



NOTA DE INVESTIGACIÓN / RESEARCH NOTE

# EFFECTO DEL RECUBRIMIENTO QUÍMICO DE SEMILLAS DE TRES ESPECIES EN EL CONSUMO POR ARDILLA GRIS

## EFFECT OF CHEMICAL COATING OVER SEEDS OF THREE SPECIES IN THE CONSUMPTION OF RED-BELLIED SQUIRRELS

Gilberto Chávez-León<sup>1</sup> y Claudia Méndez Espinoza<sup>1</sup>

### RESUMEN

Un factor que limita el éxito de la dispersión de semillas con fines de reforestación es su consumo por la fauna silvestre, por lo que se ha propuesto el recubrimiento o peletizado con productos químicos como repelente a los consumidores. Para determinar su efecto en ardillas grises (*Sciurus aureogaster*), se les ofrecieron semillas recubiertas de *Pinus ayacahuite*, *P. cembroides* y *Enterolobium cyclocarpum* en pruebas pareadas realizadas en el Vivero de Coyoacán, D. F. Se evaluaron tres tratamientos de peletizado por especie; los componentes activos fueron un condicionante aversivo (cloruro de litio), un fungicida (dicarboximida), un insecticida (lambda cialotrina) y un conservador (benzoato de sodio). Al localizar una ardilla se le presentaron dos semillas: una con recubrimiento químico y otra sin tratamiento. Se procedió de la misma manera con los tres taxa forestales, y el número de ardillas consideradas fue de 100. Los datos se analizaron con la prueba de McNemar para determinar si las frecuencias de consumo de semillas peletizadas y sin peletizar eran iguales. No hubo diferencia significativa para *P. ayacahuite* y *P. cembroides*. Ninguna semilla de *E. cyclocarpum* fue consumida. Se observaron dos patrones generales de conducta: abrir la testa dura para ingerir el embrión o enterrar las semillas que no lograron romper. Al eliminar la testa y no comerla imposibilitó el efecto del recubrimiento de las semillas, ya que los animales no sufrieron los efectos aversivos esperados. Por lo tanto, el pildorado en las especies forestales evaluadas no controló los daños por consumo de ardillas.

**Palabras clave:** Ardilla gris, depredación, dispersión aérea, peletizado, pildorado de semillas forestales, *Sciurus aureogaster* F. Cuvier, 1829.

### ABSTRACT

One factor limiting the success of aerial dispersal of seeds for reforestation is consumption by wildlife. It has been proposed that coating seeds with chemicals, or pelleting, will repel potential consumers. To determine the effect of pelleting on consumption by Red-bellied Squirrels (*Sciurus aureogaster*), tests were carried out in the Coyoacan Nursery in Mexico City. Coated seeds of three tree species (*Pinus ayacahuite*, *P. cembroides* and *Enterolobium cyclocarpum*) were offered in paired tests. Coating consisted of three treatments per species, including an aversive conditioning (LiCl), a fungicide (dicarboximide), an insecticide (lambda cyalotrine) and a preservative (BzNa). When a squirrel was found it was exposed to two seeds, one with coating and one without it. This was repeated with 100 squirrels. Data were analyzed with the McNemar test to determine if frequencies of pelleted seed consumption and without pelletizing were equal. There was no significant difference in the consumption of *P. ayacahuite* and *P. cembroides*. No seed of *E. cyclocarpum*, was consumed. Squirrels showed two behavioral patterns: they opened the hard seed coat to consume the embryo or buried the seeds they could not open. This precludes the effect of coating, since removal of the seed coat did not have the expected aversive effect. Therefore, seed pelleting of the evaluated forest species did not avoid damage by squirrels.

**Key words:** Red-bellied squirrel, predation, aerial dispersal, pelleting, pelleting of forest seeds, seed forest, *Sciurus aureogaster* F. Cuvier, 1829.

Fecha de recepción / date of receipt: 8 de marzo de 2013. Fecha de aceptación / date of acceptance: 7 de abril de 2013

<sup>1</sup> Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Conservación y Mejoramiento de Ecosistemas Forestales (CENID-COMEF), INIFAP. Correo-e: chavez.gilberto@inifap.gob.mx

La dispersión de semillas mediante aeronaves es un método de repoblación de bosques que permite cubrir grandes áreas en poco tiempo y en sitios de difícil acceso por vía terrestre (García *et al.*, 2010). En México, las primeras experiencias de siembra aérea se realizaron durante 2003 en el estado de Oaxaca y continuaron en Colima, Chihuahua, Guanajuato, Jalisco, Michoacán, Nayarit, Nuevo León, San Luis Potosí y Zacatecas en 2004 (Conafor, 2005). García *et al.* (2010) evaluaron la efectividad de esta técnica con *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. para la restauración de selvas afectadas por incendios en 2006, ubicadas al norte de Quintana Roo. Un problema asociado a la dispersión aérea es la pérdida de germoplasma como resultado del consumo por animales y del daño ocasionado por patógenos; con base en ello, a partir de 2005 se hicieron pruebas de recubrimiento de semillas con arcillas y la adición de sustancias químicas (Conafor, 2005). En el Cenid-Comef del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) se han llevado a cabo ensayos de laboratorio con un fungicida, un separador en polvo y pintura de látex como adherente.

Existen dos grupos de técnicas de control de daños o de consumo de semillas por animales: letales y no letales. Las primeras implican su muerte, lo que es indeseable, mientras que las segundas intentan evitar la ingesta sin provocar el deceso del consumidor (Cauteren *et al.*, 2005). En este caso, las semillas se tratan con agentes químicos, tanto repelentes que afectan el sentido del gusto o el olfato, así como condicionantes aversivos que producen efectos fisiológicos adversos en el animal (vómito, diarrea o malestar), por lo que no vuelven a comer el alimento tratado (Hopkins y Murphy, 1982).

Cuando se pretende usar compuestos químicos hay que evaluarlos en varias especies, determinar reacciones o consecuencias y definir las concentraciones no letales que garanticen el efecto de aversión condicionado (Cauteren *et al.*, 2005). Para que una semilla peletizada afecte de la manera deseada es necesario que el animal la degluta completamente y que llegue a su sistema digestivo. También hay que considerar las características de dureza de la testa del germoplasma, así como sus posibles consumidores en las zonas donde se planea dispersarlas. Aunque los principales granívoros son roedores, entre ellos hay diferencias de tamaño y capacidad para morder y eliminar una testa dura. En México no se dispone de evidencias científicas sobre el consumo de semillas con protección química dispersadas de manera artificial, y de sus efectos para disminuir el daño sobre las mismas.

Las ardillas pertenecen a la familia Sciuridae del orden Rodentia, con una riqueza de 35 especies y amplia distribución en los ecosistemas boscosos de México, y son, además, las principales consumidoras de semillas forestales (Ceballos y Oliva, 2005). Hay roedores más pequeños, como los ratones de campo, o de mayor tamaño como *Dasyprocta punctata* Gray,

Seed dispersal by aircrafts is a method of reforestation that can cover large areas in a short time and in places difficult to access by land (García *et al.*, 2010). In Mexico, the first experiments of aerial seeding were carried out in 2003 in the state of Oaxaca and continued in the states of Colima, Chihuahua, Guanajuato, Jalisco, Michoacán, Nayarit, Nuevo León, San Luis Potosí and Zacatecas in 2004 (Conafor, 2005). García *et al.* (2010) assessed the effectiveness of this technique with *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. for the restoration of tropical forests affected by fires in 2006, located north of Quintana Roo. A related problem to air dispersion is the loss of germplasm as a result of consumption by animals and the damage caused by pathogens, based on this, from 2005 were tested seed coating clays and the addition of chemicals (Conafor, 2005). In Cenid-Comef of the Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) tests with a fungicide powder separator and latex paint as an adhesive have been made in laboratory.

There are two sets of damage control techniques or of consumption of seeds by animals: lethal and nonlethal. The first involves death, which is undesirable, while the latter tries to avoid intake without causing the death of the consumer (Cauteren *et al.*, 2005). In this case, the seeds are treated with repellents that affect the sense of taste or smell, as well as aversive conditioners that produce adverse physiological effects in animals (vomiting, diarrhea or discomfort), which make them not to eat processed food ever again (Hopkins and Murphy, 1982).

When it is intended to use chemicals, they must be tested in several species, define nonlethal concentrations that ensure the effectiveness of conditioned aversion (Cauteren *et al.*, 2005). For a pelleted seed to affect in a particular way, it is necessary that the animal eats it thoroughly and swallows until it reaches the digestive system. It must be considered as well the characteristics of hardness of the seed coat of the germplasm and their potential consumers in areas where they are planned to be dispersed. Although the major granivores are rodents, there are differences among them in size and ability to bite and remove a hard seed coat. There is no scientific evidence in Mexico of the consumption of seeds chemically protected and dispersed in an artificial way and their effects to reduce damage over them.

Squirrels belong to the order Rodentia and Sciuridae family, with a 35 species and widely distributed in forest ecosystems of Mexico, and are the main consumers of tree seeds (Ceballos and Oliva, 2005). There are smaller rodents such as voles, or larger as *Dasyprocta punctata* Gray, 1842 (*sereque*) and *Cuniculus paca* Linnaeus, 1766 (*tepezcuintle*) with other maxilar anatomical capabilities, so they eat tougher seeds. There are even birds: parrots and parakeets that by the ability of their peak, they open or eat the toughest with greater efficiency than squirrels.

1842 (sereque) y *Cuniculus paca* Linnaeus, 1766 (tepezcuittle) con otras capacidades anatómicas mandibulares, por lo que comen las semillas más duras. Incluso, hay aves: loros y pericos que por la capacidad de su pico abren o consumen las más duras con mayor eficiencia que las ardillas.

La conducta de los animales como agentes causantes de daños económicos está ligada a la situación o tamaño de sus poblaciones y al efecto de su dependencia directa o indirecta de los seres humanos. Es necesario observarlos cuando tienen a su alcance las simientes peletizadas. En el Vivero de Coyoacán de la Ciudad de México habita una población de *Sciurus aureogaster* F. Cuvier, 1829 (ardilla gris) introducida a mediados del siglo XX, habituada a la presencia del hombre y a ser alimentada por él. En el año 2000 se estimó una densidad de 5.9 a 6.6 individuos  $\text{ha}^{-1}$ , con una población total de 254 a 270 ardillas (Mora-Ascencio *et al.*, 2010). Estudios recientes indican cifras superiores, con más de 1 500 individuos y una densidad de 38 animales  $\text{ha}^{-1}$ , casi 10 veces superior a la de las poblaciones silvestres (Semarnat, 2012). No obstante al ser un sitio inmerso en la mancha urbana son depredadas por *Parabuteo unicinctus* (Temminck, 1824) (aguiluilla de Harris), aunque su impacto no es suficiente para reducir su población. A principios de 2012 las autoridades del vivero establecieron un programa de reubicación para disminuirlas en 50%, ya que son consideradas como una plaga, pues ocasionan una pérdida de la producción total de plantas estimada en 25% como resultado de la ingesta de sus ápices; y dañan a los árboles por descortezamiento (Semarnat, 2012). Esta población es atípica en comparación con las silvestres, ya que además de su sobrepoblación han sido condicionadas a ser alimentadas de manera artificial por los visitantes. Otra diferencia es que las ardillas silvestres son de hábitos arborícolas, solitarias y solo se reúnen para reproducirse en grupos no mayores a cuatro individuos (Ceballos y Oliva, 2005), al contrario de las que habitan en el vivero, que buscan en el suelo su alimento y se agrupan en conjuntos con más de 10 individuos.

Es posible que el consumo animal elimine las semillas peletizadas, por ello es necesario determinar en qué proporción el material recubierto dispersado de manera artificial sobrevive para participar en el reclutamiento de plántulas. Pero antes, se requiere determinar si los productos químicos que se usarán son o no letales para la fauna. En caso negativo se debe probar cómo reaccionan los consumidores, específicamente ardillas, ante una semilla de testa dura tratada. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue registrar la reacción y conducta de ardillas semisilvestres al exponerles a semillas pildoradas para su consumo, y evaluar la efectividad del recubrimiento en tres especies forestales.

El vivero se ubica en la delegación Coyoacán del Distrito Federal, tiene una superficie de 39 ha, cuyo punto central son las coordenadas 19° 21' 15.7" N y 99° 10' 17.7" O, con

The behavior of animals as causative agents of economic damage is linked to the position or size of their populations and the effect of their direct or indirect dependence of humans. It is necessary to observe when they have at their disposal the pelleted seeds. In the Nursery of Coyoacan Mexico City lives a population of *Sciurus aureogaster* F. Cuvier, 1829 (gray squirrel) introduced in the mid-twentieth century, which are used to human presence and to be fed by him. In 2000 it was estimated a density of 5.9 to 6.6 individuals  $\text{ha}^{-1}$ , with a total population of 254-270 squirrels (Mora-Ascencio *et al.*, 2010). Recent studies indicate higher figures, with more than 1 500 individuals and a density of 38 animals  $\text{ha}^{-1}$ , nearly 10 times that of wild populations (Semarnat, 2012). In spite of being a place within the urban area, they are preyed upon by *Parabuteo unicinctus* (Temminck, 1824), or Harris hawk, although its impact is not enough to reduce their number. In early 2012 the nursery authorities established a relocation program to reduce them by 50%, as they are considered a pest because they cause a loss of total plant production estimated at 25% as a result of the intake of their apex; and damage to trees by barking (Semarnat, 2012). This population is atypical compared to wild since, besides its overcrowding, they have been conditioned to be artificially fed by visitors. Another difference is that wild squirrels are arboreal, solitary and only come together to breed in groups no larger than four individuals (Ceballos and Oliva, 2005), as opposed to living in the nursery, in which they look for their food and are get together in groups with more than 10 individuals.

It is possible that animal consumption removes pelleted seeds, so it is necessary to determine in which proportion the coated material artificially dispersed survives to participate in the recruitment of seedlings. But first, it must be determined whether the chemicals to be used are lethal or not to wildlife. If not, it should be tested how consumers react specifically squirrels, before a treated hard seed coat. Therefore, the aim of this study was to record the reaction and behavior of semi-wild squirrels when exposed to pelleted seeds for their consumption, and assess the effectiveness of coating on three tree species.

The nursery is located in the Coyoacan, Distrito Federal, and it covers an area of 39 ha, whose center point coordinates are 19° 21' 15.7" N and 99° 10' 17.7" W, at an altitude of 2 267 m, as part of "the Historical Coyoacan", national park enacted in 1938.

The seeds that were used represented contrasting environmental conditions that can be used in aerial reforestation: *Pinus ayacahuite* Ehren., *Pinus cembroides* Zucc. and *E. cyclocarpum*. *P. ayacahuite* is a fundamental species of the highland forests of Mexico, has great economic and ecological value and its seeds are eaten by wildlife (Musólem and Ramírez, 2003). *P. cembroides* is widespread in semi-arid areas and provides most of the gear that is sold in the country, which is also food for wildlife (Vázquez-Yanes *et al.*, 1999a). *E. cyclocarpum* is an abundant

una altitud de 2 267 m; forma parte del parque nacional "El Histórico Coyoacán", decretado en 1938.

Se utilizaron semillas representativas de condiciones ambientales contrastantes que pueden ser usadas en actividades de reforestación aérea: *Pinus ayacahuite* Ehren., *Pinus cembroides* Zucc. y *E. cyclocarpum*. *P. ayacahuite* es parte fundamental de los bosques de altura de México, tiene un gran valor económico y ecológico, y sus semillas son consumidas por la fauna silvestre (Musálem y Ramírez, 2003). *P. cembroides* es de amplia distribución en zonas semiáridas y proporciona la mayor parte del piñón que se comercializa en el país, el cual también es alimento para la fauna (Vázquez-Yanes *et al.*, 1999a). *E. cyclocarpum* es un árbol tropical muy abundante que se usa para sombra de ganado, y con su madera se elaboran tablas y materiales de construcción (Pennington y Sarukhán, 2005); la testa de su semilla es la más gruesa y dura de los tres taxa estudiados.

Se aplicaron tres tratamientos químicos a las semillas de cada taxón, los cuales son el resultado de pruebas previas de laboratorio en las que los ingredientes base fueron los mismos, solo se variaron las cantidades y se seleccionaron aquellos que no afectaron la capacidad germinativa de las semillas (cuadros 1 y 2).

Cuadro 1. Productos químicos usados para el peletizado de semillas de *Pinus pseudostrobus* Lindl., *P. cembroides* Zucc. y *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb.

Table 1. Chemicals used for seed pelleting of *Pinus pseudostrobus* Lindl., *P. cembroides* Zucc. and *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb.

Nombre comercial	Fabricante	Ingrediente activo	Función
Cloruro de litio granular	J. T. Baker	Cloruro de litio granular (LiCl)	Condicionante aversivo
Captan 50 PH®	Tridente	Dicarboximida	Fungicida
Karate Zeon 5 CS®	Syngenta	Lambda cialotrina	Insecticida
Benzoato de sodio	J. T. Baker	Benzoato de sodio (BzNa)	Conservador
Pintura acrílica látex	Dutch Boy	Latex	Adherente
Vermiculita	Hydro environment	Vermiculita	Separador

Cuadro 2. Mezclas y dosis para peletizar semillas de tres especies forestales.

Table 2. Mixes and dose for pelleting seeds of three tree species

Especie	Clave	Mezcla y dosis
<i>Pinus ayacahuite</i> Ehren. (Pa)	Pa1	LiCl <sup>1</sup> (0.25 g L <sup>-1</sup> ) + BzNa <sup>2</sup> (0.5 g kg <sup>-1</sup> de semillas) + látex (70%)
	Pa2	LiCl (1 g L <sup>-1</sup> ) + BzNa (1.5 g kg <sup>-1</sup> de semillas) + látex (70%)
	Pa3	Dicarboximida (5 g kg <sup>-1</sup> de semillas) + lambda cialotrina (0.2 mL) + látex (70%)
<i>Pinus cembroides</i> Zucc. (Pc)	Pc5	LiCl (0.25 g L <sup>-1</sup> ) + BzNa (1 g kg <sup>-1</sup> de semillas) + látex (70%)
	Pc6	LiCl (0.5 g L <sup>-1</sup> ) + BzNa (5 g kg <sup>-1</sup> de semillas) + látex (70%)
	Pc7	Dicarboximida (25 g kg <sup>-1</sup> de semillas) + lambda cialotrina (3 mL) + látex (70%)
<i>Enterolobium cyclocarpum</i> (Jacq.) Griseb. (Ec)	Ec9	LiCl (0.25 g L <sup>-1</sup> ) + BzNa (1 g kg <sup>-1</sup> de semillas) + látex (70%)
	Ec10	LiCl (1 g L <sup>-1</sup> ) + BzNa (1.5 g kg <sup>-1</sup> de semillas) + látex (70%)
	Ec11	Dicarboximida (104 g kg <sup>-1</sup> de semillas) + lambda cialotrina (1 mL) + látex (70%)

1: Cloruro de litio; 2: Benzoato de sodio; Las diferencias en las cantidades son el resultado de pruebas de laboratorio en las que se seleccionaron las que no afectaran la capacidad germinativa.

1: lithium chloride; 2: Sodium Benzoate. Differences in the amounts are the result of laboratory tests which were selected that did not affect the germination.

El procedimiento para su recubrimiento consistió en agregar de 20 a 30 mL en un recipiente de boca ancha de alguna de las siguientes soluciones: insecticida + pintura de látex, o cloruro de litio + pintura de látex por cada kilogramo de semillas, para formar una capa delgada sobre la testa. Con una pala de plástico se integró todo con movimientos suaves y se dejó en reposo durante un minuto. En seguida se adicionó el fungicida o benzoato de sodio en la proporción específica, de acuerdo con el tipo de pildorado y la especie (Cuadro 2), a continuación se espolvoreó de forma homogénea sobre el germoplasma, y se mezcló. Inmediatamente después se añadieron, poco a poco, 50 a 70 g de vermiculita molida por kilogramo de semillas durante el mezclado y cuando comenzaron a individualizarse se extendieron sobre una superficie plana y se dejaron secar durante 3 horas (Figura 1).

Field work in the nursery consisted of surveying the 17 pathways in which there is little presence of visitors, between 8:00 and 13:00. Squirrels were located to offer two seeds: first one with chemical treatment, and observed their behavior until they finished consuming it or manipulate it. Then were offered another seed, but without treatment (control). In all cases the seeds were exposed directly to the nose with a protective industrial glove to prevent biting or scratching.

The search to locate other animals continued and expose it to the two seeds, until a set of 11 or 12 tests (squirrels) were completed with the same treatment of pelleting and the corresponding control. This procedure allowed not to repeat a record for an animal in the same place. In an identical manner it was proceeded to the rest of the taxa and their respective treatments on different days and nursery sections.



Figura 1. Procedimiento en laboratorio para el recubrimiento químico de semillas de *Pinus ayacahuite* Ehren.: 1) mezcla de las semillas con insecticida o cloruro de litio; 2) colocación del fungicida y conservador; 3) vermiculita; 4) secado sobre superficie plana.  
Figure 1. Laboratory procedure for chemical seed coating of *Pinus ayacahuite* Ehren.: 1) mixing the seeds with insecticides or lithium chloride, 2) placing the fungicide and preservative, 3) vermiculite, 4) drying over surface.

El trabajo de campo en el vivero consistió en recorrer los 17 andadores en los que hay poca presencia de visitantes, entre las 8:00 y las 13:00 horas. Se localizaron ardillas para ofrecerles dos semillas: primero una con tratamiento químico, y se observó su conducta hasta que terminaron de consumirla o manipularla. A continuación, se les ofreció la otra simiente, pero sin tratamiento (testigo). En todos los casos las semillas se expusieron de manera directa al hocico, con un guante industrial de protección, para evitar mordidas o rasguños.

Se continuó con la búsqueda para localizar otro animal y exponerlo a las dos semillas, hasta completar 11 o 12 pruebas (ardillas) con igual tratamiento de pelletizado y su correspondiente testigo. Este procedimiento permitió no repetir un registro para un animal en el mismo sitio. Se procedió de idéntica manera con el resto de los taxa y sus respectivos tratamientos, en diferentes días y secciones del vivero.

En cada prueba individual se documentó la conducta de las ardillas; semilla aceptada = 1; semilla no aceptada = 0; semilla aceptada y roída pero embrión no consumido = 1(0); semilla no consumida = 0; semilla enterrada = 1; semilla no enterrada = 0. Cuando un individuo aceptó la semilla, pero no consumió el embrión, aunque trató de quitar la testa, la prueba se consideró como negativa: 1(0). En este caso, los análisis se efectuaron con el valor 0; aunque la observación es importante, ya que en muchas ocasiones se enterró la semilla con la intención de que germine cuando las condiciones ambientales sean propicias para ello.

Estos datos corresponden a muestras pareadas dependientes. Para su análisis se empleó la prueba de McNemar, método no paramétrico usado con datos nominales (1 o 0), aplicado a una tabla de contingencia 2 x 2 con una característica dicotómica para determinar si las frecuencias marginales de filas y columnas son iguales (Zar, 1989). La hipótesis nula ( $H_0$ ) fue que las dos probabilidades de cada resultado son las mismas; es decir, la proporción de semillas tratadas y no tratadas consumidas es igual. La hipótesis alterna ( $H_a$ ) fue que la proporción de semillas tratadas y no tratadas consumidas no es la misma. Se consideró una prueba de bondad de ajuste ( $X^2$ ) con las frecuencias observadas  $f_{12}$  y  $f_{21}$  (b y c en la tabla de contingencia). Cuando la sumatoria de los datos discordantes (b y c) es menor a 10, es preferible una prueba de distribución binomial; no obstante el resultado es similar si se aplica una corrección de continuidad en la de MacNemar con el programa R (macnrm.test; R Core Team, 2012).

Las pruebas de campo se realizaron durante seis días, entre el 27 de septiembre y el 10 de octubre de 2012. El esfuerzo de muestreo fue de 845 minutos (14.1 horas hombre<sup>-1</sup>). A 115 ardillas se les ofrecieron 215 semillas: 113 pildoradas y 102 no recubiertas. La diferencia se debe a que en 15 ocasiones los individuos se alejaron después de presentarles la primera semilla y no se localizaron nuevamente, por lo que son pruebas incompletas y no se incluyeron en el análisis estadístico. La conducta

In each individual test is documented the behavior of squirrels: accepted seed = 1; unaccepted seed = 0; accepted seed and corroded but embryo not consumed = 1 (0); uneaten seed = 0, seed buried = 1; not buried seed = 0. When an individual accepted the seed, but did not consume the embryo, even tried to remove the seed coat, the test is considered negative: 1 (0). In this case, the analyzes were performed with the value 0, although the observation is important, since in many cases, the seed was buried with the good intention of letting it germinate when environmental conditions are favorable.

These data are dependent paired samples. For the analysis, the McNemar test was used, which is a nonparametric method used with nominal data (1 or 0), applied to a contingency table 2 x 2 with a dichotomous feature to determine if the marginal frequencies of rows and columns are equal (Zar, 1989). The null hypothesis ( $H_0$ ) was that the two probabilities of each result are the same, *i. e.*, the proportion of consumed treated and untreated seeds is the same. The alternative hypothesis ( $H_a$ ) was that the ratio of consumed treated and untreated seeds is not the same. It was considered a test of goodness of fit ( $X^2$ ) with the observed frequencies  $f_{12}$  and  $f_{21}$  (b and c in the contingency table). When the sum of discordant data (b and c) is less than 10, a binomial test is a better option, yet the result is similar if a continuity correction is applied in the McNemar with the R program (macnrm.test; R Core Team, 2012).

Field trials were conducted over six days, between September 27 and October 10, 2012. The sampling effort was 845 minutes (14.1 hours man<sup>-1</sup>). A 115 squirrels were offered 215 seeds, 113 pelleted and 102 uncoated. The difference is due to the fact that on 15 occasions, individuals moved away after the first seed was given to them and they were not found again; so they were taken as incomplete evidence and were not included in the statistical analysis. The behavior of some of these mammals consisted of approaching, smelling and ignoring the seeds. Others accepted them, they went to the edge of the pathways, where they took a sitting position with their erect tails and manipulated them for their consumption. This attracted more squirrels that were close by which intended to take it away; and, thereby caused to flee up the nearest tree or stump. There, gnawing continued until they broke or detached the seed coat, which in most cases was successful with pine seeds, with a higher proportion with *P. cembroides*. No seeds of *E. cyclocarpum* could be open, although some individuals tried to for 5 minutes without success. In the 19 times that this happened, the process ended up by burying or hiding them into holes in the trees (Figure 2).

Six seeds of *P. ayacahuite* and 10 of *P. cembroides* were destined to be buried without their seed coats opened. In the first case, most of them were pelleted (4), while in the second species, the amount was the same. The general way to bury the seeds was to take them to the foot of a bush or stump and push them

de algunos organismos consistió en acercarse, oler las semillas e ignorarlas. Otros las aceptaban, se alejaban hacia la orilla del andador, donde adoptaban una posición sentada con la cola erecta y la manipulaban con las manos para roerlas. Esto atraía a más ardillas, que se aproximaban para intentar despojarla, con ello provocaban que huyeran subiendo al árbol o tocón más cercano. Ahí continuaban royendo la testa hasta romperla o desprenderla, lo que en la mayoría de los casos lograron con las de pino, en mayor proporción con *P. cembroides*. Ninguna de las semillas de *E. cyclocarpum* pudo ser abierta, pese a que algunos individuos trataron de hacerlo hasta por 5 minutos sin éxito. En las 19 ocasiones que sucedió esto, terminaron enterrándolas u ocultándolas en huecos de los árboles (Figura 2).

Seis semillas de *P. ayacahuite* y 10 de *P. cembroides* tuvieron como destino ser enterradas, sin que sus testas fueran abiertas. En el primer caso, la mayoría correspondió a las peletizadas (4), mientras que de la segunda especie la cantidad fue igual. La manera general de enterrar las semillas consistió en llevarlas al pie de un arbusto o tocón y empujarlas con el hocico hasta una profundidad de 1 o 2 cm. Después, las cubrían con tierra y hojarasca, con ambas manos de manera alterna, empujándolas hacia abajo. En una ocasión, la ardilla trepó a un árbol de *Cupressus* sp. de 5 m de altura y colocó la semilla pildorada de *E. cyclocarpum* en una rama a 1.8 m sobre el suelo.

La mayoría de los individuos que no aceptaron las semillas eran juveniles, fácilmente reconocibles por su menor tamaño y ser más delgados e inseguros, en comparación con los adultos. Otros animales granívoros en el sitio son dos palomas: *Columba livia* (Gmelin, JF, 1789) y *Columbina inca* (Lesson, 1847); la primera es de cinco o seis veces más pesada que la segunda. Se les ofrecieron semillas peletizadas y sin tratamiento químico a ejemplares de ambas especies, pero no aceptaron ninguna. No se hicieron pruebas con ratas y ratones por tratarse de animales de hábitos nocturnos que huyen ante la presencia humana. Por último, no se observó ningún síntoma de enfermedad o malestar en las ardillas expuestas a las semillas recubiertas, ni se encontraron animales muertos como consecuencia de estas pruebas.

La prueba de McNemar con corrección de continuidad se aplicó solamente en los casos donde los valores de alguna de las dos celdas contrastantes (b y c), o ambas fue igual o mayor a 1; es decir, cuando una semilla fue consumida y la otra no. Esto sucedió con dos tratamientos de *P. ayacahuite* y los tres de *P. cembroides*. Las cinco pruebas no fueron estadísticamente significativas ( $X^2(1, n = 11) = 0, p = 1$ ), lo que indica que no hubo diferencia en el consumo entre semillas peletizadas y no recubiertas de estos dos pinos. No fue posible analizar los datos de *E. cyclocarpum*, ya que ninguna de las 73 semillas fue consumida, pildoradas y testigos.

with the snout to a depth of 1 to 2 cm. Afterwards, they covered them with soil and leaf litter, and with both hands alternately, they pushed them down. On one occasion, the squirrel climbed a tree of *Cupressus* sp. of 5 m in height and placed pelletized seed of *E. cyclocarpum* on a branch at 1.8 m above ground.

Most individuals which did not accept seeds were juveniles, easily recognizable by their smaller size and being thinner and insecure, compared with adults. Other granivore animals on the site are two doves: *Columba livia* (Gmelin, J. F., 1789) and *Columbina inca* (Lesson, 1847), the first is five or six times heavier than the latter. They were offered pelleted seeds without chemical treatment to individuals of both species, but they did not accept any. Seeds were not tested on rats and mice because they are nocturnal animals that flee human presence. Finally, there was no sign of sickness or discomfort in the squirrels exposed to coated seeds or animals were found dead as a result of these tests.

McNemar's test with continuity correction was applied only in cases where the values of one of two contrasting cells (b and c) or both equal to or greater than 1, i. e. when a seed was used, and the other was not. This happened with two treatments of *P. ayacahuite* and three of *P. cembroides*. The five tests were not statistically significant ( $X^2(1, n = 11) = 0, p = 1$ ), indicating that there was no difference in consumption between pelleted and uncoated seeds of these two pines. It was not possible to analyze data from *E. cyclocarpum*, since none of the 73 seeds were consumed, pelleted and control.

The squirrels of Coyoacan Nursery showed two general behavior patterns during the experiment: 1) they opened or tried to open the hard seed coat to consume the embryo, and 2) they buried the seeds that they did not open. Seeds with hard seed coat are generally opened or it is removed by rodents to consume the embryo. Therefore, the coating with chemicals did not protect or avoided squirrels. In order to have the desired effect of the pellet, seeds must be swallowed completely, which did not happen; it is also necessary to prove the same with thinner seed coats, like those of other pines.

The seeds of *E. cyclocarpum* were not eaten by gray squirrels, which could be explained as they are not part of their diet in the wild, unlike other species of squirrels that do it eat them (Villa and Cervantes, 2003). Most animals that they do in the tropics are rodents such as field mice and tepezcuintle and other large mammals such as *Tapirus bairdii* (Gill, 1865) ("tapir"), and domestic animals such as horses. Some seeds are transported and abandoned without being eaten (small rodents) or pass through the digestive tract without being destroyed and are deposited in the feces (tapir, horse, cow), so that they are dispersed in this way, and these animals act as predator-dispersal agents (Janzen, 1983; Vázquez-Yanes *et al.*, 1999b).



Figura 2. Procedimiento de campo: a) semillas recubierta (izquierda) y testigo (derecha) de *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. sostenidas con guante protector; b) presentación de semilla pelletizada; c) animal royendo semilla tratada; d) ejemplar enterrando semilla que no logró abrir. Restos de testas recubiertas: e) *Pinus ayacahuite* Ehren.; f) *P. cembroides* Zucc.; g) *E. cyclocarpum* con marcas de incisivos de ardilla.

Figure 2. Field procedure: a) coated seeds (left) and control (right) *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. held with protective glove; b) pelleted seed presentation; c) gnawing animals treated seed; d) seed burying specimen failed to open. Remains of coated seed coats: e) *Pinus ayacahuite* Ehren., f) *P. cembroides* Zucc. g) *E. cyclocarpum* with squirrel incisor marks.

Las ardillas del Vivero de Coyoacán mostraron dos patrones generales de conducta durante el experimento: 1) abrir o tratar de abrir la testa dura para consumir el embrión, y 2) enterrar las semillas que no abrieron. Las semillas con testa dura, generalmente, son abiertas o esta es eliminada por roedores para consumir el embrión. Por lo tanto, su recubrimiento con productos químicos no las protegió ni evitó a las ardillas. Para que el pelletizado tenga el efecto deseado, las semillas deben ser deglutidas por completo, lo que no sucedió; además es necesario probar semillas de testa delgada, como las de otros pinos.

Las semillas de *E. cyclocarpum* no fueron ingeridas por las ardillas grises, lo que pudiera explicarse porque no son parte de su dieta en condiciones naturales, a diferencia de otras especies de ardillas que sí las comen (Villa y Cervantes, 2003). La mayoría de los animales que sí lo hacen en el trópico son roedores: ratones de campo y como ratones de campo y el tepezcuintle y otros mamíferos grandes como *Tapirus bairdii* (Gill, 1865) y animales domésticos, entre ellos los equinos.

The behavior of burying seeds is common among rodents like squirrels and mice that live in forest ecosystems. Squirrels can locate buried seeds by smell and they also remember the site where they were placed (Jacobs and Liman, 1991; Flores-Peredo *et al.*, 2011). Some of these propagules escaped destruction or consumption, germinate and produce seedlings, although the contribution of seeds accumulated in the soil for these mammals is probably of little importance in the regeneration of forests (Ibáñez and Soriano, 2004).

By eliminating the seed coats of *P. cembroides* and *P. ayacahuite*, squirrels ate the embryo, which nullified the effect of chemical coatings evaluated. Furthermore, pelleted seeds were consumed in the same amount as that of control. It is required to explore management alternatives to avoid damage to aerially dispersed seeds or to apply coating to smooth seed cover species.

None of the treatments worked as a repellent and it was not documented a significant decrease in consumption of forest seed



Algunas de las semillas son transportadas y abandonadas sin ser comidas (roedores pequeños), o pasan a través del tracto digestivo sin destruirse y son depositadas en las heces (tapir, caballo, vaca), de tal manera que se dispersan por este medio, dichos animales actúan como agentes depredadores-dispersores (Janzen, 1983; Vázquez-Yanes *et al.* 1999b).

La conducta de soterrar semillas es común entre roedores como ardillas y ratones que habitan en ecosistemas forestales. Las ardillas pueden localizar mediante el olfato semillas enterradas, también recuerdan el sitio donde las colocaron (Jacobs y Liman, 1991; Flores-Peredo *et al.*, 2011). Algunos de esos propágulos escapan a la destrucción o consumo, germinan y producen plántulas, aunque la contribución de las semillas acumuladas en el suelo por estos mamíferos, probablemente, es de poca importancia en la regeneración de los bosques (Ibáñez y Soriano, 2004).

Al eliminar la testa de las semillas de *P. cembroides* y *P. ayacahuite*, las ardillas consumieron el embrión, lo que anuló el efecto de los recubrimientos químicos evaluados. Además, las peletizadas fueron consumidas en la misma proporción que las testigo. Se requiere explorar otras alternativas de manejo para evitar daños a semillas dispersadas de manera aérea o aplicar el recubrimiento a especies de testa suave.

Ninguno de los tratamientos funcionó como repelente y no se documentó una disminución significativa del consumo de semillas forestales como efecto de su recubrimiento con productos químicos aversivos, por lo que no controló los daños por consumo de las ardillas del Vivero de Coyoacán.

## REFERENCIAS

Cauteren, K. C., R. A. Dolbeer and E. M. Gese. 2005. Identification and management of wildlife damage. In: Braun, C. E. (ed). Techniques for wildlife investigation and management. 6<sup>th</sup>. ed. The Wildlife Society, Bethesda, Maryland, MD USA. pp. 740-778.

Ceballos, G. y G. Oliva (coords.). 2005. Los mamíferos silvestres de México. Fondo de Cultura Económica, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México D.F. México. 1986 p.


Comisión Nacional Forestal (Conafor). 2005. Reforestación aérea. Proyecto 2005. Informe técnico ejecutivo. Coordinación General de Conservación y Restauración, Gerencia del Programa Nacional de Reforestación. Zapopan, Jal. México. 62 p.

Flores-Peredo, R., L. R. Sánchez-Velásquez, J. Galindo-González and Morales-Mávil. 2011. Post-dispersed pine seed removal and its effect on seedling establishment in a Mexican temperate forest. *Plant Ecol.* 212:1037-1046.

García C., X., E. Velasco B., B. Rodríguez S., A. González H. y F. Camacho M. 2010. Evaluación de la siembra aérea con *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb en el ejido Leona Vicario, Quintana Roo. *Rev. Mex. Cien. For.* 1(1):109-119.

Hopkins, S. R. and T. M. Murphy. 1982. Testing of lithium chloride aversion to mitigate raccoon depredation of loggerhead turtle nests. *Proc. Annu. Conf. Southeast. Assoc. Fish and Wildl. Agencies* 36:484-491.

Ibáñez, J. y P. J. Soriano. 2004. Hormigas, aves y roedores como depredadores de semillas en un ecosistema semiárido andino de Venezuela. *Ecotropicos* 17:38-51.

and coating effect of aversive chemicals, so there was no damage control by consumption of the squirrels of Coyoacan Nursery. 

End of the English version



Jacobs, L. F. and E. R. Liman. 1991. Gray squirrels remember the locations of buried nuts. *Animal Behaviour* 41:103-110.

Janzen, D. E. (ed). 1983. Costa Rican Natural History. University of Chicago Press, Chicago. IL USA. 823 p.

Mora-A., P., A. Mendoza-Durán y C. Chávez. 2010. Densidad poblacional y daños ocasionados por la ardilla *Sciurus aureogaster*: Implicaciones para la conservación de los viveros de Coyoacán, México. *Revista Mexicana de Mastozoología* 14:7-22.

Musálem, M. A. y A. Ramírez L. 2003. Monografía de *Pinus ayacahuite* var. *veitchii* Shaw. Libro Técnico 6, División Forestal, INIFAP. México, D.F. México. 364 p.

Pennington, T. D. y J. Sarukhán. 2005. Árboles tropicales de México. 3<sup>o</sup>. ed. UNAM y FCE. México, D.F. México. 523 p.

R Core Team. 2012. R: A Language and Environment for Statistical Computing Version 2.15.2. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org>. (16 de enero de 2013).

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (Semarnat). 2012. Atenderá Semarnat sobre población de ardillas en los Viveros de Coyoacán. Com. 005/12. Biosfera, Sala de prensa online de la Semarnat. <[http://dsi.aplicaciones.semarnat.gob.mx/sdp2009/index.php?option=com\\_content&view=article&id=4372:com-00512-atendera-semarnat-sobrepoblacion-de-ardillas-en-los-viveros-de-coyoacan&catid=50:comunicados&Itemid=110](http://dsi.aplicaciones.semarnat.gob.mx/sdp2009/index.php?option=com_content&view=article&id=4372:com-00512-atendera-semarnat-sobrepoblacion-de-ardillas-en-los-viveros-de-coyoacan&catid=50:comunicados&Itemid=110)> (26 noviembre 2012).

Vázquez-Yanes, C., A. I. Bátiz Muñoz, M. I. Alcocer Silva, M. Gual Díaz y C. Sánchez Dirzo. 1999a. Árboles y arbustos potencialmente valiosos para la restauración ecológica y la reforestación. *Pinus cembroides* Reporte técnico del proyecto J084. Conabio - Instituto de Ecología, UNAM. México, D.F. México. pp. 208-210.

Vázquez-Yanes, C., A. I. Bátiz Muñoz, M. I. Alcocer Silva, M. Gual Díaz y C. Sánchez Dirzo. 1999b. Árboles y arbustos potencialmente valiosos para la restauración ecológica y la reforestación. *Enterolobium cyclocarpum*. Reporte técnico del proyecto J084. Conabio - Instituto de Ecología, UNAM. México, D.F. México. pp. 161-164.

Villa R., B. y F. A. Cervantes. 2003. Los mamíferos de México. Grupo Editorial Iberoamérica, México, D.F. México. 140 p.

Zar, J. H. 1989. Biostatistical analysis. 2<sup>nd</sup> ed. Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs, NJ. USA. 718 p.

