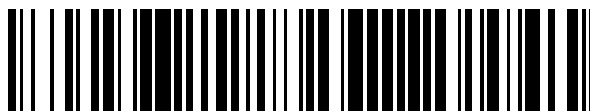


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 709 427**

51 Int. Cl.:

A01N 43/90 (2006.01)

A01N 43/22 (2006.01)

A01P 7/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.03.2006 PCT/US2006/010145**

87 Fecha y número de publicación internacional: **28.09.2006 WO06102285**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.03.2006 E 06739077 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.10.2018 EP 1863496**

54 Título: **Método para la protección de árboles**

30 Prioridad:

22.03.2005 US 664020 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

16.04.2019

73 Titular/es:

**THE TEXAS A&M UNIVERSITY SYSTEM (50.0%)
Technology Licensing Office, M/S 3369, Texas
A&M University System
College Station, Texas 77843-3369, US y
SYNGENTA PARTICIPATIONS AG (50.0%)**

72 Inventor/es:

**GROSSMAN, DONALD M. y
COX, DAVID**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 709 427 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Método para la protección de árboles

La presente invención se refiere a un método para la prevención/tratamiento de infestación por escarabajo de la corteza y/o carcoma de árboles, que comprende el tratamiento del árbol con una composición que comprende una lactona macrocíclica. En particular, la presente invención se refiere al uso de benzoato de emamectina en un método para la prevención/tratamiento de infestación por escarabajo de la corteza de árboles.

Varias especies de escarabajo de la corteza causan una gran cantidad de destrucción a los árboles, en particular, pinos. De estas especies destructivas, el escarabajo del pino del sur (*Dendroctonus frontalis* Zimmerman), el escarabajo del pino de montaña (*D. ponderosae* Hopkins), el escarabajo del pino del oeste (*D. brevicornis* LeConte), el escarabajo del abeto (*D. rufipennis* Kirby), el escarabajo del abeto de Douglas (*D. pseudotsugae* Hopkins), el grabador del pino (*Ips pini* Say), el descortezador del pino (*I. confusus* LeConte), el descortezador de cinco púas de California (*I. paraconfusus* Lanier) y el descortezador de cinco púas de Arizona (*I. lecontei* Swaine) son de particular importancia. Los escarabajos de la corteza secundarios, incluyendo *I. avulsus* (Eichoff), *I. grandicollis* (Eichoff) e *I. calligraphus* (Germer), se sabe que también causan mortalidad significativa de los pinos en el sudeste de Estados Unidos. Estos escarabajos normalmente atacan a árboles que han sufrido sequía, rayos, alteraciones de las raíces y otros factores. Además, las larvas de escarabajos cerambícidos que perforan la madera también pueden causar daños sustanciales a los árboles.

Los escarabajos perforan en los árboles y los adultos emparejados excavan galerías y canales bajo la corteza. Los huevos depositados en estos canales eclosionan en larvas que se alimentan de la capa de cámbium por debajo de la corteza. Los canales que forman cortan el suministro de agua y nutrientes y provocan la muerte del árbol. Además, los escarabajos también pueden portar hongos en sus organismos que pueden germinar y propagarse dentro de los árboles, dichos hongos también pueden cambiar el color de la madera.

El escarabajo del pino del sur (SPB) (*D. frontalis* Zimmermann), es la plaga más importante de los bosques de pinos en el sur de Estados Unidos. Los brotes locales y regionales de SPB causan pérdidas económicas importantes en una base casi anual. Recientemente, un brote sin precedentes se extendió atravesando la mayor parte suroriental de Estados Unidos. Durante el periodo de 1999 a 2002, las pérdidas debidas a daños y mortalidad en los árboles causados por SPB se estimaron en más de mil millones de dólares americanos (Report on losses caused by forest insects, Southern Forest Insect Work Conference, 2000, 2001, 2002 y 2003). El SPB no afecta solamente a la industria maderera; también tiene un impacto significativo sobre los recursos de esparcimiento, agua y vida salvaje, así como las propiedades residenciales. La frontera entre las zonas urbanas y las zonas forestales sigue expandiéndose, poniendo en riesgo de ataque por SPB, por tanto, a más árboles residenciales de alto valor. La abundancia actual de árboles y bosques susceptibles subraya la importancia del desarrollo de nuevos métodos para proteger a los árboles individuales contra el ataque por SPB.

La protección de árboles individuales contra SPB y grabadores *Ips* históricamente ha implicado aplicaciones de insecticidas químicos a todo el tronco del árbol usando pulverizadores hidráulicos. Se han registrado varios productos en la Agencia de Protección Ambiental (EPA) para este uso, incluyendo hexacloruro de benceno (BHC), Lindane®, fenitrotión (Pestroy®) y clorpirifós (Dursban®), pero recientemente se retiró el uso del último de estos, Dursban®. En 2003, se registró bifentrina (Onyx®) por la EPA para su uso contra varias especies de escarabajos de la corteza, incluyendo SPB y grabadores *Ips* sobre plantaciones ornamentales, pero hasta ahora este producto no ha estado ampliamente disponible para los consumidores y no está registrado para su uso en situaciones forestales. Incluso cuando están disponibles, las aplicaciones por pulverización de insecticida tienen limitaciones. Son caras, tardan mucho tiempo, tienen alto riesgo de exposición y sedimentación en el trabajador, y son perjudiciales para los enemigos naturales (Billings 1980).

Los insecticidas generalizados se han sugerido como herramienta potencialmente útil para la protección de árboles individuales o zonas forestales. Uno de los primeros en ensayarse, el acefato (Orthene®), se aplicó al follaje a dos tasas diferentes (Crisp, Richmond, y Shea 1979 datos sin publicar, en Billings 1980). Se informó de que los tratamientos reducían la supervivencia de las larvas de SPB, pero no tenían efecto sobre los huevos, las pupas, los inmaduros o los adultos progenitores. Un estudio más reciente evaluó el fenitrotión (Pestroy®) y un tratamiento de combinación de N-metiltiotiocarbamato de sodio (SMDC, Vapam®) más dimetilsulfóxido (DMSO) aplicado a tajos en la corteza y dicrotofós (Bidrin®) aplicado mediante inyectores Mauget™ (Inject-a-icide - B®) a árboles en el borde de ataque de las infestaciones por SPB (Dalusky et al. 1990).

Aunque no se evitó la mortalidad de los árboles mediante ninguno de los tratamientos, se descubrió que el dicrotofós reducía significativamente tanto la longitud de las galerías para los huevos como la posterior producción de descendientes. Como el dicrotofós tiene una toxicidad relativamente alta para los mamíferos, no está disponible para el público general. El oxidementón metilo (Metasystox-R) aplicado mediante inyectores Mauget (Inject-a-icide®) está

registrado para su uso contra varias especies de *Dendroctonus* e *Ips* de escarabajos de la corteza, pero no está registrado para SPB.

Debido a la naturaleza altamente destructiva de estos escarabajos, siempre se requieren composiciones y métodos nuevos y más eficaces para proteger a los árboles de su ataque.

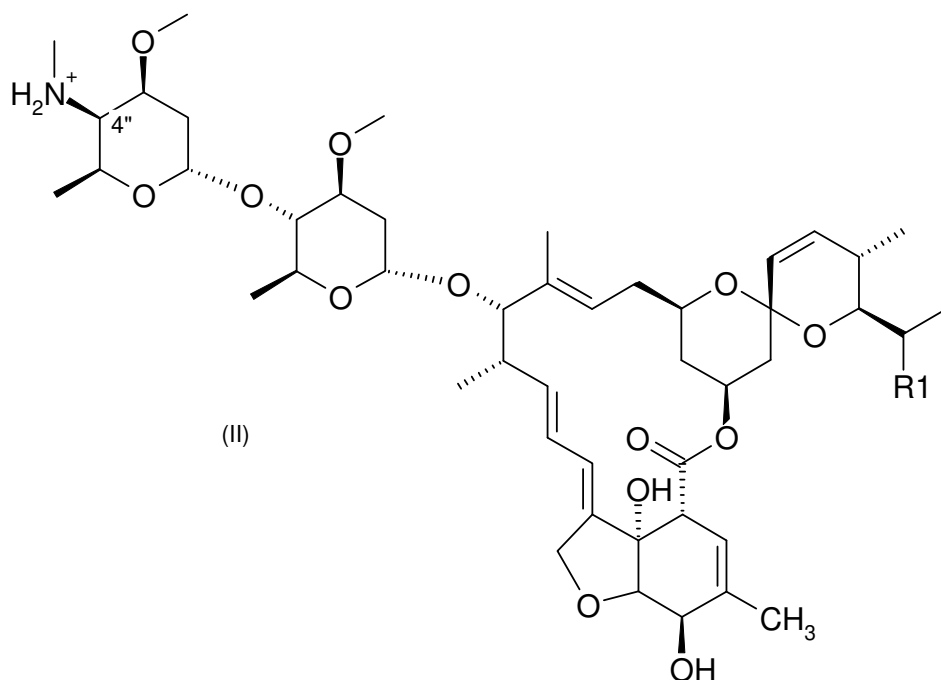
- 5 El benzoato de emamectina, un derivado de avermectina, ha mostrado actividad generalizada en pino y es muy eficaz contra el nematodo de la madera del pino, *Bursaphelenchus xylophilis* (Steiner y Buhner) Nickle (Takai et al. 2000, 2001, 2003a, 2003b), y el gusano de las piñas, *Diorctria* spp. (Grosman et al. 2002), con protección que dura más de tres años. Denim® (benzoato de emamectina) está actualmente registrado para su uso en aplicaciones por pulverización foliar en cultivos de colza contra varias especies de lepidópteros.
- 10 CANE JAMES H ET AL ("Susceptibility of *Ips calligraphus* (Germar) and *Dendroctonus frontalis* Zimmermann (Coleoptera Scolytidae) to coleopteran-active Bacillus thuringiensis, a Bacillus metabolite, and avermectin B-1", CANADIAN ENTOMOLOGIST, vol. 127, n.º 6, 1995, páginas 831-837) divulgan un método para ensayar la susceptibilidad de los escarabajos de la corteza (*Scolytidae*), *Dendroctonus frontalis* e *Ips calligraphus* a avermectina B1 por alimentación con floema liofilizado que comprende el insecticida. Ahora se ha descubierto que el benzoato de emamectina es sorprendentemente eficaz contra escarabajos de la corteza y carcomas.
- 15

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un método para reducir el éxito de los ataques por escarabajo de la corteza y/o carcoma cerambícida en árboles, que comprende el tratamiento del árbol con una composición que comprende benzoato de emamectina, donde la composición se aplica al árbol mediante inyección aproximadamente 0,3 m por encima del suelo.

- 20 Un compuesto de lactona macrocíclica es un compuesto que tiene un anillo en su estructura química compuesta de doce o más átomos. Los átomos pueden seleccionarse de carbono, oxígeno, nitrógeno o azufre, preferiblemente los átomos son carbono y oxígeno. En una realización, el anillo tiene hasta 20 átomos. Ejemplos incluyen spinosad (737), avermectina y derivados monosacáridos de avermectina, tales como abamectina (1), doramectina (25-ciclohexil-5-*O*-desmetil-25-des(1-metilpropil)avermectina A_{1a}; CAS RN 117704-25-3), emamectina (291), eprinomectina ((4"*R*)-4"-acetilamino)-4"-desoxiavermectina B₁; CAS RN 123997-26-2), ivermectina (mezcla de 5-*O*-desmetilavermectina A1a (i) con 5-*O*-desmetil-25-des(1-metilpropil)-25-(1-metiletil)avermectina A1a (ii), CAS RN 70288-86-7 (70161-11-4 + 70209-81-3)) y selamectina ((5Z,25S)-25-ciclohexil-4'-*O*-des(2,6-didesoxi-3-*O*-metil- α -L-*arabino*-hexopiranosil)-5-desmetoxi-25-des(1-metilpropil)-22,23-dihidro-5-(hidroxiimino)avermectina A_{1a}; CAS RN 165108-07-6), y derivados de milbemicina, tales como milbamectina (557), milbemicina oxima (mezcla de (6*R*,25*R*)-5-desmetoxi-28-desoxi-6,28-epoxi-25-etil-5-(hidroxiimino)milbemicina B con (6*R*,25*R*)-5-desmetoxi-28-desoxi-6,28-epoxi-5-(hidroxiimino)-25-metilmilbemicina B), moxidectina ((6*R*,23*E*,25*S*)-5-*O*-desmetil-28-desoxi-25-[(1*E*)-1,3-dimetil-1-butenil]-6,28-epoxi-23-(metoxiimino)milbemicina B; CAS RN 113507-06-5), y SI0009 (una mezcla de milbemicina B de 5-*O*-desmetil-28-desoxi-6,28-epoxi-25-metil-13-[[[(metoxiimino)fenilacetil]oxi]-(6*R*, 13*R*, 25*R*)-(9*CI*)] y 5-*O*-desmetil-28-desoxi-6,28-epoxi-25-etil-13-[[[(metoxiimino)fenilacetil]oxi]-(6*R*,13*R*,25*R*)-(9*CI*)]]; CAS RN 171249-10-8 y 171249-05-1).
- 25
- 30 Las avermectinas naturales, que pueden obtenerse de *Streptomyces avermitilis*, se mencionan como A1a, A1b, A2a, A2b, B1a, B1b, B2a y B2b. Los compuestos mencionados como "A" y "B" tienen un radical metoxi y un grupo OH, respectivamente, en la posición 5. La serie "a" y la serie "b" son compuestos en que el sustituyente R₁ (en la posición 25) es un radical sec-butilo y un radical isopropilo, respectivamente. El número 1 en el nombre de los compuestos significa que los átomos de carbono 22 y 23 están unidos por dobles enlaces; el número 2 significa que están unidos mediante un enlace sencillo y que el átomo de C 23 porta un grupo OH.
- 35
- 40

Los plaguicidas, incluyendo spinosad, abamectina, milbamectina y emamectina, se describen en el Manual Electrónico de Plaguicidas, versión 3,0, 13.^a Edición, Ed. CDC Tomlin, British Crop Protection Council, 2003-04. El número después del nombre del compuesto es el número de entrada dado en el Manual de Plaguicidas.

La invención se refiere a un compuesto de fórmula (II):



donde R1 es metilo o etilo.

Este compuesto se conoce como 4''-desoxi-4''-N-metilamino avermectina B1a/B1b o emamectina. Se advierte que cuando R1 es un grupo etilo, el compuesto es la forma B1a y cuando R1 es metilo, el compuesto es la forma B1b. Generalmente, los compuestos se usan como una mezcla de las dos formas, B1a y B1b, ya que las diferencias estructurales son muy ligeras y equivalen a la diferencia entre el grupo sec-butilo y un grupo isopropilo, y los dos compuestos tienen sustancialmente la misma reactividad química y actividades biológicas. Por motivos de conveniencia, la nomenclatura B1a/B1b se emplea para indicar los compuestos individuales y la mezcla de dichos compuestos. En particular, se prefiere que las composiciones contengan un 80 % o más del componente B1a y un 20 % o menos del componente B1b, más preferiblemente un 90 % o más del componente B1a y un 10 % o menos del componente B1b.

En particular, la presente invención se refiere a la sal de adición de ácido del compuesto anterior. El ácido puede ser ácido benzoico, ácido benzoico sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halógeno, hidroxilo, carboxilo, alquilo C1-C6 y alcoxilo C1-C6, ácido benzenosulfónico, ácido cítrico, ácido fosfórico, ácido tartárico o ácido maleico. Las sales de adición de ácido preferidas se forman con ácido benzoico, ácido salicílico, ácido gálico, ácido benzenosulfónico y ácido cítrico. La sal de adición de ácido más preferida es la formada con ácido benzoico y el compuesto que comprende esta sal se conoce como benzoato de emamectina.

El método de aplicación de acuerdo con la presente invención es mediante técnicas de inyección en los árboles y, en particular, mediante el sistema de microinfusión Arborjet Tree IV™ (Arborjet, Inc. Woburn, MA).

El ingrediente activo puede formularse mediante una cualquiera de varias formas conocidas y, en particular, puede formularse para su uso en métodos de inyección en árboles. El ingrediente activo puede disolverse en un disolvente al que puede añadirse un tensioactivo y puede aplicarse junto con vehículos adicionales, tensioactivos u otros adyuvantes promotores de la aplicación empleados habitualmente en la tecnología de formulación.

Son disolventes adecuados: hidrocarburos aromáticos, por ejemplo, mezclas de xileno o naftalenos sustituidos, ftalatos, tales como ftalato de dibutilo o ftalato de dioctilo, hidrocarburos alifáticos, tales como ciclohexano o parafinas, alcoholes y glicoles y sus éteres y ésteres, tales como etanol, etilenglicol, éter monometílico o monoetílico de etilenglicol, cetonas, tales como ciclohexanona, disolventes fuertemente polares, tales como N-metil-2-pirrolidona, dimetilsulfóxido o dimetilformamida, así como aceites vegetales o aceites vegetales epoxidados, tales como aceite de coco o aceite de soja epoxidado; o agua. Para métodos de inyección en árboles, es preferible un disolvente que tenga una baja viscosidad.

Dependiendo de la naturaleza del ingrediente activo a formular, compuestos tensioactivos adecuados son tensioactivos no iónicos, catiónicos y/o aniónicos que tienen buenas propiedades emulsionantes, dispersantes y humectantes. También se entenderá que el término "tensioactivos" comprende mezclas de tensioactivos.

5 Los tensioactivos empleados habitualmente en la tecnología de formulación pueden encontrarse en la siguiente bibliografía:

"McCutcheon's Detergents and Emulsifiers Annual" MC Publishing Corp., Glen Rock, N.J., 1988.

M. y J. Ash, "Encyclopedia of Surfactants", Vol. I-III, Chemical Publishing Co., Nueva York, 1980-1981.

La invención se describirá ahora con referencia a los siguientes ejemplos:

EJEMPLOS

10 La intención del estudio fue evaluar la eficacia de inyecciones generalizadas de benzoato de emamectina en la reducción del éxito de los ataques de escarabajo de la corteza del pino en pino taeda y determinar la duración de la eficacia del tratamiento. Como las poblaciones de SPB eran extremadamente bajas en Texas en 2004, se usaron escarabajos grabadores *lps* como especie indicadora.

15 Se seleccionaron dos plantaciones de pino taeda de 20 años de edad, recientemente reducida en terrenos propiedad de Temple-Inland Forest Products Corporation aproximadamente 5 km al sur de Wells (Angelina County), Texas. Los árboles en una plantación se inyectaron para su uso en un estudio de troncos pequeños (ejemplo 1). Se realizaron inyecciones en árboles en una sección de 0,2 ha de la segunda plantación como parte de un estudio de protección de árboles individuales (ejemplo 2). También se estableció una zona de estadificación en la segunda plantación donde se expusieron los troncos pequeños de la primera plantación a escarabajos de la corteza y carcomas.

20 Ejemplo 1

Se seleccionaron setenta y cinco árboles de pino taeda, *Pinus taeda* L., de 15 - 20 cm de diámetro a la altura del pecho (DBH), en marzo de 2004. Cada tratamiento se inyectó en cuatro puntos cardinales aproximadamente 0,3 m por encima del suelo en cada uno de 15 árboles en abril (del 16 al 23) usando el nuevo sistema de microinfusión Arborjet Tree IV™ (Arborjet, Inc. Woburn, MA). Los tratamientos incluían:

25 1) Benzoato de emamectina (Denim®, 1,92 % de ia, Syngenta Crop Science) - Denim® se mezcló 1:1 con metanol y se aplicó a 18,6 ml de solución por pulgada (por cada 2,54 cm) de diámetro del árbol a la altura del pecho (DBH) (= 0,2 g de ingrediente activo por pulgada (2,54 cm) DBH).

2) Comprobación (sin tratar)

30 Después de 1 (24 de mayo), 3 (19 de julio) y 5 (septiembre) meses tras la inyección, se talaron 5 árboles de cada tratamiento y se retiraron dos troncos pequeños de 1,5 m de longitud de las alturas de 3 m y 8 m del tronco. Los troncos pequeños se transportaron a una plantación cercana que se había reducido recientemente y contenía material de tala reciente. Cada tronco pequeño se puso aproximadamente 1 m separado sobre troncos pequeños de pino seco descartados para maximizar el área superficial disponible para la colonización, así como para desalentar la depredación por organismos del suelo y que habitan en los desperdicios. Para facilitar la colonización oportuna del escarabajo de la corteza, se adhirieron paquetitos de feromonas de escarabajo de la corteza (combinación de ipsdienol racémico + laneriona, ipsenol o cis-verbenol; Phero Tech, Inc., Delta, BC, Canadá) por separado a tres estacas de 1 m espaciadas uniformemente en la zona de estudio. Se usó ipsdienol racémico y cis-verbenol con la segunda y la tercera serie de troncos pequeños desplegados en julio y septiembre, respectivamente. Los paquetitos se retiraron después de 2 semanas cuando se observaron signos de ataques (polvo de perforación) en la mayoría de los troncos pequeños de ensayo, lo que indica que había feromonas producidas de forma natural presentes.

Los signos de ataque por escarabajos (polvo de perforación) fueron visibles en varios troncos pequeños en solamente unos pocos días después de haber movido los troncos pequeños a la zona de estadificación y desplegar los cebos de feromonas. En 2 semanas, fueron evidentes varios ataques por *lps* y numerosos nichos de huevos de cerambícidos en la superficie de la corteza de la mayoría de troncos pequeños.

45 Se adhirió un panel transparente de acetato (10 cm de anchura por 25 cm de longitud) al centro de cada tronco pequeño después del despliegue de troncos pequeños para controlar la llegada de escarabajos de la corteza. La superficie superior de cada panel se recubrió completamente con compuesto de captura Stikem Special® (Michel y Pelton, Emeryville, CA). Las trampas se dejaron en su sitio durante dos semanas.

Cada serie de troncos pequeños se recuperó aproximadamente 3 semanas después del despliegue, tras observar muchos nichos de huevos de cerambícidos en la superficie de la corteza de la mayoría de troncos pequeños. Hubo preocupación de que si las larvas de cerambícido se dejaban desarrollar demasiado tiempo, su actividad de alimentación fuera a desdibujar o destruir las galerías de *Ips*. Por tanto, cada serie de troncos pequeños se recuperó y almacenó temporalmente en un refrigerador de retoños TFS (~45 °F (7,22 °C)) para ralentizar el desarrollo de los cerambícidos hasta que pudieran evaluarse los troncos pequeños.

En el laboratorio, se retiraron dos tiras de 10 X 50 cm (total = 1000 cm²) de corteza de cada tronco pequeño. Se hicieron varias mediciones respecto a la construcción de cámaras nupciales y galerías para los huevos y desarrollo de descendientes:

- 1) Número de ataques infructuosos - penetración en el floema, pero sin galerías para los huevos.
- 2) Número de ataques fructuosos - construcción de cámara nupcial y al menos una galería para los huevos que se extiende desde esta.
- 3) Número y longitudes de las galerías para los huevos con galerías para los descendientes que se propagan desde estas.
- 4) Número y longitudes de las galerías para los huevos sin galerías para los descendientes.
- 5) Actividad de cerambícidos, estimada por superposición de una rejilla de 100 cm² sobre una parte de cada tira de corteza y recuento del número de área solapante cuadrada donde las larvas de cerambícido se habían alimentado.

La eficacia del tratamiento se determinó comparando los ataques por escarabajos *Ips* y la longitud de la galería para los huevos y la alimentación de los cerambícidos sobre troncos pequeños tratados y sin tratar. Los datos se transformaron mediante $\log_{10}(x + 1)$ para satisfacer los criterios para normalidad y homoscedasticidad (Zar 1984) y se analizaron mediante GLM y el ensayo de LSD protegido de Fisher usando el programa estadístico Statview.

El número de escarabajos grabadores *Ips* que se depositan en troncos pequeños individuales varió considerablemente, pero no difirió entre los tratamientos para cualquier altura o serie (tabla 1). Por el contrario, el número total de ataques (cámaras nupciales construidas) por escarabajos macho a menudo difirió entre los tratamientos. El número de ataques no reflejaba necesariamente el éxito del ataque. Como se esperaba, en mayo, los troncos pequeños sin tratar estaban muy atacados. Para las tres series, casi todas las cámaras nupciales se habían construido satisfactoriamente en troncos pequeños sin tratar, con al menos una galería para los huevos que se propaga desde cada cámara nupcial. En agudo contraste, en troncos pequeños tratados con benzoato de emamectina evaluados en mayo, la mayoría de los ataques fueron infructuosos a la altura de 3 m (79 %) y 8 m (69 %) y todos (100 %) los ataques fueron infructuosos a ambas alturas en julio y septiembre. Parece que casi todos los ataques se interrumpieron o los escarabajos murieron tan pronto como penetraron en la región del floema. Hubo unos pocos ataques fructuosos de *Ips* en un árbol de cada cinco en mayo, pero estos ataques fueron mucho menos abundantes en comparación con los árboles de comprobación y estaban restringidos a tiras estrechas en el tronco pequeño. En mayo, el benzoato de emamectina redujo abruptamente el número total (81 % y 96 %) y la longitud (94 % y 99 %) de las galerías para los huevos a 3 m y 8 m, respectivamente, en comparación con los árboles de comprobación (tabla 2). En julio y septiembre, el benzoato de emamectina evitó completamente la construcción de galerías para los huevos en todos los troncos pequeños.

En mayo, se descubrió que las larvas de cerambícido se habían alimentado sobre un 30 % y 34 % de la zona del floema en troncos pequeños sin tratar recogidos de 3 m y 8 m, respectivamente, durante el periodo de 3 semanas entre la tala de los árboles y la evaluación de los troncos pequeños (tabla 3). Por el contrario, se encontró muy poca alimentación o desarrollo larvario en troncos pequeños tratados con benzoato de emamectina. Globalmente, este tratamiento redujo los daños por alimentación en un 93 % y 100 % en troncos pequeños de 3 m y 8 m, respectivamente. Las larvas de cerambícido se alimentaron sobre un 23 - 25 % y un 9 - 14 % de la zona del floema en troncos pequeños sin tratar recogidos en julio y septiembre, respectivamente (tabla 3). Por el contrario, ambas series de troncos pequeños no mostraron alimentación o desarrollo larvario en troncos pequeños tratados con benzoato de emamectina de 3 m. No se produjo colonización a 8 m.

Ejemplo 2

Se seleccionaron pinos taeda, de 15 - 20 cm DBH, en la segunda plantación en marzo de 2004. Cada tratamiento (los mismos que los usados en el ejemplo 1) se inyectó en cuatro puntos cardinales aproximadamente 0,3 m por encima del suelo en cada uno de 6 árboles en abril (del 16° al 23°) usando el sistema Arborjet Tree IV™. Después de 5 semanas tras la inyección (28 de mayo), se cortaron bandas con una hachuela en el alborno entre los puntos de inyección cerca de la base del árbol. Se insertó una esponja de celulosa en cada corte y se cargó con 10 ml de una mezcla 4:1 de N-

metilditiocarbamato de sodio (MS) (Woodfume®; Osmose, Inc., Buffalo, NY) más dimetilsulfóxido (DMSO) (Aldrich Chemical) (Roton 1987, Strom et al. 2004). Este método reduce la resina a casi cero en 1-2 semanas. La intención fue agredir al árbol y hacerlo susceptible al ataque por escarabajos de la corteza sin matarlo.

5 Aunque la zona de estudio tenía precipitaciones adecuadas para mantener la salud general del árbol, el tratamiento con Vapam/DMSO obtenía el efecto deseado de agredir a los árboles. La resina que escurre por la superficie de la corteza fue el signo más visible de agresión y esto se produjo en casi un 40 % de los árboles del estudio ($F = 0,4487$; $df = 4, 25$; $P = 0,7723$). Los tratamientos no difirieron en la proporción de árboles con este síntoma de agresión. Cinco de los seis árboles de comprobación mostraron signos de ataque por escarabajo de la corteza (tubos inclinados y polvo de perforación) 2 semanas después de administrarse el tratamiento con Vapam/DMSO. Todos los árboles del estudio se evaluaron aproximadamente 4 semanas después del tratamiento con Vapam/DMSO (= 24 días después del despliegue de feromonas inicial).

10 Se adhirieron paquetitos de feromonas que contenían ipsdienol racémico + laneriona, ipsenol o cis-verbenol (7 de junio) a estacas por encima de 3 m espaciadas uniformemente entre y alrededor de los árboles del estudio para alentar el ataque por las tres especies de grabador *Ips*. Sin embargo, los resultados iniciales del ensayo de troncos pequeños sugirieron que alentar el ataque por *Ips calligraphus* (la especie más grande y más común) en solitario permitiría mediciones más fáciles y más precisas del éxito del ataque de escarabajos. Por tanto, se desplegaron cebos de feromonas de ipsdienol y cis-verbenol en todas las etapas el 17 de junio. Los cebos se cambiaron cada 4 semanas.

15 Se adhirió un panel transparente de acetato (10 cm de anchura por 25 cm de longitud) recubierto con Stickem Special® a 2 m de altura después en árboles erguidos después del despliegue de los cebos de feromonas para controlar la llegada de escarabajos de la corteza. Las trampas se dejaron en su sitio durante dos semanas.

20 Tres semanas después del despliegue de feromonas (28 de junio), cada árbol se evaluó marcando una sección de 30 cm del tronco a una altura de 3 m. Se contaron todos los ataques visibles de *Ips* y los nichos de huevos de cerambícido dentro de la zona marcada. También se registró el número de árboles con copas marchitándose. Después de ello, los árboles se evaluaron semanalmente para el marchitamiento de las copas. Cuando se produjo mortalidad, los árboles se talaron y se recogieron dos troncos pequeños y se evaluaron para el éxito del ataque y la longitud de la galería como se describe en el ejemplo 1. Todos los demás árboles se talaron 66 días (9 de agosto) después del despliegue de feromonas inicial, cuando no habían muerto árboles adicionales durante 3 semanas. La eficacia del tratamiento se determinó comparando la supervivencia de los árboles, los ataques por escarabajos y la longitud de la galería para los huevos sobre troncos pequeños tratados y sin tratar. Como antes, los datos se transformaron y se analizaron por GLM y el ensayo de LSD protegido de Fisher usando el programa estadístico Statview.

25 Todas las comprobaciones estaban muy atacadas por *Ips* y la mayoría tenía dos o más nichos de huevos de cerambícido a 3 m (tabla 4). Por el contrario, los árboles tratados con benzoato de emamectina tenían significativamente menos ataques por *Ips* a la misma altura. De los pocos ataques por *Ips* que se encontraron en estos árboles, casi todos parecían haber sido infructuosos, basándose en el hecho de que los tubos inclinados en los orificios de entrada estaban secos y eran quebradizos. Ninguno de los árboles tratados con benzoato de emamectina tenía copas que se marchitan (agujas amarillentas) (tabla 6); mientras que dos árboles de comprobación mostraban copas que se marchitan.

30 El estudio se interrumpió después de 66 días cuando ningún árbol adicional se había marchitado en 20 días (tabla 5). Al final, 5 de los 6 (83 %) árboles de comprobación habían muerto debido a ataque por escarabajo de la corteza. Por el contrario, todos los árboles tratados con benzoato de emamectina sobrevivieron. La evaluación de los troncos pequeños cortados mostró que todos los árboles se habían visto atacados, pero los troncos pequeños tratados con benzoato de emamectina tenían significativamente menos ataques a ambas alturas que la comprobación (tabla 6). Todos los ataques que se produjeron fueron completamente infructuosos. Los troncos pequeños tratados con benzoato de emamectina tenían significativamente menos galerías para los huevos de *Ips* y más cortas con y sin descendientes y una zona menor de la que se alimentaron las larvas de cerambícido en comparación con la comprobación (tabla 7).

35 En ambos ejemplos, el benzoato de emamectina fue muy eficaz a la hora de prevenir los ataques fructuosos por escarabajos de la corteza *Ips* y cerambícidos, uno, tres y cinco meses después de la inyección. En los troncos pequeños, al menos, los machos de *Ips* que iniciaron los ataques se hicieron disuadidos o murieron tras la penetración en la capa del floema y la exposición al ingrediente activo. Se sospecha que la producción de cualquier feromona por parte de los machos mientras excavaban a través de la corteza se detenía prematuramente. Sin estas feromonas muy pocas hembras, si acaso alguna, se veían atraídas al material hospedador o entraban en la cámara nupcial para copular y empezar la construcción de las galerías para los huevos. Incluso cuando las hembras llegaban a unos pocos de los leños de la primera serie y empezaban la construcción de galerías, las galerías eran muy cortas y no se desarrollaban descendientes más allá de los estadios larvarios iniciales. Suponiendo que este escenario también se producía en los árboles erguidos, detener la producción de feromonas tras el contacto de los machos con la capa del floema también detenía la atracción de machos adicionales, evitando de este modo el ataque masivo del árbol hospedador.

5 Se ha descubierto que la dosis de benzoato de emamectina (0,2 g de ia/pulgada (2,54 cm) de diámetro del árbol) usada en 2004 evita el ataque fructuoso por grabadores *lps*. Si tenía que inyectarse una dosis menor en árboles en el borde de ataque de una infestación de SPB activa, los árboles a los que se había inyectado podían servir como árboles trampa, es decir, permiten el ataque masivo fructuoso, la construcción de galerías y la puesta de huevos por SPB adultos, pero las larvas no se desarrollarían y no se producirían adultos descendientes. Si el tratamiento resultaba satisfactorio, es concebible que las poblaciones locales de SPB se redujeran y se detuviera la progresión de la infestación.

Tabla 1: Atracción a y éxito del ataque y construcción de galerías de escarabajos grabadores *lps* en troncos pequeños de pino taeda cortados uno, tres y cinco meses después de la inyección en el tronco de benzoato de emamectina

Periodo de evaluación	Altura del tronco pequeño	Trt*	Media del n.º de cogidos/trampa <i>lps</i>	Media del n.º de cámaras nupciales sin galerías para los huevos		Media del n.º de cámaras nupciales con galerías para los huevos		Media del n.º total de cámaras nupciales
				N.º	Total	N.º	Total	
1 mes después de la inyección (mayo)	3 m	Emamectina	3,8 a	14,6 c	78,5	4,0 a	21,5	18,6 a
		Comprobación	6,8 a	0,0 a	0,0	16,0 b	100,0	16,0 a
	8 m	Emamectina	4,8 a	9,0 c	69,2	4,0 a	30,8	13,0 ab
		Comprobación	5,0 a	0,2 a	0,7	27,2 b	99,3	27,4 c
3 meses después de la inyección (julio)	3 m	Emamectina	1,8 a	11,0 b	100,0	0,0 a	0,0	11,0 ab
		Comprobación	2,4 a	0,8 a	13,3	5,2 c	86,7	6,0 a
	8 m	Emamectina	3,4 a	8,4 c	100,0	0,0 a	0,0	8,4 b
		Comprobación	2,8 a	0,0 a	0,0	3,8 b	100,0	3,8 a
5 meses después de la inyección (septiembre)	3 m	Emamectina	1,2 a	3,8 b	100,0	0,0 a	0,0	3,8 a
		Comprobación	1,6 a	0,0 a	0,0	5,2 b	100,0	5,2 ab
	8 m	Emamectina	0,4 a	4,4 b	100,0	0,0 a	0,0	4,4 a
		Comprobación	2,2 b	0,0 a	0,0	7,8 b	100,0	7,8 a

10

* Las medias seguidas de la misma letra en cada columna no son significativamente diferentes al nivel de un 5 %, basado en LSD protegido de Fisher

Tabla 2: Media del número y longitud de galerías para los huevos construidas por escarabajos grabadores /ps en troncos pequeños de pino taeda cortados uno, tres y cinco meses después de la inyección en el tronco de benzoato de emamectina

Periodo de evaluación	Altura del tronco o pequeño	Trt*	Número de galerías para los huevos				Longitud de las galerías para los huevos					
			Sin descendientes		Con descendientes		Sin descendientes		Con descendientes			
			N.º	% del total	N.º	% del total	cm	% del total	cm	% del total		
1 mes después de la inyección (mayo)	3 m	Emamectina	10,0 a	80,6	2,4 a	19,4	12,4 a	15,5 a	50,5	15,2 a	49,5	30,7 a
		Comprobación	29,0 b	44,1	36,8 c	55,9	65,8 b	114,8 b	23,8	368,4 c	76,2	483,2 c
8 m	Emamectina	4,0 a	95,2	0,2 a	4,8	4,2 a	12,3 a	1,2 a	91,1	1,2 a	8,9	13,5 a
	Comprobación	30,0 b	31,7	64,6 d	68,3	94,6 b	104,4 b	17,7	483,8 c	82,3	588,2 b	
3 meses después de la inyección (julio)	3 m	Emamectina	0,0 a		0,0 a		0,0 a	0,0 a		0,0 a		0,0 a
		Comprobación	2,2 ab	12,9	14,8 b	87,1	17,0 c	14,4 b	9,2	142,0 b	90,8	156,4 c
8 m	Emamectina	0,0 a		0,0 a		0,0 a	0,0 a	0,0 a		0,0 a		0,0 a
	Comprobación	1,0 ab	7,7	12,0 bc	92,3	13,0 c	2,4 ab	1,5	153,6 c	98,5	156,0 c	
5 meses después de la inyección (septiembre)	3 m	Emamectina	0,0 a		0,0 a		0,0 a	0,0 a		0,0 a		0,0 a
		Comprobación	2,8 c	17,7	13,0 b	82,3	15,8 c	9,8 c	6,1	150,6 b	93,9	160,4 c
8 m	Emamectina	0,0 a		0,0 a		0,0 a	0,0 a	0,0 a		0,0 a		0,0 a
	Comprobación	2,4 bc	11,9	17,8 b	88,1	20,2 c	10,8 b	4,6	223,4 b	95,4	234,2 c	

Tabla 3: Alimentación de larvas de cerambícido en troncos pequeños de pino taeda cortados uno, tres y cinco meses después de la inyección en el tronco de benzoato de emamectina

Altura del tronco pequeño	Trt*	Porcentaje de zona del floema consumida por las larvas		
		1 mes después de la inyección (mayo)	3 meses después de la inyección (julio)	5 meses después de la inyección (septiembre)
3 m	Emamectina	2,2 a	0,0 a	0,0 a
	Comprobación	29,9 c	23,0 bc	9,3 c
8 m	Emamectina	0,0 a	0,0 a	0,0 a
	Comprobación	34,1 c	24,5 b	14,2 b

5 * Las medias seguidas de la misma letra en cada columna no son significativamente diferentes al nivel de un 5 %, basado en LSD protegido de Fisher

10 **Tabla 4:** Atracción a y ataques por escarabajos grabadores *Ips* y cerambícidos en pino taeda erguido después de la inyección en el tronco de insecticidas de emamectina

Tratamiento	Media del n.º de cogidos/trampa	Media del n.º de ataques/sección de corteza de 0,3 a 3 m después de 24 días	
		<i>Ips</i>	Cerambícido
Emamectina	1,2 a	0,5 a	0,8 a
Comprobación	6,5 b	14,7 c	4,3 a

15 * Las medias seguidas de la misma letra en cada columna no son significativamente diferentes al nivel de un 5 %, basado en LSD protegido de Fisher.

20 **Tabla 5:** Signos visibles de mortalidad en pino taeda erguido después de la inyección en el tronco de benzoato de emamectina

Tratamiento	Porcentaje de árboles con copas que se marchitan después de:					
	24 días	32 días	39 días	46 días	52 días	66 días

Emamectina	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
Comprobación	33,3 ab	66,7 b	83,3 b	83,3 b	83,3 b	83,3 b

* Las medias seguidas de la misma letra en cada columna no son significativamente diferentes al nivel de un 5 %, basado en LSD protegido de Fisher

5

Tabla 6: Efectos de insecticidas de benzoato de emamectina sobre el éxito del ataque y la construcción de galerías de escarabajos grabadores *Ips* en troncos pequeños de pino taeda cortados después de la mortalidad del árbol o al final del ensayo

Altura del tronco pequeño	Tratamiento	Media del n.º de cámaras nupciales sin galerías para los huevos		Media del n.º de cámaras nupciales con galerías para los huevos		Media del n.º total de cámaras nupciales
		N.º	% del total	N.º	% del total	
3 m	Emamectina	3,0 ab	100,0	0,0 a	0,0	3,0 a
	Comprobación	3,2 ab	32,8	6,5 b	67,2	9,7 bc
8 m	Emamectina	1,3 ab	100,0	0,0 a	0,0	1,3 a
	Comprobación	0,8 ab	12,2	6,0 bc	87,8	6,8 b

10

* Las medias seguidas de la misma letra en cada columna no son significativamente diferentes al nivel de un 5 %, basado en LSD protegido de Fisher.

Tabla 7: Efectos de emamectina sobre la construcción de galerías de escarabajos grabadores /ps y el desarrollo de larvas de cerambícido en troncos pequeños de pino taeda cortados después de la mortalidad del árbol o al final del ensayo.

Altura del tronco pequeño	Trt*	Media del n.º de galerías para los huevos					Media de la longitud de las galerías para los huevos					Zona de alimentación de cerambícidos	
		Sin descendientes		Con descendientes		Número total	Sin descendientes		Con descendientes		Longitud total		
		N.º	% del total	N.º	% del total		cm	% del total	cm	% del total			
3 m	Emamectina	0,0 a		0,0 a		0,0 a		0,0 a		0,0 a		0,0 a	
	Comprobación	17,2 b	59,5	11,7 b	40,5	28,8 b	108,3 b	48,0	117,2 b	52,0	225,5 b	3,6 b	
8 m	Emamectina	0,0 a		0,0 a		0,0 a		0,0 a		0,0 a		0,0 a	
	Comprobación	18,5 c	18,5 c	40,5	27,2 b	59,5	45,7 b	91,0 b	30,8	204,0 c	69,2	295 b	6,2 bc

* Las medias seguidas de la misma letra en cada columna no son significativamente diferentes al nivel de un 5 %, basado en LSD protegido de Fisher.

REFERENCIAS:

- M. y J. Ash, "Encyclopedia of Surfactants", Vol. I-III, Chemical Publishing Co., Nueva York, 1980-1981.
- Berisford, C.W., U.E. Brady, R.F. Mizell, L.H. Lashomb, G.E. Fitzpatrick, I.R. Ragenovich y F.L. Hastings. 1980. A technique for field testing insecticides for long-term prevention of bark beetle attack. J. Econ. Entomol. 73: 694-697.
- 5 Billings, R. F. 1980. Direct control. Capítulo 10 en The southern pine beetle.: R.C. Thatcher, J.L. Searcy, J.E. Coster, y G.O. Hertel, eds. USDA Tech. Bull. 1631, pág. 179-192.
- Dalusky, M.J., C.W. Berisford y P.B. Bush. 1990. Efficacy of three injected chemical systems for control of the southern pine beetle. Georgia For. Comm. Ga. For. Res. Paper 83. 8 p.
- 10 Grosman, D.M., W.W. Upton, F.A. McCook, y R.F. Billings. 2002. Systemic insecticide injections for control of cone and seed insects in loblolly pine seed orchards - 2 year results. So. J. Appl. For. 26: 146-152.
- "McCutcheon's Detergents and Emulsifiers Annual" MC Publishing Corp., Glen Rock, N.J., 1988.
- Roton, L.M. 1987. Promising treatment for southern pine beetles. American Papermaker. 50: 30-32.
- Strom, B.L., S.R. Clarke y P.J. Shea. 2004. Efficacy of 4-allylanisole-based products for protecting individual loblolly pines from *Dendroctonus frontalis* Zimmermann (Coleoptera: Scolytidae). Can. J. For. Res. 34: 659-665.
- 15 Takai, K., T. Soejima, T. Suzuki y K. Kawazu. 2000. Emamectin benzoate as a candidate for a trunk-injection agent against the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. Pest Manag. Sci. 56: 937 - 941.
- Takai, K., T. Soejima, T. Suzuki y K. Kawazu. 2001. Development of a water-soluble preparation of emamectin benzoate and its preventative effect against the wilting of pot-grown pine trees inoculated with the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. Pest Manag. Sci. 57: 463 - 466.
- 20 Takai, K., T. Suzuki y K. Kawazu. 2003a Development and preventative effect against pine wilt disease of a novel liquid formulation of emamectin benzoate. Pest Manag. Sci. 59: 365 - 370.
- Takai, K., T. Suzuki y K. Kawazu. 2003b Distribution and persistence of emamectin benzoate at efficacious concentrations in pine tissues after injection of a liquid formulation. Pest Manag. Sci. 60: 42 - 48.

REIVINDICACIONES

1. Un método para reducir el éxito de los ataques por escarabajo de la corteza y/o carcoma cerambícida en árboles, que comprende el tratamiento del árbol con una composición que comprende benzoato de emamectina, donde la composición se aplica al árbol mediante inyección aproximadamente 0,3 m por encima del suelo.
- 5 2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, donde el éxito del ataque por escarabajo de la corteza se reduce.
3. El método de acuerdo con la reivindicación 1, donde el éxito del ataque por escarabajo cerambícido de carcoma se reduce.