



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO
FACULTAD DE AGROBIOLOGÍA “PRESIDENTE JUÁREZ”**

**ESCARABAJOS AMBROSIALES Y SUS HONGOS SIMBIONTES ASOCIADOS AL
CULTIVO DE AGUACATE “HASS” EN MICHOACÁN, MÉXICO.**

TESIS

QUE PRESENTA:

MANUELA ÁNGEL RESTREPO

Como requisito parcial para obtener el título de:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

En el área temática de :

INTERACCIÓN PLANTA-MICROORGANISMO-INSECTO

DIRECTOR DE TESIS:

DR. SALVADOR OCHOA ASCENCIO

URUAPAN, MICHOACÁN

MARZO, 2019



AGRADECIMIENTOS

Primero que todo quiero agradecer al Creador.

A mis papás Yolanda Restrepo, Santiago Angel† y Alonso Castro, por siempre apoyarme y ayudarme incondicionalmente. Ustedes son mi motivación.

A mi esposo Jose Ramón Saucedo por aguantarme, apoyarme e impulsarme a ser mejor cada día. Gracias por amarme de la manera en que me amas.

A Salvador Ochoa mi asesor, muchas gracias por aguantarme (se que soy una latosa), gracias por sus consejos y por todo el apoyo que me ha brindado. Usted fue una parte vital.

Al los DOCTORES. Alejandro Barrientos Priego, Armando Equihua Martínez, Gerardo Vazquez Marrufo y la Dra. Sylvia Fernández Pavía por acompañarme a cumplir mi sueño de hacer la maestría, muchas gracias por todas las enseñanzas.

A Mariela Correa mi compañera de laboratorio, quien estuvo presente estos dos años y sabe lo que fue recorrer este camino.

A Michel le agradezco por toda su ayuda y por aguantarse mi genio.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág
AGRADECIMIENTOS	3
LISTA DE CUADROS	6
LISTA DE FIGURAS	7
RESUMEN GENERAL	8
GENERAL SUMMARY	10
1. INTRODUCCIÓN GENERAL	12
Referencias	16
2. REVISIÓN DE LITERATURA	20
Historia e importancia económica del aguacate	20
Plagas y enfermedades de importancia económica en el aguacate	20
Escarabajos ambrosiales, hongos simbiotes y enfermedades asociadas	21
Referencias	24
3. IDENTIFICACIÓN DE ESCARABAJOS AMBROSIALES ASOCIADOS A ÁRBOLES DE AGUACATE EN MICHOACÁN, MÉXICO.	28
Resumen	28
Abstract	29
Introducción	29
Materiales y Métodos	31
Colecta de muestras	31
Colecta e identificación de escarabajos	32
Resultados	33
Identificación de escarabajos	33
Distribución espacial de los síntomas y signos de la actividad de los escarabajos ambrosiales	35
Cuantificación de escarabajos por municipios	36
Discusión	37
Referencias	41

4. HONGOS SIMBIONTES ASOCIADOS A ESCARABAJOS AMBROSIALES NATIVOS DE MÉXICO EN ÁRBOLES DE AGUACATE EN MICHOACÁN, MÉXICO	46
Resumen	46
Abstract	47
Introducción	47
Materiales y métodos	50
Colecta de escarabajos	50
Aislamiento de hongos a partir de los escarabajos	51
Identificación molecular de los simbioses	52
Análisis filogenético	54
Resultados	55
Hongos simbioses por especie de escarabajo	55
Discusión	62
Referencias	68
5. CONCLUSIONES	77
6. DISCUSIÓN GENERAL	79
Referencia	82

LISTA DE CUADROS

Pág

Cuadro 1. Ubicaciones de colecta de muestras de escarabajos ambrosiales en aguacate, condiciones ambientales y factores de estrés del árbol donde se tomó la muestra en cada localidad 32

Cuadro 2. Número de especies de escarabajos ambrosiales por municipio y por especies. 37

Cuadro 3. Números de acceso de secuencias de referencia en GenBank y hongos simbioses secuenciados y usados en los análisis filogenéticos. 52

Cuadro 4. Prevalencia de hongos simbioses en cinco especies de escarabajos ambrosiales. 56

LISTA DE FIGURAS

Pág

Figuras 1. Localización de los sitios de muestreo en la zona productora de aguacate en Michoacán. Fuente del mapa: COMA-CONAPA 2005. 33

Figuras 2. Escarabajos ambrosiales identificados atacando árboles de aguacate en Michoacán. *Xyleborus affinis* Eichhoff (A), *X. volvulus* (Fabricius) (B), *X. ferrugineus* (Fabricius) (C), *Monarthrum conversum* Wood (D), *M. exornatum* (Schedl) (E), *M. fimbriaticorne* (Blandford) (F), *Euplatypus segnis* (Chapuis) (G), *E. otiosus* (Schedl) (H), *Corthylus flagellifer* Blandford (I), *C. detrimentosus* Schedl (J), *Premnobius cavipennis* Eichhoff (K), *Corthylocurus aguacatensis* (Schedl) (L), *Amphicranus micidus* Wood (M). Escala 1 mm. 34

Figuras 3. Síntomas y distribución espacial del ataque de escarabajos ambrosiales identificados en árboles de aguacate en Michoacán. Síntomas externos de árbol afectado por escarabajos ambrosiales (A). Daño en el tronco (B). Daño en ramas (C) *Xyleborus affinis* (D). *Euplatypus segnis* (E). *Monarthrum conversum* (F). *Monarthrum fimbriaticorne* (G). Los escarabajos que aparecen en los diferentes tipos de daño fueron los mas prevalentes. 36

Figura 1. UTOs (Ophiostomatales e Hipocreales) identificados en las cinco especies de escarabajos procesadas. *R. arxii* (MAR21) recuperada de *X. affinis* (A), *R. brunnea* (MAR50) de *M. exornatum* (B), *R. fusca* (MAR22) de *X. affinis* (C), *R. subalba* (MAR42) de *X. affinis* y *E. segnis* (D), *Raffaelea* sp. 1 (MAR45) de *M. fimbriaticorne* (E), *Raffaelea* sp. 2 (MAR54) de *M. exornatum* (F), *Raffaelea* sp. 3 (MAR30) de *M. conversum* (G) *Raffaelea* sp. 4 (MAR41) de *E. segnis* (H), *Ceratocystiopsis* sp. (MAR38) (I), *Esteya* sp. (MAR32) (J), y *Geosmithia* sp. (MAR40) (K) de *M. conversum*. A excepción de *Geosmithia* sp. (K) que esta en papa dextrosa agar, las demás colonias están en extracto de malta agar y tienen 6 semanas de edad. 57

Figuras 5. Árbol filogenético máxima verosimilitud de especies de *Raffaelea*, *Esteya* y *Ceratocystiopsis*, generado con secuencias parciales de LSU y SSU. Las barras de colores indican la especie de escarabajo en la que se encontró el simbiote. *Ambrosiella roeperi* y *Ambrosiella xylebori* se utilizaron como grupos externos. 59

Figuras 6. Árbol filogenético máxima verosimilitud de especies de *Ambrosiozyma* y *Wickerhamomyces*, generado con secuencias parciales de LSU. Las barras de colores indican la especie de escarabajo en la que se encontró el simbiote. *Schizosaccharomyces pombe* se utilizo como grupo externo. 61

Figura 7. Media de las unidades formadoras de colonia de los hongos simbiotes asociados a especies de escarabajos ambrosiales, en 4 municipios de las región aguacatera de Michoacán. Las barras representan las desviacion estandar. 62

RESUMEN GENERAL

En este estudio se identificaron mediante características morfológicas 13 especies diferentes de escarabajos ambrosiales y los hongos simbioses de los escarabajos de mayor prevalencia, atacando árboles vivos de aguacate ‘Hass’ en cuatro municipios del estado de Michoacán (Ario de Rosales, Los Reyes, Tancítaro, Ziracuaretiro), México. Doce de las especies identificadas son nativas de México (*Xyleborus affinis*, *X. volvulus*, *X. ferrugineus*, *Monarthrum conversum*, *M. exornatum*, *M. fimbriaticorne*, *Euplatypus segnis*, *E. otiosus*, *Corthylus flagellifer*, *C. detrimentosus*, *Corthylocurus aguacatensis* y *Amphicranus micidus*) y una especie nativa de África, *Premnobius cavipennis*.

En adición a la identificación de los escarabajos, se identificaron dos patrones de ataque. El primero consistió en ataques al portainjerto. Las especies de escarabajos asociadas en esta zona de ataque fueron: *Xyleborus affinis*, *X. ferrugineus*, *X. volvulus*, *Euplatypus segnis*, *Premnobius cavipennis* y *Monarthrum exornatum*. Este patrón de ataque fue persistente en los municipios de Los Reyes y Ziracuaretiro. El segundo patrón de ataque se localizó en la parte superior de la zona de injerto. Las especies asociadas en esta zona fueron: *Corthylus flagellifer*, *C. detrimentosus*, *Monarthrum conversum*, *M. exornatum*, *M. fimbriaticorne*, *Premnobius cavipennis*, *Euplatypus segnis*, *E. otiosus*, *Amphicranus micidus* y *Corthylocurus aguacatensis*. Este patrón de ataque estuvo presente en los municipios de Ario de Rosales y Tancítaro. En ambos tipos de ataque los árboles estaban vivos y se identificaron canchales en el tronco como factor primario de estrés.

Empleando ADN genómico, mediante Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) se obtuvieron las secuencias parciales de las subunidades grande 28S (LSU) y pequeña 18S (SSU), amplificadas utilizando los pares de iniciadores LROR/LR5 y NS1/NS4, respectivamente. El análisis filogenético realizado con ambas secuencias empleando el criterio

de Máxima Verosimilitud (ML por sus siglas en inglés) permitió la identificación de los hongos simbios de las especies de escarabajos *Monarthrum fimbriaticorne*, *M. exornatum*, *M. conversum*, *Xyleborus affinis* y *Euplatypus segnis*. En total, se identificaron 13 unidades taxonómicas operativas (UTOs) de las 50 hembras de escarabajos ambrosiales procesadas. Diez UTOs pertenecen al orden de los Ophiostomatales, 2 UTOs a los Saccharomycetales y 1 UTOs a los Hypocreales. Ocho de los trece UTOs son del género *Raffaelea* (*R. arxii*, *R. brunnea*, *R. fusca*, *R. subalba*, *Raffaelea* sp. 1, *Raffaelea* sp. 2, *Raffaelea* sp. 3, *Raffaelea* sp. 4), dos UTOs son levaduras (*Wickerhamomyces* sp. y *Ambrosiozyma* sp.) y los tres UTOs restantes corresponden a *Ceratocystiopsis*, *Esteya*, *Geosmithia*. Esta investigación representa uno de los primeros estudios de escarabajos ambrosiales asociados a árboles vivos de aguacate en el estado de Michoacán.

Palabras claves: Scolytinidae, Platyponidae, ataque, *Persea*, estrés.

GENERAL SUMMARY

In this study they were identified by morphological characteristics 13 different species of ambrosial beetles and the symbiont fungi of ambrosia beetles most prevalent, attacking 'Hass' live avocado trees in four municipalities of the state of Michoacán (Ario de Rosales, Los Reyes, Tancítaro, Ziracuaretiro), Mexico. Twelve of these species are native to Mexico (*Xyleborus affinis*, *X. volvulus*, *X. ferrugineus*, *Monarthrum conversum*, *M. exornatum*, *M. fimbriaticorne*, *Euplatypus segnis*, *E. otiosus*, *Corthylus flagellifer*, *C. detrimmentosus*, *Corthylocurus aguacatensis*, *Amphicranus micidus*) and a species native to Africa, *Premnobius cavipennis*.

In addition to the identification of the beetles, two attack patterns were identified. The first consisted of attacks on the rootstock. The associated beetle species in this attack area were: *Xyleborus affinis*, *X. ferrugineus*, *X. volvulus*, *Euplatypus segnis*, *Premnobius cavipennis* and *Monarthrum exornatum*. This pattern of attack was persistent in the municipalities of Los Reyes and Ziracuaretiro. The second attack pattern was located in the upper part of the graft area. The associated species in this area were: *Corthylus flagellifer*, *C. detrimmentosus*, *Monarthrum conversum*, *M. exornatum*, *M. fimbriaticorne*, *Premnobius cavipennis*, *Euplatypus segnis*, *E. otiosus*, *Amphicranus micidus* and *Corthylocurus aguacatensis*. This pattern of attack was present in the municipalities of Ario de Rosales and Tancítaro. In both types of attack the trees were alive and cankers were identified in the trunk as a primary stress factor.

From genomic DNA by Polymerase Chain Reaction (PCR) we identified the symbiotic fungi of 5 species of beetles (*Monarthrum fimbriaticorne*, *M. exornatum*, *M. conversum*, *Xyleborus affinis* and *Euplatypus segnis*) with partial sequences of the large subunit 28S (LSU) and the small subunit 18S (SSU), amplified using the primers LROR-LR5 and NS1-NS4, respectively. In total, 13 operational taxonomic units (OTUs) were identified from the 50

females of processed ambrosia beetles. Ten OTUs belong to the order of the Ophiostomatales, 2 OTUs to the Saccharomycetales and 1 OTUs to the Hypocreales. Eight of the thirteen OTUs are of the genus *Raffaelea* (*R. arxii*, *R. brunnea*, *R. fusca*, *R. subalba*, *Raffaelea* sp. 1, *Raffaelea* sp. 2, *Raffaelea* sp. 3, *Raffaelea* sp. 4), two OTUs are yeasts (*Wickerhamomyces* and *Ambrosiozyma*) and the three remaining OTUs were *Ceratocystiopsis*, *Esteya*, *Geosmithia*. This research represents one of the first studies of ambrosial beetles associated with live avocado trees in the state of Michoacán.

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

El aguacate (*Persea americana* Miller) es un cultivo de importancia económica con una producción global de 5.567.043 t, siendo México el primer productor a nivel mundial con un total de 1.889.354 t (FAO, 2016). Los principales estados productores de aguacate en México son Michoacán, Jalisco, Estado de México, Nayarit y Morelos, con una superficie total de 218,492 ha. Michoacán aporta el 83 % de la producción con un total de 1,565.895 t generando un valor de la producción de 32,823,118 pesos mexicanos a la economía nacional (SIAP, 2017).

El cultivo del aguacate es afectado por diversos factores ambientales, deficiencias nutricionales, plagas y enfermedades que disminuyen su rendimiento considerablemente. En 2012, Carrillo *et al.* reportaron 14 especies de escarabajos ambrosiales habitando en el tronco y ramas de árboles de aguacate en la Florida, Estados Unidos. Varios de estos árboles mostraban síntomas asociados a la marchitez del laurel causado por el hongo *Raffaelea lauricola*, simbionte primario del escarabajo ambrosial de origen asiático, *Xyleborus glabratus*. Sin embargo, *X. glabratus* solo se encontró en dos de los once huertos estudiados, por lo que presumieron que otras especies de escarabajos ambrosiales eran capaces de transmitir a *R. lauricola*.

La transferencia horizontal de hongos simbioses entre especies de escarabajos ambrosiales ha sido reportada previamente (Batra, 1966; Harrington, 2005; Gebhardt *et al.* 2004). En el 2014, Carrillo *et al.* confirmaron la transferencia horizontal de *Raffaelea lauricola* entre especies de escarabajos ambrosiales. Posteriormente se demostró que *Xyleborus bispinatus* era capaz de desarrollar todo su ciclo de vida con diferentes especies de *Raffaelea*, incluyendo *R. arxii*, *R. subalba*, *R. subfusca*, incluyendo el fitopatógeno *R. lauricola* (Saucedo *et al.*, 2017).

En México se han realizado estudios sobre de la diversidad, la taxonomía y ecología de los taxa Scolytinidae y Platypnidae. Así, en 1982, Wood realizó una monografía que

describe a los escarabajos descortezados y ambrosiales presentes en el Norte y Centro de América. Romero *et al.* (1997) publicaron la lista de Scolytinidae y Platypnidae en México, incluyendo datos sobre distribución geográfica y hospederos. Adicionalmente en el país se han realizado estudios dirigidos a regiones específicas con determinados tipos de vegetación (Atkinson y Equihua, 1986a; Atkinson y Equihua, 1986b; Estrada y Atkinson, 1988; Burgos y Equihua, 2007; Pérez -De La Cruz *et al.*, 2009; Atkinson, 2012; Pérez de la Cruz *et al.*, 2015).

El escarabajo ambrosial *Euplatypus segnis* es una plaga de importancia económica en México ya que coloniza árboles de *Carya illinoensis* (nogal pecanero). Entre los hongos asociados a este insecto y aislados de la madera afectada se identificaron representantes de los géneros *Phoma*, *Fusarium*, *Ascochyta*, *Phaeocylomices*, *Lasiodiplodia*, *Alternaria*, *Umbeliopsis*, *Torula*, *Aspergillus*, *Helminthosporium* y *Penicillium* (Alvidrez *et al.* 2012). En dicho estudio se realizaron pruebas de patogenicidad, encontrando que únicamente las especies de *Fusarium solani*, *Alternaria alternata* y *Lasiodiplodia theobromae* causaron síntomas en el hospedero. Por otra parte en 2016, se reportó por primera vez una especie de *Euwallacea* nr. *fornicatus* en trampas ubicadas en zonas turísticas de Tijuana, la cual ataca más de 300 hospederos, entre ellos el aguacate (García *et al.*, 2016, Equihua *et al.* 2016). Esto representa una amenaza sanitaria seria debido a que en California *Euwallacea* nr. *fornicatus* está asociada a *Acremonium pembeum*, *Fusarium euwallaceae*, *Graphium euwallaceae*, y causa en el hospedero muerte regresiva.

Silva *et al.* (2015) identificaron 18 especies de *Xyleborus* nativas de México (*Xyleborus palatus*, *X. squamulatus*, *X. affinis*, *X. spinulosus*, *X. horridus*, *X. spathipennis*, *X. posticus*, *X. discretus*, *X. intrusus*, *X. titubanter*, *X. vismiae*, *X. imbellis*, *X. ferrugineus*, *X. bispinatus*, *X. morulus*, *X. volvulus*, *X. declivis*, *X. macer*) con diferente distribución geográfica de cada una de las especies. Además, en 2017 se reportó por primera vez el ataque de las especies *Xyleborus*

affinis, *X. volvulus* y *X. spinulosus*, afectando árboles de aguacate en Colima (Castrejón *et al.*, 2017). Recientemente, se han detectado síntomas de marchitez y muerte regresiva en árboles de aguacate de diferentes regiones productoras de Michoacán. Los árboles sintomáticos se caracterizan por desarrollar una coloración oscura debajo de la corteza en ramas y troncos. También se observaron múltiples secreciones de savia cristalizada en corteza de madera se observaron a lo largo de los troncos y ramas con presencia de insectos. Adicionalmente, virutas de aserrín típicos de un ataque de escarabajos ambrosiales se encontraron en la corona de árboles sintomáticos. Diferentes especies de escarabajos ambrosiales y descortezadores han sido asociadas con árboles sintomáticos (Ochoa, 2014). Sin embargo, la identificación de estos escarabajos y sus hongos asociados a estos, así como la etiología de la enfermedad no han sido reportados. Por lo anterior, y debido a la falta de antecedentes en México, y con base en la información de la literatura asociada el presente estudio se planteó la siguiente hipótesis:

Más de una especie de escarabajo ambrosial nativo de México está asociada a la muerte regresiva de árboles de aguacate en el estado de Michoacán, México, cada una de las cuales es portadora de distintas especies de hongos simbioses.

Objetivo general

Identificar las especies de escarabajos ambrosiales y los hongos simbioses asociados a las especies de escarabajos de mayor prevalencia, asociados a muerte regresiva de árboles de aguacate en la región productora de Michoacán.

Objetivos específicos

1. Identificar las especies de escarabajos ambrosiales asociados a muerte regresiva de árboles de aguacate en la región productora de Michoacán.

2. Cuantificar el número de individuos por especie de escarabajos ambrosiales en diferentes municipios productores de aguacate en Michoacán.
3. Aislar e identificar los hongos simbiotes asociados a las especies de escarabajos de mayor prevalencia.

Referencias

1. Alvidrez, R., Hernández, F. D., García, O., Mendoza, R., Rodríguez, R., & Aguilar, C. N. (2012). Isolation and pathogenicity of fungi associated to ambrosia borer (*Euplatypus segnis*) found injuring pecan (*Carya illinoensis*) wood. *Agricultural Sciences*, 3(03): 405-416
2. Atkinson, T. H. & Equihua, M. A. (1986a). Biology of the Scolytidae and Platypodidae (Coleoptera) in a tropical deciduous forest at Chamela, Jalisco, México. *Florida Entomologist*, 62, 303-310.
3. Atkinson, T. H. & Equihua, M. A. (1986b). Biology of bark and ambrosia beetles (Coleoptera: Scolytidae and Platypodidae) of a tropical rain forest in Southeastern Mexico with an annotated checklist of species. *Annals of the Entomological Society of America*, 79, 414-423.
4. Atkinson, T. H. (2012). Estado de conocimiento de la taxonomía de los escarabajos descortezadores y ambrosiales de México (Coleóptera: Curculionidae: Scolytinae). pp. 13-27. *Memorias: XVI Simposio Nacional de Parasitología Forestal*, Cuernavaca, Morelos, México.
5. Batra, L.R. (1966) Ambrosia fungi: extent of specificity to ambrosia beetles. *Science*, 153, 193–195.
6. Burgos, S. A. & Equihua, M. A. (2007). Platypodidae y Scolytidae (Coleoptera) de Jalisco, México. *Dugesiana*, 14, 59-82.
7. Carrillo, D., Duncan, R. E., & Peña, J. E. (2012). Ambrosia beetles (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) that breed in avocado wood in Florida. *Florida Entomologist*, 95(3), 573-579. doi.org/10.1653/024.095.0306

8. Carrillo, D., Duncan, E. R., Ploetz, J. N., Campbell, A. F., Ploetz, R. C. & Peña, J. E. (2014). Lateral transfer of a phytopathogenic symbiont among native and exotic ambrosia beetles. *Plant Pathology*, 63, 54-62.
9. Castrejón-Antonio, J. E., Montesinos-Matías, R., Acevedo-Reyes, N., Tamez-Guerra, P., Ayala-Zermeño, M. Á., Berlanga-Padilla, A. M. & Arredondo-Bernal, H. C. (2017). Especies de *Xyleborus* (Coleóptera: Curculionidae: Scolytinae) asociados a huertos de aguacate en Colima, México. *Acta Zoológica Mexicana*, 33(1), 146-150.
10. Equihua-Martínez, A., Estrada-Venegas, E. G., Trujillo-Arriaga, J., de Jesús García-Avila, C., López-Buenfil, J. A., Quezada-Salinas, A. & Plascencia-González, A. (2016). New host association between *Euwallaceae* sp. (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) and *Casuarina cunninghamiana* Miq. (Casuarinaceae) in Tijuana, Baja California Norte, MEXICO *Folia Entomológica Mexicana (nueva serie)*, 2(1), 20-21.
11. Estrada, V. A. & Atkinson, T. H. (1988). Scolytidae y Platypodidae (Coleoptera) de Escárcega, Campeche, México. Biogeografía, biología, importancia económica y una lista comentada de especies. *Anales del Instituto de Biología, Serie Zoología*, 58, 199-220.
12. FAO, 2016 (Food and Agriculture Organization) <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/S> (Consultado el 01/10/18).
13. García-Ávila, C. D. J., Trujillo-Arriaga, F. J., López-Buenfil, J. A., González-Gómez, R., Carrillo, D., Cruz, L. F., Ruiz-Galván, I., Quezada-Salinas, A. & Acevedo-Reyes, N. (2016). First report of *Euwallacea* nr. *fornicatus* (Coleoptera: Curculionidae) in Mexico. *Florida Entomologist*, 99(3), 555-556. doi.org/10.1653/024.099.0335
14. Gebhardt, H., Bergerow, D. & Oberwinkler, F. (2004). Identification of the ambrosia fungus of *Xyleborus monographus* and *X. dryographus* (Curculionidae, Scolytinae). *Mycological Progress* 3:95–102. [doi.org/ 10.1007/s11557-006-0080-1](https://doi.org/10.1007/s11557-006-0080-1)

15. Harrington, T. C. (2005). Ecology and evolution of mycophagous bark beetles and their fungal partners. *Insect-Fungal Associations: Ecology and Evolution*, 1, 22.
16. Ochoa, A. S. (2014). Experiencias en la detección de ambrosiales y sus hongos asociados en aguacate en Michoacán. Simposio Complejo de Plagas de Insectos Ambrosiales ‘Un riesgo para la producción de aguacate en México’. Uruapan, Michoacán: México.
17. Pérez-De La Cruz, M., Equihua-Martínez, A., Romero-Nápoles, J., Valdez-Carrasco, J. & De La Cruz-Pérez, A. (2009). Claves para la identificación de escolitinos (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) asociados al agroecosistema cacao en el sur de México. *Boletín del Museo de Entomología de la Universidad del Valle*, 10(1), 14-29.
18. Pérez, C. M., Zavaleta, B. P. & De la Cruz, P. A. (2015). Aproximación al conocimiento de la diversidad de Scolytinae y Platypodinae (Coleoptera: Curculionidae) asociados a selvas de Tabasco, México. *Entomotropica*, 30(20), 201-211.
19. Romero, N. J., Anaya, R. S., Equihua, M. A. & Mejía G. H., (1997). Lista de Scolytidae y Platypodidae de México (Insecta: Coleoptera). *Acta Zoológica Mexicana* 70, 35-53.
20. Saucedo, J. R., Ploetz, R. C., Konkol, J. L., Ángel, M., Mantilla, J., Menocal, O. & Carrillo, D. (2017). Nutritional symbionts of a putative vector, *Xyleborus bispinatus*, of the laurel wilt pathogen of avocado, *Raffaelea lauricola*. *Symbiosis*, 75(1), 29-38. DOI [10.1007/s13199-017-0514-3](https://doi.org/10.1007/s13199-017-0514-3)
21. SIAP, 2017 (Servicio de Información Alimentaria y Pesquera) <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/> (Consultado el 01/10/18)
22. Silva, M. P., Martínez, A. E. & Atkinson, T. H. (2015). Identificación de las especies mexicanas del género *Xyleborus* Eichhoff, 1864 (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Insecta Mundi*, 0440, 1-35

23. Wood, S. L. (1982). The Bark and Ambrosia Beetles of North and Central America (Coleoptera: Scolytidae), a Taxonomic Monograph. *The Great Basin Naturalist Memoirs*, 6, 1-1359.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Historia e importancia económica del aguacate

México es considerado el centro de origen del aguacate (*Persea americana* Miller) (Sánchez *et al.*, 2002). El origen de dicha especie se asocia a las áreas altas del centro y este de México, y Guatemala, región conocida como Mesoamérica y considerada como aquella donde se llevó a cabo la domesticación del aguacate (William, 1977). El aguacate pertenece a la familia de las Lauráceas que en total comprende 50 géneros (Marais, 2004) y es la especie frutal de mayor importancia económica (Pua y Davey 2007). México es el primer productor con 33 % de la producción mundial, seguido por República Dominicana con 10.8 %, Perú con el 8.1 %, Colombia con 5.5 %, e Indonesia con 5.4 % (FAO, 2016).

2.2 Plagas y enfermedades de importancia económica en el aguacate

Las plagas y enfermedades son uno de los obstáculos más importantes para la producción de aguacate en todo el mundo (Ploetz *et al.*, 2011; Ploetz *et al.* 2013; Waite y Martínez, 2002). Las plagas en aguacate varían de país a país, por ejemplo, trips, escamas, ácaros y escarabajos son las principales plagas en América, mientras que en el sur de África y Australia, los son los heterópteros (Waite y Martínez, 2002).

Entre las plagas de mayor importancia que atacan el fruto son los trips de los géneros *Frankiniella* y *Scirtothrips*, el barrenador grande de la semilla (*Heilipus lauri*), barrenador pequeño de la semilla (*Conotrachelus perseae*), barrenador de ramas (*Copturus aguacatae* Kissinger) (GIIIA, 2013), así como la palomilla barrenadora de la semilla (*Stenomoma catenifer*) (SAGARPA, 2011). Entre las plagas del follaje se encuentran la araña roja (*Oligonychus punicae*) y la araña cristalina (*Oligonychus perseae*) mientras que la plaga reportada en troncos es el barrenador del tronco (*Copturomimus perseae*). Además, varias especies del género *Phyllophaga* han sido reportadas afectando la zona de la raíz (GIIIA, 2013).

Dentro de las enfermedades relevantes que atacan al aguacate están las enfermedades del fruto, tales como la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*), roña (*Sphaceloma persea*) y la mancha de sol (*Avocado sunblotch viroid*). En las enfermedades del follaje se encuentran fumagina (*Capnodium* spp), mancha de chapopote (*Phyllachora gratissima*), mancha plateada (*Mycosphaerella perseeae*), y la mancha púrpura (*Pseudocercospora purpurea*). (GIIIA, 2013).

Las enfermedades reportadas en troncos y ramas son cancro del tronco y los patógenos (*Nectria galligena*, *Phytophthora heveae*, *Fusarium solani*), marchitez necrótica o pudrición de ramas (*Dothiorella* spp) y la enfermedad bacteriana agalla de la corona (*Agrobacterium tumefaciens*). Por otra parte, entre las enfermedades de raíz se encuentran las de mayor importancia económica como la pudrición de raíz (*Phytophthora cinnamomi*), pudrición por *Armillaria* (*Armillaria* spp.), pudrición blanca (*Rosellinia necatrix*), pudrición de raíz y cuello (*Rhizoctonia* sp.) (Ochoa, 2011; GIIIA, 2013).

Recientemente, un nuevo patosistema ha emergido como problema en el cultivo de aguacate en el sureste de Estados Unidos conocido con el nombre de la marchitez del laurel causada por hongo ascomycete *Raffaelea lauricola* y transmitida por diferentes especies de escarabajos ambrosiales (Harrington *et al.*, 2008; Ploetz *et al.*, 2011; Carrillo *et al.*, 2014; Ploetz *et al.*, 2016).

2.3 Escarabajos ambrosiales, hongos simbioses y enfermedades asociadas

Existe poca información de las enfermedades asociadas con escarabajos ambrosiales (Coleóptera: Curculionidae: Scolytinae y Platypodinae) comparada con la que está disponible sobre enfermedades asociadas a los escarabajos descortezadores. Los escarabajos ambrosiales transportan hongos simbioses que cultivan en el interior de sus galerías y utilizándolos como alimento (Rangel *et al.*, 2012). Los hongos simbioses son transportados en estructuras especializadas llamadas micangios, que pueden estar localizados dentro del aparato bucal, el

tórax, o élitros de los insectos, y pueden encontrarse en las hembras y/o los machos dependiendo de la especie (Six, 2003). El impacto de los escarabajos ambrosiales y sus simbioses comprenden uno de los problemas con mayor significancia fitosanitaria que han emergido en décadas recientes. Para los escarabajos ambrosiales, estas interacciones están asociadas con árboles muertos o estresados y de manera atípica con árboles sanos (Equihua y Burgos, 2002; Ploetz *et al.*, 2013).

En 1990 se comenzaron a morir una gran cantidad de robles (*Quercus* spp.) en Japón, pero solo hasta el 2002, Kubono e Ito reportaron la marchitez del roble japonés causada por *Raffaelea quercivora* la cual se asoció a los micangios de *Platypus quercivorus* y afecta varias especies de roble (*Quercus serrata*, *Q. mongolica* var. *grosseserrata*). Posteriormente se presentó la muerte de los robles *Q. mongolica*, *Q. aliena*, *Q. serrata* en diferentes regiones de Corea causada por *Raffaelea quercus-mongolicae* asociada a los micangios de *Platypus koryoensis* (Kim *et al.*, 2009).

Recientemente, una enfermedad de muerte regresiva de ramas se ha asociado a *Euwallaceae* nr. *forficatus* en aguacate y otros hospederos (Eskalen *et al.*, 2012; Mendel *et al.*, 2012). Esta enfermedad ha sido reportada en diferentes lugares del mundo, sin embargo, es mucho más severa en California e Israel que en Australia y Florida (Ploetz *et al.*, 2013). La enfermedad es atribuida a *Fusarium euwallacea*, el hongo simbiote de *E. nr forficatus*. Varias especies de *Fusarium* de diferentes regiones han sido reportadas como simbioses de *E. nr forficatus* afectando a diferentes hospederos (Eskalen *et al.*, 2012, Mendel *et al.*, 2012).

Otro ejemplo del impacto de enfermedades asociadas a escarabajos ambrosiales es la marchitez del laurel causada por *Raffaelea lauricola* y transmitida por *Xyleborus glabratus*. En menos de una década ha matado millones de laureles rojos (*Persea borbonia*) y otros miembros de las lauráceas. Una inoculación con 100 conidios de *R. lauricola* es capaz de causar la muerte

en una planta de aguacate y laurel rojo (Ploetz *et al.*, 2013). Sorprendentemente, *X. glabratus* no se ha encontrado en huertos comerciales de aguacate en el sur de Florida y la adquisición de *R. lauricola* ha sido reportada en varias especies de escarabajos ambrosiales (Carrillo, *et al.*, 2014; Ploetz, *et al.*, 2016).

En los últimos años se han intensificado los estudios acerca de las especies de *Xyleborus* en México, ya que algunas representan riesgo para plantaciones forestales y agrícolas de importancia económica (Pérez-De La Cruz *et al.* 2009; Rangel *et al.* 2012). Actualmente existe información importante acerca de la taxonomía, biología y ecología de los escolitinos en México (Wood, 1982; Romero *et al.*, 1997 y Equihua y Burgos, 2002); así como información sobre *Xyleborus* en estudios dirigidos a regiones específicas de México con determinados tipos de vegetación (Atkinson y Equihua 1986a, Atkinson y Equihua 1986b, Estrada y Atkinson 1988, Burgos y Equihua 2007 y Pérez-De La Cruz *et al.* 2009). Sin embargo, se requiere una investigación más a fondo sobre enfermedades asociadas con escarabajos ambrosiales, ya que se desconoce si las diferencias en poblaciones de escarabajos, hongos simbiotes u otros factores son responsables del desarrollo de enfermedades en diferentes regiones para poder establecer medidas control y manejo de plagas y enfermedades (Ploetz *et al.*, 2013).

Referencias

1. Atkinson, T. H. & Equihua, M. A. (1986a). Biology of the Scolytidae and Platypodidae (Coleoptera) in a tropical deciduous forest at Chamela, Jalisco, México. *Florida Entomologist*, 62, 303-310.
2. Atkinson, T. H. & Equihua M. A. (1986b). Biology of bark and ambrosia beetles (Coleoptera: Scolytidae and Platypodidae) of a tropical rain forest in Southeastern Mexico with an annotated checklist of species. *Annals of the Entomological Society of America*, 79, 414-423.
3. Burgos S. A. & Equihua, M. A. (2007). Platypodidae y Scolytidae (Coleoptera) de Jalisco, México. *Dugesiana*, 14, 59-82.
4. Carrillo, D., Duncan, E. R., Ploetz, R., Campbell, A. F., Ploetz, R. C. & Peña J. E. (2014). Lateral transfer of a phytopathogenic symbiont among native and exotic ambrosia beetles. *Plant Pathology*, 63, 54-62. doi.org/10.1111/ppa.12073.
5. Equihua, M. A. & Burgos, S. A. (2002). Scolytidae. Biodiversidad, Taxonomía y Biogeografía de artrópodos de México: Hacia una síntesis de su conocimiento Vol. III. *CONABIO-IBUNAM*. pp. 539-557.
6. Eskalen, A., Gonzalez, A., Wang, D. H., Twizeyimana, M., Mayorquin, J. S. & Lynch, S. C. (2012). First report of a *Fusarium* sp. and its vector tea shot hole borer (*Euwallacea fornicatus*) causing Fusarium dieback on avocado in California. *Plant Disease*, 96, 1070.
7. Estrada, V. A. & Atkinson, T. H. (1988). Scolytidae y Platypodidae (Coleoptera) de Escárcega, Campeche, México. Biogeografía, biología, importancia económica y una lista comentada de especies. *Anales del Instituto de Biología, Serie Zoología*, 58, 199-220.
8. FAO, 2016 (Food and Agriculture Organization) <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/S> (consultado el 01/10/18).

9. GIIIA (Grupo Interdisciplinario e Interinstitucional de Investigación en Aguacate) (2013). La mancha de sol del aguacate. In: *El Aguacate en Michoacán: Plagas y Enfermedades* p 40-42. Morelia, Michoacán, Morevallado ed.
10. Harrington, T. C., Fraedrich, S. & Aghayeva, D. N. (2008). *Raffaelea lauricola*, a new ambrosia beetle symbiont and pathogen on the Lauracea. *Mycotaxon*, 104, 399-404.
11. Kim, K. H., Choi, Y. J., Seo, S. T. & Shin, H. D. (2009). *Raffaelea quercus-mongolicae* sp. nov. associated with *Platypus koryoensis* on oak in Korea. *Mycotaxon*, 110(1), 189-197.
12. Kubono, T. & Ito, S. I. (2002). *Raffaelea quercivora* sp. nov. associated with mass mortality of Japanese oak, and the ambrosia beetle (*Platypus quercivorus*). *Mycoscience*, 43(3), 255-260. doi.org/10.1007/s102670200037.
13. Marais, L. J. (2004). Avocado diseases of major importance worldwide their management. In S.A.M.H. Naqvi (Eds.), *Diseases of fruits and vegetables* (volume II; pp. 1-36). Dordrecht: Springer.
14. Mendel, Z., Protasov, A., Sharon, M., Zveibil, A., Ben Yehuda, S., O'Donnell, K., Rabaglia, R., Wysoki, M., & Freeman, S. (2012). An Asian ambrosia beetle *Euwallacea fornicatus* and its novel symbiotic fungus *Fusarium* sp. pose a serious threat to the Israeli avocado industry. *Phytoparasitica*, 40, 235-238.
15. Ochoa, A. S. (2011). Main avocado diseases present in Mexico. *Proceedings of the 7th World Avocado Congress*. Cairns, Queensland, Australia.
16. Pérez, C. M., Equihua, M. A., Romero, N. J., Valdez, C. J. & De La Cruz, P. A. (2009). Claves para la identificación de escolitinos (Coleóptera: Curculionidae: Scolytinae) asociados al agroecosistema cacao en el sur de México. *Boletín del Museo de Entomología de la Universidad del Valle*, 10(1), 14-29.

17. Ploetz, R. C., Dann, E., Pegg, K., Eskalen, A., Ochoa, S. & Campbell, A. (2011). Pathogen exclusion: Options and implementation. *Proceedings of the 7th World Avocado Congress*. Cairns, Queensland, Australia.
18. Ploetz, R. C., Hulcr, J., Wingfield, M. J. & Wilhelm de beer, Z. (2013). Destructive tree diseases asociated with ambrosia and bark beetles: black swan events in tree pathology?. *Plant Disease* 97, 856-872.
19. Ploetz, R. C., Hughes, M. A., Kendra, P. E., Fraedrich, S. W., Carrillo, D., Stelinski, L. L., Hulcr, J., Mayfield III, A. E., Dreaden, T. L., Crane, J. H., Evans, E. A., Schaffer, B. A. & Rollins, J. (2016). Recovery plan for laurel wilt of avocado, caused by *Raffaelea lauricola*. *Plant Health Progress*, 18(2), 51-77. doi.org/10.1094/PHP-12-16-0070-RP
20. Pua, E. C. & Davey, M. R. (Eds.). (2007). *Biotechnology in Agriculture and Forestry: Transgenic crops V* (vol. 60). Heidelberg: Springer.
21. Rangel, R., Pérez, M., Sánchez, C. S. & Capello, S. (2012). Fluctuación poblacional de *Xyleborus ferrugineus* y *X. affinis* (Coleoptera: Curculionidae) en ecosistemas de Tabasco, México. *Revista de Biología Tropical*, 60, 1577-1588.
22. Romero, N. J., Anaya, R. S., Equihua, M. A. & Mejía G. H., 1997. Lista de Scolytidae y Platypodidae de Mexico (Insecta: Coleoptera). *Acta Zoológica Mexicana*, 70, 35-53.
23. SAGARPA (2011). Monografía de cultivos Aguacate. Subsecretaria de fomento a los agronegocios.
<http://www.sagarpa.mx/agronegocios/Documents/pablo/Documentos/Monografias/Monograf%C3%ADa%20del%20aguacate.pdf> (consultado el 01/10/18).
24. Sánchez, C. S., Mijares, O. P., López, L. L. & Barrientos Priego, A. F. (2002). Historia del aguacate en México. *Memoria de la Fundación Salvador Sánchez Colín-CICTAMEX, S.C., 1998-2001*, 171-187.

25. Six, D. L. (2003). Bark beetle-fungus symbioses. *Insect Symbiosis*, 1, 97-114.
26. Waite, G. K. & Martínez, R. (2002). Insect and mite pests. In A. W. Whaley, B. Shaffer, B. & B. Wolstenholme (Eds.). *Avocado: botany, productions and uses* (pp. 339-361). Wallingford: CAB International.
27. William, L. O. (1977). The avocados, a synopsis of the genus *Persea*, Subg. *Persea*. *Economic Botany*, 31: 315-320.
28. Wood, S. L. (1982). The Bark and Ambrosia Beetles of North and Central America (Coleoptera: Scolytidae), a Taxonomic Monograph. *The Great Basin Naturalist Memoirs*, 6, 1-1359.

3. IDENTIFICACIÓN DE ESCARABAJOS AMBROSIALES ASOCIADOS A ÁRBOLES DE AGUACATE EN MICHOACÁN, MÉXICO.

Ángel-Restrepo, M.¹, Ochoa-Ascencio, S.², Fernández-Pavía, S.³, Vazquez-Marrufo, G.⁴,
Equihua-Martínez, A.⁵, Barrientos-Priego, A. F.⁶, Correa-Suarez, M.¹, Saucedo-Carabez,
J. R.⁷,

¹PIMCB-Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, ²Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Facultad de Agrobiología UMSNH-Fitopatología, ³IIAF-Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, ⁴CMEB-FMVZ-Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, ⁵ Colegio de Postgraduados-Instituto de Fitosanidad-Entomología, ⁶Universidad Autónoma de Chapingo-Departamento de Fitotecnia, ⁷University of Florida-Plant Pathology.

Resumen

Debido a su relevancia fitosanitaria, recientemente se han intensificado los estudios para conocer la diversidad de los escarabajos ambrosiales (Scolytinae y Platypodinae) en México. Hasta el momento se han identificado 867 especies de Scolytinae y 40 especies de Platypodinae, de las cuales solo el 5 % son plagas forestales de gran importancia en México. Estos insectos han sido reportados en 265 especies de hospederos, pero solo 199 son hospederos de importancia económica (árboles frutales y forestales). Este estudio se llevó a cabo en los municipios de Los Reyes, Arios de Rosales, Tancítaro y Ziracuaretiro del estado de Michoacán. Se reportan aquí por primera vez doce especies de escarabajos ambrosiales nativos de México atacando árboles vivos de aguacate, que incluyen a *Xyleborus affinis*, *X. volvulus*, *X. ferrugineus*, *Monarthrum conversum*, *M. exornatum*, *M. fimbriaticorne*, *Euplatypus segnis*, *E. otiosus*, *Corthylus flagellifer*, *C. detrimentosus*, *Corthylocurus aguacatensis*, *Amphicranus micidus*, y una especie introducida de África *Premnobius cavipennis*, atacando árboles vivos de aguacate.

Abstract

Recent research has been intensified to know the diversity of ambrosia beetles (Scolytinae and Platypodinae) in Mexico. Currently, 867 species of Scolytinae and 40 of Platypodinae have been identified in Mexico. However, only 5 % are represents forests pests of mayor importance for Mexico. These insects have been reported in 265 host species, but only 199 hosts of high economic value have been affected (fruit and forest trees). This study was carried out in four different municipalities (Los Reyes, Ario de Rosales, Tancítaro y Ziracuaretiro) in the state of Michoacán. In this study we reported for the first time 12 native species of Mexico *Xyleborus affinis*, *X. volvulus*, *X. ferrugineus*, *Monarthrum conversum*, *M. exornatum*, *M. fimbriaticorne*, *Euplatypus segnis*, *E. otiosus*, *Corthylus flagellifer*, *C. detrimmentosus*, *Corthylocurus aguacatensis*, *Amphicranus micidus*, and one specie introduced from Africa, *Premnobius cavipennis*, attacking alive avocado trees.

Introducción

Los escarabajos ambrosiales (Coleóptera: Curculionidae) están distribuidos globalmente en bosques de zonas tropicales y comprenden más de 3400 especies distribuidas en dos subfamilias, Scolytinidae y Platypodidae (Wood, 1982; Beaver *et al.*, 1989; Farrell *et al.*, 2001). La mayoría de los escarabajos ambrosiales colonizan árboles muertos, moribundos o estresados y ayudan en el proceso de descomposición de madera (De la Cruz *et al.*, 2015). Generalmente, existe algún factor primario de estrés asociado al ataque de los escarabajos ambrosiales (Carrillo *et al.*, 2012). Estos factores de estrés disminuyen la resistencia de los hospederos y facilitan el ataque masivo de los escarabajos (Wood, 1982; Cibrián *et al.*, 1995). Además, varias especies

de escarabajos ambrosiales pueden colonizar un mismo hospedero, aunque una especie puede ser la que predomina (Nápoles *et al.*, 1997; Carrillo *et al.*, 2012).

El 99 % de los Platypodidae y más de la mitad de los Scolytinidae tienen hábitos ambrosiales (Wood, 1982), es decir, se alimentan y dependen exclusivamente de sus hongos simbioses que son transportados en micangios (bolsas especializadas), los cuales están ubicados en diferentes partes del cuerpo del insecto (Ploetz *et al.*, 2013; Hulcr y Stelinski, 2017). Dependiendo de la especie de escarabajo, los micangios pueden estar presentes en ambos sexos o solo en uno de ellos (Beaver, 1989).

Algunos Scolytinidae y Platypodidae son plagas forestales de gran importancia en México (Nápoles *et al.*, 1997). Publicaciones recientes han identificado 867 especies de Scolytinae y 40 especies de Platypodidae, pero solo el 5 % son de importancia económica (Atkinson, 2012; De La Cruz *et al.*, 2015). Estos insectos han sido reportados en 265 especies de hospederos de los cuales 199 tienen un valor económico como árboles frutales y de relevancia forestal (Nápoles *et al.*, 1997). Debido a la deforestación y al cambio de uso del suelo forestal a agrícola, algunas especies de escarabajos ambrosiales han ampliado su rango de hospederos a cultivos de importancia económica (Bravo *et al.*, 2009; De La Cruz *et al.*, 2015).

Los escarabajos ambrosiales y sus hongos simbioses comienzan a considerarse como amenazas actuales para ecosistemas forestales, cultivos agrícolas y la industria maderera, generando un impacto ecológico y económico (Burgos y Equihua 2007; Hulcr y Dunn, 2011). En 2016, García *et al.* reportaron por primera vez a *Euwallacea* nr. *fornicatus* y su hongo simbionte *Fusarium* sp. en Baja California, México. Posteriormente, Castrejón *et al.* (2017) reportaron tres especies de *Xyleborus* (*X. affinis*, *X. volvulus* y *X. spinulosus*) asociadas a aguacate en el estado de Colima.

En 2014 varias especies de escarabajos ambrosiales fueron asociadas a árboles de aguacate con síntomas de marchitez y muerte en diferentes municipios del estado de Michoacán (Ochoa, 2014). Recientemente, Ochoa (Comunicado personal, 2018) identificó diferentes especies de escarabajos ambrosiales, 10 escolitinos (*Amphicranus hybridus*, *A. micidus*, *Corthylocurus aguacatensis*, *Corthylus flagellifer*, *Monarthrum conversum*, *M. exornatum*, *M. laterale*, *Xyleborus affinis*, *X. ferrugineus*, *X. volvulus*) y 2 platipodinos (*Euplatypus segnis*, *Euplatypus otiosus*), asociados a árboles de aguacate en Michoacán. Sin embargo, no existe un consenso amplio sobre las especies de escarabajos ambrosiales asociados a aguacate en el estado de Michoacán. Por lo tanto, en el presente estudio se planteó el objetivo de identificar y cuantificar la incidencia de las especies de escarabajos ambrosiales asociadas a árboles de aguacate con síntomas de marchitez y muerte en la región productora de Michoacán.

Materiales y Métodos

Colecta de muestras

Troncos de árboles de aguacate con síntomas iniciales de marchitez y muerte regresiva, con presencia de aserrín y perforaciones, fueron colectados de diferentes zonas agroecológicas de la región productora de aguacate del estado de Michoacán (Cuadro 1, Fig. 1). Las muestras de madera afectada (10-20 cm de diámetro y 1 m de largo) se obtuvieron teniendo en cuenta la distribución espacial (ramas o portainjerto) de los síntomas y signos. Las muestras fueron trasladadas al laboratorio de Fitopatología II de la Facultad de Agrobiología para su procesamiento. Todas las muestras permanecieron en cuarentena por el tiempo que duró la investigación y posteriormente se destruyeron.

Cuadro 1. Ubicaciones de colecta de muestras de escarabajos ambrosiales en aguacate, condiciones ambientales y factores de estrés del árbol donde se tomó la muestra en cada localidad

Municipios	Ejido	Condiciones ambientales			
		m.s.n.m.*	Temperatura promedio anual (°C)	Tipo de clima**	Factor primario de estrés
Ziracuaretiro	Patuan	1,273	22.5	Semi-cálido húmedo	Cancro
Los Reyes	Zona urbana	1,300	25	Templado subhúmedo	Abandono
	Los limones	1,285			Cancro
Ario de Rosales	Urapa	1,860	17.9	Semicálido subhúmedo	Cancro
	Pareos	1,963			Cancro
Tancítaro	Apo	2,150	17	Templado frío	Cancro

*m.s.n.m.= metros sobre el nivel del mar.

**Fuente: INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía).

Colecta e identificación de escarabajos

Las muestras de madera obtenidas se colocaron en recipientes plásticos de color oscuro (100 L) cerrados con tapa hermética como lo describe Carrillo *et al.* (2012). En cada contenedor se realizaron dos orificios diametralmente opuestos en el centro de 25 cm de diámetro para permitir el flujo de aire por medio de una tela de malla. Además, se realizaron orificios de 9 cm de diámetro en la parte lateral inferior y superior contraria para sujetar roscas plásticas y adherir frascos transparentes los cuales contenían toallas de papel húmedas en su interior (cámaras de fototropismo positivo). Las cámaras se mantuvieron bajo condiciones de laboratorio durante todo el proceso de extracción de escarabajos. Los escarabajos fueron atraídos por la luz y se colectaron en tubos plásticas etiquetadas con su lugar de origen y su distribución espacial en el árbol. La colecta de escarabajos se hizo aproximadamente cada dos días. Una vez colectados se realizó la identificación según sus características morfológicas.

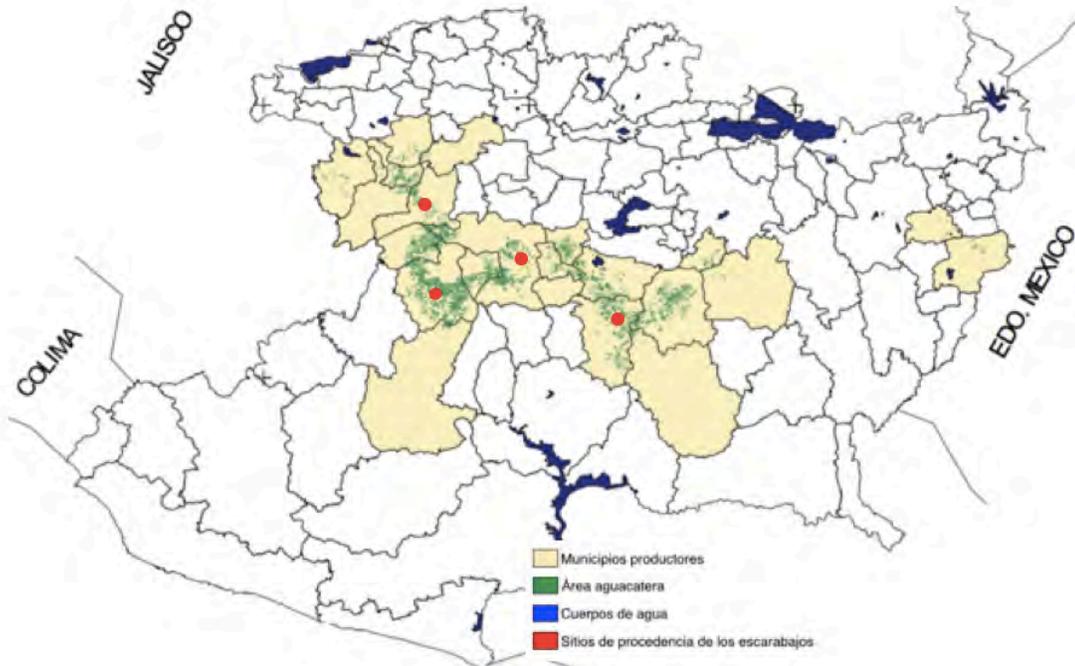


Figura 2. Localización de los sitios de muestreo en la zona productora de aguacate en Michoacán. Fuente del mapa: COMA-CONAPA 2005.

Resultados

Identificación de escarabajos

Se identificaron 13 especies de escarabajos ambrosiales de siete diferentes géneros procedentes de madera sintomática de aguacate en distintas regiones de Michoacán. Las especies identificadas correspondieron a *Xyleborus affinis* Eichhoff (A), *X. volvulus* (Fabricius) (B), *X. ferrugineus* (Fabricius) (C), *Monarthrum conversum* Wood (D), *M. exornatum* (Schedl) (E), *M. fimbriaticorne* (Blandford) (F), *Euplatypus segnis* (Chapuis) (G), *E. otiosus* (Schedl) (H), *Corthylus flagellifer* Blandford (I), *C. detrimentosus* Schedl (J), *Premnobius cavipennis* *Premnobius cavipennis* Eichhoff (K), *Corthylocurus aguacatensis* (Schedl) (L), *Amphicranus micidus* Wood (M) (Figura 2).

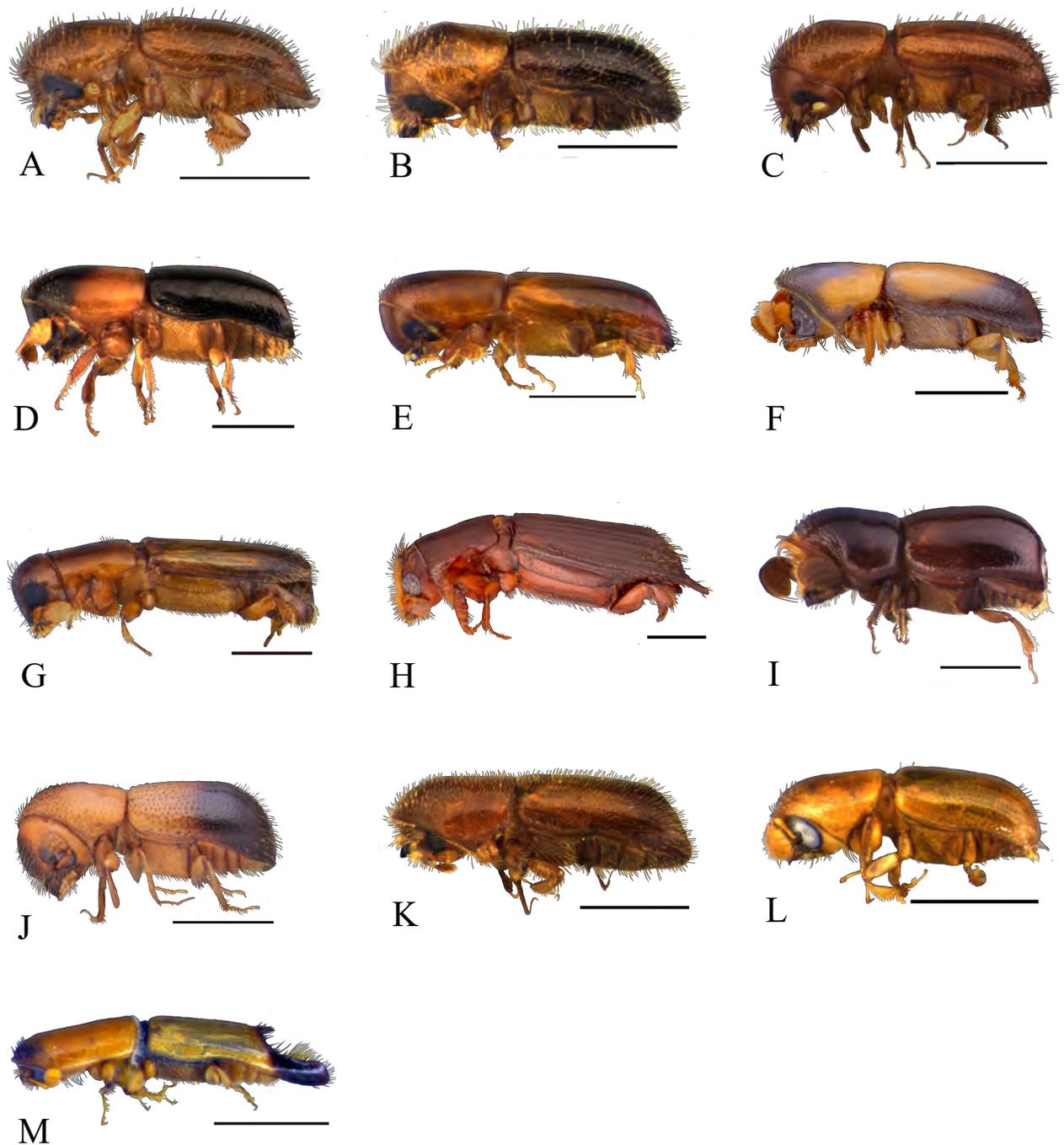


Figura 3. Escarabajos ambrosiales identificados atacando árboles de aguacate en Michoacán. *Xyleborus affinis* Eichhoff (A), *X. volvulus* (Fabricius) (B), *X. ferrugineus* (Fabricius) (C), *Monarthrum conversum* Wood (D), *M. exornatum* (Schedl) (E), *M. fimbriaticorne* (Blandford) (F), *Euplatypus segnis* (Chapuis) (G), *E. otiosus* (Schedl) (H), *Corthylus flagellifer* Blandford (I), *C. detrimmentosus* Schedl (J), *Premnobius cavipennis* Eichhoff (K), *Corthylocurus aguacatensis* (Schedl) (L), *Amphicranus micidus* Wood (M). Escala 1 mm.

Distribución espacial de los síntomas y signos de la actividad de los escarabajos ambrosiales

En los árboles muestreados se identificaron diferentes patrones de ataque. El primero consistió en ataques en la base del tallo (portainjerto). Las especies de escarabajos identificadas en esta zona fueron *Xyleborus affinis*, *X. ferrugineus*, *X. volvulus*, *Euplatypus segnis*, *Premnobius cavipennis* y *Monarthrum exornatum* (Fig. 3B). Este patrón de ataque fue persistente en los municipios de Los Reyes y Ziracuaretiro. El segundo patrón de ataque se localizó en la parte superior del tallo (parte superior de la zona de injerto). Las especies identificadas en esta zona fueron *Corthylus flagellifer*, *C. dentrimentosus*, *Monarthrum conversum*, *M. exornatum*, *M. fimbriaticorne*, *Premnobius cavipennis*, *Euplatypus segnis*, *E. otiosus*, *Amphicranus micidus*, *Corthylocurus aguacatensis*. Este patrón de ataque estuvo presente en los municipios de Ario de Rosales y Tancítaro (Fig. 3C). En ambos tipos de ataque se identificaron canchales en el tronco como factor primario de estrés.

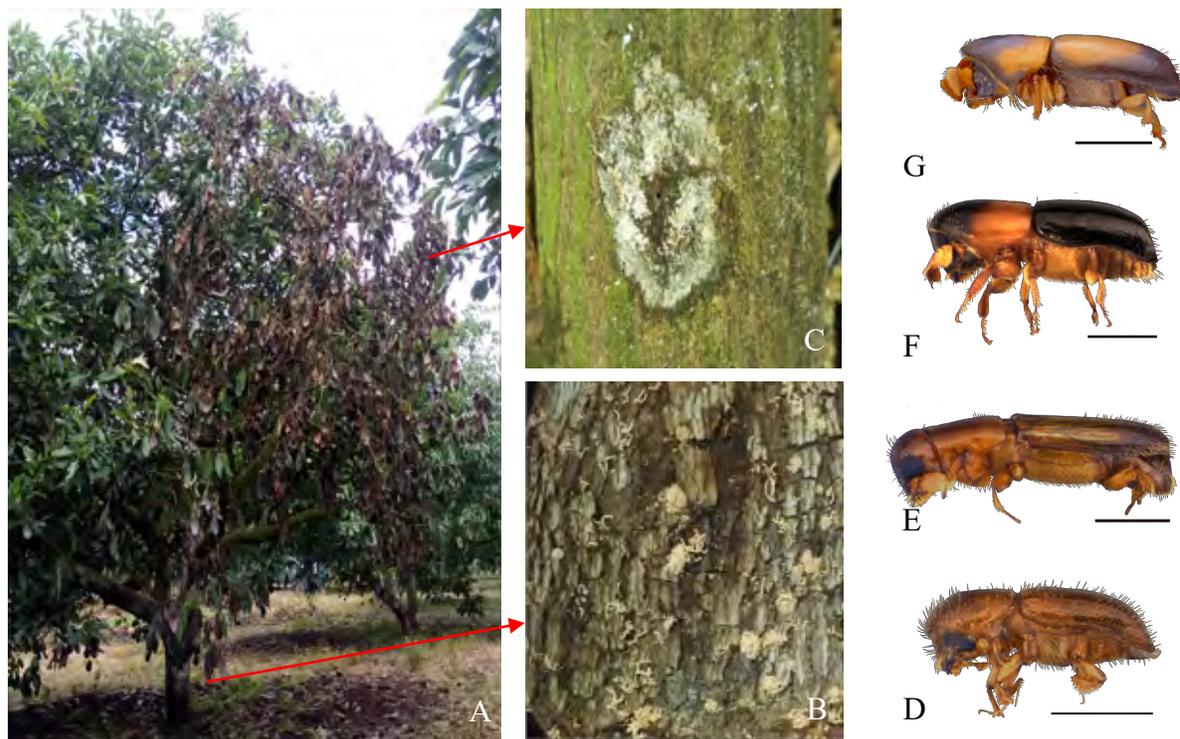


Figura 4 Síntomas y distribución espacial del ataque de escarabajos ambrosiales identificados en árboles de aguacate en Michoacán. Síntomas externos de árbol afectado por escarabajos ambrosiales (A). Daño en el tronco (B). Daño en ramas (C) *Xyleborus affinis* (D). *Euplatypus segnis* (E). *Monarthrum conversum* (F). *Monarthrum fimbriaticorne* (G). Los escarabajos que aparecen en los diferentes tipos de daño fueron los más prevalentes

Cuantificación de escarabajos por municipios

Un total de 5,350 individuos fueron identificados en cuatro municipios. *Xyleborus affinis* fue la especie que predominó con 4,246 especímenes, seguido por *M. conversum* con 400, *M. fimbriaticorne* con 238, *E. segnis* con 190, *M. exornatum* con 100, *C. dentrimentosus* con 50, *X. ferrugineus* con 38, *C. flagellifer* con 36, *X. volvulus* con 17, *P. cavipennis* con 16, *C. aguacatensis* con 13, *E. otiosus* con 5 y *A. micidus* con solo 1 individuo.

Los Reyes fue el municipio con mayor incidencia de escarabajos con un total de 3,994 escarabajos. *Xyleborus affinis* prevaleció con 3,762, *E. segnis* con 183, *X. ferrugineus* con 26, *P. cavipennis* con 13 y *X. volvulus* con 10. El municipio de Ario de Rosales es la segunda localidad con mayor número de escarabajos ambrosiales, con un total de 569 individuos. *Monarthrum conversum*, *M. exornatum*, *C. dentrimentosus*, *C. flagellifer* *C. aguacatensis*, *E. segnis* con 400, 92, 50, 36, 13 y 5 individuos, respectivamente. En Ziracuaretiro se obtuvieron 511 escarabajos en total. *Xyleborus affinis* con 484 individuos, *X. ferrugineus* 12, *X. volvulus* 7, *P. cavipennis* 3, *M. exornatum* 3 y *E. segnis* con 2. Por último, en Tancítaro se obtuvo un total de 249 escarabajos donde prevaleció *M. fimbriaticorne* con 238 individuos, seguido por *E. otiosus* con 5, *M. exornatum* con 5, y *A. micidus* con 1 solo individuo (Cuadro 2).

De cada muestra que se colectó se identificaron de 4 a 6 especies de escarabajos por árbol. *Euplatypus segnis* estuvo presente en 3 de los 4 municipios (Los Reyes, Ziracuaretiro, Ario de Rosales), y *M. exornatum* también estuvo presente en 3 de los 4 municipios (Ziracuaretiro, Ario de Rosales y Tancítaro). El resto de las especies solo estuvo presente en uno o dos municipios.

Cuadro 2. Número de especies de escarabajos ambrosiales por municipio y por especies.

Especies de escarabajos	Número de individuos por municipio				Total de escarabajos
	Los Reyes	Ario de Rosales	Ziracuaretiro	Tancítaro	
<i>Xyleborus affinis</i>	3,762	0	484	0	4246
<i>Monarthrum conversum</i>	0	400	0	0	400
<i>Monarthrum fimbriaticorne</i>	0	0	0	238	238
<i>Euplatypus segnis</i>	183	5	2	0	190
<i>Monarthrum exornatum</i>	0	92	3	5	100
<i>Corthylus dentrimentosus</i>	0	50	0	0	50
<i>Xyleborus ferrugineus</i>	26	0	12	0	38
<i>Corthylus flagellifer</i>	0	36	0	0	36
<i>Xyleborus volvulus</i>	10	0	7	0	17
<i>Premnobius cavipennis</i>	13	0	3	0	16
<i>Corthylocurus aguacatensis</i>	0	13	0	0	13
<i>Euplatypus otiosus</i>	0	0	0	5	5
<i>Amphicranus micidus</i>	0	0	0	1	1
Total	3,994	596	511	249	5,350

Discusión

Algunos escarabajos ambrosiales representan riesgos para plantaciones agrícolas y forestales de importancia económica a nivel mundial (Pérez *et al.*, 2009; Rangel *et al.*, 2012). Chang (1993), reportó en Hawái 3 especies de *Xyleborus* (*X. performans*, *X. affinis*, *X. ferrugineus*) atacando árboles de Macadamia (*Macadamia integrifolia*). En Brasil (Minas Gerais) se identificaron 16 especies de escarabajos ambrosiales (*Xyleborus paraguayensis*, *X. affinis*, *X. ferrugineus*, *X. retusus*, *X. spinulosus*, *X. squamulatus*, *Hypothenemus eruditus*, *H. bolivianus*, *Premnobius cavipennis*, *Corthylocurus vernaculus*, *Sampsonius dampfi*, *Corthylus robustus*, *Monarthrum cristatus*, *Microcorthylus* sp., *Tricolus* sp., *Corthylus* sp.), de las cuales algunas fueron identificadas como potenciales plagas para el eucalipto brasileño (Morales 2000). Giro (2003), reportó por primera vez la presencia y los daños causados por *Xyleborus*

affinis en plantaciones de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) en Cuba. En 2012 se reportaron en México, daños en árboles de nogal pecanero (*Carya illinoensis*) causados por *Euplatypus segnis* (Alvidrez *et al.*, 2012) y Carrillo *et al.* (2012) reportó en Florida (USA), 14 especies de escarabajos ambrosiales (*Ambrosiodmus lecontei*, *A. devexus*, *Corthylus papulans*, *Euwallacea fornicatus*, *Hypothenemus* sp., *Premnobius cavipennis*, *Theoborus ricini*, *Xyleborinus gracilis*, *X. saxesenii*, *Xyleborus affinis*, *X. ferrugineus*, *X. volvulus*, *X. glabratus* y *Xylosandrus crassiusculus*) asociados a la marchitez del laurel causada por *Raffaelea lauricola* en árboles de aguacate (*Persea americana*).

Recientemente se han intensificado los estudios para conocer la biología y diversidad de los escarabajos ambrosiales (Scolytinidae y Platypodidae) en México. Hasta ahora existe información importante acerca de la taxonomía, biología y ecología de los escolitinos en México (Wood, 1982; Romero *et al.*, 1997; Equihua y Burgos, 2002). Se han realizado estudios dirigidos a regiones específicas de México con determinados tipos de vegetación (Atkinson y Equihua, 1986a; Atkinson y Equihua, 1986b; Estrada y Atkinson, 1988; Burgos y Equihua, 2007; Pérez *et al.*, 2009; Atkinson, 2012; Pérez de la Cruz *et al.*, 2015) y recientemente se identificaron las especies de *Xyleborus* nativas de México (Silva *et al.*, 2015).

Los géneros *Xyleborus*, *Monarthrum* y la subfamilia de los Platypodinae están presentes en las áreas tropicales y subtropicales del mundo (Wood, 1982). Las especies *Xyleborus affinis*, *X. volvulus* y *X. ferrugineus*, son consideradas plagas polífagas debido a la gran variedad de hospederos que son capaces de infestar (Vázquez *et al.*, 2003). En particular *X. affinis* fue reportado en México atacando árboles de aguacate (*Persea americana*) en el estado de Colima (Castrejón *et al.*, 2017) y *Euplatypus segnis* fue reportado en nogal pecanero (*Carya illinoensis*) en Coahuila (Alvidrez *et al.*, 2012).

Dentro del género *Xyleborus*, el escarabajo ambrosial asiático *X. glabratus* ha sido uno de los más estudiados, éste utiliza señales visuales, como el diámetro del tronco para colonizar sus nuevos hospederos, adicional a esto el tronco debe emitir señales químicas apropiadas para que pueda suceder la colonización, como lo son la emisión de terpenos (α - cubebene y α -copaene) los cuales tienen una emanación más alta en el tronco (Kendra *et al.*, 2014). Podemos inferir que estas características pueden aplicarse a escarabajos nativos de México del género *Xyleborus* (*X. affinis*, *X. volvulus* y *X. ferrugineus*) lo cual concuerda con el primer patrón de ataque localizado en la base del tallo.

Contrario a lo que sucede con el género *Xyleborus*, los géneros *Monarthrum* y *Corthylus* generalmente atacan ramas de 5 cm a 30 cm de diámetro (Wood, 1982). Esto coincide con el patrón de ataque localizado en la parte superior del tallo donde los géneros *Monarthrum* y *Corthylus* estuvieron presentes. *Euplatypus segnis* y *Monarthrum exornatum* fueron las únicas dos especies que se encontraron tanto en el tronco como en ramas. Se necesitan más estudios para comprender mejor el comportamiento de estas especies de escarabajos en relación a sus patrones de colonización y los factores que determinan dicho proceso en aguacate.

Varios estudios realizados demuestran que por lo general la mayoría de los escarabajos ambrosiales atacan árboles con síntomas de estrés por exceso de agua, sequías extremas, podas, condiciones ambientales no favorables o enfermedades, estos árboles liberan sustancias volátiles como el etanol por la cual los escarabajos ambrosiales sienten atracción (Wood, 1982; Atkinson y Equihua, 1986a y b; Equihua y Burgos, 2002; Burgos y Equihua, 2007; Hulcr *et al.*, 2011; Alvidrez *et al.*, 2012; De la Cruz *et al.*, 2015; Hulcr y Stelinski, 2017). En esta investigación todos los árboles muestreados siempre presentaron un factor de estrés primario donde predominaron los canchales.

La presente investigación representa uno de los primeros estudios de escarabajos ambrosiales dirigido al cultivo aguacate en el estado de Michoacán, México. Por primera vez se reportan 12 especies de escarabajos ambrosiales: *Xyleborus affinis*, *X. volvulus*, *X. ferrugineus*, *Monarthrum conversum*, *M. exornatum*, *M. fimbriaticorne*, *Euplatypus segnis*, *E. otiosus*, *Corthylus flagellifer*, *C. detrimmentosus*, *Corthylocurus aguacatensis*, *Amphicranus micidus*, nativos de México y una especie introducida de África *Premnobius cavipennis* (Wood, 1982), asociados a daños en árboles vivos de aguacate ‘Hass’ en Michoacán.

Es importante tener más información acerca de los hongos simbioses asociados a estas especies de escarabajos ambrosiales. Futura investigación se realizará para identificar a los hongos asociados a estas especies de escarabajos ambrosiales para determinar su patogenicidad y el papel que jueguen en el desarrollo de los síntomas asociados en árboles de aguacate.

Referencias

1. Alvidrez, R., Hernández, F. D., García, O., Mendoza, R., Rodríguez, R. & Aguilar, C. N. (2012). Isolation and pathogenicity of fungi associated to ambrosia borer (*Euplatypus segnis*) found injuring pecan (*Carya illinoensis*) wood. *Agricultural Sciences*, 3(03), 405.
2. Atkinson, T. H. & Equihua, M. A. (1986a). Biology of the Scolytidae and Platypodidae (Coleoptera) in a tropical deciduous forest at Chamela, Jalisco, México. *Florida Entomologist*, 62, 303-310.
3. Atkinson T. H. & Equihua M. A. (1986b). Biology of bark and ambrosia beetles (Coleoptera: Scolytidae and Platypodidae) of a tropical rain forest in Southeastern Mexico with an annotated checklist of species. *Annals of the Entomological Society of America*, 79, 414-423. <https://doi.org/10.1093/aesa/79.3.414>
4. Atkinson, T. H. (2012). Estado de conocimiento de la taxonomía de los escarabajos descortezadores y ambrosiales de México (Coleóptera: Curculionidae: Scolytinae). pp. 13-27. *Memorias: XVI Simposio Nacional de Parasitología Forestal*, Cuernavaca, Morelos, México.
5. Beaver, R. A., Wilding, N., Collins, N., Hammond, P. & Webber, J. (1989). Insect-fungus relationships in the bark and ambrosia beetles. In: Wilding, N. M. Collins, P. M. Hammond, P. M. & J. F. Webber (Eds.). *Insect-fungus interactions* (pp. 121-143). London: Academic Press.
6. Bravo, M., Sánchez, J., Vidales, J. A., Sáenz, J. T., Chávez, J. G., Madrigal, S. & Muñoz, H. J. (2009). Impactos ambientales y socioeconómicos del cambio de uso del suelo forestal a huertos de aguacate en Michoacán. D.F., México: INIFAP.
7. Burgos, S. A. y Equihua, M. A. (2007). Platypodidae y Scolytidae (Coleóptera) de Jalisco, México. *Dugesiana*, 14, 59-82.

8. Carrillo, D., Duncan, R. E. & Peña, J. E. (2012). Ambrosia beetles (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) that breed in avocado wood in Florida. *Florida Entomologist*, 95(3), 573-579. <https://doi.org/10.1653/024.095.0306>
9. Carrillo D., Duncan E. R., Ploetz R., Campbell A. F., Ploetz R. C. & Peña J. E. (2014). Lateral transfer of a phytopathogenic symbiont among native and exotic ambrosia beetles. *Plant Pathology*, 63, 54-62. <https://doi.org/10.1111/ppa.12073>
10. Castrejón J. E., Montesinos, R., Acevedo, N., Tamez, P., Ayala, M. Á., Berlanga, A. M. & Arredondo, H. C. (2017). Especies de *Xyleborus* (Coleóptera: Curculionidae: Scolytinae) asociados a huertos de aguacate en Colima, México. *Acta Zoológica Mexicana*, 33(1), 146-150.
11. Cibrián, D., Montiel, M., Bolaños, C. & Lara, F. (1995). Insectos forestales de México. Chapingo, México: Universidad Autónoma Chapingo.
12. COMA-CONAPA. (2005). <http://www.avocadosource.com/wac6/es/presentacion/3c-112.pdf> (consultado el 11 de julio de 2018)
13. Chang, V. C. (1993). Macadamia quick decline and *Xyleborus* beetles (Coleoptera: Scolytidae). *International Journal of Pest Management*, 39(2), 144-148.
14. De La Cruz, M. P., Bastar, P. G. Z. & Pérez, A. D. L. C. (2015). Aproximación al conocimiento de la diversidad de Scolytinae y Platypodinae (Coleóptera: Curculionidae) asociados a selvas de Tabasco, México. *Entomotropica*, 30, 201-211.
15. Equihua M. A. & Burgos S. A. (2002). Scolytidae. In: Biodiversidad, Taxonomía y Biogeografía de Artrópodos de México: Hacia una síntesis de su conocimiento (Vol. III). D. F., México: CONABIO-IBUNAM. pp. 539-557.

16. Estrada, V. A. & Atkinson, T. H. (1988). Scolytidae & Platypodidae (Coleoptera) de Escárcega, Campeche, México. Biogeografía, biología, importancia económica y una lista comentada de especies. *Anales del Instituto de Biología, Serie Zoología*, 58, 199-220.
17. Farrell, B. D., Sequeira, A. S., O'Meara, B. C., Normark, B. B., Chung, J. H. & Jordal, B. H. (2011). The evolution of agriculture in beetles (Curculionidae: Scolytinae and Platypodinae). *Evolution*, 55(10), 2011-2027. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2011.tb01318.x>
18. García, C. D. J., Trujillo, F. J., López, J. A., González, R., Carrillo, D., Cruz, L. F. & Acevedo, N. (2016). First report of *Euwallacea* nr. *forficatus* (Coleoptera: Curculionidae) in Mexico. *Florida Entomologist*, 99(3), 555-556. <https://doi.org/10.1653/024.099.0335>
19. Giro, C. G. (2003). *Xyleborus affinis* (Eichh) (Coleoptera: Scolytidae) atacando plantaciones de caña de azúcar en la provincia de Santiago de Cuba. *Fitosanidad*, 7(1), 61.
20. Hulcr, J. & Dunn, R. R. (2011). The sudden emergence of pathogenicity in insect–fungus symbioses threatens naive forest ecosystems. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 278(1720), 2866-2873. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2011.1130>.
21. Hulcr, J., Mann, R., y Stelinski, L. L. (2011). The scent of a partner: ambrosia beetles are attracted to volatiles from their fungal symbionts. *Journal of Chemical Ecology*, 37(12). [1374-1377. DOI 10.1007/s10886-011-0046-x](https://doi.org/10.1007/s10886-011-0046-x)
22. Hulcr, J., y Stelinski, L. L. (2017). The ambrosia symbiosis: From evolutionary ecology to practical management. *Annual Review of Entomology*, 62, 285-303. [doi/abs/10.1146/annurev-ento-031616-035105](https://doi.org/10.1146/annurev-ento-031616-035105)
23. Kendra, P. E., Montgomery, W. S., Niogret, J., Pruett, G. E., Mayfield III, A. E., MacKenzie, M. & Epsky, N. D. (2014). North American Lauraceae: Terpenoid emissions, relative attraction and boring preferences of redbay ambrosia beetle, *Xyleborus glabratus*

(Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *PLoS One*, 9(7), e102086.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0102086>

24. Morales, N. E., Cola Zaniccio, J., Pratisoli, D., & Fabres, A. S. (2000). Fluctuación poblacional de Scolytidae (Coleoptera) en zonas reforestadas con *Eucalyptus grandis* (Myrtaceae) en Minas Gerais, Brasil. *Revista de Biología Tropical*, 48(1), 101-107.
25. Nápoles, J. R., Rosales, S. A., Martínez, A. E. & González, H. M. (1997). Lista de Scolytidae y Platypodidae de México (Insecta: Coleoptera). *Acta Zoológica Mexicana* (nueva serie), (70), 35-53.
26. Ochoa A., S. 2014. Experiencias en la detección de ambrosiales y sus hongos asociados en aguacate en Michoacán. Simposio complejo de plagas de insectos ambrosiales ‘Un riesgo para la producción de aguacate en México’. 17-19 de septiembre de 2014, Uruapan, Michoacán.
27. Pérez, M., Equihua M. A., Romero N. J., Valdez C. J., & De La Cruz, P. A. (2009). Claves para la identificación de escolítinos (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) asociados al agroecosistema cacao en el sur de México. *Boletín del Museo de Entomología de la Universidad del Valle*, 10, 14-29.
28. Pérez-De la Cruz, M., Zavaleta, B. P., & De la Cruz-Pérez, A. (2015). Aproximación al conocimiento de la diversidad de Scolytinae y Platypodinae (Coleoptera: Curculionidae) asociados a selvas de Tabasco, México. *Entomotropica*, 30(20), 201-211.
29. Ploetz R. C., Hulcr J., Wingfield, M. J., & Wilhelm de beer Z. (2013). Destructive tree diseases associated with ambrosia and bark beetles: black swan events in tree pathology?. *Plant Disease*, 97, 856-872. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-13-0056-FE>

30. Rangel, R., Pérez, M., Sánchez, C. S. & Capello, S. (2012). Fluctuación poblacional de *Xyleborus ferrugineus* y *X. affinis* (Coleoptera: Curculionidae) en ecosistemas de Tabasco, México. *Revista de Biología Tropical*, 60, 1577-1588.
31. Romero, N. J., Anaya, R. S., Equihua, M. A., & Mejía G. H., (1997). Lista de Scolytidae y Platypodidae de México (Insecta: Coleoptera). *Acta Zoológica Mexicana* 70, 35-53.
32. Silva, M. P., Martínez, A. E. & Atkinson, T. H. (2015). Identificación de las especies mexicanas del género *Xyleborus* Eichhoff, 1864 (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Insecta Mundi*, 0440, 1-35
33. Vázquez M. L., Rodríguez P. M. & Zorrilla, M.A. (2003). Lista de escolítidos (coleóptera) de Cuba y sus plantas hospedantes. *Fitosanidad*, 7(1), 17-21.
34. Wood, S. L. (1982). The Bark and Ambrosia Beetles of North and Central America (Coleoptera: Scolytidae), a Taxonomic Monograph. *The Great Basin Naturalist Memoirs*, 6, 1-1359.

4. HONGOS SIMBIOTES ASOCIADOS A ESCARABAJOS AMBROSIALES NATIVOS DE MÉXICO EN ÁRBOLES DE AGUACATE EN MICHOACÁN, MÉXICO

Ángel-Restrepo, M.¹, Ochoa-Ascencio, S.², Fernández-Pavía, S.³, Vazquez-Marrufo, G.⁴, Equihua-Martínez, A.⁵, Barrientos-Priego, A. F.⁶, Correa-Suarez, M. ¹, Ploetz, R. C.⁷, Konkol, J. L.⁷, Saucedo-Carabez, J. R.⁷,

¹PIMCB-Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, ²Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Facultad de Agrobiología UMSNH-Fitopatología, ³IIFAF-Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, ⁴CMEB-FMVZ-Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, ⁵ Colegio de Postgraduados-Instituto de Fitosanidad-Entomología, ⁶Universidad Autónoma de Chapingo-Departamento de Fitotecnia, ⁷University of Florida-Plant Pathology.

Resumen

Las enfermedades causadas por hongos simbiotes de escarabajos ambrosiales son atípicas, pero el impacto de dicha simbiosis comprende unos de los problemas con mayor significancia fitosanitaria que han emergido en el último siglo. El presente estudio se llevó a cabo con cinco especies de escarabajos ambrosiales nativos de México, *Monarthrum fimbriaticorne*, *M. conversum*, *M. exornatum*, *Xyleborus affinis* y *Euplatypus segnis* en cuatro municipios del estado de Michoacán: Los Reyes, Arios de Rosales, Tancítaro y Ziracuaretiro. Diferentes especies de hongos fueron recuperadas de los escarabajos procesados y de cada morfotipo se obtuvieron las secuencias parciales de las subunidades grande 28S (LSU) y pequeña 18S (SSU), amplificadas utilizando los pares de iniciadores LROR/LR5 y NS1/NS4, respectivamente. El análisis filogenético realizado con ambas secuencias empleando el criterio de Máxima Verosimilitud (ML por sus siglas en inglés) permitió la identificación de 13 unidades taxonómicas operativas (UTOs) de 50 individuos de escarabajos ambrosiales procesados. El género *Raffaelea* estuvo presente en todas las especies de insectos de los diferentes géneros, en

este estudio identificamos cuatro posibles nuevas especies de *Raffaelea*. También se recuperaron diferentes especies de los géneros *Geosmithia*, *Esteya* y *Ceratocystiopsis*. Adicionalmente, reportamos diferentes especies de levadura pertenecientes al género *Ambrosiozyma* y *Wickerhamomyces*.

Abstract

Diseases caused by symbiotic fungi are atypical, but the impact of ambrosial beetles and their symbionts comprise some of the most significant problems that have emerged in the last century. The study was carried out with five species of ambrosia beetles native to Mexico, *Monarthrum fimbriaticorne*, *M. conversum*, *M. exornatum*, *Xyleborus affinis* and *Euplatypus segnis* in four municipalities of the state of Michoacán (Los Reyes, Ario de Rosales, Tancítaro and Ziracuaretiro). Different species of fungi were recovered from the processed beetles, in total 13 operational taxonomic units (UTOs) were identified from the 50 females of processed ambrosial beetles. The genus *Raffaelea* was present in all species of insects of different genera, in this study we identified four possible new species of *Raffaelea*. However, different species of the genus *Geosmithia*, *Esteya* and *Ceratocystiopsis* were also recovered. Additionally, we report different yeast species belonging to the genus *Ambrosiozyma* and *Wickerhamomyces*.

Introducción

Los escarabajos ambrosiales (Coleóptera: Scolytidae y Platypodidae) y sus hongos asociados tienen una relación simbiótica mutualista. El hongo se beneficia del escarabajo ya que este le brinda transporte hacia nuevos hospederos y protección de las condiciones desfavorables, mientras que el escarabajo se beneficia de los nutrientes que proporciona el hongo para su prole (Batra, 1967). Los hongos simbiotes son la principal fuente de alimento para los

escarabajos ambrosiales ya que obtienen nutrientes esenciales para su reproducción (Beaver, 1989; Kok *et al.*, 1970).

Los hongos simbioses son transportados en estructuras especializadas llamadas micangios y pueden estar localizados en diferentes partes del cuerpo del insecto. Dichas estructuras se han descrito dentro del aparato bucal, el tórax o los élitros de los insectos, dependiendo de las especies de los escarabajos (Six, 2012; Ploetz *et al.* 2013, Hulcr y Stelinski, 2017). Generalmente, las hembras adultas son portadoras de estas estructuras y cuando los micangios se encuentran en los dos sexos, los micangios del macho no son funcionales. Sin embargo, cuando solo los machos adultos tienen micangios, ellos inician la construcción de galerías (Batra, 1963; Six, 2012).

Una especie de escarabajo está generalmente asociada con uno o más hongos simbioses, los cuales son transmitidos verticalmente de una generación a otra dentro de las galerías construidas en el xilema del hospedero (Beaver 1989, Farrell, 2001; Six, 2012; Harrington *et al.* 2010, Ploetz *et al.* 2013). Los hongos simbioses crecen en las galerías construidas en el xilema del hospedero y son adquiridos mediante la alimentación de las nuevas generaciones. Sin embargo, también puede ocurrir la transferencia horizontal en la cual un hongo simbionte puede ser adquirido por diferentes especies de escarabajos (Mueller *et al.*, 2005; Six, 2012, Carrillo *et al.*, 2014; Ploetz *et al.*, 2013).

La mayor parte de los hongos ambrosiales pertenecen al phylum Ascomycota, sub-phylum Pezizomycotina y en menor cantidad también se asocian levaduras que pertenecen al sub-phylum Saccharomycotina (Ploetz *et al.*, 2013). Dentro de Pezizomycotina se encuentran tres de los principales órdenes de hongos asociados a escarabajos ambrosiales: Ophiostomatales, donde se encuentra el género *Raffaelea* que es uno de los géneros mayormente asociado a estos insectos; Microascales con el género *Ambrosiella* y los Hipocreales con el género *Geosmithia*.

De igual manera, en el sub-phylum Saccharomycotina se han identificado especies en el orden de los Saccharomycetales con los géneros *Pichia*, *Candida* y *Ambrosiozyma* asociadas a escarabajos ambrosiales (Kostovcik *et al.* 2015; Ploetz *et al.*, 2013; Hulcr y Stelinski, 2017; Saucedo *et al.*, 2018).

Usualmente, los escarabajos ambrosiales se asociaban con un único hongo dominante (Batra, 1963). Sin embargo, estudios recientes han demostrado que estas relaciones simbióticas no son necesariamente uno a uno, encontrando que varias especies de hongo pueden cohabitar en los micangios (Mayers *et al.*, 2015; Hulcr y Stelinski, 2017; Saucedo *et al.*, 2018). Dentro de los micangios no solo se albergan hongos, también están presentes bacterias que juegan un papel poco estudiado, en el desarrollo y comportamiento del escarabajo (Endoh *et al.* 2008; Six, 2012; Hulcr *et al.*, 2012).

A pesar de que las enfermedades causadas por hongos simbioses son atípicas, el impacto de los escarabajos ambrosiales y sus simbioses comprenden uno de los problemas fitosanitarios con mayor significancia que ha emergido en el último siglo (O'Donnell *et al.*, 2015; Ploetz *et al.*, 2013). Usualmente los hongos simbioses no son patogénicos, pero como explica Ploetz *et al.*, (2013), existen casos llamados “Cisnes negros”, metáfora para referirse a un evento improbable. Por ejemplo, la marchitez del roble japonés causada por *Raffaelea quercivora* cuyo vector es *Platypus quercivorus*, la cual afecta varias especies de roble como *Quercus serrata* y *Q. mongolica* var. *grosseserrata* (Kubono e Ito, 2002). La marchitez del roble coreano causada por *Raffaelea quercus-mongolicae* y su vector *Platypus koryoensis*, que afecta a *Quercus mongolica*, *Q. aliena* y *Q. serrata* (Kim *et al.*, 2009). La muerte regresiva del aguacate causada por *Fusarium euwallaceae* cuyo vector es *Euwallacea nr fornicatus*, y se presenta en el Oeste de los Estados Unidos (Eskalen *et al.*, 2012) y la marchitez del laurel en *Persea borbonia* y otros miembros de las Lauráceas, reportada en el Suroeste de los Estados

Unidos causada por *Raffaelea lauricola*, cuyo vector principal es *Xyleborus glabratus* (Fraedrich *et al.*, 2008).

El estudio de los hongos simbioses se ha realizado en menos del 5% de las especies de escarabajos ambrosiales (Hulcr y Stelinski, 2017). Hasta el momento en México se tienen estudios acerca de la diversidad, la taxonomía, biología y ecología de los escarabajos ambrosiales (Wood, 1982; Atkinson y Equihua, 1986a; Atkinson y Equihua, 1986b; Estrada y Atkinson, 1988; Romero *et al.*, 1997 y Equihua y Burgos, 2002, Burgos y Equihua, 2007; Pérez *et al.*, 2009; Atkinson, 2012; Pérez de la Cruz *et al.*, 2015), recientemente se reportó daños en árboles de *Carya illinoensis* causados por *Euplatypus segnis* y asociado al daño, encontraron hongos como *Lasiodiplodia theobromae*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Alternaria alternata* (Alvidrez *et al.*, 2012). Se reportaron 3 especies de *Xyleborus* (*X. affinis*, *X. volvulus* y *X. spinulosus*) asociadas a aguacate en el estado de Colima. (Castrejón *et al.* 2017). Silva *et al.*, (2015) identificaron las especies de *Xyleborus* nativas de México y se han identificado hasta el momento 12 especies de escarabajos ambrosiales nativos de México: *Xyleborus affinis*, *X. volvulus*, *X. ferrugineus*, *Monarthrum conversum*, *M. exornatum*, *M. fimbriaticorne*, *Euplatypus segnis*, *E. otiosus*, *Corthylus flagellifer*, *C. detrimmentosus*, *Corthylocurus aguacatensis*, *Amphicranus micidus*, y una especie introducida de África *Premnobius cavipennis* asociados a daños en árboles vivos de aguacate Hass en Michoacán. (Ángel *et al.* 2018, datos no publicados). Pero la información acerca de los hongos simbioses es escasa o nula, por tal motivo en el presente trabajo se planteó el objetivo de aislar e identificar las especies de hongos simbioses asociadas a escarabajos ambrosiales identificados en aguacate en Michoacán, México.

Materiales y métodos

Colecta de escarabajos

Los escarabajos ambrosiales se colectaron de árboles de aguacate con síntomas iniciales de marchitez y con evidencia de actividad de estos insectos como palillos de aserrín y perforaciones en tronco y ramas. Las muestras se obtuvieron en diferentes zonas agroecológicas de la región de aguacate del estado de Michoacán localizadas en los municipios de Los Reyes, Ziracuaretiro, Tancítaro y Ario de Rosales. Las muestras de madera afectada (10-20 cm de diámetro y 1 m de largo) se colocaron en recipientes plásticos de color oscuro (100 L) cerrados con tapa hermética como lo describe Carrillo *et al.* (2012). Los escarabajos que emergieron de los troncos fueron identificados vivos, según sus características morfológicas.

Aislamiento de hongos a partir de los escarabajos

Adultos de *Monarthrum fimbriaticorne* (25 individuos), *M. exornatum* (25), *M. conversum* (6), *Xyleborus affinis* (18) y *Euplatypus segnis* (1) fueron desinfestadas en alcohol (70 %) por 15 segundos (s) y posteriormente se realizó un triple lavado con agua destilada estéril por 15 s cada uno. De acuerdo con la ubicación de los micangios, micangio procoxal (*M. fimbriaticorne*, *M. exornatum* y *M. conversum*), micangio pre-oral (*X. affinis*) y micangio pronotal (*E. segnis*), los escarabajos se seccionaron por la parte posterior del protórax y se maceró la parte anterior del escarabajo, en 200 μ L de agua destilada estéril en tubos de microcentrífuga de 1.5 mL empleando pistilos plásticos y un rotor (Corning, Inc. 7724). De 100 μ L del macerado del escarabajo se realizaron diluciones seriales de 1:1, 1:10 y 1:100 (v/v), en medio de cultivo CSMA+ (cicloheximida, estreptomicina, agar malta y ampicilina), el cual permite el crecimiento de hongos Ophiostomatales (Harrington, 1981) y diluciones 1:10 y 1:100 (v/v) en agar papa- dextrosa (PDA) reducido adicionado con antibióticos (ampicilina y sulfato de estreptomicina) para permitir el crecimiento de una amplitud hongos. Después de aproximadamente 10 días a una temperatura de 22°C, las unidades formadoras de colonia (UFC) con diferente morfología (color, textura, amplitud de crecimiento) fueron contadas, transferidas

y agrupadas como fenotipos. Posteriormente, se seleccionó una colonia representativa de cada uno de los fenotipos y se realizó un cultivo monospórico para su identificación genético-molecular.

Identificación molecular de los simbioses

A partir de colonias monospóricas de 3-4 semanas de edad, se realizó la extracción de ADN genómico (1 colonia representativa de cada morfotipo), siguiendo el protocolo de Justesen *et al.*, (2002). Secuencias parciales de la subunidad grande 28S (LSU) y subunidad pequeña 18S (SSU) fueron amplificadas utilizando los iniciadores LROR (5'-ACCCGCTGAACTTAAGC-3')/LR5 (5'-CGATCGATTTGCACGTCAGA-3'), NS1- (5'-GTA GTC ATA TGC TTG TCT C-3')/NS4 (5'-CTTCCGTCAATTCCTTTAAG-3'), respectivamente. La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) y las condiciones del termociclador fueron según Dreaden *et al.*, (2014).

Los productos de PCR fueron secuenciados por MCLAB (San Francisco, CA) y las secuencias fueron editadas y ensambladas con el programa Geneious® 9.1.5 (<https://www.geneious.com>) (Kearse, 2012).

Cuadro 3. Números de acceso de secuencias de referencia en GenBank y hongos simbioses secuenciados y usados en los análisis filogenéticos.

Orden	Especies de hongos	Voucher	Códigos de acceso GenBank	
			LSU	SSU
Saccharomycetales	<i>Ambrosiozyma platypodis</i>	CBS4111	KY106108	
	<i>Ambrosiozyma ambrosiae</i>	CBS6003	KY106091	
	<i>Ambrosiozyma cicatricosa</i>	CBS6157	KY106095	
	<i>Ambrosiozyma kamigamensis</i>	CBS10899	KY106096	
	<i>Ambrosiozyma llanquihuensis</i>	CBS8182	KY106097	
	<i>Ambrosiozyma maleeae</i>	Y-63635	NG055219	
	<i>Ambrosiozyma monospora</i>	CBS2554	KY106099	
	<i>Ambrosiozyma neoplatypodis</i>	CBS10900	KY106102	
	<i>Ambrosiozyma oregonensis</i>	CBS5560	KY106103	
	<i>Candida dendronema</i>	CBS6272	KY106411	
	<i>Candida germanica</i>	CBS4105	KY106463	
	<i>Candida berthetii</i>	CBS5452	KY106320	
	<i>Candida multigemmis</i>	CBS6524	KY106588	
	<i>Candida maris</i>	CBS5151	KY106557	
	<i>Candida nemodendra</i>	CBS6280	KY106597	

Orden	Especies de hongos	Voucher	Códigos de acceso GenBank	
			LSU	SSU
Ophiostomatales	<i>Candida kashinagacola</i>	JMC15021	AB296356	
	<i>Candida krabiensis</i>	CBS10097	KY106540	
	<i>Candida vanderkliftii</i>	JCM15029	AB291674	
	<i>Candida conglobata</i>	CBS2019	KY106399	
	<i>Candida naeodendra</i>	CBS6032	KY106592	
	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>		KR024781	
	<i>Wickerhamomyces sydowiorum</i>	CBS5986	KY110149	
	<i>Wickerhamomyces scolytoplatypi</i>	NBRC11029	NG_057157	
	<i>Wickerhamomyces edaphicus</i>	CBS10408	KY110120	
	<i>Wickerhamomyces queroliae</i>		EU580140	
	<i>Wickerhamomyces patagonicus</i>		FJ793131	
	<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	Y-12796	NG042649	
	<i>Ceratocystiopsis minuta</i>	CBS463.77	DQ268615	EU984267
	<i>Ceratocystiopsis minuta-bicolor</i>	CBS635.66	DQ268616	EU984268
	<i>Ceratocystiopsis manitobensis</i>	UM237	DQ268607	EU984266
	<i>Ceratocystiopsis ranaculosa</i>	CMW13940	DQ294357	
	<i>Ceratocystiopsis brevicomis</i>	UM1452	EU913683	
	<i>Ceratocystiopsis crassivaginata</i>	CMW134	DQ294386	
	<i>Ceratocystiopsis rollhanseni</i>	CMW13791	DQ294362	
	<i>Ceratocystiopsis</i> sp. MAR31			
	<i>Ceratocystiopsis</i> sp. MAR33			
	<i>Ceratocystiopsis</i> sp. MAR35			
	<i>Ceratocystiopsis</i> sp. MAR38			
	<i>Ceratocystiopsis</i> sp. MAR39			
	<i>Esteya vermicola</i>	CBS115803	EU668903	
	<i>Esteya</i> sp. MAR32			
	<i>Ophiostoma bicolor</i>	TUB F4269	DQ268604	AY497512
	<i>Ophiostoma ulmi</i>		DQ368627	M83261
	<i>Ophiostoma quercus</i>		DQ294376	AF234835
	<i>Ophiostoma canum</i>		AJ538342	EU984277
	<i>Ophiostoma floccosum</i>		AJ538343	AF139810
	<i>Ophiostoma ips</i>		AY172022	AY172021
	<i>Ophiostoma macrosporum</i>	CBS367.5	EU984290	EU984257
	<i>Ophiostoma montium</i>	CBS15178	AY194947	EU984278
	<i>Ophiostoma novo-ulmi</i>	CMW10573	DQ294375	
	<i>Ophiostoma piceae</i>		AJ538341	AB007663
	<i>Ophiostoma pulvinisporum</i>	CMW9022	DQ294380	
	<i>Ophiostoma setosum</i>		AF128929	
	<i>Ophiostoma tingens</i>	CBS366.5	EU984293	EU984258
	<i>Ophiostoma stenoceras</i>	CMW3202	DQ294350	FJ176850
	<i>Ophiostoma minus</i>		KY946718	KY931470
	<i>Raffaelea albimanens</i>	CBS271.70	EU984296	EU984259
	<i>Raffaelea aguacate</i>	CMW38067	KJ909296	KF026302
<i>Raffaelea ambrosiae</i>	CBS185.64	EU984297	AY497518	
<i>Raffaelea amasae</i>	CBS116694	EU984295	AY858660	
<i>Raffaelea arxii</i>	CBS273.70	EU984298	AY497519	
<i>Raffaelea arxii</i> MAR1				
<i>Raffaelea arxii</i> MAR2				
<i>Raffaelea arxii</i> MAR5				
<i>Raffaelea arxii</i> MAR6				
<i>Raffaelea arxii</i> MAR7				
<i>Raffaelea arxii</i> MAR20				
<i>Raffaelea arxii</i> MAR21				
<i>Raffaelea brunnea</i>	CBS378.68	EU984284	AY858654	
<i>Raffaelea brunnea</i> MAR50				
<i>Raffaelea brunnea</i> MAR50a				

Orden	Especies de hongos	Voucher	Códigos de acceso GenBank	
			LSU	SSU
	<i>Ophiotomataceae</i> sp. TR25		EU984281	EU984251
	<i>Raffaelea canadensis</i>	CBS168.66	EU984299	AY858665
	<i>Raffaelea fusca</i>	C2394	EU177449	KJ909300
	<i>Raffaelea fusca</i> 87p2	CBS139934	KR018424	KR018398
	<i>Raffaelea fusca</i> 90p2	CBS139935	KR018415	KR018399
	<i>Raffaelea fusca</i> MAR3			
	<i>Raffaelea fusca</i> MAR4			
	<i>Raffaelea fusca</i> MAR22			
	<i>Raffaelea fusca</i> MAR23			
	<i>Raffaelea gnathotrichi</i>	CBS379.68	EU177460	AY858655
	<i>Raffaelea lauricola</i>	PL159	KJ909303	EU257806
	<i>Raffaelea montetyi</i>	CBS451.94	EU984301	AY497520
	<i>Raffaelea quercus-mongolicae</i>		KF513155	GQ225700
	<i>Raffaelea santoroi</i>	CBS399.67	EU984302	EU984261
	<i>Raffaelea subalba</i>	C2401	EU177443	KJ909304
	<i>Raffaelea subalba</i> MAR17			
	<i>Raffaelea subalba</i> MAR42			
	<i>Raffaelea subalba</i> MAR43			
	<i>Raffaelea subfusca</i>	C2335	EU177450	KJ909306
	<i>Raffaelea sulcati</i>	CBS805.70	EU984291	AY858666
	<i>Raffaelea sulphurea</i>	CBS380.68	EU984292	EU170272
	<i>Raffaelea tritirachium</i>	CBS726.69	EU984303	EU984262
	<i>Raffaelea</i> sp. PL1001	CMW38062	KJ909293	KJ909294
	<i>Raffaelea campbellii</i>	CMW44800	KR018414	KR018402
	<i>Raffaelea crossotarsa</i>	CMW44793	KX267103	KX267129
	<i>Raffaelea cyclorhipidia</i>	CMW44790	KX267104	KX267130
	<i>Raffaelea quercivora</i>	MAFF41091	AB496454	AB496428
	<i>Raffaelea xyleborina</i>	CMW45859	KX267110	
	<i>Raffaelea</i> sp.1 MAR45			
	<i>Raffaelea</i> sp.1 MAR47			
	<i>Raffaelea</i> sp.1 MAR49			
	<i>Raffaelea</i> sp.2 MAR54			
	<i>Raffaelea</i> sp.3 MAR29			
	<i>Raffaelea</i> sp.3 MAR30			
	<i>Raffaelea</i> sp.3 MAR34			
	<i>Raffaelea</i> sp.3 MAR36			
	<i>Raffaelea</i> sp.3 MAR37			
	<i>Raffaelea</i> sp.4 MAR41			
	<i>Ambrosiella xilebori</i>	CBS110.61	EU984294	AY858659
	<i>Ambrosiella roeperi</i>	CBS142880	MF138153	MF138158

Análisis filogenético

Las secuencias obtenidas se editaron manualmente para eliminar las ambigüedades en los extremos y se realizó una búsqueda BLAST para encontrar aquellas con máxima identidad depositadas en GenBank utilizando el software BLAST (Basic Local Alignment Search Tool, www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST) (Cuadro 3). Se obtuvieron los archivos FASTA de secuencias con mayor identidad (99-100%) y de aquellas que se consideraron adecuadas para realizar el

análisis filogenético, incluyendo las secuencias de dos hongos simbiotes perteneciente al género de los Microascales para su utilización como grupo externo. Se realizó el alineamiento de las secuencias empleando el software MAFFT con los parámetros por default (Kato *et al.*, 2017). El alineamiento obtenido se utilizó para obtener el modelo evolutivo empleando el software ModelFinder (Kalyaanamoorthy *et al.*, 2017). Los árboles filogenéticos se generaron empleando los modelos TNe+R3 (gen SSU), GTR+F+R3 (gen LSU) y GTR+F+R4 (genes concatenados) para calcular las distancias genéticas. Los árboles generados mediante el criterio de ML se construyeron empleando el paquete IQ-TREE (Nguyen *et al.*, 2015) obteniendo los valores de soporte SH-aLRT (%) / aBayes support / ultrafast bootstrap (UFBoot) soporte para cada bifurcación (Hoang *et al.*, 2017). Debido a la congruencia entre los tres valores de soporte solo se incluyeron en el árbol los porcentajes de los valores SH-aLRT mayores al 50%. Los árboles se visualizaron y editaron empleando el software FigTree versión 1.4.2 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree>).

Análisis estadístico

Las unidades formadoras de colonia (UFC) de los hongos recuperados de las diferentes especies de escarabajos ambrosiales fueron comparados usando un método estadístico no paramétrico con el software JMP Pro12 (SAS Institute Inc., Cary, North Carolina). Las diferencias significativas fueron determinadas con Post-hoc Dunn test y *p*-values ajustado con el método Benjamin-Hochberg (Dunn, 1964).

Resultados

Hongos simbiotes por especie de escarabajo

En total, se identificaron 13 unidades taxonómicas operativas (UTOs) de las 50 hembras de escarabajos ambrosiales procesadas. Diez UTOs pertenecen al orden de los Ophiostomatales (Fig. 4); 2 UTOs a los Saccharomycetales (Figura 3) y 1 UTOs a los Hypocreales. Ocho de los trece UTOs corresponden al género *Raffaelea*, dos UTOs son

levaduras, *Wickerhamomyces* y *Ambrosiozyma* y los tres UTOs restantes correspondieron a los géneros *Ceratocystiopsis*, *Esteya* y *Geosmithia*.

Cuadro 4. Prevalencia de hongos simbiotes en cinco especies de escarabajos ambrosiales

Especie de escarabajo	Individuos procesados	Hongo simbiote	n	Individuos con simbiote (%)	Promedio de UFC	Rango UFC
<i>Monarthrum fimbriaticorne</i>	25	<i>Wickerhamomyces</i> sp.	11	44	257.2	0-900
		<i>Raffaelea</i> sp.1	7	28	475.71	0-1400
		<i>Ambrosiozyma oregonensis</i>	5	20	164	0-320
<i>Monarthrum exornatum</i>	25	<i>Raffaelea brunnea</i>	6	24	133.3	0-300
		<i>Wickerhamomyces</i> sp.	4	16	340	0-1300
		<i>Ambrosiozyma oregonensis</i>	3	12	30	0-60
		<i>Raffaelea</i> sp.2	2	8	250	0-300
<i>Monarthrum conversum</i>	6	<i>Raffaelea</i> sp.3	4	66.7	152.5	0-200
		<i>Ceratocystiopsis</i> sp.	4	66.7	67.5	0-110
		<i>Esteya</i> sp.	1	16.7	60	60
		<i>Geosmithia</i> sp	1	16.6	100	100
		<i>Raffaelea</i> sp.4	1	16.6	100	100
<i>Xyleborus affinis</i>	18	<i>Raffaelea arxii</i>	15	83.3	708.6	0-3700
		<i>Raffaelea fusca</i>	5	27.8	880	0-1800
		<i>Ambrosiozyma</i> sp.	2	11.1	1050	0-1400
		<i>Raffaelea subalba</i>	1	5.6	28	28
<i>Euplatypus segnis</i>	1	<i>Raffaelea subalba</i>	1	100	60	60
		<i>Raffaelea</i> sp.4	1	100	20	20

n: Número de escarabajos que portaban el hongo

UFC: Unidades formadoras de colonia

Diferentes especies de hongos fueron recuperadas de los diferentes escarabajos procesados (Fig. 4, Cuadro 4). Tres UTOs fueron identificados en *Monarthrum fimbriaticorne*. Se aisló *Raffaelea* sp. 1 (MAR45, 47, 49) (Fig.5) presente en 47 % de los escarabajos procesados con un promedio de 476 UFC. Adicionalmente, se identificaron dos especies de levaduras de los géneros *Wickerhamomyces* sp. (MAR46, 46a) y *Ambrosiozyma oregonensis* (MAR44) (Fig. 6), prevalentes en el 73 y 33 % de los individuos con un promedio de UFC de 257 y 164, respectivamente.

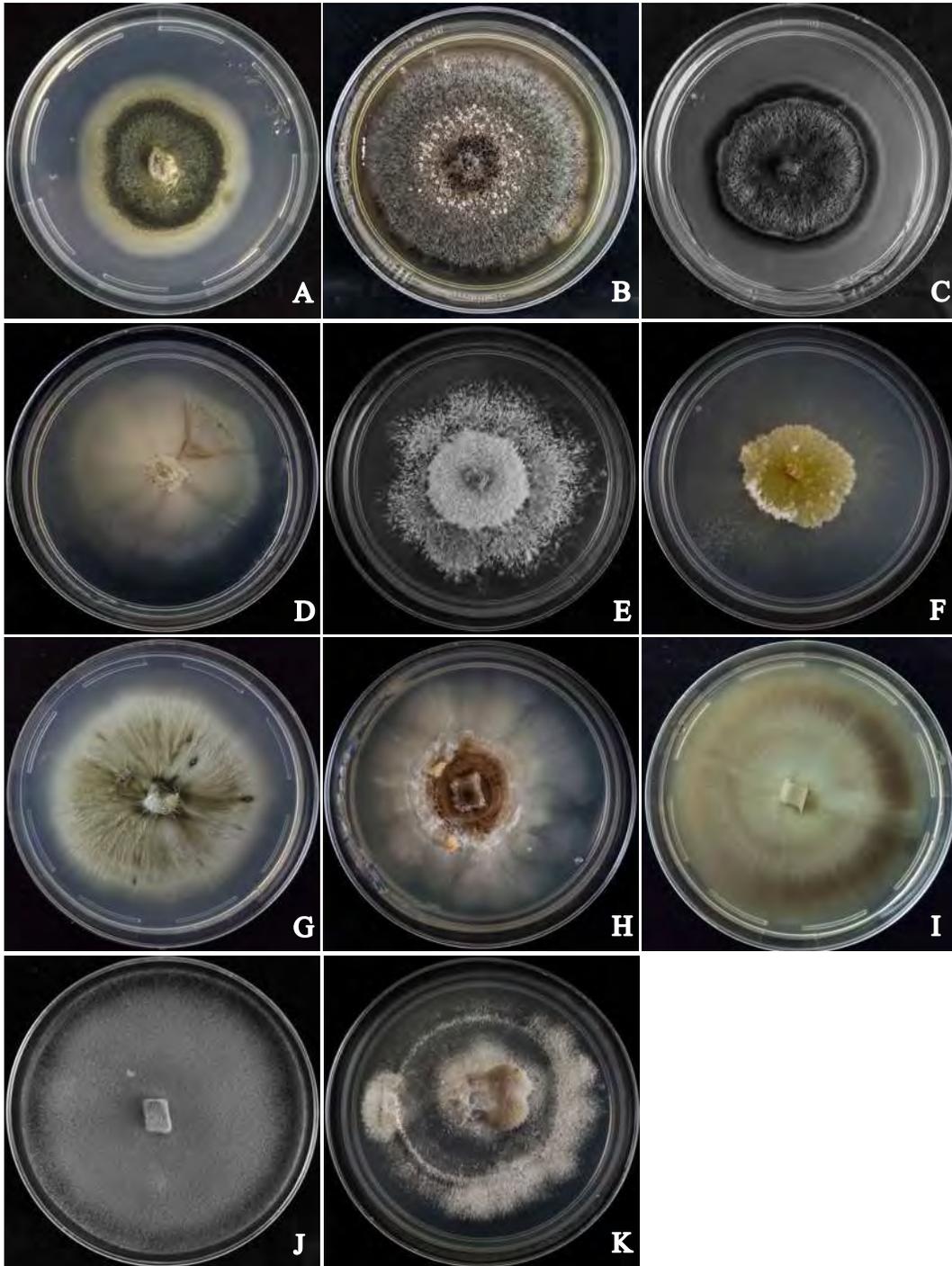


Figura 5. UTOs (Ophiostomatales e Hypocreales) identificados en las cinco especies de escarabajos procesadas. *R. arxii* (MAR21) recuperada de *X. affinis* (A), *R. brunnea* (MAR50) de *M. exornatum* (B), *R. fusca* (MAR22) de *X. affinis* (C), *R. subalba* (MAR42) de *X. affinis* y *E. segnis* (D), *Raffaelea* sp. 1 (MAR45) de *M. fimbriaticorne* (E), *Raffaelea* sp. 2 (MAR54) de *M. exornatum* (F), *Raffaelea* sp. 3 (MAR30) de *M. conversum* (G) *Raffaelea* sp. 4 (MAR41) de *E. segnis* (H), *Ceratocystiopsis* sp. (MAR38) (I), *Esteya* sp. (MAR32) (J), y *Geosmithia* sp. (MAR40) (K) de *M. conversum*. A excepción de *Geosmithia* sp. (K) que esta en papa dextrosa agar, las demás colonias están en extracto de malta agar y tienen 6 semanas de edad.

En *Monarthrum exornatum* se identificaron cuatro diferentes UTOs, dos especies de *Raffaelea*, *R. brunnea* (Fig.5) recuperada en un 46 % de los escarabajos con un promedio de 133 UFC y *Raffaelea* sp. 2 (MAR54) (Fig. 5) en 15 % de los escarabajos procesados con un promedio de 250 UTOs. Las dos especies restantes fueron dos especies de levaduras, *Wickerhamomyces* sp. (MAR53, 53a) y *Ambrosiozyma oregonensis* (MAR52) (Figura 6) con el 31 y 23 % y un promedio de UFC de 340 y 30, respectivamente.

De *Monarthrum conversum* se aisló una gran diversidad de hongos en los micangios (4 OTUs). *Raffaelea* sp. 3 (MAR29, 30, 34, 36, 37) (Fig. 5) puede ser una nueva especie dentro del género y *Ceratocystiopsis* sp. (MAR31, 33, 35, 38, 39) (Fig. 5) las cuales tuvieron una prevalencia del 67 % cada una y 153 y 68 UFC, respectivamente. Además, una especie de *Esteya* (MAR32) (Fig. 5) y una de *Geosmithia* (MAR40), tuvieron una prevalencia del 17 % cada una y 60 y 100 UFC, respectivamente.

- *Xyleborus affinis*
- *Euplatypus segnis*
- *Monarthrum conversum*
- *Monarthrum fimbriaticorne*
- *Monarthrum exornatum*

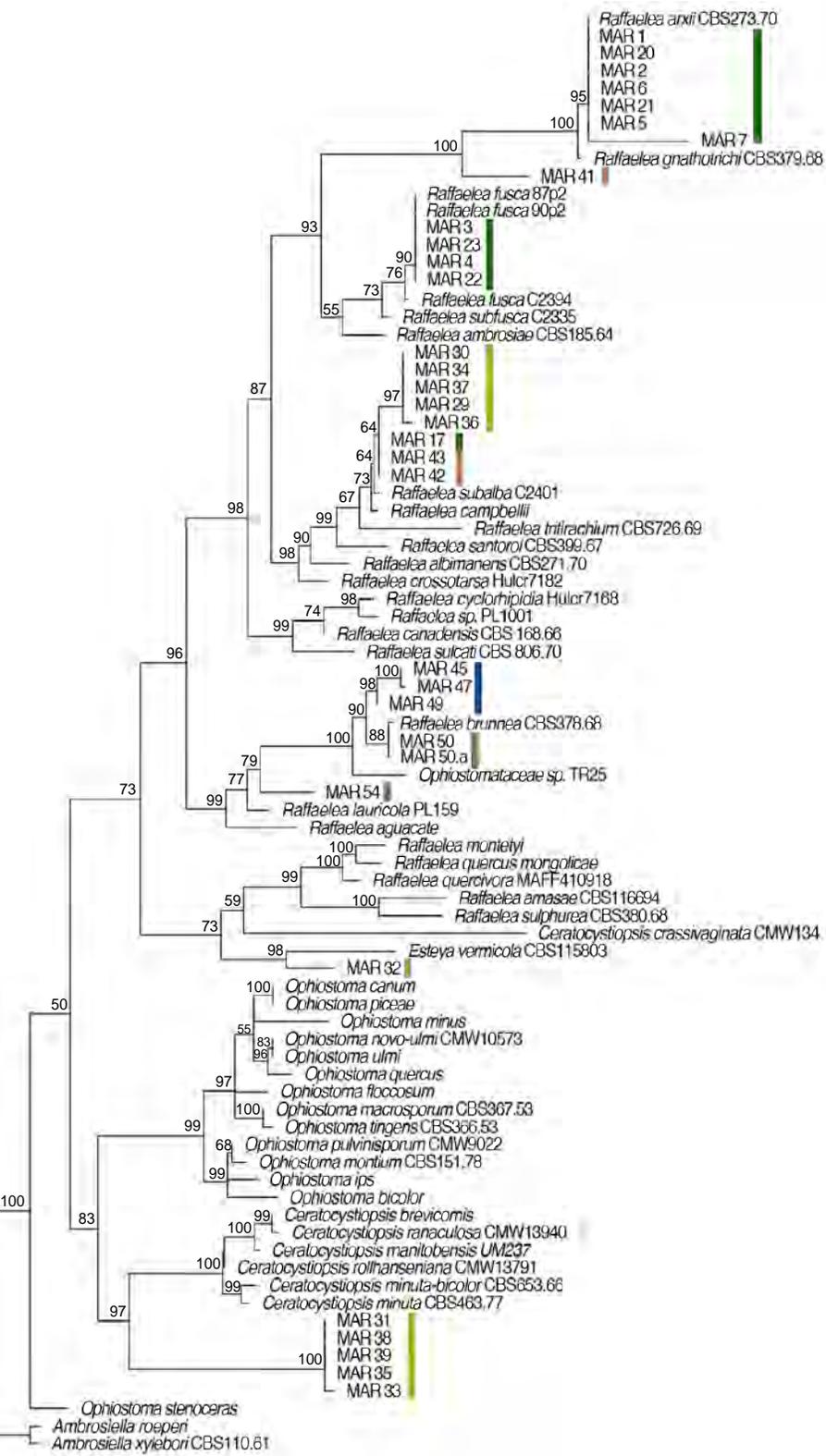


Figura 6. Arbol filogenético máxima verosimilitud de especies de *Raffaelea*, *Esteya* y *Ceratocystiopsis*, generado con secuencias parciales de LSU y SSU. Las barras de colores indican la especie de escarabajo en la que se encontró el simbiote. *Ambrosiella roeperi* y *Ambrosiella xylebori* se utilizaron como grupos externos.

Cuatro UTOs fueron encontrados en *Xyleborus affinis*, siendo *Raffaelea* el género predominante en este insecto. *Raffaelea arxii* (MAR1, 2, 5, 6, 7, 20) (Fig. 5) fue la especie más prevalente, encontrándose en el 100% de los individuos procesados, con un promedio de UFC de 709, seguido por *R. fusca* (MAR3, 4, 22, 23) (Fig. 5) aislándose 33 % de los individuos con un promedio de UFC de 808 y *R. subalba* (MAR17) (Fig. 5) en solo el 7 % de los individuos con un promedio de solo 28 UFC. Adicionalmente, la levadura *Ambrosiozyma* sp. (MAR28) (Fig. 6) fue aislada de este escarabajo con una prevalencia en 13 % de individuos y un promedio de 1,050 UFC.

Aunque solo se procesó un individuo de *Euplatypus segnis*, se encontraron dos UTOs del género *Raffaelea*. Estos fueron *R. subalba* (MAR42, 43) (Fig. 5) con un promedio de 60 UFC y la potencial nueva especie, *Raffaelea* sp. 4 (MAR41) (Fig. 5), con un promedio de 20 UFC.

En el municipio de Ario de Rosales estuvieron presentes ocho UTOs en seis géneros. *Raffaelea* (*R. brunnea*, *Raffaelea* sp. 2, *Raffaelea* sp. 3), *Ambrosiozyma*, *Ceratocystiopsis*, *Esteya*, *Geosmithia* y *Wickerhamomyces*; fue el municipio con más diversidad de hongos. En los Reyes se identificaron 4 UTOs donde solo estuvo presente el género *Raffaelea* (*R. arxii*, *R. fusca*, *R. subalba*, *Raffaelea* sp. 4). En Ziracuaretiro, se encontraron 4 UTOs en dos géneros, *Raffaelea* (*R. arxii*, *R. fusca*, *R. subalba*) y *Ambrosiozyma*. En el Municipio de Ziracuaretiro solo se identificaron 3 UTOs, *Raffaelea* (*Raffaelea* sp. 1), *Ambrosiozyma* y *Wickerhamomyces*. (Fig. 7)

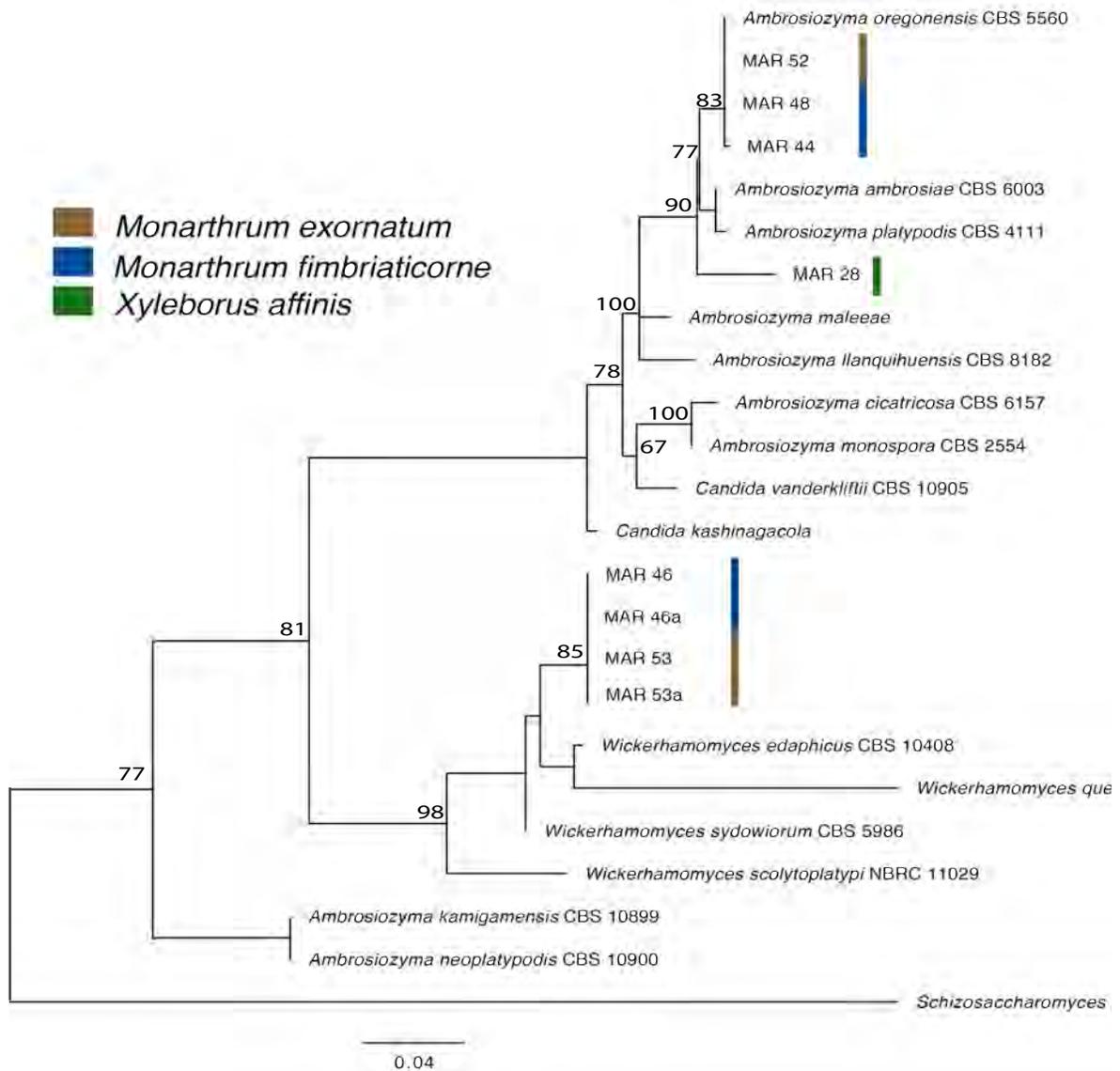


Figura 7. Árbol filogenético máxima verosimilitud de especies de *Ambrosiozyma* y *Wickerhamomyces*, generado con secuencias parciales de LSU. Las barras de colores indican la especie de escarabajo en la que se encontró el simbionte. *Schizosaccharomyces pombe* se utilizó como grupo externo.

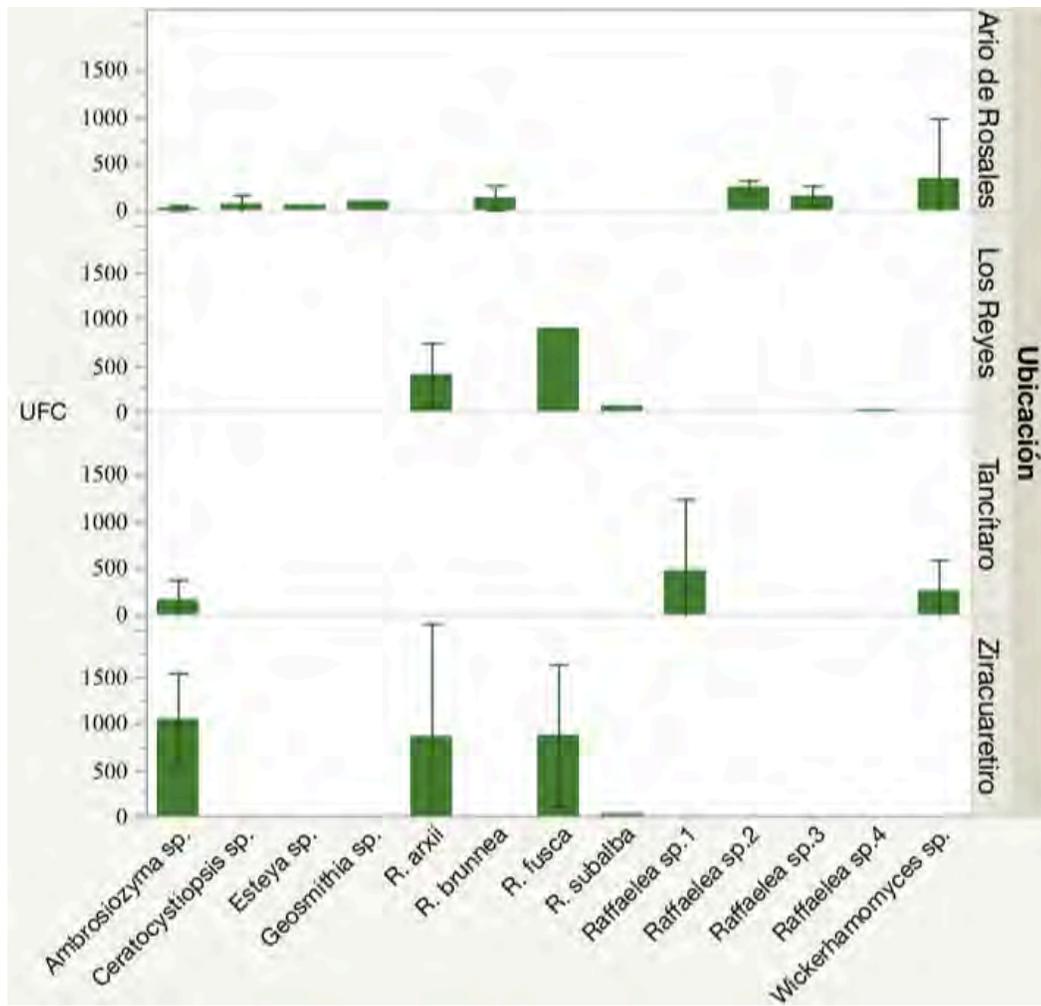


Figura 7. Media de las unidades formadoras de colonia (UFC) de los hongos simbioses asociados a especies de escarabajos ambrosiales, en 4 municipios de las región aguacatera de Michoacán. Las barras representan las desviacion estandar.

Discusión

La mayoría de los hongos ambrosiales pertenecen al orden los Ophiostomatales, Hypocreales y Microascales (Gebhardt *et al.*, 2005; Kolařík y Hulcr, 2009; Alamouti *et al.* 2009). El género *Raffaelea* perteneciente a los Ophiostomatales ha sido reportado en varias especies de escarabajos ambrosiales y es el simbionte predominante en el género *Xyleborus* (Harrington *et al.*, 2010). Recientemente, varias nuevas especies del género *Raffaelea* se han

asociado con especies de escarabajos ambrosiales poco investigadas (Campbell *et al.*, 2016; Saucedo *et al.*, 2018). Además, especies patogénicas del género *Raffaelea* son los simbioses predominantes de estos insectos (Fraedrich *et al.*, 2008).

En este estudio, se reportan las comunidades fungosas y simbioses predominantes de 50 individuos pertenecientes a tres diferentes géneros y cinco diferentes especies de escarabajos ambrosiales asociados en aguacate de Michoacán. El género *Raffaelea* estuvo presente en todas las especies de insectos de los diferentes géneros. Sin embargo, también se recuperaron diferentes especies de los géneros *Geosmithia*, *Esteya* y *Ceratocystiopsis*. Adicionalmente, se reportan diferentes especies de levadura pertenecientes a los géneros *Ambrosiozyma* y *Wickerhamomyces*.

Recientes investigaciones indicaron que el género *Raffaelea* es el simbiote predominante del género *Xyleborus* (Harrington *et al.*, 2010; Kostovcik *et al.* 2015; Saucedo *et al.*, 2017). En nuestro estudio, *X. affinis* fue el escarabajo con más especies de *Raffaelea* (*R. arxii*, *R. fusca*, *R. subalba*) aisladas de sus micangios. En adición, una especie de *Ambrosiozyma* no descrita fue recuperada de este insecto, lo cual coincide con comunidades fungosas aisladas de especies de *Xyleborus* (*X. affinis*, *X. bispinatus* y *X. volvulus*) colonizando aguacate antillano en el sur de Florida (Saucedo *et al.*, 2018). Aunque nosotros obtuvimos *X. affinis* de aguacate ‘Hass’, las comunidades fungosas de este escarabajo ambrosial fueron muy similares a las encontradas en Florida en aguacate antillano.

Debido a la prevalencia (100 %) y predominancia (709UFCs) de *R. arxii* en los micangios de *X. affinis*, nuestros resultados confirman que *Raffaelea arxii* es el simbiote primario de *X. affinis* (Scott Du Toit J. W., 1970; Saucedo *et al.*, 2017; Saucedo *et al.* 2018). Aunque Harrington *et al.* (2010) y Saucedo *et al.* (2018) recuperaron a *Raffaelea subalba* obtenida de los micangios de *Xyleborus glabratus* y *X. bispinatus* asociados con *Persea humilis*

(Silk bay) y *Persea americana*, respectivamente, nosotros lo reportamos por primera vez en *X. affinis* y *Euplatypus segnis*. Cabe resaltar que fue el único hongo que se repitió en 2 de las 5 especies de escarabajos procesadas.

En estudios anteriores realizados en *Euplatypus parallelus* (Bumrungsri *et al.*, 2008; Tarno *et al.*, 2016) y *E. segnis* (Alvidrez *et al.*, 2012) no se identificaron especies de *Raffaelea* asociadas a estos insectos o a sus galerías. No obstante, Li *et al.* (2018) reportaron una posible nueva especie de *Raffaelea* en individuos de *E. parallelus* capturados en trampas de luz en el sur de la Florida. Aunque nosotros solo procesamos un individuo de *E. segnis*, reportamos otra posible nueva especie de *Raffaelea* (MAR41). Como lo mencionan Li *et al.* (2018), es probable que en trabajos anteriores con especies de *Euplatypus* no identificaran especies de *Raffaelea* debido a que no usaron un medio selectivo como el +CSMA que permite el crecimiento de Ophiostomatales.

En el género *Monarthrum* ya se habían identificado anteriormente especies de *Raffaelea* (*R. brunnea*, especie cercana a *R. lauricola*) asociadas con *Quercus* sp. en Estados Unidos (Batra, 1967). Adicionalmente de *R. brunnea*, en este estudio reportamos diferentes especies de *Raffaelea*, algunas posiblemente nuevas especies, en micangios de escarabajos ambrosiales del género *Monarthrum*. Por ejemplo, *Raffaelea* sp. 1 asociada a *M. fimbriaticorne*, *Raffaelea* sp. 2 y *R. brunnea* a *M. exornatum* y *Raffaelea* sp. 3 asociada a *Monarthrum conversum*. Adicionalmente, recuperamos una especie del género *Esteya*, una de *Geosmithia* y una de *Ceratocystiopsis* en individuos de *M. conversum*.

Geosmithia es un género de hongos que usualmente no son patogénicos y se asocia con escarabajos descortezadores y ambrosiales que atacan los diámetros mas pequeños del árbol (Wingfield *et al.*, 1988; Kolařík and Jankowiak 2013; Kolařík *et al.*, 2017). En 2011, Kolařík *et al.* reportaron por primera vez una especie de *Geosmithia* (*G. morbida*) la cual es patogénica en

especies de *Juglans*, asociada al escarabajo *Pityophthorus juglandis* en Estados Unidos. Nosotros reportamos *Geosmithia* sp. (MAR40) como un hongo auxiliar de *Monarthrum conversum*. Adicionalmente, recuperamos una especie de *Esteya* (MAR32) como hongo asociado de *M. conversum*, especies de este género de hongos han sido asociadas a los escarabajos ambrosiales *Oxoplatypus quadridentatus* y *Myoplatypus flavicornis* en roble y pino, respectivamente, en el sureste de los Estados Unidos (Li *et al.* 2018). Además, también aislamos una especie de *Ceratocystiopsis* (MAR31, 33, 35, 38, 39), la cual ha sido reportada en *Euplatypus compositus*, *Euplatypus parallelus* y *Oxoplatypus quadridentatus* obtenidas en diferentes regiones de Estados Unidos (Li *et al.* 2018). Es necesario contar con información adicional que permita comprender el papel que desempeñan estos hongos en los micangios de *Monarthrum conversum*.

Hulcr y Stelinski (2017) sugieren que especies del género *Raffaelea* están asociadas con escarabajos que atacan las zonas del árbol que suelen ser más húmedas y con mayor diámetro. Sin embargo, esto no concuerda con nuestros resultados ya que tres especies (*Monarthrum fimbriaticorne*, *M. exornatum* y *M. conversum*) de escarabajos ambrosiales que portaban especies del género *Raffaelea* predominaron en ramas y zonas con menor humedad. Aunque estudios recientes sugieren que los escarabajos ambrosiales que portan especies de *Raffaelea* como simbiontes primarios pueden colonizar ramas de aguacate a 6 m de altura a partir del suelo (Menocal *et al.*, 2018), más información es necesaria para conocer la biología de las especies del género *Monarthrum*.

Las levaduras tienen una asociación cercana con los escarabajos ambrosiales, sin embargo, existe muy poca información del papel que desempeñan en su interacción con estos insectos (Endoh *et al.*, 2008; Saucedo *et al.*, 2018; Yun *et al.*, 2018). La mayoría de estas levaduras se encuentran en el género de *Ambrosiozyma* y han sido reportadas en África, Estados

Unidos y Japón (Endoh *et al.*, 2008; Ninomiya *et al.*, 2013; Saucedo *et al.*, 2018). En este estudio reportamos la presencia de *Ambrosiozyma* en tres especies de escarabajos ambrosiales (*Xyleborus affinis*, *Monarthrum fimbriaticorne*, *M. exornatum*) en México. El género *Wickerhamomyces* fue asociado a galerías de *Scolytoplatypus shogun* y *S. tycon* en *Fagus crenata* en Japón (Ninomiya *et al.*, 2013), mientras que en este estudio reportamos *Wickerhamomyces* en las especies de escarabajos *M. fimbriaticorne* y *M. exornatum* colonizando aguacate.

En las comunidades fungosas de micangios pre orales (*Xyleborus affinis*) se encontraron especies de dos diferentes géneros de hongos (*Raffaelea*, *Ambrosiozyma*), mientras que los hongos asociados al micangio procoxal (*Monarthrum fimbriaticorne*, *M. exornatum*, *M. conversum*) fueron más diversas y menos selectivas con especies de hongos de diferente género (*Raffaelea*, *Ceratocystiopsis*, *Esteya*, *Geosmithia*, *Ambrosiozyma*, *Wickerhamomyces*). Aparentemente, los micangios pre-oral y procoxal son menos específicos que los mesotorácicos o elitrales encontrados en escarabajos ambrosiales del género *Xylosandrus* y *Xyleborinus*, respectivamente (Kostovcik *et al.*, 2015; Ploetz *et al.*, 2016; Hulcr and Stelinski, 2017; Saucedo *et al.* 2018). Nuestros resultados coinciden con Hulcr and Stelinski (2017) ya que ellos mencionaron a *Raffaelea* y *Ambrosiozyma* como hongos asociados a micangios procoxal de especies del género *Monarthrum*. De igual manera, nuestros resultados coinciden con estudios recientes que reportan a especies de *Raffaelea* como simbiontes primarios de especies de *Xyleborus*. A pesar de que las comunidades fungosas del micangio procoxal han sido menos exploradas que las comunidades fungosas del micangio preoral, este estudio representa una de las primeras líneas de investigación acerca de la diversidad de comunidades fungosas en micangios procoxales del género *Monarthrum*.

Este reporte representa el primer estudio exhaustivo realizado para identificar las especies de hongos simbiotes asociadas a diferentes especies de escarabajos ambrosiales en México. Además, en base al análisis filogenético con el uso de dos genes (LSU and SSU) reportamos cuatro posibles nuevas especies de *Raffaelea*, una especie de *Esteya*, una de *Ceratocystiopsis* y una de *Geosmithia*, para un total de siete nuevas especies por describir. Más información de su caracterización morfológica, fisiológica y molecular es necesaria para determinar su descripción. Este trabajo abre líneas de investigación poco exploradas para conocer y describir la simbiosis mutualista entre hongos y escarabajos ambrosiales de México en un hospedero de importancia económica nativo de Mesoamérica, el aguacate. Es necesaria más investigación adicional que permita identificar el papel que juegan estas especies de hongos ambrosiales en la interacción con su hospedero y el insecto asociado.

Agradecimientos

Nuestro agradecimiento a Patricia López y Luisa Cruz de la Universidad de Florida, por el apoyo técnico. Este estudio fue realizado con el apoyo económico brindado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

Referencias

1. Alamouti, S. M., Tsui, C. K. & Breuil, C. (2009). Multigene phylogeny of filamentous ambrosia fungi associated with ambrosia and bark beetles. *Mycological Research*, 113(8), 822-835. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2009.03.003>
2. Alvidrez, R., Hernández, F. D., García, O., Mendoza, R., Rodríguez, R. & Aguilar, C. N. (2012). Isolation and pathogenicity of fungi associated to ambrosia borer (*Euplatypus segnis*) found injuring pecan (*Carya illinoensis*) wood. *Agricultural Sciences*, 3(03): 405.
3. Atkinson, T. H. & Equihua, M. A. (1986a). Biology of the Scolytidae and Platypodidae (Coleoptera) in a tropical deciduous forest at Chamela, Jalisco, México. *Florida Entomologist*, 62: 303-310.
4. Atkinson T. H. & Equihua M. A. (1986b). Biology of bark and ambrosia beetles (Coleoptera: Scolytidae and Platypodidae) of a tropical rain forest in Southeastern Mexico with an annotated checklist of species. *Annals of the Entomological Society of America*, 79: 414-423. <https://doi.org/10.1093/aesa/79.3.414>
5. Atkinson, T. H. (2012). Estado de conocimiento de la taxonomía de los escarabajos descortezadores y ambrosiales de México (Coleóptera: Curculionidae: Scolytinae). pp. 13-27. Memorias: *XVI Simposio Nacional de Parasitología Forestal*, Cuernavaca, Morelos, México.
6. Baker, J. M. & Norris, D. M. (1968). A complex of fungi mutualistically involved in the nutrition of the ambrosia beetle *Xyleborus ferrugineus*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 11(2), 246-250.
7. Batra, L. R. (1963). Ecology of ambrosia fungi and their dissemination by beetles. *Transactions of the Kansas Academy of Science* (1903), 66(2), 213-236.
8. Batra, L. R. (1967). Ambrosia fungi: a taxonomic revision, and nutritional studies of some species. *Mycologia*, 59(6), 976-1017.

9. Beaver, R. A. (1989). Insect-fungus relationships in the bark and ambrosia beetles. In Wilding, N., Collins, N., Hammond, P., & Webber, J. (Eds.). *Insect-Fungus-Interactions*, (pp. 121-143). London: Academic Press.
10. Bumrungsri, S., Beaver, R., Phongpaichit, S. & Sittichaya, W. (2008). The infestation by an exotic ambrosia beetle, *Euplatypus parallelus* (F.) (Coleoptera: Curculionidae: Platypodinae) of Angsana trees (*Pterocarpus indicus* Willd.) in southern Thailand. *Sonklanakarin Journal of Science and Technology*, 30(5), 579–582
11. Burgos, S. A., & Equihua, M. A. (2007). Platypodidae y Scolytidae (Coleóptera) de Jalisco, México. *Dugesiana*, 14: 59-82.
12. Campbell, A. S., Ploetz, R. C., Dreaden, T., Kendra, P. & Montgomery, W. (2016). Geographic variation in mycangial communities of *Xyleborus glabratus*. *Mycologia* 108, 657-667. <http://dx.doi.org/10.3852/15-133>.
13. Carrillo D., Duncan R. & Peña J.E. (2012) Ambrosia beetles (Curculionidae: Scolytinae) that breed in avocado wood in Florida. *Florida Entomology* 95:573–579. <https://doi.org/10.1653/024.095.0306>.
14. Carrillo D., Duncan E. R., Ploetz R., Campbell A. F., Ploetz R. C. & Peña J. E. (2014). Lateral transfer of a phytopathogenic symbiont among native and exotic ambrosia beetles. *Plant Pathology* 63, 54-62. <https://doi.org/10.1111/ppa.12073>
15. Castrejón J. E., Montesinos, R., Acevedo, N., Tamez, P., Ayala, M. Á., Berlanga, A. M. & Arredondo, H. C. (2017). Especies de *Xyleborus* (Coleóptera: Curculionidae: Scolytinae) asociados a huertos de aguacate en Colima, México. *Acta Zoológica Mexicana*, 33(1): 146-150.

16. Dreaden, T.J, Davis, J.M, de Beer, W.Z., Ploetz, R.C., Soltis, P., Wingfield, M. & Smith, J. (2014) Phylogeny of ambrosia beetle symbionts in the genus *Raffaelea*. *Fungal Biology*. 118:970–978. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2014.09.001>.
17. Dunn, O. J. 1964. Multiple comparisons using rank sums. *Technometrics* 6, 241-252.
18. Endoh, R., Suzuki, M. & Benno, Y. (2008). *Ambrosiozyma kamigamensis* sp. nov. and *A. neoplatypodis* sp. nov., two new ascomycetous yeasts from ambrosia beetle galleries. *Antonie van Leeuwenhoek*, 94(3), 365-376.
19. Equihua M. A. & Burgos S. A. (2002). Scolytidae. *In: Biodiversidad, Taxonomía y Biogeografía de Artrópodos de México: Hacia una síntesis de su conocimiento (Vol. III)*. D. F., México: CONABIO-IBUNAM. pp. 539-557.
20. Eskalen, A., Gonzalez, A., Wang, D. H., Twizeyimana, M., Mayorquin, J. S. & Lynch, S. C. (2012). First report of a *Fusarium* sp. and its vector tea shot hole borer (*Euwallacea fornicatus*) causing *Fusarium* dieback on avocado in California. *Plant Disease*, 96(7), 1070-1070. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-12-0276-PDN>
21. Estrada, V. A. & Atkinson, T. H. (1988). Scolytidae y Platypodidae (Coleoptera) de Escárcega, Campeche, México. Biogeografía, biología, importancia económica y una lista comentada de especies. *Anales del Instituto de Biología, Serie Zoología*, 58: 199-220.
22. Farrell B. D., Sequeira A. S, O'Meara B. C., Normark B. B., Chung J. H. & Jordal B. H. (2001). The evolution of agriculture in beetles (Curculionidae: Scolytinae and Platypodinae). *Evolution* 55: 2011–2027. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2001.tb01318.x>
23. Fraedrich, S.W., Harrington, T.C., Rabaglia, R.J., Ulyshen, M.D., Mayfield, A.E., Hanula, J.L., Eickwort J.M. & Miller D.R. (2008) A fungal symbiont of the redbay ambrosia beetle

- causes a lethal wilt in redbay and other Lauraceae in the southeastern United States. *Plant Disease*. 92: 215–224. <https://doi.org/10.1094/PDIS-92-2-0215>
24. Gebhardt, H., Weiss, M. & Oberwinkler, F. (2005). *Dryadomyces amasae*: a nutritional fungus associated with ambrosia beetles of the genus *Amasa* (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae). *Mycological Research*, 109(6), 687-696. <https://doi.org/10.1017/S0953756205002777>
25. Haanstad, J. O. & Norris, D. M. (1985). Microbial symbiotes of the ambrosia beetle *Xyloterinus politus*. *Microbial Ecology*, 11(3), 267-276.
26. Harrington, T. C. (1981). Cycloheximide sensitivity as a taxonomic character in *Ceratocystis*. *Mycologia* 73,1123–1129. <https://doi.org/10.2307/3759682>
27. Harrington, T. C., Aghayeva, D. N. & Fraedrich, S. W. (2010). New combinations in *Raffaelea*, *Ambrosiella*, and *Hyalorhinocladiella*, and four new species from the redbay ambrosia beetle, *Xyleborus glabratus*. *Mycotaxon*, 111(1), 337-361. <https://doi.org/10.5248/111.337>
28. Hoang, D.T, Chernomor, O., von Haeseler, A., Minh, B.Q. & Vinh, L. S. (2017). UFBoot2: Improving the ultrafast bootstrap approximation. *Molecular Biology and Evolution*, 35(2), 518-522. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx281>
29. Hulcr, J., Rountree, N. R., Diamond, S. E., Stelinski, L. L., Fierer, N. & Dunn, R. R. (2012). Mycangia of ambrosia beetles host communities of bacteria. *Microbial Ecology*, 64(3), 784-793. [Doi:10.1007/s00248-012-0055-5](https://doi.org/10.1007/s00248-012-0055-5)
30. Hulcr, J. & Stelinski, L. L. (2017). The ambrosia symbiosis: From evolutionary ecology to practical management. *Annual Review of Entomology*, 62, 285-303. [doi/abs/10.1146/annurev-ento-031616-035105](https://doi.org/10.1146/annurev-ento-031616-035105)

31. Justesen, A.F., Ridout, C.J. & Hovmøller, M.S. (2002) The recent history of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in Denmark as revealed by disease incidence and AFLP markers. *Plant Pathology*, 51, 13–23. <https://doi.org/10.1046/j.0032-0862.2001.00651.x>
32. Katoh, K., Rozewicki, J. & Yamada, K. D. (2017). MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. *Briefings in Bioinformatics*. <https://doi.org/10.1093/bib/bbx108>
33. Kalyaanamoorthy, S., Minh, B.Q., Wong, T.K.F., von Haeseler, A. & Jermini, L.S. (2017). ModelFinder: Fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nature Methods*. 14:587–589.
34. Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., Buxton, S., Cooper, A., Markowitz, S., Duran, C., Thierer, T., Ashton, B., Mentjies, P. & Drummond, A. (2012) Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* 28:1647–1649.
35. Kim, K. H., Choi, Y. J., Seo, S. T. & Shin, H. D. (2009). *Raffaelea quercus-mongolicae* sp. nov. associated with *Platypus koryoensis* on oak in Korea. *Mycotaxon*, 110(1), 189-197.
36. Kolařík, M. & Hulcr, J. (2009). Mycobiota associated with the ambrosia beetle *Scolytodes unipunctatus* (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae). *Mycological Research*, 113(1), 44-60. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2008.08.003>
37. Kolařík, M., Freeland, E., Utley, C. & Tisserat, N. (2011). *Geosmithia morbida* sp. nov., a new phytopathogenic species living in symbiosis with the walnut twig beetle (*Pityophthorus juglandis*) on *Juglans* in USA. *Mycologia*, 103(2), 325-332.
38. Kolařík, M., Hulcr, J., Tisserat, N., De Beer, W., Kostovčík, M., Kolaříková, Z., Seybold, S. J. & Rizzo, D. M. (2017). *Geosmithia* associated with bark beetles and woodborers in

- the western USA: taxonomic diversity and vector specificity. *Mycologia*, 109(2),185-199.
<https://doi.org/10.1080/00275514.2017.1303861>.
39. Kolařík M. & Jankowiak R. (2013). Vector affinity and diversity of *Geosmithia* fungi living on subcortical insects inhabiting Pinaceae species in Central and Northeastern Europe. *Microbial Ecology* 66:682–700. [10.1007/s00248-013-0228-x](https://doi.org/10.1007/s00248-013-0228-x)
40. Kostovcik, M., Bateman, C. C., Kolarik, M., Stelinski, L. L., Jordal, B. H. & Hulcr, J. (2015). The ambrosia symbiosis is specific in some species and promiscuous in others: evidence from community pyrosequencing. *The ISME Journal*, 9(1), 126.
<https://doi.org/10.1146/annurev-ento-031616-035105>.
41. Kok, L. T., Norris, D. M. & Chu, H. M. (1970). Sterol metabolism as a basis for a mutualistic symbiosis. *Nature* 225, 661-662. <http://dx.doi.org/10.1038/225661b0>.
42. Kubono, T. & Ito, S. I. (2002). *Raffaelea quercivora* sp. nov. associated with mass mortality of Japanese oak, and the ambrosia beetle (*Platypus quercivorus*). *Mycoscience*, 43(3), 255-260. <https://doi.org/10.1007/s102670200037>
43. Li, Y., Huang, Y. T., Kasson, M. T., Macias, A. M., Skelton, J., Carlson, P. S., Yin, M. & Hulcr, J. (2018). Specific and promiscuous ophiostomatalean fungi associated with Platypodinae ambrosia beetles in the southeastern United States. *Fungal Ecology*, 35, 42-50. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2018.06.006>.
44. Mayers, C. G., McNew, D. L., Harrington T. C., Roeper, R. A., Fraedrich, S. W., Biedermann, P. H. W., Castrillo, L. A. & Reed, S. E. (2015) Three genera in the Ceratocystidaceae are the respective symbionts of three independent lineages of ambrosia beetles with large, complex mycangia. *Fungal Biology* 119:1075–1092.
<https://doi.org/10.1016/j.funbio.2015.08.002>

45. Menocal, O., Kendra, P. E., Montgomery, W. S., Crane, J. H., & Carrillo, D. (2018). Vertical distribution and daily flight periodicity of ambrosia beetles (Coleoptera: Curculionidae) in Florida avocado orchards affected by laurel wilt. *Journal of Economic Entomology*, *111*(3), 1190-1196. <https://doi.org/10.1093/jee/toy044>
46. Mueller, U. G., Gerardo N. M., Aanen D. K., Six D. L. & Schultz, T. R. (2005). The evolution of agriculture in insects. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, *36*, 563–595. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.36.102003.152626>
47. Nguyen, L.T., Schmidt, H. A., von Haeseler, A. & Minh, B. Q. (2015) IQ-TREE: A fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum likelihood phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*. *32*, 268-274. <https://doi.org/10.1093/molbev/msu300>
48. Ninomiya, S., Mikata, K., Kajimura, H. & Kawasaki, H. (2013). Two novel ascomycetous yeast species, *Wickerhamomyces scolytoplatypi* sp. nov. and *Cyberlindnera xylebori* sp. nov., isolated from ambrosia beetle galleries. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *63*(7), 2706-2711. [10.1099/ijs.0.050195-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.050195-0)
49. O'Donnell, K., Sink, S., Libeskind-Hadas, R., Ploetz, R. C., Konkol, J.L., Ploetz, J. N., Carrillo, D., Campbell, A., Duncan, R.E., Kasson, M.T., Liyanage, P. N. H., Eskalen, A., Geiser, D. M., Hulcr, J., Bateman, C., Freeman, S., Mendel, Z., Campbell, P. R., Geering, A. D. W., Aoki, T. Cossé, A. A. & Rooney, A. P. (2015) Cophylogenetic analysis of the *Fusarium – Euwallacea* (Coleoptera: Scolytinae) mutualism suggests their discordant phylogenies are due to repeated host shifts. *Fungal Genetics and Biology*, *82*, 277–290.
50. Pérez-De la Cruz, M., Zavaleta, B. P. & De la Cruz-Pérez, A. (2015). Aproximación al conocimiento de la diversidad de Scolytinae y Platypodinae (Coleoptera: Curculionidae) asociados a selvas de Tabasco, México. *Entomotropica*, *30*(20): 201-211.

51. Pérez, M., Equihua M. A., Romero N. J., Valdez C. J. & De La Cruz, P. A. (2009). Claves para la identificación de escolitinos (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) asociados al agroecosistema cacao en el sur de México. *Boletín del Museo de Entomología de la Universidad del Valle*, 10: 14-29.
52. Ploetz, R. C., Hulcr, J., Wingfield, M. J. & De Beer, Z. W. (2013). Destructive tree diseases associated with ambrosia and bark beetles: black swan events in tree pathology?. *Plant Disease*, 97(7), 856-872. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-13-0056-FE>.
53. Ploetz, R. C., Hughes, M. A., Kendra, P. E., Fraedrich, S. W., Carrillo, D., Stelinski, L. L., Hulcr, J., Mayfield III, A. E., Dreaden, T. L., Crane, J. H., Evans, E. A., Schaffer, B. A. & Rollins, J. (2016). Recovery plan for laurel wilt of avocado, caused by *Raffaelea lauricola*. *Plant Health Progress*, 18(2), 51-77. <https://doi.org/10.1094/PHP-12-16-0070-RP>
54. Romero, N. J., Anaya, R. S., Equihua, M. A. & Mejía G. H., (1997). Lista de Scolytidae y Platypodidae de México (Insecta: Coleoptera). *Acta Zoológica Mexicana* 70:35-53.
55. Saucedo, J. R., Ploetz, R. C., Konkol, J. L., Ángel, M., Mantilla, J., Menocal, O. & Carrillo, D. (2017). Nutritional symbionts of a putative vector, *Xyleborus bispinatus*, of the laurel wilt pathogen of avocado, *Raffaelea lauricola*. *Symbiosis*, 1-10. DOI 10.1007/s13199-017-0514-3
56. Saucedo, C. J. R., Ploetz, R. C., Konkol, J. L., Carrillo, D. & Gazis, R. (2018). Partnerships Between ambrosia beetles and fungi: Lineage-Specific Promiscuity among vectors of the laurel wilt pathogen, *Raffaelea lauricola*. *Microbial Ecology*, 76(4), 1-16. <https://doi.org/10.1007/s00248-018-1188-y>

57. Scott D. B. & Du Toit J. W. (1970) Three new *Raffaelea* species. *Transactions of the British Mycological Society*, 55, 181–186. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(70\)80002-X](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(70)80002-X)
58. Silva, M. P., Martínez, A. E. & Atkinson, T. H. (2015). Identificación de las especies mexicanas del género *Xyleborus* Eichhoff, 1864 (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Insecta Mundi*.
59. Six, D. L. (2012). Ecological and evolutionary determinants of bark beetle-fungus symbioses. *Insects*, 3(1), 339-366. [doi:10.3390/insects3010339](https://doi.org/10.3390/insects3010339)
60. Tarno, H., Septia, E. D. & Aini, L. Q. (2016). Microbial community associated with ambrosia beetle, *Euplatypus parallelus* on sonokembang, *Pterocarpus indicus* in Malang. *AGRIVITA, Journal of Agricultural Science*, 38(3), 312-320.
61. Wingfield, M. J., Van Wyk, P. S. & Marasas, W. F. O. (1988). *Ceratocystiopsis proteae* sp. nov., with a new anamorph genus. *Mycologia*, 23-30.
50. Wood, S. L. (1982). The Bark and Ambrosia Beetles of North and Central America (Coleoptera: Scolytidae), a Taxonomic Monograph. *The Great Basin Naturalist Memoirs*, 6, 1-1359.
51. Yun, Y. H., Suh, D. Y., Yoo, H. D., Oh, M. H. & Kim, S. H. (2018). Yeast associated with the ambrosia beetle, *Platypus koryoensis*, the pest of oak trees in Korea. *Mycobiology*, 43(4), 458-466. <https://doi.org/10.5941/MYCO.2015.43.4.458>.

5. CONCLUSIONES

El principal objetivo de esta investigación fue identificar las especies de escarabajos ambrosiales colonizando árboles de aguacate, su patrón de ataque y los hongos simbioses asociados a las especies de escarabajos de mayor prevalencia.

En el capítulo I se identificaron y cuantificaron las incidencias de doce especies de escarabajos ambrosiales nativos de México, las especies identificadas fueron *Xyleborus affinis*, *X. volvulus*, *X. ferrugineus*, *Monarthrum conversum*, *M. exornatum*, *M. fimbriaticorne*, *Euplatypus segnis*, *E. otiosus*, *Corthylus flagellifer*, *C. detrimentosus*, *Corthylocurus aguacatensis*, *Amphicranus micidus*, y una especie nativa de África, *Premnobius cavipennis*, asociados a daños en árboles vivos de aguacate 'Hass' en Michoacán. Todos los árboles que tenían presencia de escarabajos ambrosiales, presentaron un factor primario de estrés, que fue el cancro del tronco.

Las especies de insectos encontradas desarrollaron dos patrones de ataque en los árboles de aguacate analizados. El primer patrón encontrado fue en la parte baja del árbol (tronco), en este patrón de ataque predominaron dos especies de escarabajos, *Xyleborus affinis* y *Euplatypus segnis*. El segundo patrón de ataque fue en la parte superior (ramas) del árbol donde predominaron *Monarthrum fimbriaticorne* y *M. conversum*. Es importante mencionar que los patrones se presentan por separado, nunca encontramos un árbol que tuviera los dos patrones al mismo tiempo.

En el II capítulo se procesaron cinco especies de tres diferentes géneros de escarabajos ambrosiales con diferente tipo de micangio (preoral, procoxal y pronotal). Identificamos 13 unidades taxonómicas operativas (UTOs). Diez UTOs pertenecen al orden de los Ophiostomatales y 2 UTOs a los Saccharomycetales y 1 UTOs a los Hypocreales. Ocho de los

trece UTOs son del género *Raffaelea*, dos UTOs son levaduras (*Wickerhamomyces* y *Ambrosiozyma*) y los tres UTOs restantes fueron *Ceratocystiopsis*, *Esteya*, *Geosmithia*.

Las comunidades fungosas de los micangios pre orales de *Xyleborus affinis* fueron menos diversas en cuanto a género de hongos (predominó *Raffaelea*), pero presentaron una mayor diversidad de especies (*R. arxii*, *R. fusca*, *R. subalba*), comparado con las comunidades fungosas de los micangios procoxales (*Monarthrum fimbriaticorne*, *M. exornatum* y *M. conversum*.), que no fueron tan específicos en cuanto a los géneros y las especies de hongos asociados a ellos. (*Raffaelea*, *Ceratocystiopsis*, *Esteya* y *Geosmithia*).

6. DISCUSIÓN GENERAL

Recientemente, se han intensificado los estudios para conocer la biología y diversidad de los escarabajos ambrosiales (Scolytinidae y Platyponidae) en México. Hasta ahora se tiene información sobre la taxonomía, biología y ecología de los escolitinos en México (Wood, 1982; Romero *et al.*, 1997 y Equihua y Burgos, 2002). Se han realizado estudios dirigidos a regiones específicas de México con determinados tipos de vegetación (Atkinson y Equihua, 1986a; Atkinson y Equihua, 1986b; Estrada y Atkinson, 1988; Burgos y Equihua, 2007; Pérez *et al.*, 2009; Atkinson, 2012; Pérez de la Cruz *et al.*, 2015) y se han identificado las especies de *Xyleborus* nativas de México (Silva *et al.*, 2015).

La mayoría de los escarabajos ambrosiales atacan árboles estresados (exceso de agua, sequías extremas, podas, condiciones ambientales no favorables), estos árboles liberan sustancias volátiles como el etanol que atrae a los escarabajos ambrosiales (Wood, 1982; Atkinson y Equihua, 1986a y b; Equihua y Burgos, 2002; Burgos y Equihua, 2007; Hulcr *et al.*, 2011; Alvidrez *et al.*, 2012; De la Cruz *et al.*, 2015; Hulcr y Stelinski, 2017). En esta investigación todos los árboles muestreados siempre presentaron un factor de estrés primario donde predominaron los canchales.

La presente investigación representa uno de los primeros estudios de escarabajos ambrosiales dirigido al cultivo aguacate en el estado de Michoacán, México. Por primera vez se reportan 12 especies de escarabajos ambrosiales: *Xyleborus affinis*, *X. volvulus*, *X. ferrugineus*, *Monarthrum conversum*, *M. exornatum*, *M. fimbriaticorne*, *Euplatypus segnis*, *E. otiosus*, *Corthylus flagellifer*, *C. detrimmentosus*, *Corthylocurus aguacatensis*, *Amphicranus micidus*, nativos de México y una especie introducida de África *Premnobius cavipennis* (Wood, 1982), asociados a daños en árboles vivos de aguacate 'Hass' en Michoacán.

Así mismo se reportan las comunidades fungosas y simbiotes predominantes de 50 individuos pertenecientes a 3 diferentes géneros y 5 diferentes especies de escarabajos ambrosiales asociados en aguacate en Michoacán. El género *Raffaelea* estuvo presente en todas las especies de insectos de los diferentes géneros. Sin embargo, también se recuperaron diferentes especies de los géneros *Geosmithia*, *Esteya* y *Ceratocystiopsis*. Adicionalmente, se reportan diferentes especies de levadura pertenecientes al género *Ambrosiozyma* y *Wickerhamomyces*.

En las comunidades fungosas de micangios pre oral (*Xyleborus affinis*) se encontraron especies de 2 diferentes géneros de hongos (*Raffaelea*, *Ambrosiozyma*), mientras que los hongos asociados al micangio procoxal (*Monarthrum fimbriaticorne*, *M. exornatum*, *M. conversum*) fueron más diversas y menos selectivas con especies de hongos de diferente género (*Raffaelea*, *Ceratocystiopsis*, *Esteya*, *Geosmithia*, *Ambrosiozyma*, *Wickerhamomyces*). Aparentemente, los micangios pre-oral y procoxal son menos específicos que los mesotorácicos o elitrales encontrados en escarabajos ambrosiales del género *Xylosandrus* y *Xyleborinus*, respectivamente (Kostovcik *et al.*, 2015; Ploetz *et al.*, 2016; Hulcr and Stelinski, 2017; Saucedo *et al.* 2018). A pesar de que las comunidades fungosas del micangio procoxal han sido menos exploradas que las comunidades fungosas del micangio preoral, este estudio representa una de las primeras líneas de investigación acerca de la diversidad de comunidades fungosas en micangios procoxales del género *Monarthrum*.

Este reporte representa el primer estudio exhaustivo de los hongos simbiotes asociados a diferentes especies de escarabajos ambrosiales en México. Reportamos cuatro posibles nuevas especies de *Raffaelea*, una especie de *Esteya*, una de *Ceratocystiopsis* y una de *Geosmithia*, para un total de 7 nuevas especies por describir.

Esta investigación abre líneas de estudio poco exploradas para conocer la simbiosis mutualista entre hongos y escarabajos ambrosiales de México en un hospedero de importancia económica nativo de Mesoamérica, el aguacate. Es necesaria más investigación para determinar el rol que juegan estas especies de escarabajos ambrosiales y sus hongos simbiontes en su interacción con su hospedero. Investigaciones futuras acerca de su patogenicidad deberán ser realizadas.

Referencias

1. Alvidrez, R., Hernández, F. D., García, O., Mendoza, R., Rodríguez, R. y Aguilar, C. N. (2012). Isolation and pathogenicity of fungi associated to ambrosia borer (*Euplatypus segnis*) found injuring pecan (*Carya illinoensis*) wood. *Agricultural Sciences*, 3(03), 405.
2. Atkinson, T. H. y Equihua, M. A. (1986a). Biology of the Scolytidae and Platypodidae (Coleoptera) in a tropical deciduous forest at Chamela, Jalisco, México. *Florida Entomologist*, 62, 303-310.
3. Atkinson T. H. y Equihua M. A. (1986b). Biology of bark and ambrosia beetles (Coleoptera: Scolytidae and Platypodidae) of a tropical rain forest in Southeastern Mexico with an annotated checklist of species. *Annals of the Entomological Society of America*, 79, 414-423. <https://doi.org/10.1093/aesa/79.3.414>
4. Atkinson, T. H. (2012). Estado de conocimiento de la taxonomía de los escarabajos descortezadores y ambrosiales de México (Coleóptera: Curculionidae: Scolytinae). pp. 13-27. Memorias: *XVI Simposio Nacional de Parasitología Forestal*, Cuernavaca, Morelos, México.
5. Burgos, S. A. y Equihua, M. A. (2007). Platypodidae y Scolytidae (Coleóptera) de Jalisco, México. *Dugesiana*, 14, 59-82.
6. Carrillo, D., Duncan, R. E. y Peña, J. E. (2012). Ambrosia beetles (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) that breed in avocado wood in Florida. *Florida Entomologist*, 95(3), 573-579. <https://doi.org/10.1653/024.095.0306>
7. Chang, V. C. (1993). Macadamia quick decline and *Xyleborus* beetles (Coleoptera: Scolytidae). *International Journal of Pest Management*, 39(2), 144-148.
8. De La Cruz, M. P., Bastar, P. G. Z. y Pérez, A. D. L. C. (2015). Aproximación al conocimiento de la diversidad de Scolytinae y Platypodinae (Coleóptera: Curculionidae) asociados a selvas de Tabasco, México. *Entomotropica*, 30, 201-211.

9. Equihua M. A. y Burgos S. A. (2002). Scolytidae. *In*: Biodiversidad, Taxonomía y Biogeografía de Artrópodos de México: Hacia una síntesis de su conocimiento (Vol. III). D. F., México: CONABIO-IBUNAM. pp. 539-557.
10. Endoh, R., Suzuki, M. y Benno, Y. (2008). *Ambrosiozyma kamigamensis* sp. nov. and *A. neoplatypodis* sp. nov., two new ascomycetous yeasts from ambrosia beetle galleries. *Antonie van Leeuwenhoek*, 94(3), 365-376.
11. Estrada, V. A. y Atkinson, T. H. (1988). Scolytidae y Platypodidae (Coleoptera) de Escárcega, Campeche, México. Biogeografía, biología, importancia económica y una lista comentada de especies. *Anales del Instituto de Biología, Serie Zoología*, 58, 199-220.
12. Hulcr, J., y Dunn, R. R. (2011). The sudden emergence of pathogenicity in insect–fungus symbioses threatens naive forest ecosystems. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 278(1720), 2866-2873. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2011.1130>.
13. Hulcr, J., y Stelinski, L. L. (2017). The ambrosia symbiosis: From evolutionary ecology to practical management. *Annual Review of Entomology*, 62, 285-303. [doi/abs/10.1146/annurev-ento-031616-035105](https://doi.org/10.1146/annurev-ento-031616-035105).
14. Kostovcik, M., Bateman, C. C., Kolarik, M., Stelinski, L. L., Jordal, B. H., Hulcr, J. (2015). The ambrosia symbiosis is specific in some species and promiscuous in others: evidence from community pyrosequencing. *The ISME journal*, 9(1), 126. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-031616-035105>
15. Morales, N. E., Cola Zanuncio, J., Pratissoli, D., y Fabres, A. S. (2000). Fluctuación poblacional de Scolytidae (Coleoptera) en zonas reforestadas con *Eucalyptus grandis* (Myrtaceae) en Minas Gerais, Brasil. *Revista de Biología Tropical*, 48(1), 101-107.
16. Pérez, M., Equihua M. A., Romero N. J., Valdez C. J., De La Cruz, P. A. (2009). Claves para la identificación de escolitinos (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) asociados al

- agroecosistema cacao en el sur de México. *Boletín del Museo de Entomología de la Universidad del Valle*, 10, 14-29.
17. Pérez-De la Cruz, M., Zavaleta, B. P., y De la Cruz-Pérez, A. (2015). Aproximación al conocimiento de la diversidad de Scolytinae y Platypodinae (Coleoptera: Curculionidae) asociados a selvas de Tabasco, México. *Entomotropica*, 30(20), 201-211.
18. Ploetz, R. C., Hughes, M. A., Kendra, P. E., Fraedrich, S. W., Carrillo, D., Stelinski, L. L., Hulcr, J., Mayfield III, A. E., Dreaden, T. L., Crane, J. H., Evans, E. A., Schaffer, B. A., Rollins, J. (2016). Recovery plan for laurel wilt of avocado, caused by *Raffaelea lauricola*. *Plant Health Progress*, 18(2), 51-77. <https://doi.org/10.1094/PHP-12-16-0070-RP>
19. Rangel, R., Pérez, M., Sánchez, C. S. y Capello, S. (2012). Fluctuación poblacional de *Xyleborus ferrugineus* y *X. affinis* (Coleoptera: Curculionidae) en ecosistemas de Tabasco, México. *Revista de Biología Tropical*, 60, 1577-1588.
20. Romero, N. J., Anaya, R. S., Equihua, M. A., y Mejía G. H., (1997). Lista de Scolytidae y Platypodidae de México (Insecta: Coleoptera). *Acta Zoológica Mexicana* 70, 35-53.
21. Saucedo, C. J. R., Ploetz, R. C., Konkol, J. L., Carrillo, D. y Gazis, R. (2018). Partnerships Between Ambrosia Beetles and Fungi: Lineage-Specific Promiscuity Among Vectors of the Laurel Wilt Pathogen, *Raffaelea lauricola*. *Microbial ecology*, 1-16. <https://doi.org/10.1007/s00248-018-1188-y>
22. Silva, M. P., Martínez, A. E., & Atkinson, T. H. (2015). Identificación de las especies mexicanas del género *Xyleborus* Eichhoff, 1864 (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Insecta Mundi*.

23. Wood, S. L. (1982). The Bark and Ambrosia Beetles of North and Central America (Coleoptera: Scolytidae), a Taxonomic Monograph. Brigham Young University. *Provo, Utah, United State of North America.*
24. Yun, Y. H., Suh, D. Y., Yoo, H. D., Oh, M. H., Kim, S. H. (2018). Yeast associated with the ambrosia beetle, *Platypus koryoensis*, the pest of oak trees in Korea. *Mycobiology*, 43(4), 458-466. <https://doi.org/10.5941/MYCO.2015.43.4.458>.