



ARTÍCULO / ARTICLE

CONTROL DE PLAGAS EN CONOS Y SEMILLAS DE *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco MEDIANTE INSECTICIDAS SISTÉMICOS

PEST CONTROL IN CONES AND SEEDS OF *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco WITH SYSTEMIC INSECTICIDES

Nilo Espinosa Flores¹, Víctor Javier Arriola Padilla², Vidal Guerra de la Cruz³,
Víctor Cibrián Llanderal⁴ y Gema Galindo Flores⁵

RESUMEN

Las especies de *Pseudotsuga* en México están sujetas a protección especial de acuerdo con la NOM-059-SEMARNAT-2010 y al igual que muchas especies forestales sufren problemas de sanidad por el ataque de insectos de conos y semillas, lo que agrava la producción y disponibilidad de germoplasma, que se refleja en una escasa o nula regeneración natural. El objetivo de esta investigación consistió en medir la efectividad de tres insecticidas sistémicos para el control de plagas de conos y semillas de *Pseudotsuga menziesii* mediante la determinación del porcentaje de daños en dichas estructuras. El diseño experimental fue completamente al azar, con ocho tratamientos, cada uno con cinco repeticiones en los que un árbol era la unidad experimental. Los tratamientos se aplicaron con el sistema de microinfusión Arborjet Tree IV™; fueron acefate (86.5, 173 y 259.5 mL L⁻¹ de agua), monocrotofós (90, 180 y 270 mL L⁻¹ de agua) y thiametoxam (25 g L⁻¹ de agua), que se utilizó en dos ocasiones; se usaron 5 mL por cada centímetro de DAP del árbol, a 25 cm del nivel del suelo; y un testigo. Acefate y los monocrotofós en sus diferentes concentraciones mostraron una efectividad estadísticamente significativa ($p < 0.05$) para el porcentaje de conos dañados: monocrotofós en una concentración de 16.2 % fue el que mejor porcentaje de reducción de daño presentó (96.54 %); thiamethoxam no tuvo respuesta favorable. Estos resultados sugieren que los insectos que se alimentan de conos y semillas de *Pseudotsuga menziesii* pueden ser controlados mediante el uso del sistema de inyección en la dosis y el insecticida adecuado para minimizar el ataque.

Palabras clave: Inyección de árboles, neonicotinoide, organofosforado, plagas, *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco, traslocación.

ABSTRACT

Pseudotsuga species in Mexico are under special protection (NOM-059-SEMARNAT-2010). They face health issues due particularly to attacks by cone and seed-eating insects, which aggravate the low seed production and availability, which reflects in a limited natural regeneration of the species. This research aims to evaluate the effectiveness of three systemic insecticides for the control of pests of *Pseudotsuga menziesii* seeds and cones by determining the percentage of these damaged structures. The insecticides were evaluated using a randomized experimental design, with eight treatments and five replications of each, using a tree as an experimental unit. Treatments consisted on application of acephate (86.5, 173 and 259.5 mL L⁻¹ of water), monocrotophos (90, 180 and 270 mL L⁻¹ of water) and thiamethoxam (25 g L⁻¹ of water), and control units were included. Each tree received two 5 mL-applications per centimeter of DBH, at 25 cm from ground level, using the microinfusion system Arborjet Tree IV™. Acephate and monocrotophos at different concentrations showed statistically significant effectiveness, reducing insect attacks by over 85 %. Thiamethoxam did not show a favorable response. These results suggest that cone and seed-feeding insects of *Pseudotsuga menziesii* can be effectively controlled by using tree injection system with the right dose of the suitable insecticide.

Key words: Tree injections, neonicotinoid, organophosphate, pesticides, *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco, traslocation.

Fecha de recepción/date of receipt: 11 de abril de 2013; Fecha de aceptación/date of acceptance: 19 de septiembre de 2013.

¹ Universidad Autónoma de Tlaxcala. Centro de Investigación en Genética y Ambiente. Correo-e: olnief@hotmail.com

² Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Conservación y Mejoramiento de Ecosistemas Forestales (CENID-COMEF) INIFAP.

³ Sitio Experimental Tlaxcala, CIR-Centro, INIFAP.

⁴ Colegio de Postgraduados.

⁵ Centro de Investigación en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala.

INTRODUCCIÓN

Las especies de *Pseudotsuga* en México están sujetas a protección especial de acuerdo con la NOM-059-SEMARNAT-2010 (Semarnat, 2010). *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco se distribuye en los estados de Hidalgo, Sonora, Coahuila, Chihuahua, Nuevo León, Tamaulipas, Durango, Zacatecas, Puebla, Tlaxcala, Oaxaca y Veracruz (Rzedowski, 2006). La mayoría de sus poblaciones son pequeñas, fragmentadas y han sido impactadas por diversos factores antropogénicos, así como por plagas y enfermedades (Zavala y Méndez, 1996). Los insectos de conos y semillas, que generalmente la afectan, limitan la producción de semilla viable en bosques naturales, lo que provoca una baja disponibilidad de germoplasma.

Los conos y semillas de *P. menziesii* son atacados por insectos como *Barbara colfaxiana* Kearfoth (Sweeny y Miller, 1989), *Contarinia oregonensis* Foot (Miller, 1986), *C. washingtonensis* Johns (Johnson y Hedlin, 1963), *C. pseudotsugae* Condrashoff (Pool y Gentili, 1996) y *Pityophthorus orarius* Bright (Wood, 1982), entre otros. De acuerdo con Cibrián *et al.* (1986; 1995), los insectos asociados a las estructuras reproductivas como flores, conillos, conos y semillas de esta especie son *Apolychrosis ferruginus* Pogue, *Barbara* sp., *Choristoneura* sp., *Contarinia* sp., *Dioryctria pinicolella* Amsel, *Megastigmus* sp. y trips.

Zavala y Méndez (1996) mencionan que en el estado de Hidalgo, 45.7 % de 81 conos estudiados de *Pseudotsuga macrolepis* Flous (que en conjunto podrían haber sido portadores de unas 1 906 semillas) fueron dañados por insectos, desde 10 % de su superficie hasta su totalidad, e indican que las lesiones observadas fueron causadas por *Contarinia* (Diptera, Cecidomyiidae), *Megastigmus* sp (Hymenoptera, Torymidae) y trips (Thysanoptera, Phlaeothripidae).

En Coahuila y Tlaxcala se han registrado infestaciones severas de *Barbara* sp. las cuales destruyeron más de 90 % de los conos de *Pseudotsuga* sp. y se considera que tiene un impacto negativo en la regeneración natural del abeto (Cibrián *et al.*, 1986).

El uso de plaguicidas sistémicos es una alternativa viable para disminuir el daño ocasionado por este tipo de insectos. Rivas (1995) define a los sistemas de inyección como un método por el cual se pueden aplicar productos químicos directamente en el tronco, dentro del tejido xilemático para que sean traslocados por el sistema fisiológico del árbol y puedan llegar a partes distantes del tronco, raíces y follaje. Por medio de esta técnica se pueden suministrar también otro tipo de productos a los árboles como fertilizantes y reguladores de crecimiento.

En los últimos 30 años diversos insecticidas y técnicas de aplicación han sido probados y utilizados operativamente para controlar insectos que se alimentan del cono y la semilla en huertos semilleros de pino del suroeste de Estados Unidos de América,

INTRODUCTION

Pseudotsuga species in Mexico are subject to special protection according to the Official Mexican Standard NOM-059-SEMARNAT-2010 (Semarnat, 2010). *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco is spread through the states of Hidalgo, Sonora, Coahuila, Chihuahua, Nuevo León, Tamaulipas, Durango, Zacatecas, Puebla, Tlaxcala, Oaxaca and Veracruz (Rzedowski, 2006). Most of their populations are small and fragmented and have been impacted by various anthropogenic factors, as well as by pests and diseases (Zavala and Méndez, 1996). Cone and seed insects, which generally affect this species, limit the production of viable seeds in natural forests, thereby causing a low availability of germplasm.

P. menziesii cones and seeds are attacked by insects like *Barbara colfaxiana* Kearfoth (Sweeny and Miller, 1989), *Contarinia oregonensis* Foot (Miller, 1986), *C. washingtonensis* Johns (Johnson and Hedlin, 1963), *C. pseudotsugae* Condrashoff (Poole and Gentili, 1996) and *Pityophthorus orarius* Bright (Wood, 1982), among others. According to Cibrián *et al.* (1986; 1985), the insects associated to such reproductive structures as the flowers, conelets, cones, and seeds of this species are *Apolychrosis ferruginus* Pogue, *Barbara* sp., *Choristoneura* sp., *Contarinia* sp., *Dioryctria pinicolella* Amsel, *Megastigmus* sp. and trips.

According to Zavala and Méndez (1996), 45.7 % of the 81 *Pseudotsuga macrolepis* Flous cones studied in the state of Hidalgo (which together may have been bearers of approximately 1 906 seeds), were damaged by insects; the damages ranged from 10 % of their surface to the entire cone, and they indicate that the observed injuries were caused by *Contarinia* (Diptera, Cecidomyiidae), *Megastigmus* sp. (Hymenoptera, Torymidae) and trips (Thysanoptera, Phlaeothripidae).

Severe infestations by *Barbara* sp. have been registered in Coahuila and Tlaxcala, having destroyed over 90 % of the *Pseudotsuga* sp. cones; these infestations are considered to have a negative impact on the natural regeneration of fir trees (Cibrián *et al.*, 1986).

The use of systemic insecticides is a viable alternative to reduce the damage caused by this type of insects. Rivas (1995) defines tree injection systems as a method whereby chemicals may be applied directly to the stem, into the xylematic tissue, so that they may be translocated by the physiological system of the tree and may thus reach distant parts of the stem, roots and foliage. Other types of products -such as fertilizers and growth regulators- may also be applied to the trees with this technique.

In the last 30 years, various insecticides and application techniques have been tested and used operatively to control insects that feed on the cones and the seeds in pine seed

estos se han aplicado particularmente por aspersión y mediante inyecciones. Los insecticidas usados son Azinfosmetil, BHC (Bifenil Poli Clorinados), DDT (Dicloro Fenil Tricloroetano), Dicrotofós, Malatión, Carbofurano, y Forato, entre otros (Yates, 1968; Barber, 1984).

Merkel y De Barr (1971) aplicaron dicrotofós mediante inyectoras en dosis de 0.8-2.0 g (i.a.) por cada cm de DAP para el control de plagas en conos y semillas de *Pinus elliotii* Engelm. y obtuvieron resultados de 86-94 % y de 94 % en la disminución de daño por *Dioryctria* spp. y *Laspeyresia anaranjada* Miller respectivamente. Este insecticida fue empleado durante cuatro años y no se observaron alteraciones en el porcentaje de germinación en comparación con el testigo.

Grosman *et al.* (2002) utilizaron benzoato de emamectina al 4 %, thiamethoxam al 5 % e imidacloprid 5 %, y combinaciones entre ellos teniendo finalmente 6 tratamientos aplicados por inyección y uno por aspersión (imidacloprid y esfenvalerato) además del testigo, para el control de insectos de conos y semillas en *Pinus taeda* L. Indicaron que los tratamientos que redujeron de 94-97 % los daños por larvas de *Dyoryctria* spp durante dos años fueron los que contenían Benzoato de emamectina. Así mismo, Imidacloprid solo para el primer año, mientras que thiamethoxam e imidacloprid fueron los que mayor efectividad tuvieron para reducir el ataque a las semillas ocasionados por *Leptoglossus coarctatus* Herrich-Schäfer; se requiere de inyecciones anuales para la protección de estas estructuras reproductivas. El mejor tratamiento fue el de dos inyecciones de benzoato de emamectina más thiamethoxam; por el contrario, la aplicación del insecticida por aspersión no tuvo respuesta favorable para el control de plagas en conos y semillas de *Pinus taeda*, comparada con los demás tratamientos (35 %).

En México se han realizado aplicaciones de insecticidas sistémicos para controlar plagas de especies forestales, aunque se tienen pocos registros sobre su efectividad. Se ha empleado Furan (carbofurán) para tratar árboles de pirul con presencia de la escama *Calophya rubra* (Tuthill), Orthene (acefato) para el control de insectos chupadores, masticadores en pirul, fresno y liquidambar en la ciudad de México (Rivas, 1995). Franco y Martínez (2001) evaluaron la efectividad de dos sistemas de inyección y diferentes tratamientos para el control de *Phloeosinus tacubayae* Hopkins y determinaron que existe efecto positivo al suministrar el insecticida bajo cualquier método de inyección en *Cupressus lindleyi* L. para el control del descortezador, de lo que resultó ser el producto más efectivo, imidacloprid inyectado con jeringa tipo Wedgle.

El daño que causan los insectos de conos y semillas en *Pseudotsuga* repercute seriamente, ya que la cantidad disponible de semilla sana disminuye y trae como consecuencia una menor probabilidad de regeneración natural, lo que pone

orchards of Southwest USA; these have been applied particularly by means of aspersion and injections. The pesticides used include Azinphos-Methyl, PCBs (Polychlorinated Biphenyls), DDT (Dichloro Diphenyl Trichloroethane), Dicrotophos, Malathion, Carbofuran and Phorate (Yates, 1986; Barber, 1984).

Merkel and De Barr (1971) applied dicrotophos by means of injectors in doses of 0.8-2.0 g (a. i.) for each cm of DBH for pest control in *Pinus elliotii* Engelm. cones and seeds, resulting in a 86-94 % and 94 % reduction of the damages caused by *Dioryctria* spp. and *Laspeyresia anaranjada* Miller, respectively. This pesticide was administered during four years, and no alterations in the germination percentage were observed compared to the control.

Grosman *et al.* (2002) used emamectin benzoate at 4 %, thiamethoxam at 5 % and imidacloprid at 5 %, as well as combinations of these, eventually applying 6 treatments by injection, and one treatment (with imidacloprid and esphenvalerate) by aspersion, apart from the control, for the elimination of *Pinus taeda* cone and seed insects. These authors indicated that the treatments containing emamectin benzoate reduced by up to 94-97 % the damages caused by *Dyoryctria* spp larvae during a two-year period. Also, imidacloprid was effective only during the first year, while thiamethoxam and imidacloprid were most effective in reducing the attack to seeds by *Leptoglossus coarctatus* Herrich-Schäfer. Yearly injections are required to protect these reproductive structures. The best treatment consisted of two injections of emamectin benzoate and thiamethoxam; on the other hand, pesticide application by aspersion did not produce a favorable response for pest control in *Pinus taeda* cones or seeds, compared to the other treatments (35 %).

Systemic insecticides have been applied in Mexico in order to control pests of forest species, although records of their effectiveness are scarce. Furan (carbofuran) has been used to treat Peruvian peppertrees attacked by the *Calophya rubra* (Tuthill) scale. Orthene (acephate) has been utilized for the control of sucking and chewing insects in the Peruvian peppertree, ash and Oriental sweetgum in Mexico (Rivas, 1995). Franco and Martínez (2001) assessed the effectiveness of two injection systems and different treatments for the control of *Phloeosinus tacubayae* Hopkins, and they determined that there is a positive effect in the application of the insecticide by any injection method on *Cupressus lindleyi* L trees for the control of the bark beetle; the most effective treatment turned out to be imidacloprid injected with a Wedge type needle.

The damage caused by insects in *Pseudotsuga* cones and seeds has serious repercussions, as the available amount of healthy seeds is reduced, which results in a lower likelihood of natural regeneration, thereby endangering the future permanence of this species. The use of systemic pesticides by injection may be an alternative for reducing the damage

en riesgo la permanencia futura de esta especie. El uso de insecticidas sistémicos a través de inyecciones es una alternativa para disminuir el daño ocasionado por los insectos; sin embargo, se desconoce el producto y la dosis adecuados para controlar el ataque de estas plagas. Por lo anterior, en la presente investigación se planteó como objetivo evaluar la efectividad de tres insecticidas sistémicos en diferentes concentraciones para el control del daño en conos y semillas de *Pseudotsuga menziesii*.

MATERIALES Y MÉTODOS

El área de estudio se localiza en Cruz de León, municipio de Ixtacamaxitlán, Puebla, situado en la parte norte del estado en las siguientes coordenadas: 19° 27' 18" norte y 97° 02' 54" oeste. Se seleccionaron 40 árboles con evidencias de producción de conos; el diámetro promedio a la altura de pecho (DAP) fue de 31 cm y 22 m de altura.

Previo a la aplicación de los insecticidas se determinaron los insectos sobre los cuales se evaluarían, a través de la recolecta de conos plagados, que se identificaron por el exceso de resina y por estar barrenados; estas muestras fueron confinadas en cámaras de cría hasta la emergencia de adultos. A partir de los especímenes obtenidos se identificaron *Apolychrosis ferruginus* (Pogue) y *Dyoryctria pinicolella* (Amsel) que, de acuerdo con Cibrián *et al.* (1995) se alimentan del cono y de las semillas. Al disectar la semilla se advirtió la presencia de *Megastigmus* sp.

Se utilizaron tres insecticidas sistémicos; acefate y monocrotofós, que pertenecen al grupo de los organofosforados y thiamethoxam del grupo de los neonicotinoides. Los dos primeros se aplicaron en tres concentraciones y el segundo en una sola (Cuadro 1), debido a que este insecticida tuvo problemas de translocación a causa de la acuosidad del producto.

Los productos se aplicaron mediante el sistema de microinfusión *Arborjet Tree IV™*, a una altura de 25 cm del fuste a razón de 5 mL por cada centímetro de diámetro a la altura del pecho (Conafor, s/f). Se realizaron dos aplicaciones a cada unidad experimental (árbol); la primera en abril de 2010, época en la que ocurre el rompimiento de las yemas de los conos y la floración y en la cual se observó el ataque de los conos por *Dyoryctria pinicolella* (Amsel) y *Apolychrosis ferruginus* (Pogue). La segunda en junio del mismo año, etapa de alargamiento de conos y se usó como refuerzo para evitar el ataque de *Megastigmus* sp., ya que en este período se verifica el parasitismo en semillas.

caused by insects. However, the right insecticide and dose to control attacks by these pests are unknown. Consequently, this research established as its goal to assess the effectiveness of three systemic insecticides in different concentrations for the control of damages in *Pseudotsuga menziesii* cones and seeds.

MATERIALS AND METHODS

The study area is located in *Cruz de León*, in the Municipality of Ixtacamaxitlán, Puebla, in the north of the state, at coordinates 19° 27' 18" north and 97° 02' 54" west. 40 trees showing evidence of cone production were selected; the mean diameter at breast height (DBH) was 31 cm and the height was 22 m.

Previously to the application of the insecticides, the insects on which they would be assessed were selected by means of the collection of infested cones, which are identified by their excessive amount of resin and because they are drilled. These samples were confined in brood chambers until adult insects emerged. *Apolychrosis ferruginus* (Pogue) and *Dyoryctria pinicolella* (Amsel) were identified in the collected specimens; according to Cibrián *et al.* (1995), these insects feed on the cones and the seeds. When the seeds were dissected, the presence of *Megastigmus* sp was observed.

Three systemic insecticides were used: acephate and monocrotophos, which belong to the group of organophosphates, and thiamethoxam, which belongs to the group of the neonicotinoids. The former two were applied in three concentrations, and the latter, in a single concentration (Table 1), as this insecticide had translocation issues due to the wateriness of the product.

The products were applied with the *Arborjet Tree IV™* microinfusion system, at a stem height of 25 cm, in a proportion of 5 mL for every centimeter of diameter at breast height (Conafor, s/f). Two applications were made to each experimental unit (tree) –the first, in April 2010, the flowering period, when the cone buds broke and when the cones were observed to be attacked by *Dyoryctria pinicolella* (Amsel) and *Apolychrosis ferruginus* (Pogue), and the second, in June 2010, the stage during which the size of the cones grows in length, when the product was utilized to avoid attack by *Megastigmus* sp., as it is during this period that seed parasitism occurs.

A completely random experimental design was used, with seven treatments and one control, with five repetitions (trees) per treatment. In order to assess the damage caused by cone and seed boring moths (*Dyoryctria pinicolella* and *Apolychrosis ferruginus*), a single collection of mature cones (showing a golden brown cover) was carried out from September 25th to October 9th, 2010; the assessed variable was the percentage of damaged cones, and therefore, the largest possible amount of cones were collected from each tree.



Cuadro 1. Preparación de los tratamientos para el control de plagas en conos y semillas de *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco.
Table 1. Preparation of the treatments for pest control in *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco cones and seeds.

Tratamiento	Insecticida	Cantidad g mL ⁻¹	Volumen de aforo (mL)	Concentración (%)	Volumen de inyección (mL cm mL ⁻¹ DAP)	Dosis 2 inyecciones (g cm mL ⁻¹ DAP)
T1	Testigo	----	----	----	----	----
T2	Thiamethoxam (25 %)	25*	1 000	0.63	5	0.03
T3	Acefate (97 %)	86.5	1 000	8.4	5	0.42
T4	Acefate (97 %)	173	1 000	16.8	5	0.84
T5	Acefate (97 %)	259.5	1 000	25.2	5	1.26
T6	Monocrotofós (60 %)	90	1 000	5.4	5	0.27
T7	Monocrotofós (60%)	180	1000	10.8	5	0.54
T8	Monocrotofós (60%)	270	1000	16.2	5	0.81

T= Tratamiento; g=gramos; DAP=Diámetro a la Altura del Pecho.

T= Treatment; g=grams; DAP=Diameter at Breast Height.

El diseño experimental utilizado fue completamente al azar, con siete tratamientos y un testigo, con cinco repeticiones (árboles) por tratamiento. Para evaluar el daño por barrenadores de conos y semillas (*Doryctria pinicolella* y *Apolychrosis ferruginus*) se realizó una sola colecta de conos maduros (que mostraban la cubierta café dorada) del 25 septiembre al 9 de octubre del 2010; la variable evaluada fue el porcentaje de conos dañados, por lo que de cada árbol se cosechó la mayor cantidad posible.

Para determinar el nivel de daño por *Megastigmus* sp. se evaluó la variable porcentaje de semillas dañadas. Del total de conos por árbol se extrajo 10 % de las semillas que posteriormente se analizaron en radiografías de acuerdo con los procedimientos reportados por De Barr (1970) y Bramlett *et al.* (1978) y se clasificaron como llenas, vanas y con insectos. Para conocer el porcentaje de reducción de daño se compararon con el testigo.

Los datos de las variables porcentaje de reducción de conos y semillas dañadas no evidenciaron una distribución normal, por lo que se hizo la transformación de los datos con logaritmos $\log_{10}(X+1)$, raíz cuadrada y arco seno, para aplicar la prueba de F (Fisher) a través del Modelo Lineal General. Para las pruebas de comparación de medias, en los casos donde existieran diferencias significativas entre tratamientos, se usó la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$). El análisis se realizó en el programa estadístico SPSS 17.0 (SPSS, 2008).



The percentage of damaged seeds variable was evaluated to determine the level of damage caused by *Megastigmus* sp. 10 % of the seeds of the total cones per tree were extracted and subsequently analyzed with X-rays according to the procedures reported by De Barr (1970) and Bramlett *et al.* (1978), and they were classified as full, empty and with insects. In order to know the percentage of damage reduction, they were compared to the control.

The data of the percentage of reduction of damaged cones and seeds variable did not show a normal distribution; therefore, the data were transformed with $\log_{10}(X+1)$ logarithms, square root and arcsine, in order to apply the F (Fisher) test using the General Linear Model. The Tukey test ($\alpha=0.05$) was applied for mean hg comparison in those cases where there were significant differences between treatments. The analysis was performed using the statistical software SPSS 17.0 (SPSS, 2008).

RESULTS AND DISCUSSION

The level of *Pseudotsuga menziesii* cone and seed infestation by insects was higher for the percentage of damaged cones variable (46.35 %), as the incidence of *Apolychrosis ferruginus* and *Doryctria pinicolella* larvae was higher, while the incidence of seed damage by *Megastigmus* sp. was low (2.8 %).

The damage found in this locality is severe, as 341 (46 %) of the average number of cones (712) analyzed for the control showed an overall damage caused by insect larvae a similar percentage to that registered by Zavala and Méndez (1996),

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El nivel de infestación por insectos de conos y semillas de *Pseudotsuga menziesii* fue mayor para la variable porcentaje de conos dañados (46.35 %), ya que fue mayor incidencia de larvas de *Apolychrosis ferruginus* y *Dyorictria pinicolella*, en tanto que la incidencia de daño a la semilla por *Megastigmus* sp. fue bajo (2.8 %).

El daño que se observó en esta localidad es severo, puesto que del promedio (712) de conos analizados para el testigo, 341 (46 %) mostraron en su totalidad afectación por larvas de insectos, valor similar al registrado por Zavala y Méndez (1996), quienes indican 45.7 % para *P. macrolepis* en el estado de Hidalgo, con una afectación del cono fue de 10 hasta 100 %.

En el análisis de varianza se determinó una $F=17.208$ y $Pr > F =0.000$, con una confiabilidad de 95 % ($\alpha=0.05$), por lo que se no se acepta la hipótesis nula y se considera que al menos uno de los tratamientos es efectivo para el control de plagas en conos de *P. menziesii*.

Al realizar la comparación de medias mediante la prueba Tukey (Cuadro 2) se observó un efecto positivo en seis de los siete tratamientos, ya que lograron disminuir la incidencia de las larvas de *Apolychrosis ferruginus* y *Dyorictria pinicolella* en los conos, en más de 96.54 % (Figura 1).

Cuadro 2. Comparación de medias de tratamientos para el porcentaje promedio de daño en conos de *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco. mediante la prueba de Tukey.

Table 2. Mean comparison of the treatments for the average percentage of damage in *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco cones, using the Tukey test.

Tratamiento	Media	Conos analizados
Testigo	46.31 a	712
Thiamethoxam 0.63 %	44.21 a	764
Acefate 8.4 %	15.00 b	191
Acefate 25.2 %	12.06 b c	556
Acefate 16.8 %	7.68 b c	446
Monocrotofós 5.4 %	6.71 b c	1741
Monocrotofós 10.8 %	2.34 b c	882
Monocrotofós 16.2 %	1.60 c	714

Medias con la misma letra no son estadísticamente diferentes.
Means with the same letter are not statistically different.

Los insecticidas organofosforados (acefate y monocrotofós) en sus diferentes concentraciones presentaron diferencias estadísticamente significativas del testigo, en contraste, el thiamethoxam no tuvo respuesta favorable, de 764 conos analizados 44.21 % evidenció daño por insectos (Cuadro 2). Monocrotofós al 16.2 %, la concentración más alta de este

who indicated 45.7 % for *P. macrolepis* in the state of Hidalgo; this shows that the damage to the cone ranged between 10 and 100 %.

The values found in the variance analysis for this variable were $F=17.208$ and $Pr > F =0.000$, with a 95 % confidence interval ($\alpha=0.05$); therefore, a null hypothesis is not accepted, and at least one of the treatments is considered to be effective for pest control in *P. menziesii* cones.

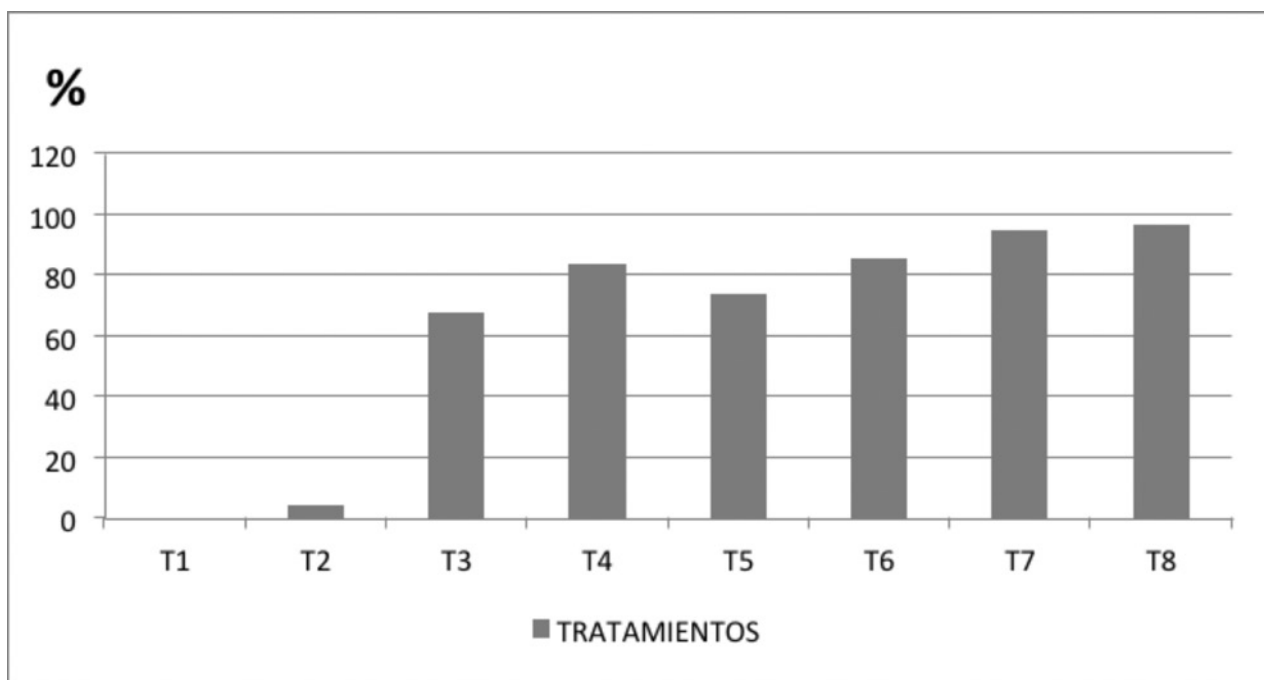
During the mean comparison with the Tukey test (Table 2), a positive effect was observed to exist with six of the seven treatments, since they succeeded in reducing the incidence of *Apolychrosis ferruginus* and *Dyorictria pinicolella* insect larvae in the cones by over 96.54 % (Figure 1).

Organophosphate insecticides (acefate and monocrotofós) in its different concentrations showed statistically significant differences in relation to the control; on the other hand, thiamethoxam did not produce a favorable response, as 44.21 % of the 764 analyzed cones showed damage caused by insects (Table 2). Monocrotofós at 16.2 %, the highest concentration of this insecticide, was the only treatment that showed no similarities with any other and the one with the least incidence of damage caused by insect larvae. According to the analysis of the damage reduction rates compared to the control (Figure 1), the reduction rate for treatments that differed

from the control ranged between 67.51 % and 96.54 %. The various concentrations of monocrotofós, which belongs to the third, highly toxic class, had the highest damage reduction rates, particularly monocrotofós at 16.2 % a. i.

insecticida, fue el único tratamiento que no mostró similitud con ningún otro y el que tuvo menor incidencia de daño por larvas. Al analizar el porcentaje de disminución de daño con respecto al testigo (Figura 1), se determinó que la disminución, para los tratamientos diferentes a este, fue de 67.51 % a 96.54 %, y que las concentraciones de monocrotofós correspondientes a la clase toxicológica III, altamente tóxica, registraron los porcentajes más altos de disminución de daño, particularmente los monocrotofós al 16.2 % de i.a.

Generally, the percentage of damage reduction in *P. menziessi* cones was more effective with higher doses and a higher toxicity of the insecticide (Table 2). This is particularly true for monocrotophos in its various concentrations, which were the treatments that yielded best results. However, this tendency was not observed with acephate, as the concentration at 16.8 % (T4) reduced the damage rate by 83 %, while the concentration at 25.2 % (T5) reduced it by 73.9 %. This response may be due to the fact that the solution was denser as a result of the higher



Tratamientos= Treatments

Figura 1. Porcentaje de reducción de daño en conos de *Pseudotsuga menziessi* (Mirb.) Franco con los diferentes tratamientos de insecticidas sistémicos.

Figure 1. Percentage of damage reduction in *Pseudotsuga menziessi* (Mirb.) Franco cones with the different systemic insecticide treatments.

En general, el porcentaje de reducción de daño en conos de *P. menziessi* fue más efectivo a mayor dosis y alta toxicidad del insecticida (Cuadro 2), esto es particularmente cierto para los monocrotofós en sus diferentes concentraciones, que fueron los tratamientos con mejores resultados. Sin embargo, esta tendencia no se observó con el acefate, ya que la concentración de 16.8 % (T4) redujo el daño en 83 %, mientras que al 25.2 % (T5), lo hizo en 73.9 %. Lo anterior pudo deberse a que con una mayor concentración de i. a., la solución quedó más densa y probablemente causó que la translocación del producto no fuera favorable en algunos de los árboles, y en consecuencia mostró un menor porcentaje de reducción de daño.

Respuesta que se corrobora con el thiamethoxam, producto del que solo se utilizó una concentración, debido a que al momento de la preparación estaba espeso y por consiguiente fue difícil su traslocación, e incluso se considera que no traslocó, ya que los valores en los análisis fueron similares a los del testigo.

a. i. concentration, which probably caused the translocation of the product to be unfavorable in some of the trees, and therefore showed a lower damage reduction rate.

This may be verified with thiamethoxam, an insecticide of which only one concentration was used because at the moment of the preparation the product was thick, and therefore its translocation was difficult; it was even considered that the product did not translocate because the values obtained in the analysis are similar to those of the control.

The findings of this study are similar to those mentioned by Grosman *et al.*, (2002), who recorded damage reduction rates of 94.1, 80.6 and 63.9 % in *Pinus taeda* cones for emamectine benzoate at 4 % plus thiamethoxam at 5 % and imidacloprid at 5 %, respectively, compared to the control.

Los resultados encontrados en este estudio, son similares a los mencionados por Grosman *et al.* (2002), quienes registraron reducciones de daño en conos de *Pinus taeda* de 94.1, 80.6 y 63.9 %, para benzoato de emacetina al 4 %, benzoato de emacetina más 5 % de thiamethoxam, e imidacloprid al 5 % respectivamente, comparados con el testigo.

Por otra parte, Merkel y De Barr (1971) aplicaron dicotrofos líquidos en dosis de 0.8-2.0 g i.a. por cada centímetro de DAP, con una efectividad de 86-94 % de reducción de daño por *Dioryctria* spp y de 94-100 % para el control de *Laspeyresia anaranjada* Miller., en conos y semillas de *Pinus elliotii* Engelm.

Adicionalmente se observaron algunas características de fitotoxicidad en los conos, cuyo color en los tratamientos 7 y 8 (con mayor cantidad de insecticida y con alta toxicidad) tuvieron una coloración más café, con respecto a los demás, así como amarillamiento en las acículas de los árboles. Se recomienda realizar un estudio más detallado para corroborar dicho efecto.

Porcentaje de semillas dañadas de *Pseudotsuga menziesii*

El análisis de varianza evidenció diferencia estadística entre tratamientos, con un valor de F de 2.772, $Pr > F = 0.024$ y una confiabilidad de 95 % ($\alpha=0.05$), por lo que no se acepta la hipótesis nula.

Cuadro 3. Comparación de medias mediante la prueba de Tukey para la variable porcentaje de semillas dañadas, vanas y sanas de *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco, con un nivel de significancia $\alpha=0.05$.

Table 3. Mean comparison using the Tukey test for the percentage of damaged, empty and healthy *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco seeds, with a significance level of $\alpha=0.05$.

Treatment	Damaged seeds	Empty seeds	Healthy seeds	Seeds analyzed
Testigo	2.85 a	61.33 a	35.81 a	2 221
Acefate 8.4 %	2.03 a b	56.07 a	49.52 a	2 343
Thiamethoxam 0.63 %	1.56 a b	48.91 a	41.90 a	1 430
Monocrotofós 5.4 %	1.19 a b	68.70 a	38.81 a	2 313
Acefate 25.2 %	0.78 a b	59.67 a	39.54 a	2 204
Monocrotofós 16.2 %	0.45 a b	67.70 a	30.54 a	6 051
Acefate 16.8 %	0.12 a b	61.06 a	42.35 a	3 169
Monocrotofós 10.8 %	0.03 b	57.24 a	31.16 a	2 965

Medias con la misma letra no son estadísticamente diferentes

Means with the same letter are not statistically different

Al realizar la comparación de medias mediante la prueba de Tukey para el porcentaje de semillas dañadas resultó que monocrotofós al 10.8 % fue el tratamiento que produjo mayor reducción de daño y el único que no tuvo similitud con otro tratamiento, con una sola semilla dañada de 2 965 analizadas (Cuadro 3). Por otro lado, para el porcentaje de semillas sanas y

On the other hand, Merkel and De Barr (1971) applied fluid dicotrophos in doses of 0.8-2.0 g a. i. for every centimeter of DBH, reporting an effectiveness of 86-94 % in the reduction of damage caused by *Dioryctria* spp, and of 94-100 % for the control of *Laspeyresia anaranjada* Miller in *Pinus elliotii* Engelm. cones and seeds.

Furthermore, certain features of phytotoxicity were observed in the cones; the cones of treatments 7 and 8 (to which the largest amounts of highly toxic insecticides were applied) showed a more brownish hue than the rest of the cones, as well as yellowing of the tree needles. A more detailed study is recommended in order to verify this effect.

Percentage of damaged *Pseudotsuga menziesii* seeds

For this variable, the variance analysis showed a statistical difference between treatments, with an F value of 2.772, $Pr > F = 0.024$, and a 95 % confidence interval ($\alpha=0.05$); therefore, the null hypothesis is not accepted.

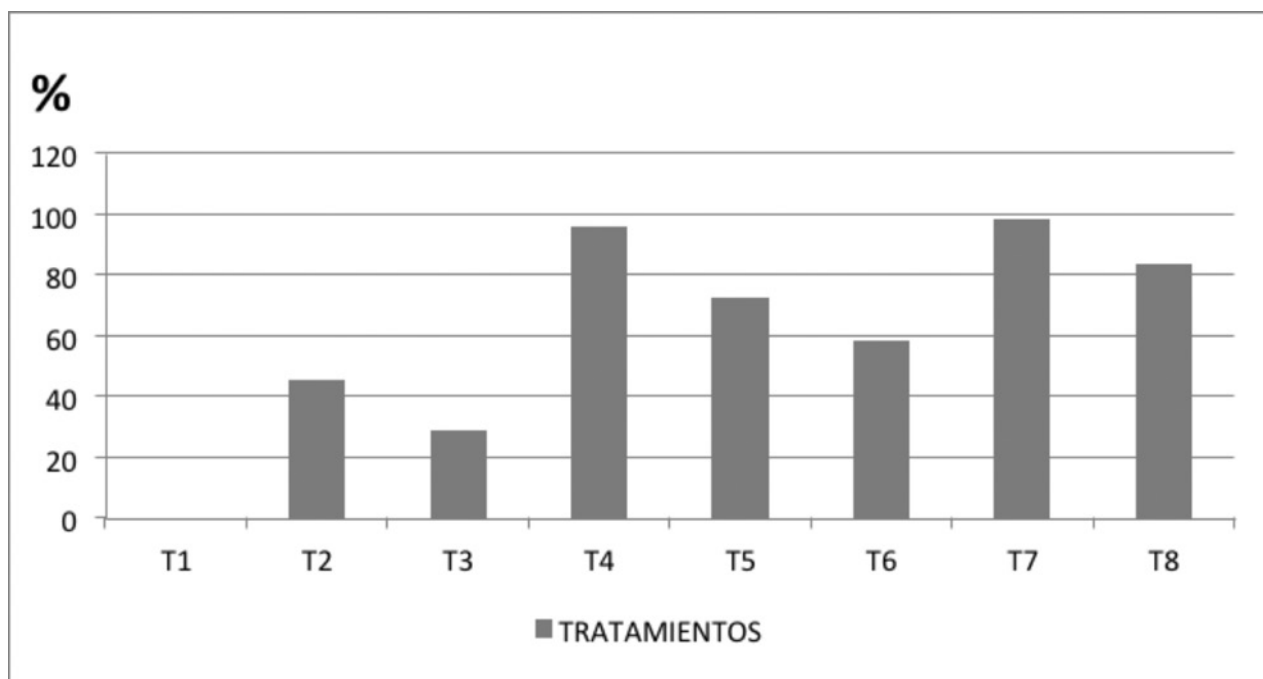
The mean comparison using the Tukey test for the percentage of damaged seeds showed that monocrotofós at 10.8 % was the treatment with highest damage reduction rates and the only one that had no similarities with any other treatment, with only one damaged seed out of 2 965 analyzed seeds (Table 3). On

the other hand, there were no statistically significant differences between treatments for the percentages of healthy and empty seeds; i.e. the application of the insecticides had no effect on these variables.

vanas no existió diferencia estadística significativa entre los tratamientos; es decir, la aplicación de los insecticidas no repercutió en estas variables.

El porcentaje de reducción de daño, con respecto al testigo, correspondiente a los tratamientos 7 y 8 mostró mayor efectividad con 98.7 y 95.7 %, respectivamente; con acefate al 8.4 % se logró el mejor resultado (Figura 2), que el ocasionado por *Megastigmus* sp.; en este estudio fue de 2.85 %, mientras que Pérez (1996) calculó valores de 1.46 y 0.09 % de afectación por dicho agente, que se alimenta de las semillas de *Pseudotsuga*, en Tlaxco y Terrenate respectivamente, los cuales son menores a los registrados en Cruz de León.

Regarding the damage reduction rates compared to the control, treatments 7 and 8 showed a higher effectiveness, with 98.7 % and 95.7 %, respectively. A higher damage reduction rate was achieved with acefate at 8.4 % (Figure 2) as the damage caused by *Megastigmus* sp. according to the present study was 2.85 %, while Pérez (1996) estimated that the percentages of damage caused by this agent, which feeds on *Pseudotsuga* seeds, were 1.46 % in Tlaxco and 0.09 % in Terrenate; these values are lower than those found in Cruz de León.



Tratamientos= Treatments

Figura 2. Porcentaje de reducción de daño a las semillas de *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco con diferentes tratamientos de insecticidas sistémicos.

Figure 2. Damage reduction rate in *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco seeds with different treatments using systemic insecticides.

Grosman *et al.* (2000) indican que la reducción de daño por *Leptoglossus coarctatus* Herrich-Schafer de 94-97 % en semillas de *Pinus taeda* resultó de aplicar benzoato de emamectina al 4 %, y otras mezclas con thiamethoxam al 4 % e imidacloprid al 5 %. Adicionalmente, indican que se requiere de inyecciones anuales para la protección de conos y semillas en esta especie.

For their part, Grosman *et al.* (2000) mention a damage reduction rate of 94-97 % resulting from the application of emamectine benzoate at 4 % on *Pinus taeda* seeds, other insecticides mixed with thiamethoxam at 4 %, and imidacloprid at 5 %. Furthermore, they point out that yearly injections are required in order to protect the cones and seeds of this species.

Al momento de analizar las semillas se detectó que un alto porcentaje de ellas estaban vanas (50 %) (Cuadro 2); esta condición es atribuida a la autopolinización, debido a que *P. menziesii* tiene poblaciones muy pequeñas y aisladas (Allen y Owens, 1972), especialmente en el centro del país, lo cual favorece el aborto del embrión ocasionado por genes letales homocigóticos.

Analysis of the seeds showed that a higher percentage of these (50 %) were empty (Table 2). This condition is usually ascribed to self-pollination, as this species has very small, isolated populations (Allen and Owens, 1972), particularly in the central region of the country, a circumstance that favors abortion of the embryo due to lethal homozygotic genes.

Zavala y Méndez (1995) registraron 53.6 % de semillas vanas para la especie en el estado de Hidalgo y lo atribuyeron a lo anterior. El porcentaje observado en el presente estudio fue superior (Cuadro 3), y se presume que puede estar asociado a los mismos factores.

En este contexto, el número de semillas sanas contabilizado es bajo (35 %), si se considera al testigo como línea base; hallazgo que confirma lo expresado por Mápula *et al.* (2007) en el sentido de que la producción de semilla llena de *Pseudotsuga* es sumamente escasa en todas las poblaciones conocidas de México.

La cantidad de semilla está amenazada por varias causas: una recurrente baja producción y por árboles aislados, e insuficientes conos masculinos para proveer de polen a los demás, lo cual origina alta autopolinización, que ocasiona una baja viabilidad, particularmente, en años semilleros (Orr-Ewing, 1957; Allen y Owens, 1972). Dicho panorama puede estar presente en el rodal estudiado.

CONCLUSIONES

El efecto que tienen los insecticidas para disminuir el daño por insectos de conos y semillas, aumentan la cantidad de conos sanos y en consecuencia también hay un mayor número de semillas sanas disponibles.

Para la variable porcentaje de conos dañados existió un efecto positivo en seis de los siete tratamientos, para controlar el ataque de los insectos a los conos de *Pseudotsuga menziesii*.

Por su mayor efectividad destacan monocrotofos al 16.2 % (259.5 mL de i. a.), por el mayor porcentaje de reducción de daño. La escasa o nula respuesta del thiamethoxam debe analizarse con más detalle, porque pudo haber presentado más problemas de traslocación, que de reactividad en el control de las plagas observadas.

Para el porcentaje de semilla dañada, solo el monocrotofos al 10 % mostró una clara reducción del daño a la semilla, aunque en general las afectaciones observadas en el presente estudio fueron relativamente bajas.

AGRADECIMIENTOS

El presente estudio fue posible gracias al financiamiento otorgado por el Fondo Mixto Conacyt-Gobierno del Estado de Puebla, a través del proyecto M0015-2008-1-108534.

Zavala and Méndez (1995) recorded 53.6 % of empty seeds for this species in the state of Hidalgo and ascribed this characteristic to the above cause. A higher percentage was observed in the present study (Table 3), and we presume that it may be associated to the same factors.

In this context, the count of healthy seeds in this study is low (35 %), with the control as baseline. This finding confirms the statement by Mápula *et al.* (2007) that the production of full *Pseudotsuga* seeds is extremely scarce in all the known populations of Mexico.

The seeds are threatened by various factors, such as a recurrent low production and tree isolation, as well as an insufficient number of male cones to provide pollen to the rest; this results in a high self-pollination, and therefore, a low viability, particularly during the seed years (Orr-Ewing, 1957; Allen and Owens, 1972). This scenario may be present in the studied stand.

CONCLUSIONS

The effect of insecticides in reducing damage caused by insects in cones and seeds is adequate, as these chemicals increase the amount of healthy cones and, therefore, the number of healthy seeds available.

Six out of the seven treatments had a positive effect on the percentage of damaged cones variable in the control of attacks to *Pseudotsuga menziesii* cones by insects.

Monocrotophos at 16.2 % (159.5 mL a. i.) stands out for its higher effectiveness, as it achieved the highest damage reduction rate. The low or non-existent response to thiamethoxam must be analyzed in further detail, because it may have entailed more translocation issues than reactivity issues in the control of the observed pests.

Only monocrotophos at 10 % produced a clear reduction of seed damage, although in general the baseline damage found in the present study was low.

ACKNOWLEDGEMENTS

The present study was made possible thanks to the funding by the Mixed Fund of Conacyt and the Government of the State of Puebla, through Project M0015-2008-1-108534.

End of the English version



REFERENCIAS

- Allen, G. S. and J. N. Owens. 1972. The life history of Douglas-fir. Environment Canada Forest Service. Ottawa, Canada. 139 p.
- Barber, L. R. 1984. Insecticide application methods for southern pine seed orchards. In: IUFRO Proceedings of the Working Party Conference on Cone and Seed Insect. USDA Forest Service. Southeastern Forest Experimental Station. Knoxville, TN. USA. Rep. SE 64, pp. 1295-1298.
- Bramlett, D. L., E. W. Belcher, G. L. DeBarr, G. D. Hertel, R. P. Karrfalt, C. W. Lantz, T. Miller, K. D. Ware and H. O. Yates III. 1977. Cone analysis of southern pines: A guide book. Gen. Tech., USDA Forest Service, Southeastern Forest Experiment Station. Asheville, NC. USA. Rep. SE. 13. 28 p.
- Cibrián T., D., B. Ebel, H. Yates y J. Méndez M. 1986. Insectos de conos y semillas de las coníferas de México. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, Edo. de Méx., México/ USDA Forest Service. Asheville, NC. USA. 110 p.
- Cibrián T., D., J. Méndez M., R. Campos B., H. Yates O. y J. Flores L. 1995. Insectos forestales de México/Forest insects of México Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, Edo. de Méx., México/ USDA Forest Service. Asheville, NC. USA. 453 p.
- Comisión Nacional Forestal (Conafor) s/f. *Pseudotsuga menziesii*. Serie: Paquetes tecnológicos. Guadalajara, Jal., México. 6 p.
- Franco I., Ma. G. y A. L. Martínez R. 2001. Bioensayo sobre la efectividad de dos insecticidas sistémicos en el descortezador *Phloeosinus tacubayae* Hopkins. Universidad Autónoma Chapingo. División de Ciencias Forestales. Texcoco, Edo. de Méx. México. 52 p.
- Grosman, D. M., W. W. Upton, F. A. Mc Cook and R. F. Billings. 2002. Systemic insecticide injection for control of cone and seed insect in loblolly pine seed orchards- two years results. South. J. Appl. For. 26 (3): 145-152.
- Jhonsen, N. E. and A. F. Hedlin. 1963. Life history and habits of a Midge *Contarinia washingtonensis* Jhons (Diptera: Cecidiomyiidae) in Douglas-fir cones. Forest Entomology and Pathology Branch, No. 974. Department of Forestry, Ottawa, Canada and Weyerhouser Company, Forest Research Center, Centralia, Washington, DC. USA. 86 p.
- Mápula, L. M., J. López U., J. J. Vargas H. and A. Hernández L. 2007. Reproductive indicators in natural populations of Douglas-fir in México. Biodiversity and Conservation 16: 727-742.
- Merkel, E. P. and G. L. DeBarr. 1971. Trunk implantations of diatrophos for cone insect control in slash pine seed production stands. J. Econ. Entomol. 64:1295-1298.
- Miller, G. E. 1986. Damage prediction for *Contarinia oregonensis* Foote (Diptera: Cecidiomyiidae) in Douglas-fir seed orchards. The Canadian Entomologist 118: 1297-1306.
- Orr-Ewing, A. L. 1957. A cytological study of the effects of self-pollination on *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco. Silvae Genetic. 6(5): 179-185.
- Rivas, D. 1995. Inyecciones sistémicas en los árboles. Preparatoria agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, Edo. de Méx. México. 15 p.
- Pérez S., M. A. 1996. Producción y viabilidad de semillas de *Pseudotsuga macrolepis* Flous, en las localidades de Tlaxco y Terrenate, Tlaxcala. Universidad Autónoma de Tlaxcala. Departamento de Agrobiología. Ixtacuixtla Tlax. México. 127 p.
- Poole R. W. and P. Gentili. 1996. Nomina insecta nearctica: a checklist of the insects of North America. Vol. 3. Entomological Information Services. Rockville, MD. USA. <http://www.nearctica.com/nomina/main.htm> (20 de octubre de 2012).
- Rzedowski, J. 2006. Vegetación de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, 1ª. Edición digital México, D.F. México. 504 p. (http://www.biodiversidadgob.mx/publicaciones/librosDig/pdf/VegetaciónMx_cont.pdf) (2 de febrero de 2013).
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (Semarnat). 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, que determina la Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación 30/12/2010. Secretaría de Gobernación. México, D. F. México. 78 p.
- Statistical Package for the Social Sciences (SPSS). 2008. SPSS Base (17.0) user's manual. SPSS Inc. Chicago, IL. USA. 637 p.
- Sweeny, J. D. and G. E. Miller. 1989. Distribution of *Barbara colfaxiana* Kearfortt (Lepidoptera: Tortricidae) eggs with and among egg densities. The Canadian Entomologist 121: 569-578.
- Wood, S. L. 1982. The bark and ambrosia beetles of North and Central America (Coleoptera: Scolytidae). A taxonomic Monograph. Great Basin Nrrur. Memoirs. 6. Brigham Young University. Provo, UT. USA. 1659 p.
- Yates, H. O. III. 1968. A realistic look at seed orchard pest control. In: Proc. SE Area For. Nurserymen Conf. Stone Mountain, GA. USA. pp. 93-98.
- Zavala Ch., F. y T. Méndez M. 1996. Factores que afectan la producción de semillas de *Pseudotsuga macrolepis* Flous en el estado de Hidalgo, México. Acta Botánica Mexicana 36:1-13.





J
J.A. Lobato