

El Colegio de la Frontera Sur

Diferenciación morfológica y comportamental de dos
morfos de *Dendroctonus frontalis* Zimmermann
(Coleoptera: Scolytinae) en Montebello, Chiapas.

TESIS

presentada como requisito parcial para optar al grado de Maestría en Ciencias
en Recursos Naturales y Desarrollo Rural

por

Benjamín Moreno Castillo

2008

Dedicatoria.....

A mi hija Renata, por ser mi fuerza y motivación para superarme día a día, y a quien espero este esfuerzo sirva de ejemplo.

A mi esposa Faby, por su comprensión, apoyo y estar unidos en el mismo proyecto de vida.

A mis Padres José Jesús y Aury; a mis hermanos Jesús y Amelia; a mis sobrinos, a toda mi familia y a los amigos de toda la vida, quienes siempre me brindan su apoyo incondicional.

Agradecimientos

Al Posgrado de ECOSUR-Tapachula, por haberme dado la oportunidad de ser alumno del programa de Maestría, en la orientación Entomología Tropical.

Al CONACYT por la beca otorgada durante la realización del posgrado.

A la Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP)-Parque Nacional Lagunas de Montebello (PNLM), Trinitaria, Chiapas, por todas las facilidades otorgadas para realizar el presente trabajo. Agradecimiento especial a Edelmi Espinosa, Don Roberto Castellanos, José Odón Núñez, Eduardo, Martín, Ervin y Don Juan, quienes me brindaron su ayuda incondicionalmente.

Al binomio Servicio Forestal de EUA (ARS/USDA)-ECOSUR, por el sólido convenio de cooperación existente y el financiamiento otorgado para la realización de esta investigación.

AL Dr. Jorge E. Macías Sámano, por haber creído y confiado en mí, además de haberme dado la oportunidad de ser su alumno y ayudarme en todo momento a culminar este proyecto.

Al Dr. Brian T. Sullivan (USDA-Forest Service), por aceptar formar parte de este equipo y compartir su amistad y amplia experiencia en el tema, que sin duda se refleja en los resultados obtenidos en este trabajo.

A Stephen Clarke (USDA-Forest Service) por su amistad, sugerencias, apoyo en campo y por compartir su experiencia que sin duda sirvieron para mejorar el contenido de este trabajo.

A mis asesores Dr. Leopoldo Cruz-López y Dr. Julio Rojas, por aceptar ser parte del comité, por sus sugerencias, apoyo y su vasta experiencia en el campo de la ecología química que enriquecieron significativamente la presente investigación.

Al M.C. Javier Valle Mora por su valiosa enseñanza y su gran espíritu de ayudar, por su apoyo y sugerencias en los análisis estadísticos.

A la M.C. Alicia Niño Domínguez por todo el apoyo logístico brindado.

A la Lic. Ana María Galindo (SIBE-ECOSUR) por su apoyo en la proporción de material y referencias bibliográficas.

A Rosalba Morales por todo el apoyo logístico brindado a lo largo de los dos años de mi paso por la Maestría, así como en el proceso de titulación.

Al personal del servicio social, Benjamín Sandoval y Angélica Reyes, quienes también contribuyeron en la realización del presente trabajo.

A todos aquellos que directa o indirectamente coadyuvaron en la realización de este proyecto.

INDICE GENERAL

RESUMEN	i
I. INTRODUCCION	1
II. OBJETIVOS	4
General	4
Específicos	4
III. MATERIALES Y METODOS	5
A. Diferenciación morfológica de ambos grupos de insectos	5
B. Distribución espacial de los morfos en los árboles hospederos	7
C. Captura en campo con atrayentes	8
IV. RESULTADOS Y DISCUSION	12
A. Diferenciación morfológica de ambos grupos de insectos	12
B. Distribución espacial de los morfos en los árboles hospederos	18
C. Captura en campo con atrayentes	22
V. CONCLUSIONES	30
REFERENCIAS	31
ANEXOS	39

Resumen- De las 11 especies de *Dendroctonus* (Coleoptera: Scolytinae) presentes en México, se considera a *D. frontalis* Zimmermann como la más importante dado su alto poder destructivo de árboles de pino (*Pinus* spp.). Recientemente investigadores especialistas en el tema, encontraron en bosques de Belice y del Parque Nacional Lagunas de Montebello (PNLM), Chiapas, México, una pequeña población de insectos de *Dendroctonus* (aparentemente *D. frontalis*) con notables diferencias en las dimensiones corporales con respecto a las dimensiones normales reportadas para las especies de *Dendroctonus*. *A priori* se ha utilizado una longitud de 4 mm de tamaño de cuerpo para separar a ambos morfos, sin embargo es necesario encontrar otras variables morfológicas y comportamentales que permitan hacer una mejor separación de ambos grupos de insectos.

Por esta razón se realizó el presente trabajo de investigación que tuvo como objetivos encontrar las variables morfológicas que permitan separar a ambos grupos de insectos, además de conocer la distribución espacial de ambos morfos a lo largo del fuste de sus dos especies hospederas y conocer su respuesta en campo a semioquímicos sintéticos colocados en trampas.

Los resultados demostraron que el morfo M1 (identificado como *D. frontalis*) y el morfo M2 (especie no identificada) de ambos sexos pueden separarse por la presencia/ausencia de estrías localizadas cerca del margen anterior del tórax, en la zona correspondiente a la micangia de las hembras. Asimismo en las hembras de ambos grupos, el tamaño de la micangia y la forma del pronoto en vista dorsal también fueron variables importantes, mientras que en machos la forma de la varilla seminal resultó ser una variable útil para hacer esta diferenciación. Otro experimento reveló que el M1 es más abundante en *P. oocarpa* y a las alturas de fuste de 4-5 y 6-7 m, mientras que el M2 en *P. maximinoi* y alturas bajas (0-3m). El trampeo en campo usando combinaciones de aguarrás (fuente de α -pineno), frontalina y *endo*-brevicomina (ambas racémicas) permitieron incrementar las capturas del M1, sin embargo las capturas del M2 fueron nulas e insuficientes para el análisis estadístico. Se discuten y comparan los resultados con los de otros trabajos similares.

Palabras clave- *Dendroctonus frontalis*, morfos, distribución espacial, semioquímicos.

I. Introducción

Los insectos descortezadores del género *Dendroctonus* Erichson (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) son importantes organismos que están estrechamente asociados a los árboles de pino (*Pinus* spp.) (Wood, 1982a; Parker *et al.*, 2006). Se ha considerado que por la histórica interacción que guardan entre sí, el rol ecológico que cumplen estos insectos es regular de manera natural la densidad poblacional de los bosques, lo que ha permitido perpetuar su estructura y funcionalidad a través del tiempo (Schowalter *et al.*, 1981; Wood, 1982a) e incluso mejorar la tasa de crecimiento y la productividad del bosque (Romme *et al.*, 1986). De las 11 especies que forman el complejo *Dendroctonus* en México, se ha considerado a *D. frontalis* Zimmermann como la especie de mayor importancia en los bosques de pinos (Cibrián *et al.*, 1995), debido a su amplio rango de distribución geográfica en todo el país y que coloniza a 12 especies de estas coníferas, siendo *Pinus oocarpa* L. el hospedero preferido (Salinas *et al.*, 2004). El daño causado por *D. frontalis* resulta en la muerte del hospedero, ya que este descortezador y su progenie se alimentan y desarrollan en el floema del árbol obstruyendo el flujo de fotosintetatos, además de que introducen hongos simbioses que debilitan las defensas de la planta e invaden el xilema, interrumpiendo así el flujo hídrico en todo el vegetal. Esta asociación insecto-hongo-conífera ha sido ampliamente revisada por Paine y colaboradores (1997).

Desde el punto de vista morfológico, en los insectos es común encontrar casos en donde se presentan variaciones intraespecíficas importantes, que pueden estar asociadas a la calidad del hospedero en donde se desarrollaron (Sturgeon & Mitton, 1986; Langor & Spence, 1991), al gradiente altitudinal y latitudinal (regla de *Bergmann*) (Smith *et al.*, 2000), al sexo del individuo mismo (regla de *Rensch*) (Fairbairn, 1997; Pureswaran & Borden, 2003; Stillwell *et al.*, 2007), o incluso al efecto estacional a lo largo del año (Ruiz *et al.*, 1994; Rivera, 2001). La morfometría, definida como la medición de formas, ha sido una herramienta útil que con la ayuda de métodos estadísticos ha permitido inferir sobre las variaciones en las dimensiones

corporales y formas de las estructuras que presentan los insectos, y su relación con variaciones de parámetros biológicos, ecológicos y ambientales, entre otros (Daly, 1985). Esto permite saber si en una determinada población de insectos existen segregaciones en morfos o “biotipos”, términos que han sido ampliamente utilizados de manera provisional cuando aun no se ha determinado con certeza si los grupos segregados se tratan de una misma especie que pueden llegar a compartir rasgos morfológicos y bioecológicos importantes (Diehl & Bush, 1984 y citas ahí referidas).

En bosques de pinos de Belice y Chiapas, México, se han observado variaciones morfométricas en poblaciones de insectos de *D. frontalis* que sugieren la presencia de dos subgrupos o morfos que comparten además otros caracteres morfológicos y bioecológicos. Mediante el empleo de las técnicas de genitalia masculina, herramienta que ha sido ampliamente usada para la identificación de especies del complejo *Dendroctonus* (Vité *et al.*, 1975; Lanier *et al.*, 1988), se determinó que estos dos aparentes grupos presentan una gran similitud en la forma de la varilla seminal de los machos, razón por la cual se les ha denominado *a priori* como morfos de la especie *D. frontalis* (J. Macías, ECOSUR-Tapachula; B. Sullivan y J. Hayes, Servicio Forestal ARS-USDA; L. Kirkendall, Universidad de Bergen, Noruega. Com. Pers.). Mediante las herramientas genética-moleculares usadas para identificar especies de *Dendroctonus* (Zúñiga *et al.*, 2002), se encontró que el número cromosómico de ambos “morfos” es igual (G. Zúñiga, Instituto Politécnico Nacional, Com. Pers.), pero por otra parte, los análisis de ADN sugieren que se trata de especies diferentes (L. Kirkendall, Com. Pers). Sin embargo, a la fecha no existe ninguna referencia arbitrada que soporte estas afirmaciones.

Descortezadores como *D. frontalis* colonizan a sus hospederos mediante la concertación de su ataque por medio de feromonas de agregación por parte del insecto y de kairomonas por parte del árbol que esta siendo atacado (Wood 1982b; Dicke & Sabelis, 1988). El componente mayoritario en la mezcla feromonal es la frontalina, feromona de agregación que es sintetizada de *novo* (Barkawi *et al.*, 2003) y que genera una respuesta comportamental muy importante en *D. frontalis* (Hughes,

1974). Esta feromona en mezcla con el aguarrás, sustancia que es un destilado crudo de la resina de pino con un alto contenido del compuesto kairomonal α -pineno (Mirov, 1961), ha sido un atrayente estándar que se ha usado para monitorear poblaciones de *D. frontalis* en México (Macías *et al.*, 2006; Sánchez *et al.*, 2007), así como en el Servicio Forestal de los Estados Unidos de Norteamérica (Billings *et al.*, 1995; Clarke, 2003). Otro compuesto reportado como parte importante de la feromona de agregación en *D. frontalis* es la *endo*-brevicomina (Silverstein *et al.*, 1968), un componente multifuncional que es también sintetizado *de novo* (Vanderwel *et al.*, 1992) y que es producido principalmente por machos (Pitman *et al.*, 1969; Hughes, 1973; Pureswaran *et al.*, 2006, 2008; Sullivan *et al.*, 2007), aunque también se ha encontrado en hembras (Grossman *et al.*, 1997; Niño, 2007; Sullivan *et al.*, 2007). En Montebello, Chiapas, Niño (2007) encontró en hembras de *D. frontalis* con longitud corporal mayor de 4 mm (denominadas como “morfo grande”), una producción mayor de *endo*-brevicomina con respecto al “morfo chico” (<4mm), mas no hizo una evaluación en campo de la respuesta a esta feromona.

Lo anterior sugiere la existencia de dos morfos de *D. frontalis* y una posible respuesta comportamental diferencial debido a la producción de distintas cantidades de un componente feromonal, lo que nos indujo a realizar una caracterización morfológica formal, que permita definir la separación de los supuestos morfos mediante diferenciaciones corporales y evaluar en campo la actividad de la feromona. Estudios complementarios que exploren una posible repartición del recurso entre ambos grupos y su distribución espacial en el hospedero, ofrecerían datos importantes para definir la existencia de dos morfos de una misma especie o quizás la incipiente formación de una nueva especie.

II. Objetivos

General

Determinar las características morfológicas que permitan diferenciar a los dos morfos de *D. frontalis*, así como conocer algunos aspectos comportamentales importantes, como son su distribución espacial en las especies de pino hospederos y la posible respuesta comportamental diferencial de esos morfos a trampas cebadas con diferentes semioquímicos.

Específicos

1. Determinar los caracteres morfológicos más importantes que pueden ser usados para hacer una separación entre los dos morfos de *D. frontalis*.
2. Conocer la distribución espacial de ambos grupos de insectos a diferentes alturas del fuste y su preferencia por la especie de pino hospedero.
3. Determinar en campo la existencia de una atracción diferencial de estos morfos a las feromonas conocidas para *D. frontalis*.

III. Materiales y métodos

A. Diferenciación morfológica de ambos grupos de insectos.

Todos los insectos fueron colectados en el Parque Nacional Lagunas de Montebello (PNLM), municipio de La Trinitaria en el estado de Chiapas, México. Las colectas se realizaron en distintas fechas comprendidas entre mayo y agosto de 2007, mediante trampeos en campo y colecta directa en árboles infestados. Los insectos capturados se identificaron con base en las características morfológicas presentes en Wood (1982a) y se separaron por sexo con base en la presencia de la micangia en hembras (Barras, 1967) y en machos por la presencia de tubérculos frontales (Osgood & Clark, 1963), además de la forma de su varilla seminal (Vité *et al.*, 1975; Lanier *et al.*, 1988). Todos los individuos fueron guardados en viales con etanol al 70% y debidamente etiquetados.

Se separaron 180 individuos (89 hembras y 91 machos) que fueron identificados *a priori* como *D. frontalis* en los cuales se realizó un análisis cualitativo (valores cero y uno asignados) y cuantitativo de las siguientes variables:

- 1.- **LC.**- Largo del cuerpo, medido en posición dorsal, desde la base de los tubérculos frontales hasta el extremo final de los élitros.
- 2.- **AC.**- Ancho de cabeza, medido en posición dorsal, en el punto de unión entre la cabeza y el extremo anterior del tórax.
- 3.- **A-SF.**- Ancho del surco frontal, tomado en posición dorsal y equivalente a la distancia existente entre los tubérculos frontales más prominentes, que están ubicados en la frente y que son los comúnmente usados para separar por sexo a *D. frontalis* (Osgood & Clark, 1963).
- 4.- **A-PE.**- Ancho de proceso epistomal del aparato bucal, tomado desde vista frontal.
- 5.- **FP.**- Forma de pronoto, visto desde ángulo superior, existiendo las formas “cuello de botella” (CB=0) y “redondeado” (R=1).

6.- Mic.- Tipo de micangia, que podía ser grande y bien remarcada (G=1) o pequeña y poco visible (P=0).

7.- Est.- Estrías bien marcadas en ambos márgenes laterales del pronoto, en el sitio equivalente a la posición de la micangia de las hembras (Barras, 1967), que va desde la pleura hasta el esternon. Podían estar presentes (P=1) o ausentes (A=0).

8.- VS.- Varilla seminal, que podía ser de cuerpo redondeado y de espícula corta (R=1) o cuerpo angulado y espícula larga (AA=0). En el ANEXO 1 se ilustran con figuras cada una de las variables anteriores.

Algunas variables fueron observadas en un sexo y en el otro no, debido a que esas características están presentes en solo uno de ellos. El Cuadro 1 muestra las variables que fueron medidas en cada sexo.

Cuadro 1. Variables consideradas por sexo en la diferenciación de ambos morfos de *D. frontalis* en el PNLM, Chiapas.

Sexo	LC*	AC *	A-SF *	A-PE *	FP**	Mic**	Est**	VS**
Macho	si	si	si	si	si	no	si	si
Hembra	si	si	no	si	si	si	si	no

* Variables continuas (en mm).

** Variables discretas (se les asignaron valores de cero y uno).

Para medir las variables continuas se usó un microscopio Olympus SZ-CTV (Japan), acondicionado con una lente micrométrica de 100 divisiones, la cual fue calibrada previamente a diferentes aumentos. Los aumentos usados dependieron de la variable a medir y fueron de 1x para medir “LC”, 3x para “A-PE” y 6.3x para medir “AC” y “A-SF”. Para observar las variables discretas se usó un microscopio Wild Heerbrugg M3 (Switzerland), usando los aumentos de 6.4x para observar “FP”, 16x para “Mic” y “Est”, y el aumento 40x para la variable “VS”. Antes de ser observados, los insectos fueron previamente secados a temperatura ambiente sobre papel toalla y posteriormente colocados en una caja petri que contenía arena seca de mar, con la finalidad de poner al insecto en la posición adecuada para ser medido y observado

con mayor facilidad. Se usaron lámparas portátiles de luz blanca para tener una iluminación adecuada y poder observar claramente todas las características morfológicas.

Se realizó un Análisis Multivariado de Componentes Principales (ACP) individualmente por sexo para determinar si existió una segregación de observaciones y determinar la relación existente entre las variables (tanto continuas como discretas), para posteriormente definir en base a la carga de variables en los componentes, aquellas que podían ser usadas para separar a ambos morfos (Daly, 1985; Giri, 2004). El análisis de los datos se realizó con el paquete estadístico Minitab (Ver. 15).

B. Distribución espacial de los morfos en los árboles hospederos.

Este experimento se realizó de junio a septiembre de 2007 en el PNLM, periodo en el que se han observado las mayores abundancias de *D. frontalis* en esta región (Domínguez, 2007), para lo cual se hizo un muestreo previo en los árboles infestados dentro del parque y observar en que etapa de desarrollo se encontraba la progenie de *D. frontalis* dentro de cada individuo, seleccionando solo aquellos con presencia de pupas o bien, donde había iniciado recientemente la emergencia de insectos adultos. Este estado de desarrollo podía ser observado raspando ligeramente con un cuchillo la superficie externa de la corteza hasta encontrar las cámaras de pupación que normalmente están a unos cuantos centímetros de la corteza externa. Los árboles con adultos recién emergidos podían reconocerse por la presencia de muy pocos orificios de salida en la superficie de la corteza (orificios sin excreción de resina).

Se seleccionaron cuatro árboles infestados de *Pinus oocarpa* y cuatro de *P. maximinoi*, los cuales fueron identificados en base a la descripción de Santiago *et al.* (1997). Los árboles infestados fueron derribados con una motosierra y seccionados desde la base del fuste en tramos de un metro, seleccionando las secciones de 0-1,

1-2, 2-3, 4-5 y 6-7 m de altura. Obteniéndose así un total de 20 troncos infestados por cada especie de pino. Para atrapar los insectos que emergieron de los troncos, estos fueron etiquetados y colocados individualmente dentro de bolsas de tela blanca de 1 m de alto por 0.5 m de ancho, provistos de una jareta en la boca que permitía abrir y cerrar la bolsa con facilidad, haciendo mas fácil la revisión de los troncos y la colecta de los insectos. Ya en el laboratorio, los extremos de los troncos fueron cubiertos con parafina para mantener la humedad interna. Posteriormente se colocaron de manera vertical y se mantuvieron a temperatura ambiente. Los insectos emergidos de los troncos se colectaron diariamente y fueron colocados en viales con etanol al 70%, correspondiendo un vial para cada sección. La revisión de los troncos finalizó una vez concluida la emergencia de insectos, tomándose una muestra del 10% del total de insectos de cada vial para hacer la separación por morfo de los individuos colectados.

Para determinar la posible preferencia de los insectos por cierta altura de fuste y por cierta especie de pino, se hizo un análisis Log-lineal, lo que permitió determinar la asociación o dependencia entre las categorías altura del fuste, especie de pino y el tipo de morfo presente (Christensen, 1997). El análisis se hizo mediante el procedimiento CATMOD en el paquete estadístico SAS System for Windows Ver. 5.1 (1999-2001). Posteriormente se determinaron las razones de momios entre categorías, para conocer la posibilidad de ocurrencia de cada morfo a las distintas alturas y en las especies hospederas.

C. Captura en campo con atrayentes.

Para conocer si existió una respuesta diferencial en campo de los dos morfos de *D. frontalis* a diferentes mezclas de atrayentes sintéticos, se establecieron dos experimentos de trapeo en el PNLM: el primer experimento (3-8/Julio/2007) tuvo cuatro repeticiones y el segundo (15-20/Agosto/2007) tuvo dos repeticiones. Cada repetición consistió en una línea de cinco trampas, con una distancia de separación entre trampas de 100 m y de 200 m entre líneas para evitar interferencia (Turchin &

Odendaal, 1996). Cada experimento duró cinco días y diariamente se hizo la rotación aleatoria de los tratamientos en cada repetición, procurando que todos los tratamientos fueran colocados en todas las trampas y evitar así un efecto de sitio (Payne *et al.*, 1978b; Sullivan *et al.*, 2007). Los insectos capturados se colectaron en viales con etanol al 70% donde se almacenaron hasta que fueron separados por morfo y por sexo en cada grupo.

En ambos experimentos se usaron trampas multiembudo tipo Lindgren (Phero Tec, Inc.), modelo de trampa diseñado para capturar escolítidos (Lindgren, 1983). Para evitar el escape de los insectos, se usaron vasos desechables de plástico que contenían agua jabonosa, los cuales se colocaron en el interior de los vasos colectores de las trampas (Lindgren *et al.*, 1983). A estos vasos internos se les hicieron múltiples perforaciones (1 mm de diámetro aprox.) alrededor de la boca para drenar el exceso de agua proveniente de la lluvia.

Las trampas fueron cebadas con mezclas de tres atrayentes: Aguarrás (A) (Pinosa S. de R.L. de C.V.), *endo-brevicomina* (B) y frontalina (F), estas dos últimas de composición racémica (Synergy, Co.). Para evitar inducir infestaciones de árboles sanos con estos atrayentes, se usó una dosis baja de liberación de frontalina y aguarrás, utilizando solamente un tubo de frontalina de los dos que trae el cebo comercial y exponiendo aproximadamente 3 mm la mecha impregnada de aguarrás que sobresale del frasco dispensador que propone Macías *et al.* (2006). Adicionalmente, las trampas ya cebadas se colocaron en claros de por lo menos 20 m de diámetro dentro del bosque (Sullivan *et al.*, 2007) y se cuidó que no existieran brotes de infestación en por lo menos 100 m a la redonda de los experimentos (B. Sullivan, Com. Pers.). Las tasas de liberación usadas fueron de 5.0 g/d de aguarrás (determinada en campana de extracción en laboratorios de ECOSUR-Tapachula a 26°C), 2.5 mg/d de frontalina y 0.3 mg/d de *endo-brevicomina* (ambas determinadas por el proveedor a 20°C).

Las combinaciones de estos atrayentes usadas como tratamientos se muestran en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Tratamientos usados como cebos en trampas tipo Lindgren para capturar a ambos morfos de *D. frontalis* en el PNLM, Chiapas.

Tratamiento (T)	Composición
1 (control)	A
2	A+F (atrayente estándar)
3	A+B
4	A+B+F
5	A+4mB+F

A= Aguarrás (fuente de α -pineno),

F= frontalina racémica,

B= *endo*-brevicomina racémica,

4mB= *endo*-brevicomina racémica colocada a 4 m de la trampa.

Debido a que se ha reportado que la *endo*-brevicomina provoca el ataque de árboles sanos adyacentes a los infestados (Renwick & Vité, 1980), en el T4 la *endo*-brevicomina se colocó en la misma trampa junto con el aguarrás y la frontalina, mientras que en el T5 se puso a 4 m de distancia (4mB). Así, un efecto gregario denotaría una mayor captura de insectos en el T4, mientras que un efecto antiagregario se reflejaría en una mayor captura del T5, puesto que el insecto al detectar la *endo*-brevicomina, desviaría su trayectoria de vuelo hacia la trampa colocada a 4 m de la fuente de este compuesto.

El diseño experimental utilizado fue en Cuadro Latino (5x5), donde las filas fueron las cinco trampas de cada repetición y las columnas fueron los cinco días de colecta que tardó cada experimento (Winer *et al.*, 1991). Se hicieron Análisis de Varianza (ANOVA) separadamente por experimento para determinar diferencias estadísticas significativas entre tratamientos en cuanto a las capturas. Para establecer las relaciones de igualdad entre tratamientos se hicieron las pruebas de comparación de medias de Tukey al 5% de significancia ($\alpha=0.05$).

Los supuestos de homocedasticidad y normalidad fueron corregidos utilizando la familia de transformaciones Box-Cox, aplicando la transformación $(X+0.5)^{-0.4}$ a los datos de capturas totales (machos+hembras) y a las capturas de machos, mientras que a las capturas de hembras se aplicó $(X+0.5)^{-1.2}$. El análisis estadístico y las transformaciones de datos se hicieron en el paquete estadístico JMP® (2000, Ver. 4). Adicionalmente se hicieron pruebas de homogeneidad de proporciones de las relaciones machos:hembras obtenidas en cada tratamiento (tratamientos con cero capturas fueron excluidos), aplicando el estadístico χ^2 al 5% de significancia (Zar, 1984), lo cual se hizo en el paquete Microsoft® EXCELL (Ver. 2003).

IV. Resultados y Discusion

A. Diferenciación morfológica de ambos grupos de insectos.

Los valores Eigen resultantes del ACP sugirieron considerar solamente un componente para graficar los datos obtenidos en ambos sexos, ya que solo el valor Eigen del primer componente fue mayor a uno (Giri, 2004) tal como se muestran en el Cuadro 3. Sin embargo, para visualizar mejor la información se optó por incluir dos componentes. El ACP reveló la separación de las observaciones en dos grupos, tanto en hembras como en machos (Figura 1). De acuerdo con la carga de variables en cada componente, las características morfológicas asociadas con esta segregación en hembras fueron: las estrías en el margen anterior del tórax (Est), la forma del pronoto (FP) y el tamaño de la micangia (Mic), mientras que en machos además de las estrías (Est), también la forma de la varilla seminal (VS) contribuyeron en la segregación de las observaciones en dos grupos. La variable FP de los machos fue descartada del análisis ya que todos los insectos presentaron la misma forma (Cuadro 3).

Estas características morfológicas distintivas de ambos morfos ya habían sido previamente reportada por Midtgaard & Thunes (2002) en insectos de Belice, quienes incluso la propusieron como una nueva especie de *Dendroctonus* que denominaron *D. woodii*, sin embargo no existe un trabajo formal publicado que corrobore la existencia de esta nueva especie. En las Figuras 2 y 3 se muestran los caracteres morfológicos de hembras y machos, respectivamente, que diferencian a cada uno de los morfos.

Con base en estos resultados se obtuvo que uno de los grupos de insectos correspondió a la descripción taxonómica de *D. frontalis*. Esta identificación se basó en la forma de la varilla seminal tal como ha sido reportada para esta especie (Vité *et al.*, 1975; Lanier *et al.*, 1988), así como en base a la presencia de una micangia abultada en hembras (Barras, 1967). En lo sucesivo denominaremos a

los individuos así identificados, como morfo 1 (M1). El otro grupo, segregado, pero no identificado por medio de las características señaladas, lo referiremos como morfo 2 (M2) (Figura 1).

Cuadro 3. Cargas de variables morfológicas resultantes del ACP aplicado separadamente a machos y hembras de individuos de *Dendroctonus* colectados de junio a septiembre de 2007 en el PNLM, Chiapas.

Variable	Hembras (n=89)		Machos (n=91)	
	Coeficientes		Coeficientes	
	CP1	CP2	CP1	CP2
Largo de cuerpo (LC)	0.405	0.453	0.430	0.153
Ancho de cabeza (AC)	0.408	0.412	0.433	0.117
Ancho de proceso epistomal (A-PE)	0.397	0.373	0.415	0.132
Estrías (Est)	0.413	-0.403	0.407	-0.500
Ancho de surco frontal (A-SF)	-	-	0.352	0.668
Forma de pronoto (FP)	-0.413	0.403	a	a
Micangia (Mic)	-0.413	0.403	-	-
Varilla Seminal (VS)	-	-	-0.407	0.500
Valores Eigen	5.48	0.38	5.02	0.59

^a Descartado del análisis.

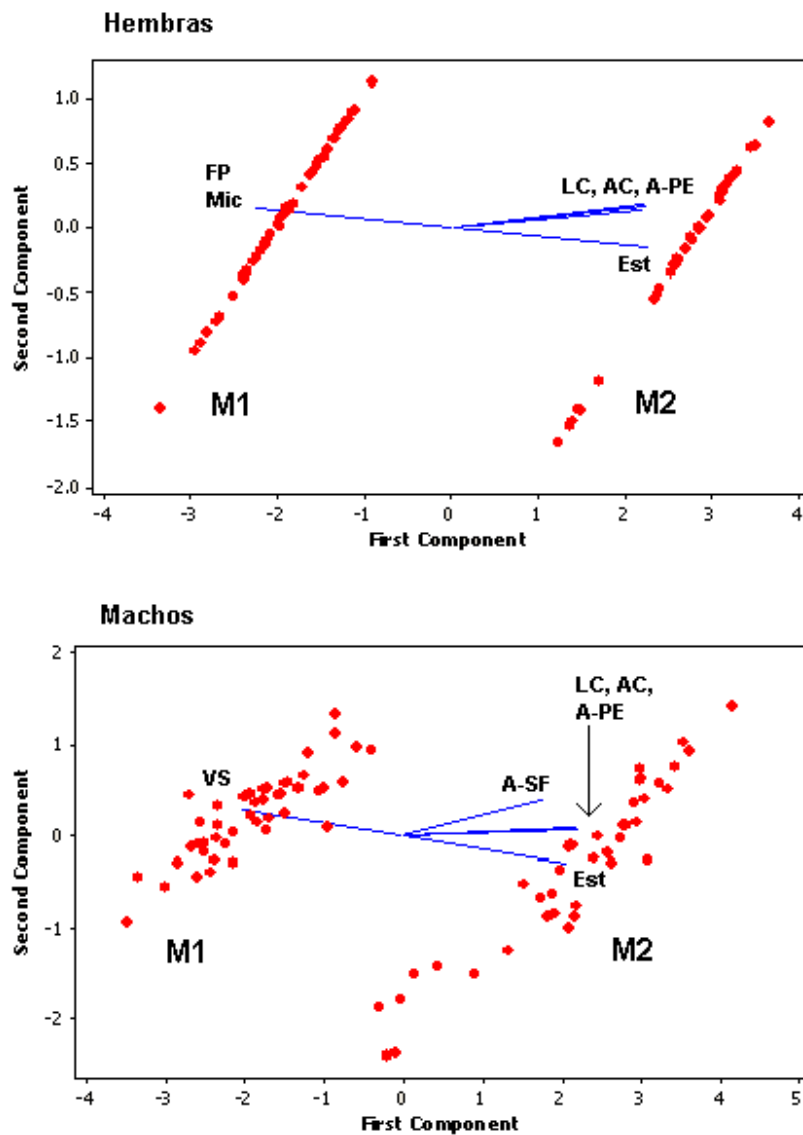


Figura 1. Análisis de Componentes Principales de las características morfológicas de hembras (n=89) y machos (n=91) de individuos de *Dendroctonus* colectados de junio a septiembre de 2007 en el PNLM, Chiapas. M1= *D. frontalis* y M2= Especie no identificada.

Aunque Barras (1967) mencionó que la micangia abultada es un carácter que también pueden presentar las hembras de otras especies del complejo *Dendroctonus* (como *D. brevicomis*, *D. mexicanus* y *D. parallelocolis*), se descarta la posibilidad de una identificación errónea de hembras de *D. frontalis* y una confusión con hembras de otras especies similares morfológicamente entre sí que coexistan simpátricamente en el PNLM, como por ejemplo *D. mexicanus*, una especie presente en esta región aunque en proporciones muy bajas ($\approx 1\%$ en *P. maximinoi* y $\approx 5\%$ en *P. oocarpa*) (Salinas *et al.*, 2004). De haberse hecho una identificación errónea, la presencia de otras especies debió hacerse evidente, ya que se identificaron aproximadamente 1,000 insectos en este trabajo y todos pertenecieron a *D. frontalis*. Aunque actualmente existen muy pocos trabajos sobre el desarrollo de técnicas de genitalia femenina en especies de *Dendroctonus*, esta sería una herramienta que en un futuro puede ser de gran ayuda para resolver este tipo de situaciones (Ríos *et al.* en prensa).

El morfo M2 no se pudo identificar como alguna de las especies de *Dendroctonus* presentes en México (Cibrian *et al.*, 1995; Wood, 1982a; Salinas *et al.*, 2004). La presencia de estrías en el margen anterior del tórax y la micangia poco prominente de las hembras del morfo M2 solamente han sido reportadas en el trabajo de Midtgaard & Thunes (2002), pero no en una referencia arbitrada, lo que abre la oportunidad de realizar más trabajos de investigación y determinar si se trata de una nueva especie bajo un incipiente proceso de formación o se trata de una simple variación morfológica debida a factores aún no identificados.

El ACP determinó que las variables continuas incluidas en el análisis (LC, AC, A-PE, A-SF) no fueron determinantes para hacer la separación de ambos morfos, sin embargo es importante mencionar que el M2 fue el que presentó las mayores dimensiones corporales, principalmente el largo del cuerpo (LC) y ancho de cabeza (AC), por lo que la separación de morfos hecha por Niño (2007) en base a la longitud corporal (Morfo grande: >4 mm) no dista mucho de los resultados que se obtuvieron en el presente trabajo.

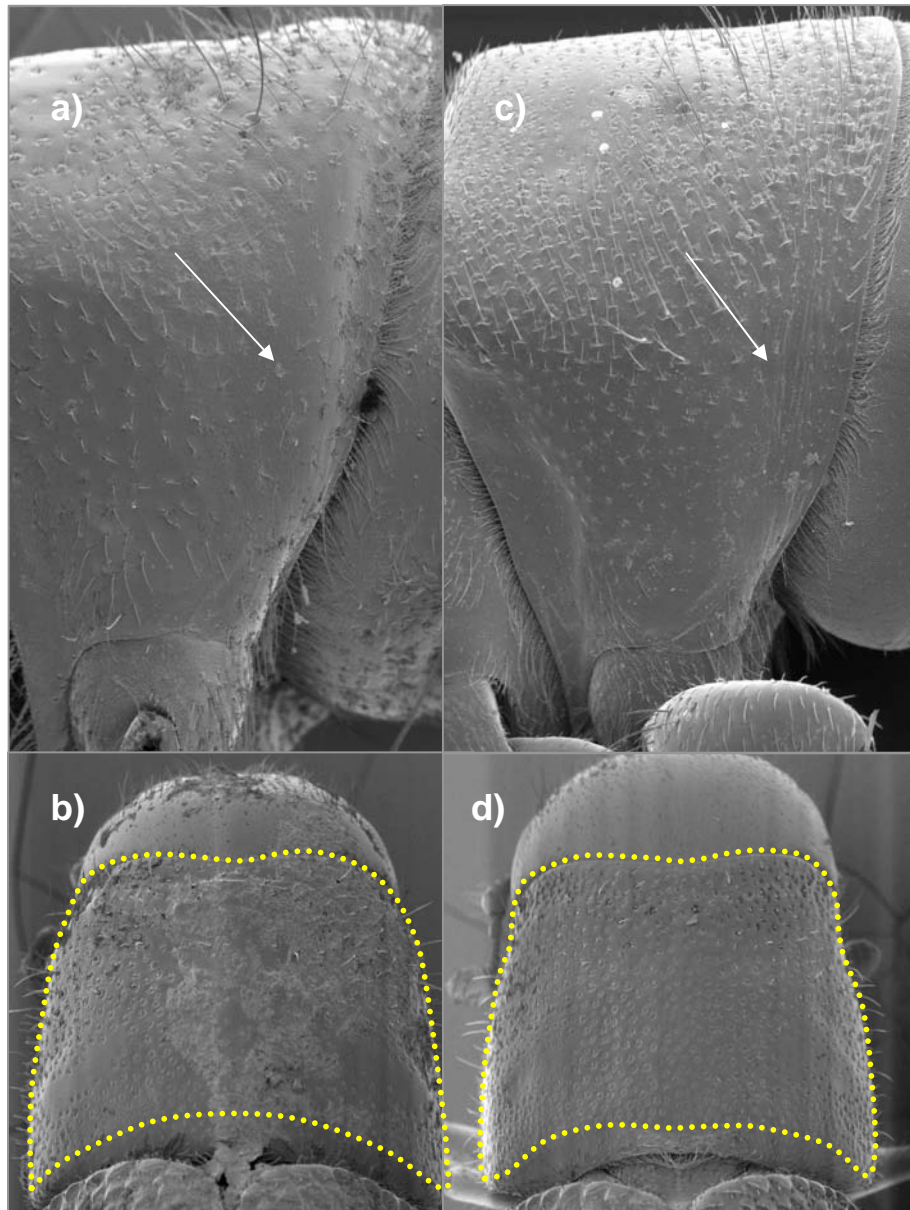


Figura 2. Caracteres morfológicos que separan a las hembras de ambos morfos. M1 (*D. frontalis*): a) estrías ausentes y micangia abultada, b) pronoto redondeado; M2 (No identificado): c) estrías presentes y micangia poco visible, d) pronoto en forma de cuello de botella.

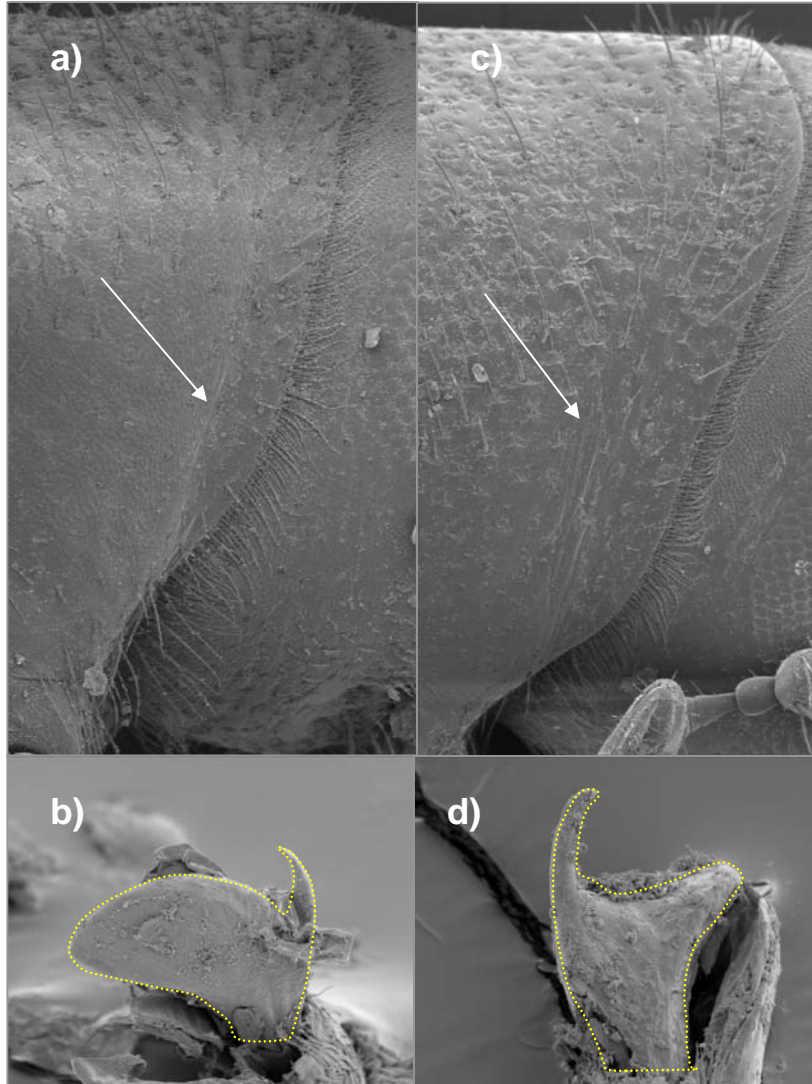


Figura 3. Caracteres morfológicos que separan a los machos de ambos morfos. M1 (*D. frontalis*): a) estrías ausentes y b) varilla seminal redondeada, espina corta; M2 (No identificado): c) estrías presentes, d) varilla angular, espina larga.

B. Distribución espacial de los morfos en los árboles hospederos.

La Figura 4 muestra la abundancia de insectos emergidos de cada morfo a las distintas alturas de los fustes de individuos de *P. oocarpa* (a) y de *P. maximinoi* (b). Estos mismos datos se muestran en proporción de emergencia de ambos morfos (Figura 5). El análisis Log-lineal mostró una asociación o dependencia altamente significativa entre las categorías especie de pino hospedero y el morfo de insecto encontrado ($X^2_{(1,0.05)} = 47.91$, $p < 0.0001$), así como entre la altura de fuste y el tipo de morfo ($X^2_{(4,0.05)} = 141.68$, $p < 0.0001$).

La razón de momios (rm) entre las categorías especie de pino hospedero y morfo encontrado, demostró que hay una posibilidad de 4:1 de encontrar al M1 (*D. frontalis*) en *P. oocarpa* y de 0.25:1 en *P. maximinoi*. Con estos mismos valores pero de manera inversa ocurrió en el M2 (especie no identificada), es decir, se encontró en *P. maximinoi* a una razón de 4:1 y de 0.25:1 en *P. oocarpa* (ANEXO 2). Esto significa que existe una mayor asociación del M1 con el hospedero *P. oocarpa* y del M2 con la especie *P. maximinoi*.

Por otra parte, las razones de momios entre las categorías altura de fuste y tipo de morfo, mostraron que hay una mayor posibilidad de encontrar al M1 en las alturas de fuste 4-5 y 6-7 m (rm=0.516), mientras que el M2 puede ser encontrado mayormente a alturas bajas: 0-1, 1-2 y 2-3 m (rm=6.87, 4.25 y 3.415, respectivamente) (ANEXO 3).

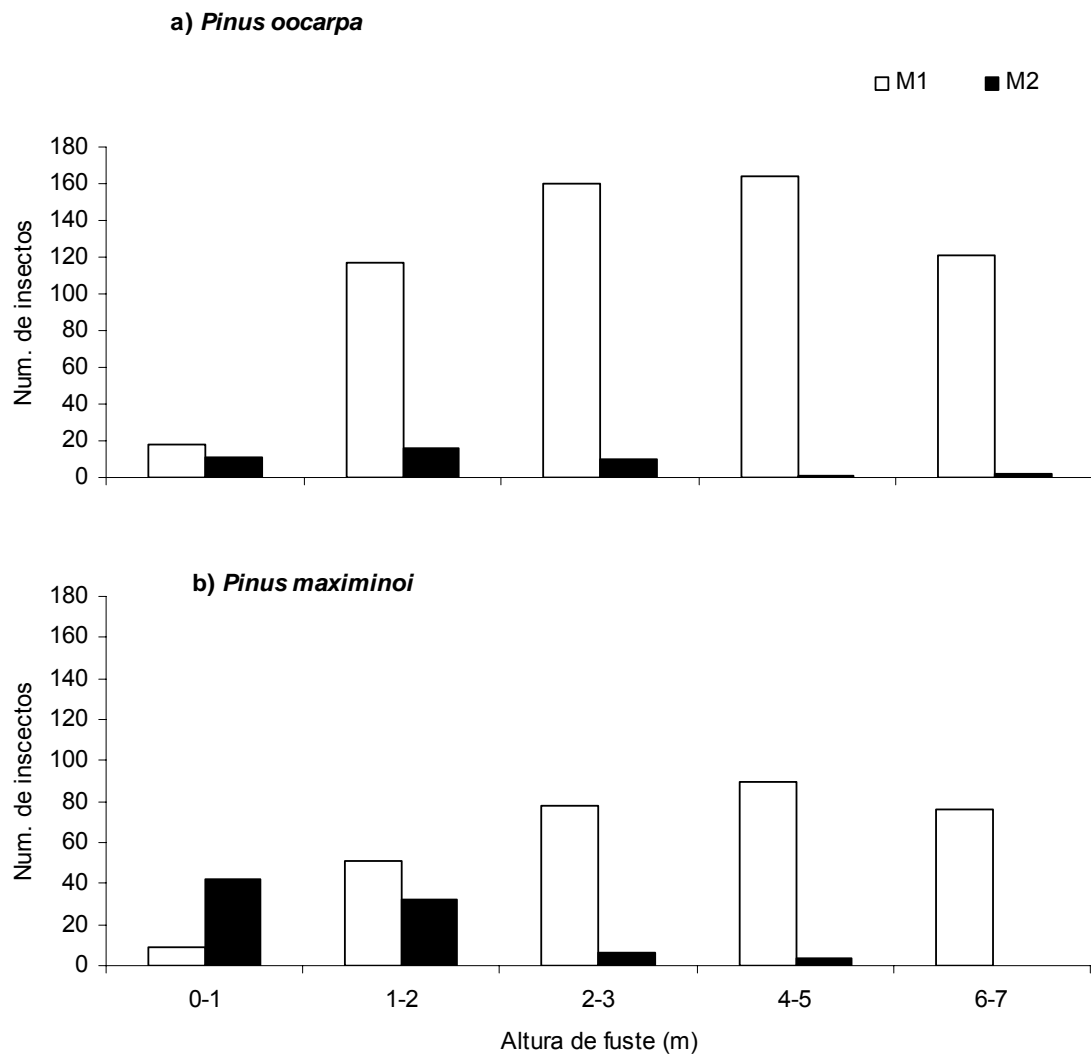


Figura 4. Abundancia de insectos emergidos de cada morfo a diferentes alturas del fuste de sus dos especies de pino hospederas, de junio a septiembre de 2007 en el PNLM, Chiapas. M1= *D. frontalis* y M2= No identificado.

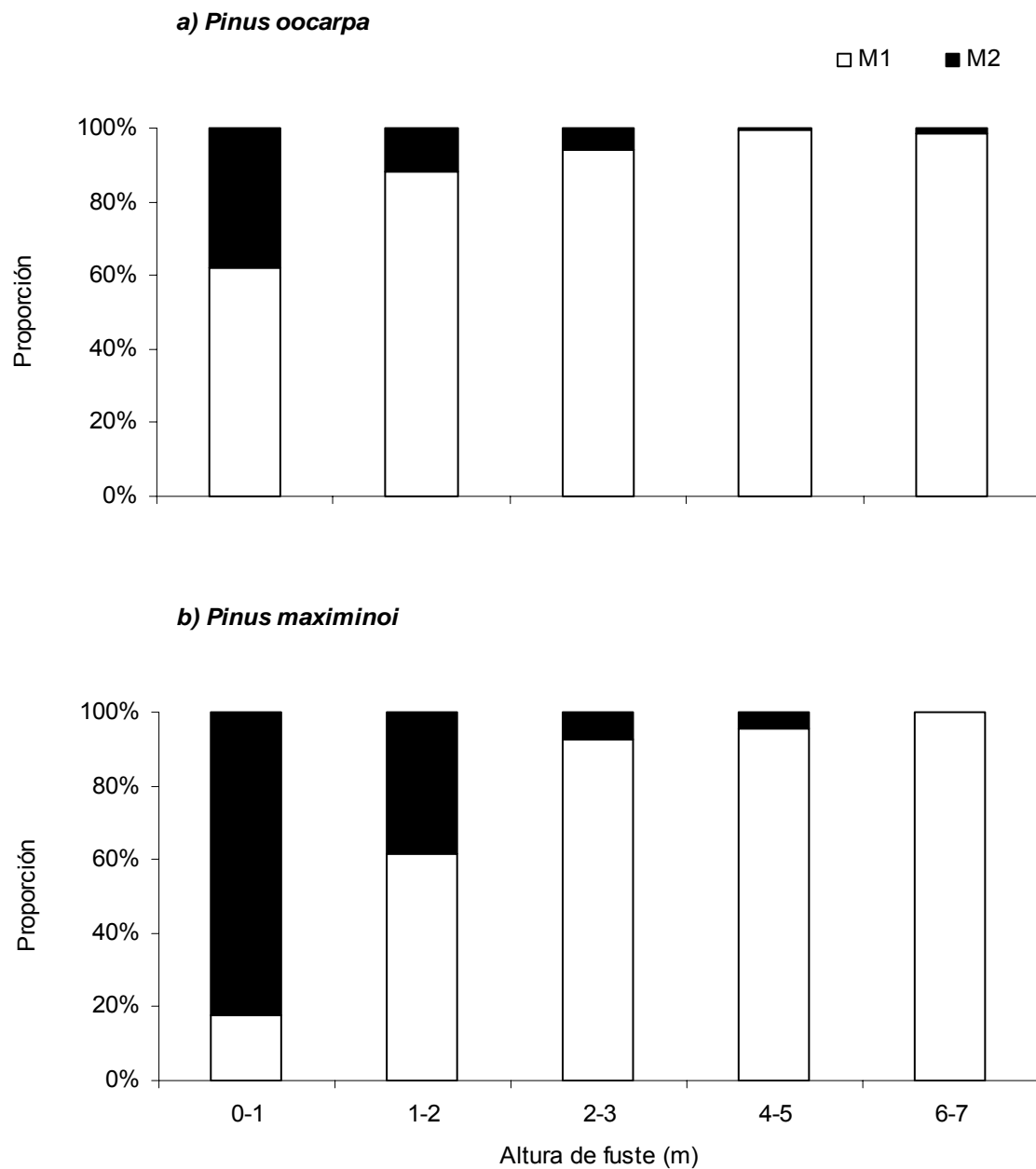


Figura 5. Proporción de emergencia de cada morfo a diferentes alturas del fuste de sus dos especies de pino hospederas, de junio a septiembre de 2007 en el PNLM, Chiapas. M1= *D. frontalis* y M2= No identificado.

Estos resultados ponen en evidencia una diferenciación comportamental importante entre los dos morfos, como es la distribución espacial a lo largo del fuste de sus hospederos y su preferencia por cierta especie de pino. De alguna manera es evidente que hay una repartición del recurso dentro del bosque y una relación de convivencia en la que ambos morfos salen beneficiados bajo una condición simpátrica dentro del PNLM (Schoener, 1974). Ambos morfos no son excluyentes entre sí, sino que los dos pueden ocurrir en las mismas alturas de fuste o en el mismo hospedero siendo variable únicamente la proporción en que cada uno está presente, tal y como se le ha reportado a *D. frontalis* conviviendo con otras especies de *Ips* (Paine *et al.*, 1981; Flamm *et al.*, 1987), así como en tres especies de descortezadores (*Ips duplicatus*, *I. typographus* y *Pityogenes chalcographus*) concurrendo al mismo tiempo a diferentes alturas de fuste en el mismo hospedero (Schlyter & Anderbrant, 1993).

La evidente asociación del morfo M1 con las partes altas del hospedero, donde el floema es más delgado (4-7 m), coincide con lo que reportaron Coster *et al.* (1977), quienes mencionan que de los 3 m hacia arriba es donde llegan los primeros colonizadores del árbol. Asimismo es notable que el M1 está mayormente asociado a *P. oocarpa* que a *P. maximinoi*, tal y como lo reportó Salinas *et al.* (2004) en la región del PNLM. Por otra parte, el morfo M2 se ubica mayormente a alturas bajas (0-3 m) donde existe un floema más grueso y primordialmente en *P. maximinoi*.

Se ha reportado que el grosor del floema del que se alimentan los descortezadores juega un papel determinante en su distribución espacial en el fuste del hospedero (Smith *et al.*, 1993) e incluso puede tener una relación directa con el tamaño de los individuos, es decir, a mayor grosor mayor tamaño (Haack *et al.*, 1987a, b), por lo que quizás las variaciones en las dimensiones corporales entre los dos morfos estén en función del grosor del floema en el que se desarrollaron.

Algunos otros trabajos han asociado la importancia del grosor del floema del hospedero con el desarrollo y reproducción de la progenie, como por ejemplo en *Ips*

calligraphus se encontraron que algunas variables relacionadas con la fecundidad, longevidad, longitud de la galería y el tiempo de desarrollo larval, dependieron fuertemente del grosor del floema, encontrando una relación positiva entre el grosor y estas variables (Haack *et al.*, 1984a, b), aún cuando los insectos se expusieron a diferentes temperaturas (Haack *et al.*, 1984b, 1987a). Estos autores encontraron una gran plasticidad intraespecífica en las características biológicas que consideraron, de lo que concluyeron que esta plasticidad podría ser un factor muy importante en el éxito de colonización de hospederos que presentan variaciones significativas en el grosor y calidad de su floema entre un individuo y otro. Por esta razón no se descarta que esta plasticidad biológica en la colonización de hospederos también se esté presentando en los morfos M1 y M2 de *D. frontalis* en el PNLM y se traten de una misma especie, de ahí que el M2 tenga dimensiones corporales mayores y tenga una mayor asociación con las alturas bajas del fuste hospedero.

Sin embargo, es necesario desarrollar mas trabajos de investigación que permitan correlacionar variables biológicas de ambos morfos con características del hospedero que pudieran tener un efecto importante tanto en el desarrollo como en el éxito y comportamiento de ataque de cada morfo, como son los diámetros del fuste hospedero (Lih & Stephen, 1996), grosor de la corteza y del floema, flujo de resina (Kolb *et al.*, 2006), desarrollo de la progenie a diferentes alturas de fuste (Timms *et al.*, 2006), así como explorar mas a fondo una posible repartición del recurso entre ambos morfos (Schoener, 1974).

C. Captura en campo con atrayentes.

Antes de realizar los análisis estadísticos de los datos colectados en los estudios con atrayentes sintéticos y ya con los datos morfológicos que permitían identificar claramente a los morfos (Experimento A), se procedió a separar por sexo a los individuos de uno y otro morfo capturados en cada trampa, realizándose posteriormente los análisis correspondientes para cada grupo de insectos. Sin embargo el número tan reducido de individuos del morfo M2 no permitió realizar

análisis alguno (Cuadro 4) por lo que únicamente se presentan los resultados para el morfo M1 (*D. frontalis*).

En los dos meses de trampeo, julio (J) y agosto (A), el ANOVA aplicado a los datos de captura de M1 mostró diferencias estadísticas altamente significativas entre tratamientos, tanto en capturas totales (machos+hembras) (J: $F_{(4,72)}=70.49$, $p<0.0001$; A: $F_{(4,32)}=29.62$, $p<0.0001$; Figura 6), como en machos (J: $F_{(4,72)}=70.35$, $p<0.0001$; Figura 7a; A: $F_{(4,32)}=26.98$, $p<0.0001$; Figura 7b) y hembras (J: $F_{(4,72)}=29.86$, $p<0.0001$; Figura 7a; A: $F_{(4,32)}=10.78$, $p<0.0001$; Figura 7b).

En lo que respecta al mes de julio, las pruebas de comparación de Tukey ($\alpha=0.05$) establecieron una igualdad entre los tratamientos T4 (A+B+F) y T5 (A+4mB+F), que fueron los que capturaron significativamente mayor cantidad de insectos con respecto a los demás atrayentes (Figuras 6a, 7a). El T2 (A+F) capturó mas insectos que el T1 (A) y el T3 (A+B), pero menos que el T4 y T5 (Figura 6a). Al aplicar el ANOVA por sexo, se encontró esta misma relación para el caso de machos (Figura 7a), pero en el caso de hembras solamente los tratamientos T4 y T5 capturaron una mayor proporción con respecto a los otros tres atrayentes.

En el mes de agosto, contrario a lo obtenido en el mes anterior, la adición de la *endo*-brevicomina al atrayente estándar (T2) no tuvo ningún efecto en las capturas, ya que los tratamientos T2, T4 y T5 capturaron la misma cantidad de insectos, aunque estos tres atrayentes fueron significativamente mayores a las capturas de los tratamientos T1 y T3 (Figura 6b). Una relación similar se obtuvo al hacer los análisis separadamente por sexo (Figura 7b).

La adición de *endo*-brevicomina (T4 y T5) al atrayente aguarrás + frontalina (T2), redujo significativamente la proporción macho : hembra de 46:1 (T2) a 4:1 (T4) y 7:1 (T5) ($X^2_{(2,0.05)}=19.84$, $p<0.0001$) en el mes de julio, sin embargo en el trampeo de agosto las proporciones de sexos capturados por atrayente fueron iguales entre sí ($X^2_{(2,0.05)}=2.99$, $p=0.22$), siendo de 17:1, 6:1 y 6.3:1 para T2, T4 y T5,

respectivamente. Debido a las nulas capturas de los tratamientos T1 y T3, no se incluyeron en este análisis de proporción de sexos.

La proporción de sexos capturados por el atrayente T2 de 46:1 en julio y de 17:1 en agosto, nos indica una mayor respuesta de machos al atrayente que de hembras, lo cual también se ha observado constantemente en trampeos realizados en el PNLM (A. Niño, J. Macías. Com. Pers.). Por otra parte, en Estados Unidos se han capturado proporciones de sexos mas balanceadas con respecto a las encontradas en el presente trabajo con la mezcla frontalina + aguarrás, por ejemplo: 3.4:1 (Sullivan *et al.*, 2007), 4.6:1 (Vité *et al.*, 1985), 1.5:1 (Salom *et al.*, 1992) y 1:0.46 (Payne *et al.*, 1978a).

Cuadro 4. Captura promedio/trampa/día (\pm EE) del morfo M2 en trampas tipo Lindgren cebadas con Aguarrás (A), frontalina racémica (F) y/o *endo-brevicomina* racémica en trampa (B) o a 4 m de distancia (4mB), durante Julio y Agosto de 2007 en el PNLM, Chiapas.

Mes	Atrayente	Total	Machos	Hembras
Julio	A	0.05 \pm 0.05	0.00 \pm 0.00	0.05 \pm 0.05
	A+F	0.10 \pm 0.10	0.05 \pm 0.05	0.05 \pm 0.05
	A+B	0.00 \pm 0.0	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
	A+B+F	0.60 \pm 0.25	0.30 \pm 0.20	0.30 \pm 0.17
	A+4mB+F	1.50 \pm 0.44	1.05 \pm 0.34	0.45 \pm 0.13
Agosto	A	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
	A+F	0.30 \pm 0.13	0.10 \pm 0.10	0.20 \pm 0.13
	A+B	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
	A+B+F	0.10 \pm 0.00	0.10 \pm 0.10	0.00 \pm 0.00
	A+4mB+F	0.70 \pm 0.10	0.60 \pm 0.34	0.10 \pm 0.10

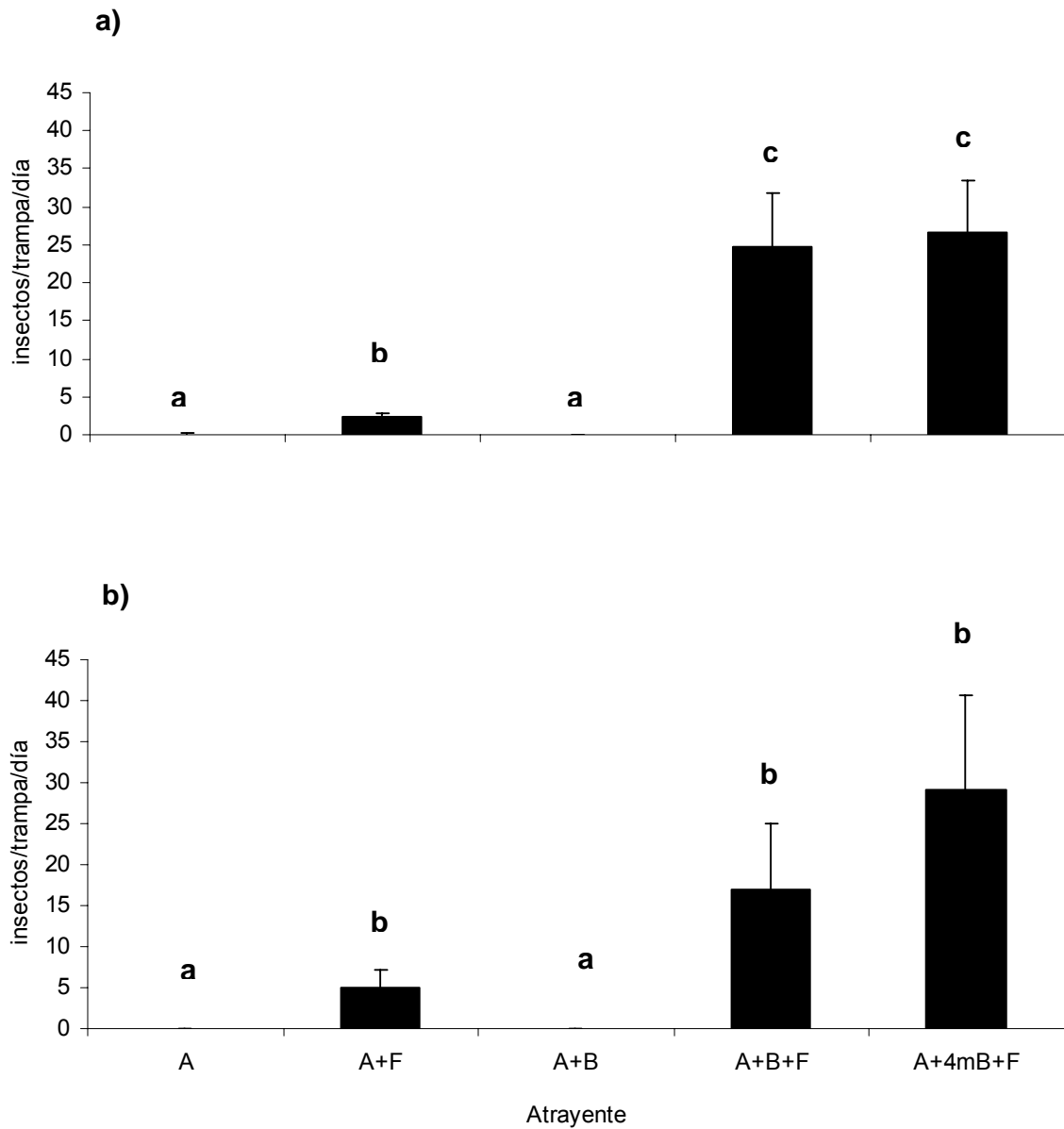


Figura 6. Captura promedio (\pm EE) de ambos sexos del M1 (*D. frontalis*) en trampas tipo Lindgren cebadas con Aguarrás (A), frontalina racémica (F) y/o *endo*-brevicomina racémica colocada en trampa (B) o a 4 m de distancia (4mB), durante a) 3-8/Julio, y b) 15-20/Agosto de 2007 en el PNLM, Chiapas. Barras con diferente letra son estadísticamente diferentes (Tukey, $\alpha=0.05$)

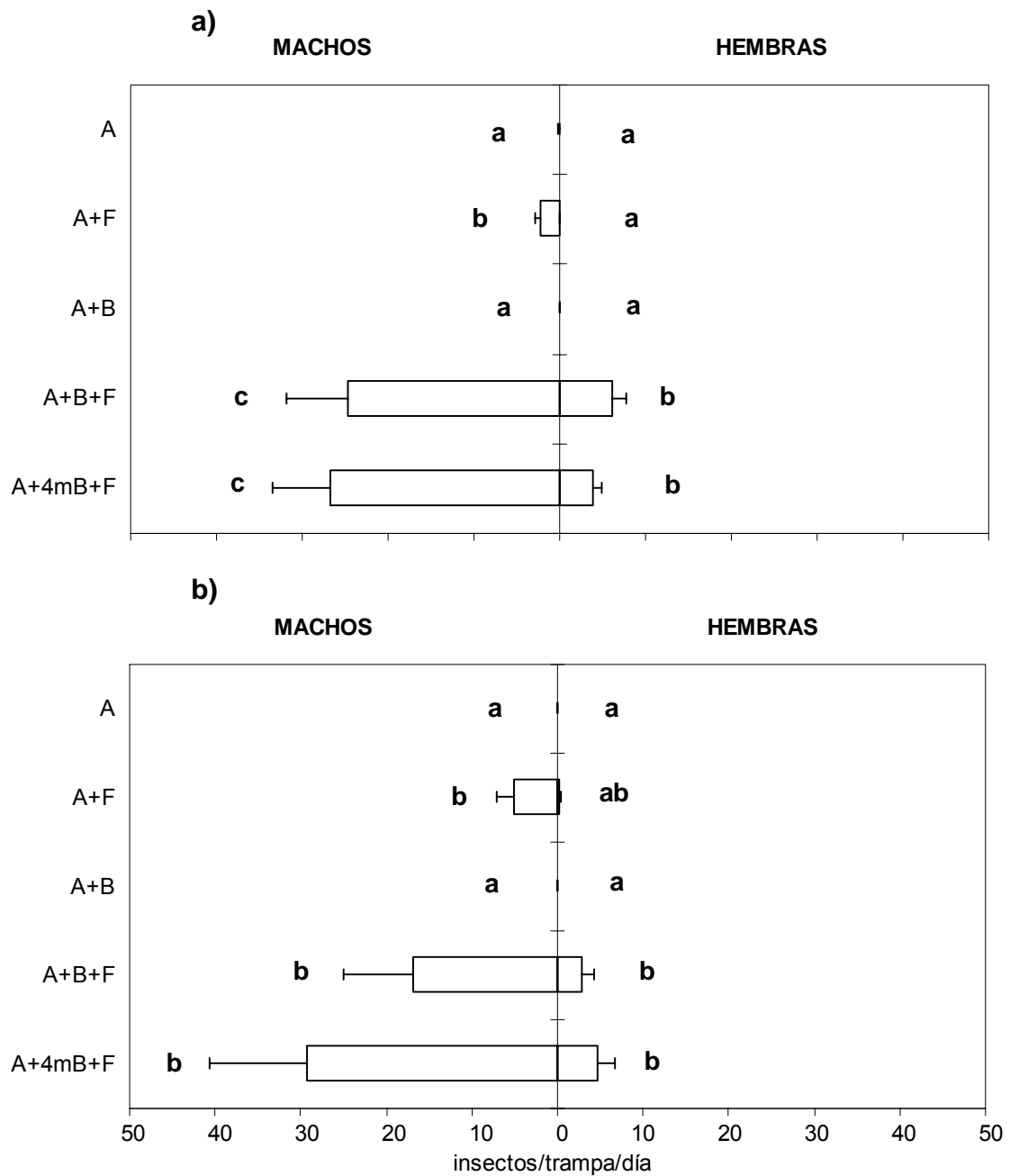


Figura 7. Captura promedio (\pm EE) de ambos sexos de M1 (*D. frontalis*) en trampas tipo Lindgren cebadas con Aguarrás (A), frontalina racémica (F) y/o *endo*-brevicomina racémica colocada en trampa (B) o a 4 m de distancia (4mB), durante a) 3-8/Julio, y b) 15-20/Agosto de 2007 en el PNLM. En cada mes y en cada sexo las barras con diferente letra son estadísticamente diferentes (Tukey, $\alpha=0.05$).

Para el caso de las capturas del M1 (*D. frontalis*) se nota un claro efecto sinérgico de la *endo*-brevicomina al adicionarlo a la frontalina y aguarrás, tanto en hembras como en machos durante el mes de julio, siendo incluso diferente la proporción de sexos capturados ($p < 0.0001$). La distancia de 4 m a la que fue colocada la *endo*-brevicomina no tuvo ningún efecto sobre las capturas con respecto a colocarla en la misma trampa. Quizás la dosis usada fue tan baja (0.3 mg/d) que la pluma de liberación fue tan suave que se distribuyó en la vecindad de la trampa sin causar un efecto anti-agregario aún estando alejada. Probablemente si esta feromona se hubiera colocado a mayor distancia con esa misma dosis baja, la pluma se hubiera diluido y no habría existido el efecto sinérgico, pero por el lado contrario, si se hubiese incrementado la dosis a esa misma distancia de 4 m, posiblemente se hubiera presentado el efecto antiagregario en las capturas. De aquí que la *endo*-brevicomina sea considerada como una feromona multifuncional en función de la dosis. Payne *et al.* (1977, 1978a) y Salom *et al.* (1992) encontraron un efecto antiagregario a tasas de liberación relativamente altas (1.5 mg/d y 12 mg/d), mientras que el presente trabajo junto con los de Vité *et al.* (1985) y Sullivan *et al.* (2007) encontraron un efecto sinérgico en las capturas (dosis menor a 0.5 mg/d).

Por otra parte, en el trampeo realizado en el mes de agosto, no se tuvo ningún efecto al agregar la *endo*-brevicomina al atrayente estándar ya que ambos atrayentes capturaron la misma cantidad de insectos, con una proporción igual de machos y hembras colectados ($p = 0.22$), lo cual nos indica un probable efecto de variación temporal de insectos volando durante los dos meses de trampeo (Thatcher & Pickard, 1964; Salom *et al.*, 1992; Gaylord *et al.*, 2006), variación principalmente de hembras.

La nula respuesta en campo por parte del morfo M2 (pero no la del morfo M1) a los atrayentes usados en los trampeos muestran otra diferencia comportamental importante. Los resultados de Niño (2007) sugirieron la adición de *endo*-brevicomina al atrayente estándar (frontalina mas aguarrás), ya que lo encontró como un compuesto antenalmente muy activo y aunque la definición de sus “morfos” se basó

en la longitud del cuerpo, encontró que el morfo grande presentaba diferencias estadísticas en la producción de esa feromona, de ahí que su utilización posiblemente diera una atracción diferencial para los morfos M1 y M2 en campo. Sin embargo los resultados no fueron los esperados, ya que las capturas del morfo M2 resultaron ser muy bajas,

Estas bajas capturas del M2 podrían relacionarse con que las poblaciones son realmente bajas en el bosque con respecto al M1, tal y como reflejan los resultados del experimento B (Figura 4) donde se aprecia que la proporción de emergencia del M2 con respecto al M1, es muy baja (14% aproximadamente). Asimismo, observaciones hechas directamente en campo también apoyan esta hipótesis.

Otro factor que pudo tener algún efecto en las bajas capturas del M2, es la posible existencia de una enantioespecificidad hacia los atrayentes usados en los trampeos, ya que se utilizaron compuestos feromonales racémicos. Niño (2007) encontró que insectos provenientes del PNLM producían una frontalina con un índice enantiomérico de 97(-):3(+) y una *endo*-brevicomina con casi 100% del enantiómero (+). Esto sugiere que al usar frontalina y *endo*-brevicomina con estas proporciones enantioméricas, se podrían incrementar las capturas del M2 en trampas. La variación geográfica de la composición enantiomérica de la frontalina en *D. frontalis* ya ha sido previamente reportada, con una predominancia del enantiómero negativo (Stewart *et al.*, 1977; Grossman *et al.*, 1997; Sullivan *et al.*, 2007), mientras que en la *endo*-brevicomina se ha encontrado mayormente el enantiómero positivo (Redlich *et al.*, 1987; Sullivan *et al.*, 2007).

En trampeos de campo, al usar el enantiómero (+) *endo*-brevicomina en mezcla con frontalina racémica y α -pineno (atrayente estándar), las capturas de *D. frontalis* se incrementaron 4.1 veces más (Vité *et al.*, 1985), mientras que Sullivan *et al.* (2007) obtuvieron 38 veces más capturas usando este mismo enantiómero. De aquí resalta la importancia que tiene la composición enantiomérica de las feromonas usadas en los trampeos, dada la especificidad de receptores que las antenas de los

insectos pueden presentar (Payne *et al.*, 1988; Sullivan *et al.*, 2007). No se han reportado trabajos de campo que incluyan el enantiómero negativo de la frontalina en mezcla con otros atrayentes, sin embargo se ha demostrado una gran respuesta antenal hacia este enantiómero en bioensayos electrofisiológicos (Payne *et al.*, 1982; Sullivan *et al.*, 2007).

Quizás el aporte mas importante de nuestro trabajo sea haber encontrado los caracteres morfológicos que separan a los morfos M1 y M2 de *D. frontalis*, puesto que este resultado abre la oportunidad de diseñar futuras investigaciones usando estos caracteres y que permitan encontrar algunas otras diferencias importantes entre ambos grupos de insectos, como por ejemplo la cantidad, calidad, composición quiral y el tipo de feromonas que producen, tal y como lo realizó Niño (2007), además de realizar estudios mas específicos que permitan encontrar diferencias aún mas contundentes, como son las cruzas entre morfos, comportamiento de ataque, mecanismo de comunicación, variación temporal y espacial de la población en los árboles hospederos a lo largo de todo un año, así como encontrar una respuesta diferencial a compuestos usados como atrayentes en trampas y estudios de biología molecular, entre otros trabajos, que permitan a futuro caracterizar mejor a ambos morfos y permitan diseñar una estrategia de manejo y monitoreo específicos para cada uno de estos asociados en los bosques de pino en donde estén presentes y que coadyuve finalmente a resolver la interrogante de que si se trata o no de una nueva especie de *Dendroctonus*.

Resulta importante además replicar todos estos trabajos en otras poblaciones Mexicanas de *D. frontalis*, diferentes a las del PNLM, además de Centroamérica, en donde sea evidente la existencia de esta separación y/o diferenciación morfológica, estudios que permitan a futuro inferir sobre posibles variaciones bioecológicas y comportamentales importantes en poblaciones de otras latitudes y longitudes, variaciones que han caracterizado a *D. frontalis* en todos los puntos geográficos en donde está distribuido.

V. Conclusiones

A. Diferenciación morfológica de ambos grupos de insectos.

Las características morfológicas que pueden ser usadas para separar a las hembras de los morfos M1 (*D. frontalis*) y M2 (especie no identificada) son las siguientes:

- M1: estrías ausentes en el margen anterior del tórax, micangia abultada y pronoto redondeado.
- M2: estrías presentes, micangia poco prominente y pronoto en forma de cuello de botella.

Las características para separar a los machos son las siguientes:

- M1: estrías ausentes en el margen anterior del tórax y varilla seminal en forma redondeada con espina corta.
- M2: estrías presentes y varilla seminal angulada con espina larga.

B. Distribución espacial de los morfos en los árboles hospederos.

El M1 está mayormente asociado a *P. oocarpa* y a las alturas altas de fuste (4-7 m), mientras que el M2 está mas asociado a *P. maximinoi* y alturas bajas de fuste (0-3 m).

C. Captura en campo con atrayentes.

Al adicionar la *endo*-brevicomina al atrayente estándar (frontalina + aguarrás) en trampas, hubo un efecto sinérgico en las capturas de ambos sexos del M1, durante el mes de julio, sin embargo en agosto no se presentó ese mismo efecto.

El M2 no respondió a los semioquímicos sintéticos aguarrás, frontalina y *endo*-brevicomina usados como atrayentes en los trampeos de campo considerados en el presente trabajo.

Referencias

- Barkawi, L.S., W. Francke, G.J. Blomquist & S.J. Seybold. 2003. Frontalin: de novo biosynthesis of an aggregation pheromone component by *Dendroctonus* spp. bark beetles (Coleoptera: Scolytidae). *Insect. Biochem. Molec.* 33: 773-788.
- Barras, S.J. 1967. Thoracic mycangium of *Dendroctonus frontalis* (Coleoptera: Scolytidae) is synonymous with a secondary female character. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 60: 486-487.
- Billings, R.F., C.W. Berisford, S.M. Salom & T.L. Payne. 1995. Applications of semiochemicals in the management of Southern Pine Beetle infestations: Current status of research. *In*: S.M. Salom & K.R. Hobson (eds.). Application of semiochemical for management of bark beetle infestations. Proceedings of an informal conference. Indianapolis. P 30-38.
- Christensen, R. 1997. Log-linear models and logistic regression. 2nd edition. Springer-Verlag New York, Inc. 483 p.
- Cibrián, D., J.T. Méndez, R. Campos, H.O. Yates III & J. Flores. 1995. Insectos forestales de México/Forest Insects of Mexico. Universidad Autónoma de Chapingo. SARH, USDA-FS, Com. Forestal. Amer. Norte, FAO. Pub. No. 6. 453 p.
- Clarke, S. 2003. Review of the operational IPM program for the Southern Pine Beetle. *Integrated Pest Management Reviews* 6:293-301.
- Coster, J.E., T.L. Payne, E.R. Hart & L.J. Edson. 1977. Aggregation of the Southern Pine Beetle in response to attractive host trees. *Environ. Entomol.* 6: 725-731.
- Daly, H.V. 1985. Insect morphometrics. *Annu. Rev. Entomol.* 30:415-438.
- Dicke, M. & M.W. Sabelis. 1988. Infochemical terminology: based on cost-benefit analysis rather than origin of compounds? *Funct. Ecol.* 2: 131-139.
- Diehl, S.R. & G.L. Bush. 1984. An evolutionary and applied perspective of insect biotypes. *Annu. Rev. Entomol.* 29:471-504.
- Domínguez, B. 2007. Atracción de coleópteros depredadores a feromonas de sus presas *Dendroctonus* spp. e *Ips* spp. en bosques pinarizados del Parque

- Nacional "Lagunas de Montebello", México. Tesis de Maestría. El Colegio de la Frontera Sur. San Cristóbal de las Casas, Chiapas. 48 p.
- Fairbairn, D.J. 1997. Allometry for sexual size dimorphism: Pattern and process in the coevolution of body size in males and females. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 28:659-687.
- Flamm, R.O., T.R. Wagner, S.P. Cook, P.E. Pulley, R.N. Coulson & T.M. Mcardle. 1987. Host colonization by cohabiting *Dendroctonus frontalis*, *Ips avulus* and *Ips calligraphus* (Coleoptera: Scolytidae). *Environ. Entomol.* 16: 390-399.
- Gaylord, M.L., T.E. Kolb, K.F. Wallin & M.R. Wagner. 2006. Seasonality and lure preference of bark beetles (Curculionidae: Scolytinae) and associates in a northern Arizona Ponderosa pine forest. *Environ. Entomol.* 35: 37-47.
- Giri, N.C. 2004. Multivariate statistical analysis. 2nd edition. Marcel Dekker, Inc. New York. 558 p.
- Grossman, D.M., S.M. Salom, F.W. Ravlin & R.W. Young. 1997. Geographic and gender differences in semiochemicals in emerging adult southern pine beetle (Coleoptera: Scolytidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 90: 438-446.
- Haack, R.A., J.L. Foltz & R.C. Wilkinson. 1984a. Longevity and fecundity of *Ips calligraphus* (Coleoptera: Scolytidae) in relation to slash pine phloem thickness. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 77: 657-662.
- Haack, R.A., R.C. Wilkinson, J.L. Foltz & J.A. Corneil. 1984b. Gallery construction and oviposition by *Ips calligraphus* (Coleoptera: Scolytidae) in relation to slash pine phloem thickness and temperature. *Can. Entomol.* 116: 625-632.
- Haack, R.A., R.C. Wilkinson & J.L. Foltz. 1987a. Plasticity in life-history traits of the bark beetle *Ips calligraphus* as influenced by phloem thickness. *Oecologia* 72: 32-38.
- Haack, R.A., R.C. Wilkinson, J.L. Foltz & J.A. Corneil. 1987b. Spatial attack pattern, reproduction and brood development of *Ips calligraphus* (Coleoptera: Scolytidae) in relation to slash pine phloem thickness: A field study. *Environ. Entomol.* 16: 428-436.

- Hughes, P.R. 1973. *Dendroctonus*: Production of pheromones and related compounds in response to host monoterpenes. *Z. Angew. Entomol.* 73: 294-312.
- Hughes, P.R. 1974. Response of female southern pine beetle to the aggregation pheromone frontalin. *Z. Angew. Entomol.* 81: 463-466.
- JMP® (2000). Statistics and graphics guide. JMP Ver. 4. By SAS Institute Inc., Cary, NC, U.S.A.
- Kolb, T.E., N. Guerard, R.W. Hofstetter & M.R. Wagner. 2006. Attack preference of *Ips pini* on *Pinus ponderosa* in northern Arizona: tree size and bole position. *Agric. Forest Entomol.* 8: 295-303.
- Langor, D.W. & J.R. Spence. 1991. Host effects on allozyme and morphological variation of the Mountain Pine Beetle, *Dendroctonus ponderosa* Hopkins (Coleoptera: Scolytidae). *Can. Entomol.* 123: 395-410.
- Lanier, G.N., J.P. Hendrichs & J.E. Flores. 1988. Biosystematics of the *Dendroctonus frontalis* (Coleoptera : Scolytidae) complex. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 81: 403-418.
- Lih, M.P. & F.M. Stephen. 1996. Relationship of host tree diameter to within-tree Southern Pine Beetle (Coleoptera: Scolytidae) population dynamics. *Environ. Entomol.* 25: 736-742.
- Lindgren, B.S. 1983. A multi funnel trap for Scolytid beetles (Coleoptera). *Can. Entomol.* 115: 299-302.
- Lindgren, B.S., J.H. Borden, L. Chong, L.M. Friskie & D.B. Orr. 1983. Factors influencing the efficiency of pheromone-baited traps for three species of ambrosia beetles (Coleoptera: Scolytidae). *Can. Entomol.* 115: 303-313.
- Macías, J.E., A. Niño, R. Altuzar y O. Maldonado. 2006. Monitoreo de descortezadores y sus depredadores mediante el uso de semioquímicos. Manual operativo. 2ª edición. ECOSUR-CONAFOR-CONANP-USDA FOREST SERVICE. Ed. Fray Bartolomé de las Casas, SCLC, Chiapas. 26 p.
- Midtgaard, F. & Thunes, K.H. 2002. Pine bark beetles in the Mountain Pine Ridge forest reserve, Belize: Description of the species and how to monitor and combat the beetle infestations. Miljøtrykk AS, 5916 Isdalstø, Norway.

- Minitab 15. 2007. Version Windows.
- Mirov, N.T. 1961. Composition of gum turpentines of pines. Department of Agriculture Forest Service. Technical Bulletin No. 1239. 158 p.
- Niño, A. 2007. Índice enantiomérico y cuantificación de la frontalina y *endo-brevicomina* en una población de *Dendroctonus frontalis* Zimm. (Coleoptera: Curculionidae) en el Sureste de México. Tesis de Maestría. El Colegio de la Frontera Sur. Tapachula, Chiapas. 24 p.
- Osgood Jr, E.A. & E.W. Clark. 1963. Methods of sexing and sex ratios of the Southern Pine Beetle, *Dendroctonus frontalis* Zimm. *Can. Entomol.* 95: 1106-1109.
- Paine, T.D., M.C. Birch & P. Svihra. 1981. Niche breadth and resource partitioning by four sympatric species of bark beetles (Coleoptera: Scolytidae). *Oecologia* 48: 1-6.
- Paine, T.D., K.F. Raffa & T.C. Harrington. 1997. Interactions among scolytid bark beetles, their associated fungi, and live host conifers. *Annu. Rev. Entomol.* 42:179-206.
- Parker, T.J., K.M. Clancy & R.L. Mathiasen. 2006. Interactions among fire, insects and pathogens in coniferous forests of the interior western United States and Canada. *Agric. For. Entomol.* 8:167-189.
- Payne, T.L., J.E. Coster, & P.C. Johnson. 1977. Effects of slow-release formulation of synthetic *endo-* and *exo-brevicomina* on southern pine beetle flight and landing behavior. *J. Chem. Ecol.* 3: 133-141.
- Payne, T.L., J.E. Coster, J.V. Richerson, L.J. Edson & E.R. Hart. 1978a. Field response of the Southern Pine Beetle to behavioral Chemicals. *Environ. Entomol.* 7: 578-582.
- Payne, T.L., J.E. Coster, J.V. Richerson, E.R. Hart, R.L. Hedden & L.J. Edson. 1978b. Reducing variation in field tests of behavioral chemicals for the Southern pine beetle. *J. Georgia Entomol. Soc.* 13: 85-90
- Payne, T.L., J.V. Richerson, J.C. Dickens, J.R. West, K. Mori, C.W. Berisford, R.L. Hedden, J.P. Vité & M.S. Blum. 1982. Southern Pine Beetle: Olfactory receptor

- and behavior discrimination of enantiomers of the attractant pheromone frontalin. *J. Chem. Ecol.* 8: 873-881.
- Payne, T.L., N.A. Andryszak, H. Wieser, E.A. Dixon, N. Ibrahim & J. Coers. 1988. Antennal olfactory and behavioral response of Southern Pine Beetle *Dendroctonus frontalis* to analogs of its aggregation pheromone frontalin. *J. Chem. Ecol.* 14: 1217-1225.
- Pitman, G.B. J.P. Vité, G.W. Kinzer & A.F. Fentiman Jr. 1969. Specificity of populations-aggregating pheromones in *Dendroctonus*. *J. Insect Physiol.* 15: 363-366.
- Pureswaran, D.S. & J.H. Borden. 2003. Is bigger better? Size and pheromone production in the Mountain Pine Beetle, *Dendroctonus ponderosa* Hopkins (Coleoptera: Scolytidae). *J. Insect Behav.* 16: 765-782.
- Pureswaran, D.S., B.T. Sullivan & M.P. Ayres. 2006. Fitness consequences of pheromone production and host selection strategies in a tree-killing bark beetle (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Oecologia* 148: 720-728.
- Pureswaran, D.S., B.T. Sullivan & M.P. Ayres. 2008. High individual variation in pheromone production by tree-killing bark beetles (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Naturwissenschaften* 95: 33-44.
- Renwick, J.A.A. & Vité, J.P. 1980. Biology of pheromones. *Chemie der Pflanzenschutz- und Schadlingsbekämpfungsmittel*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg. 6: 1-28.
- Redlich, H., W. Bruns, W. Francke, V. Schurig, T.L. Payne & J.P. Vité. 1987. Identification of the absolute configuration of *endo*-brevicommin from *Dendroctonus frontalis*. *Tetrahedron* 43: 2029-2034.
- Ríos, A.V., J. Valdéz, A. Equihua & G. Moya. Identification of *Dendroctonus frontalis* (Zimmermann) and *D. mexicanus* (Hopkins) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) trough structures of the female genitalia. *The Coleopterist Bulletin* (aceptado para publicación).
- Rivera, M.L. 2001. Field response of *Dendroctonus frontalis* Zimmermann, *Ips grandicollis* (Eichhoff) (Coleoptera: Scolytidae) and their predators to different

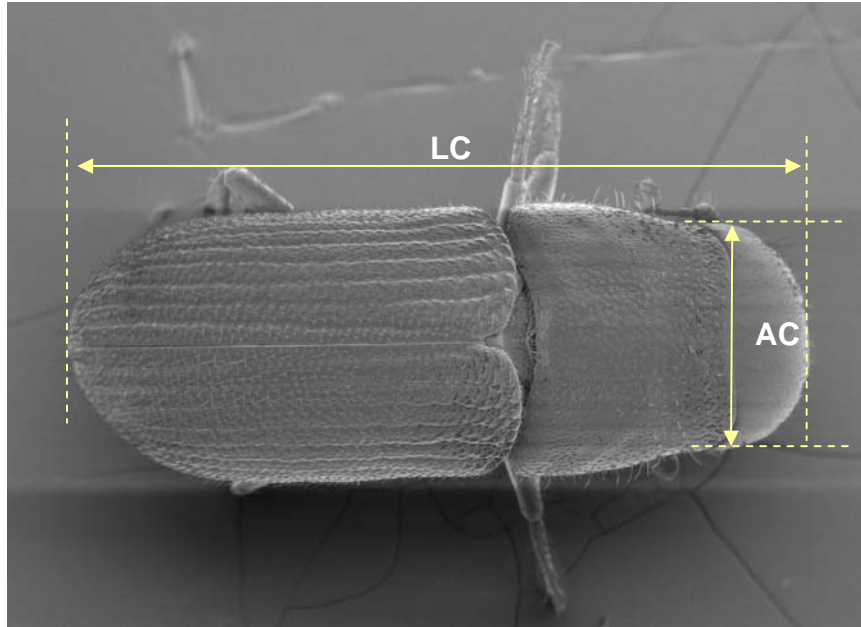
- semiochemicals in Southern Mexico. Tesis de Maestría. El Colegio de la Frontera Sur. Tapachula, Chiapas. 28 p.
- Romme, W.H., D.H. Knight & J.B. Yavitt. 1986. Mountain pine beetle outbreaks in the Rocky Mountains: Regulators of primary productivity? *Am. Nat.* 127: 484-494.
- Ruiz, L., G. Zúñiga & R. Peña. 1994. Morphological variations of *Eriosoma lanigerum* (Homoptera: Aphididae) on *Pyracantha koidzumii* in Mexico City. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 87: 108-115.
- Salinas, Y., M.G. Mendoza, M.A. Barrios, R. Cisneros, J. Macías & G. Zuñiga. 2004. Areography of the genus *Dendroctonus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) in Mexico. *J. Biogeogr.* 31: 1163-1177.
- Salom, S.M., R.F. Billings, W.W. Upton, M.J. Dalusky, D.M. Grossman, T.L. Payne, C.W. Berisford & T.N. Shaver. 1992. Effect of verbenone enantiomers and racemic *endo*-brevicomine on response of *Dendroctonus frontalis* (Coleoptera: Scolytidae) to attractant-baited traps. *Can. J. Forest Res.* 22: 925-931.
- Sánchez, G., L.M. Torres, I. Vázquez, E. González & R. Narváez. 2007. Monitoreo y manejo de insectos descortezadores de coníferas. Libro Técnico No. 4. 1ª edición. INIFAP, CIRNOC, Campo Experimental Pabellón. Aguascalientes, México. 107 p.
- Santiago, T., S. Ochoa & T. Alemán. 1997. Guía para identificar pinos de la meseta central de Chiapas, México. Guías Científicas ECOSUR. Ed. Fray Bartolomé de las Casas, SCLC, Chiapas, México. 56 p.
- SAS (1999-2001). The SAS System for Windows. Ver. 5.1.2600. Release 8.02 TS level 02M0.
- Schlyter, F. & O. Anderbrant. 1993. Competition and niche separation between two bark beetles: existence and mechanisms. *Oikos* 68: 437-447.
- Schoener, T.W. 1974. Resource partitioning in ecological communities. *Science* 185: 27-39.
- Schowalter, T.D., R.N. Coulson & D.A. Crossley Jr. 1981. Role of Southern pine beetle and fire in maintenance of structure and function of the Southeastern coniferous forest. *Environ. Entomol.* 10: 821-825.

- Silverstein, R.M., R.G. Brownlee, T.E. Bellas, D.L. Wood & L.E. Browne. 1968. Brevicomins: Principal sex attractant in the frass of the female Western Pine Beetle. *Science* 159: 889-890.
- Smith, M.T., S.M. Salom & T.L. Payne. 1993. The Southern Pine Beetle guild: An historical review of the research on the semiochemical-based communication system of the five principal species. Virginia Agricultural Experiment Station Bulletin 93-4.
- Smith, R.J., A. Hines, S. Richmond, M. Merrick, A. Drew & R. Fargo. 2000. Altitudinal variation in body size and population density of *Nicrophorus investigator* (Coleoptera: Silphidae). *Environ. Entomol.* 29: 290-298.
- Stillwell, R.C., G.E. Morse & C.W. Fox. 2007. Geographic variation in body size and sexual size dimorphism of a seed-feeding beetle. *Am. Nat.* 170: 358-369.
- Stewart, T.E., E.L. Plumer, L.L. McCandless, J.R. West & R.M. Silverstein. 1977. Determination of enantiomer composition of several bicyclic ketal insect pheromone components. *J. Chem. Ecol.* 3: 27-43.
- Sturgeon, K.B. & J.B. Mitton. 1986. Allozyme and morphological differentiation of Mountain Pine Beetles *Dendroctonus ponderosa* Hopkins (Coleoptera: Scolytidae) associated with host tree. *Evolution* 40: 290-302.
- Sullivan, B.T., W.P. Shepherd, D.S. Pureswaran, T. Tashiro & K. Mori. 2007. Evidence that (+)-*endo*-Brevicomins is a male-produced component of the Southern Pine Beetle aggregation pheromone. *J. Chem. Ecol.* 33: 1510-1527.
- Thatcher, R.C. & L.S. Pickard. 1964. Seasonal variations in activity of the Southern Pine Beetle in east Texas. *J. Econ. Entomol.* 57: 840-842.
- Timms, L.L., S.M. Smith & P. de Groot. 2006. Patterns in the within-tree distribution of the emerald ash borer *Agrilus planipennis* (Fairmaire) in young, green-ash plantations of south-western Ontario, Canada. *Agric. For. Entomol.* 8: 313-321.
- Turchin, P. & F.J. Odendaal. 1996. Measuring the effective sampling area of a pheromone trap for monitoring population density of Southern Pine Beetle (Coleoptera: Scolytidae). *Environ. Entomol.* 25: 582-588.

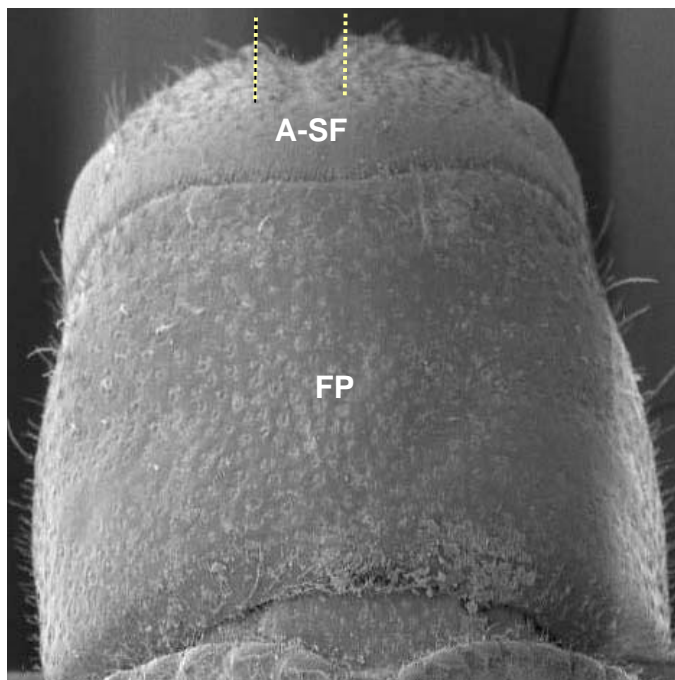
- Vanderwel, D., G. Gries, S.M. Singh, J.H. Borden & A.C. Oehlschlager. 1992. (E)- and (Z)-6-nonen-2-one: biosynthetic precursors of *endo*- and *exo*-brevicommin in two bark beetles (Coleoptera: Scolytidae). *J. Chem. Ecol.* 18: 1389-1404.
- Vité, J.P., R. Lühl, P.R. Hughes & J.A.A. Renwick. 1975. Pine beetles of the genus *Dendroctonus*: Pest populations in Central America. *FAO Bull. Plant Protect.* 6: 178-184.
- Vité, J.P., R.F. Billings, C.W. Ware & K. Mori. 1985. Southern Pine beetle: Enhancement or inhibition of aggregation response mediated by enantiomers of *endo*-Brevicommin. *Naturwissenschaften* 72: 99.
- Winer, B.J., D.R. Brown & K.M. Michels. 1991. Statistical principles in experimental designs. 3rd edition. McGraw Hill. U.S.A. 1057 p.
- Wood, S.L. 1982a. The bark and ambrosia beetles of North and Central America (Coleoptera: Scolytidae), a taxonomic monograph. Great Basin Naturalist Memoirs. 6:1359.
- Wood, D.L. 1982b. The role of pheromones, kairomones and allomones in the host selection and colonization behavior of bark beetles. *Annu. Rev. Entomol.* 27: 411-446.
- Zar, J.H. 1984. Biostatistical analysis. 2nd edition. Prentice Hall, New Jersey, U.S.A. 718 p.
- Zúñiga, G., R. Cisneros, J.L. Hayes & J. Macías. 2002. Karyology, geographic distribution and origin of the genus *Dendroctonus* Erichson (Coleoptera: Scolytidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 95: 267-275.

ANEXOS

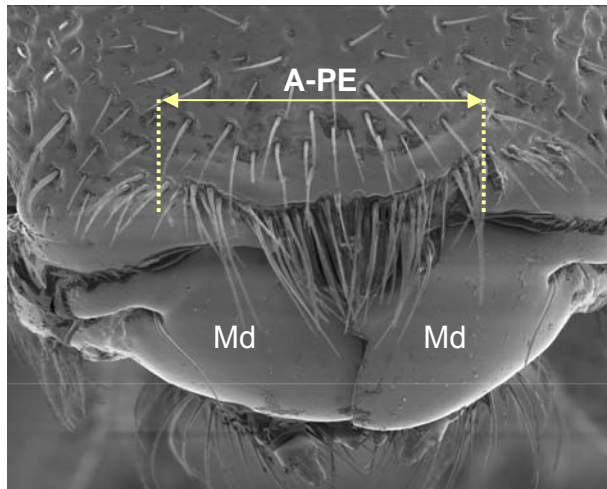
ANEXO 1. Ilustración de las variables morfológicas consideradas para hacer la separación de ambos morfos de *D. frontalis* en el PNLM, Chiapas.



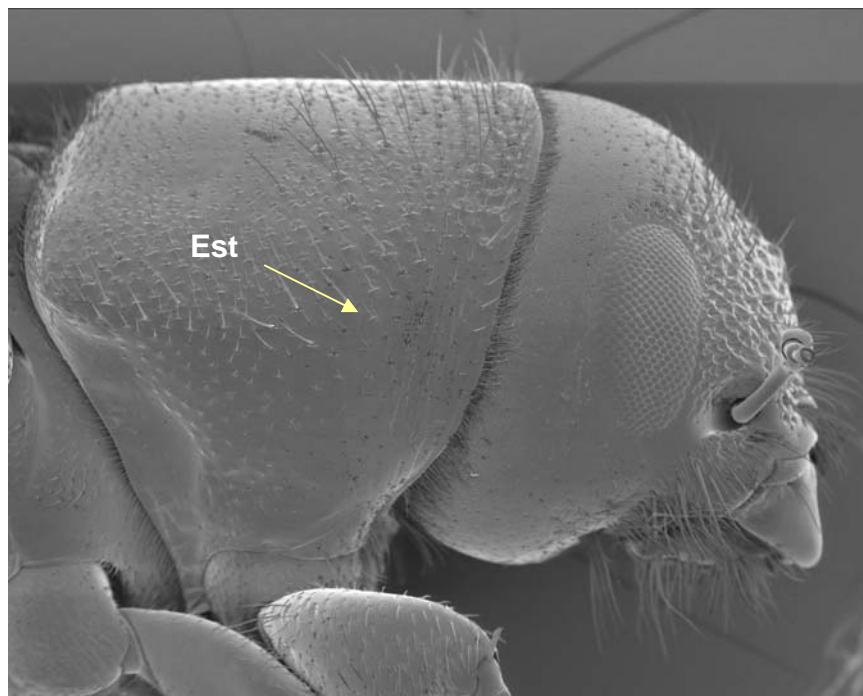
LC=Largo del cuerpo (mm) y AC=Ancho de cabeza (mm).



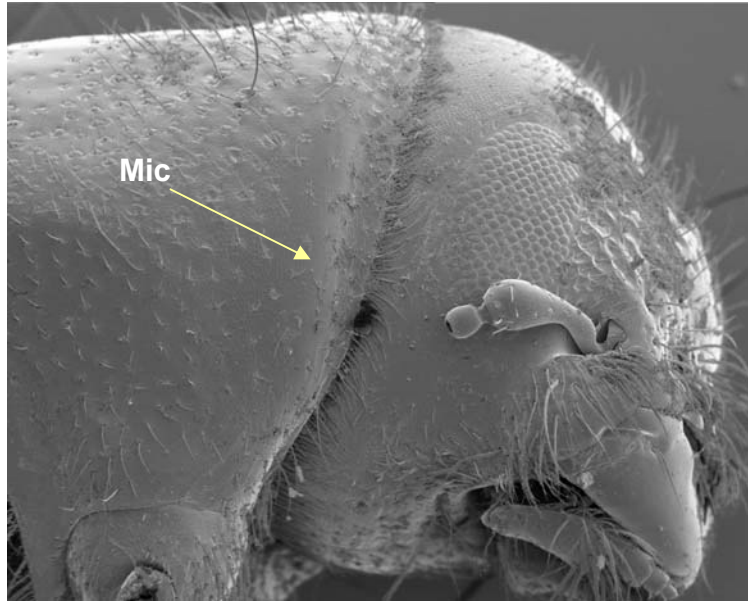
A-SF= Ancho de surco frontal (mm), FP=Forma de pronoto.



A-PE= Ancho de proceso epistomal (mm)



Est= Estrías en el margen anterior del tórax



Mic= Forma de la micangia.



VS= Forma de la varilla seminal; redondeada (izq.), angularada (der.)

ANEXO 2. Análisis parcial de las categorías Especie hospedera vs. Morfo, mediante razón de momios entre los respectivos valores de categorías.

Valores de categorías		
Especie hospedera		
Morfo	<i>P. oocarpa</i>	<i>P. maximinoi</i>
M1	580	304
M2	40	84
Razón de momios		
Morfo	<i>P.ooc : P. max</i>	<i>P. max : P. ooc</i>
M1	4.00	0.25
M2	0.25	4.00

ANEXO 3. Análisis parcial de las categorías Morfo vs. Altura de fuste, mediante razón de momios entre los respectivos valores de categorías.

Valores de categorías					
Altura de fuste (m)					
Morfo	0-1	1-2	2-3	4-5	6-7
M1	27	168	238	254	197
M2	53	48	16	5	2
Razón de momios					
Morfo	0-1 : 1-2	1-2 : 2-3	2-3 : 4-5	4-5 : 6-7	6-7 : 0-1
M1	0.145	0.235	0.293	0.516	193.352
M2	6.870	4.250	3.415	1.939	0.005

