equilibrada en la abundancia de especies (beta.bray.bal). Los ensayos con el colector permitieron demostrar el correcto funcionamiento y las ventajas de este con respecto a los métodos que generalmente se usan para el estudio del impacto de las carreteras sobre las comunidades de insectos. Los resultados de los muestreos, mostraron que Hemiptera, Diptera, Hymenoptera y Coleoptera, fueron los órdenes con mayor número de insectos atropellados. Se encontraron diferencias significativas en la riqueza y abundancia de insectos recolectados entre los sitios estudiados, lo cual estuvo probablemente relacionado con las características de la cobertura vegetal de cada uno y por las características del ancho y volumen de tráfico de las carreteras en cada localidad. Los datos de abundancia y las diferencias encontradas en la composición de órdenes entre los sitios estuvieron influenciados por la superioridad numérica de individuos de la morfoespecie *Aphididae-1*, los cuales son organismos coloniales y plagas de diferentes cultivos. Se encontró que tanto el reemplazo como el anidamiento de especies, la variación por gradientes de abundancia y la variación equilibrada en la abundancia de especies, aportaron de manera similar a la diversidad beta entre los tipos de vías, lo cual pudo deberse a que la autovía está funcionando como una barrera para algunas especies y como un filtro para otras. El haber identificado los procesos que están bloqueados en este sistema, representa uno de los primeros pasos que se deben tener en cuenta para el diseño y la ejecución de propuestas de restauración futuras y el planteamiento de nuevas hipótesis para avanzar en el conocimiento de los impactos de las infraestructuras.

**Palabras clave:** atropellos, efecto barrera, diversidad de insectos, autovías, impacto ambiental, medidas de mitigación.

## ABSTRACT

The impacts of roads on diurnal flying insects were studied using a new technique, based on sampling of these infrastructures, with an insect collector whose design and performance test are presented in this investigation. Richness, abundance and composition of insect communities were recorded in three sampling units, located in León, Toledo and Valencia, made up of a motorway and two parallel rural roads, each 10 km long. We evaluated whether there were significant differences in richness and abundance of insect road kills between sites and between road types at each site. Beta diversity was studied considering its partitioning into the components of turnover (beta.sim) and nestedness of species (beta.sne), variation by abundance gradients (beta.bray.gra) and balanced variation in species abundance (beta.bray.bal). The insect collector trials demonstrated the proper functioning and advantages of this method with respect to those generally used for the study of the impact of roads on insect communities. The results of the sampling showed that Hemiptera, Diptera, Hymenoptera and Coleoptera were the orders with the highest number of road kills. Significant differences were found in collected insect richness and abundance among the sites studied, which was probably related to the characteristics of the vegetation cover of each one and by the characteristics of the width and volume of traffic of the roads in each locality. The abundance data and the differences found in the order composition between the sites was influenced by the numerical superiority of individuals of the morphospecies Aphididae-1, which are colonial organisms and pests of different crops. We found that both species turnover and nestedness, variation by abundance gradients, and balanced variation in species abundance, contributed similarly to the beta diversity among road types, which may be due to the fact that the road is functioning as a barrier for some species and as a filter for others. Having identified the processes that are blocked in this system represents the first steps that must be taken into account for design and execution of future restoration proposals and the approach of new hypotheses to advance in the knowledge of the impacts of the infrastructures.

**Key words:** Road kill, barrier effect, insect diversity, highways, environmental impact, mitigation measures.

## CONTEXTO DEL TRABAJO DE FIN DE MÁSTER

Este Trabajo de Fin de Máster está enmarcado en una línea de investigación de estudios aplicados del Centro de Estudios y Experimentación de Obras Públicas (CEDEX), con la cual se busca conocer el impacto de las grandes carreteras (autovías y autopistas) sobre los insectos, utilizando una nueva técnica de muestreo. Dicha línea de investigación se ha venido desarrollando en tres partes principales que se describen a continuación:

- 1) El planteamiento inicial de una nueva técnica de muestreo mediante un colector de insectos, presentación del diseño, construcción y ensayos de funcionamiento del método propuesto.
- 2) Evaluación del impacto de las carreteras sobre los insectos en áreas rurales.
- 3) Estudio de la utilización de las carreteras por los insectos en áreas urbanas y suburbanas.

El presente trabajo presenta los resultados de las dos primeros puntos señalados anteriormente y busca identificar un patrón general en la afectación de este tipo de infraestructuras lineales sobre la comunidad de insectos, con miras a reconocer en estudios que se están realizando actualmente y que se podrían adelantar en un futuro, los impactos diferenciales y particulares sobre los órdenes que contribuyen en mayor medida al servicio ecosistémico de la polinización y el modo en que ocupan y utilizan en el territorio.

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1 Pérdida de diversidad de insectos

La pérdida de biodiversidad se ha convertido en un problema mundial importante. Las tasas actuales de disminución de especies que podrían progresar hacia la extinción no tienen precedentes (Sánchez-Bayo y Wyckhuys, 2019). Hasta hace poco, la mayor parte de la atención científica y pública se había centrado en los vertebrados, particularmente en mamíferos y aves, mientras que los insectos estaban poco representados en estudios de biodiversidad y conservación (Sánchez-Bayo y Wyckhuys, 2019).

Informes científicos recientes, han reportado el empobrecimiento en las poblaciones de insectos en Europa y otras zonas del mundo. Asimismo, a nivel anecdótico, se ha detectado un menor número de insectos esparcidos en los parabrisas de los coches y un menor número de registros de luciérnagas en el campo y de polillas en las estaciones de servicio. Esto, ha despertado el interés de entomólogos, ecólogos, conservacionistas, organizaciones no gubernamentales, creadores de políticas, etc. (Carrington, 2017; Hallmann et al., 2017; Carrington, 2019; Møller, 2019; Sánchez-Bayo y Wyckhuys, 2019; Marshall et al., 2020; van Klink et al., 2020; Wagner, 2020).

Las revisiones y los meta-análisis publicados en la última década exponen que algunos órdenes como Lepidoptera, Hymenoptera, Coleoptera y Diptera y determinadas zonas geográficas, como el Oeste y Norte de Europa y Norte América, son los mejor documentados, pues en estos sitios los naturalistas han mantenido registros sobre la abundancia de los órdenes citados anteriormente durante más de un siglo (Dirzo et al., 2014; Sánchez-Bayo y Wyckhuys, 2019; van Klink et al., 2020; Wagner, 2020).

Dichas investigaciones, también han permitido documentar los vacíos de información que existen en ciertos grupos taxonómicos y lugares, como son los países subtropicales y tropicales, y ponen de manifiesto la necesidad de obtener datos de estudios, que se extiendan durante años y que sean independientes entre sí. Esto último, con el fin de identificar tendencias poblacionales más precisas, controlando la influencia de las fluctuaciones interanuales propias

de las poblaciones de insectos y/o del clima, que, por lo general, repercute sobre este tipo de fauna (Wagner, 2020).

Sánchez-Bayo & Wyckhuys (2019) recopilaron investigaciones de largo plazo, realizadas durante los últimos cuarenta años y disponibles en bases de datos de varias partes del mundo. Esta revisión tuvo en cuenta 73 reportes, a partir de los cuales estimaron que la proporción actual de especies de insectos en declive es del 41 % y que, aproximadamente, un tercio de todas las especies de insectos están en peligro de extinción en los países estudiados (Alemania, Gran Bretaña, Puerto Rico).

Por su parte, van Klink et al., (2020), recopilaron datos de 166 estudios en 41 países, para investigar las tendencias en la abundancia y biomasa de insectos a lo largo del tiempo. Incluyeron datos que iban desde 1925 hasta el 2018, con un año medio de inicio de 1987 y por un período medio de tiempo de 20 años. Estos autores encontraron pruebas contundentes de una disminución en la abundancia y la biomasa de los insectos terrestres, estimada en 0,92 % por año, lo que equivale a -8,81 % por década. En Europa, la estimación de la pendiente media para los insectos terrestres fue más negativa con el tiempo y más pronunciada desde el 2005.

De acuerdo a lo anterior, algunos autores afirman que el ritmo de disminución de insectos es sustancialmente mayor que el observado en aves o plantas durante los mismos períodos de tiempo (Thomas et al., 2004; Sánchez-Bayo y Wyckhuys, 2019). Tal disminución es preocupante, dado el papel crítico que juegan los insectos en las redes alimentarias, los servicios ecosistémicos que prestan y los efectos en cascada que podría desencadenar en diferentes ecosistemas terrestres (Bhardwaj et al., 2019).

## 1.2 Importancia de los insectos

Entre los principales servicios ecosistémicos que prestan los insectos está la polinización. Se calcula que más del 80 % de las plantas con flores y aproximadamente tres cuartos de todos los cultivos del mundo dependen de los insectos para este proceso (Hallmann et al., 2017; Wagner, 2020).

Adicionalmente, otros insectos son recicladores de nutrientes, cumplen funciones importantes en la descomposición de madera, hojas, estiércol y carroña, son esenciales en las redes alimentarias de ambientes tropicales y templados, ecosistemas terrestres y acuáticos y proporcionan una fuente de alimento para niveles tróficos más altos, como aves, mamíferos, anfibios y reptiles (Hallmann et al., 2017; Wagner, 2020).

Otro beneficio ambiental y económico ofrecido por parte de los insectos es el de la seguridad alimentaria, ya que, además de la polinización, pueden controlar las poblaciones de otros invertebrados, hongos, plagas y malas hierbas (Hallmann et al., 2017; Møller, 2019; Wagner, 2020).

### 1.3 Causas de la pérdida de biodiversidad de insectos

Entre las posibles causas de la pérdida de biodiversidad de insectos están la intensificación de los monocultivos en grandes extensiones, cultivos genéticamente modificados, dependientes de pesticidas, herbicidas y fertilizantes; el cambio en el uso del suelo, reemplazando las tierras con cultivos tradicionales por granjas más grandes e industrializadas; el uso de insecticidas, neonicotinoides principalmente; el cambio climático, acompañado del estrés hídrico, particularmente con cambios en la frecuencia, duración e intensidad de las sequías y de las épocas de lluvia; la contaminación lumínica generada por la expansión urbana; la competencia generada por las especies invasoras y ornamentales y la virulencia progresiva de parásitos y patógenos, entre otras (Hallmann et al., 2017; Sánchez-Bayo y Wyckhuys, 2019; Wagner, 2020).

No obstante, varios estudios señalan que la fragmentación y la pérdida de hábitat son las principales causas de este declive (Sánchez-Bayo y Wyckhuys, 2019). El cambio de hábitat es una consecuencia inmediata de las actividades humanas. Su ritmo y alcance global se han expandido en los últimos siglos, con cantidades cada vez mayores de tierra que se transforman para proporcionar viviendas, facilitar el transporte y permitir el turismo (urbanización), cultivar alimentos y fabricar bienes (industrialización) (Sánchez-Bayo y Wyckhuys, 2019).

#### 1.4 Impactos de las carreteras sobre la abundancia y la distribución de insectos

Las infraestructuras lineales de transporte son uno de los principales agentes transformadores del paisaje en la actualidad. En las últimas seis décadas se ha entretejido una tupida red de este tipo de infraestructuras, caracterizadas por un incremento drástico en el tamaño y en la densidad y por tener diseños modernos con capacidad de soportar mayores velocidades y cantidades de tráfico (Baxter-Gilbert et al., 2015; García Sánchez-Colomer, 2018).

Hoy en día las carreteras cubren más de 21 millones de km y se prevé que esta longitud total aumente en un 25 % para el 2050 (Dean et al., 2019). En España, por ejemplo, en siglo y medio se ha producido un salto de magnitud en la densidad media de carreteras y vías de ferrocarril en servicio, pasando de unos valores medios de alrededor de 40 km por cada 1.000 km<sup>2</sup> en 1865 a unos 360 km en la actualidad (García Sánchez-Colomer, 2018).

La construcción y operación de las carreteras generan impactos directos e indirectos sobre la abundancia y distribución de las especies ( Donaldson & Bennett, 2004; Dean et al., 2019). Entre los impactos directos se puede destacar el atropellamiento y el efecto barrera, los cuales impiden a muchos individuos cruzar las carreteras, porque no son capaces o porque son atropellados en el intento de desplazarse entre los hábitats intersectados por este tipo de infraestructuras (Andersson et al., 2017).

En 2015, Muñoz et al. publicaron una revisión de las investigaciones que han evaluado los impactos de las carreteras sobre los insectos, encontrando 50 estudios realizados entre 1969 y 2013, el 62% de ellos publicados entre 2001 y 2013. El 39% de los artículos analizados se centraron en la mortalidad de los insectos como consecuencia del atropellamiento y el 26% en el efecto de las carreteras como barreras para la dispersión. Asimismo, dichos autores encontraron que tanto el atropellamiento como el efecto barrera pueden depender del volumen del tráfico, el tamaño de la carretera, el paisaje circundante, las características de las especies y la densidad de la población de insectos en las áreas adyacentes, entre otras.

Con respecto a los impactos indirectos o secundarios, sobresale que los insectos están expuestos a la contaminación ambiental que se genera en estos sitios. El empleo de fundentes de hielo, las partículas y sustancias químicas contaminantes, la alteración de la luz, la humedad y los

regímenes de viento son algunos de estos impactos (Donaldson & Bennett, 2004; Villemey et al., 2018; Dean et al., 2019).

### 1.5 Estrategias para mitigar los impactos generados por las carreteras sobre las comunidades de insectos

Junto con la investigación de los impactos generados por las carreteras, también se han realizado estudios que plantean diversas estrategias para mitigarlos. Algunas de las prácticas que se han propuesto son la instalación de redes para obligar a los insectos, específicamente mariposas a volar más alto, lo que reduce las posibilidades de que queden atrapadas por el tráfico; establecer límites de velocidad y señales de tráfico que indiquen a los usuarios el paso frecuente de este tipo de fauna (Bissonette et al., 2007); el control de la vegetación alrededor de la carretera, mediante la siega de las plantas con flores o la siembra de plantas poco atractivas para algunas especies de insectos para evitar el cruce de estos (Zielin et al., 2016) o por el contrario, el manejo de la vegetación con siembra de flores autóctonas y un régimen de siega determinado, para proveer alimento, hogar, vínculos para la dispersión y en general, aumento de la diversidad de otras especies de insectos (Noordijk et al., 2009; Skórka et al., 2013).

Recientemente, los bordes de carreteras se han convertido en sitios atractivos para restaurar el hábitat de muchos animales, en una oportunidad para sustentar redes tróficas complejas, aumentar las poblaciones de muchas formas de biodiversidad, conectar fragmentos de hábitat aislados entre sí y reducir la extinción local debido a las pérdidas por efectos de la población (Andersson et al., 2017; Keilsohn et al., 2018; Noordijk et al., 2009). Adicionalmente, se están considerando como sitios especiales para la conservación de la biodiversidad en entornos altamente impactados por la actividad humana (Hopwood, 2008; Skórka et al., 2015).

En Francia por ejemplo, el concepto de infraestructuras verdes condujo al desarrollo de un proyecto de política pública llamado "Trame Verte et Bleue" en 2007, mediante el cual han identificado redes ecológicas. Actualmente están desarrollando planes de acción, para preservar y restaurar sitios que promuevan la continuidad entre hábitats. El área total de los bordes de las carreteras francesas se estima en 4.500 km<sup>2</sup>, un área superior al área total de 3.450 km<sup>2</sup> de los siete parques nacionales terrestres, por lo que estos bordes podrían contribuir sustancialmente al desarrollo del mencionado proyecto (Villemey et al., 2018).

A pesar de lo anterior, este es un tema que actualmente es controvertido y que necesita ser estudiado con más profundidad. Villemey et al., (2018) realizaron una revisión y un meta análisis, donde evaluaron si los bordes de infraestructuras lineales de transporte podían proporcionar hábitats para insectos, ser utilizados como corredores para su desplazamiento y si el manejo que se les daba contribuía al mantenimiento de la biodiversidad de estos. Este trabajo les permitió identificar, que había una gran heterogeneidad entre los estudios, tipos de infraestructura, manejo dado en los bordes, escalas, propiedades físicas del terreno, tipo de vegetación, uso histórico, especies analizadas, etc. También, les permitió deducir que cada especie o grupo taxonómico tiene sus propios requisitos, por lo que una práctica de manejo que favorezca a las especies con ciertos rasgos, podría ser perjudicial para otras especies. Asimismo, explicaron que la poca disponibilidad de experimentos a gran escala y la falta de replicación, impiden una mayor robustez en las conclusiones, que estas dependen del contexto y que son necesarios más estudios para evaluar con mayor precisión si los insectos se benefician de los bordes como corredores.

#### 1.6 Métodos utilizados habitualmente para evaluar los impactos generados por las carreteras

Los métodos que se han utilizado para evaluar el impacto del atropellamiento y el efecto barrera en los insectos voladores, se han basado en: 1) contabilizar y calcular la abundancia, riqueza y/o biomasa de los insectos atropellados a partir de los individuos muertos encontrados en las carreteras y sus bordes, mientras se realizan recorridos a pie por transectos preestablecidos (Baxter-Gilbert et al., 2015; Keilsohn et al., 2018; Rao & Girish, 2007; Skórka et al., 2013, 2015); 2) marcar y recapturar individuos para determinar los movimientos de los insectos (Bhattacharya et al., 2003; Keret et al., 2015) y 3) usar trampas de distintos tipos como Malaise, bandejas/cajas de color amarillo, redes, etc. para comparar la composición de insectos entre carreteras con diferentes características (Andersson et al., 2017; Hallmann et al., 2017; Hopwood, 2008; Ste-marie et al., 2018).

Como se mencionó en un principio, de manera anecdótica se ha reportado el empobrecimiento de las poblaciones de insectos en Europa y varias zonas del mundo, porque actualmente se observa un menor número de insectos atropellados en los parabrisas de los coches. A esto se le ha denominado recientemente como “efecto parabrisas” (Vogel, 2017; Marshall et al., 2020; Wagner, 2020). Dicho fenómeno ha cautivado la atención de los investigadores y en los últimos

tres años aproximadamente, algunos lo están teniendo en cuenta como un método de muestreo potente, que podría servir para este tipo de estimaciones, y para calcular de manera más exacta el efecto de las carreteras sobre las comunidades y poblaciones de insectos (Hallmann et al., 2017; Marshall et al., 2020; Møller, 2019).

Møller (2019) por ejemplo, cuantificó la abundancia de los insectos durante un periodo de tiempo de 1997 a 2017, mediante varias técnicas de muestreo, utilizando observaciones directas, captura de individuos a partir de redes de barrido, trampas adhesivas de color amarillo, y el conteo del número de insectos atropellados en el parabrisas de un coche, mientras realizaba recorridos, a una velocidad de 60 km/h, en dos tramos de vía, uno de 1.2 km en Kraghede y otro de 25 km en Pandrup, en Dinamarca. En sus investigaciones, por medio de este último método, encontró que hubo una reducción en más del 80% de la abundancia de insectos en el transcurso de los años estudiados. Dichas cifras fueron consistentes con las otras técnicas de muestreo utilizadas y esto le permitió validar esta técnica, como una manera de realizar estimaciones sólidas de la abundancia de insectos.

Por su parte, Martin et al., (2018) y Marshall et al., (2020) realizaron algunas modificaciones de esta técnica de conteo de insectos. Con el fin de evaluar si había diferencias en la abundancia de insectos voladores atropellados en carreteras de alto y bajo volumen de tráfico, en el sureste de Ontario, Canadá, Martin et al., (2018), elaboraron paneles de material adhesivo, los cuales eran hechos a medida e iban unidos a la parrilla delantera y el portaequipaje de un vehículo todoterreno. Éste funcionaba como una trampa, donde quedaban adheridos los insectos que eran interceptados por el coche. El estudio les permitió identificar que había significativamente menos insectos en las carreteras de alto volumen de tráfico que en las carreteras en las que el volumen de tráfico era bajo, tal como lo habían predicho inicialmente.

Marshall et al., (2020) realizaron una campaña de muestreo en el condado de Kent en el Sureste de Inglaterra, dirigida por “The Royal Society for the Protection of Birds” (RSPB). En dicha campaña utilizaron una metodología en la cual usaban una cuadrícula denominada '*splatometer*', que se instalaba en la matrícula de un automóvil, antes de comenzar un recorrido por las vías. Después de terminar un viaje, esta cuadrícula facilitaba el conteo de los insectos y otros invertebrados que quedan aplastados en esta parte del vehículo. En 2004 se realizó un

muestreo y luego fue repetido en el 2019. Entre estas dos fechas hubo un declive significativo en la densidad de insectos atropellados, del orden de aproximadamente un 50 %. Sin embargo, debido a que solo se compararon dos campañas de muestreo, no pudo ser considerado como una tendencia representativa y, por lo tanto, recomendaron más campañas de muestreo a largo plazo.

Por otro lado, la mayoría de los estudios que han investigado los impactos de las carreteras o las medidas de mitigación se han centrado en ciertos grupos taxonómicos, como los lepidópteros (Keret et al., 2015; Skórka, 2016; Skórka et al., 2013, 2015; Zielin et al., 2016) e himenópteros (Andersson et al., 2017; Bhattacharya et al., 2003; Hopwood, 2008; Ste-marie et al., 2018). Lo anterior puede deberse a que estos son considerados grupos carismáticos, a que son más abundantes en algunos sitios, su taxonomía está más estudiada o porque son animales más llamativos y fáciles de identificar, incluso después de ser atropellados (Keilsohn et al., 2018; Muñoz et al., 2015).

### 1.7 Planteamiento del problema

Como se ha mencionado en el apartado previo, los métodos de muestreo para evaluar el efecto de las carreteras sobre las comunidades de insectos hasta ahora, se han basado principalmente en dos de las técnicas descritas anteriormente: la recolección de muestras mediante el uso de trampas fijas y la recolección de insectos muertos en las carreteras y en las cunetas de las mismas. Ambas técnicas de muestreo pueden añadir incertidumbre en el momento de estimar la magnitud de la afección sobre la comunidad de este tipo de animales.

La primera técnica tiene un alcance espacial puntual, por lo que evaluar el efecto de un tramo relativamente largo y significativo de carretera requeriría de un esfuerzo de muestreo elevado, al ser necesario la instalación de numerosas trampas en ambos lados de la carretera.

La segunda, casi siempre está sesgada a algún taxón en particular, como Lepidópteros, Coleópteros, Himenópteros, etc. Muchas de sus especies son de gran tamaño y de consistencia más dura, lo que les permite permanecer por más tiempo en las cunetas y bordes de carretera. Así mismo, la identificación de los insectos encontrados es difícil, ya que los individuos quedan

fragmentados o muy deteriorados al ser atropellados. Del mismo modo, las cifras del impacto pueden verse afectadas, ya que muchos insectos quedan adheridos al vehículo, rebotan lejos de la carretera y del borde de la vía y los que quedan en la carretera, pueden ser consumidas por otro tipo de fauna como aves, hormigas o incluso la lluvia puede arrastrarlos por las cunetas dejando sin evidencia el suceso (Rao & Girish, 2007; Soluk et al., 2011; Muñoz et al., 2015; Baxter-Gilbert et al., 2015; Keilsohn et al., 2018).

### 1.8 Justificación del estudio

El presente estudio propone una nueva técnica de muestreo replicable, directa y activa para evaluar el impacto de las carreteras sobre las poblaciones y comunidades de insectos, que supera los inconvenientes que se generan cuando se utilizan los métodos habituales.

Se considera una técnica directa porque el muestreo de los insectos se hace desde dentro de la propia carretera y no desde los bordes, asegurando que la muestra que se recoge es de los insectos que están atravesando la vía. Y activa porque no se debe esperar a que la muestra quede atrapada en una trampa, sino que emula el efecto de un vehículo transitando por la carretera.

Adicionalmente, esta nueva técnica permite que los insectos capturados queden en buen estado para su preservación, posterior identificación en la fase de laboratorio y realización de análisis de diversidad más detallados, que incluyan datos no solo del número de atropellos, sino también información de la riqueza, abundancia y composición de los insectos afectados.

Por otro lado, se aprovechó la manera como están conformadas algunas carreteras en España, donde las autovías están acompañadas de manera paralela por viales rurales y por vías de servicio. Esta estructura vial (autovía + viales rurales paralelos a ambos lados, a una distancia media de 300 m de la autovía), se considera como un modelo o una unidad de muestreo adecuada, ya que los viales rurales, al carecer de un tráfico continuado, ser más estrechos, sin bordes de transición con el entorno y encontrarse a una cierta distancia de la autovía, servirían como un tratamiento control con respecto a las autovías. Así, la comparación de la riqueza, abundancia y composición de especies entre estos dos tipos de vía, puede contribuir a estimar

el efecto del atropellamiento de los insectos en las grandes carreteras y analizar los patrones de distribución de los insectos en los tramos estudiados.

Desde el ámbito de la restauración de ecosistemas, el presente estudio corresponde a una de las primeras fases que se deben tener en cuenta en este tipo de actividades, como es la identificación de los procesos ecológicos claves que se encuentran bloqueados por la perturbación del ecosistema. Ésta se considera como una fase previa al planteamiento y al diseño de las actuaciones de restauración que, en este caso particular, estarían enfocados a la restauración de las carreteras.

## 1.9 Objetivos

### Objetivo General

- Evaluar el impacto generado por las carreteras, sobre las comunidades de insectos en tres tramos de autovía en España, ubicados en León, Toledo y Valencia, mediante una nueva técnica de muestreo.

### Objetivos específicos

- Presentar el diseño y poner a prueba un colector de insectos como nueva técnica de muestreo.
- Evaluar el efecto del atropellamiento en las autovías analizadas.
- Estimar si las autovías evaluadas actúan como barrera o filtro al movimiento de los insectos.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

### 2.1 Diseño y pruebas de funcionamiento del captador de insectos

A continuación, se presentan los pasos de cómo se diseñó, se construyó y se puso a prueba el colector de insectos, un artefacto innovador ideado para muestrear las comunidades de insectos directamente desde las carreteras:

- 1) **Identificación y planteamiento del problema:** Como se describió en la introducción, se diseñó un sistema de toma de muestras de insectos, con el que se pretende emular la acción de un vehículo transitando por una carretera y su efecto sobre los insectos que la cruzan.

- 2) **Desarrollo de la parte creativa:** Para el diseño del captador se partió de unas condiciones o ideas iniciales. Debía ser un artefacto que pudiera moverse junto con el vehículo que está usando la carretera, que permitiera la entrada de insectos mientras el vehículo circula a determinada velocidad, que impidiera la salida de los insectos una vez entran al captador, que los insectos capturados quedaran en buen estado para su posterior identificación y que se lograra acceder fácilmente a los ejemplares capturados para su posterior fijación.
- 3) **Construcción del colector:** Después de realizar el diseño del colector, su construcción se contrató a la empresa *Metacrilato.es*, una empresa especializada en metacrilato, material seleccionado para la construcción del colector. Este material fue seleccionado debido a su fácil limpieza y ligereza.
- 4) **Ensayo y optimización del colector:** Una vez construido el colector, se fijó al portaequipaje de un vehículo todoterreno y se ensayó su funcionamiento.

Los ensayos se realizaron en diferentes tipos de carreteras, como autovías, carreteras locales y viales rurales y vías de servicio sin asfaltar. Se seleccionaron seis tramos de carretera para realizar los ensayos:

- A-3 sentido Madrid (autovía)
- A-40 sentido Toledo (autovía)
- M-320 (carretera rural desde A-3 a Valdaracete)
- Paralelo norte A-40 (vía de servicio sin asfaltar)
- Paralelo norte A-40 (vial rural sin asfaltar)
- Paralelo sur A-40 (vial rural sin asfaltar)

Para cada uno de los tramos se realizó un recorrido, a excepción del paralelo norte A-40 (vía de servicio sin asfaltar) que se visitó en dos ocasiones, realizándose así, en total, siete ensayos. Cada tramo fue seleccionado previamente mediante la búsqueda con las aplicaciones Google MAPS y Google Earth, procurando que la longitud de los tramos fuera de aproximadamente 10 km.

Con el fin de registrar el funcionamiento del colector mientras se realizaba el recorrido en coche, se grabaron videos mediante una cámara web de uso común, instalada en el portaequipajes y conectada a un ordenador portátil. Simultáneamente a la grabación, se

utilizaron las aplicaciones OruxMaps v.7.4.14 Donate y GPS Status 9.0.183 – PRO, para marcar los recorridos y medir variables como: duración del recorrido (min), velocidad media (km/h), velocidad máxima (km/h), coordenadas UTM de las estaciones de inicio y finalización, longitud del tramo recorrido (km), ganancia en altitud (m), pérdida de altitud (m), alturas máxima y mínima (m). Los insectos que se capturaron durante el ensayo del captador fueron contabilizados y fijados en alcohol al 70% en un recipiente de plástico etiquetado convenientemente, con el fin de tener un dato de referencia para los muestreos posteriores.

## 2.2 Trabajo de campo

### 2.2.1 Zonas y unidades de muestreo

Se seleccionaron tres sitios de muestreo, uno en la autovía A-40, entre Tarancón y Santa Cruz de la Zarza (comunidad autónoma de Castilla-La Mancha), vía que une Toledo con Cuenca; la autovía A-231, entre Palanquinos y Valdearcos (Comunidad de Castilla y León), vía que une León con Burgos, y la autovía A-7, entre Torrent y Loriguilla (comunidad Valenciana) vía que recorre el Levante (Figura 1).

En cada sitio se definió un tramo de autovía y dos de viales rurales paralelos, uno a cada lado de la autovía, todos con una longitud de 10 km aproximadamente. Se trató que los viales rurales paralelos estuvieran a una distancia media de 300 m de la autovía. La selección de cada unidad de muestreo, también se realizó mediante la búsqueda en aplicaciones como Google MAPS y Google Earth, teniendo en cuenta los siguientes criterios: 1) las vías debían interceptar lo menos posible con otro tipo de infraestructuras como autovías, vías de ferrocarril, etc. 2) la matriz circundante debía estar conformada por cultivos en mosaico y 3) la autovía tenía que presentar un enlace de entrada y salida, en la cual se pudiera estacionar el coche sin ocasionar inconvenientes al tráfico y recolectar de manera segura las muestras de los insectos capturados (Figura 2).

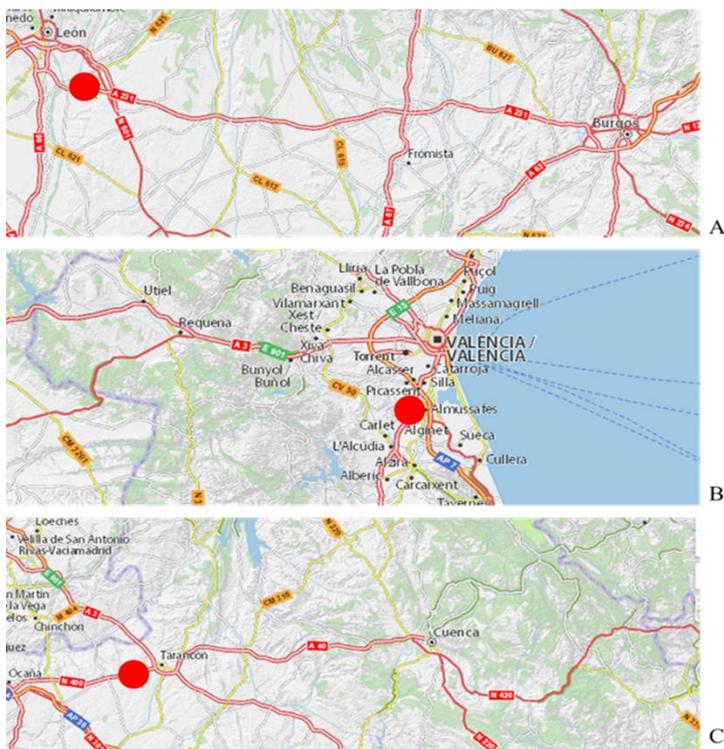


Figura 1. Sitios y autovías utilizadas para el muestreo en campo. Mediante puntos rojos se señalan las autovías visitadas A. Autovía A-231, vía que une León con Burgos; B. Autovía A-7, vía que recorre el Levante; C. Autovía A-40, vía que une Toledo con Cuenca (Mapas tomados de Barbero, 2019 y Michelin, 2020).

Con el fin de verificar que se cumplieran los requisitos mencionados anteriormente y comprobar el buen estado para transitar por las carreteras, se procedió a guardar las rutas en Google MAPS y a visitar los sitios, realizando los recorridos por éstas, simulando las condiciones que se tendrían en cuenta en el momento de llevar a cabo los muestreos definitivos (Figura 2).

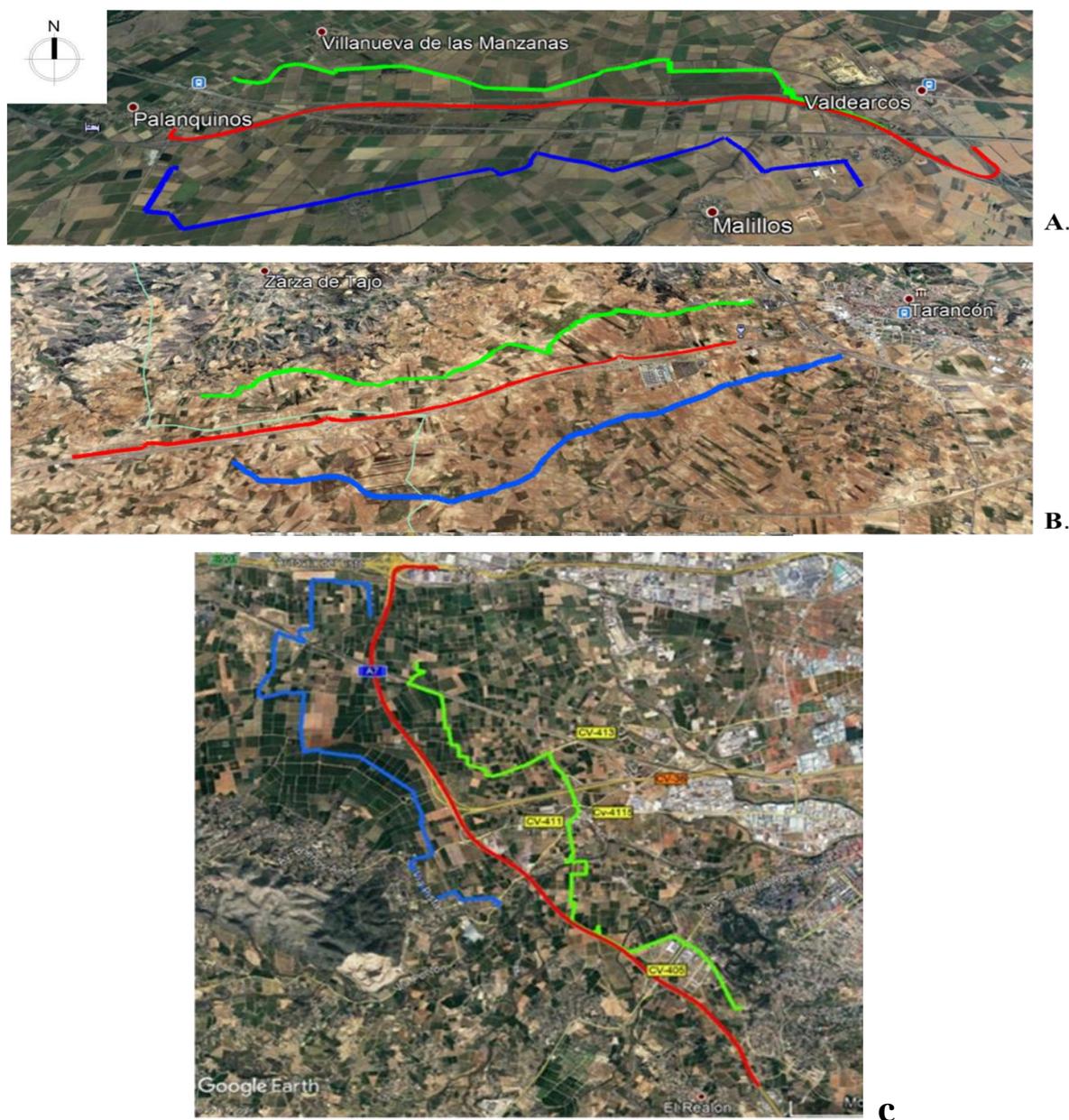


Figura 2. Tramos de autovía y viales rurales paralelos en cada uno de los sitios de estudio, A. autovía A-231 (León), B. autovía A-40 (Toledo) y C. autovía A-7 (Valencia). Rutas creadas y guardadas en Google MAPS 2019. En color verde, vial rural norte; en color rojo, autovía; en color azul, vial rural sur.

Según el mapa de ocupación del suelo en España, correspondiente al proyecto europeo Corine Land Cover versión 2018 (escala 1:100.000) y teniendo en cuenta un buffer de un kilómetro, la unidad de muestro de la autovía A-231 (León), está representado principalmente por tierras de labor de regadío (96,43 %) y secano (3,5%), la autovía A-40 (Toledo) por tierras de labor en secano (42%), seguido de mosaico de cultivos (20,37%) y viñedos (19,33%) y la autovía A-7 (Valencia) por frutales (78,72%) y zonas industriales o comerciales (9,95%). En el Anexo 1 y

Anexo 2 se puede apreciar la distribución de las coberturas mencionadas anteriormente y las demás que componen el paisaje en cada territorio.

Con respecto al clima, se ha tomado como referencia los datos climáticos reportados por [Climate-Data.org/AM OP/OpenStreetMap](https://climate-data.org/AM-OP/OpenStreetMap) (2020) de las estaciones más cercanas a los sitios de estudio. Para el caso de autovía A-231 (León) se tuvo en cuenta la estación de Santas Martas, para la autovía A-40 (Toledo) la estación de Tarancón y para la autovía A-7 (Valencia) la estación de Torrent. En la Tabla 1 se muestran los datos climáticos para cada localidad. En el Anexo 3 se muestran las gráficas de precipitación y temperatura anuales de cada sitio.

Tabla 1. Datos climáticos de las estaciones meteorológicas más próximas a los sitios muestreados.

Parámetros climáticos	Santas Martas (León)	Tarancón (Cuenca)	Torrent (Valencia)
<b>Clima general</b>	Suave, generalmente cálido y templado	Cálido y templado	Estepa local
<b>Promedio temperatura</b>	12,2 °C	12,8 °C	17,3 °C
<b>Mes más caluroso</b>	Julio 21,7 °C	Julio 23,3 °C	Agosto 25,1 °C
<b>Mes más frío</b>	Enero 4 °C	Enero 4,2 °C	Enero 10,6 °C
<b>Promedio precipitaciones</b>	409 mm	457 mm	440 mm
<b>Mes más seco</b>	Agosto 11 mm	Julio 12 mm	Julio 10 mm
<b>Mes más húmedo</b>	Noviembre 49 mm	Mayo 51 mm	Octubre 82 mm

### 2.2.2 Muestreo de la comunidad de insectos

Una vez establecidas las rutas para el muestreo, se realizaron tres salidas de campo en el mes de junio de 2019: El 19 se visitó la autovía A-7 (Valencia), el 20 la autovía A-40 (Toledo), y el 21 la autovía A-231 (León).

En cada salida de campo se dispuso de tres vehículos todoterreno de igual altura y modelo similar, uno para cada tramo muestreado (autovía, vial rural norte y vial rural sur). Cada uno de los vehículos tenía un colector de insectos instalado en el portaequipaje (Figura 3). Con el fin de minimizar el efecto de las variables climáticas sobre la recolección de los insectos, los muestreos se hicieron en días consecutivos entre los sitios. Además, en cada sitio, los recorridos se realizaron simultáneamente en las tres vías, comenzando a las 11:00h y finalizando entre las

13:00 y las 14:00 h. En cada uno de los sitios, los muestreos se repitieron tres veces, con una diferencia entre cada repetición de aproximadamente 30 a 40 minutos. Es decir, se realizaron tres medidas por vía de riqueza y abundancia de especies.

Los recorridos en la autovía se realizaron a una velocidad de 90 km/h y en los viales rurales de 40 km/h aproximadamente, velocidades permitidas y que aseguraban que la puerta del colector se mantuviera abierta mientras el coche estaba en movimiento. Cada vez que se finalizaba una repetición, a los insectos que quedaban dentro del colector se les con rociaba alcohol al 70% para inmovilizarlos. Después, con la ayuda de un cepillo de cerdas suaves, eran barridos y puestos en recipientes con alcohol al 70% debidamente rotulados, quedando así fijados para su posterior identificación en el laboratorio.



Figura 3. Instalación del colector de insectos en cada uno de los vehículos utilizados para los muestreos.

### 2.3 Identificación taxonómica de los insectos recolectados

La identificación de los insectos recolectados se realizó en el laboratorio de la Colección Entomológica de la Universidad Autónoma de Madrid, con la ayuda de lupas estereoscópicas y literatura como la Guía de campo de las abejas de España (Molina y Bartomeus, 2019), The European Families of the Diptera (Oosterbroek, 2006), Guía de Insectos de Europa (Chinery, 1997), Guía de los Coleópteros de España y de Europa (Zahradnik, 1990) y los diferentes números de la revista Ibero Diversidad Entomológica, de la Sociedad Entomológica Aragonesa (SEA).

Todos los insectos capturados se identificaron a nivel taxonómico de orden. Debido a la dificultad en identificar a nivel de especie, cada uno de los insectos recolectados fueron clasificados como morfoespecie. No obstante, esta clasificación se hizo en cada unidad de muestreo independientemente, de modo que no se equipararon las morfoespecies en los tres sitios. Esta discordancia en la identificación de las morfoespecies entre los sitios se debió a que los ejemplares de los tramos de Valencia se identificaron por un investigador, mientras que los de Toledo y León fueron identificados por otro diferente.

## 2.4 Estimación del impacto de las carreteras sobre la comunidad de insectos

Las muestras que se recogen con el colector de insectos tienen una doble interpretación: son una muestra de la comunidad de insectos que se encuentra dentro o fuera de la autovía, según dónde se muestree (en la autovía o en los viales rurales) y son una muestra de los insectos que atropella un vehículo moviéndose por el tramo de carretera que se muestrea (con sus peculiares características de volumen de tráfico, velocidad, etc.).

Con el fin de estimar el impacto de las carreteras sobre los insectos, se tuvo en cuenta el número de morfoespecies (riqueza), el número total de individuos (abundancia) y la composición de las comunidades en cada uno de los sitios y los tipos de vía en cada sitio.

## 2.5 Análisis estadísticos

Los análisis estadísticos se realizaron mediante el programa R versión 3.6.3 (2020). Para cada una de las pruebas ejecutadas se especifica el paquete utilizado.

### 2.5.1 Riqueza y abundancia de insectos

Con el fin de determinar si existen diferencias significativas en la riqueza y abundancia de insectos capturados entre los sitios y tipos de vía en cada uno de los sitios, se realizó un ANOVA anidado, teniendo en cuenta los resultados encontrados en los cuatro órdenes más abundantes. Esta prueba se realizó después de comprobar que los datos cumplían con los supuestos de distribución normal (Kolmogorov- Smirnov, Shapiro- Wilk  $p > 0,05$ ) y homogeneidad de varianzas (Levene  $P > 0,05$ ). En el caso de la abundancia se aplicó la raíz cuadrada (sqr) para

la transformación de los datos, debido a que estos no cumplieron con dichos supuestos. Adicionalmente, se hizo una prueba de contraste post-hoc de Tukey, para observar entre qué pares de tipos de vía había diferencias significativas en cada uno de los sitios.

### 2.5.2 Composición de la comunidad de insectos

Con el propósito de estimar si había diferencias en la composición de los órdenes de insectos entre sitios y entre los tipos de vía en cada uno de los sitios, se realizó un Análisis Multivariante de Permutación de la Varianza (PERMANOVA), utilizando el índice de disimilitud de Bray Curtis, generando 999 permutaciones.

Para representar gráficamente los resultados del PERMANOVA se usó un escalamiento dimensional no métrico (NMDS) ( $K=2$ ). Las comparaciones tanto para el PERMANOVA y el NMDS se hicieron teniendo en cuenta los datos de abundancia de los cuatro órdenes con mayor registro. Para la ejecución de dichas pruebas se utilizó el paquete Vegan (Oksanen et al., 2019).

Por otro lado, la composición de morfoespecies entre los sitios y entre los tipos de vías se estudió mediante el cálculo de la diversidad beta, de acuerdo a los métodos propuestos por Baselga y Orme (2012) utilizando datos de presencia y ausencia de especies (beta.sor) y por Baselga (2013) con datos de abundancia de especies (beta.bray).

El primer método, divide la diversidad  $\beta$  total (beta.sor) en dos componentes: 1) el anidamiento “*Nestedness*” (beta.sne), que corresponde a la disimilitud resultante de la pérdida o ganancia de especies de un sitio a otro, es decir, cuando las comunidades de sitios con un menor número de especies, son subconjuntos de comunidades en sitios más ricos; y 2) el recambio de especies “*Turnover*” (beta.sim), que hace referencia a la disimilitud resultante del reemplazo de especies de un sitio por otras especies en otro sitio, como consecuencia de las diferencias ambientales o las limitaciones espaciales e históricas.

El segundo método, divide la diversidad  $\beta$  total (beta.bray) en dos componentes análogos a los mencionados anteriormente: 1) la variación por gradientes de abundancia “*Abundance gradients*” (beta.bray.gra), que ocurre cuando las especies pierden individuos de un sitio a otro,

y 2) la variación equilibrada en la abundancia de especies “*Balanced variation in species abundances*” (beta.bray.bal), cuando los individuos de algunas especies en un sitio se sustituyen por el mismo número de individuos de diferentes especies de otro sitio.

En la Figura 4 y la Figura 5, se presenta un ejemplo hipotético para cada uno de los casos explicados anteriormente, que permite entender la manera como suceden los fenómenos mencionados.



Figura 4. Ejemplos hipotéticos que involucran tres islas (A – C) y tres sitios de muestreo en cada una. Las biotas de los sitios A1 – A3 están completamente anidadas, porque las biotas más pobres son subconjuntos de biotas más ricas. Los sitios B1 – B3 tienen la misma riqueza (seis especies cada uno) con tres especies comunes y tres especies exclusivas de cada sitio, es decir, muestran un patrón de recambio espacial. Los sitios C1 – C3 presentan ambos patrones, porque C2 y C3 son subconjuntos de C1 (anidamiento), pero algunas especies se reemplazan entre C2 y C3, que no son subconjuntos entre sí. Modificado de Baselga (2010).

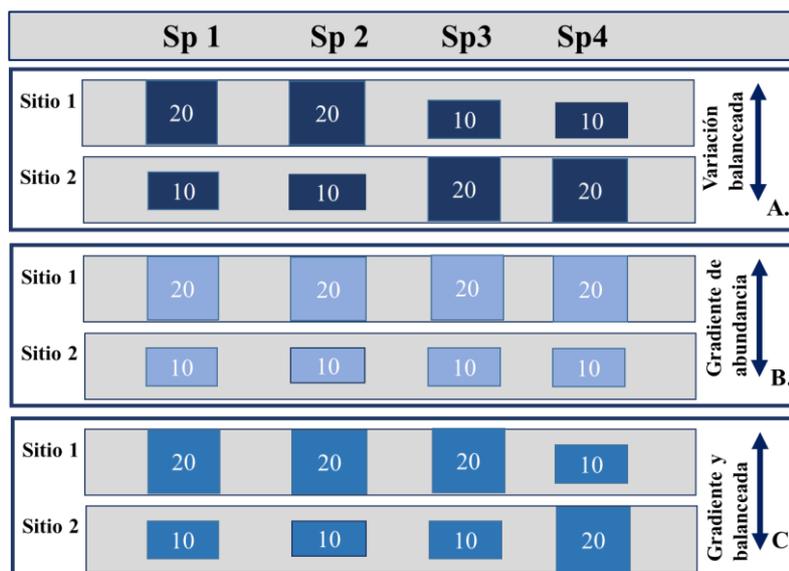


Figura 5. Ejemplos hipotéticos que involucran cuatro especies y dos sitios en cada situación (A-C). En la situación (A) la disminución de la abundancia en las especies 1 y 2 del sitio A1 a A2 está perfectamente equilibrada por el aumento de la abundancia de las especies 3 y 4, mientras que en la situación (B) todas las especies disminuyen su abundancia de B1 a B2. En la situación (C) ambos patrones ocurren, ya que la disminución en la abundancia de las especies 1-3 de C1 a C2 está parcialmente equilibrada por el aumento de la abundancia de la especie 4. Modificado de Baselga (2013).

Para el cálculo de los componentes mencionados anteriormente, en el presente estudio se compararon las comunidades de insectos entre pares de tramos de cada localidad, es decir, se comparó la comunidad de la autovía con la del vial rural norte, la comunidad de la autovía con la del vial rural sur y la comunidad del vial rural norte con la del vial rural sur, en León, Toledo y Valencia. Para ello, se utilizó el paquete estadístico Betapart y la función beta.pair (Baselga et al., 2018).

Con el fin de observar si alguno de los componentes de la diversidad beta dominaba, se realizó un ANOVA de una vía, tanto para los datos de presencia/ausencia (beta.sor) como para los de abundancia (beta.bray), comparando los valores de recambio (beta.sim) con respecto a los del anidamiento de especies (beta.sne) y los valores de la variación por gradientes de abundancia (beta.bray.gra) con respecto a los de la variación equilibrada en la abundancia de especies (beta.bray.bal).

Debido a que los resultados de la diversidad beta entre pares de tramos pudo estar influenciada por el aporte de especies o de individuos de la vía con la cual no se hizo la comparación, se analizó la composición de especies, mediante los mismos métodos de diversidad beta

explicados anteriormente, comparando los valores de la autovía con los de los viales rurales sur y norte unificados, considerando estos últimos como el grupo de especies total.

En este caso, también se realizó un ANOVA de una vía, comparando los valores de recambio (beta.sim) con respecto al anidamiento de especies (beta.sne) y los valores de la variación por gradientes de abundancia (beta.bray.gra) con respecto a los de la variación equilibrada en la abundancia de especies (beta.bray.bal).

Los ANOVAS mencionados arriba, se realizaron después de comprobar que los datos presentaron distribución normal (Kolmogorov- Smirnov, Shapiro- Wilk  $p > 0,05$ ) y homogeneidad de varianzas (Levene  $P > 0,05$ ).

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 Diseño y pruebas de funcionamiento del captador de insectos

El diseño del colector de insectos consiste en un cubo de metacrilato transparente, cuyas dimensiones interiores son 500 mm x 500 mm x 500 mm. La pared superior y las laterales poseen un grosor de 8 mm. Los laterales poseen dos asas para facilitar el transporte del colector. La base tiene 10 mm de grosor y, a cada lado, posee dos enganches y dos herrajes para asegurar las correas de amarre. La cara frontal es abatible, de 3 mm de espesor, y cuelga de dos bisagras, con el fin de que se abra como consecuencia de la fuerza ejercida por la presión del aire cuando el vehículo está en movimiento. La parte trasera tiene un marco fijo perimetral con agujeros para atornillar y un marco perimetral de 6 mm de grosor, tipo marco en negro, desmontable, entre los cuales se instala una mosquitera (Figura 6).

La elaboración del colector corrió por cuenta de la empresa Metacrilato.es. En la Figura 7, se puede apreciar el resultado final. Este cumplió con las especificaciones dadas al momento del diseño.

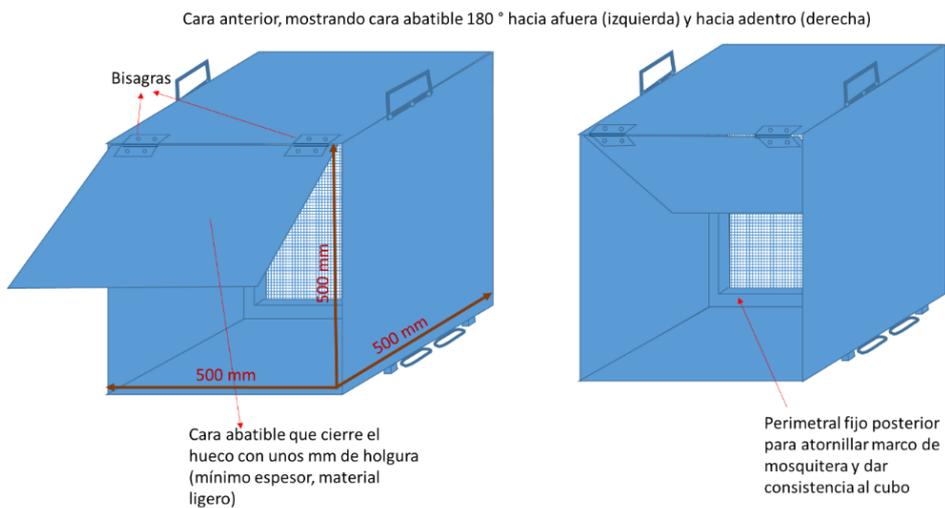


Figura 6. Diseño del colector de insectos.

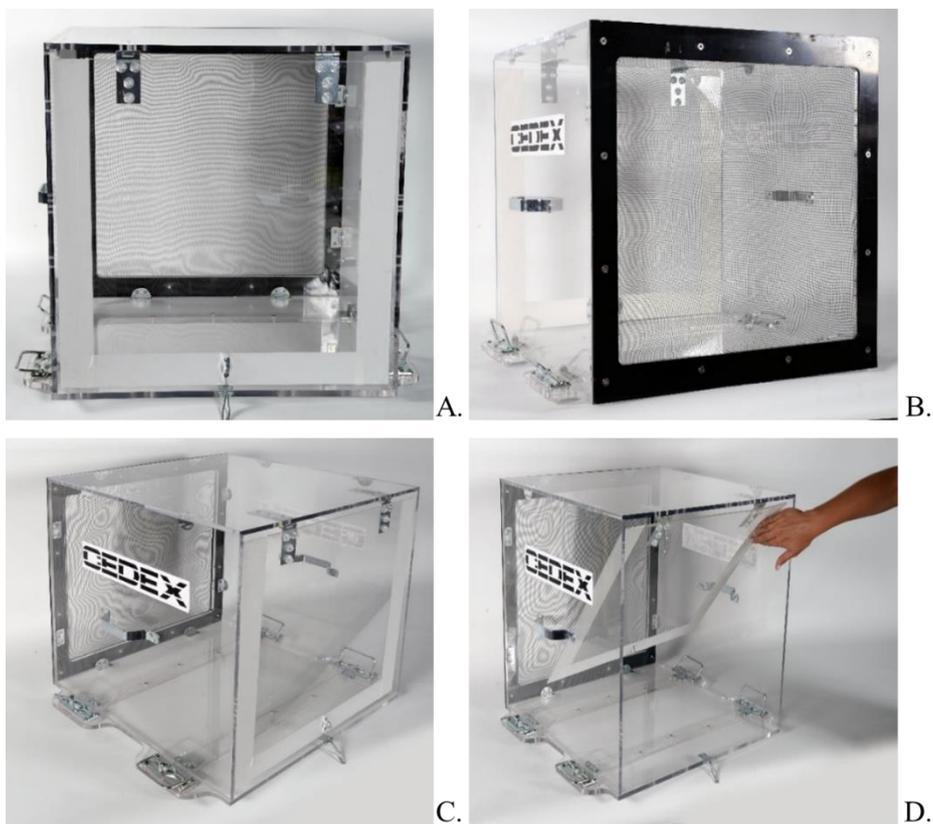


Figura 7. Fase de construcción del colector de insectos. A. Detalle de la cara frontal, B. Detalle de la cara trasera; C. Detalle de la cara lateral y D. Detalle de la apertura cara frontal abatible. Fotografías de Javier Plasencia, Madrid 2019.

En la Figura 8, se puede apreciar la forma en que se instaló el colector en el portaequipaje del coche y la cámara web para la toma de videos y registro del funcionamiento del colector.



A.



B.

Figura 8 Instalación del colector y cámara web en el portaequipajes del coche para los ensayos de funcionamiento

A partir de la grabación con la cámara web y del registro de la velocidad del coche, se logró identificar que la cara abatible del colector se abre por completo ( $90^\circ$ ) a partir de los 30 km/h. Cuando la velocidad del coche es menor, la puerta abatible se comporta de manera inestable, dejando poco espacio para la entrada de insectos y quedando completamente cerrada cuando el vehículo se detiene.

Se comprobó que la puerta abatible permanece abierta en la totalidad del recorrido por las vías seleccionadas, permitiendo el ingreso y captura de insectos, cuando se mantienen las velocidades permitidas en cada una de ellas, las cuales son 40 km/h en viales rurales y 90 – 120 km/h en las autovías.

En el siguiente enlace se puede visualizar un video tomado con la cámara web, durante los ensayos de funcionamiento del colector de insectos:  
<https://twitter.com/CarreterasY/status/1107579119506804736>.

En los siete recorridos realizados, se colectaron un total 281 insectos, siendo la autovía A3-sentido Madrid, el sitio donde se registró el mayor número, con 77 individuos, seguido del vial rural sin asfaltar M 320 (carretera rural desde A-3 a Valdaracete), con 55 individuos (Anexo 4)

Así mismo, se logró identificar que a una velocidad aproximada de 90 km/h los insectos recolectados quedan en buen estado para su posterior identificación, no obstante, si se transita a una velocidad superior los insectos de cuerpo más blando y más pequeños quedan incrustados en la mosquitera, dificultando su extracción.

La figura 9 ilustra la forma en que los insectos quedan capturados en el colector y permite demostrar el correcto funcionamiento de este artefacto.



Figura 9. Prueba de la captura de insectos, al finalizar el recorrido por la M-320 (carretera rural desde A-3 a Valdaracete).

### 3.2. Muestreo de la comunidad de insectos

#### 3.2.1 Riqueza y abundancia de insectos

Se capturaron entre los sitios un total 1.427 individuos, pertenecientes a nueve órdenes, siendo Hemiptera el orden más abundante con 875 (61,31%) individuos, seguido de Diptera con 261 (18,29 %), Hymenoptera con 221 (15,48%) y Coleóptera con 43 (3,01%). El número de registros de estos cuatro órdenes correspondió al 98,09% del total de individuos capturados. El porcentaje restante (2%) estuvo representado por los órdenes Ephemeroptera, Thysanoptera, Lepidoptera, Isoptera y Psocoptera (Figura 10).

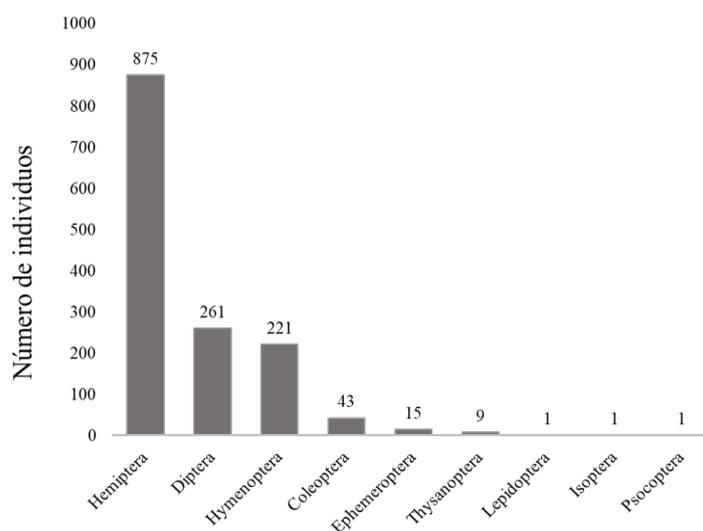


Figura 10. Número de individuos capturados/atropellados para cada uno de los órdenes reportados

Teniendo en cuenta los nueve órdenes reportados en el estudio, el sitio que presentó mayor número de individuos fue León, seguido de Valencia y Toledo con 1.098, 190 y 139 individuos, respectivamente. Tanto en León como en Toledo, los viales rurales fueron los que presentaron mayor número de individuos, mientras que en Valencia fue la autovía la que presentó el mayor valor registrado. Con respecto al número de morfoespecies, León fue el que presentó un valor mayor con 104, seguido de Toledo con 73 y Valencia con 36 (Tabla 2).

Cuando se tuvieron en cuenta los cuatro órdenes más abundantes, este mismo patrón se repitió, León presentó el mayor registro con 1.075, Valencia 190 y Toledo 136 individuos capturados, para este caso, los viales rurales también fueron los que presentaron mayor número de individuos.

En relación con las morfoespecies, en León se identificaron 98, en Toledo 70 y en Valencia 36 (Tabla 2). La mayoría de las morfoespecies estuvieron representadas por un solo individuo y solo unas pocas contribuyeron con un porcentaje elevado al número total de individuos recolectados para cada localidad. Por ejemplo, en León se reportaron 46 morfoespecies con un solo individuo y tres morfoespecies, Aphididae-1, Chironomidae-1 y Formicidae-1, presentaron 625, 91 y 50 individuos, respectivamente, sumando entre ellas 766 y representando el 71% del total de reportados en esta localidad. En Toledo, se reportaron 45 morfoespecies con un solo individuo. En este caso, las morfoespecies Hymenoptera-Halictidae-2, Diptera-2, Hemiptera-1, registraron 15, 8 y 7 individuos, respectivamente, sumando entre ellas 30 y representando el 22% del total de los individuos reportados. Finalmente, en el tercer sitio, se reportaron 22 morfoespecies con un solo individuo. Las morfoespecies *Oxycarenum lavaterae*, Hemiptera-1 y Oxycarenidae-1 presentaron 88, 31 y 17 individuos respectivamente, lo cual correspondió al 77,57 % (133 individuos) del total de los registrados en dicha localidad.

Tabla 2. Número de individuos y morfoespecies teniendo en cuenta los nueve órdenes reportados y los cuatro órdenes más abundantes en cada uno de los sitios y tipos de vía.

Sitio	Tipo de vía	Nº de individuos (9 órdenes)	Nº de morfoespecies (9 órdenes)	Nº de individuos (4 órdenes)	Nº de morfoespecies (4 órdenes)
<b>León</b>	Autovía	219	33	215	31
	Vial sur	480	54	472	51
	Vial Norte	399	72	388	68
	Total	1098	104	1075	98
<b>Toledo</b>	Autovía	31	23	31	23
	Vial sur	41	35	40	35
	Vial Norte	67	35	65	33
	Total	139	73	136	70
<b>Valencia</b>	Autovía	100	11	100	11
	Vial sur	47	17	47	17
	Vial Norte	43	18	43	18
	Total	190	36	190	36

Se encontraron diferencias significativas en la riqueza entre los sitios ( $P < 0,001$ ) y entre los tipos de vía en los sitios ( $p < 0,005$ ). En el análisis del primer factor, las diferencias se dieron entre todos los pares de sitios (Tukey,  $p < 0,05$ ), mientras que, en el análisis de los tipos de vías en los sitios sólo se encontraron diferencias significativas entre la autovía y el vial rural norte en León (Tukey,  $p < 0,05$ ) (Tabla 3, Figura 11. A).

Para el caso de la abundancia se encontraron diferencias significativas entre los sitios ( $p < 0,001$ ), entre León y Toledo (Tukey,  $p < 0,001$ ) y entre León y Valencia (Tukey,  $p < 0,001$ ), pero no entre Toledo y Valencia. Para los tipos de vía en cada uno de los sitios no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las posibles combinaciones ( $p > 0,05$ ) (Tabla 3, Figura 11. B).

Tabla 3. ANOVA anidado para el número de morfoespecies y número de individuos colectados. Teniendo en cuenta los sitios y los tipos de vía anidados en los sitios.  $p > 0,001$ \*\*\*,  $p > 0,005$  \*\*.

Variable respuesta	Variable explicatoria	g.l	Valor de F	Pr (>F)
Número de morfoespecies (Riqueza)	Sitio	2	34,154	7,46e-07 ***
	Tipo de vía/sitio	6	5,136	0,0031 **
Número de individuos (Abundancia)	Sitio	2	53,842	2,53e-08 ***
	Tipo de vía/sitio	6	2,194	0,0918

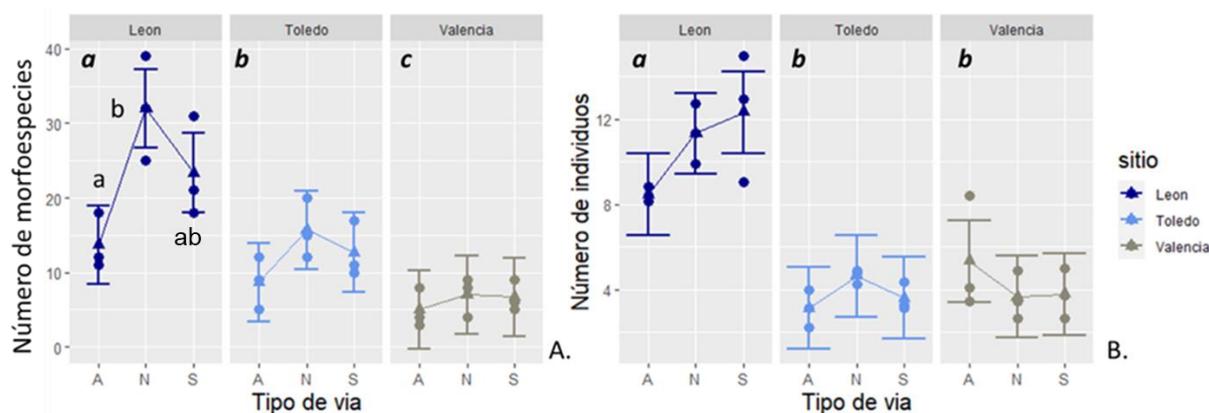


Figura 11. A. Número de morfoespecies y B. número de individuos en la autovía, vial rural norte y vial rural sur en León, Toledo y Valencia. Los diagramas muestran los valores (puntos), el valor medio (triángulo) y los intervalos de confianza del 95% (barras). Las letras minúsculas, en negrita y cursiva, muestran las diferencias significativas entre los sitios y las minúsculas entre los tipos de vía, dentro cada uno de los sitios.

### 3.2.2 Composición de la comunidad de insectos

Con respecto a la composición de la comunidad de insectos en León, Toledo y Valencia, se utilizaron en los análisis los cuatro órdenes más abundantes: Coleoptera, Diptera, Hemiptera e Hymenoptera. Cuando se tuvo en cuenta el número de individuos de cada orden, se encontraron

diferencias significativas entre los sitios (PERMANOVA,  $F= 19.8978$ ,  $df= 2$ ,  $p = 0.001$ ) y entre los tipos de vía en dichas localidades (PERMANOVA,  $F= 1.9159$ ,  $df= 6$ ,  $p = 0.045$ ).

En la Figura 12 se puede observar que los tres sitios están bien diferenciados, pero León y Valencia son más similares entre sí que con respecto a Toledo. León presentó el mayor número de individuos para los cuatro órdenes evaluados, sin embargo, estos valores fueron mucho mayores para el caso de Diptera y Hemiptera. Por su parte, en Valencia el orden que dominó numéricamente fue Hemiptera y, en Toledo, Hymenoptera (Tabla 4).

Tabla 4. Abundancia promedio de insectos para cada uno de los órdenes evaluados en los sitios de estudio. Valor Máximo (Máx), Valor mínimo (Mín) y Desviación estándar (Ds).

<b>Coleoptera</b>				
	Media	Máx	Mín	Ds
<b>León</b>	3,00	3,00	0,00	2,06
<b>Toledo</b>	1,55	4,00	0,00	1,51
<b>Valencia</b>	0,22	1,00	0,00	0,44
<b>Diptera</b>				
	Media	Max	Min	Ds
<b>León</b>	24,22	81,00	4,00	24,47
<b>Toledo</b>	2,56	6,00	0,00	1,88
<b>Valencia</b>	2,22	3,00	0,00	1,09
<b>Hemiptera</b>				
	Media	Max	Min	Ds
<b>León</b>	79,22	201,00	46,00	50,94
<b>Toledo</b>	2,22	6,00	0,00	1,99
<b>Valencia</b>	15,78	66,00	1,00	19,97
<b>Hymenoptera</b>				
	Media	Max	Min	Ds
<b>León</b>	13,00	25,00	6,00	6,87
<b>Toledo</b>	8,78	13,00	3,00	3,35
<b>Valencia</b>	2,78	6,00	0,00	2,05

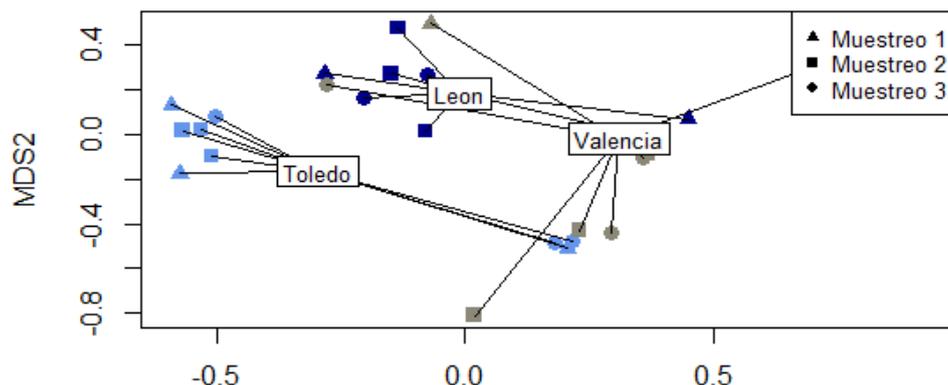


Figura 12. Escalamiento multidimensional no métrico basado en la abundancia de insectos para los cuatro órdenes evaluados (Coleoptera, Diptera, Hemiptera e Hymenoptera) en León, Toledo y Valencia. La composición de órdenes de insectos entre los sitios y tipos de vía en los sitios ( $P < 0,05$ ), Stress = 0,05262333.

Adicionalmente, se encontró que, para los 4 órdenes más abundantes en los tres sitios estudiados, los tres tipos de vías compartían morfoespecies. En León se compartieron doce morfoespecies, tres en Toledo y dos en Valencia. También se logró identificar que, en cada sitio, cada tipo de vía presentaba morfoespecies exclusivas de esa área. En León, la autovía presentó ocho morfoespecies exclusivas, el rural norte 18 y el rural sur 32; en Toledo se hallaron 14 morfoespecies exclusivas de la autovía, en el rural norte 17 y en el rural sur 23. Finalmente, en Valencia, se reportaron cinco morfoespecies exclusivas de la autovía, 12 del vial rural sur y doce del rural norte. Los viales rurales norte y sur, presentaron un mayor número de morfoespecies exclusivas, representando, del total de morfoespecies registradas, el 51 % en León, el 33 % en Toledo y el 67 % en Valencia (Tabla 5).

Tabla 5. Número de morfoespecies de Coleoptera, Diptera, Hemiptera e Hymenoptera por tipo de vía: Autovía (A), vial rural sur (S), vial rural norte (N), en cada uno de los sitios evaluados.

Tipo de vía	León	Toledo	Valencia
A-S	4	1	2
A-N	7	4	2
N-S	17	8	1
A	8	14	5
N	18	17	12
S	32	23	12
A-N-S	12	3	2
<b>Total</b>	<b>98</b>	<b>70</b>	<b>36</b>

La diversidad beta medida a partir de los datos de presencia/ausencia (beta.sor) y abundancia (beta.bray), fue variable entre los sitios y entre los tipos de vías (Tabla 6). A nivel general, Toledo y Valencia presentaron para ambas medidas valores más altos con respecto a León (Tabla 6).

Tabla 6. Diversidad Beta a partir del índice de disimilitud de Sørensen (beta.sor) y Bray- Curtis (beta.bray) y la contribución de cada uno de sus componentes. Recambio (beta.sim), anidamiento (beta.sne), variación balanceada (beta.bray.bal) y variación por gradientes de abundancia (beta.bray.gra).

Sitio	Tipo de vía	beta.sor	beta.sim	beta.sne	beta.bray	beta.bray. bal	beta.bray. gra
León	S-A	0,61	0,48	0,13	0,47	0,16	0,31
	N-A	0,62	0,39	0,23	0,35	0,09	0,26
	N-S	0,51	0,43	0,08	0,46	0,40	0,06
Toledo	S-A	0,83	0,78	0,04	0,80	0,77	0,03
	N-A	0,71	0,65	0,06	0,71	0,55	0,16
	N-S	0,65	0,64	0,01	0,73	0,65	0,08
Valencia	S-A	0,70	0,64	0,07	0,60	0,35	0,24
	N-A	0,71	0,64	0,08	0,68	0,47	0,21
	N-S	0,82	0,81	0,01	0,66	0,65	0,01

Para el caso del beta.sor, los valores en León variaron de 0,51 a 0,61, mientras que en Toledo y Valencia variaron de 0,65 a 0,83. Así mismo, en la mayoría de los casos las cifras más altas de beta.sor se dieron cuando se comparaba la autovía con alguno de los viales rurales. En todos los sitios y tipos de vía, el componente que más contribuyó al valor de beta total fue el recambio de especies (beta.sim), presentando diferencias significativas con respecto a los valores presentados para el anidamiento de especies (ANOVA,  $F = 60,906$   $P < 0,001$ ) (Tabla 6, Figura 13 A).

Por su parte, el beta.bray en León presentó valores que variaron de 0,35 a 0,47, mientras que en Toledo y Valencia variaron desde 0,60 a 0,80. A diferencia del beta.sor, el beta.bray también presentó valores altos cuando se compararon los dos viales rurales, norte y sur. Por otro lado, en la mayoría de los casos, la variación balanceada (beta.bray.bal) fue el componente que más aportó al valor de la beta total. Sin embargo, cuando en Valencia y León se comparó la autovía con los viales rurales, en Valencia los valores de beta.bray.bal y beta.bray.gra fueron similares, y en León dominó la variación por gradientes de abundancia (beta.bray.gra). Esto posiblemente contribuyó a que no se encontraran diferencias significativas entre el beta.bray.bal y beta.bray.gra (ANOVA,  $F=3,0645$ ,  $p=0,11058$ ) (Tabla 6, Figura 13 B).

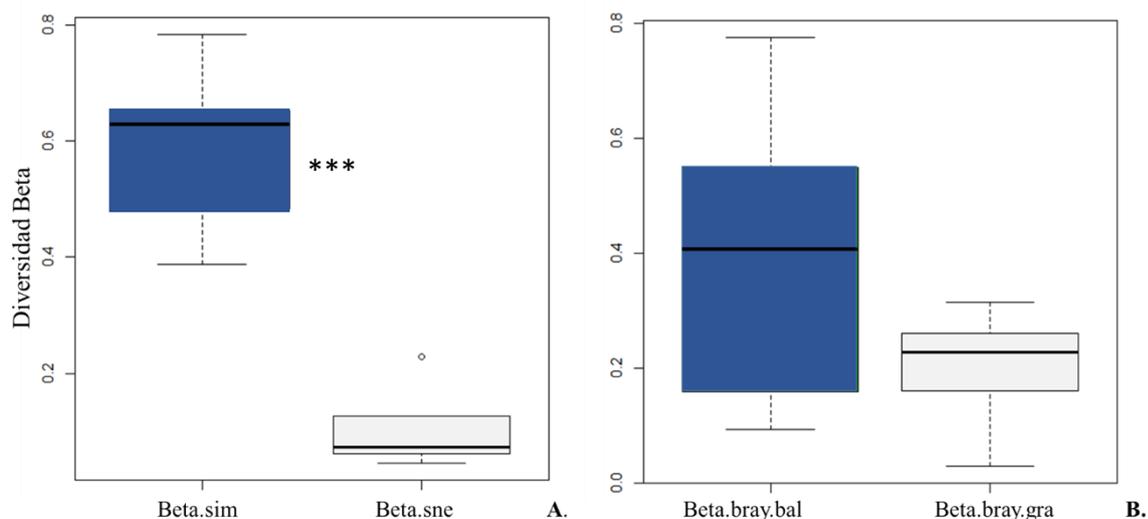


Figura 13. Diferencias entre los componentes de la diversidad beta medida a partir de los datos de A. presencia/ausencia (beta.sor: beta.sim vs beta.sne) y B. abundancia (beta.bray: beta.bray.bal vs beta.bray.gra).

Cuando se comparó la composición de especies de la autovía con los viales rurales unificados (vial rural norte + vial rural sur), la beta.sor fue mayor en Toledo con un valor de 0,7721, seguido de Valencia con 0,707 y León con 0,61. En este caso, en Toledo y Valencia el componente que más contribuyó a la diversidad beta total, fue el beta.sim, con cifras de 0,608 y 0,4545, respectivamente, mientras que en León el beta.sne fue el que más aportó, con una cifra de 0,361 (Figura 14 A.).

Con respecto a la diversidad beta estimada con los datos de abundancia (beta.bray), Toledo fue el que presentó el mayor registro con 0,779, seguido por León con 0,6223 y Valencia con 0,439. El componente que más contribuyó a dichos datos, fue el beta.bray.bal para los dos primeros sitios, con valores de 0,5161 y 0,4044, respectivamente. En el caso del tercer sitio, el beta.bray.gra fue el que tuvo el mayor aporte con 0,5665 (Figura 14 B.).

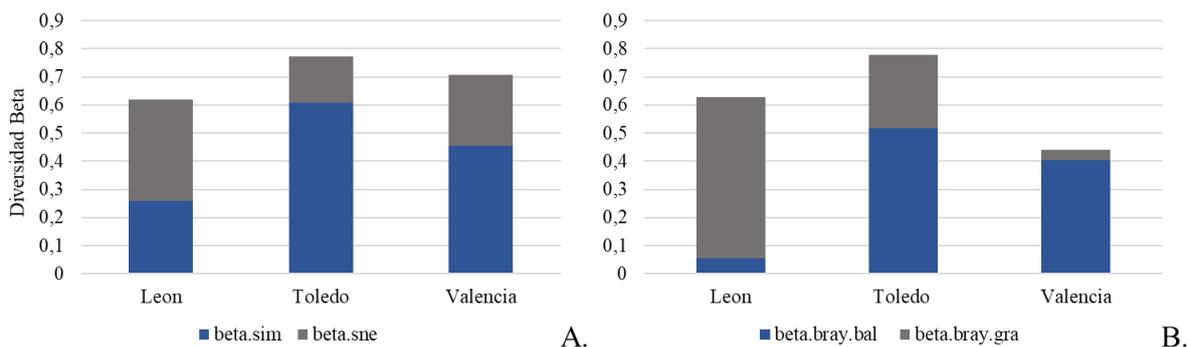


Figura 14. Aporte de cada uno de los componentes de diversidad beta, teniendo en cuenta los datos de A. presencia/ausencia (beta.sor: beta.sim vs beta.sne) y B. abundancia (beta.bray: beta.bray.bal vs beta.bray.gra) cuando se comparó la composición de especies entre la autovía y los viales rurales unificados.

A nivel general, es decir, teniendo en cuenta los valores presentados para cada componente en los tres sitios, no se encontraron diferencias significativas entre los componentes para la beta.sor (ANOVA,  $F= 2,4146$ ,  $P > 0,05$ ) y la beta.bray (ANOVA,  $F= 0.0292$ ,  $P > 0,05$ ) (Figura 15).

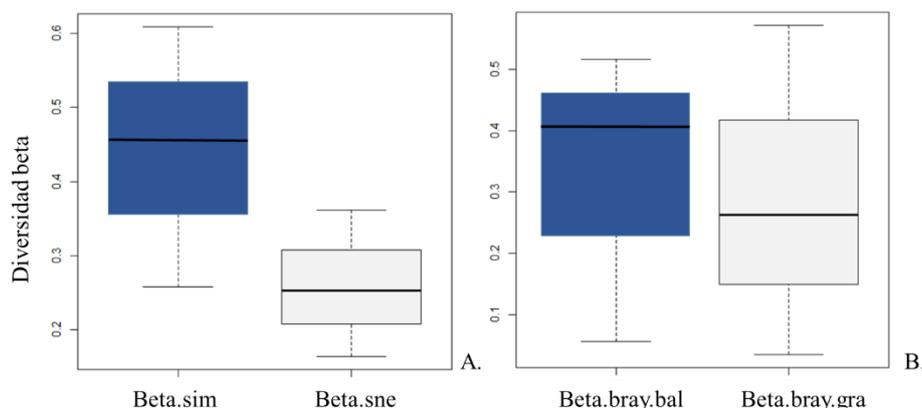


Figura 15. Diferencias entre los componentes de la diversidad beta, cuando se comparó la composición de especies, entre la autovía y los viales rurales unificados, medida a partir de los datos de A. presencia/ausencia (beta.sor: beta.sim vs beta.sne) y B. abundancia (beta.bray: beta.bray.bal vs beta.bray.gra).

## 4. DISCUSIÓN

### 4.1 Diseño y pruebas de funcionamiento del captador de insectos

Las infraestructuras lineales de transporte se consideran uno de los principales agentes transformadores del paisaje, con significativos impactos sobre la diversidad de insectos. Los métodos que se han utilizado para evaluar dichos impactos, como son la recolección de los

insectos atropellados sobre las carreteras, bermas y cunetas y el uso de trampas fijas, pueden arrojar cifras subestimadas y añadir incertidumbre al estimar la magnitud de afectación (McKenna et al., 2001; Rao & Girish, 2007; Baxter-Gilbert et al., 2015; Keilsohn et al., 2018).

El correcto funcionamiento del colector diseñado, puesto a prueba y usado en el muestreo de insectos en el presente estudio, ha permitido evidenciar que esta nueva técnica tiene varias ventajas sobre los métodos de muestreo que tradicionalmente son usados. Esto permite como un método directo y más preciso para evaluar los efectos de las carreteras en este grupo de animales y para estimar tendencias poblaciones de insectos diurnos voladores.

En primer lugar, esta técnica permite muestrear directamente desde la carretera y, por consiguiente, recolectar los insectos que utilizan las vías o que están siendo atropellados en el intento de cruzarla. En segundo lugar, con esta forma de muestreo se pueden abarcar tramos de kilómetros en cortos intervalos de tiempo, por lo que es posible tener datos a escalas locales, regionales, etc. con un menor esfuerzo. Con estas dos primeras propiedades se estarían superando las dificultades que se presentan cuando se usan trampas fijas, que requieren un esfuerzo mayor para abarcar amplias zonas de estudio y, por lo general, se instalan alrededor de las carreteras, recogiendo información puntual, solo de las comunidades de insectos que están presentes en dichas zonas.

Varias investigaciones apoyan los resultados de la presente investigación, pues estas, han utilizado métodos que permiten el muestreo de insectos directamente desde la carretera, contabilizando el número de insectos que quedan aplastados en las diferentes partes del coche, como son el parabrisas, la matrícula, el portaequipaje, etc. y han demostrado que son técnicas consistentes, para estimar tendencias en la abundancia a través del tiempo y el efecto de las carreteras sobre la diversidad de estos animales (Møller, 2013; Martin et al., 2018; Møller, 2019; Marshall et al., 2020).

En tercer lugar, durante los ensayos y el muestreo de insectos, se ha demostrado que, cuando las vías se recorren a una velocidad mínima de 30 km/h y máxima de 90 km/h, los insectos entran al colector y quedan en buen estado para ser identificados posteriormente en laboratorio. Este es uno de los aspectos que marcan diferencia y una ventaja significativa con el resto de las

técnicas de muestreo, puesto que permite hacer estimaciones más detalladas de la diversidad de insectos, teniendo en cuenta datos, no solo de abundancia, sino también de riqueza y composición de especies.

Los estudios cuyos métodos de muestreo, tienen en cuenta los individuos atropellados en el asfalto y diferentes partes del coche, reconocen que la identificación taxonómica de los insectos se torna complicada, debido a que muchos individuos quedan muy deteriorados y es una de las razones por las cuales en algunos casos se basan únicamente en datos de abundancia o solo alcanzan el nivel taxonómico de orden (Marshall et al., 2020; Moller, 2013; Møller, 2019).

En cuarto lugar, el diseño del colector permite también atrapar muestras de los insectos voladores que usualmente quedan adheridos al coche cuando son atropellados. De esta manera, esta técnica de muestreo puede completar la información sobre las especies pequeñas, oscuras o blandas que en las investigaciones que se basan en la realización de transectos en carreteras, bermas y cunetas han reportado como ausentes o que subestiman sus abundancias (Rao & Girish, 2007; Muñoz et al., 2014; Baxter-Gilbert et al., 2015; Keilsohn et al., 2018).

En quinto y último lugar, el hecho de que el colector funcione correctamente y se haya muestreado a las velocidades autorizadas para circular por diferentes vías de España (40km/h para viales rurales y 90 km/h en autovías), permite que se colecten los insectos que realmente se ven afectados por el atropellamiento en las carreteras.

Aunque esta investigación no se estimó el efecto del atropellamiento teniendo en cuenta diferentes velocidades de circulación de los vehículos, la intensidad de tráfico, la hora de muestreo, el día, entre otras, como se ha hecho en otros estudios ( Rao & Girish, 2007; Dargas et al., 2016; Martin et al., 2018; Bhardwaj et al., 2019), se reconoce que esta nueva técnica de muestreo presentada es fácil de replicar en posteriores investigaciones y funcional para medir las variables mencionadas anteriormente, las cuales se irán teniendo en cuenta en posteriores investigaciones.

## 4.2 Riqueza y abundancia de insectos

La mayoría de los individuos muestreados corresponden a los órdenes Hemiptera, Diptera, Hymenoptera y Coleoptera, los cuales representan el 98% del total de registros. Dichos resultados, fueron similares a los encontrados por varios estudios, donde reportan estos grupos taxonómicos como los más recurrentes en los registros por atropellamiento con vehículos (Baxter-Gilbert et al., 2015; Keilsohn et al., 2018; Martin et al., 2018).

Baxter-Gilbert et al. (2015) documentaron que la mortalidad de insectos por atropellamiento, en un tramo de carretera de 2 km en Ontario, Canadá, estuvo representada principalmente por individuos que pertenecían a los órdenes Diptera, Hymenoptera y Lepidoptera, con un porcentaje del 81% , 11% y 4 %, respectivamente. Por su parte, Keilsohn et al. (2018), muestrearon transectos de 400 metros de carretera, en 30 sitios de Delaware, Maryland y Pennsylvania, Estados Unidos, encontrando que de los 6.371 individuos reportados, el 54,6 % (3.480) pertenecían al orden Coleoptera, seguido del orden Hymenoptera con 27,21 % (1.734) y Lepidoptera con el 7 % (500). Finalmente, Martin et al. (2018) encontraron que más del 99% (7.202/7.225) de los individuos colectados en el Sudeste de Ontario, Canadá, estaban incluidos dentro de los órdenes Diptera 5.568, Hymenoptera 679, Hemiptera 435, Thysanoptera 383, y Coleoptera 137.

La coincidencia con respecto a los grupos taxonómicos entre el presente estudio y otras investigaciones se puede deber a que estos órdenes presentan una alta abundancia y diversidad, que les permite colonizar tanto ambientes conservados como deteriorados. Además, presentan especies con mayor capacidad de desplazamiento, siendo más móviles aun cuando se encuentran en hábitats fragmentados, pues estos grupos de insectos necesitan abastecerse de múltiples recursos para la recolección de material durante la elaboración de sus nidos, y alimento para larvas y adultos, entre otros (Gathmann & Tschardt, 2002; Keilsohn et al., 2018; Muñoz et al., 2015).

Así mismo, el hecho de que Hemiptera, Diptera, Hymenoptera y Coleoptera aparezcan en mayor proporción en los conteos realizados en las carreteras, no quiere decir que sean los grupos más sensibles al atropellamiento. Para poder estimar la vulnerabilidad en los diferentes grupos de insectos se deben realizar análisis de los órdenes por separado, estudiando la relación entre

la abundancia dentro y fuera de las carreteras y, en el interior, relacionarla con el volumen de tráfico.

Actualmente, en el CEDEX se está analizando la relación entre la abundancia de Himenópteros y Dípteros separadamente, en relación con el volumen de tráfico, en zonas rurales y urbanas. En cuanto a las diferencias en el atropello, han observado que en intensidades inferiores a 5.000 vehículos/h tienden a atropellarse más los individuos de otros órdenes de insectos diferentes a los mencionados anteriormente, seguido de los Himenópteros y sin diferencias marcadas con respecto a los Dípteros. Por encima de 5.000 vehículos/h ocurre lo contrario, se atropellan en mayor proporción individuos del orden Díptera que del orden Hymenoptera y el resto de la comunidad de insectos. Lo anterior indica en cierto modo, que los insectos pertenecientes al orden Díptera son menos sensibles al volumen de tráfico (García Tuesta, O., 2020).

Finalmente, es difícil predecir el efecto de las carreteras en cualquier grupo de insectos porque incluso las especies del mismo grupo responden de diferentes maneras a este impacto, y porque hay especies que son altamente estacionales y sus fluctuaciones intra e interanuales pueden generar cambios en estas estimaciones (Coscolla Ramón, 1981; Vargas y Rodríguez, 2008; Muñoz et al., 2015). De ahí, la importancia de realizar estudios y muestreos durante varios años, que abarquen distintas épocas y escenarios meteorológicos, para detectar tendencias más sólidas en la riqueza, abundancia y composición de especies (Wagner, 2020).

Los grupos taxonómicos que fueron más atropellados en el presente estudio desempeñan papeles vitales en las redes alimentarias y proporcionan importantes servicios ecosistémicos. Muchas especies de himenópteros y dípteros, por ejemplo, proporcionan servicios a los sistemas agrícolas, mediante la polinización y mediante el biocontrol de plagas de cultivos; los coleópteros por su parte, son un importante grupo en las redes alimentarias de aves insectívoras y ayudan en el control de plagas y reciclaje de materia orgánica, y los hemípteros, presentan una gran variedad en su dieta. Estos últimos, pueden ser fitófagos ya que se alimentan de raíces, hojas, flores, polen, brotes, semillas, savia, frondes de helechos, micelios de hongos, etc., zoófagos porque depredan invertebrados, otros artrópodos e incluso pequeños vertebrados y saprófagos debido a que muchos viven a expensas de materia orgánica en descomposición (Baxter-Gilbert et al., 2015; Sánchez-Bayo y Wyckhuys, 2019).

Recientemente, se ha documentado un declive en la diversidad de estos organismos, los cuales están siendo afectados principalmente por la intensificación agrícola y el uso de pesticidas (Hallmann et al., 2017; Sánchez-Bayo & Wyckhuys, 2019, Ishikawa & Iwasa, 2020). De este modo, el impacto generado en las carreteras podría contribuir a una disminución más pronunciada en la diversidad de estos insectos y por ende representar un riesgo mayor para las interacciones con otros organismos y sobre los servicios ecosistémicos que ofrecen.

Con respecto a las diferencias encontradas en la riqueza y abundancia de insectos entre los sitios estudiados, pueden deberse a diferentes variables físicas, bióticas y geográficas. Aunque en el presente estudio no se realizaron pruebas estadísticas que probaran la relación de dichas variables con el atropellamiento, probablemente las condiciones meteorológicas de cada sitio, las coberturas vegetales alrededor de cada vía y las características propias de las carreteras pudieron influir significativamente en estos resultados (Skórka et al., 2015, Martin et al., 2018).

El hecho de que los tramos muestreados en León presentaran mayores cifras de riqueza y abundancia de insectos pudo estar relacionado con que presentaba cultivos tanto de secano como de regadío y a que la retama de olor (*Spartium junceum*) alrededor de las infraestructuras (autovías, viales rurales y canales de riego) estaban en floración cuando se realizó el muestreo, lo cual contribuyó a una mayor disponibilidad de recursos para diferentes especies de insectos polinizadores. Por su parte, Toledo y Valencia presentaron un menor registro de individuos y morfoespecies. En Toledo, posiblemente debido a que desde semanas antes de los muestreos se estaba produciendo una fuerte sequía (comunicación personal con agricultores), que probablemente también afectaría con intensidad a la disponibilidad de recursos para los insectos. En Valencia, las plantaciones de cítricos ocupan mayoritariamente las fincas agrícolas y son cultivos normalmente sometidos a un control intensivo de plagas, desde la floración (mayo), durante el crecimiento del fruto (julio y agosto), hasta la recolección (septiembre) (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, 2014). Este control fitosanitario puede repercutir sobre la población de insectos en general.

Adicionalmente, las diferencias marcadas en el ancho de la vía y el volumen de tráfico entre los sitios, también pudieron influir en las cantidades de insectos reportadas, ya que vías más anchas y con más tráfico, pueden actuar como barreras al movimiento de los animales y evitar

que estas las usen y crucen. Así, en Valencia se reportaron cifras menores de insectos, debido probablemente a que la vía es el doble de ancha que la de Toledo y León, y a que el volumen de tráfico es significativamente mayor, registrándose un promedio de 3.200 vehículos/h en el primer sitio y de 300 y 700 vehículos/h en el segundo y tercer sitio.

La influencia de la vegetación circundante y del volumen o intensidad vehicular sobre la diversidad de insectos, han sido tenidas en cuenta en otros estudios de investigación (Martin et al., 2018; Rao & Girish, 2007). Martin et al. (2018) por ejemplo, comprobaron que son atropellados un menor número de insectos, cuando las carreteras tienen un volumen de tráfico alto con respecto a carreteras con volumen de tráfico bajo. Dichos autores, encontraron una disminución del 23.5% en el número de insectos / km / vehículo en este tipo de carreteras, observando también, que este efecto fue más pronunciado en insectos con clases de tamaño más pequeño (<5 mm y 5–10 mm).

En el presente trabajo, cuando se compararon los datos de riqueza y abundancia de insectos entre la autovía y los viales rurales dentro de cada sitio, se esperaba encontrar diferencias significativas en ambos casos, presentando valores más reducidos en las autovías que en los viales rurales. Esto, debido a que los viales rurales por lo general son carreteras más angostas y con menos volumen de tráfico, porque tienen un uso eventual y son sólo para el acceso a las fincas agrícolas. Aunque en el presente estudio se encontraron solo diferencias estadísticamente significativas en la riqueza entre la autovía y el vial rural norte en León, las cifras de esta variable fueron mayores en los viales rurales que en la autovía en los tres sitios (Tabla 2). En cuanto a las abundancias este comportamiento fue similar en los viales rurales de Toledo y en León, a excepción de Valencia que presentó una abundancia mayor en la autovía que en los viales rurales (Tabla 2).

A nivel general los resultados estuvieron acordes con lo esperado, no obstante, se buscará incrementar el esfuerzo de muestreo en futuros trabajos (en número de campañas y en repeticiones) que permitan depurar los procedimientos de muestreo y determinar de manera más precisa si existe un patrón en las diferencias encontradas entre los viales rurales y las autovías.

Finalmente, es interesante resaltar que, al no encontrar diferencias significativas entre los dos viales rurales, puede suponerse que, en futuros experimentos, sea suficiente con muestrear solo

un vial. Este reajuste supone una reducción considerable en el esfuerzo de muestreo, en el tiempo dedicado a la identificación de las muestras y en la inversión en recursos.

#### 4.3 Composición de insectos

Las diferencias en la composición entre los sitios muestreados, fueron debidas a que, en cada uno de los sitios, predominó un orden de insectos distinto. No obstante, estas diferencias se vieron más marcadas por un dato atípico que presentó León, relacionado con la alta abundancia de la morfoespecie *Aphididae-1* (Hymenoptera), el cual registró 625 individuos y representó el 56,92% de la abundancia total de insectos en dicha localidad y aproximadamente el 58% de la abundancia total reportada para los cuatro órdenes tenidos en cuenta.

La superioridad numérica de esta morfoespecies y orden de insectos puede estar relacionada con que son organismos coloniales y estacionales. Como ya se apuntó en el apartado anterior, la estacionalidad y las fluctuaciones intra e interanuales de los insectos han sido reportados como aspectos que pueden generar diferencias en la diversidad de este tipo de fauna impactada por las carreteras (Muñoz et al., 2015). Esto motiva la necesidad de plantear campañas de muestreo de insectos a largo plazo, durante varios años y que abarquen ciclos anuales completos, para poder predecir de forma más firme cómo es la composición de insectos en estos hábitats.

La partición de la diversidad beta en los componentes de recambio y anidamiento de especies y la variación balanceada y la variación por gradientes de abundancia, son cruciales para entender los procesos ecológicos que están actuando y que son causales de la forma como se distribuye la diversidad. Las zonas empobrecidas deben distinguirse de las zonas donde se reemplazan las especies, porque cada caso puede ser generado por diferentes factores históricos o ambientales y, adicionalmente, porque para fines de conservación, las diferentes causas requieren de estrategias antitéticas (Baselga, 2010).

Cuando se comparó la composición de insectos entre pares de tipos de vía, prevaleció significativamente el recambio sobre el anidamiento, mientras que la variación balanceada y la variación por gradientes de abundancia aportaron de manera similar sobre la diversidad beta total. Esto indica que, en cada tipo de vía aparecen especies exclusivas y que la abundancia de algunas especies que son compartidas se ve reducida y/o compensada por el aumento de la abundancia de otras especies diferentes.

El hecho de que, en el análisis de la abundancia, predomine el recambio de especies entre los pares de vías en cada localidad, podría ser explicado porque las condiciones de la autovía son muy diferentes a la de los viales rurales, haciendo que algunas especies limiten su dispersión y permitiendo que lleguen y se mantengan solo aquellas especies que soportan las condiciones hostiles de las autovías. Por lo general la calidad del hábitat en las autovías está deteriorada por el ruido, la luz, la contaminación, etc. la ausencia de recursos y el tráfico (Bhardwaj et al., 2019).

No obstante, vale la pena resaltar, que los altos valores de recambio encontrados, cuando se comparó por pares de vías, pudieron estar influenciados por el aporte de especies de la tercera vía. Por lo anterior, se decidió unificar los datos de los viales rurales norte y sur, dejándolos como una sola comunidad y compararlos con la comunidad de insectos de la autovía.

En este sentido, los patrones cambiaron y tanto el recambio como el anidamiento, influyeron de manera similar.

De esta manera, la partición del componente de la diversidad beta, permitió reconocer que las autovías no solo están generando impactos directos por el atropellamiento, sino que además están actuando como filtros y/o como barreras que impiden el paso de muchas especies o que reducen la abundancia muchas otras. Por otro lado, el hecho de haber encontrado especies exclusivas en las autovías puede estar relacionado con el área de influencia de este tipo de vía, que incluye vegetación herbácea propia de los taludes, terraplenes y separadores centrales, lo cual puede ser un ambiente propicio para determinadas especies de fauna (Mola et al., 2009).

Aunque en el presente estudio no se midieron variables ambientales entre los tipos de vía (vegetación circundante, temperatura, corrientes de viento, polución etc.), ni se tuvieron en cuenta las características de las morfoespecies como el tamaño o rasgos funcionales, las especies que se encontraron tanto en las autovías como en los viales rurales podrían ser especies más generalistas, con capacidad de explotar todos los recursos que tengan disponibles y con mayor capacidad de desplazamiento, sin que la carretera aparezca como una barrera para ellas. Por su parte, las especies que fueron exclusivas de los viales rurales, pueden ser más especializadas en sus requerimientos, tener poca capacidad de movilidad y/o encontrar en la autovía una barrera para movilizarse. Con respecto a las especies que se encontraron exclusivamente en el entorno de la autovía, pueden ser organismos que se ven beneficiados por

las condiciones de ese sitio, como son una menor tasa de depredación o debido a que son especies ectotermas, etc. (Zielin et al., 2016; Ste-marie et al., 2018).

Lo anterior está apoyado por otros estudios que han medido el impacto de las carreteras mediante la comparación de la comunidad de insectos (Andersson et al., 2017; Ste-marie et al., 2018; Bhardwaj et al., 2019). Aunque dichas investigaciones no han utilizado el cálculo de la diversidad beta y sus componentes, tal como lo plantea por Baselga y Orme (2012) y por Baselga (2013), sus resultados han permitido mostrar cómo se distribuyen los insectos en este tipo de ambientes.

Los estudios de Andersson et al. (2017) destacan la idea de que la comunidad de insectos puede verse afectada dependiendo del grado de movilidad que tengan los individuos. Estos autores, estudiaron el efecto de las grandes carreteras sobre el movimiento de abejas y avispas (Aculeata), comparando la composición de estos insectos en ambos lados de las carreteras, en el sector oriental y occidental. Las diferencias significativas encontradas en la composición de estos insectos entre ambos sitios les permitieron deducir que las carreteras en este caso actuaron como barreras al movimiento y especialmente para especies con poca habilidad de dispersión.

Por su parte Ste-marie et al., (2018), demostraron cómo algunos grupos pueden verse beneficiados y otros perjudicados al estar cerca o lejos de la carretera, evaluando los cambios en la abundancia y composición de la comunidad de artrópodos a diferentes distancias (1 m, 10 m y 100 m). En este caso, observaron cómo los Dípteros e Himenópteros se veían beneficiados por la carretera, al encontrar más individuos cerca de ella y los Colémbolos perjudicados por ser más abundantes a mayores distancias. Dichas diferencias las atribuyeron a las formas de vida de cada grupo, las cuales son más diversas y generalistas entre los Dípteros e Himenópteros y más específicas en los Colémbolos. Dípteros e Himenópteros son voladores en su gran mayoría y pueden ser herbívoros, polinizadores, formadores de agallas, parasitoides de insectos etc. mientras que los colémbolos, terrestres, dependen de óptimas condiciones del suelo, y el polvo, los sedimentos y el cambio en el pH y la humedad del suelo cerca de la carretera pudo restringir la presencia de este tipo de animales.

La partición de los componentes de la diversidad beta (reemplazo frente a anidamiento en cuanto a la composición de especies, y variación balanceada frente a variación por gradientes, respecto a las abundancias de las especies) permitieron identificar cuáles son los procesos

ecológicos que se ven principalmente afectados o bloqueados en este sistema de carreteras, lo cual se considera como uno de los primeros pasos que se deben llevar a cabo en la restauración de ecosistemas y diseño de medidas de mitigación, previo a la toma de decisiones, elaboración de propuestas y ejecución de proyectos de este tipo.

De acuerdo con lo anterior, las estrategias de restauración deberían estar enfocadas en prevenir la disminución de la abundancia de algunas de las especies, en el mantenimiento de las especies exclusivas tanto de los viales rurales paralelos como las de la autovía y en facilitar la conectividad de aquellas poblaciones que están siendo afectadas por el efecto barrera.

En el ámbito de las carreteras, se han implementado varias estrategias, algunas como la instalación de cercas que impiden el movimiento, el establecimiento de límites de velocidad y señales de tráfico, puentes y túneles que guían los movimientos de los insectos, y el enriquecimiento y mantenimiento de los bordes de las carreteras con especies vegetales autóctonas (Skórka et al., 2015; Zielin et al., 2016). Esta última estrategia es quizá la que más se ha venido trabajando en los últimos años y muchos autores proponen su manejo mediante siegas periódicas para el mantenimiento de las comunidades de insectos, sobre todo en entornos impactados por la actividad humana. Asimismo, han sugerido que estos sitios también contribuyen a la conectividad longitudinal entre fragmentos de hábitat, sirven en la red de infraestructuras azul-verdes y a la conservación de la biodiversidad en general (Hopwood, 2008; Noordijk et al., 2009; Skórka et al., 2013; Zielin et al., 2016; Villemey et al., 2018).

No obstante, este es un tema que actualmente es controvertido y que necesita ser estudiado con más profundidad, pues se ha identificado también que cada especie o grupo taxonómico tiene sus propios requisitos, por lo que una práctica de manejo que favorezca a las especies con ciertos rasgos, podría ser perjudicial para otras especies (Villemey et al., 2018).

De este modo, se recomienda que en caso realizar propuestas de restauración, se lleven a cabo primero estudios y/o análisis, que detallen a nivel taxonómico de especie, cuáles fueron las más beneficiadas o perjudicadas por la presencia de las carreteras y que se tengan en cuenta sus características y rasgos funcionales de forma más precisa.

## 5. CONCLUSIONES

- La nueva técnica de muestreo presentó cinco ventajas que permiten sugerirla como un método importante para evaluar tendencias poblacionales en los insectos y los efectos de las carreteras sobre estos: 1) se muestrea directamente desde la carretera, lo que permite coleccionar las especies que están usando las vías o que están siendo atropelladas en el intento de cruzarla, 2) se pueden obtener datos de diferentes escalas espaciales, en cortos intervalos de tiempo, 3) si se transita a velocidades entre 30 y 90 km/h, los insectos quedan en buen estado para su posterior identificación en la fase de laboratorio, logrando hacer estimaciones más detalladas de la diversidad de insectos, 4) aporta la información sobre especies que las investigaciones que utilizan los métodos de conteo de individuos encontrados en las carreteras, bermas y cunetas, han reportado como ausentes o las subestiman, y 5) los muestreos se pueden hacer a las velocidades reales por las que se transitan generalmente las vías, son replicables y se pueden utilizar para evaluar otro tipo de variables relacionadas con el impacto de las carreteras.
- Aunque solo se encontraron diferencias significativas en la riqueza de insectos entre la autovía y el vial rural norte, a nivel general, los resultados estuvieron acordes con lo esperado, es decir, las cifras tanto de riqueza como de abundancia fueron mayores en los viales rurales que en la autovía, posiblemente debido al menor grado de afectación encontrado en estos tipos de vía.
- La alta abundancia de la morfoespecie *Aphididae-1* (Hymenoptera) en León, relacionada probablemente con que estos organismos son estacionales y coloniales, generó que se marcaran diferencias significativas en las variables de diversidad, así como en la abundancia y la composición.
- La partición de la diversidad beta, permitió identificar que en las vías estudiadas se dieron patrones de pérdida y reemplazo de especies, reducción y aumento de la abundancia de algunas especies.

- El recambio y el anidamiento en cuanto a la composición de especies, y la variación balanceada y la variación por gradientes en cuanto a las abundancias, se puede estar generando porque la autovía está funcionando como una barrera para algunas especies (recambio y variación balanceada, principalmente) y como un filtro para otras (anidamiento y variación por gradientes).
- El haber identificado los procesos que están bloqueados en este sistema constituyen el primer paso que se debe tener en cuenta para el planteamiento y la ejecución de propuestas de restauración.

## 6. AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Centro de Estudios y Experimentación de Obras Públicas (CEDEX) por financiar y brindar un espacio para la ejecución esta investigación. A Manuel García Sánchez-Colomer por aceptar apoyarme en esta etapa de formación, estar pendiente en cada uno de los pasos de este proyecto y por sus valiosos comentarios y correcciones en el manuscrito. A Javier Díaz por el apoyo en las salidas de campo y la identificación taxonómica de los insectos. Al profesor Juan Antonio Delgado Saez por sus recomendaciones y correcciones en el manuscrito. A mi padre Fernando Franco y a mi madre Luz Inés Saldarriaga, por la confianza, el apoyo incondicional, y por compartir conmigo cada paso del camino para lograr ser una mejor mujer y profesional.

## 7. BIBLIOGRAFIA

- Andersson, P., Koffman, A., Sjödin, N. E., & Johansson, V. (2017). Roads may act as barriers to flying insects: Species composition of bees and wasps differs on two sides of a large highway. *Nature Conservation*, *18*, 47–59.  
<https://doi.org/10.3897/natureconservation.18.12314>
- Baselga, Andres. (2013). Separating the two components of abundance-based dissimilarity : balanced changes in abundance vs . abundance gradients. *Methods in Ecology AndEvolution* 2013, *4*, 552–557. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12029>
- Baselga, Andrés. (2010). Partitioning the turnover and nestedness components of beta diversity. *Global Ecology and Biogeography*, *19*(1), 134–143.  
<https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2009.00490.x>
- Baselga, Andres, & Orme, D. L. (2012). betapart : an R package for the study of beta diversity. *Methods in Ecology and Evolution* 2012, *3*, 808–812.  
<https://doi.org/10.1111/j.2041-210X.2012.00224.x>
- Baselga, Andres, Orme, D., Vileger, S., De Bortoli, J., Leprieur, F., Lopez, M., & Henriques-Silva, R. (2018). *Partitioning Beta Diversity into Turnover and Nestedness Components -Package 'betapart' Version 1.5.1*. 1–42.
- Baxter-Gilbert, J. H., Riley, J. L., Neufeld, C. J. H., Litzgus, J. D., & Lesbarrères, D. (2015). Road mortality potentially responsible for billions of pollinating insect deaths annually. *Journal of Insect Conservation*, *19*(5), 1029–1035. <https://doi.org/10.1007/s10841-015-9808-z>
- Bhardwaj, M., Soanes, K., Monfort, J. J. L., Lumsden, L. F., & Ree, R. Van Der. (2019). Little evidence of a road-effect zone for nocturnal , flying insects. *Ecology and Evolution*, *September 2018*, 65–72. <https://doi.org/10.1002/ece3.4609>
- Bhattacharya, M., Primack, R. B., & Gerwein, J. (2003). Are roads and railroads barriers to bumblebee movement in a temperate suburban conservation area ? *Biological Conservation*, *109*, 37–45.
- Carrington, D. (2017). Warning of ecological Armageddon after dramatic plunge in insect numbers. *The Guardian*, 1–6.
- Carrington, D. (2019). Insect collapse: We are destroying our life support systems. *The Guardian*, 1–6.
- Dargas, J. H. F., Chaves, S. R., & Fischer, E. (2016). Pollination of lark daisy on roadsides

- declines as traffic speed increases along an Amazonian highway. *Plant Biology*, 18(3), 542–544. <https://doi.org/10.1111/plb.12437>
- Dean, W. R. J., Seymour, C. L., Joseph, G. S., & Foord, S. H. (2019). A Review of the Impacts of Roads on Wildlife in Semi-Arid Regions. *Diversity*, 11(81), 1–19.
- Dirzo, R., Young, H. S., Galetti, M., Ceballos, G., Isaac, N. J. B., & Collen, B. (2014). Defaunation in the Anthropocene. *Science*, 345(6195), 401–406. <https://doi.org/10.1126/science.1251817>
- Donaldson, A., & Bennett, A. (2004). *Ecological Effects of Roads Implications for the internal fragmentation of Australian parks and reserves* (P. V. T. Series (ed.); 12th ed., Issue 12).
- García Sánchez-Colomer, M. R. (2018). Efectos del cambio climático sobre las interacciones entre las infraestructuras lineales de transporte y la biodiversidad Effects of Climate Change on the Interactions Between Linear Transport Infrastructures and Biodiversity. *Ingeniería Civil*, 191, 113–123.
- García Tuesta, O. (2020). *Estudio comparativo del impacto de las carreteras sobre las comunidades de insectos en tramos urbanos y rurales* [Tesis de maestría en publicación]. Universidad Autónoma de Madrid.
- Gathmann, A., & Tscharntke, T. (2002). Foraging ranges of solitary bees. *Journal of Animal Ecology*, 71, 757–764.
- Hallmann, C. A., Sorg, M., Jongejans, E., Siepel, H., Hofland, N., Schwan, H., Stenmans, W., Müller, A., Sumser, H., Hörren, T., Goulson, D., & De Kroon, H. (2017). More than 75 percent decline over 27 years in total flying insect biomass in protected areas. *PLoS ONE*, 12(10), 1–21. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185809>
- Hopwood, J. L. (2008). The contribution of roadside grassland restorations to native bee conservation. *Biological Conservation*, 141, 2632–2640. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2008.07.026>
- Ishikawa, I., & Iwasa, M. (2020). Toxicological effect of ivermectin on the survival, reproduction, and feeding activity of four species of dung beetles (Coleoptera: Scarabaeidae and Geotrupidae) in Japan. *Bulletin of Entomological Research*, 110(1), 106–114. doi:10.1017/S0007485319000385
- Keilsohn, W., Narango, D. L., & Tallamy, D. W. (2018). Roadside habitat impacts insect traffic mortality. *Journal of Insect Conservation*, 22(2), 183–188.

<https://doi.org/10.1007/s10841-018-0051-2>

- Keret, N., Välimäki, P., & Mutanen, M. (2015). Large Roads Disrupt Insect Movement : A Case Study of the *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera : Noctuidae). *Journal of Insect Behavior*, 28, 544–554. <https://doi.org/10.1007/s10905-015-9522-4>
- Marshall, P. T., Skilbeck, A., & Riggs, A. (2020). Conservation Evidence Monitoring of ecosystem function at landscape - scale demonstrates temporal difference in invertebrate abundance in Kent and South - East England. *Conservation Evidence*, 2017, 4 pp.
- Martin, A. E., Graham, S. L., Henry, M., Pervin, E., & Fahrig, L. (2018). Flying insect abundance declines with increasing road traffic. *Insect Conservation and Diversity*, 11, 608–613. <https://doi.org/10.1111/icad.12300>
- McKenna, D. D., McKenna, K. M., Malcom, S. B., & Berenbaum, M. R. (2001). Mortality of lepidoptera along roadways in Central Illinois. *Journal of the Lepidopterists' Society*, 55(2), 63–68.
- Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, Gobierno de España (2014). Guía de Gestión Integrada de Plagas de Cítricos. [https://www.mapa.gob.es/es/agricultura/temas/sanidad-vegetal/GUIACITRICOS\\_tcm30-57942.pdf](https://www.mapa.gob.es/es/agricultura/temas/sanidad-vegetal/GUIACITRICOS_tcm30-57942.pdf)
- Mola, I., Jiménez, M. D., López-Jiménez, N., Casado, M. A., & Balaguer, L. (2009). Roadside Reclamation Outside the Revegetation Season: Management Options under Schedule Pressure. *Restoration Ecology*, 19(1), 1–10. <https://doi.org/10.1111/j.1526-100X.2009.00547.x>
- Moller, A. . (2013). Long-term trends in wind speed , insect abundance and ecology of an insectivorous bird Study area. *Ecosphere*, 4(January), 1–11.
- Møller, A. P. (2019). Parallel declines in abundance of insects and insectivorous birds in Denmark over 22 years. *Ecology and Evolution*, 9(11), 6581–6587. <https://doi.org/10.1002/ece3.5236>
- Muñoz, P. T., Torres, F. P., & Megías, A. G. (2015). Effects of roads on insects: a review. *Biodiversity and Conservation*, 24(3), 659–682. <https://doi.org/10.1007/s10531-014-0831-2>
- Noordijk, J., Delille, K., Schaffers, A. P., & Sykora, K. V. (2009). Optimizing grassland management for flower-visiting insects in roadside verges. *Biological Conservation*, 142, 2097–2103. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2009.04.009>

- Oksanen, A. J., Blanchet, F. G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., Mcglinn, D., Minchin, P. R., Hara, R. B. O., Simpson, G. L., Solymos, P., Stevens, M. H. H., & Szoecs, E. (2019). *Community Ecology Package Vegan. Version 2.5-6*. 1–296.
- Rao, R. S. P., & Girish, M. K. S. (2007). Road kills : Assessing insect casualties using flagship taxon. *Current Science*, 92(1456), 830–837.
- Sánchez-Bayo, F., & Wyckhuys, K. A. G. (2019). Worldwide decline of the entomofauna: A review of its drivers. *Biological Conservation*, 232(September 2018), 8–27.  
<https://doi.org/10.1016/j.biocon.2019.01.020>
- Skórka, P. (2016). The detectability and persistence of road-killed butterflies : An experimental study. *Biological Conservation*, 200, 36–43.  
<https://doi.org/10.1016/j.biocon.2016.05.026>
- Skórka, P., Lenda, M., Moron, D., Kalarus, K., & Tryjanowski, P. (2013). Factors affecting road mortality and the suitability of road verges for butterflies. *Biological Conservation*, 159, 148–157. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2012.12.028>
- Skórka, P., Lenda, M., Moron, D., Martyka, R., Tryjanowski, P., & Sutherland, W. J. (2015). Biodiversity collision blackspots in Poland : Separation causality from stochasticity in roadkills of butterflies. *Biological Conservation*, 187, 154–163.  
<https://doi.org/10.1016/j.biocon.2015.04.017>
- Ste-marie, E., Turney, S., & Buddle, C. M. (2018). The Effect of Road Proximity on Arthropod Communities in Yukon , Canada. *Arctic*, 71(1), 89–98.
- Thomas, J. ., Telfer, M. ., Roy, D. ., Preston, C. ., Greenwood, J. J. ., Asher, J., Fox, R., Clarke, R. ., & Lawton, J. . (2004). Comparative losses of British butterflies, birds, and plants an the global extinction crisis. *Science*, 303, 1879–1881.  
<https://doi.org/10.1210/jcem-10-10-1361>
- van Klink, R., Bowler, D. E., Gongalsky, K. B., Swengel, A. B., Gentile, A., & Chase, J. M. (2020). Meta-analysis reveals declines in terrestrial but increases in freshwater insect abundances. *Science*, 368(6489), 417–420. <https://doi.org/10.1126/science.aax9931>
- Villemey, A., Jeusset, A., Vargac, M., Bertheau, Y., Coulon, A., Touroult, J., Vanpeene, S., Castagneyrol, B., Jactel, H., Witte, I., Deniaud, N., Flamerie De Lachapelle, F., Jaslier, E., Roy, V., Guinard, E., Le Mitouard, E., Ruel, V., & Sordello, R. (2018). Can linear transportation infrastructure verges constitute a habitat and/or a corridor for insects in temperate landscapes? A systematic review. *Environmental Evidence*, 7(1), 1–33.

<https://doi.org/10.1186/s13750-018-0117-3>

Vogel, B. G. (2017). Where have all the insects gone? *Science*, 356, 376–579.

Wagner, D. L. (2020). Insect Declines in the Anthropocene. *Annual Review of Entomology*, 65(1), 457–480. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011019-025151>

Zielin, S. B., Littlejohn, J., Rivera, C. E. De, Smith, W. P., & Jacobson, S. L. (2016).

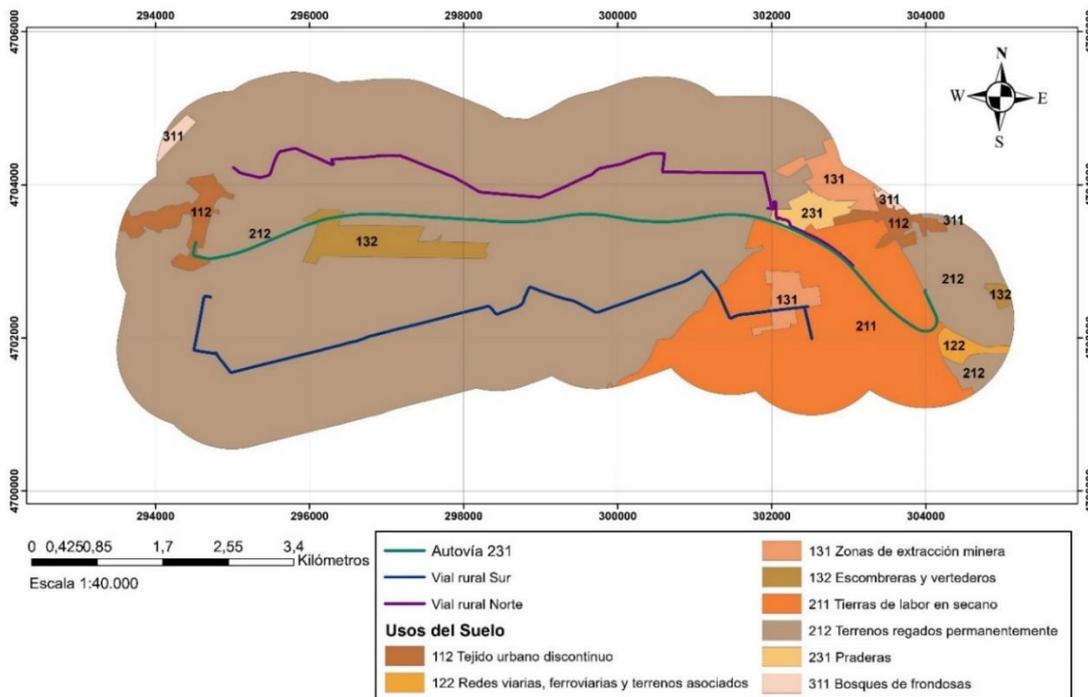
Ecological investigations to select mitigation options to reduce vehicle-caused mortality of a threatened butterfly. *Journal of Insect Behavior*, 20(5), 845–854.

<https://doi.org/10.1007/s10841-016-9916-4>

## 8. ANEXOS

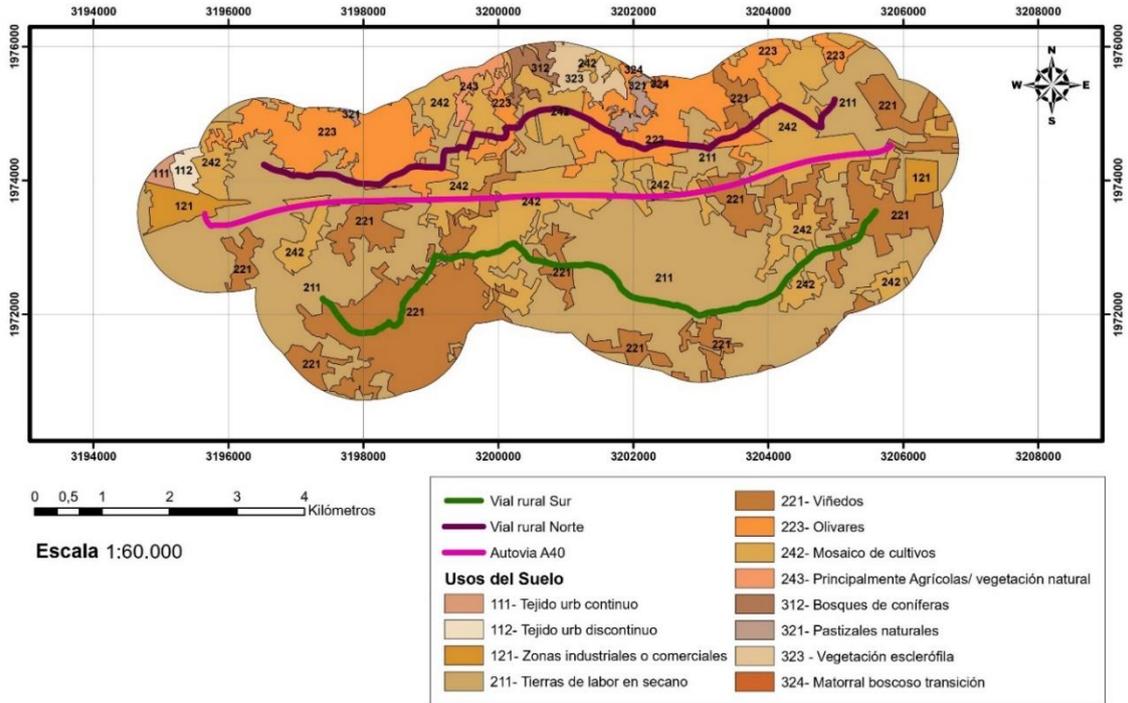
Anexo 1. Mapa usos del suelo según Corine Land Cover, versión 2018, teniendo en cuenta un buffer de 1 km A. A-231 (León), B. A-40 (Toledo), C. A-7 (Valencia).

### Mapa del uso del suelo, autovía A-231 y viales rurales (León)



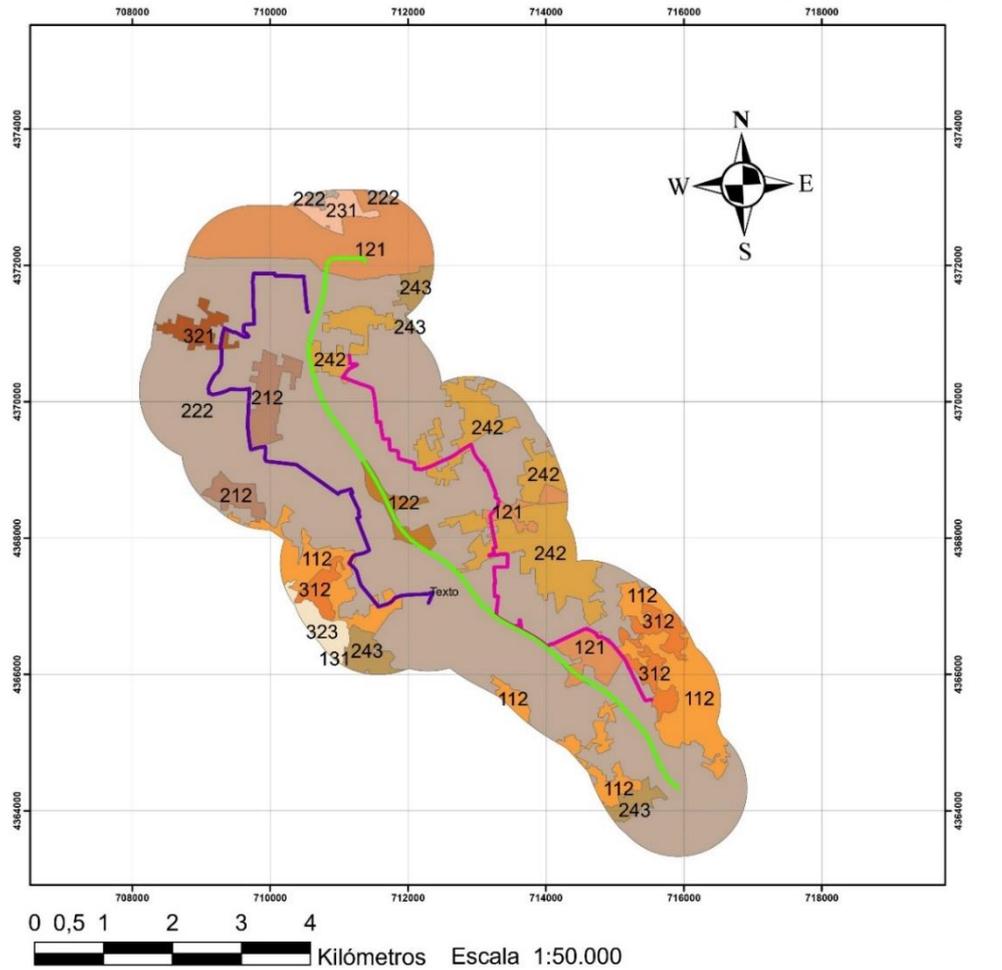
A.

Mapa de usos del suelo, autovía A-40 y viales rurales (Toledo)



B.

### Usos del suelo, Autovía A-7 y viales rurales (Valencia)

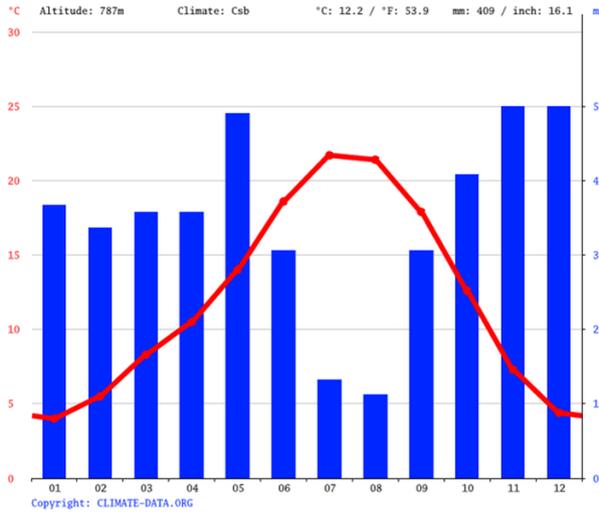


Usos del suelo	
	112 Tejido urbano discontinuo
	121 Zonas industriales o comerciales
	122 Redes viarias, ferroviarias y terrenos asociados
	131 Zonas de extracción minera
	212 Terrenos regados permanentemente
	222 Frutales
	231 Praderas
	242 Mosaico de cultivos
	243 Terrenos ppalmente agricolas, con espacios de veg. natural
	312 Bosques de coníferas
	321 Pastizales naturales
	323 Vegetación esclerófila
	Vial rural Este
	Vial rural Oeste
	Autovia A7

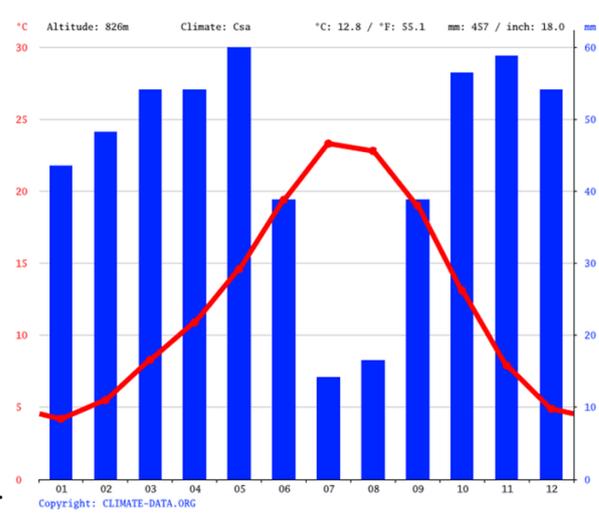
C.

Anexo 1. Área (Ha) y porcentaje de área (%) de usos del suelo, según Corine Land Cover, 2018, disponible en el Centro Nacional de Información Geográfica (CNIG), 2019, teniendo en cuenta un buffer de 1 km para las unidades de muestreo estudiadas. Se destacan con asteriscos (\*\*) las coberturas con mayor extensión en el área de estudio.

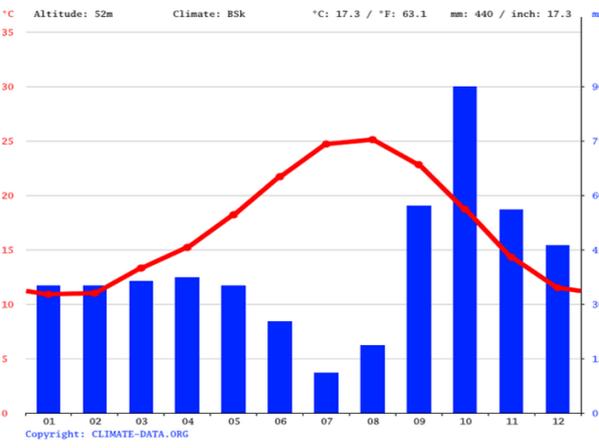
CódigoCLC2018	Coberturas CLC2018	Área	% de área
<b>LÉON (A -231)</b>			
112	Tejido urbano discontinuo	111,211	0,015
122	Redes viarias, ferroviarias y terrenos asociados	61,36	0,008
131	Zonas de extracción minera	112,88	0,015
132	Escombreras y vertederos	139,6	0,018
211	Terrenos regados permanentemente	735594,56	96,437 **
212	Tierras de labor en secano	26633,47	3,492 **
231	Praderas	35,47	0,005
311	Bosques de frondosas	86,13	0,011
<b>Área total</b>		<b>762775</b>	
<b>VALENCIA ( A- 7)</b>			
112	Tejido Urbano discontinuo	842,35	4,36
121	Zonas industriales o comerciales	1922,50	9,95 **
122	Redes viarias, ferroviarias y terrenos asociados	36,29	0,19
131	Zonas de extracción minera	32,35	0,17
212	Terrenos regados permanentemente	88,83	0,46
222	Frutales	15202,34	78,72 **
231	Praderas	46,66	0,24
242	Mosaico de cultivos	373,64	1,93
243	Terrenos ppalmente agrícolas, con espacios de veg. Natural	145,21	0,75
312	Bosques de coníferas	90,63	0,47
321	Pastizales naturales	37,41	0,19
323	Vegetación esclerófila	494,61	2,56
<b>Área total</b>		<b>19312,82</b>	
<b>TOLEDO ( A- 40)</b>			
121	Zonas industriales o comerciales	77,49	1,65
221	Viñedos	907,71	19,33**
323	Vegetación esclerófila	57,75	1,23
211	Tierras de labor en secano	1989,05	42,35**
112	Tejido urb discontinuo	22,61	0,48
111	Tejido urb continuo	12,40	0,26
243	Principalmente Agrícolas/ vegetación natural	34,88	0,74
321	Pastizales naturales	28,42	0,61
223	Olivares	573,50	12,21
242	Mosaico de cultivos	956,76	20,37**
324	Matorral boscoso transición	1,91	0,04
312	Bosques de coníferas	34,25	0,73
<b>Área total</b>		<b>4696,74</b>	



A.



B.



C.

Anexo 2. Promedio mensual multianual de precipitación (barras azules) y temperatura (línea roja) para 30 años de medición (1982 y 2012). A. Estación de Santa Martas (A-231), B. Tarancón (A-40) y C. Torre de Juan Abad (A-7). Datos tomados del Climate-Data.org/AM OP/ OpenStreetMap (2020).

Anexo 3. Resultados de los ensayos con el captador de insectos.

Ensayo	UTM			Tipo de vía	Nombre de la vía	Hora Inicial	km recorridos	Tiempo del recorrido (mm:ss)	Velocidad media (km/h)	Velocidad máxima (km/h)	Ganancia en altitud (m)	Pérdida de altitud (m)	Altura máxima (m)	Altura mínima (m)	# de insectos colectados
1	30 T	483638	4450903	Vial Rural asfaltado	Valderacete M320	12:11	9,31	10:34	52,86	100,24	129	-38	767	648	55
2	30 T	486773	4441363	Autovía	A3- Hacia Madrid	12:20	11,26	8:26	80,24	120,74	230	-29	763	546	77
3	30 T	486773	4450903	Vía de servicio sin asfaltar	Paralelo A40 Salida 223 - Salida 213	12:46	10,06	20:24	44,64	59,45	43	-56	813	785	25
4	30 S	494613	4427613	Autovía	A40 Salida 223- Salida 213	11:45	10,45	9:25	98,51	119,86	21	-40	810	776	27
5	30 T	496891	4429058	Vía rural sin asfaltar	Paralelo A40 Tarancón- Santa Cruz de la Zarza	11:35	10,01	17:00	46,6	62,94	67	-36	823	784	2
6	30 T	493832	4428258	Vial Rural sin asfaltar	A40 Norte Tarancón- Santa Cruz de la Zarza	12:28	10	20	29,38	60,95	40	-57	820	787	40
7	30S	486660	4423947	Vial Rural sin asfaltar	A40 Sur Tarancón- Santa Cruz de la Zarza	14:04	10,2	13	45,57	61,32	29	-45	807	778	55