

Fungal symbiotic associations of the ambrosia beetle *Euwallacea nr. fornicatus*

Authors: Luisa F. Cruz¹, and Daniel Carrillo¹.

¹Tropical Research and Education Center, University of Florida 18905 SW 280th St, Homestead, FL 33031

Abstract: Members of a complex of cryptic species, corresponding morphologically to the ambrosia beetle *Euwallacea fornicatus* (Eichhoff) (Coleoptera: Curculionidae), were recently found attacking avocado (*Persea americana* Mill.) in Israel and California. In 2016, an outbreak of another member of this complex was detected infesting avocado trees in an avocado orchard at Homestead, Florida. An area-wide survey, conducted in commercial avocado groves of Miami-Dade County, Florida, identified *E. nr. fornicatus* sp #2 and their fungal associates: an unknown *Fusarium* sp., *Ambrosia fusarium*-8 (AF-8), AF-6, *Graphium* sp., *Acremonium* sp. and *Acremonium morum*. Three experimental approaches were used to understand the symbiotic relationship of *E. fornicatus* and its fungal associates: i) Survival and development of *E. fornicatus* larvae reared on individual cultures of the aforementioned symbionts, ii) Rearing of *E. fornicatus* on avocado sawdust media inoculated with the individual symbionts, iii) Production of *E. fornicatus* lines carrying a single *Fusarium* spp. symbiont. The larger percentage of larvae reaching adulthood was observed for *Fusarium* sp. (68%), and AF-8 (57%), followed by *A. morum* (36%) and *Graphium* sp. (36%), while no individuals were able to survive on *Acremonium* sp. The beetle's reproduction was greatly affected by the presence of the three *Fusarium* spp. inoculated in the rearing media; reducing the numbers of offspring up to 40% compared the non-inoculated control. Contrarily, *Graphium* and *Acremonium* spp. treatments produced offspring numbers comparable to the control. Evaluation of the beetle mono-symbiont lines of the three *Fusarium* spp. indicated a slight reduction in the offspring caused by *Fusarium* sp. and AF-8, and a larger reduction by AF-6. These results indicate that *Fusarium* sp. and AF-8 play a key role as a food source for *E. nr. fornicatus* sp #2 ,especially for the development of immature stages, although they also show flexibility, reflected in their ability to develop, with less success, feeding on the other symbionts.

Resumen: Miembros del complejo de especies cripticas, que morfológicamente corresponden con el escarabajo ambrosial *Euwallacea fornicatus* (Eichhoff) (Coleoptera: Curculionidae), fueron encontradas recientemente atacando árboles de aguacate en Israel y California. En 2016 un brote de otro miembro perteneciente a este complejo fue detectado infestando árboles de aguacate en huerto en Homestead, Florida. Un sondeo conducido el área de producción comercial de aguacate en el condado de Miami-Dade identificó a la especie *E. nr. fornicatus* sp #2 y a sus hongos asociados: una especie desconocida de *Fusarium* sp., AF-8, AF-6, *Graphium* sp., *Acremonium* sp. and *Acremonium morum*. Para entender la relación simbiótica de *E. fornicatus* y sus especies de hongos asociados tres enfoques experimentales fueron establecidos: i) Análisis de la supervivencia y desarrollo de larvas criadas en cultivos individuales de los simbiontes mencionados anteriormente, ii) Crianza de los escarabajos en medio inoculados individualmente con los simbiontes, iii) Producción de líneas de *E. fornicatus* cargando exclusivamente una de las especies de *Fusarium*. El mayor porcentaje de larvas que alcanzo la adultez fue observado en *Fusarium* sp. (68%), y AF-8 (57%), seguidos por *A. morum* (36%) y *Graphium* sp. (36%), mientras ningún individuo fue capaz de sobrevivir en *Acremonium* sp. La reproducción de los escarabajos fue afectada en gran medida por la presencia de las tres especies de *Fusarium* in el medio de crianza, reduciendo la producción de progenie hasta en un 40% comparado con el medio no inoculado utilizado como control. Al contrario, los tratamientos de *Graphium* y *Acremonium* spp. produjeron progenies comparables al control. La evaluación de las líneas de escarabajos monosimbióticas de las tres especies de *Fusarium* indicaron una pequeña reducción en la producción de progenie para *Fusarium* sp. y AF-8 y una mayor reducción para AF-6. Estos resultados indican que *Fusarium* sp. y AF-8 tienen

un papel crucial como fuente de alimento para el escarabajo. Sin embargo, también muestran flexibilidad, siendo capaz de desarrollarse, con menor éxito, alimentándose de sus otros simbiontes.