

# THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

En ECOLOGIE, EVOLUTION, RESSOURCES GENETIQUES, PALEOBIOLOGIE (EERGP)

École doctorale GAIA

Unité de recherche UR 629 – ECOLOGIE DES FORETS MEDITERRANEENNES, INRA, PACA, AVIGNON

## Diversité des Scolytes (Coléoptère : Curculionidae : Scolytinae) et de leurs champignons associés dans l'écosystème forestier d'Equateur

Présentée par Malena MARTINEZ CHEVEZ

Le 17 Juillet 2019

Sous la direction de Mme Sylvie MURATORIO  
et M. Thomas BOIVIN

Devant le jury composé de

Mme Maria NAVAJAS, Directrice de Recherche, UMR CBGP, Montpellier

Mme Stéphanie BANKHEAD-DRONNET, Maître de Conférences, Université d'Orléans

M. Christophe BOUGET, Ingénieur-Chercheur, IRSTEA Nogent-sur-Vernisson

Mme Marie-Anne AUGER-ROZENBERG, Directrice de Recherche, INRA URZF Centre Val de Loire

Mme Sylvie MURATORIO, Directrice de recherche, INRA URFM, Centre PACA

M. Thomas BOIVIN, Chargé de Recherche, INRA URFM, Centre PACA

Président

Rapporteur

Rapporteur

Examinatrice

Directrice de thèse

Co-directeur de thèse



UNIVERSITÉ  
DE MONTPELLIER

## Remerciements

Après plus de trois années de travail pour réaliser ma thèse, je remercie toutes les personnes qui ont contribué à ma formation professionnelle et personnelle.

Un grand merci à Mr. Thomas Boivin, pour m'avoir accompagnée dans le développement de ce travail de recherche, pour la contribution scientifique apportée durant toute la durée de cette thèse et pour m'avoir toujours encouragée. Je souhaite également remercier Mme Sylvie Muratorio d'avoir bien voulu accepter d'être ma directrice de thèse à l'Unité de Recherches Ecologie des Forêts Méditerranéennes (URFM) de l'INRA du centre PACA, Avignon.

Merci à l'URFM pour son accueil et pour m'avoir soutenue dans la finalisation de ce travail de recherche.

Je remercie Mme Stéphanie Bankhead-Dronnet, Mme Marie-Anne Auger-Rozenberg, Mme Maria Navajas et Mr Christophe Bouget d'avoir accepté de faire partie de mon jury.

Je remercie Mr Doyle McKey pour ses conseils pertinents et ses encouragements lors de mes comités de suivi de thèse.

Un grand merci à Mr. Wills Flowers, qui m'a fait découvrir le monde des insectes et qui m'a encouragé à travailler dans ce domaine professionnel. Je lui dois en partie cette thèse. Merci aussi à Dr. Anthony Cognato, à Dra. Sarah Smith et à Dr. Craig Bateman toujours disponibles pour me transmettre leur expérience et leurs connaissances.

Merci à Marcelino Guachambala, Jane Sloan, et l'INIAP pour le soutien indispensable à la réalisation de cette thèse. Merci également à Mmes et Mrs Jonathan Chevez, Luis Cedeño, Andrés Zambrano, Alexis Cáliz, Genesis Bazarro, Shirley Murillo, Mauricio Villón qui m'ont beaucoup aidée lors du travail de terrain et en laboratoire. Merci aussi aux collègues Mmes et Mrs Mercedes Carranza, Elias Cuasquer, Jessenia Castro et Cliff Keil pour leur aide et leur disponibilité.

Un spécial merci à ma famille: ma fille Milena, mes parents à qui je dédie ce travail, à mes frères et sœurs, à toi aussi Michel. Vous m'avez toujours encouragée et suivie.

# Sommaire

<b>INTRODUCTION GENERALE</b> .....	6
<b>1. LES ECOSYSTEMES FORESTIERS D'EQUATEUR</b> .....	7
1.1 Les forêts naturelles .....	8
1.2 Une ressource économique forestière majeure pour l'Equateur: le balsa ( <i>Ochroma pyramidale</i> (Cav. ex Lam.) Urb., 1920) .....	8
<b>2. DIVERSITE ENTOMOLOGIQUE DANS LES FORETS D'EQUATEUR</b> .....	10
2.1 Une diversité considérable dans les forêts naturelles, mais beaucoup d'inconnues .....	10
2.2 Des insectes ravageurs dans les plantations forestières.....	11
2.3 Une sous-famille d'intérêt particulier: les Scolytinae (Coleoptera: Curculionidae).....	12
<b>3. LES SCOLYTES, UN GROUPE MAJEUR PAR SA DIVERSITE ET SES IMPACTS SUR LES POPULATIONS D'ARBRES</b> .....	13
3.1 Herbivorie chez les scolytes .....	13
3.2 Conséquences de l'herbivorie des scolytes sur leurs hôtes.....	15
3.3 Stratégies de reproduction .....	16
<b>4. LES ASSOCIATIONS SYMBIOTIQUES SCOLYTES – CHAMPIGNONS : UNE PARTICULARITE DES SCOLYTES A AMBROSIA</b> .....	17
4.1 Symbiose sous-corticale .....	17
4.2 Les champignons ambrosia associés aux scolytes .....	18
4.3 Conséquences des champignons ambrosia sur la santé des arbres .....	19
<b>5. PROBLEMATIQUE, OBJECTIFS ET STRUCTURE DE LA THESE</b> .....	20
<b>CHAPITRE I.</b> Approche comparative des communautés des scolytes dans deux forêts naturelles et dans une plantation forestière.....	23
<b>Article 1:</b> Martinez M., A.I. Cognato, M. Guachambala and T. Boivin. 2019. Bark and ambrosia beetle (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) diversity in natural and plantation forests in Ecuador. Environmental Entomology. In press.....	24
<b>CHAPITRE II.</b> Biologie, dynamique et impact des populations d'un scolyte ravageur des plantations commerciales de balsa en Equateur, <i>Coptoborus ochromactonus</i> .....	35
<b>Article 2:</b> Castro J., S.M. Smith, A.I. Cognato, D. Lanfranco, M. Martinez and M. Guachambala. 2019. Life cycle and development of <i>Coptoborus ochromactonus</i> (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), a pest of balsa. Journal of Economic Entomology. 112: 729-735.....	38
<b>Article 3.</b> Martinez M., A.I. Cognato, M. Guachambala, J.P. Urdanigo and T. Boivin. 2019. Effects of climate and host age on flight activity, prevalence and intensity of infestations by <i>Coptoborus ochromactonus</i> Smith and Cognato (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) in commercial balsa plantations of Ecuador. Soumis à Journal of Economic Entomology, le 08 avril 2019.....	46

<b>CHAPITRE III. Les champignons ambrosia associés au genre <i>Xyleborus</i> dans une forêt naturelle et dans une plantation forestière en Equateur .....</b>	<b>58</b>
<b>Article 4 (en préparation):</b> Martinez M., A.I. Cognato, C. Bateman, J. Castro and T. Boivin. Prévalence et abondance de <i>Raffaelea</i> sp. nr. <i>arxii</i> et <i>Fusarium ambrosium</i> chez différents espèces de <i>Xyleborus</i> dans une forêt naturelle et dans une plantation forestière en Equateur	59
<b>PERSPECTIVES .....</b>	<b>74</b>
Vers un approfondissement des connaissances sur la diversité et les associations symbiotiques des Scolytinae d'Equateur.....	75
Vers une amélioration de la gestion du risque <i>Coptoborus ochromactonus</i> dans les plantations forestières commerciales d'Equateur .....	79
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>83</b>
<b>ANNEXES .....</b>	<b>97</b>

**Article 1.** Martinez M., A.I. Cognato, M. Guachambala and T. Boivin. 2019. Bark and ambrosia beetle (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) diversity in natural and plantation forests in Ecuador. *Environmental Entomology*. 48: 603 -613.

**Article 2:** Castro J., S.M. Smith, A.I. Cognato, D. Lanfranco, M. Martinez and M. Guachambala. 2019. Life cycle and development of *Coptoborus ochromactonus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), a pest of balsa. *Journal of Economic Entomology*. 112: 729-735.

**Article 3.** Martinez M., A.I. Cognato, M. Guachambala, J.P. Urdanigo and T. Boivin. 2019. Effects of climate and host age on flight activity, prevalence and intensity of infestations by *Coptoborus ochromactonus* Smith and Cognato (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) in commercial balsa plantations of Ecuador. Soumis à la revue *Journal of Economic Entomology*.

**Article 4:** Martinez M., A.I. Cognato, C. Bateman, J. Castro and T. Boivin. 2019. Prévalence et abondance de *Raffaelea* sp. nr. *arxii* et *Fusarium ambrosium* chez différents espèces de *Xyleborus* dans une forêt naturelle et dans une plantation forestière en Equateur. Manuscrit en préparation.

\* **Article 5:** Bateman C., J. Skelton, M. Martinez, R. Osborn, S. Smith, M. Kasson, J.H. Park, A. Lucky, A. Cognato and J. Hulcr. 2019. Patterns in fungal symbiont fidelity and maintenance across nine evolutionary origins of the ambrosia symbiosis in beetles (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). Manuscrit en préparation.

\* **Article 6:** Martínez M., J. Castro, R. Villamar, M. Carranza, J. Muñoz, E. Jiménez, M. Guachambala, M. Heredia, L. Garcia and S. Jazayeri. 2017. Evaluation of the diversity of Scolitids (Coleoptera: Curculionidae) in the forest plantations of the central zone of the Ecuadorian littoral. *Ciencia y Tecnología*. 10: 25–32

\* **Article 7:** Castro J., D. Lanfranco, M. Martínez, M. Guachambala, C. Belezaca and A. Obrebska. 2017. Ataque de *Coptoborus ochromactonus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) en plantaciones de *Ochroma pyramidale* (Cav.ex Lam.). *Ciencia y Tecnología*. 10: 19–23

\* Les articles marqués d'une étoile ne se trouve pas dans la thèse.

## **INTRODUCTION GENERALE**

## 1. LES ECOSYSTEMES FORESTIERS D'EQUATEUR

L'Equateur est l'un des pays comportant les indices de biodiversité les plus élevés dans le monde. D'une surface d'environ 256 370 km<sup>2</sup>, le territoire équatorien regroupe quatre régions: le littoral, les Andes, l'Amazonie et l'île Galápagos. Du fait de sa position géographique et de sa topographie montrant un fort gradient altitudinal, ce pays possède un climat sous forte influence de courants océaniques froid (courant de Humboldt) et chaud (lié au phénomène El Niño) et de la Cordillère des Andes. Il abrite de ce fait une variété impressionnante d'écosystèmes, ce qui a permis un niveau de diversification d'espèces animales et végétales remarquable à cette échelle géographique (Cuesta et al. 2017).

La surface forestière totale en Equateur est d'environ 12 793 462 hectares (45% de la surface du pays), dont 98,5% sont des forêts naturelles primaires ou secondaires (MAG 2016), alors que seulement 1,5% sont des plantations commerciales forestières (Weber et al. 2013). Une grande partie des écosystèmes naturels a été régénérée naturellement suite à une perturbation, telle qu'une tempête, un incendie ou les activités anthropiques. La forêt primaire se distingue de la forêt secondaire par sa surface suffisamment importante pour conserver ses caractéristiques originelles, et parce qu'elle n'a pas subi d'interventions humaines importantes depuis suffisamment longtemps pour ne présenter plus aucune forme d'impact anthropique dans sa composition et son fonctionnement. La forêt secondaire porte encore les traces d'activités humaines de plus ou moins long terme et montre encore les signes de perturbations anthropiques (Velazques 2014). Sur le littoral équatorien pratiquement 70% de la végétation naturelle originelle a été défrichée ou gravement fragmentée (Cuesta et al. 2017). Les changements d'usages des sols avec la monoculture d'arbres, l'agriculture ou l'élevage du bétail, se traduisent continuellement par une déforestation massive (Asner et al. 2010), d'un taux moyen annuel estimé à 1,81% pour la période de 2000-2015 (World Bank 2015). La conséquence majeure de ces processus de fragmentation des forêts est une disparition d'habitats clés qui affecte particulièrement la biodiversité, dont les communautés d'insectes, qui peuvent montrer des espèces en déclin ou

l'émergence de nouvelles espèces natives ou exotiques dommageables pour l'économie et la santé des forêts (Velazques 2014).

### 1.1 Les forêts naturelles

En Equateur, les forêts humides tropicales sont généralement des forêts denses caractérisées par un climat humide, des sols argileux, une forte biomasse aérienne des arbres et une forte productivité des sols (Cuesta et al. 2017). La température moyenne annuelle est de 25,1 °C, avec une précipitation moyenne annuelle d'environ 2086 mm (Velazques 2014). Elles constituent notamment de formidables réserves d'eau en contrôlant l'évapotranspiration et en interceptant près d'un quart des pluies et des brouillards (Dangles et Nowicki 2010). Elles forment les écosystèmes les plus riches en espèces du pays, la diversité des arbres y est très élevée avec plus de 100 espèces par hectare (Velazques 2014), dont nombre d'entre elles peut atteindre une trentaine de mètres, et auxquelles sont associées en abondance des lianes et des épiphytes (Velazques 2014). Les familles d'arbres les plus communes sont Lauraceae, Lecythidaceae, Crhysobalanaceae, Arecaceae, Euphorbiaceae, Anacardiaceae, Boraginaceae, Moraceae, Cecropiaceae, Bombacaceae et Burseraceae (Lucky et al. 2002).

Les forêts tropicales équatoriennes montrent donc une hétérogénéité spatiale marquée qui permet une grande diversification de niches écologiques végétales, favorisant à leur tour des communautés d'oiseaux, de mammifères, de champignons et d'insectes très riches en espèces (Velazques 2014).

### 1.2 Une ressource économique forestière majeure pour l'Equateur: le balsa (*Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urb., 1920)

Le balsa appartient au genre monospécifique *Ochroma* et à la famille des Malvaceae. Cet arbre est originaire d'Amérique Latine et sa distribution s'étend du sud du Mexique jusqu'au Brésil (Francis 1991). Sa culture en plantations s'est par la suite étendue aux Philippines, à l'Inde, au Sri Lanka, à la Malaisie, à Java, au sud de



la Chine, à la Papouasie-Nouvelle-Guinée, à l’Afrique tropicale et à l’Australie. Au Cameroun, on le trouve en dehors des plantations dans des forêts secondaires claires (Brink 2008). En Equateur, la province de Los Rios située dans l’ouest de pays, est l’une des régions les plus productives pour la culture du balsa (Cedeño et Flowers 2012). Le balsa produit le bois le plus léger au monde, avec un poids spécifique de 0,22 g/cm<sup>3</sup> et légèrement résistant à la traction (Castro 2016). Ce matériau est largement utilisé dans la construction de pales d’éoliennes et aussi dans le modélisme naval et aérien, l’isolation, les flotteurs, les ceintures de sauvetage, les planches de surf. La bourre du fruit se prête au remplissage des oreillers et des matelas (Brink 2008).

L’Equateur est le premier pays producteur et exportateur mondial de bois de balsa, et l’industrie qui lui est associée est devenue un véritable moteur économique. En 2010, environ 794 447 m<sup>3</sup> de bois ont été commercialisés à l’échelle mondiale (Arias et Robles 2011), et en 2016 l’Equateur a fourni plus de 76% de la production du balsa mondiale avec pour principaux pays de destination la Chine (33% des exportations), les Etats-Unis (25%) et le Brésil (14%) (Jativa 2017). En 2010, la surface des plantations de balsa en Equateur était de 20 000 ha (Gonzalez Osorio et al. 2010). Ces dernières années, 4300 ha supplémentaires ont été plantées uniquement grâce aux incitations gouvernementales suite à une demande élevée du marché (MAG 2018). Cependant ces chiffres ne prennent pas en compte les nouvelles surfaces établies par les agriculteurs car elles n’ont pas encore été recensées.

Le balsa est une essence héliophile, de pleine lumière exigeant une forte insolation, et sa croissance est extrêmement rapide en Equateur grâce à des conditions géographiques, climatiques, hydrographiques et orographiques très favorables. En effet, un individu peut atteindre entre 20 - 30 mètres de haut et 50 - 90 cm de diamètre en seulement 5 à 6 années, pour une faible épaisseur d’écorce (de 0,5 à 1 cm). Le balsa a un mode de reproduction sexuée, via des fleurs hermaphrodites pollinisées par les chauves-souris et des graines dispersées par le vent. Cet arbre montre d’excellentes capacités de régénération dans toute son aire de répartition naturelle, c’est une espèce pionnière abondante.

Le bois de balsa peut être récolté dès l'âge de 5 à 6 ans (Francis 1991), cependant on observe une tendance à la récolte entre 3 et 4 ans selon l'état sanitaire des individus. Il peut être exploité dans des plantations commerciales et dans les peuplements naturels, grâce à son adaptabilité à différents type de sols et à sa capacité d'auto-élagage, en réponse à la compétition pour la lumière en fortes densités. La méthode la plus courante utilisée pour l'établissement d'une plantation consiste à planter des semis cultivés en pépinière, bien que les graines puissent être semées directement au champ. Il n'y a actuellement aucune connaissance sur la variabilité génétique du balsa, mais sa vaste distribution en Amérique Centrale et du Sud et ses variations morphologiques suggèrent que des caractères liés à la croissance, la forme, la densité du bois ou la résistance aux parasites et aux maladies présentent une forte variabilité génétique (Midgley et al. 2010).

## **2. DIVERSITE ENTOMOLOGIQUE DANS LES FORETS D'EQUATEUR**

### **2.1 Une diversité considérable dans les forêts naturelles, mais beaucoup d'inconnues**

L'ensemble des caractéristiques climatiques, édaphiques, biotiques et structurelles des écosystèmes forestiers d'Equateur compose un large éventail de niches écologiques pour les communautés d'insectes, qui exploitent cette importante hétérogénéité d'hôtes végétaux et les opportunités associées en termes de ressources et d'habitats (Lucky et al. 2002, Dangles et al. 2009, Velazques 2014). A un grain spatial plus fin, la couverture végétale dans les forêts primaires ou secondaires équatorienne génère de fortes variation microclimatiques propices à des refuges persistants pour les populations d'insectes (Dangles et al. 2009).

L'Equateur, et particulièrement sa forêt tropicale amazonienne, abrite une très forte diversité spécifique chez les insectes, estimée à environ 100 000 espèces par hectare de forêt (Bass et al. 2010). Les connaissances sur la diversité entomologique dans les autres régions du pays restent malgré tout parcellaires, bien qu'on puisse

la supposer également très élevée dans différents biotopes. La biologie et l'écologie des espèces identifiées restent par ailleurs inconnues dans la plupart des cas (Dangles et Nowicki 2010).

## 2.2 Des insectes ravageurs dans les plantations forestières

Comme dans tout autre écosystème forestier, les arbres d'Equateur exploités commercialement sont la cible d'attaques de champignons et d'insectes. Actuellement, seules 6% des plantations forestières reçoivent une assistance technique pour la gestion des risques sanitaires et parasitaires, ce qui a conduit et conduit encore à une certaine négligence dans la protection des plantations, avec pour conséquence l'augmentation de la fréquence des attaques d'insectes ravageurs. Les charançons de la tribu Hylobiini attaquent diverses essences commerciales en Equateur (Cedeño et Flowers 2012). Les plantations de balsa peuvent être attaquées par diverses espèces de Lépidoptères (principalement des Arctiidae and des Saturniidae) (Dangles et al. 2009) et par *Anadasmus porinodes* (Meyrick), un foreur des pousses présent par ailleurs dans toute l'Amérique Centrale et l'Amérique du Sud (Brink 2008). En Equateur, avec l'expansion des grandes plantations commerciales et la présence de fortes précipitations et d'humidité pendant le « fenómeno del niño » dans l'année 1997 – 1998, le balsa fait face à des pressions parasitaires d'intensités croissantes qui menacent la production commerciale à cause de pertes économiques annuelles importantes. Les plus gros risques sanitaires pour la culture du balsa impliquent à l'heure actuelle:

- 1) les champignons pathogènes *Phytophthora palmivora* (Butler) et *Phythium vexans* (de Bary), à l'origine de la maladie de «pata roja» (pied rouge), et de «bois humide» (un complexe physiologique associé à un excès d'eau dans le xylème) (Stilwell et al. 2014).
- 2) des coléoptères phytophages tels que *Heilipodus unifasciatus* (Champion) (Curculionidae), un charançon qui attaque les tiges principales, les feuilles et les branches des arbres âgés de 6 mois à 1 ans (Cedeño et Flowers 2012), *Euchroma gigantean* (Linnaeus) (Buprestidae) qui attaque la base du tronc des arbres de 4

ans minimum, et le scolyte plus récemment décrit *Coptoborus ochromactonus* (Smith et Cognato) (Curculionidae) qui attaque tronc et branches même sur les arbres jeunes et qui occasionne des dommages économiques considérables dans les plantations (Stilwell et al. 2014).

3) une combinaison d'attaques fongiques et d'insectes: après la coupe des arbres en période d'exploitation, le bois encore vert est attaqué par des insectes xylophages et phloèmophages, puis il devient vulnérable aux attaques de termites deux ou trois jours après quand le bois sèche rapidement en contact avec le sol. Le bleuissement fongique intervient ensuite et dévalue sa qualité, nécessitant donc une transformation rapide du bois coupé (Midgley et al. 2010).

### 2.3 Une sous-famille d'intérêt particulier: les Scolytinae (Coleoptera: Curculionidae)

Dans cette thèse d'entomologie forestière en Equateur, je me suis intéressée spécifiquement à la sous-famille des Scolytinae (scolytes), dont la diversité dans les forêts naturelles est moins connue que dans d'autres famille d'insectes, avec seulement 50 espèces décrites jusqu'aux années 2 000 à l'échelle du continent sud-américain (Wood 2007). A titre comparatif, environ 7 000 espèces de papillons (Dangles et Nowicki 2010) et 2 300 espèces de scarabées (Lucky et al. 2002) ont été décrites dans les forêts tropicales humide du pays.

Dans la dernière décennie, une grande proportion des scolytes collectés dans ces forêts tropicales appartenait à des espèces voire des genres nouveaux pour la science. On peut citer *Callibora* Cognato, un nouveau genre trouvé dans la canopée de la forêt amazonienne équatorienne et décrit tout récemment (Cognato 2019), les nouvelles espèces *Cnestus schoenmanni* (Petrov et Mandelshtam 2018) et *Premnobius perezdelacrucei* Petrov et Atkinson découvertes dans la forêt tropicale du Parc National Yasuni en Amazonie (Petrov et Atkinson 2018) et de *Coptonotus uteq* Smith et Cognato décrite pour la première fois sur l'arbre à caoutchouc d'Amérique (*Castilla elastica* Sesse Ex. Cerv.) dans la réserve écologique Murucumba (Smith et Cognato 2016).

Un certain nombre de nouvelles espèces de scolytes ont été également identifiées comme des nouveaux ravageurs des arbres natifs ou exotiques, très probablement suite à des modifications anthropiques de leur environnement devenues très favorables à leur développement et leur démographie. C'est le cas de *Coptoborus ochromactonus*, qui a été décrite pour la première fois par Smith et Cognato en 2014 (Stilwell et al. 2014) suite à son émergence et ses dégâts croissants dans les plantations commerciales de balsa.

L'étude des scolytes des écosystèmes forestiers d'Equateur revêt donc un intérêt pour la connaissance de la diversité entomologique et pour la prise en compte et la gestion du risque entomologique dans les plantations commerciales du pays.

### **3. LES SCOLYTES, UN GROUPE MAJEUR PAR SA DIVERSITE ET SES IMPACTS SUR LES POPULATIONS D'ARBRES**

Les scolytes composent une famille très diversifiée qui compte dans le monde environ 6 000 espèces connues, réparties en 26 tribus (Wood 2007, Hulcr et al. 2015, Kirkendall et al. 2015). Les scolytes forestiers représentent un groupe d'insectes d'importance écologique, économique et sociale (Smith et Hulcr 2015, Raffa et al. 2008, Morris et al. 2018). Une large proportion des espèces connues vivent dans la zone néo-tropicale (38% de la diversité mondiale des scolytes connue), où 79% de celles-ci occupent spécifiquement les écosystèmes forestiers tropicaux et subtropicaux (Kirkendall et al. 2015).

#### **3.1 Herbivorie chez les scolytes**

Les scolytes sont des insectes exclusivement diurnes. Ils montrent une importante diversité de cycles biologiques à travers le monde et selon leur hôte, mais il existe des phases clés relativement constantes au sein de ce groupe (Atkinson et Equihua 1986). Les adultes colonisent leur arbre hôte par une perforation de l'écorce et le creusement d'un tunnel dans le xylème ou le phloème, où les accouplements peuvent avoir lieu et où les femelles pondent leurs œufs. A

l'éclosion, les larves creusent elles-mêmes leur propre galerie dans les vaisseaux du bois, puis les nouveaux adultes perforent l'écorce après la nymphose pour s'envoler et coloniser un nouvel arbre.

La nature des tissus végétaux consommés par les scolytes est variable et on observe divers degrés de spécificité vis-à-vis de leurs plantes hôtes. Les deux régimes alimentaires les plus courants sont : 1) la phloémophagie (consommation de phloème), pour laquelle les espèces creusent des galeries entre l'écorce et l'aubier, et 2) la xylomycétophagie (consommation de champignons symbiotiques élevés dans les galeries), qui concerne le groupe spécifique des scolytes à ambrosia que j'évoquerai plus tard dans une section dédiée aux associations symbiotiques chez les scolytes. D'autres régimes alimentaires, moins courants, existent: la xylophagie (consommation de bois mort), myélophagie (consommation de moelle de ramilles), spermatophagie (consommation de graines), et herbiphagie (consommation de plantes herbacées) (Atkinson 2019).

Le degré de spécificité pour l'hôte des insectes se rapporte à de la monophagie (un seul genre d'hôte consommé), de l'oligophagie (limité à quelques genres, typiquement de la même famille) et de la polyphagie (consommation de plusieurs familles d'hôtes). Les espèces de scolytes monophages semblent plus fréquentes dans les forêts tempérées, alors que les espèces polyphages semblent majoritairement représentées dans les forêts tropicales (Atkinson 2019). Il semble également exister une relation entre régime alimentaire et degré de spécificité car les espèces xylomycétophages et myélophages tendent généralement vers la polyphagie alors que les espèces phloémophages sont globalement plutôt monophages ou oligophages. Cela pourrait s'expliquer en partie par une plus forte propension des phloémophages à exploiter des hôtes synthétisant de la résine ou du latex antagonistes aux scolytes, supportant l'hypothèse d'une coévolution du parasite avec un hôte spécifique, moins compatible avec la polyphagie (Atkinson et Equihua 1986, Atkinson 2019).

### 3.2 Conséquences de l'herbivorie des scolytes sur leurs hôtes

Quel que soit le régime alimentaire, la création de galeries dans le bois entraîne une détérioration importante de l'aspect du bois et de sa fonctionnalité pour l'arbre. Sur des arbres vivants, le développement des scolytes affecte le système vasculaire (xylème ou phloème) et le cambium, détruisant le phloème et l'élaboration des futures cellules du xylème fonctionnel. La conséquence directe est une altération de la circulation de la sève élaborée et de la nutrition minérale de l'arbre, pouvant entraîner sa mort plus ou moins rapidement (Inch et Ploetz 2012). De plus, l'activité des insectes favorise l'entrée et le développement de champignons dans l'arbre qui contribuent à l'agressivité de l'insecte vis-à-vis de son hôte (Hulcr et al. 2015, Smith et Hulcr 2015).

Cette activité d'herbivorie des scolytes peut entraîner une mortalité massive dans les populations d'arbres en cas de perte de vitalité de ceux-ci et d'abondance des insectes (Wood 1982, Tanner et al. 2018). Les arbres affaiblis, soit par le vent, le feu, stressés par des sécheresses sévères ou endommagés par d'autres facteurs biotiques (champignons, plantes parasites, autres insectes), sont généralement plus sensibles aux attaques de scolytes, qui montrent alors une forte réactivité démographique à la présence de ce substrat devenu plus favorable. La plupart des scolytes sont généralement inoffensifs pour les arbres sains. En revanche, certains sont capables de coloniser et de tuer des arbres stressés ou affaiblis, en particulier lorsqu'ils sont associés à des champignons qui colonisent de tissus végétaux vivants. Ce type d'herbivorie fait des scolytes des agents de perturbation potentiellement importants dans les zones forestières du monde entier, affectant les processus clés de la dynamique forestière et des services forestiers (Hulcr et Stelinski 2017).

Chez les conifères, les mécanismes de défense des arbres contre les attaques de scolytes incluent un système de canaux résinifères de taille et nombre variables et la synthèse de produits chimiques dans la zone attaquée (Ferrenberg et al. 2014) . La probabilité de survie des arbres suite aux attaques est liée à l'interaction entre la capacité des arbres à mobiliser des mécanismes de défense et l'abondance des attaques (Paine et al. 1997). Par conséquent, les facteurs de stress qui affaiblissent

la mobilisation de la défense des arbres ont généralement été associés au déclenchement d'épidémies de scolytes (Marini et al. 2012) et la sécheresse est particulièrement susceptible d'accroître la sensibilité des arbres aux attaques d'insectes et d'induire des modifications de la physiologie des arbres (Netherer et al. 2015).

### 3.3 Stratégies de reproduction

La plupart des scolytes ont un système de détermination sexuelle haplo-diploïde, selon lequel les femelles diploïdes produisent des mâles haploïdes, souvent moins nombreux que les femelles, à partir d'œufs non fécondés (Cognato et al. 2011, Kirkendall et al. 2015). La femelle initie l'attaque et l'installation, creuse une galerie maternelle dans les bois et les mâles les y rejoignent les femelles pour s'accoupler. Leur système de reproduction peut aussi reposer sur de l'endogamie-polygamie, c'est-à-dire l'accouplement de mâles incapables de voler avec leurs sœurs dans une même galerie (Kirkendall et al. 2015), et dans ce cas les insectes sont extrêmement consanguins car les mâles quittent rarement leurs tunnels natals. Donc, l'haplodiploïdie, leur habitude de forer le bois, leur petite taille, leur association symbiotique avec les champignons et un mode de vie majoritairement confiné aux galeries dans une structure ligneuse font des scolytes des colonisateurs extrêmement performants (Jordal et al. 2001, Cognato et al. 2011). Les mâles présentent un dimorphisme sexuel, ils sont plus petits que les femelles, leurs ailes peuvent être absentes ou atrophiées (non fonctionnelles), le front est excavé, présente structure des élytres différentes (Wood 1982, Kirkendall et al. 2015). Le sexe-ratio est souvent biaisé en faveur des femelles, ce qui indique qu'il peut exister une concurrence locale entre partenaires (CLM), à conditions d'une reproduction de type arrhénotoque, comprenant au moins un mâle par descendance, un développement grégaire, que les mâles éclosent en premier et que l'accouplements soient entre eux (Hamilton 1967).



## 4. LES ASSOCIATIONS SYMBIOTIQUES SCOLYTES – CHAMPIGNONS : UNE PARTICULARITE DES SCOLYTES A AMBROSIA

### 4.1 Symbiose sous-corticale

Les scolytes à ambrosia qui ont été évoqués brièvement précédemment forment un groupe particulier de Scolytinae qui n'est pas capable d'extraire et de digérer les substances nutritives contenues dans le bois où ils se développent. Au cours de leur évolution se sont créées des associations symbiotiques avec des champignons ambrosia, dont le mycélium est la source nutritive exclusive des larves et les scolytes adultes (Beaver 1989). Les ambrosia sont présents chez environ 3400 espèces d'insectes, dont 63 genres et 10 tribus appartiennent à la sous famille des Scolytinae, en particulier les tribus Xyleborini et Corthylini (Farrell et al. 2011, Kirkendall et al. 2015). Ce type d'association est qualifiée de symbiotique car les champignons colonisent un arbre hôte grâce à la mobilité de l'insecte qui les transportent et qui leur permettent de pénétrer sous l'écorce et de coloniser les vaisseaux du bois (Kirkendall et al. 2015). Ces champignons ambrosia tapissant les galeries forées par les insectes synthétisent des enzymes de dégradation de la cellulose, des hémicelluloses et de la lignine des arbres en sucres tels que l'amidon (Kubicek et al. 2014). Ils produisent également des molécules organiques très riches en matière azotée, des vitamines, des stéroïdes comme l'ergostérol et des acides aminés. Ce sont tous des composés essentiels à la physiologie et au développement des insectes (Beaver 1989, Morales-Ramos et al. 2000). La teneur en azote du mycélium des champignons est nettement supérieure à celle du bois : il est extrait du bois et de l'écorce ou provient de la fixation de l'azote atmosphère par le champignon (Dajoz 2007). Les champignons ambrosia contribuent également à diminuer l'humidité sous l'écorce en obstruant les canaux du xylème, et développent des relations antagonistes avec des champignons pathogènes des larves de scolytes (Batra 1985, Beaver 1989, Morales-Ramos et al. 2000, Six et Woolfolk 2009).

Les structures fongiques sont transportées dans des structures thoraciques spécialisées de l'exosquelette des scolytes : les mycanges. Ce sont des invaginations du tégument adaptées au transport des champignons d'un hôte à l'autre et à la protection des symbiotes fongiques (Hulcr et Cognato 2010). Le mycange possède en effet des cellules glandulaires spécialisées qui protègent les cellules fongiques contre la dessiccation, régulent la composition des espèces fongiques, nourrissent les propagules et déterminent la forme de croissance fongique (Six 2003). Les mycanges présentent une diversité considérable en taille, forme et emplacement sur le corps des différentes espèces de scolytes (Fracke-Grosmann 1967, Hulcr et al. 2012). Par exemple dans la tribu Xyleborini, il existe trois type de mycanges: 1) les mycanges mandibulaires (paire de cavités internes situées à la base des mandibules), 2) les mycanges mésothoraciques (grandes invaginations bifurquant et partiellement en spirale situées entre le méso et le métanotum), et les mycanges élytrales (petites cavités à la base des élytres) (Francke-Grosmann 1967, Cognato et al. 2011). La taille des mycanges varie selon les espèces mais elles sont toutes associées à des glandes de sécrétion qui maintiennent les spores dans des conditions favorables pendant le vol et la dispersion des scolytes (Francke-Grosmann 1967, Beaver 1989, Six 2003, Wood 2007). Généralement, les champignons ambrosia ne sont véhiculés que par un seul sexe, plus souvent les femelles comme chez les Xyleborini aux mycanges mandibulaires (Francke-Grosmann 1967, Beaver 1989, Hulcr et Cognato 2010).

#### 4.2 Les champignons ambrosia associés aux scolytes

Les scolytes à ambrosia présentent diverses communautés de micro-organismes symbiotiques (Batra 1985, Francke-Grosmann 1967, Kostovcik et al. 2015). Les champignons ambrosia incluent principalement des Ascomycètes d'ordres Ophiostomatales, Microascales, Hypocreales et Saccharomycotina, et minoritairement des Basidiomycètes (Beaver, 1989; Francke-Grosmann, 1967; Ploetz et al. 2013). Les genres plus connus sont *Raffaelea*, *Ambrosiella*, *Phialophoropsis*, *Ascoide* (Batra 1985), *Fusarium*, *Dryadomyces*, *Entomocorticium*,

*Geosmithia*, *Meredithiella*, *Monilia* et *Cephalosporium* (Beaver 1989, Freeman et al. 2013). Les genres *Gondwanamyces*, *Flavodon flavus* et *Afroraffaelea ambrosiae* ont été décrits plus récemment (Hulcr et al. 2007, Li et al. 2015, Bateman et al. 2017). Globalement, les genres *Raffaelea*, *Fusarium* et *Ambrosiella* semble être ceux qui montrent une plus forte prévalence chez les scolytes à ambrosia (Hulcr et Dunn 2011). Batra (1985) a classé les champignons ambrosia en deux catégories: les primaires et les facultatifs. Les champignons primaires sont des symbiotes obligatoires spécifiques à un seul insecte vecteur, ils sont fréquemment isolés à partir des mycanges. Les champignons facultatifs sont davantage considérés opportunistes, transitoires et non spécifiques, ils produisent des spores mucilagineuses qui permettent leur transport par diverses espèces vecteurs. Une caractéristique importante des champignons ambrosia est leur pléomorphisme, c'est-à-dire qu'ils sont sous forme de mycélium (des filaments) dans les galeries et sous forme d'ambrosia (semblable à la levure) dans les mycanges (Francke-Grosmann 1967, Batra 1985, Beaver 1989, Six 2003).

#### 4.3 Conséquences des champignons ambrosia sur la santé des arbres

Les champignons symbiotiques qui sont associés avec les scolytes à ambrosia sont en général peu virulents (Paine et al. 1997). L'inoculation des champignons symbiotiques en masse peut cependant affecter sévèrement des arbres ligneux, provoquant un dépérissement des arbres et des tiges et parfois la mort des individus (Atkinson 1985). Les mécanismes qui ont été proposés pour expliquer le déclin des arbres infestés par ces champignons est la production de toxines, la pénétration du mycélium dans les tissus végétaux, et la formation de vésicules de gaz qui obstruent les vaisseaux conducteurs (Agrios 2005). Les attaques massives de scolytes à ambrosia peuvent avoir des conséquences sanitaires et économiques importantes pour l'industrie fruitière ou forestière, mais aussi pour les arbres urbains. Par exemple, *Xyleborus glabratus* Eichhoff associé à *Raffaelea lauricola* T.C. Harr., Fraedrich & Aghayeva cause la maladie « Laurel wilt » chez les arbres de la famille Lauraceae, notamment chez *Persea borbonia* sensu lato et *Sassafras albidum* Nuttall Nees (Fraedrich et al. 2008). Cette même association constitue

également une menace potentielle pour les avocatiers (*Persea americana* Miller) américains (Hanula et al. 2008). Les avocatiers et divers arbres urbains et forestiers sont attaqués par l'association *Euwallacea fornicatus* Eichhoff - *Fusarium euwallaceae* S. Freeman en Israël et en Californie (Freeman et al. 2013, Tanner 2014). Les caféiers (*Coffea arabica* L.) d'Afrique de l'Est sont attaqués par l'association *Xylosandrus compactus* Eichhoff - *Fusarium solani* Mart. (Egonyu & Torto, 2017). En Equateur, c'est probablement l'association *Coptoborus ochromactonus* - *Fusarium ambrosium* qui est à l'origine de la plupart des dégâts dans les plantations de balsa (Stilwell et al. 2014, Castro 2016, Castro et al. 2019). Enfin, l'inoculation des champignons ambrosia se traduit généralement par une coloration du bois (bleuissement gris foncé, brun ou noir) qui en altère significativement la qualité et l'esthétique, avec pour conséquence une diminution drastique de sa valeur économique (Fabig 2011).

## 5. PROBLEMATIQUE, OBJECTIFS ET STRUCTURE DE LA THESE

Les forêts d'Equateur constituent un conservatoire de biodiversité, en particulier pour les insectes, mais nous avons vu que beaucoup d'inconnues subsistent encore pour certains groupes écologiquement et économiquement importants tels que les Scolytinae. Les conséquences de l'artificialisation des forêts - particulièrement via la monoculture d'arbres - sur la structure, la biodiversité et le fonctionnement de l'écosystème forestier sont nombreuses. La structure complexe de la forêt naturelle peut être profondément altérée, affectant les microclimats et les niches écologiques disponibles. Des plantations forestières telles que celles du balsa, tendent à occuper des territoires autrefois réservés à la forêt primaire ou secondaire, et les problématiques de conservation de la biodiversité dans les écosystèmes forestiers a longtemps été négligée en Equateur comme au Brésil, où 23% des ordres d'insectes recensés dans la forêt primaire ont disparu au profit des plantations d'*Eucalyptus grandis* (Dajoz 2007). Sans compter toutes les espèces encore inconnues pour la science.

Les connaissances sur la diversité et l'abondance des Scolytinae restant d'une manière générale assez faibles dans les écosystèmes forestiers d'Equateur, il est nécessaire de poursuivre de nouvelles recherches *in situ* pour continuer à combler ces lacunes en termes de conservation de la biodiversité, mais également en termes de prévision et de gestion du risque sanitaire 'scolytes' dans les forêts naturelles et dans les plantations commerciales, étant donné leur implication croissante dans les dégâts et les mortalités d'arbres observées (Tanner 2014). Des inventaires entomologiques, des suivis de dynamique des populations et une connaissance plus précise de l'écologie de certaines espèces devraient notamment permettre une meilleure prise en compte des scolytes natifs ou exotiques émergents et leurs risques associés, en Equateur et dans d'autres pays hébergeant des espèces de plantes hôtes similaires. En particulier, les facteurs impliquant le ravageur émergent *C. ochromactonus* dans les dépérissements et les mortalités dans les plantations de balsa au cours de la dernière décennie restent méconnus. Et bien que certaines associations symbiotiques de scolytes avec des champignons causent des pertes économiques considérables pour l'industrie forestière, peu d'études ont été menées sur ce sujet en Amérique du Sud et plus précisément en Equateur.

En réponse à cette problématique, ma thèse a les trois objectifs principaux suivants :

- 1) caractériser la diversité taxonomique et la composition des communautés de scolytes dans les forêts naturelles et les plantations de balsa d'Equateur, et étudier leur réponse aux variations climatiques saisonnières,
- 2) préciser la biologie de *C. ochromactonus* et estimer l'influence de facteurs environnementaux sur la dynamique de ses populations dans les plantations commerciales de balsa,
- 3) clarifier l'association des scolytes du genre *Xyleborus* avec des champignons ambrosia en forêt naturelle et en plantation de balsa.

## Structure de la thèse

Ma thèse se décline en trois chapitres centraux liés aux objectifs décrits ci-dessus, structurés par des articles scientifiques.

Le chapitre I est consacré à l'étude de l'abondance, de la richesse et de la composition des espèces de scolytes dans une forêt primaire, dans une forêt secondaire et dans une plantation forestière. Ainsi nous aborderons les facteurs climatiques qui pourraient influencer les communautés de scolytes dans les forêts naturelles et dans les plantations de balsa d'Equateur.

Le chapitre II est consacré à l'étude de *C. ochromactonus* dans les plantations de balsa. Ce chapitre comprend deux parties: la première partie présente des investigations auxquelles j'ai participé avant et pendant ma thèse sur le cycle de vie de l'insecte. La seconde partie porte sur l'influence des facteurs climatiques et de l'âge du balsa sur la période de vol, la prévalence, et l'intensité d'infestation dans les arbres par le scolyte.

Le chapitre III est consacré à l'étude comparative des champignons associés aux scolytes du genre *Xyleborus* dans une forêt naturelle et dans une plantation commerciale de balsa. Dans ce chapitre, je me suis intéressée au genre *Xyleborus* plutôt qu'au genre *Coptoborus*, car il comporte un plus grand nombre d'espèces que l'on retrouve dans les différents habitats forestiers équatoriens, alors que *Coptoborus* n'est à ce jour connu qu'en plantations. Tous les *Xyleborus* sont associés à des champignons ambrosia, et certaines espèces peuvent coloniser des arbres vivants. Par ailleurs les champignons associés à *C. ochromactonus* ont déjà été décrits, et une étude complémentaire est en cours dans une autre thèse menée également en Equateur.

Une conclusion générale et des perspectives soulignent enfin que ces travaux de thèse ont permis d'apporter des connaissances nouvelles et nécessaires à l'amélioration des programmes de gestion forestière et de santé des forêts en Equateur. Ils ont permis également de préciser le pathosystème fongique associé à certains scolytes à ambrosia, ce qui permettra de clarifier, voire d'anticiper les risques sanitaires encourus à la suite des attaques.

## CHAPITRE I. Approche comparative des communautés des scolytes dans deux forêts naturelles et dans une plantation forestière



**Article 1:** Martinez M., A.I. Cognato, M. Guachambala and T. Boivin. 2019. Bark and ambrosia beetle (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) diversity in natural and plantation forests in Ecuador. *Environmental Entomology*. In press.

## **Introduction**

Nous avons vu dans le chapitre introductif que la diversité et la composition des communautés de Scolytinae dans la plupart des écosystèmes forestier (plantations et forêts naturelles) d'Equateur doivent être caractérisées plus précisément. Ce manque de connaissances de base représente une préoccupation pour la conservation et la protection de ces écosystèmes, tout comme dans d'autres pays hébergeant des espèces de plantes hôtes similaires. Aussi, les risques liés aux Scolytinae pour les produits du bois à usage domestique ou pour l'exportation sont toujours peu documentés en Equateur.

Dans ce contexte, je me suis intéressée aux associations des patrons de diversité des Scolytinae avec des facteurs de leur environnement tels que le type d'habitat et le climat. Dans les forêts tropicales asiatiques, on sait que la composition des communautés de Scolytinae est sensible au climat, aux différents types de forêts et à leur degré de perturbation (Hulcr et al. 2008). En Amérique du sud, dans les plantations forestières brésiliennes par exemple, un certain nombre d'études ont établi des liens entre les variations d'abondance dans les communautés de Scolytinae et des variations saisonnières locales du climat (Flechtmann et al. 2001, Sandoval Rodriguez et al. 2017), et des déplacements d'espèces forestières indigènes vers des monocultures forestières de superficies croissantes (Flechtmann et al. 1999). Dans la région côtière équatorienne, le couvert végétal en forêts tropicales primaires ou secondaires contribuent à des différentiels microclimatiques sur de courtes distances qui génèrent des refuges microclimatiques persistants pour les populations d'insectes (Dangles et al. 2009). Si une forte richesse en espèce est un attribut attendu des forêts naturelles, les plantations d'arbres équatoriennes sont également susceptibles d'abriter une diversité substantielle d'insectes, comme par exemple les plantations de balsa où 68 espèces associés ont été recensées (Dangles et al. 2009). En Equateur, la surface forestière totale couvre environ



45% de la surface du pays (MAG 2016), mais on ne connaît toujours pas les patrons de variation de la diversité des Scolytinae entre les types forestiers qui existent, ni au niveau saisonnier au sein de chaque habitat.

Ce chapitre propose des investigations nouvelles sur les variations d'abondance des Scolytinae (nombre total de spécimens par taxon), de richesse en espèces (nombre total de taxons) et de composition en espèces dans une forêt naturelle primaire, dans une forêt secondaire, et dans une plantation de balsa en Equateur. Un suivi annuel des communautés de scolytes a été réalisé à l'aide de pièges à éthanol disposés dans ces différents massifs forestiers de mai 2016 à juin 2017. Cette étude avait les deux objectifs principaux suivants:

- 1) préciser et comparer les patrons d'abondance, de richesse spécifique et de composition des communautés de scolytes en fonction du type d'habitat (forêt primaire, secondaire et plantation de balsa)
- 2) caractériser les patrons de variation saisonnière de ces composantes de diversité au sein de chaque type de forêt, en lien avec des variables climatiques (températures mensuelles minimales, maximales et moyennes, précipitation et humidité relative).

Les résultats montrent une diversité globale des Scolytinae plus importante que décrite précédemment dans la littérature en Equateur, et en particulier que l'abondance, la richesse spécifique, et la composition en espèces montrent des patrons contrastés selon les habitats forestiers et les saisons.

### **Approche utilisée pour l'étude des variations des patrons de diversité et de composition des communautés de Scolytinae**

Nous avons échantillonné les scolytes à l'aide de piège à insectes dans une forêt primaire, dans une forêt secondaire et dans une plantation du balsa. Dans chaque type d'habitat forestier, dix pièges ont été installés à 1,30 m de hauteur sur les troncs d'arbres, sur un transect de 200 m en bordure de sentiers. Chaque piège a été séparé par une distance d'au moins 20 mètres et ont relevés toutes les deux semaines. Tous les scolytes capturés ont

été comptabilisés et identifiés à l'aide de la clé des insectes d'Amérique du sud (Wood 2007).

La forêt primaire couvrait une surface de 110 ha, avec une nébulosité fréquente. La végétation est composée d'arbres natifs, la couverture de la canopée était presque continue, sans lianes. La forêt secondaire couvrait une surface de 50 ha, avec une couverture de la canopée discontinue. Cette forêt est dominée par des espèces de début de succession, elle présente une forte abondance de lianes et jouxte de grandes surfaces de monocultures agricoles. La plantation de balsa, âgée de 2 ans, présente une surface de 36 ha, c'est la seule espèce d'arbre présente dans ce site et la couverture de la canopée était fermée.

L'impact de l'effort d'échantillonnage sur la richesse spécifique cumulée observée par habitat ( $S_{obs}$ ) a été évalué par une correction de biais d'échantillonnage par bootstrap ( $S_{cor}$ ) selon Manly (1997), et par l'estimation de l'indice Chao1 (Chao et al. 2005). La comparaison des valeurs de  $S_{obs}$  entre les types de forêts a été réalisée par un test de randomisation (N= 1000) par paires (Manly 1997, Rossi 2011). La diversité en espèces a été résumée par les indices de Shannon, de Margalef et d'équitabilité. Des fréquences d'espèces rares (singleton : un individu par échantillon; unique : espèces présentes dans un seul échantillon) ont été aussi estimées (Rossi 2011).

La composition en espèces des trois communautés échantillonnées a été représentée par une analyse en coordonnées principales (PCoA) basée sur les matrices de distance de Bray-Curtis (Legendre et Legendre 1998), ce qui permet d'évaluer les niveaux de similitudes en espèces entre ces communautés. La présence d'espèces indicatrices d'un type d'habitat particulier a été testée par l'indicateur statistique *IndVal* (Dufrêne et Legendre 1997).

L'effet de la saisonnalité sur la composition des communautés de scolytes a été testé à l'aide d'une analyse de cluster via l'indice de Bray-Curtis (Hammer et al. 2001). Enfin, la relation entre les variables climatiques locales et les valeurs mensuelles d'abondance et de richesse spécifique a été réalisée par un test de corrélation de Spearman.

## Variation des patrons de diversité et de composition des communautés de Scolytinae en fonction de l'habitat forestier

### *Diversité globale des scolytes dans les habitats forestiers*

Au total, 18 168 individus, 6 tribus, 16 genres et 85 espèces ont été capturés dans les trois types des forêts au cours de cette année entière d'échantillonnage. Nous avons identifié 22 espèces indigènes et 3 espèces exotiques, et 60 morphotypes qui n'ont pu être identifiés qu'au niveau du genre. Les espèces exotiques étaient inégalement réparties entre les habitats car *Premnobium cavipennis* était principalement mais modérément abondante dans la plantation de balsa et la forêt secondaire, un nombre limité d'individus de *Xylosandrus compactus* se trouvaient uniquement dans les forêts naturelles et *Xyloxandrus morigerus* se trouvait principalement dans les forêts naturelles. La tribu plus abondante était Xyleborini (63,5 % des captures au total), et la tribu plus diversifiée était Corthylini (44,7% du total des espèces). Le genre le plus abondant et le plus diversifié était *Xyleborus*.

La plantation de balsa a présenté des indices de Shannon ( $H' = 2,463$ ), Margalef ( $DMg = 6,432$ ) et Pielou ( $J' = 0,61$ ) supérieurs aux autres sites, tandis que la forêt secondaires présentait les valeurs les plus faibles ( $H' = 1,77$ ,  $DMg = 5,428$  and  $J' = 0,458$ ). La plantation de balsa a présenté des indices de diversité  $H'$ ,  $DMg$  et  $J'$  relativement similaires à ceux estimés dans la forêt primaire.

### *Richesse spécifique des Scolytinae dans et entre les habitats forestiers*

La richesse spécifique cumulée  $S_{obs}$  observée a atteint 57 espèces de scolytes dans la forêt primaire, 48 espèces dans la forêt secondaire et 56 espèces dans la plantation de balsa (Tableau 1). La richesse spécifique cumulée corrigée pour le biais d'échantillonnage ( $S_{cor}$ ) était légèrement plus élevée, mais le classement entre les sites étant conservé, nous pensons avoir limité ce biais au cours de cette année de piégeage. Ceci est appuyé par la valeur de l'estimateur Chao-1 qui suggère que l'effort d'échantillonnage a été approprié pour tous les sites de collectes. Statistiquement, il apparaît que la richesse spécifique cumulée observée ne différait pas par paires de types de forêts (primaire-secondaire:  $P = 0,089$ ; primaire-balsa:  $P = 0,4475$   $p < 0,001$ ; secondaire-balsa:  $P = 0,1538$ ). La fréquence des

espèces singleton et unique variait de 10,5 à 29,2 % et de 12,3 à 35,4% respectivement avec la valeur la plus faible dans la forêt primaire et la plus élevée dans la forêt secondaire (Tableau 1).

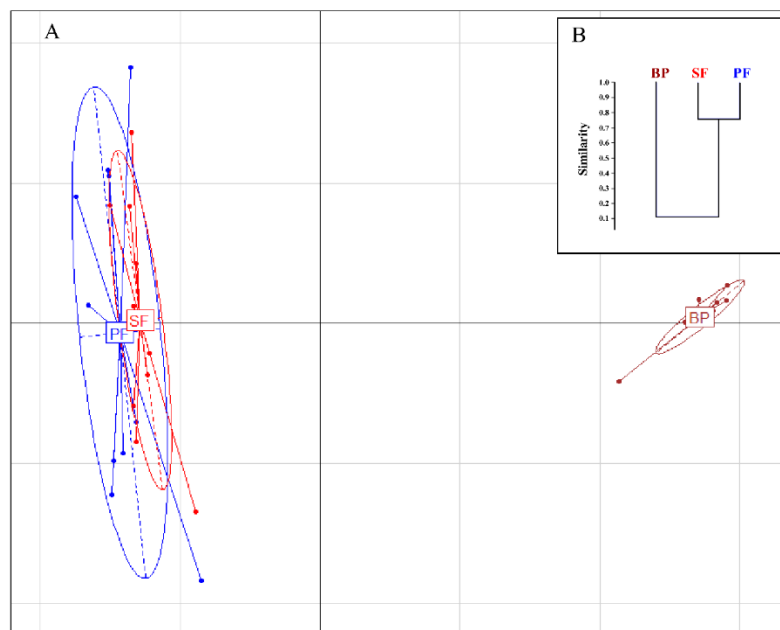
**Tableau 1.** Diversité de Scolytinae échantillonnés pendant un an, dans trois habitats forestiers en Equateur.

Habitat	<i>n</i>	<i>S</i> <sub>obs</sub>	<i>S</i> <sub>cor</sub>	Indice Chao1	Espèces singleton	Espèces unique
Forêt primaire	10	57 (2,6)	62	59,5 (96%)	6 (10,5%)	7 (12,3%)
Forêt secondaire	10	48 (3,9)	55	59,38 (81%)	14 (29,2%)	17 (35,4%)
Plantation de balsa	10	56 (2,9)	61	71,6 (78%)	13 (23,2%)	15 (26,8%)

*n*: nombre de pièges récoltés tous 15 jours, durant la période d'étude; *S*<sub>obs</sub>: richesse en espèces cumulée observée (erreur standard); *S*<sub>cor</sub>: richesse en espèces cumulée corrigée pour le biais d'échantillonnage, (test de permutation à 1000 randomisations); singleton: espèces avec un seul individu par échantillon; unique: espèces présentes dans un seul échantillon. Indice Chao-1: pourcentage de la couverture de l'échantillon. Les pourcentages pour singletons et unique se rapportent à la richesse totale en espèces observée dans l'habitat.

### ***Composition des communautés et préférences d'habitat***

La représentation des espèces de scolytes collectées dans la PCoA reposant sur les matrices de distance Bray-Curtis a montré que les forêts naturelles partageaient entre elles plus d'espèces communes qu'avec la plantation de balsa (Fig. 1). La composition en espèces était effectivement portée par le premier axe de la PCoA, et le deuxième axe qui portait l'hétérogénéité intra-site n'a pas discriminé les habitats. L'analyse de similitude des communautés par l'indice de Bray-Curtis a également montré que la forêt primaire et la forêt secondaire ont davantage d'espèces en commun (75,8%) que la plantation de balsa n'en a avec chacune d'elles (Fig. 1).



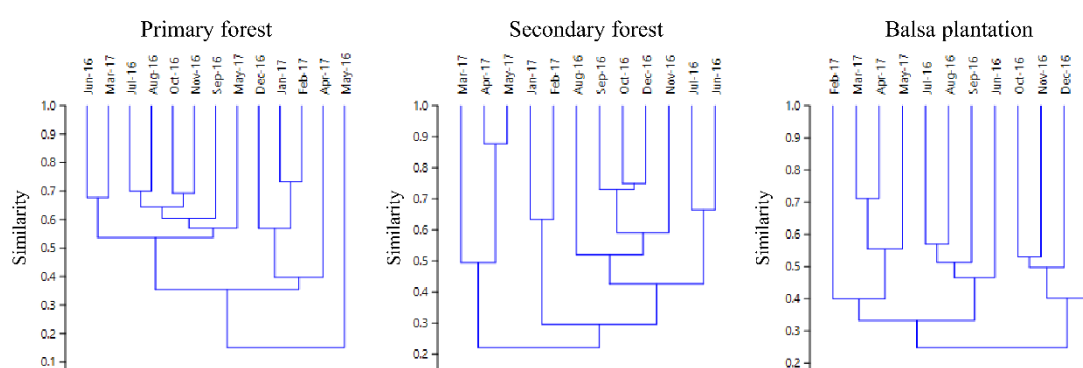
**Figure 1.** Analyse de la structure des communautés de Scolytinae collectées dans trois habitats forestiers d'Equateur (PF : forêt primaire, SF : forêt secondaire, BP : plantation de balsa). A : Analyse en coordonnées principales (PCoA) des trois communautés avec projection des scores d'habitat dans le plan défini par l'axe 1 horizontale (69,7%) et l'axe 2 vertical (12,4%). Les étiquettes d'habitat sont au centre de gravité de chaque habitat et sont liées à chaque échantillon de l'habitat correspondant. B: Dendrogramme de similitude par l'indice de Bray-Curtis montrant les affinités des trois communautés en terme de composition d'espèces (coefficient de corrélation cophénétique : 0,9973).

Les statistiques de l'indice *IndVal* ont révélé que les tribus Xyleborini et Corthylini sont préférentiellement associées à la forêt primaire, avec 10 espèces indicatrice pour chacune d'entre elles. Les tribus Cryphalini et Corthylini ont une préférence marquée par la plantation de balsa, avec 8 espèces indicatrice statistiquement associées pour chacune d'entre elles.

***Variation saisonnière des patrons de diversité et de composition des communautés de Scolytinae au sein de chaque type de forêt***

Quel que soit l'habitat, il existe un effet significatif de la saisonnalité, c'est-à-dire des réponses contrastées de la composition en espèces entre la saison sèche et la saison des

pluies. Dans la forêt primaire, l'analyse de similitude en espèces de Bray-Curtis a montré l'existence d'un groupe de communautés associées principalement aux mois de fin de saison sèche et de saison des pluies significativement distinct d'un groupe associé aux mois de saison sèche (Fig. 2). Dans la forêt secondaire, deux groupes proches de communautés associées aux mois de la saison sèche et du début de la saison des pluies, ont été séparés d'un groupe associé aux mois de la saison des pluies. Dans la plantation de balsa, un groupe principal de communautés associées aux mois de la saison des pluies a été séparé des deux autres groupes associés aux mois de la saison sèche et du début de la saison des pluies.



**Figure 2.** Dendrogrammes de similitude par l'indice de Bray-Curtis montrant les affinités des communautés de Scolytinae échantillonnées au cours de chaque mois pendant une année dans une forêt primaire, une forêt secondaire et une plantation de balsa en Equateur (coefficients de corrélation cophénétique : PF=0,9028, SF= 0,9153, BP= 0,7167).

Conformément à ces résultats, les valeurs mensuelles d'abondance et de richesse spécifique ont montré des variations annuelles importantes dans chaque type de forêt, reflétant certainement l'effet de variables climatiques locales sur la dynamique saisonnière de ces communautés. La richesse des espèces dans la forêt primaire était corrélée significativement et négativement à la température minimale ( $r= -0,84$ ,  $P= 0,0003$ ). L'abondance dans la forêt secondaire était corrélée significativement et positivement à l'humidité relative ( $r= 0,75$ ,  $P= 0,004$ ) et les précipitations ( $r= 0,65$ ,  $P= 0,031$ ). L'abondance dans la plantation de balsa était corrélée significativement et négativement à l'humidité relative ( $r= -0,66$ ,  $P= 0,029$ ), alors que la richesse était corrélée significativement et positivement à la température maximale ( $r= 0,74$ ,  $P= 0,006$ ) et négativement aux précipitations ( $r= -0,67$ ,  $P= 0,017$ ).

## Conclusion

### *Variation des patrons de diversité et de composition des communautés de Scolytinae en fonction de l'habitat forestier*

Nos résultats montrent que les trois types d'habitats forestiers que nous avons échantillonnés n'influencent pas significativement la richesse spécifique cumulée, mais plutôt la composition en espèces des communautés. L'analyse en PCoA et l'analyse de groupes par l'indice de Bray-Curtis ont montré de plus fortes similitudes entre les communautés des deux forêts naturelles. Elles pourraient partager des niveaux d'hétérogénéité d'habitat associés à des niches structurelles plus similaires pour les insectes que dans la plantation de balsa. Ce niveau d'hétérogénéité en forêts naturelles peut résulter de la présence de plusieurs espèces dominantes et des classes d'âge variées, contrairement à la monoculture de balsa. On pourrait s'attendre à ce que la composition des communautés insectes soit dépendante de la diversité des plantes présentes sur le site, cependant des travaux récents ont suggéré que les communautés de scolytes à ambrosia sont peut-être moins sensibles à la diversité des plantes que d'autres groupes d'insectes, les phyllophages par exemple (Sittichaya et al. 2012). La richesse spécifique en scolytes estimée dans le balsa (56 espèces) dépasse les précédentes évaluations conduites dans des plantations commerciales (i.e. 42 espèces, Wood 2007 et Martinez et al. 2017). Une telle richesse spécifique et la différence de composition en espèces avec les forêts naturelles peuvent être expliquées par le fait que la plupart des scolytes, y compris les scolytes à ambrosia sont fortement attirés par l'éthanol (Hulcr et al. 2008). Le balsa est un arbre dont la concentration en éthanol peut augmenter fortement en réponse à divers facteurs de stress biotiques, abiotiques et physiologiques (Ranger et al. 2018), ce qui peut donc augmenter son potentiel attractif pour les scolytes dans des conditions d'affaiblissement. Une autre explication reposerait le fait que l'exploitation des arbres à partir de 3 à 4 ans et l'auto-élagage fréquent en plantations entraînent l'accumulation de débris ligneux, des piles de grumes, des arbres morts, et des branches mortes sur le sol qui constituent des ressources attractives pour un certain nombre de scolytes (Coyle et al. 2005, Père-De la Cruz et al. 2016). C'est le cas du genre *Hypothenemus* qui comprend de nombreuses espèces exploitant majoritairement les débris ligneux (Kirkendall et al. 2015). Une

importante richesse spécifique en scolytes a également été rapportée par Sandoval Rodriguez et al. (2017) sur une plantation native d'hévéa.

### ***Des tribus de Scolytinae associés à des habitats par des espèces indicatrices***

Nos investigations sur l'existence d'espèces de Scolytinae indicatrices d'habitats ont mis en évidence une association significative de certaines tribus au type de forêt dans lequel elles ont été échantillonnées. La tribu Cryphalini comporte des espèces indicatrices de la plantation de balsa, avec une contribution importante d'espèces du genre *Hypothenemus*, qui représentaient près de 63 % de toutes les espèces capturés dans cet habitat. Ce genre comprend de nombreuses espèces qui se développent dans des zones écologiquement perturbées, telles que les monocultures d'arbres, plutôt que dans les forêts naturelles (Wood 1982, Hulcr et al. 2008, do Penteado et al. 2011, Abreu et al. 2012). Certains auteurs ont pu mettre en évidence que le genre *Hypothenemus* était plus répandu dans les monocultures d'*Eucalytus grandis* (Muller and Andreiv 2004), dans un système mixte d'hévéa et de caféier (Sandoval Rodriguez 2017), et moins abondant dans des forêts naturelles au Brésil (Meurer et al. 2013). La tribu Xyleborini, la plus abondante, comprend de nombreuses espèces indicatrices des forêts naturelles, en accord avec d'autres travaux récents (Hulcr et al. 2008, Sittichaya et al. 2012, Sandoval Rodriguez et al. 2017). Cette tribu regroupe des scolytes à ambrosia au mode de reproduction endogame extrême, ce qui leur confère un fort potentiel invasif et leur permet de maintenir des niveaux de population élevés dans les forêts naturelles (Andersen et al. 2012). En particulier, *Xyleborus* était le genre le plus abondant dans la forêt primaire et secondaire. Le genre *Xylosandrus* était également associé préférentiellement aux forêts naturelles, notamment avec ses deux espèces *X. compactus* et *X. morigerus*. Cette dernière espèce est probablement la plus abondante dans les forêts tropicales primaires et secondaires du Costa Rica (Andersen et al. 2012). Les principales aires de distribution de *Xyleborus* et *Xylosandrus* se trouvent actuellement dans des zones tropicales et subtropicales (Macedo-Reis et al. 2016), mais ces genres comprennent des espèces à populations envahissantes en dehors de zones à climat tropical, dans le sud de l'Europe par exemple (Kirkendall et Faccoli 2010). Par ailleurs, leur très grande gamme de plantes-hôtes semble leur assurer la possibilité de s'installer partout où le climat le permet, d'autant qu'ils peuvent exploiter des plantes en bonne santé



grâce à leurs champignons symbiotiques. Enfin, la tribu Corthylini a montré la plus grande richesse cumulée et elle a pu être associée en particulier à la forêt primaire et à la plantation de balsa grâce à un grand nombre d'espèces indicatrices de ces habitats. On peut citer par exemple le genre *Corthylus*, qui a également été trouvé abondant dans des zones forestière protégées au Mexique et dans des plantations d'*Eucalyptus* (Pérez-De la Cruz et al. 2016, Muller and Andrei 2004). En particulier, *Premnobium cavipennis* semble être une espèce indicatrice de la forêt secondaire, avec une abondance substantielle dans la plantation de balsa. Elle est considérée comme un ravageur important dans les plantations d'*Eucalyptus* au Brésil (Flechtmann et al. 2001, Zanuncio et al. 2001), et elle semble abondante dans des plantations de teck et de balsa d'Equateur (Martinez et al. 2017).

#### ***Variation de composition des communautés de Scolytinae en fonction de variation saisonnière***

Le suivi annuel des communautés de scolytes dans chaque type d'habitat a permis également de mettre en évidence une saisonnalité dans les patrons de variations des compositions en espèces. Il a pu être également montré que l'abondance des insectes était significativement et positivement corrélée à l'humidité relative et aux précipitations dans la forêt secondaire, ce qui pourrait expliquer l'augmentation des captures des espèces numériquement importantes *X. morigerus*, *X. affinis* et *Xyleborus* sp.02 pendant la saison de pluies dans cet habitat. Ceci est cohérent avec Flechtmann et al. (2001) qui ont documenté une augmentation d'abondance des scolytes à ambrosia avec l'augmentation de précipitations au Brésil. Dans la plantation de balsa, l'abondance des insectes était significativement et négativement corrélée à l'humidité relative, ce qui pourrait expliquer une diminution des captures d'espèces du genre *Hypothenemus* pendant la saison des pluies, alors qu'un pic d'abondance a été observé en décembre 2016 pendant la saison sèche. Ceci concorde avec Hulcr et al. (2008) qui ont montré que les espèces d'*Hypothenemus* ne sont pas affectées par la sécheresse et sont particulièrement actives à cette saison. Cependant, il est fort probable que des variables saisonnières autres que climatiques telles que l'état de santé des arbres, le diamètre du tronc, la densité de bois, la teneur en humidité dans le bois, la colonisation de champignons et la composition de la

végétation environnante puissent aussi influencer la dynamique saisonnière des populations d'insectes. Globalement, dans cette étude, la richesse spécifique cumulée et l'abondance étaient plus élevées pendant les mois les plus froids et les plus secs que pendant les mois plus chauds et les plus pluvieux dans la forêt primaire et dans la plantation de balsa. Il est possible que cela reflète un accroissement des populations de scolytes pendant la saison sèche, lorsque les arbres affaiblis par une exposition à la sécheresse ou parce-que la saison des pluies qui précède a généré davantage de branches cassées et d'arbres abattus (soit plus de ressources pour les insectes) lors des tempêtes récurrentes en cette saison.

### ***Détection d'espèces de scolytes à surveiller***

Nous avons confirmé la présence de trois espèces exotiques importantes, *X. compactus*, *X. morigerus* et *P. cavipennis* comme étant des espèces indicatrices pour les forêts naturelles. Les espèces d'insectes introduites sont considérées comme des menaces majeures pour la santé des forêts et la biodiversité en raison du déplacement d'espèces indigènes dans des systèmes gérés et non gérés (Kirkendall et Faccoli 2010). L'étendue de la distribution et l'impact écologique potentiel de ces trois espèces exotiques est encore inconnu, soulignant la nécessité d'une veille sanitaire particulière les concernant. Enfin, le scolyte à ambrosia *C. ochromactonus* est déjà connu pour endommager considérablement les plantations de balsa en Equateur, il a bel et bien été identifié dans cette étude comme espèce indicatrice dans la plantation étudiée. La distribution de cette espèce à l'échelle du pays nécessite également d'être précisée dans le futur.

**CHAPITRE II.** Biologie, dynamique et impact des populations d'un scolyte ravageur des plantations commerciales de balsa en Equateur, *Coptoborus ochromactonus*



## Introduction

L'Équateur est le premier producteur et exportateur mondial de bois de balsa (Midgley et al. 2010) avec plus de 20 000 ha de plantations (Gonzalez Osorio et al. 2010). Cette essence est originaire du Nouveau Monde, il s'étend du sud du Mexique au Brésil, et il est naturalisé en Asie et en Afrique (Brink 2008). L'industrie du balsa est un pilier économique de l'Équateur, avec des principaux importateurs tels que la Chine, les pays d'Amérique du Nord et d'Amérique du Sud, l'Amérique centrale et l'Europe (Jativa 2017). Les plantations de balsa équatoriennes ont été initialement établies dans les zones tropicales humides et à hautes altitudes afin de bénéficier de précipitations annuelles plus élevées, d'une couverture nuageuse constante et de températures plus basses (Midgley et al. 2010). Cependant, d'autres extensions de plantations dans d'autres zones humides telles que les plaines côtières et les collines ont été progressivement vu l'émergence du scolyte à ambrosia *Coptoborus ochromactonus* Smith et Cognato (Stilwell et al. 2014).

En réponse à l'augmentation des dégâts causés par ce nouveau ravageur, les plantations de balsa situées dans des zones humides ont été étendues vers les zones plus sèches de l'Équateur (> 50 Km), où elles étaient supposées moins exposées aux attaques de parasites et de maladies malgré des conditions de croissance moins favorables pour les arbres (Rivano et al. 2015). Actuellement, ces nouvelles plantations sont également attaquées par *C. ochromactonus*, et l'influence de l'environnement local sur les interactions balsa – scolyte n'est toujours pas documentée. En effet, on en sait finalement peu sur les déterminants biotiques et abiotiques de l'activité et la dynamique de *C. ochromactonus* dans les plantations commerciales, malgré les enjeux pour la prévision et la gestion des dégâts que cela porte.

Le scolyte à ambrosia *C. ochromactonus* est un Xyleborini néotropical qui a été décrit suite à d'importantes dégradations de plantations de balsa en 2006 dans les provinces équatoriennes occidentales de Cotopaxi, Guayas, Los Rios et Santo Domingo de los Tsáchilas (Stilwell et al. 2014). La grande majorité des espèces de coléoptères à ambrosia sont considérées comme des espèces opportunistes qui vivent et se reproduisent dans des plantes mourantes et mortes (Wood 2007, Hulcr et al. 2015, Kirkendall et al. 2015, Smith et Hulcr 2015). En revanche, *C. ochromactonus* s'est attaqué à des arbres

apparemment sains (environ 58% d'infestation), avec des taux de mortalité proches de 25%, principalement sur des arbres de petit diamètre (Stilwell et al. 2014). A l'échelle de la parcelle et de l'arbre, bien que les dégâts causés par *C. ochromactonus* aient été décrits, les connaissances sur la biologie et l'écologie de ce scolyte restent encore partielles et trop peu abondantes (Stilwell et al. 2014).

Ce chapitre propose d'apporter des nouvelles connaissances sur la biologie, la dynamique et l'impact des populations de *C. ochromactonus* dans les plantations commerciales de balsa, ainsi que sur les facteurs environnementaux (i.e. le climat) et la croissance de l'arbre (i.e. l'âge) impliqués dans l'interaction balsa – scolyte.

La première partie du chapitre a pour objet la biologie et le développement de *C. ochromactonus* sur balsa et la structure du système de galeries. Ce travail est le fruit d'une collaboration dans un projet de recherche mené au laboratoire d'entomologie de l'Université de Quevedo en Equateur, dans une période précédant ma thèse, et dont la valorisation a été entreprise au cours de ma première année de thèse. Après avoir ainsi caractérisé le comportement et le développement de *C. ochromactonus* dans les galeries du bois de balsa, la seconde partie de ce chapitre aborde l'influence de facteurs climatiques et de l'âge des arbres hôtes sur la dynamique et l'impact des populations de *C. ochromactonus* dans les plantations.

## Biologie de *Coptoborus ochromactonus* en Equateur

**Article 2:** Castro J., S.M. Smith, A.I. Cognato, D. Lanfranco, M. Martinez and M. Guachambala. 2019. Life cycle and development of *Coptoborus ochromactonus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), a pest of balsa. *Journal of Economic Entomology*. 112: 729-735.

Le genre *Coptoborus* Hopkins, 1915 contient 22 espèces endémiques des forêts tropicales et forêts subtropicales du Nouveau Monde dont 18 sont présentes en Amérique du Sud (Wood 2007, Alonso-Zarazaga et Lyal 2009, Stilwell et al. 2014). Comme les autres Xyleborini, les espèces *Coptoborus* creuser des galeries dans l'aubier de leurs arbres hôtes et cultiver un champignon qui sert de nourriture aux adultes et aux larves (Beaver 1989, Wood 2007, Stilwell et al. 2014). Ils sont généralement des décomposeurs bénins qui colonisent les arbres morts ou moribonds, mais les attaques récurrentes de *C. ochromactonus* sur des arbres vivants laisse supposer des impacts et des dynamiques variables entre les espèces de ce genre.

Selon Stilwell et al. (2014), la colonisation des arbres de balsa par *C. ochromactonus* commence avec les adultes qui creusent des galeries dans les branches supérieures. A mesure que la densité des galeries augmente, une phase de dépérissement des arbres commence, reflétant très probablement une altération de la physiologie de son hôte. L'arbre perd alors ses capacités de défense et la mort intervient plus ou moins vite selon l'intensité des attaques. Les symptômes d'infestation sont une décoloration des feuilles, la présence de trous d'entrée dans l'écorce associés à une substance résineuse exsudée à la surface de l'écorce et recouverts de sciure dans les branches et le tronc.

Les cycles de vie de quelques Xyleborini ont été étudiés et partagent des caractéristiques générales de développement, qui dure en général de 25 à 30 jours (Ngoan et al. 1976, Hara et Beardsley 1979, Brar et al. 2013). L'architecture du système de galerie est variable parmi les espèces, et le champignon ambrosia nutritionnel est variable parmi les genres. Les Xyleborini sont connus pour être associés aux genres fongiques *Ambrosiella* Brader (Microascales), *Raffaelea* Arx & Hennebert (Ophiostomatales), *Fusarium* Link

(Hypocreales) et *Flavodon* Ryvar den (Polyporales) (Batra 1985, Beaver 1989, Fraedrich et al. 2008, Kasson et al. 2013, Li et al. 2015). Cependant, il n'existe à ce jour aucune étude de cycle de vie du genre *Coptoborus* en particulier. Ce travail a donc pour objectifs de préciser la biologie et le développement de *C. ochromactonus* sur balsa, d'en décrire la structure du système de galeries et de réaliser une analyse morphologique du champignon symbiotique colonisant celles-ci.

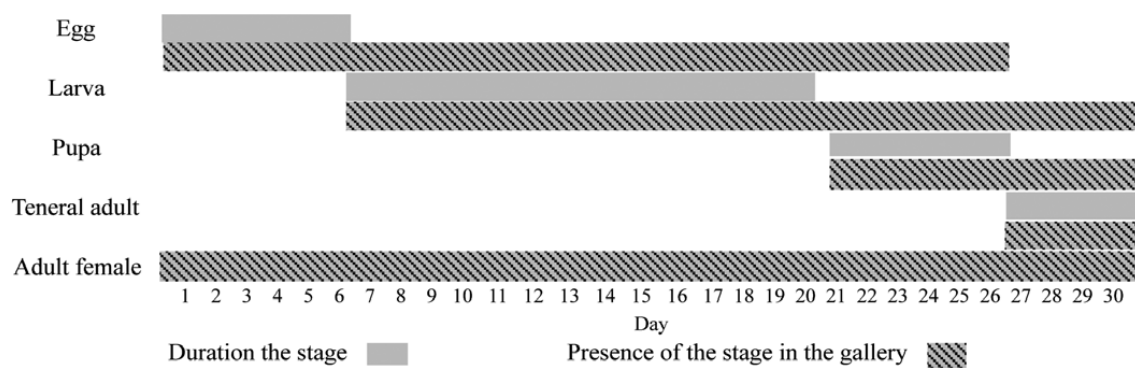
### **Approche menée pour l'étude du cycle de développement et du système de galeries**

Pour étudier le cycle de vie de *C. ochromactonus*, deux arbres de balsa infestés par *C. ochromactonus* de 18 m et 34 m de hauteur ont été coupés et collectés dans une plantation commerciale de balsa, situé dans une zone climatique humide (00°13'50" S et 79°10'40" W, 182 m d'altitude). Trente pièces de bois de 10 cm de diamètre et 3 cm d'épaisseur et présentant des signes d'attaque ont été placées dans des récipients individuels en incubateurs. Les galeries présentes ont été inspectées pour la présence d'œufs et de nymphes, puis suivies pour le contrôle de l'apparition des différents stades de développement, incluant les larves de premier stade issues des œufs repérés. La largeur de la capsule céphalique de chaque stade larvaire émergeant a été mesurée et le nombre de stades a été déduit de ces mesures dans une population de 277 larves. Un total de 16 galeries provenant de 10 branches de balsa a été décrit qualitativement et quantitativement, puis inspecté pour la présence de champignon sur les parois des galeries, dont une culture a été réalisée sur boîtes de Petri puis analysée morphologiquement en microscopie électronique.

### **Caractérisation qualitative et quantitative des stades de développement de *C. ochromactonus***

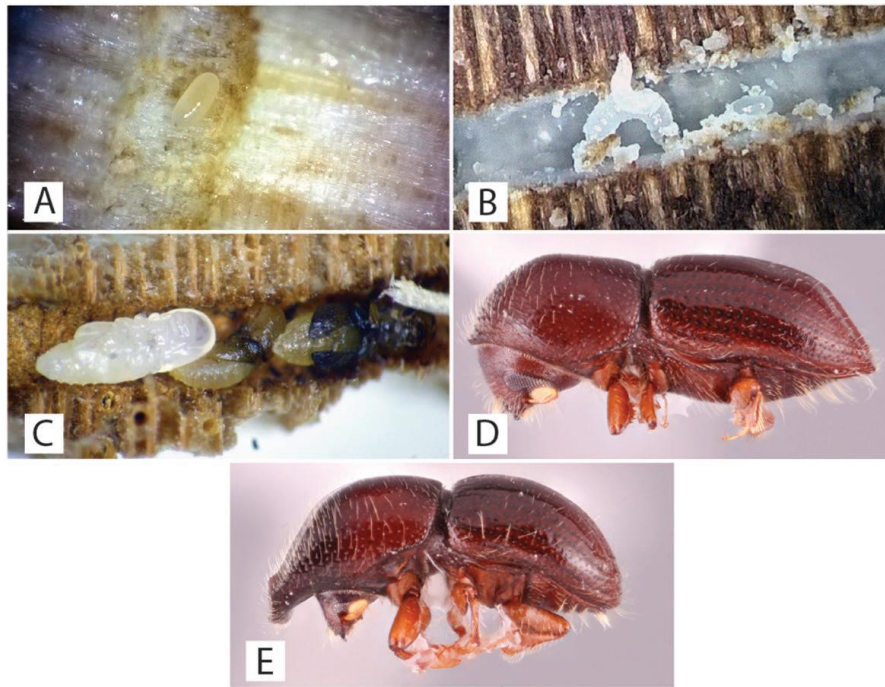
Nous avons estimé que la durée moyenne du cycle de vie de *C. ochromactonus* est de  $30 \pm 2,8$  jours ( $n=38$ ) à 25°C. Le développement embryonnaire dure environ  $6,1 \pm 0,75$  jours ( $n=72$ ). Le développement nymphal dure environ  $5,54 \pm 0,51$  jours ( $n=28$ ) et la maturation

des adultes (dits « ténéraux ») dure environ  $3,7 \pm 0,53$  jours ( $n= 30$ ) (Fig. 1). La sex-ratio des mâles sur les femelles était 1 : 7 ( $n=93$ ). Les œufs sont de forme ovoïde, translucides et de couleur blanche ou crème (Fig. 2a). Ils mesurent  $0,66 \pm 0,03$  mm de long et  $0,31 \pm 0,02$  mm de large ( $n=50$ ), et ils sont déposés par les femelles par groupes de 2 à 15 œufs dans les galeries maternelles ( $n= 24$ ). Les larves sont apodes, blanches, avec une capsule céphalique brun foncé et des mandibules visibles (Fig. 2b). Le développement larvaire comprend trois stades, dont la largeur de la capsule céphalique croît progressivement (de tailles respectives 0,23, 0,33 et 0,42 mm). Le taux de croissance de la capsule céphalique a été estimé à 1,35. La nymphe est libre et de couleur blanche (Fig. 2c). L'adulte mature (ténéral) est de couleur marron clair. Il présente un dimorphisme sexuel de taille : la femelle (Fig. 2d) mesure en moyenne 2,6 mm et possède un pronotum arrondi tandis que le mâle (Fig. 2e) mesure en moyenne 2 mm et possède un pronotum carré et excave.



**Figure 1.** Présence et durée des stades de développement de *C. ochromactonus* dans les bois de balsa, à 25°C, pendant 30 jours.

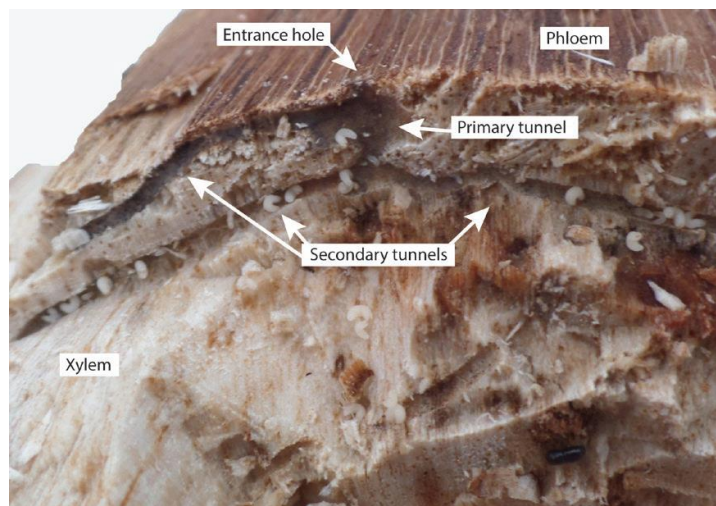




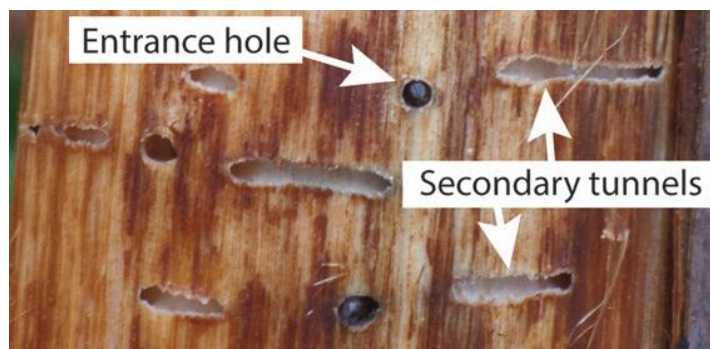
**Figure 2.** Stades de développement de *C. ochromactonus* : a) œuf, b) larve, c) nymphe, d) femelle adulte et e) mâle adulte.

### Système de galeries

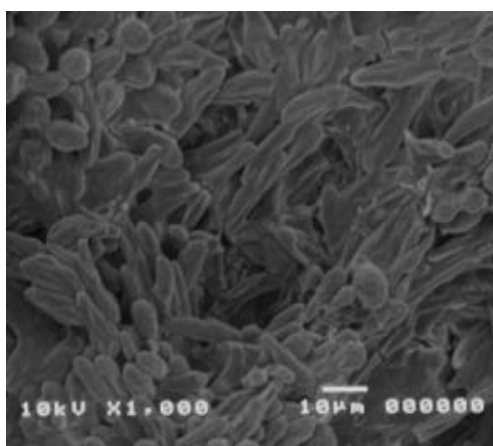
Nous avons observé que c'est l'adulte femelle qui initie la galerie (n= 138), avec un trou d'entrée d'un diamètre moyen de  $2 \pm 0,01$  mm (n= 48) et orienté perpendiculairement au tronc dans un plan horizontal. Le système de galeries consistait en un tunnel primaire et trois tunnels secondaires (Fig. 3). Le tunnel primaire avait une longueur moyenne de  $7 \pm 1,41$  mm et était dirigé vers le phloème. Le premier tunnel secondaire avait une longueur moyenne de  $18 \pm 2,1$  mm et a été excavé dans un plan horizontal entre l'écorce et le phloème (Fig. 4). Les deux tunnels secondaires supplémentaires ont été creusés jusqu'au xylème, de longueurs respectives  $26 \pm 4,2$  et  $20 \pm 3,5$  mm. Les mâles ont émergé du système de galeries 30 – 35 jours après l'initiation de la galerie (n= 28). Nous avons observé que les mâles se déplacent sur la surface du tronc et s'approchent des tunnels d'entrée, alors que les femelles exposent l'apex de leurs élytres à l'extérieur du trou d'entrée (Fig. 4). Les parois de galeries étaient couvertes d'une couche de champignons de couleur blanche, dont les observations au microscope ont révélé des caractéristiques du genre *Fusarium* (Hypocreales), c'est-à-dire la présence de conidiophores pénicillés et de conidies ovales (Fig. 5).



**Figure 3.** Coupe transversale d'une galerie de *C. ochromactonus* creusée dans le bois de balsa.



**Figure 4.** Vue extérieure des galeries de *C. ochromactonus* dans le bois de balsa écorcé.



**Figure 5.** Hyphes de *Fusarium* sur les parois des galeries de *C. ochromactonus* (microscopie électronique à balayage).

## Conclusions

Ces travaux sur le comportement et le développement de *C. ochromactonus* dans les galeries du bois de balsa nous a permis de préciser des éléments clés de son cycle biologique et d'identifier les sources possibles des dégâts qu'il occasionne à l'échelle de l'arbre.

Nous avons détecté une succession de trois stades larvaires, corroborant les observations faites chez d'autres espèces de scolytes telles que *Xyleborus celsus* Eichhoff (Gagne et Kearby 1979), *Xyleborus ferrugineus* (Norris et Chu 1985), *X. glabratus* (Brar et al. 2013), *Euwallacea fornicatus* (Gadd 1947), et *Xylosandrus germanus* (Weber et McPherson 1983). Les largeurs de capsules céphaliques sont également similaires à celles rapportées pour *E. fornicatus*, *X. germanus* et *X. glabratus* (Brar et al. 2013). Le taux de croissance (1,35) a été trouvé également similaire à celui d'autres Xyleborini tels que *X. germanus* (1,32) et *X. glabratus* (1,36), et il se situe dans la gamme des taux de croissance des scolytes (1,14 – 1,48 ; Weber et McPherson 1983, Brar et al. 2013). Les durées des stades larvaires à 25°C sont comparables à celles rapportées pour *X. glabratus* (Brar et al. 2013).

D'une manière générale dans la tribu Xyleborini, les femelles creusent les galeries qui atteignent le xylème où elles cultivent des champignons ambrosia symbiotiques pour se nourrir (Brar et al. 2013). Nous avons constaté dans le système de galeries de *C. ochromactonus* deux tunnels secondaires atteignant le xylème, et un autre tunnel creusé atteignant le phloème. Pour les autres espèces de Xyleborini, les tunnels secondaires sont creusés dans le xylème uniquement (Brar et al. 2013). La longueur et l'emplacement des tunnels des Xyleborini varient généralement selon le genre et rarement selon l'espèce (Wood 2007).

Les systèmes de galeries des Xyleborini varient généralement selon le genre, et rarement par espèces (Wood 2007). Le système de galeries du genre *Coptoborus* est globalement en forme d'étoile, avec des variations du nombre, de la longueur et de l'emplacement des tunnels selon les espèces (S. M. Smith, observation personnelle). Dans les galeries *C. ochromactonus*, l'emplacement d'un tunnel secondaire entre l'écorce et le phloème ou dans le phloème est plutôt inhabituel en comparaison de deux autres espèces

de *Coptoborus* et d'autres Xyleborini néotropicaux où des tunnels secondaires sont creusés seulement dans le xylème (Weber et McPherson 1983, Biedermann et al. 2009, Brar et al. 2013, S. M. Smith et A. I. Cognato, observation personnelle). Cette colonisation et l'atteinte du phloème par les galeries secondaires est possiblement l'une des causes physiologiques de dépérissement et de mortalité d'arbres sains attaqués par *C. ochromactonus*, à l'instar de nombreuses espèces agressives de scolytes (Paine et al. 1997).

Le sexe-ratio (femelle : mâle) varie considérablement chez les Xyleborini, avec des valeurs de (82: 1) chez *Webbia biformis* et de (2: 1) *Anisandrus dispar* (Kirkendall 1993). Celui de *C. ochromactonus* (7: 1) se situe dans cette gamme de variation. Ce déséquilibre de sexe-ratio en faveur des femelles est courant chez les Xyleborini, en raison de leur système reproducteur haplodiploïde (endogame polygamie), qui produit très peu de mâles incapables de voler. Les mâles s'aventurent rarement en dehors de leur galerie natale et l'accouplement se fait entre frères et sœurs dans les galeries (Kirkendall 1993, Cognato et al. 2011). Cependant, nous avons observé que les mâles émergents de *C. ochromactonus* peuvent quitter la galerie natale et se déplacer sur la surface de tronc. Ils tendent à s'approcher des tunnels d'entrée où les femelles exposent l'apex de leurs élytres à l'extérieur de l'orifice, probablement pour l'accouplement. Ce comportement des mâles a été aussi observé chez *Camptocerus noel* Smith and Cognato, *E. fornicatus* et *X. germanus* (Smith and Cognato 2011).

La similitude des systèmes de reproduction parmi les espèces de Xyleborini supporte la similitude des caractéristiques estimées ici chez *C. ochromactonus* avec les cinq autres espèces de Xyleborini donc le cycle de vie a déjà été étudié: *Xylosandrus compactus*, *Xylosandrus crassiusculus* (Motschulsky), *X. germanus*, *X. glabratus* et *Xyleborinus saxesenii*. Cependant, ces espèces sont polyphages, alors que *C. ochromactonus* est monophage et est actuellement connu pour être associé uniquement au balsa. Il était ainsi établi que les Xyleborini sont également polyphages et peuvent coloniser et se reproduire avec succès dans une grande diversité de familles de plantes ligneuses (Hulcr et al. 2007). Il y a quelques exceptions, notamment *X. glabratus* qui préfère les lauracées et *X. vochysiae* Kirkendall qui est spécialisé sur une seule espèce de *Vochysia* Aubl. (Kirkendall 2006). Compte tenu de la découverte récente de *C. ochromactonus*, on ignore encore si cette espèce est vraiment spécifique au balsa ou si la spécificité d'hôte apparente résulte d'un

échantillonnage inadéquat de forêts naturelles. Les suivis de piégeage présentés dans le chapitre 1 semblent soutenir la première hypothèse car *C. chromactonus* n'a été capturé qu'en plantation de balsa, mais l'échantillonnage d'un plus grand nombre de sites naturels reste nécessaire pour confirmer la monophagie de ce scolyte.

## Dynamique et impact des populations de *Coptoborus ochromactonus* en Equateur

**Article 3.** Martinez M., A.I. Cognato, M. Guachambala, J.P. Urdanigo and T. Boivin. 2019. Effects of climate and host age on flight activity, prevalence and intensity of infestations by *Coptoborus ochromactonus* Smith and Cognato (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) in commercial balsa plantations of Ecuador. Soumis à *Journal of Economic Entomology*, le 08 avril 2019

Dans cette deuxième partie, je me suis intéressée à l'interaction balsa – *C. ochromactonus* à l'échelle de la population. Je me suis focalisée sur l'influence de facteurs climatiques et l'âge des plantations commerciales sur la dynamique et l'impact des populations de *C. ochromactonus*. L'objectif central était d'évaluer si l'installation de plantations dans des zones à climat plus sec pouvait se traduire par une pression parasitaire moins forte que dans les zones à climat humide où la culture de balsa avait été initiée et présente d'importants dégâts.

J'ai conduit pour cela un suivi annuel de populations de *C. ochromactonus* dans un site sous l'influence d'un climat sec et dans un site sous l'influence d'un climat humide. Chacun de ces sites est composé de plantations de balsa de classes d'âge 0-1, 1-2 et 2-3 ans. Dans ce contexte, j'ai caractérisé la dynamique saisonnière de vol des scolytes adultes, la prévalence des infestations d'arbres vivants et de mortalité des arbres dans ces différentes plantations. J'ai également évalué les variations d'intensité d'infestation individuelle des arbres et leur relation avec le niveau de défoliation individuel estimé à l'intérieur de chaque zone climatique. Ces travaux ont montré que le climat et l'âge des plantations peuvent influencer significativement, mais de manière variable, le comportement et l'impact des populations de *C. ochromactonus* sur le balsa. Ces résultats fournissent des connaissances de base pour la gestion de *C. ochromactonus* dans les plantations de balsa.

## **Approche globale menée pour l'étude de la dynamique spatio-temporelle de *C. ochromactonus***

La dynamique saisonnière de vol d'adultes *C. ochromactonus* a été évaluée grâce à l'installation de trois pièges attractifs à l'éthanol à 14 m d'hauteur dans trois parcelles de 500 m<sup>2</sup> pour chaque classe d'âge de balsa. Ce dispositif a été mis en place dans un site humide et dans un site sec (total de 27 pièges par site). Les insectes ont été récoltés et dénombrés tous 15 jours, de décembre 2016 à novembre 2017.

Les prévalences d'infestation par *C. ochromactonus* ont été estimées par les proportions d'arbres vivants montrant des signes avérés d'attaques, et d'arbres attaqués morts, sur le nombre total d'arbres présents dans neuf autres parcelles de 500 m<sup>2</sup> par classe d'âge, dans chaque site (54 parcelles suivies au total).

La relation entre le niveau de défoliation individuel et l'intensité d'infestation individuelle a été explorée par la combinaison d'une approche sur pieds du pourcentage de défoliation et une analyse quantitative fine et exhaustive des attaques sur des sous-échantillons d'arbres coupés. Ceci a été réalisé pour chaque classe d'âge de balsa et pour chaque site (45 ont été coupés et inspectés au total par site).

Les deux sites d'étude ont été caractérisés et différenciés sur le plan climatique par leurs des moyennes mensuelles respectives de température maximale, moyenne et minimale, d'humidité relative et de précipitations. Dans la mesure où ces deux sites étaient similaires en surface, environnement proche et composition floristique (monoculture de balsa), un effet 'site' a été utilisé comme proxy d'un effet 'climat' sur les différentes variables analysées.

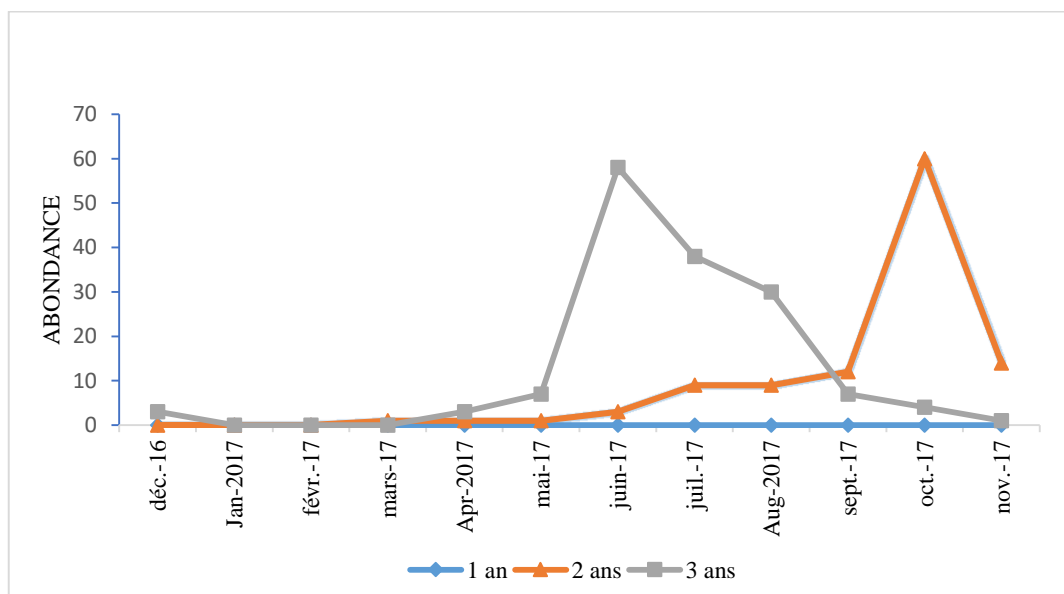
Les effets fixes du site, de l'âge et de leur interaction sur le log de l'abondance totale ont été testés à l'aide d'un modèle mixte linéaire généralisé (GLMM Poissons) avec la parcelle d'étude en facteur aléatoire. Une approche similaire a été développée pour tester ces mêmes effets sur la prévalence de l'infestation d'arbres vivants et de la mortalité des arbres (GLMM binomiale). Les effets du site et de l'âge sur le log de l'intensité d'infestations individuelle ont été testés à l'aide d'un modèle linéaire généralisé (GLM quasi-Poisson) avec la parcelle d'étude en facteur aléatoire. Les effets de l'âge, de l'intensité d'infestation et de leur interaction sur le pourcentage de défoliation individuelle ont été testés, au sein de

chaque site d'étude, à l'aide d'un GLM quasi-Poisson. Enfin, la relation entre les variables climatiques mensuelles et les abondances mensuelles de *C. ochromactonus* a été testée par une analyse de corrélation de Spearman.

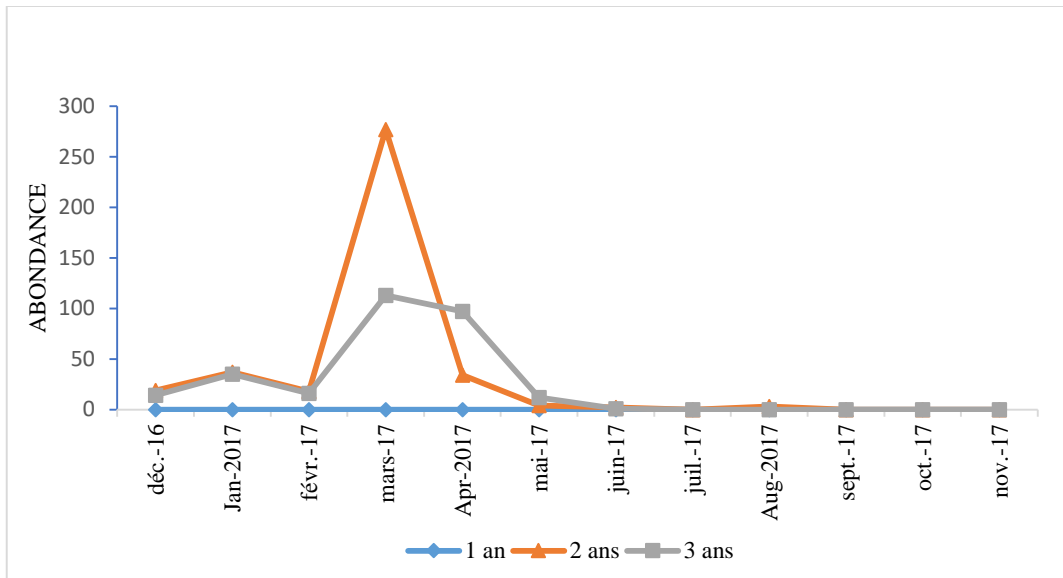
### Dynamique saisonnière de vol et effets du climat et de l'âge des plantations sur l'abondance totale de *C. ochromactonus* dans les pièges

Un total de 943 individus a été capturé, soient 261 individus (27,67% du total des captures) dans le site humide et 682 individus (72,32%) dans le site sec. La dynamique saisonnière diffère d'un site à l'autre, les effectifs de capture augmentent pendant la saison sèche (d'avril à novembre 2017) dans le site humide et pendant la saison des pluies (de février à mai 2017) dans le site sec (Fig. 1A). Des différences de dynamique saisonnière ont été également observées entre les plantations de 1-2 ans (de septembre à novembre 2017) et de 2-3 ans (de mai à septembre 2017) dans le site humide, mais il semble qu'un pic de vol en octobre dans la plantation de 1-2 ans résulte uniquement d'une augmentation brutale des captures pour une seule date de collecte à cette période. Dans le site sec, les vols d'adultes ont montré une coïncidence temporelle entre les plantations de 1-2 et de 2-3 ans (mars à avril 2017) (Fig. 1B). Aucun *C. ochromactonus* n'a été capturé dans les plantations de 0-1 an dans les deux sites sur toute la durée du suivi.

A





**B**

**Figure 1.** Dynamique saisonnière de vol d'adultes *C. ochromactonus* collectés dans des plantations commerciales de balsa sous climat humide (A) et sec (B), en Equateur de décembre 2016 à novembre 2017. Les suivis ont été réalisés dans des plantations âgées de 1, 2, et 3 ans.

L'abondance totale de *C. ochromactonus* dans les pièges ne différait pas significativement entre les sites, les classes d'âge des plantations et aucune interaction significative entre ces deux facteurs n'a été détectée (Tableau 1). Au sein de chaque site, les patrons de variation d'abondances mensuelles étaient significativement associés aux variables climatiques, suggérant une dynamique saisonnière de vol de *C. ochromactonus* au moins en partie liée au climat. Dans le site humide, l'abondance mensuelle était corrélée significativement et positivement à l'humidité relative et négativement aux précipitations (Tableau 2). Dans le site sec, l'abondance était corrélée significativement et positivement à la température minimale et aux précipitations (Tableau 2).

**Tableau 1.** Analyse de variance dans un modèle GLMM évaluant les effets du site (humide et sec), de l'âge des plantations et de leurs interactions sur l'abondance totale, le niveau d'infestation individuel et la prévalence de l'infestation par les arbres vivants et de la mortalité causée par *C. ochromactonus* dans des plantations de balsa en Equateur.

	Abondance totale			Intensité d'infestations			Prévalence					
							Infestation des arbres vivants			Mortalité des arbres		
	d.f.	$\chi^2$	<i>P</i>	d.f.	$\chi^2$	<i>P</i>	d.f.	$\chi^2$	<i>P</i>	d.f.	$\chi^2$	<i>P</i>
Site	1	8.257	0.05	1	3.242	0.0213*	1	0.038	0.845	1	0.278	0.597
Age	1	0.497	0.480	1	23.66	< 0.0001*	1	14.79	0.0001*	1	1.714	0.19
Site: Age	1	0.393	0.530	-	-	-	1	4.647	0.031*	1	1.973	0.16

\* Signification statistique au seuil de 5%.

**Tableau 2.** Coefficients de corrélation de Spearman entre les variables climatiques mensuelles et les abondances mensuelles de *C. ochromactonus* dans des plantations de balsa dans un site sous climat humide et un site sous climat sec en Equateur.

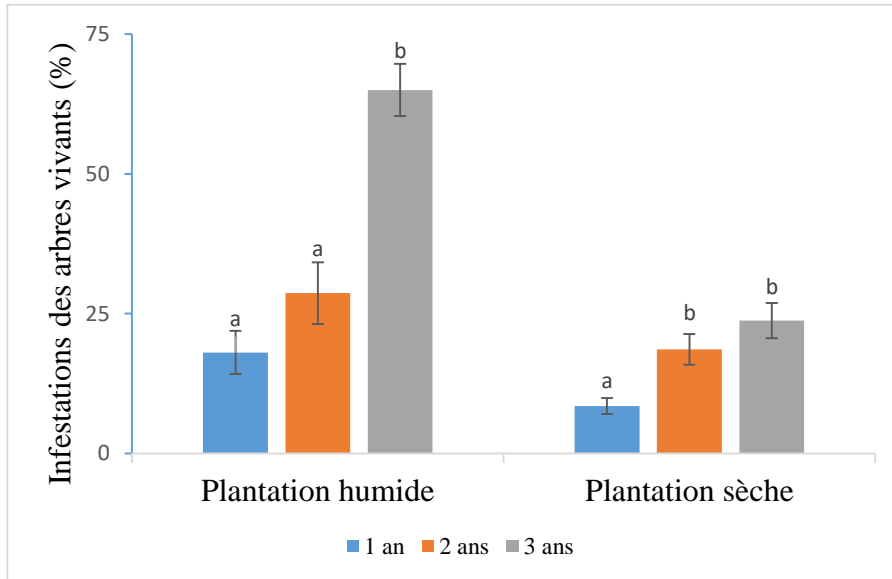
	Plantation humide		Plantation sèche	
	$r_s$	<i>P</i>	$r_s$	<i>P</i>
Humidité relative (%)	0.86	0.0003	0.28	0.3805
Température maximale (°C)	-0.45	0.1403	-0.55	0.0633
Température moyenne (°C)	0.68	0.0151	0.83	0.0007
température minimale (°C)	-0.36	0.245	0.79	0.0024
Précipitations (mm)	-0.63	0.029	0.76	0.0042

### Effets du climat et de l'âge des plantations sur la prévalence des arbres infestés vivants et sur la mortalité des arbres

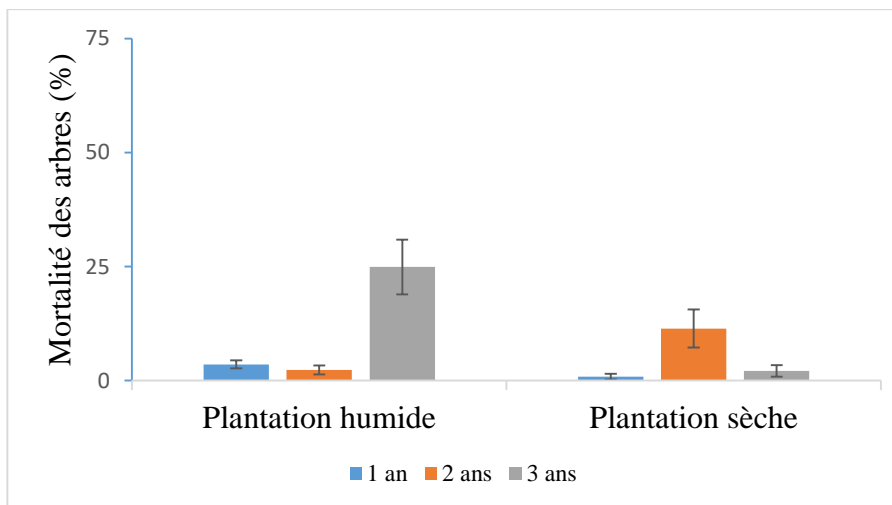
L'examen visuel de 735 et 874 arbres respectivement dans les sites humide et sec, a montré que 37,24% (site humide) et 16,94% (site sec) étaient des arbres infestés vivants, et que 10,29% (site humide) et 4,80% (site sec) étaient des arbres morts suite à des attaques de *C. ochromactonus*. La prévalence des arbres infestés vivants ne différait pas significativement entre les sites, mais les arbres plus âgés étaient largement plus infestés que les arbres plus jeunes dans le site humide, révélant une interaction significative entre les facteurs site et âge des plantations (Tableau 1 ; Fig. 2). Enfin, la prévalence de la

mortalité des arbres ne différait pas significativement selon les sites, l'âge et aucune interaction entre ces deux facteurs n'a été décelée (Tableau 1).

**A**



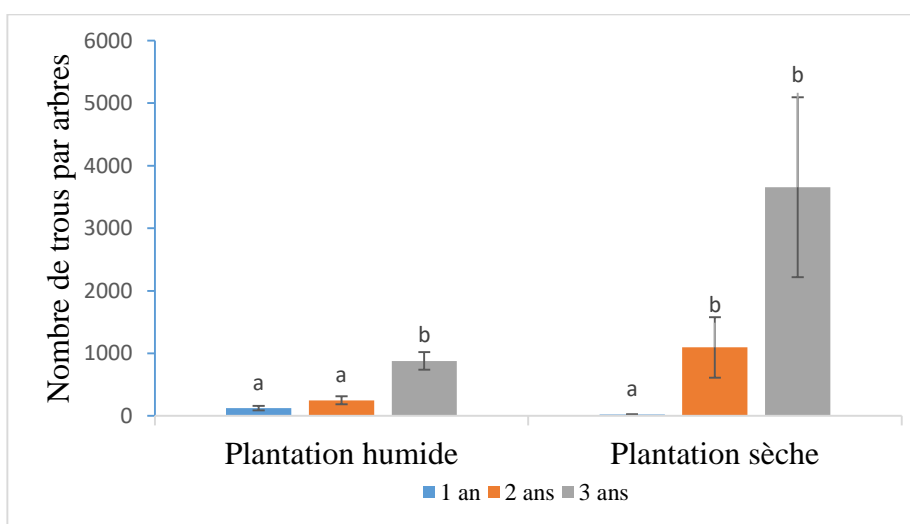
**B**



**Figure 2.** Prévalence moyenne de l'infestation d'arbres vivants par *C. ochromactonus* (A) et de mortalité des arbres liées aux attaques du scolyte (B) sous climat humide et sec en Equateur, dans des plantations âgées de 1, 2, et 3 ans. La présence de lettres différentes indique une différence statistique significative par un test post-hoc sur le modèle GLMM ( $P < 0.05$ ).

## Effets du climat et de l'âge des plantations sur l'intensité d'infestation individuelle, et liens avec le niveau individuel de défoliation

L'intensité d'infestation individuelle par *C. ochromactonus* a été influencée par le type de site (Tableau 1), avec un nombre moyen de trous d'entrée par arbre plus élevée dans le site sec ( $1590,6 \pm 545,4$  trous) que dans le site humide ( $417,3 \pm 72,1$  trous) (Fig. 3). L'âge des plantations a eu également une influence significative sur cette variable, avec les arbres âgés plus fortement infestés que les arbres d'un an dans les deux sites (Fig. 3).



**Figure 3.** Niveau d'infestation individuelle moyen de balsa par *C. ochromactonus* dans des plantations sous climat humide et sec, âgées de 1, 2, et 3 ans en Equateur. La présence de lettres différentes indique une différence statistique significative par un test post-hoc sur le modèle GLMM ( $P < 0.05$ ).

Le niveau individuel de défoliation des arbres a été fortement influencé par l'intensité d'infestation dans les sites humide et sec (Tableau 3), ce qui s'est traduit par une augmentation du pourcentage individuel de défoliation avec l'augmentation du nombre de trous par arbre. Aucun effet de l'âge des plantations sur la défoliation n'a été détecté (Tableau 3).

**Tableau 3.** Analyse de variance dans un modèle GLM évaluant l'effet de l'âge de la plantation, du niveau d'infestation individuelle et de leurs interactions sur le pourcentage de défoliation dans des plantations de balsa dans un site sous climat humide et un site sous climat sec, en Equateur.

	Plantation humide			Plantation sèche		
	d.f.	$\chi^2$	<i>P</i>	d.f.	$\chi^2$	<i>P</i>
Age	2	5.1500	0.0761	2	4.7172	0.09455
Intensité d'infestation	1	5.5286	0.0187*	1	16.966	0.00003*
Age: Intensité d'infestation	2	3.2645	0.1954	2	4.9667	0.0834

## Conclusions

Cette étude a permis de mettre en évidence d'importantes variations spatio-temporelles de l'occurrence et de l'impact d'un insecte ravageur important de la production de bois en Equateur. L'une des conclusions principales de cette étude est que le climat et l'âge des plantations peuvent influencer à la fois la dynamique saisonnière de vol et les profils d'infestation de *C. ochromactonus* dans les plantations commerciales de balsa.

### ***Dynamique saisonnière de vol de C. ochromactonus dans les plantations commerciales de balsa***

Dans le site humide, les pics de vol de *C. ochromactonus* ont eu lieu plusieurs mois après ceux observés dans le site sec, et ils ont également couvert une plus grande période au cours de l'année (10 mois contre 5 mois). L'absence de capture de *C. ochromactonus* dans les plantations d'un an dans les deux sites suggère que cette classe d'âge n'est peut-être pas attractive pour l'insecte, qui n'aurait pas colonisé ces parcelles jeunes. Une explication possible pour cette observation serait une absence de lignification des arbres durant la majorité de la période de piégeage au cours de cette première année suivant la plantation. Ces résultats de piégeage semblent corroborer d'autres types de variations spatiales de l'activité saisonnière de cette espèce (Castro 2016) et d'autres Scolytinae (Saruhan et Akyol 2012).

La dynamique saisonnière de vol de *C. ochromactonus* serait également influencée par certaines conditions climatiques. Parmi elles, l'humidité relative et les précipitations ont influencé l'activité de vol des femelles, l'abondance des pièges étant positivement

corrélée à une humidité plus élevée et à de moindres précipitations pendant la saison sèche dans le site humide, et à davantage de précipitations pendant la saison des pluies dans le site sec. Cela corrobore les observations de Flechtmann et al. (2001) sur une activité accrue de scolyte à ambrosia suite à une intensité de précipitations croissante dans une plantation forestière subtropical au Brésil. Un tel ajustement phénologique des scolytes à ambrosia aux changements climatiques saisonniers coïncide probablement avec des niveaux d'humidité favorables à la croissance de leurs champignons (Lee et al. 2011), ce qui pourrait être le cas de *C. ochromactonus* avec des vols préférentiels lors de périodes à humidité relative élevée lors de la saison sèche (Stilwell et al. 2014, Castro et al. 2019). Dans les zones climatiques humides, la durabilité annuelle de conditions environnementales favorables au développement de champignons peut être un facteur d'activité de vol quasi continue chez *C. ochromactonus* (Stilwell et al. 2014, Castro et al. 2019). Un certain nombre de Scolytinae ne sont toutefois pas sensiblement affectées par la saison sèche, car les stress hydriques associés réduisent les capacités de défense de l'hôte (Hulcr et al. 2008, Durand-Guillman et al. 2014). La présence de branches cassées ou d'arbres abattus par le vent ou les tempêtes au cours de la saison des pluies qui précédait peut constituer une ressource abondante favorable à la croissance des populations de scolytes (Sittichaya et al. 2012).

### ***La prévalence des arbres infestés vivants et de la mortalité***

Aucune différence dans la prévalence des attaques sur des arbres vivants et de la mortalité suite aux attaques n'a été détectée entre le site humide et le site sec dans cette étude. Ceci suggère, pour la première fois, que les plantations de balsa sont exposées à des risques similaires concernant cet organisme nuisible, quelles que soient les conditions climatiques et malgré une période de vol plus courte dans un climat plus sec.

Les plantations d'arbres plus âgés sont plus largement infestées que celles comportant des arbres plus jeunes, et ce quel soit le type de plantation. Ceci résulte probablement du fait que la plus grande taille des arbres de 3 ans confère un apport nutritif plus élevé dans les tissus hôtes, donc par exemple une humidité plus élevée et un phloème plus épais favorisant la survie des larves et l'accroissement de la taille des populations (Yamakasi et Futai 2008). Les arbres plus gros et plus vieux peuvent également offrir aux

insectes des conditions de microclimat plus durables et plus favorables, en raison canopée plus dense et étendue par rapport aux arbres plus jeunes. Yamakasi et Futai (2008) soulignent que les arbres plus âgés sont davantage vulnérables et sujets aux attaques d'insectes et de maladies, comme chez *Quercus crispula* dont la résistance à *Platypus quercivorus* diminue avec l'âge. Cependant, on peut rappeler que ce que l'on appelle des arbres plus âgés dans cette étude ne sont que des arbres de 3 ans, et qu'ils possèdent encore très probablement des capacités de résistance supérieures à des arbres adultes plus âgés en forêts naturelles. Une autre explication réside peut-être également dans la quantité de bois mort non gérée, ressource potentielle pour les scolytes à l'échelle de la plantation, qui s'accumule sur le sol jusqu'à la récolte des arbres. On sait que le volume de bois mort et les antécédents de gestion sont des facteurs déterminants dans le comportement et la dynamique locale des scolytes (Ulyshen et Sheehan 2017).

#### ***Dommmages provoqués pour les attaques de C. ochromactonus***

Ces travaux montrent que, dans les deux sites, les individus de balsa plus âgés étaient plus intensément infestés, avec un niveau de dommages infligé par les insectes particulièrement important dans le site sec pour la classe d'âge 2-3 ans. Cette dernière observation suggère que des conditions de sécheresse durant la saison sèche et des précipitations inférieures au site humide pendant la saison de pluies génèrent des conditions de stress hydrique susceptibles d'augmenter la vulnérabilité des arbres aux attaques de scolytes, notamment dans le site sec (Krams et al. 2012). Les réactions des arbres au stress environnementaux incluent principalement l'émission d'éthanol, qui agit comme un signal chimique attractif pour les insectes (Rager et al. 2018). Dos Santos et al. (2015) ont montré que le déficit hydrique entraînait d'importants changements dans les processus physiologiques et métaboliques affectant la transpiration, la production d'amidon et des glucides solubles totaux qui diminuent la résistance au stress des arbres de balsa. Dans cette étude, un potentiel extrêmement élevé d'infestations de *C. ochromactonus* avant la récolte a pu être mis en évidence, quel que soit l'environnement climatique (environ 1000 à 6000 perforations par arbre de 3 ans en fonction des sites). Cependant, bien que les attaques de *C. ochromactonus* semblent se produire de préférence sur des arbres plus âgés, nous ne pouvions pas quantifier l'accroissement annuel du

nombre d'attaques sur chaque individu car le comptage exhaustif des trous d'entrée nécessitait une approche destructive. La surveillance sur le terrain a montré que des intensités d'attaques successives et massives peuvent conduire à la défoliation totale et à la mort des arbres en un mois après l'installation des insectes dans l'arbre de balsa. Il est donc probable qu'une intensité d'infestation individuelle plus élevée sur des arbres vivants de 3 ans résulte d'une accumulation d'infestations annuelles au cours de la croissance des arbres encore résistants jusqu'à la récolte.

Enfin, un lien fort entre l'impact de *C. ochromactonus* sur la santé des arbres et l'intensité d'infestation individuelle a été également mis en évidence. L'augmentation des attaques réussies de *C. ochromactonus* (nombre de perforations) sur le tronc et les branches a entraîné une augmentation du pourcentage de défoliation, indépendamment de l'âge de l'arbre. Stilwell et al. (2014) ont suggéré que le feuillage des branches supérieures commence à se flétrir, jusqu'à ce que les branches meurent à mesure qu'augmente le nombre d'infestation réussies par *C. ochromactonus*. Un lien entre le dépérissement de la couronne et la mortalité des arbres a été proposé pour des chênes mongols suite à des infestations individuelles croissantes causées par *Platypus koryoensis* en Corée (Lee et al. 2011). Au Japon, la densité des galeries de *Platypus quercivorus* s'étant reproduit avec succès était positivement corrélée au degré de décoloration de l'aubier de l'hôte, causé par le champignon *Raffaelea quercivora*, et aux taux de mortalité des chênes (Kinuura et Kobayashi 2006). Dans cette étude, les infestations ont pu être associées à des lésions fongiques du bois, suggérant un risque important de mortalité et de dépréciation de la qualité du bois, qui résulterait directement d'une perturbation de la translocation de l'eau par le champignon ambrosia (Kinuura et Kobayashi 2006, Stilwell et al. 2014, Castro et al. 2019) ou indirectement de la diminution de l'activité de la photosynthèse après défoliation (Galiano et al. 2011). Le seuil d'infestation de *C. ochromactonus* conduisant à la mort de l'hôte n'a pas pu être établi ici car le nombre d'infestations sur les arbres morts était potentiellement biaisé par des attaques se poursuivant après la mort récente et lors de la récolte des arbres.

En conclusion, cette étude a permis de souligner que *C. ochromactonus* restait un ravageur important pour la production de balsa en Equateur, quelles que soient les zones climatiques. Les capacités de défense des arbres de balsa attaqués peuvent donc varier



selon certaines conditions comme l'état sanitaire individuel, l'âge, le climat, l'intensité des infestations, la période d'attaque, l'inoculation de champignons, les pratiques sylvicoles. Ni la prévalence, ni l'intensité des infestations n'ont été limitées par l'installation des plantations de balsa vers les zones sèches, où les conditions environnementales pourraient être plus favorables pour *C. ochromactonus* sans affecter réellement son association avec son champignon ambrosia. Ceci est similaire aux interactions *Ips typographus* – épicéa dans les forêts européennes où les changements climatiques peuvent affecter les performances des insectes lors de sécheresses répétées qui accroissent la vulnérabilité des arbres aux attaques des insectes (Wermelinger 2004). Les pertes de bois liées aux attaques d'*I. typographus* étaient également plus importantes dans les zones les plus chaudes de l'aire climatique naturelle de l'épicéa (Marini et al. 2012), soulignant que les forêts plantées dans des sites plus chauds que la répartition historique des espèces doivent faire face à des risques croissants liés aux insectes, en particulier dans le contexte de changement climatique.

**CHAPITRE III.** Les champignons ambrosia associés au genre *Xyleborus* dans une forêt naturelle et dans une plantation forestière en Equateur



Ce chapitre fait l'objet d'un article en préparation, qui sera soumis à la fin d'année 2019, c'est donc pour cette raison que sa forme prend celle d'un manuscrit.

**Article 4 (en préparation):** Martinez M., A.I. Cognato, C. Bateman, J. Castro and T. Boivin. Prévalence et abondance de *Raffaelea* sp. nr. *arxii* et *Fusarium ambrosium* chez différents espèces de *Xyleborus* dans une forêt naturelle et dans une plantation forestière en Equateur

## Introduction

La tribu Xyleborini compte près de 1200 espèces qui appartiennent à 37 genres, dont *Xyleborus* qui est majoritaire en nombre d'espèces (environ 416). Toutes les espèces de *Xyleborus* sont xylomycétophages, ce qui les positionne dans le groupe des scolytes à ambrosia (Wood, 2007, Cognato et al. 2011, Kirkendall et al. 2015, Smith et Hulcr 2015). Ces scolytes s'alimentent de champignons qu'ils introduisent dans leurs galeries; ceci leur permet d'attaquer un très large spectre de plantes-hôtes (Kirkendall et al. 2015, Smith et Hulcr 2015). Ils habitent principalement dans le xylème, qui est une ressource relativement pauvre en nutriments pour les insectes. La sporulation de ces champignons ne se fait que dans les galeries dans lesquelles les larves et les adultes se déplacent et se nourrissent (Beaver 1989). Les champignons ambrosia sont capables d'assimiler rapidement les nutriments contenus dans les tissus de l'arbre en déperissement et ils concentrent dans leur mycélium des nutritifs pour les scolytes tels que l'azote et l'ergostérol. Ces champignons sont donc essentiels aux scolytes pour compléter leur cycle de vie et favoriser l'accroissement de leurs populations (Beaver 1989).

Chez les espèces du genre *Xyleborus*, seules les femelles ont des mycanges de type mandibulaire (Fracke-Grosmann 1966, Hulcr et Cognato 2010, Bateman et al. 2016). Les mycanges présentent une diversité considérable en taille, forme et emplacement sur le corps des différentes espèces de scolytes (Fracke-Grosmann 1966, Hulcr et al. 2012). La plupart des champignons symbiotiques sont transmis verticalement (de parent à descendance), dans une moindre mesure horizontalement (la descendance acquiert des champignons par d'autres congénères via l'alimentation), ce qui a conduit à un mutualisme

obligatoire et à une importante diversification des espèces de champignons (Kasson et al. 2013). La possibilité d'associations spécifiques entre des espèces de champignons et les scolytes à ambrosia a créé quelques controverses car des espèces de scolytes à ambrosia ont pu être associées à un seul ou plusieurs champignons (Belhoucine 2013). Des espèces de scolytes apparentées peuvent être associées à des champignons apparentés, et ces champignons peuvent présenter des spécificités à la fois aux scolytes et à l'arbre hôte (Belhoucine 2013).

Les scolytes à ambrosia montrent des préférences pour les arbres qui varient selon les niveaux de stress ou de décomposition, la taille, la teneur en humidité et l'emplacement dans l'arbre (Wood, 1982). Une telle variabilité suggère un large éventail de conditions favorables à la spécialisation des symbiotes et un large éventail d'interactions communautaires (Wood 1982, Kasson et al. 2016). La tribu Xyleborini est associée en particulier aux trois genres fongiques *Raffaelea* Arx & Hennebert (Ophistomatales), *Fusarium* Link (Hypocreales), et *Ambrosiella* Brader (Microascales) (Harrington et al. 2010, Kasson et al. 2013). La plupart des champignons symbiotiques primaires qui sont essentiels aux besoins nutritionnels des espèces de *Xyleborus* sont des ascomycètes appartenant au genre *Raffaelea* (Harrington et al. 2010, Hulcr et Cognato 2010, Kostovcik et al. 2015). Parfois, *Fusarium* est associé aussi à *Xyleborus* (Kasson et al. 2013).

Comme la plupart des associations entre les scolytes à ambrosia et les champignons s'expriment sur des arbres morts ou dépérissants; moins de 1% seulement de ces associations conduisent à des pertes économiques importantes pour l'industrie forestière (Kirkendall et al. 2015). C'est néanmoins le cas des associations *Xyleborus glabratus* Eichhoff - *Raffaelea lauricola* T.C. Harr., Fraedrich & Aghayeva, et *Euwallacea fornicatus* Eichhoff - *Fusarium euwallaceae* S. Freeman, qui provoquent des dégâts sévères dans les plantations d'avocats (*Persea americana* Miller) en Israël et en Californie (Freeman et al. 2013). L'association *Xylosandrus compactus* Eichhoff - *Fusarium solani* Mart. cause quant à elle des pathologies importantes chez le caféier (*Coffea arabica* L.) dans l'Est de l'Afrique (Egonyu et Torto 2017). Enfin, l'association *Coptoborus ochromactonus* - *Fusarium ambrosium* est liée à d'importants dégâts chez les individus sains de balsa en Equateur (Castro 2016). *Raffaelea* et *Fusarium* appartiennent en effet à des familles de champignons phytopathogènes, et cela explique probablement à la fois leur recrutement par des scolytes

dans des tissus d'arbres moribonds et leur niche nutritionnelle (Hulcr et Stelinski 2017). *Fusarium ambrosium* est situé dans le clade Ambrosia *Fusarium* (AFC), qui contient un complexe d'espèces morphologiquement cryptiques (O'Donnell et al. 2008). En particulier, *F. ambrosium* and *R. arxii* semblent primordiaux pour la survie des insectes du genre *Xyleborus* spp. (O'Donnell et al. 2008).

Dans ce chapitre, je me suis intéressée au genre *Xyleborus*, parce qu'il comporte le plus grand nombre d'espèces dans les différents habitats équatoriens (Martinez et al. 2019, in press), parce que toutes ces espèces sont des scolytes à ambrosia, et parce que certaines espèces peuvent coloniser des arbres vivants (Carrillo et al. 2014). On sait que *Raffaelea* sp. nr. *arxii* est un champignon ambrosia primaire de *Xyleborus* collectés dans des plantations d'avocats et dans des arbres Lauraceae aux Etat-Unis (Menocal et al. 2017, Saucedo-Carabez et al. 2018). Enfin, *Fusarium ambrosium*, associé à *Coptoborus ochromactonus* (Castro 2016) et très probablement un agent pathogène du balsa, pourrait être aussi hébergé par les espèces de *Xyleborus* qui partagent la niche écologique de *C. ochromactonus* (Martinez et al. 2019 in press). Le travail décrit dans ce chapitre répond donc à des enjeux importants pour la précision des associations symbiotiques dans le genre *Xyleborus*, en raison de leurs effets potentiels sur les écosystèmes forestiers et les cultures d'importance économique. C'est dans ce contexte, que je me suis attachée à déterminer la prévalence (ou fréquence) de telles associations et l'abondance (nombre d'unités formant des colonies -UFC) de deux champignons ambrosia *Raffaelea* sp. nr. *arxii* et *Fusarium ambrosium* chez différentes espèces de *Xyleborus* collectées dans une forêt primaire et dans une plantation de balsa en Equateur. Les scolytes ont été collectés directement sur les branches ou les troncs d'arbres renversés dans la forêt naturelle, et dans des individus de balsa dépérissants. Les champignons associés à sept espèces de *Xyleborus* ont pu être isolés et identifiés. Cette étude constitue une première étape vers la connaissance des associations symbiotiques entre les champignons symbiotiques néo tropicaux et les membres de la tribu Xyleborini, en particulier des espèces natives du genre *Xyleborus*.

## Matériels et Méthodes

### Échantillonnage et isolement des champignons associés au genre *Xyleborus*

Sept espèces de *Xyleborus* (*X. affinis*, *X. volvulos*, *X. paralellocollis*, *X. tribulatus*, *X. ferrugineus*, *Xyleborus* sp01 and *Xyleborus* sp02) ont été collectées au stade adulte pour l'isolement des champignons. Elles ont été identifiées à l'aide de la clé des insectes d'Amérique du sud (Wood 2007) Les scolytes ont été prélevés de novembre à décembre 2017 dans des branches ou dans les troncs d'arbres renversés par le vent ou fraîchement coupés dans la forêt naturelle, situé dans la réserve nationale Yakusinchí (00°57'02,5" S et 79°08'43,6" W, 300-900 m d'altitude). La seule espèce qui a pu être collectée dans une plantation de balsa (00°13'50" S et 79°10'40" W, 158 m d'altitude) qui présentait des infections de type « balsa wilt » était *X. ferrugineus*. Au total, 31 individus ont été conservés et étudiés (*X. affinis*: N=7, *X. volvulos*: N= 3, *X. paralellocollis*: N= 2, *X. tribulatus*: N= 6, *X. ferrugineus*: N= 6, *Xyleborus* sp01: N= 2, *Xyleborus* sp02: N= 5).

Afin d'éviter toute contamination des échantillons par d'autres champignons potentiellement présents sur d'autres parties du corps que les mycanges, chaque *Xyleborus* a été préalablement stérilisé en surface individuellement, dans une solution de 0.5 mL de tampon Phosphate Buffer (PBS) au vortex pendant dix secondes. La tête a ensuite été séparée du thorax et de l'abdomen à l'aide d'un scalpel pour isoler spécifiquement les champignons présents dans les mycanges mandibulaires. Chaque tête a été transférée dans un tube Eppendorf de 2 ml contenant 0.5 mL de PBS et broyée à l'aide d'un micro-stylet stérilisé. Puis 50 mL de cet extrait dilué au 1/10 a été étalé à l'aide d'une tige de verre courbée stérilisée à la flamme sur la surface de la boîte de Pétri contenant un milieu de culture sélectif pour les champignons ambrosia (Potato Dextrose Agar avec une addition de 1,4% d'agar, 0,2% d'extrait de levure, et 100 ppm de Streptomycine-Pénicilline). Chacun de ces isolats a été incubé à 25°C, à l'obscurité pendant 14 jours pour une analyse des caractéristiques des colonies. Ensuite, nous avons compté le nombre de colonies sur une plaque de Pétri (unités formant des colonies - UFC) de *Raffaelea* sp. nr. *arxii* et *Fusarium ambrosium*. Nous avons estimé le nombre moyen d'UFC pour chaque individu scolyte, en multipliant l'UFC par l'inverse du facteur de dilution de l'inoculum (Li et al. 2015). La prévalence d'association symbiotique a été déterminée comme la fréquence des scolytes

arborant un champignon donné dans l'effectif total collecté. Les abondances de *R. sp. nr. arxii* et de *F. ambrosium* dans les échantillons, ont été comparées par un test non paramétrique de Kruskal-Wallis sur les valeurs d'UFC individuels moyens.

Les caractéristiques macros-microscopiques des colonies (couleur, vitesse de croissance, texture et tailles des spores) ont été décrites après sept jours de croissance. L'identification morphologique des espèces de champignons a été appuyée par une identification moléculaire basée sur le séquençage d'une portion de la grande sous-unité 28S (LSU) de l'ADN ribosomique (amorces LR5 TCCTGAGGGAACTTCG et LR0R ACCCGCTGAACTTAAGC). L'extraction d'ADN a été faite à partir de cultures fongiques pures selon le protocole de Harrington et al. (2010) et Bateman et al. (2015), et une comparaison des séquences dans GeneBank (NCBI). L'utilisation du gène 28S est connue pour avoir une forte conservation de séquences, présentant 100 % d'identité d'acides nucléiques sur le site NCBI. De plus, ce gène semble être plus adéquat pour l'amplification que l'ITS, qui pose des problèmes notamment dans cette région riche en guanine/cytosine chez plusieurs espèces de champignons ambrosia (Kostovcik et al., 2014). Cette procédure d'identification moléculaire a été mise en œuvre en collaboration avec le laboratoire d'entomologie forestière de l'Université de Floride, à Gainesville, grâce à l'expertise de Dr. Craig Bateman, en 2018.

## Résultats

### ***Prévalence des champignons ambrosia dans le genre Xyleborus***

L'isolement et les identifications morphologiques et moléculaires des champignons symbiotiques à partir des mycanges mandibulaires dans le genre *Xyleborus* en Equateur a montré la présence d'espèces étroitement apparentées à *Raffaelea sp. nr. arxii* (99% de similarité de séquence) chez 6 espèces (*X. affinis*, *X. volvulos*, *X. paralellocollis*, *Xyleborus sp.02*, *X. tribulatus* et *Xyleborus sp. 01*), et à *Fusarium ambrosium* (99% de similarité de séquence) chez *X. ferrugineus* (Tableau 1). L'ambrosia *R. sp. nr. arxii* a montré une prévalence de 100% dans *X. affinis*, *X. volvulos*, *X. paralellocollis*, *Xyleborus sp.02*, et de 50% chez *X. tribulatus* et *Xyleborus sp.01* (Tableau 2). L'ambrosia *F. ambrosium* a montré une prévalence de 50% chez *X. ferrugineus* (Tableau 2). Nous n'avons pas trouvé de différence

significative ( $\chi^2= 3,15$ ,  $P= 0,0742$ ,  $df= 1$ ) entre les UFC moyens de *R. sp. nr. arxii* et *F. ambrosium* (Tableau 2), malgré des écarts d'abondance relativement importants entre certaines espèces (Tableau 2, Fig. 1).

**Tableau 1.** Similarité des séquences avec des séquences puisées dans GeneBank.

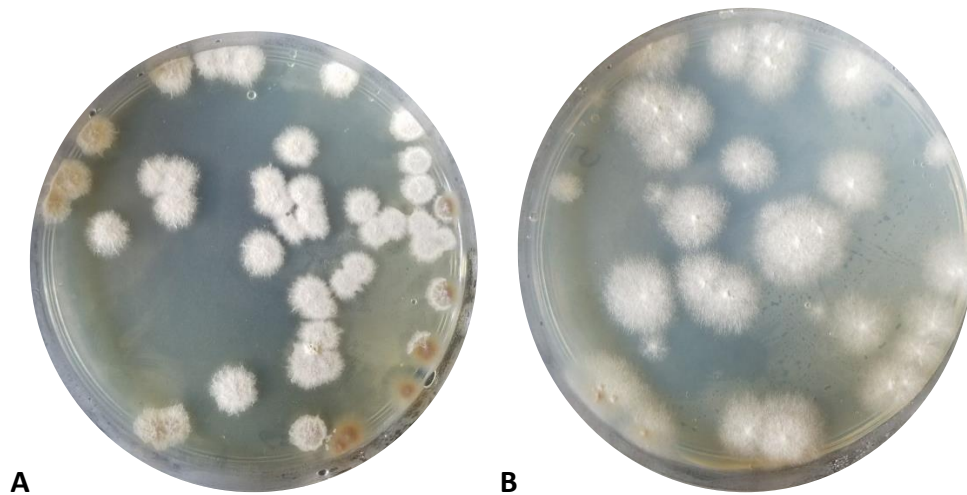
<i>Champignons ambrosia</i>	LSU	
	Accession n.	Similarité
<i>Raffaelea sp. nr. arxii</i>	<a href="#">MG673969.1</a>	795/798 (99%)
<i>Fusarium ambrosium</i>	<a href="#">AY780077.1</a>	868/873 (99%)

**Tableau 2.** Prévalence et abondance de *Raffaelea sp. nr. arxii* et *Fusarium ambrosium* isolé des espèces du genre *Xyleborus*, en Equateur

Espèces des scolytes à <i>ambrosia</i>	Champignons <i>ambrosia</i>	N	% prévalence	Moyenne individuelle de CFU (SE)	Étendue de CFU par individuel
<i>X. affinis</i>	<i>R. sp. nr. arxii</i>	7	100	6728.57 (1640.37)	1800-15500
<i>X. volvulus</i>	<i>R. sp. nr. arxii</i>	3	100	6433.33 (3460.41)	900-12800
<i>X. parallellocollis</i>	<i>R. sp. nr. arxii</i>	2	100	19650 (8050)	11600-27700
<i>X. tribulatus</i>	<i>R. sp. nr. arxii</i>	6	50	7050 (3583.46)	0-21100
<i>Xyleborus sp01</i>	<i>R. sp. nr. arxii</i>	2	50	7200 (7200)	0-14400
<i>Xyleborus sp02</i>	<i>R. sp. nr. arxii</i>	5	100	7520 (2539.37)	1900-14900
<i>X. ferrugineus</i>	<i>F. ambrosium</i>	6	50	2566.67 (1211.80)	0-6100

N: nombre d'individus analysés ; SE : erreur standard

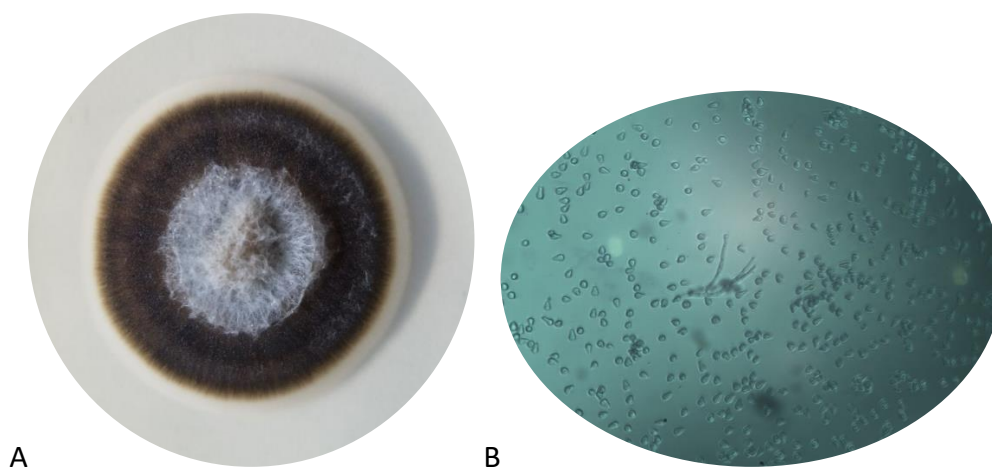




**Figure 1.** Unités formant des colonies (UFC) de *Raffaelea* sp. nr. *arxii* (A) et de *Fusarium ambrosium* (B)

**Caractéristiques macro- et microscopiques de *Raffaelea* sp. nr. *arxii* et de *Fusarium ambrosium*:**

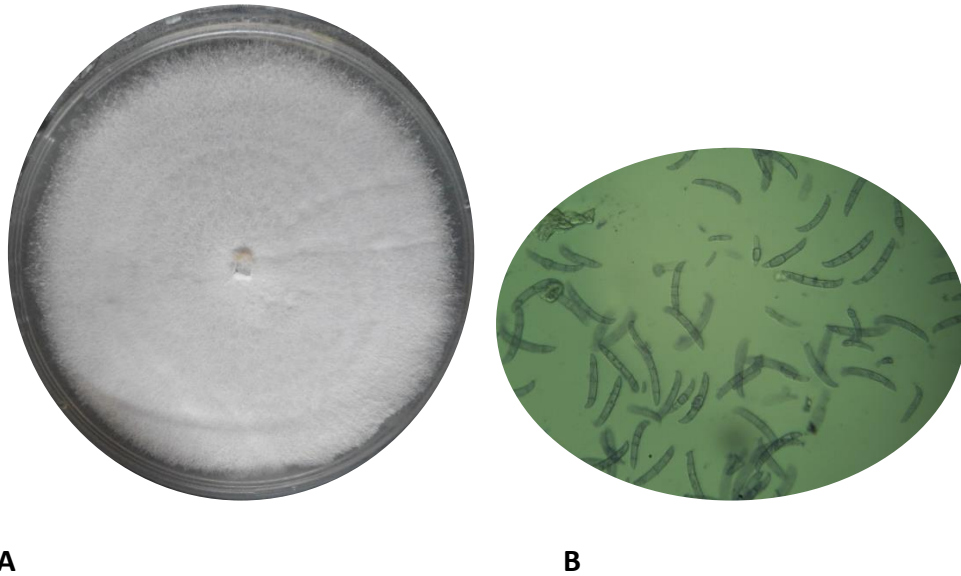
Dans nos échantillons, les colonies de *R. sp. nr. arxii* sont généralement caractérisées par une couleur vert olive à brun doré et une surface dure et ridée (Fig. 2, A). Le diamètre de la colonie à 7 jours à 25°C était de  $56,1 \pm 2,13$  mm. Les conidies sont hyalines, de forme triangulaire et suspendues de manière lâche sur les côtés des conidiosphères. Les conidies mesurent en moyenne  $6,29 (\pm 0,16) \times 3,9 (\pm 0,08) \mu\text{m}$  (N= 40) (Fig. 2, B).



**Figure 2.** Colonie (A) et conidies triangulaires (B) de *Raffaelea* sp. nr. *arxii*

Les colonies de *F. ambrosium* sont caractérisées par un mycélium aérien blanc grisâtre (Fig. 3, A). Le diamètre de la colonie à 7 jours à 25°C était de  $81,84 \pm 0,92$  mm. Les macroconidies

sont fusiformes, courbées et présentent entre quatre à six septa. Ils mesurent en moyenne  $36,47 (\pm 1,57) \times 4,85 (\pm 0,17) \mu\text{m}$  (N=40) (Fig. 3, B).



**Figure 3.** Colonies (A) et macroconidies (B) de *Fusarium ambrosium*

## Discussion

Dans cette étude préliminaire des champignons symbiotiques du genre *Xyleborus* en Equateur, nous avons pu confirmer la présence de *Raffaelea* sp. nr. *arxii* chez six des sept espèces des scolytes récoltées directement sur les arbres en forêt naturelle. Sa forte prévalence suggère que *R.* sp. nr. *arxii* est probablement le symbiote prédominant dans les mycanges mandibulaires de ces scolytes des forêts naturelles équatoriennes. Ceci semble en accord avec le rôle nutritionnel qui lui est attribué chez *X. affinis*, *X. volvulos*, *X. bispinatus* (Kasson et al. 2013, Menocal et al. 2017, Saucedo-Carabez et al. 2018). Saucedo et al. (2017) mentionnent aussi que *Xyleborus bispinatus* peut achever avec succès son cycle de vie sur des régimes alimentaires artificiels à base de *R. arxii*, *R. lauricola*, *R. subalba* et *R. subfusca*, et que les espèces de *Raffaelea* contribuent significativement à la reproduction des espèces de *Xyleborus*. La plupart des espèces de *Raffaelea* ont une association obligatoire avec *Xyleborus*, et ils ne sont présents que dans les bois bien colonisés par ses insectes vecteurs (Harrington et Fraedrich 2010, Campbell et al. 2016, Ploetz et al. 2017). Ces diverses informations concordantes semblent supporter

l'hypothèse que *R. sp. nr. arxii* est le champignon ambrosia primaire des *Xyleborus* chez lesquels il a été détecté ici en Equateur.

A contrario, *Fusarium ambrosium* n'a été détecté que chez *X. ferrugineus*, dans la plantation de balsa, avec une prévalence de 50% et un nombre moyen d'UFC dans les mycanges. Bien que *F. ambrosium* ait été associé à *X. ferrugineus* au Costa Rica (Kasson et al. 2013), cela suggère qu'il pourrait jouer un rôle facultatif dans le cycle de vie de cette espèce de *Xyleborus*. En effet, certaines espèces de scolytes à ambrosia qui hébergent *Raffaelea* spp. présentent également des relations symbiotiques avec *F. ambrosium* (Kasson et al. 2013). Ce champignon est connu pour son association avec *C. ochromactonus* dans le balsa, bien qu'elle repose sur des isollements issus de prélèvements de galeries natales des scolytes et non pas de scolyte eux-mêmes (Castro 2016). Nous avons vu dans le chapitre 2 de cette thèse que *C. ochromactonus* est un ravageur abondant sur balsa en Equateur, et d'autres travaux suggèrent la possibilité de transferts horizontaux de champignons ambrosia d'une espèce de scolyte à une autre à l'intérieur des galeries sur un même arbre hôte (Carrillo et al. 2014). Dans le cas présent, il serait possible d'envisager l'acquisition de *F. ambrosium* par *X. ferrugineus* via la présence de *C. ochromactonus* (chez qui *F. ambrosium* semble être un symbiote primaire) sur les mêmes arbres infestés.

Dans notre procédure d'isolement des champignons symbiotiques, la prédominance de *Fusarium* et l'apparente absence de *Raffaelea* chez *X. ferrugineus*, alors qu'il est quasiment omniprésent chez les six autres espèces de scolytes collectées, est inattendue. Cela pourrait néanmoins résulter d'une compétition interspécifique favorable à *Fusarium* lors de la culture en boîte de Pétri. En effet, les propagules de *Raffaelea* provenant de mycanges poussent lentement et pourraient être facilement envahies par *F. ambrosium* qui montre habituellement une croissance rapide pendant l'isolement au laboratoire (Mayers et al. 2018).

Même si nous n'avons isolé qu'une seule espèce de champignon dans chaque espèce de *Xyleborus* collectée, nous ne pouvons affirmer qu'il s'agisse ici d'une association scolyte-champignon ambrosia spécifique. En effet, nous n'avons utilisé qu'un seul marqueur pour l'identification moléculaire des champignons, et celui-ci ne permet apparemment pas de discriminer les différentes espèces cryptiques de *Raffaelea* (Li et al. 2018). Des travaux récents montrent que le genre *Xyleborus* peut héberger plusieurs espèces de *Raffaelea* (Harrington et al. 2010, Kostovcik et al. 2015), suggérant une relation

de promiscuité entre champignons ambrosia (Hulcr et Stelinski 2017). C'est le cas par exemple de *X. volvulos*, espèce récoltée ici en Equateur, qui a pu être associée à *R. arxii*, *R. fusca*, *R. subalba*, *R. subfusca* grâce au marqueur 28S (LSU) (Menocal et al. 2017). Selon Li et al. (2018), la plupart des scolytes vecteurs de *Raffaelea* présentent un manque de spécificité quant à leurs champignons symbiotiques ambrosia. Cependant, dans les cas où un scolyte est associé à plusieurs champignons, il semble que seul l'un d'entre eux constitue un symbiote obligatoire ou primaire (Harrington et al. 2010, Li et al. 2018). D'une manière générale, il semble que l'existence d'associations symbiotiques scolytes-champignons ambrosia résulte d'un effet important de l'écologie même du champignon (Li et al. 2018). La plupart des scolytes à ambrosia exploitent des arbres préférentiels selon l'espèce, le micro-habitat qu'ils génèrent (abondance de feuillage par exemple) et leur état sanitaire (sain ou dépérissant). L'ambrosia *Raffaelea* est principalement associée à des scolytes colonisant des arbres dépérissants ou morts de grande taille, dans lesquels l'humidité reste suffisamment élevée pour que le champignon puisse persister suffisamment longtemps pour réaliser plusieurs cycles de vie (Hulcr et Stelinski 2017). En revanche, *Ambrosiella* s. str. (Microascales) est associé à des scolytes qui pénètrent dans des bois de petits diamètres (incluant les branches) où le taux d'humidité est plus bas et les variations de température plus élevées (Mayer et al. 2015). Enfin, l'ambrosia *Entomocorticium* est davantage associé à des scolytes qui attaquent des pins sains, voire stressés, qu'à des scolytes ciblant des pins à des stades de dépérissement ou de décomposition plus avancés (Whitney et al. 1987).

## Conclusion

L'association à un symbiote est primordiale chez les scolytes à ambrosia car leurs larves sont incapables d'attaquer le bois et elles se nourrissent donc aux dépens du champignon en développement. En majorité, les scolytes colonisent des arbres en cours de dépérissement ou morts, mais l'inoculation de leurs champignons symbiotiques peut affaiblir, endommager ou provoquer la mortalité d'arbres apparemment en bonne santé (Jiri Hulcr et Dunn 2011). De toute évidence, la diversité des champignons associés au genre *Xyleborus* reste à ce jour très largement inexplorée dans la forêt équatorienne. A l'échelle

mondiale, moins de 5 % des scolytes à ambrosia ont fait l'objet d'études sur leurs symbiotes mycangiens, et le continent sud-américain montre plus de lacunes qu'ailleurs (Hulcr et Stelinski 2017). De plus, il reste plus de 3000 espèces de scolytes à étudier, soulignant la nécessité de développer davantage de recherches dans ce domaine. Cette étude préliminaire concernant le genre *Xyleborus* en Equateur devra être complétée par une analyse plus fine de la diversité et de la spécificité potentielle des champignons isolés, en particulier avec d'autres outils moléculaires que la région LSU étudiée ici. Par ailleurs, le balsa est connu comme hôte de *X. ferrugineus* et de *C. ochromactonus*. Bien que *X. ferrugineus* ne soit pas associé pour l'instant à des dommages économiques importants dans les plantations commerciales de balsa, nos travaux montrent que *F. ambrosium* probablement agent pathogène de cette essence, peut-être véhiculé par ce scolyte en tant que symbiote facultatif. Il est donc possible que *X. ferrugineus* puisse devenir à l'avenir un acteur alternatif important dans le pathosystème du balsa. Cela doit encourager la poursuite d'études approfondies de ces associations symbiotiques, notamment sur les modalités de partage de *F. ambrosium* entre *C. ochromactonus* et *X. ferrugineus* au sein des mêmes hôtes.

## Références bibliographiques

- Bateman C., Kendra P. E., Rabaglia R. and Hulcr J. 2015. Fungal symbionts in three exotic ambrosia beetles, *Xylosandrus amputatus*, *Xyleborinus andrewesi*, and *Dryoxylon onoharaense* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae: Xyleborini) in Florida. *Symbiosis*. 66: 141–148.
- Bateman C., Sigut M., Skelton J., Smith K. E. and Hulcr J. 2016. Fungal associates of the *Xylosandrus compactus* (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) are spatially segregated on the insect body. *Environ. Entomol.* 45: 883-890.
- Beaver R. 1989. Insect – Fungus relationships in the bark and ambrosia beetles. *In*: Wilding, N., Collins, N.M., Hammond, P.M., Webber, J.F. (Eds.). *Insect-fungus Interactions*. Academic Press, San Diego, CA, USA, pp. 121-143.
- Belhoucine L. 2013. Les champignons associés au *Platypus cylindrus* Fab. (Coleoptera, Curculionidae, Platypodinae) dans un jeune peuplement de chêne-liège de la forêt de M'Sila (Oran, nord-ouest d'Algérie): Etude particulière de la biologie et l'épidémiologie de l'insecte. 200 p. Thèses doctorat. Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen, Algérie.
- Campbell A. S., Ploetz R.C., Dreaden T., Kendra P. and Montgomery W. 2016. Geographic variation in mycangial communities of *Xyleborus glabratus*. *Mycologia*. 108: 657–667.
- Carrillo D., Duncan R. E., Ploetz J. N. Campbell A. F., Ploetz R. C. and Pena J. E. 2014. Lateral transfer of a phytopathogenic symbiont among native and exotic ambrosia beetles. *Plant Pathol.* 63: 54–62.
- Castro J. 2016. Aspectos Biologicos y ecologicos de *Coptoborus ochromactonus* Smith y Cognato (Coleoptera: Scolytinae), y la relacion de sus hongos asociados en la muerte regresiva de *Ochroma pyramidale* (Cav. Ex. Lam.) Urb. Urb. 149 p. Thèses doctorat, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
- Cognato A. I., Hulcr J., Dole S. A. and Jordal B. H. 2011. Phylogeny of haplo-diploid, fungus-growing ambrosia beetles (Curculionidae: Scolytinae: Xyleborini) inferred from molecular and morphological data. *Zool. Scr.* 40: 174–186.
- Egonyu J. P. and Torto B. 2017. Responses of the ambrosia beetle *Xylosandrus compactus*

- (Coleoptera: Curculionidea: Scolytinae) to volatile constituents of its symbiotic fungus *Fusarium solani* (Hypocreales: Nectriaceae). *Arthropod-Plant Interactions*. <https://doi.org/10.1007/s11829-017-9552-2>
- Freeman S., Protasov A., Sharon M., Mohotti K., Eliyahu M., Okon-Levy N., Maymon M. and Mendel Z. 2013. Obligate feed requirement of *Fusarium* sp. nov., an avocado wilting agent, by the ambrosia beetle *Euwallacea* aff. *fornicata*. *Symbiosis*. <https://doi.org/10.1007/s13199-013-0222-6>.
- Harrington T. C., Aghayeva D. N. and Fraedrich S.W. 2010. New combinations in *Raffaelea*, *Ambrosiella*, and *Hyalorhinocladiella*, and four new species from the redbay ambrosia beetle, *Xyleborus glabratus*. *Mycotaxon*. 111: 337–361.
- Harrington T. C. and Fraedrich S. W. 2010. Quantification of propagules of the laurel wilt fungus and other mycangial fungi from the redbay ambrosia beetle, *Xyleborus glabratus*. *Phytopathology*. 100: 1118–1123.
- Hulcr, J. and Cognato A. I. 2010. Repeated evolution of crop theft in fungus-farming ambrosia beetles. *Evolution*, 64: 3205–3212.
- Hulcr, J. and Dunn R. R. 2011. The sudden emergence of pathogenicity in insect – fungus symbioses threatens naive forest ecosystems. *Proc. R. Soc. B*. 278: 2866–2873.
- Hulcr J., Rountree N., Diamond S., Stelinski L. Fierer N. and Dunn R. 2012. Mycangia of ambrosia beetles host communities of bacteria. *Microb. Ecol.* 64: 784–793.
- Hulcr J. and Stelinski L. L. 2017. The ambrosia symbiosis: from evolutionary ecology to practical management. *Annu. Rev. Entomol.* 62: 285–303.
- Kasson M. T., Wickert K., Stauder C., Macias A., Berger M., Simmons R., Short D., DeVallance D. and Hulcr J. 2016. Mutualism with aggressive wood-degrading *Flavodon ambrosius* (Polyporales) facilitates niche expansion and communal social structure in *Ambrosiophilus* ambrosia beetles. *Fungal Ecol.* 23: 86–96.
- Kasson M. T., O'Donnell K., Rooney A., Sink S., Ploetz R., Ploetz J., Konkol J., Carrillo D., Freeman S., Mendel Z., Smith J., Black A., Hulcr J., Bateman C., Stefkova K., Campbell P., Geering A., Dann E., Eskalen A., Mohotti K., Short D., Aoki T., Fenstermacher K., Davis D. and Geiser D.M. 2013. An inordinate fondness for *Fusarium*: phylogenetic diversity of fusaria cultivated by ambrosia beetles in the genus *Euwallacea* on avocado and other plant hosts. *Fungal Genet. Biol.* 56: 147-157.
- Kirkendall, L. R., P. H. W. Biedermann and B. H. Jordal. 2015. Evolution and diversity of

- bark and ambrosia beetles. pp. 85-156. In F. E. Vega and R. W. Hofstetter (eds.), *Bark beetles: biology and ecology of native and invasive species*. Elsevier, San Diego, CA, USA
- Kostovcik M., Bateman C., Kolarik M., Stelinski L., Jordal B.H. and Hulcr J. 2015. The ambrosia symbiosis is specific in some species and promiscuous in others : evidence from community pyrosequencing. *ISME J.* 9: 126–138.
- Li Y., Simmons D. R., Bateman C. C., Short D. P. G., Kasson M. T., Rabaglia R. J. and Hulcr J. 2015. New fungus-insect symbiosis: culturing, molecular and histological methods determine saprophytic Polyporales mutualists of *Ambrosiodmus* ambrosia beetles. *PLoS One.* 10: 1–13.
- Li Y., Huang Y., Kasson M. T., Macias A. M., Skelton J., Carlson P., Mingliang Y. and Hulcr J. 2018. Specific and promiscuous ophiostomatalean fungi associated with Platypodinae ambrosia beetles in the southeastern United States. *Fungal Ecology.* 35: 42–50.
- Martinez M., Cognato A. I., Marcelino G. and Boivin T. 2019. Bark and ambrosia beetle (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) diversity in natural and plantation forests in Ecuador. *Environ. Entomol.* In press.
- Mayers C.G., Mcnew D., Harrington T., Roeper R., Fraedrich S. W., Biederman P. H. W., Castrillo L.A. and 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.
- Mayers C. G., Bateman C. C. and Harrington T. C. 2018. New *Meredithiella* species from mycangia of *Corthylus* ambrosia beetles suggest genus-level coadaptation but not species-level coevolution genus-level coadaptation. *Mycologia*, 110: 63–78.
- Menocal O., Cruz L. F., Kendra P. E., Crane J. H., Ploetz R. C. and Carrillo D. 2017. Rearing *Xyleborus volvulus* (Coleoptera: Curculionidae) on media containing sawdust from Avocado or Silkbay, with or without *Raffaelea lauricola* (Ophiostomatales: Ophiostomataceae). *Environ. Entomol.* 46: 1275–1283.
- O'Donnell K., Sutton D., Fothergill A., Mccarthy D., Rinaldi M. G., Brandt M., Zhang N. and Geiser D. M. 2008. Molecular phylogenetic diversity, multilocus haplotype nomenclature , and in vitro antifungal resistance within the *Fusarium solani* species



- complex. *Journal of Clinical Microbiology*. 46: 2477–2490.
- Ploetz R. C., Konkol J. L., Narvaez T., Duncan R., Saucedo, J.R. Campbell A., Mantilla J., Carrillo D. and Kendra P. E. 2017. Presence and prevalence of *Raffaelea lauricola*, cause of laurel wilt, in different species of ambrosia beetle in Florida, USA. *Econ. Entomol.* 110: 347-354.
- Saucedo-Carabez J. R., Ploetz, R. C., Konkol, J. L., Carrillo D. and Gazis R. 2018. Partnerships between ambrosia beetles and fungi: lineage-specific promiscuity among vectors of the laurel wilt pathogen, *Raffaelea lauricola*. *Microb Ecol.* 76: 925–940.
- Saucedo J. R., Ploetz R. C., Konkol J. L., Ángel M., Mantilla J., Menocal O. and Carrillo D. 2017. Nutritional symbionts of a putative vector, *Xyleborus bispinatus*, of the laurel wilt pathogen of avocado, *Raffaelea lauricola*. *Symbiosis*.  
<https://doi.org/10.1007/s13199-017-0514-3>
- Six D. L. 2003. Bark-beetle fungus symbioses. In Bourtzis K, Miller T.A. (Eds.) *Insect symbiosis*. CR C, Boca Raton, pp 99-116.
- Smith, S. M. and J. Hulcr. 2015. Scolytus and other economically important bark and ambrosia beetles. pp. 495-531. In F. E.Vega and R. W. Hofstetter (eds.), *Bark beetles: biology and ecology of native and invasive species*. Elsevier, San Diego, CA. USA
- Whitney H. S., Bandoni R. J. and Oberwinkler F. 1987. *Entomocorticium dendroctoni* gen. et sp. nov. ( Basidiomycotina ), a possible nutritional symbiote of the mountain pine beetle in lodgepole pine in British Columbia. *Can. J. Bot.* 65: 95–102.
- Wood, S. L. 1982. *The bark and ambrosia beetles of North and Central America (Coleoptera: Scolytidae)*, a taxonomic monograph. Great Basin Nat. Mem. Brigham Young University, Provo, UT. 1359p.
- Wood, S. L. 2007. *The bark and ambrosia beetles of South America (Coleoptera: Scolytidae)*. Monte L. Bean Life Science Museum. Brigham Young University, Provo, Utah. 900p.

## PERSPECTIVES

Le dernier catalogue des espèces de scolytes d'Amérique du sud sous-évaluait à l'évidence le nombre d'espèces de Scolytinae en Équateur (Wood 2007), alors que de récentes études y ont décrit de nouvelles espèces de scolytes dans les forêts tropicales humides (Smith et Cognato 2016, Petrov et Atkinson 2018, Petrov et Mandelshtam 2018, Cognato 2019) et dans les plantations forestières (Stilwell et al. 2014). Dans certains cas, ces nouvelles espèces sont considérées comme de nouveaux ravageurs des arbres natifs, très probablement suite à des conditions climatiques adéquates et à une possible intensification des saisons sèches devenues très favorables à leur développement et à leur démographie. De plus, l'association symbiotique des scolytes avec des champignons est une des causes principales de la mortalité des arbres, même en bonne santé (Hulcr et Stelinski 2017). Cette étude des scolytes des écosystèmes forestiers d'Équateur a répondu à un besoin fondamental de connaissances de la diversité entomologique dans ce pays, notamment en termes de compositions en espèces, d'espèces indicatrices d'habitats, et de dynamiques des populations en lien avec des facteurs environnementaux. Elle a permis également une mise en alerte concernant certaines espèces, soit déjà en tant que ravageur reconnu (le cas de *C. ochromactonus*) soit en tant que ravageurs potentiels émergents (le cas de *X. compactus*, *X. moriguerus* et *P. cavipennis*) à surveiller dorénavant. Enfin, l'association des scolytes du genre *Xyleborus* avec leurs champignons ambrosia en forêts naturelles et en plantations de balsa a pu être clarifiée.

L'ensemble de ces résultats représentent donc une avancée importante dans le domaine de l'entomologie forestière en Équateur. Ils sont porteurs de perspectives de recherches stimulantes en termes de biodiversité et d'associations symbiotiques dans communautés de Scolytinae tropicaux, et en termes de prévision et de gestion du risque 'scolytes' dans les écosystèmes naturels et cultivés du pays.

## **Vers un approfondissement des connaissances sur la diversité et les associations symbiotiques des Scolytinae d'Équateur**

D'une manière générale, les travaux présentés dans le chapitre 1 ont montré que la diversité taxonomique et la composition des communautés de scolytes présentent des

patrons contrastés parmi les types d'habitats forestiers (forêts naturelles et plantations de balsa) et au cours de l'année (saison sèche et des pluies). Un résultat clé est que le type d'habitat forestier n'influence pas significativement la richesse spécifique cumulée, mais plutôt la composition en espèces des communautés. Par ailleurs, la richesse spécifique dans la plantation de balsa était particulièrement élevée et de niveau similaire à celle de la forêt primaire, suggérant qu'une telle diversification ne tient pas qu'à une simple diversification des espèces d'arbres. Un certain nombre d'espèces de Scolytinae ont pu être qualifiées d'indicatrices d'habitats car statistiquement associées à certains types de forêts. Parmi celles-ci trois espèces exotiques *X. compactus*, *X. morigerus* et *P. cavipennis*, ont été associées préférentiellement aux forêts naturelles, bien que la dernière espèce présente une abondance substantielle dans la plantation de balsa. Les trois types de forêt possèdent néanmoins de nombreuses espèces indigènes. *Xyleborus* était le genre le plus abondant et le plus diversifié dans les forêts naturelles, et *C. ochromactonus* qui endommage considérablement les plantations de balsa peut être bel et bien considéré comme espèce indicatrice de cet habitat.

**La problématique des espèces cryptiques.** La plupart des espèces de scolytes collectées dans ce travail n'ont pu être identifiées qu'au niveau du genre, leur identification complète étant extrêmement difficile car ce groupe d'insectes comprend un très grand nombre d'espèces cryptiques, c'est-à-dire deux espèces distinctes ou plus classées comme une seule espèce (Kambestad et al. 2017). Donc, il conviendrait de renforcer nos identifications en Equateur grâce à des spécialistes taxonomiques de ce groupe d'insectes, mais on peut constater que ces compétences sont de plus en plus difficiles à mobiliser. Ces espèces cryptiques posent depuis longtemps d'importants challenges taxonomiques, mais les importants progrès réalisés dans le séquençage d'ADN ont permis le développement de nouveaux outils – le barcoding d'ADN – pour détecter et différencier des espèces morphologiquement similaires, et accéder à une plus large gamme d'informations sur la biodiversité ou pour la détection et le suivi d'espèces exotiques envahissantes (Hebert et al. 2003, Bickford et al. 2007). Une grande majorité des travaux sur les espèces cryptiques concernent cependant principalement les écosystèmes tempérés et l'absence d'études systématiques laisse de nombreuses questions en suspens, par exemple si les espèces

cryptiques sont plus courantes dans des habitats, des latitudes ou des groupes taxonomiques particuliers (Bickford et al. 2007). Les forêts tropicales humides sont pourtant reconnues comme des zones de prédilection pour la spéciation cryptique car elles comptent parmi les habitats les plus riches en espèces sur Terre et un nombre important de ces organismes sont impliqués dans des interactions interspécifiques spécialisées (Willig et al. 2003). Dans le futur, mon travail réalisé en forêts d'Equateur pourrait donc fournir des bases intéressantes pour le développement d'approches de barcoding pour ces communautés de Scolytinae encore trop largement méconnues.

***Des limites dans la capacité d'échantillonnage.*** La méthode de piégeage utilisée dans nos estimations de diversité en forêts naturelles et dans le balsa, c'est-à-dire des pièges à éthanol disposés à 1,30 m de hauteur, n'a semble-t-il pas introduit de biais majeur à l'échantillonnage, comme l'a indiqué une approche par raréfaction ( $S_{cor}$  et Chao1, Chapitre 1). Cependant, il est tout à fait possible que la hauteur de positionnement de ces pièges n'ait pas permis de capturer un certain nombre d'espèces inféodées à des strates supérieures des peuplements forestiers, même si l'éthanol est un composé très volatile et très attractif. En effet, des variations dans la richesse et la composition en espèces de scolytes sont connues entre des strates distinctes, par exemple entre le houppier et proche du sol, du fait de la spécialisation écologique dont les scolytes peuvent faire preuve (Ulyshen et Sheehan 2017). Il sera certainement pertinent de comparer nos observations à 1,30 m avec un autre réseau de piégeage installé à au moins 10 m de hauteur dans les forêts naturelles pour augmenter notre capacité d'échantillonnage et d'analyser également les patrons de diversité selon une distribution verticale. En particulier, cette approche pourrait être plus efficace pour la capture de *C. ochromactonus* dans les forêts naturelles, ce qui permettrait de confirmer si cette espèce est vraiment spécifique au balsa ou pas. De plus, dans la mesure où les scolytes sont de très bons disperseurs même en forêt tropicale (Wood 2007), l'utilisation de pièges à éthanol ne nous permet pas de soutenir définitivement que tous les insectes capturés proviennent des arbres de l'entourage proche du piège et par conséquent d'associer les espèces recensées à des espèces arbres en particulier sur le site. Il sera donc intéressant d'entreprendre, sur des espèces d'arbres hôtes choisies, une étude de la distribution spatiale des espèces les plus abondantes, et

exotiques, en considérant les différents compartiments de l'arbre. Durand-Gillmann et al. (2014) a pu ainsi préciser la niche écologique et les modalités de coexistence de plusieurs espèces de scolytes chez le sapin pectiné grâce à l'examen méticuleux de troncs et de branches.

### ***Des transferts horizontaux de champignons symbiotiques dans le genre Xyleborus?***

La présence de *Raffaelea* sp. nr. *arxii* chez six des sept espèces de scolytes collectées dans une forêt naturelle, et la présence de *Fusarium ambrosium* chez des individus *X. ferrugineus* collectés dans une plantation de balsa dépérissante ont pu être confirmées sans ambiguïté grâce au couplage de critères morphologiques et moléculaires. Des travaux récents suggèrent une possible association de *C. ochromactonus* avec *F. ambrosium* (Castro 2016, Castro et al. 2019), et la détection de ce champignon ambrosia chez *X. ferrugineus* pourrait refléter l'existence de transferts horizontaux du symbiote entre ces deux scolytes partageant la même niche écologique. Une conséquence est que *X. ferrugineus* pourrait devenir un acteur supplémentaire du pathosystème du balsa dans les plantations commerciales d'Equateur.

Carrillo et al. (2014) suggèrent effectivement la possibilité de transferts horizontaux de champignons ambrosia à l'intérieur des galeries lorsque deux espèces de scolytes partagent le même arbre hôte, et que cela peut contribuer à accélérer la dynamique de dépérissement des arbres. La vérification de cette hypothèse de transfert entre *C. ochromactonus* et *X. ferrugineus* sur balsa nécessitera de déterminer avec certitude l'identité des champignons symbiotiques associés à *C. ochromactonus*, afin de confirmer qu'il s'agit bien du même champignon entre ces deux Xyleborini. Ensuite il faudrait prouver les principes de Leach, c'est-à-dire que pour confirmer le déplacement de ce champignon vers une autre espèce potentiellement vecteur, il est nécessaire de vérifier quatre composantes : 1) l'insecte doit être étroitement associé aux plantes dépérissantes, 2) le vecteur doit interagir avec des arbres sains, comme c'est le cas pour le genre *Xyleborus*, en particulier *X. ferrugineus* qui a la capacité d'attaquer également des arbres sains, 3) le pathogène doit être associé à l'insecte, et 4) la maladie se développe chez les plantes sains après leur interaction avec des insectes infestés par des agents pathogènes (Carrillo et al.

2014). Les principes de Koch ont confirmé que les champignons *Raffaelea* et *Fusarium* associés aux scolytes sont des agents pathogènes pour les arbres (Fraedich et al. 2008, Lynch et al. 2016). L'inoculation de *F. ambrosium* et d'autres champignons isolées à partir des galeries de *C. ochromactonus* sur des grands arbres de balsa peuvent aussi clarifier ce pathosystème et les conséquences des attaques de scolytes sur la santé des arbres (par exemple les symptômes associés et leur dynamique). Différents scolytes peuvent coexister et se développer sur même hôte via l'utilisation d'un certain nombre de champignons interchangeables recrutés dans l'environnement par transmission horizontale (Kasson et al. 2013). Mais il n'est toujours pas clair si ce sont les scolytes qui choisissent le bon champignon parmi les nombreux champignons opportunistes présents dans le bois en décomposition, ou si au contraire c'est la présence des scolytes qui favorise le développement de certains champignons, ou si les deux cas peuvent être envisagés simultanément. Cela doit encourager la poursuite d'études approfondies de l'interaction entre les champignons et leurs hôtes à divers stades de dépérissement dans la forêt naturelle et dans les arbres de balsa et les comparer avec les champignons associés aux scolytes qui ont déjà été collectés.

### **Vers une amélioration de la gestion du risque *Coptoborus ochromactonus* dans les plantations forestières commerciales d'Equateur**

Les travaux réalisés sur le cycle biologique et le système de galeries de ce ravageur majeur du balsa ont permis de montrer que la totalité du développement (embryonnaire, larvaire en trois stades, nymphal et ténéral) se déroule à l'intérieur de galeries dans le bois de balsa, tapissées du champignon *Fusarium*, et une partie de ces galeries dégrade très probablement le fonctionnement du phloème. Ce sont les femelles qui effectuent le vol pionnier, initient les nouvelles attaques et l'installation de la progéniture, alors que les mâles plus faiblement représentés (1 mâle pour 7 femelles) restent souvent dans leurs galeries natales, et ne rejoignent les femelles dans les nouvelles galeries que pour s'accoupler. Les dégâts de *C. ochromactonus* occasionnés chez l'hôte au cours des différentes phases de développement et l'association symbiotique avec un champignon

connu pour être pathogène de l'arbre semblent expliquer l'impact physiologique des attaques et les dégâts occasionnés même à des arbres sains.

A l'échelle populationnelle, la dynamique spatio-temporelle de *C. ochromactonus* est dépendante des conditions climatiques sous lesquelles les plantations sont installées, mais aucune différence dans la prévalence des attaques d'arbres vivants et la mortalité n'a été détectée entre le site humide et le site sec. Cela suggère un risque 'scolyte' de niveau égal quelles que soient les zones climatiques considérées pour les plantations de balsa. L'âge de l'arbre (3 ans) est apparu comme un facteur aggravant de la prévalence des attaques en zone humide, ainsi que du niveau individuel d'infestation des arbres, qui semble cela dit positivement associé au niveau de défoliation individuel à tout âge de l'arbre. Une conclusion globale importante de ce travail est que le déplacement des plantations de balsa vers les zones plus sèches de l'Équateur, supposant initialement une réduction des dommages aux arbres par *C. ochromactonus* pourrait accroître la vulnérabilité des arbres aux attaques des insectes par une intensification des stress de type abiotiques

La gestion des populations de Scolytinae repose sur deux approches principales, qui incluent la surveillance des peuplements forestiers et la détection précoce de nouvelles infestations d'arbres et leur contrôle (Lieutier et al. 2016). L'efficacité des pratiques de gestion forestière varie en effet considérablement selon qu'elles sont appliquées à temps et de manière soutenue. Les connaissances qui ont été acquises ici sur l'interaction de *C. ochromactonus* avec son environnement biotique et abiotique peuvent avoir pour but de mieux anticiper les phases épidémiques et réagir de façon adéquate en plantations. Cela sera d'autant plus important qu'actuellement les plantations commerciales d'Equateur sont très peu encadrées vis-à-vis du risque sanitaire liés aux insectes et aux pathogènes.

La gestion de scolytes du balsa en Equateur peut impliquer des méthodes directes de régulation des populations, qui sont utilisées notamment en Europe et en Amérique du Nord (Wermelinger et al. 2004, Lieutier et al. 2016). Ces méthodes reposent sur des pratiques culturales sylvicoles relevant principalement de l'abattage sanitaire, c'est-à-dire l'abattage et le retrait ou traitement des arbres infestés par les scolytes afin de détruire les stades larvaires et nymphaux avant l'émergence de l'adulte et l'attaque de nouveaux arbres. Les arbres doivent être transportés en dehors du foyer d'infestation, ou brûlés, déchiquetés ou écorcés sur place (Fettig et Hilszcznski 2015). On sait à présent que *C.*



*ochromactonus* se développe d'abord dans les bois abattus puis attaque les arbres vivants, donc l'élimination préventive des substrats de reproduction, ainsi que la destruction des arbres sur pied massivement infestés, et ce dès la première année, constituerait une étape clé du contrôle des épidémies de l'insecte en plantations de balsa. De plus, pour être efficace l'abattage sanitaire doit être réalisé en connaissance de la phénologie et la biologie des scolytes cibles (Fettig et Hilszczanski 2015), ce que nos travaux sur *C. ochromactonus* pourraient permettre dans les plantations de balsa attaquées. Le maintien de réseaux de pièges tels que ceux mis en place ici pourraient appuyer un état de veille du risque sanitaire au cours de l'année par le suivi des courbes de vol des scolytes.

Une autre méthode de contrôle directe implique les ennemis naturels des Scolytinae. Les prédateurs, parasitoïdes et microorganismes entomopathogènes jouent en effet un rôle important dans la régulation des scolytes à des niveaux endémiques et ont une utilité potentielle en contrôle biologique (Fettig et Hilszczanski 2015). Une meilleure connaissance, et donc la recherche, de prédateurs naturels de scolytes et de leur habitat pourrait être appuyée par des comparaisons de communautés de prédateurs de scolytes entre les forêts naturelles et les plantations. Appréhender les facteurs qui influencent leur diversité et leur abondance comme cela a été fait dans cette thèse pour les Scolytinae serait une étape importante dans cette voie. Par ailleurs, le champignon *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. est un agent intervenant dans le contrôle biologique potentiel de diverses espèces de scolytes. Carrillo et al. (2014) a effectivement montré que son inoculation à des femelles adultes de scolytes entraînait une infection entomopathogène chez leur progéniture et réduisait également le nombre de galeries. Il serait donc intéressant d'étudier l'efficacité de ce champignon contre *C. ochromactonus*, et d'évaluer si cette technique serait applicable et efficace à grande échelle dans les plantations forestières d'Equateur.

Finalement, il existe de nombreux facteurs qui contribuent aux épidémies de scolytes et qui sont difficiles à contrôler, par exemple les facteurs climatiques et de stress pour la croissance et les défenses des arbres (Raffa et al. 2008, Fettig et Hilszczanski 2015). Avant d'établir de nouvelles plantations, il semble crucial de bien prendre en compte également des caractéristiques de site telles que le risque d'inondation, les fortes pentes et l'exposition à la sécheresse en saison sèche. Cela permettrait probablement de mieux

anticiper les potentiels d'épidémies de *C. ochromactonus* à l'avenir, en Equateur et dans d'autres pays producteurs de balsa.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abreu, R. L. S., G. de A. Ribeiro, B. F. Vianez and C. Sales-Campos. 2012. Insects of the Subfamily Scolytinae ( Insecta : Coleoptera, Curculionidae ) collected with pitfall and ethanol traps in primary forests of central Amazonia. *Psyche* 2012:1-9.
- Agrios, G. N. 2005. *Plant Pathology*. 5<sup>th</sup> edition. United States of America. Elsevier Academic Press Publications. 918 p.
- Alonso-Zarazaga, M. A. and Lyal C.H.C. 2009. A catalogue of family and genus group names in Scolytinae and Platypodinae with nomenclatural remarks (Coleoptera: Curculionidae). *Zootaxa* 2258: 1-134.
- Andersen, H. F., B. H. Jordal, M. Kambestad and L. R. Kirkendall. 2012. Improbable but true: the invasive inbreeding ambrosia beetle, *Xylosandrus morigerus*, has generalist genotypes. *Ecol. Evol.* 2: 247–257
- Asner, G. P., Loarie S. R. and Heyder U. 2010. Combined effects of climate and land-use change on the future of humid tropical forests. *Conservation Letters*. 3: 395–403.
- Atkinson, T. H. and A. Equihua. 1985. Notes on biology and distribution of Mexican and Central American Scolytidae (Coleoptera). I. Hylesininae, Scolytinae except Cryphalini and Corthylini. *Coleopterist Bull.* 39:227-238.
- Atkinson T. H. 2019. Escarabajos descortezadores y ambrosiales (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae, Platypodinae) de Sonora, México. *Dugesiana*. 26: 41–49.
- Atkinson, T. H. and A. Equihua. 1986. Biology of bark and ambrosia beetles (Coleoptera: Scolytidae and Platypodidae) of a tropical rain forest in southeastern Mexico with an annotated checklist of species. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 79: 414–423.
- Bass, M. S., Finer M., Jenkins C. N., Kreft H., Cisneros-Heredia D.F., McCracken, S.F. and Kunz T. H. 2010. Global Conservation Significance of Ecuador’s Yasuní National Park. *PLoS ONE*. 5:e8767. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008767>
- Bateman, C., Huang Y., Simmons D.R., Kasson M.T., Stanley E.L. and Hulcr J. 2017. Ambrosia beetle *Premnobius cavipennis* (Scolytinae: Ipini) carries highly divergent ascomycotan ambrosia fungus, *Afroraffaelea ambrosiae* gen. nov. et sp. nov. (Ophiostomatales). *Fungal Ecology*. 25: 41–49.
- Batra, L.R. 1985. Ambrosia beetles and their associated fungi: research trends and

- techniques. Proc. Indian Acad. Sci. 94: 137–148.
- Beaver R. 1989. Insect – Fungus relationships in the bark and ambrosia beetles. *In*: Wilding, N., Collins, N.M., Hammond, P.M., Webber, J.F. (eds.). Insect-fungus Interactions. Academic Press, San Diego, CA, USA, pp. 121-143.
- Bickford, D., Lohman D. J., Sodhi N. S., Ng P. K. L., Meier R., Winker K. and Das I. 2007. Cryptic species as a window on diversity and conservation. Trends in ecology and evolution. 22: 148-155.
- Biedermann, P. H. W., Klepzig K. D. and Taborsky M. 2009. Fungus cultivation by ambrosia beetles: behavior and laboratory breeding success in three Xyleborine species. Environ. Entomol. 38: 1096–1105.
- Brar, G. S., Capinera J. L., Kendra P. E., Mclean S. and Pena J.E. 2013. Life cycle, development, and culture of *Xyleborus glabratus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). Fla. Entomol. 96: 1158–1167.
- Brink, M. 2008. *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam) Urb. *In*: D. Louppe, A. A. Oteng-Amoako and Brink M. (Editeurs). Ressources végétales de l'Afrique tropicale. Fondation PROTA, Wageningen, Pays-Bas. 785 p.
- Carrillo D., Duncan R. E., Ploetz J. N. Campbell A. F., Ploetz R. C. and Pena J. E. 2014. Lateral transfer of a phytopathogenic symbiont among native and exotic ambrosia beetles. Plant Pathol. 63: 54–62.
- Carrillo, D., Dunlap C. A., Avery P. B., Navarrete J., Duncan R. E., Jackson M. A. and Peña J. E. 2014. Entomopathogenic fungi as biological control agents for the vector of the laurel wilt disease, the redbay ambrosia beetle, *Xyleborus glabratus* (Coleoptera: Curculionidae). *Biological Control*.  
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2014.10.009>
- Castro J. 2016. Aspectos Biologicos y ecologicos de *Coptoborus ochromactonus* Smith y Cognato (Coleoptera: Scolytinae), y la relacion de sus hongos asociados en la muerte regresiva de *Ochroma pyramidale* (Cav. Ex. Lam.) Urb. Urb. 149 p. Theses doctorat, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
- Castro, J., S. M. Smith, A. I. Cognato, D. Lanfranco, M. Martínez and M. Guachambala. 2019.

- Life cycle and development of *Coptoborus ochromactonus* Smith and Cognato (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), a pest of balsa. J. Econ. Entomol. 112: 729–735.
- Cedeño, P. E. and Flowers W. 2012. *Heilipodus unifasciatus* (Champion) (Coleoptera: Curculionidae: Molytinae: Hylobiini) attacking plantations of *Ochroma pyramidale* (Cavanilles Ex Lamarck) Urban (Malvaceae) in Ecuador. The Coleopterists Bulletin, 66: 344–346.
- Chao, A., R. L. Chazdon, R. K. Colwell and T. J. Shen. 2005. A new statistical approach for assessing similarity of species composition with incidence and abundance data. Ecol. Lett. 8: 148-159.
- Cognato A. I., Hulcr J., Dole S. A. and Jordal B. H. 2011. Phylogeny of haplo-diploid, fungus-growing ambrosia beetles (Curculionidae: Scolytinae: Xyleborini) inferred from molecular and morphological data. Zool. Scr. 40: 174–186.
- Cognato, A. I. 2019. *Callibora Cognato* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae: Xyleborini), a new genus of xyleborine ambrosia beetle from Ecuador. The Coleopterists Bulletin. 72: 801–804.
- Coyle, D., D. C. Booth and M.S. Wallace. 2005. Ambrosia beetle (Coleoptera: Scolytidae) species, flight, and attack on living eastern cottonwood trees. J. Econ. Entomol. 98: 2049–2057.
- Cuesta, F., Peralvo M., Merino-Viteri A., Bustamante M. Baquero F., Freile J. F., Muriel P. and Torres-Carvajal O. 2017. Priority areas for biodiversity conservation in mainland Ecuador. Neotropical Biodiversity. 3: 93–106.
- Dangles, O., A. Barragan, R.E. Cardenas, G. Onore and C. Keil. 2009. Entomology in Ecuador: Recent developments and future challenges. Ann. Soc. Entomol. Fr. 45: 424-436.
- Dangles, O., and Nowicki F. 2010. Natura maxima Equateur, terre de biodiversité. [http://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins\\_textes/divers12-09/010048528.pdf](http://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/divers12-09/010048528.pdf)
- Dos Santos, G. A., T. de Oliveira, E. da Silva Lima, B. Maltarolo, A. Luiz da Silva, D. de Franca, R. da Silva, V. de Jesus Matos, C. de Oliveira and R. da Costa. 2015. Eco-physiological behavior and carbon metabolism in young plants of balsa wood (*Ochroma pyramidale*) under three different water regimes. AJCS. 9: 1106–1112.

- Dufrêne, M. and P. Legendre. 1997. Species assemblages and indicator species: the need for a flexible asymmetrical approach. *Ecol. Monogr.* 67: 345-366.
- Durand-Gillmann, M., M. Cailleret, T. Boivin, L.M. Nageleisen and H. Davi. 2014. Individual vulnerability factors of Silver fir (*Abies alba* Mill.) to parasitism by two contrasting biotic agents: mistletoe (*Viscum album* L. ssp. *abietis*) and bark beetles (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) during a decline process. *Ann. For. Sci.* 71: 659-673.
- Egonyu J. P. and Torto, B. 2017. Responses of the ambrosia beetle *Xylosandrus compactus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) to volatile constituents of its symbiotic fungus *Fusarium solani* (Hypocreales: Nectriaceae). *Arthropod-Plant Interactions*. <https://doi.org/10.1007/s11829-017-9552-2>
- Fabig, W. 2011. The microbial community associated with the ambrosia beetle *Xyleborinus saxesenii* (Coleoptera: Scolytinae) and its influence on the growth of the mutualistic fungus. 82 p. Thèses master. Universität Bayreuth.
- Farrell, B. D., Sequeira A. S., O'Meara B. C., Normark B. B., Chung J. H. and Jordal, B. H. 2001. The evolution of agriculture in beetles (Curculionidae: Scolytinae and Platypodinae). *Evolution*. 55: 2011–2027.
- Ferrenberg, S., Kane J. M. and Mitton J. B. 2014. Resin duct characteristics associated with tree resistance to bark beetles across lodgepole and limber pines. *Oecologia*. 174: 1283–1292.
- Fettig, C. J. and J. Hilszczański. 2015. Management strategies for bark beetles in conifer forests. pp. 555-584. *In* F. E. Vega and R. W. Hofstetter (eds.), *Bark beetles: biology and ecology of native and invasive species*. Elsevier, San Diego, CA. USA.
- Flechtmann, C.A.H., A.L.T. Ottati and C.W. Berisford. 1999. Attraction of ambrosia beetles (Coleoptera: Scolytidae) to different tropical pine species in Brazil. *Environ. Entomol.* 28: 649-658.
- Flechtmann, C. A. H., A. L. T. Ottati and C. W. Berisford. 2001. Ambrosia and bark beetles (Scolytidae: Coleoptera) in pine and eucalypt stands in southern Brazil. *For. Ecol. Manage.* 142: 183–191.
- Fraedrich, S. W., Harrington, T. C., Rabaglia, R. J., Ulyshen, M. D., Mayfield, A. E., Hanula, J. and Miller D. 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.

Francis, J. K. 1991. *Ochroma pyramidale* Cav. Balsa Bombacaceae. Monograph SO-ITF-SM-41, p.6. Institute of Tropical Forestry. United States Department of Agriculture (U.S. Dep. Agric.) Forest Service, Washington, DC.

Francke-Grosmann, H. 1967. Ectosymbiosis in wood-inhabiting insects. *In*: S. M. Henry (Ed.). Symbiosis. New York. Academic Press. 141-203.

Freeman S., Protasov A., Sharon M., Mohotti K., Eliyahu M., Okon-Levy N., Maymon M. and Mendel Z. 2013. Obligate feed requirement of *Fusarium* sp. nov., an avocado wilting agent, by the ambrosia beetle *Euwallacea* aff. *fornicata*. Symbiosis. <https://doi.org/10.1007/s13199-013-0222-6>.

Gadd, C. H. 1947. The life-history of the shot-hole borer of tea. *Tea Q.* 14: 5–22.

Gagne, J.A. and Kearby W.H. 1979. Life history, development, and insect-host relationships of *Xyleborus celsus* (Coleoptera: Scolytidae) in Missouri. *Can. Entomol.* 111: 295-305.

Galiano, L., J. Martínez-Vilalta and F. Lloret. 2011. Carbon reserves and canopy defoliation determine the recovery of Scots pine 4 yr after a drought episode. *New Phytol.* 190: 750–759.

González Osorio, B., X. Cervante Molina, E. Torres Navarrete, C. Sánchez Fonseca and L. Simba. 2010. Caracterización del cultivo de balsa (*Ochroma pyramidale*) en la provincia de Los Ríos. *Ciencia y Tecnol.* 3: 7-11.

Hamilton, W. D. 1967. A sex-ratio theory for sex linkage and inbreeding. <http://www.indiana.edu/~curtweb/L567/readings/Hamilton1967Science.pdf>.

Hammer, Ø., D. A. T. Harper and P. D. Ryan. 2001. PAST: Paleontological Statistics, ver. 1.89. *Palaeontol. Electron.* 4: 1–9.

Hanula, J. L., Mayfield A. E., Fraedrich S. W. and Rabaglia R. J. 2008. Biology and host associations of redbay ambrosia beetle (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), exotic vector of laurel wilt killing redbay trees in the southeastern United States. *Econ. Entomol.* 101: 1276–1286.

Hara, A. H. and Beardsley J. W. 1979. The biology of the black twig borer, *Xylosandrus compactus* (Eichhoff), in Hawaii. *Proc. Hawaii. Entomol. Soc.* 13: 55–70.



- Hebert, P.D., Cywinska A., Ball S. and deWaard J.R. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceeding of the Royal Society B: Biological Sciences*. 270: 313-321.
- Hulcr, J., Atkinson T. H., Cognato A. I., Jordal B. H. and McKenna D. D. 2015. Morphology, taxonomy, and phylogenetics of bark beetles, pp. 41-84. *In* F. E. Vega and R. W. Hofstetter (eds.), *Bark beetles: biology and ecology of native and invasive species*. Elsevier, San Diego, CA. USA.
- Hulcr, J., R. A. Beaver, W. Puranasakul, S. A. Dole and S. Sontichai. 2008. A comparison of bark and ambrosia beetle communities in two forest types in northern Thailand (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae and Platypodinae). *Environ. Entomol.* 37:1461–1470.
- Hulcr, J. and Cognato A. I. 2010. Repeated evolution of crop theft in fungus-farming ambrosia beetles. *Evolution*, 64: 3205–3212.
- Hulcr, J. and Dunn R. R. 2011. The sudden emergence of pathogenicity in insect – fungus symbioses threatens naive forest ecosystems. *Proc. R. Soc. B.* 278: 2866–2873.
- Hulcr, J., M. Kolarik and L. R. Kirkendall. 2007. A new record of fungus-beetle symbiosis in *Scolytodes* bark beetles (Scolytinae, Curculionidae, Coleoptera). *Symbiosis*. 43: 151–159.
- Hulcr J. and Stelinski L. L. 2017. The ambrosia symbiosis: from evolutionary ecology to practical management. *Annu. Rev. Entomol.* 62: 285–303.
- Hulcr J., Dole S.A., Beaver R. A and Cognato A. I. 2007. Cladistic review of generic taxonomic characters in Xyleborina (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Syst. Entomol.* 32: 568-584.
- Inch, B. S. A. and Ploetz, R. C. 2012. Impact of laurel wilt , caused by *Raffaelea lauricola*, on xylem function in avocado, *Persea americana*. *For. Path.* 42: 239–245.
- Jativa, E. 2017. Análisis de la cadena de valor de la madera de balsa: El caso de la provincia de Esmeraldas, Ecuador, pp. 1-22. In XXII Congreso internacional de contaduría, administración e informática, 27-29 Septiembre 2017, Quito, Ecuador. <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/24706/2/articulo4.pdf>
- Jordal, B. H., Beaver R. and Kirkendall L. 2001. Breaking taboos in the tropics: incest promotes colonization by wood-boring beetles. *Global Ecology and Biogeography*, 10: 345–357.

- Kambestad, M., Kirkendall L.R., Knutsen I.L. and Jordal, B.H. 2017. Cryptic and pseudo-cryptic diversity in the world's most common bark beetle – *Hypothenemus eruditus*. *Org. Divers. Ecol.* <https://doi.org/10.1007/s13127-017-0334-6>
- Kasson M. T., O'Donnell K., Rooney A., Sink S., Ploetz R., Ploetz J., Konkol J., Carrillo D., Freeman S., Mendel Z., Smith J., Black A., Hulcr J., Bateman C., Stefkova K., Campbell P., Geering A., Dann E., Eskalen A., Mohotti K., Short D., Aoki T., Fenstermacher K., Davis D. and Geiser D.M. 2013. An inordinate fondness for *Fusarium*: phylogenetic diversity of fusaria cultivated by ambrosia beetles in the genus *Euwallacea* on avocado and other plant hosts. *Fungal Genet. Biol.* 56: 147-157.
- Kinuura, H. and M. Kobayashi. 2006. Death of *Quercus crispula* by inoculation with adult *Platypus quercivorus* (Coleoptera: Platypodidae). *Appl. Entomol. Zool.* 41:123–128.
- Kirkendall, L. R. 2006. A new host-specific ambrosia beetle, *Xyleborus vochysiae* (Curculionidae: Scolytinae), from Central America breeding in live trees. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 99: 211–217
- Kirkendall, L. R. 1993. Ecology and evolution of biased sex ratios in bark and ambrosia beetles, pp. 235 – 345. *In* D.L. Wrensch and M.A. Ebbert (eds), *Evolution and diversity of sex ratios in insects and mites*. Chapman and Hall, New York.
- Kirkendall, L. R., P. H. W. Biedermann and B. H. Jordal. 2015. Evolution and diversity of bark and ambrosia beetles. pp. 85-156. *In* F. E.Vega and R. W. Hofstetter (eds.), *Bark beetles: biology and ecology of native and invasive species*. Elsevier, San Diego, CA. USA.
- Kirkendall, L. R. and Faccoli, M. 2010. Bark beetles and pinhole borers (Curculionidae, Scolytinae, Platypodinae) alien to Europe. *ZooKeys.* 56: 227–251.
- Kostovcik M., Bateman C., Kolarik M., Stelinski L., Jordal B.H. and Hulcr J. 2015. The ambrosia symbiosis is specific in some species and promiscuous in others : evidence from community pyrosequencing. *ISME J.* 9: 126–138.
- Krams, I., J. Daukste, I. Kivleniece, G. Brumelis, R. Cibulskis, M. Āboliņš-Ābols, M. Rantala, P. Mierauskas and T. Krama. 2012. Drought-induced positive feedback in xylophagous insects: Easier invasion of Scots pine leading to greater investment in immunity of emerging individuals. *For. Ecol. Manage.* 270:147-152.
- Kubicek, C. P., Starr T. L. and Glass N. L. 2014. Plant cell wall – degrading enzymes and their

- secretion in plant-pathogenic fungi. *Annu. Rev. Phytopathol.* 52, 427–451.
- Lee, J., R. Haack and W. Choi. 2011. Attack pattern of *Platypus koryoensis* (Coleoptera: Curculionidae: Platypodinae) in relation to crown dieback of Mongolian oak in Korea. *Environ. Entomol.* 40: 1363–1369.
- Legendre, P. and L. Legendre. 1998. *Numerical Ecology*, 2<sup>nd</sup> English Edition. Elsevier Science BV, Amsterdam. 853p
- Li Y., Simmons D. R., Bateman C. C., Short D. P. G., Kasson M. T., Rabaglia R. J. and Hulcr J. 2015. New fungus-insect symbiosis: culturing, molecular and histological methods determine saprophytic Polyporales mutualists of *Ambrosiodmus* ambrosia beetles. *PLoS One.* 10: 1–13.
- Lieutier, F., Mendel Z. and Faccoli M. 2016. Bark beetles of Mediterranean conifers. *In* *Insects and Diseases of Mediterranean Forest Systems*, pp. 105-197. Springer, Cham.
- Lucky, A., Erwin T. L. and Witman J. D. 2002. Temporal and spatial diversity and distribution of arboreal carabidae (Coleoptera) in a western Amazonian Rain Forest. *Biotropica.* 34: 376–386.
- Lynch, S. C., Bateman C. and Rugman-Jones P. 2016. Identification, pathogenicity and abundance of *Paracremonium pembeum* sp. nov. and *Graphium euwallaceae* sp. nov. -two newly discovered mycangial associates of the polyphagous shot hole borer (*Euwallaceae* sp.) in California. *Microb Ecol.* 108: 313–329.
- Macedo-Reis, L. E., S. M. Novais, G. F. Monteiro, C. A. Flechtmann, M. L. Faria and F. de S. Neves. 2016. Spatio-temporal distribution of bark and ambrosia beetles in a Brazilian tropical dry forest. *J. Insect Sci.* 16: 1-9.
- MAG. 2018. Mapa de plantaciones forestales incentivadas 2013 - 2017. <http://geoportal.agricultura.gob.ec>
- MAG. 2016. Mapa de Cobertura y Uso de la tierra en el Ecuador continental - Categoría: Bosque nativo. <http://fliphtml5.com/wtae/kamq/basic>
- Marini, L., M. P. Ayres, A. Battisti and M. Faccoli. 2012. Climate affects severity and altitudinal distribution of outbreaks in an eruptive bark beetle. *Clim. Change.* 115:

327–341.

- Martínez, M., J. Castro, R. Villamar, M. Carranza, J. Muñoz, E. Jiménez, M. Guachambala, M. Heredia, L. Garcia and S. M. Jazayeri. 2017. Evaluation of the diversity of Scolitids (Coleoptera: Curculionidae) in the forest plantations of the central zone of the Ecuadorian littoral. *Cienc. Tecnol.* 10: 25–32.
- Manly, B. 1997. Randomization and Monte Carlos methods in biology. Chapman and Hall. London, Uk. 281p.
- Meurer, E., L. D. Battirola, D. Colpani, A. Dorval and M. I. Marques. 2013. Scolytinae (Coleoptera, Curculionidae) asociados a diferentes fitofisionomias no Pantanal de Cáceres, Mato Grosso. *Acta Biol. Parana* 42: 195-210.
- Midgley, S., M. Blyth, N. Howcroft, D. Midgley and A. Brown. 2010. Balsa: biology, production and economics in Papua New Guinea. pp. 98. ACIAR Technical Reports No. 73. Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra, Australia.
- Ministerio del Ambiente. 2011. Aprovechamiento de Recursos Forestales en el Ecuador (Periodo 2010) y procesos de infracciones y decomisos. [https://doi.org/http://www.itto.int/files/user/pdf/PROJECT\\_REPORTS/PD%20406\\_06\\_%20Forest%20Harvesting%20in%20Ecuador%202010%20offenses%20and%20forfeiture.pdf](https://doi.org/http://www.itto.int/files/user/pdf/PROJECT_REPORTS/PD%20406_06_%20Forest%20Harvesting%20in%20Ecuador%202010%20offenses%20and%20forfeiture.pdf).
- Morales-Ramos, J. A., Rojas M. G., Sittertz-Bhatkar H. and Saldana G. 2000. Symbiotic relationship between *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) and *Fusarium solani* (Moniliales: Tuberculariaceae). *Annals of the Entomological Society of America*. 93: 541–547.
- Morris, J. L., Cottrell S., Fettig C. J., Derosé R. J., Mattor K. M., Carter V. A., Clear J., Clement J., Hansen W., Hicke J. Higuera P., Seddon A.WR., Seppa H., Sherriff R., Stednick J. and Seybold S. 2018. Bark beetles as agents of change in social – ecological systems. *Front. Ecol. Envir.*, 16 (S1). <https://doi.org/10.1002/fee.1754>
- Müller, J. A. and J. Andreiv. 2004. Caracterização da família Scolytidae (Insecta: Coleoptera) em três ambientes florestais. *Cerne* 10: 39–45.
- Netherer, S., Matthews B., Katzensteiner K., Blackwell E., Henschke P., Hietz P., Pennerstorfer J., Rosner S., Kikuta S., Schume H. and Schopf A. 2015. Do water-limiting

- conditions predispose Norway spruce to bark beetle attack ? *New Phytol.* 205: 1128–1141.
- Ngoan, N. D., Wilkinson R. C., Short D. E., Moses C. S. and Mangold J. R. 1976. Biology of an introduced ambrosia beetle, *Xylosandrus compactus*, in Florida. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 69: 872–876.
- Norris, D.M. and Chu H.M. 1985. *Xyleborus ferrugineus*, pp. 303 – 315. In P. Singh and R.F. Moore (eds). *Handbook of insect rearing*, vol. I. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands.
- Paine, T. D., Raffa K. F. and Harrington T. C. 1997. Interactions among scolytid bark beetles, their associated fungi, and live host conifers. *Annu. Rev. Entomol.* 42: 179–206.
- Penteado, S. do R. C., A. A. Carpanezzi, E. J. M. Neves, Á. F. dos Santos and C. A. Flechtmann. 2011. Escolitídeos como bioindicadores do “declínio do nim” no Brasil. *Pesq. Flor. Bras.* 31: 69–73.
- Pérez-De la Cruz, M., M. Hernández-May, A. De la Cruz-Pérez and S. Sanchez-Soto. 2016. Scolytinae y Platypodinae ( Coleoptera : Curculionidae ) de dos áreas de conservación en Tabasco, México. *Rev. Biol. Trop.* 64: 335–342.
- Petrov, A. V. and Mandelshtam M. Y. 2018. Description of a new species of *Cnestus* S AMPSON, 1911, and notes on other species from South America (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Koleopt. Rund.* 88: 269–274.
- Petrov, A. V. and Atkinson T. H. 2018. New species of neotropical Ipini Bedel, 1888 (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Russian Entomol.* 27: 41–45.
- Ploetz, R., Hulcr J., Wingfield M. J. and de Beer W. 2013. Destructive tree diseases associated with ambrosia and bark beetles: black swan events in tree pathology ? *Plant Disease.* 95: 856–872.
- Raffa, K. F., B. H. Aukema, B. J. Bentz, A. L. Carroll, J. A. Hicke, M. G. Turner and W. H. Romme. 2008. Cross-scale drivers of natural disturbances prone to anthropogenic amplification: the dynamics of bark beetle eruptions. *AIBS Bull.* 58: 501-517.
- Ramos, P. 2016. “Balsa” *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urb. (Bombacaceae). *Etnobotanica, anatomia, ensayos fitoquímicos y actividades biológicas.* 131 p. Doctoral thesis. Universidad de la Planta, Argentina.

- Ranger, C. M., P. H. Biedermann, V. Phuntumart, G. Beligala, S. Ghosh, Palmquist, D.E. R. Mueller, J. Barnett, P. B. Schultz, M. E. Reding and J. P. Benz. 2018. Symbiont selection via alcohol benefits fungus farming by ambrosia beetles. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 115: 4447-4452.
- Rivano, F., L. Maldonado, B. Simba, R. Lucero, E. Gohet, V. Cevallos and T. Yugcha. 2015. Suitable rubber growing in Ecuador: An approach to South American leaf blight. *Ind. Crop. Prod.* 66: 262–270.
- Rossi, J. 2011. rich: An R package to analyse species richness. *Divers.* 3: 112-120
- Sandoval Rodriguez, C., A. I. Cognato and C.A. Righi. 2017. Bark and ambrosia beetle (Curculionidae : Scolytinae) diversity found in agricultural and fragmented forests in Paracibaba-SB, Brazil. *Environ. Entomol.* 46: 1254–1263.
- Saruhan, I. and H. Akyol. 2012. Monitoring population density and fluctuations of *Anisandrus dispar* and *Xyleborinus saxesenii* (Coleoptera: Scolytinae, Curculionidae) in hazelnut orchards. *Afr. J. Bio.* 11: 4202-4207.
- Saucedo-Carabez J. R., Ploetz, R. C., Konkol, J. L., Carrillo D. and Gazis R. 2018. Partnerships between ambrosia beetles and fungi: lineage-specific promiscuity among vectors of the laurel wilt pathogen, *Raffaelea lauricola*. *Microb Ecol.* 76: 925–940.
- Saucedo J. R., Ploetz R. C., Konkol J. L., Ángel M., Mantilla J., Menocal O. and Carrillo D. 2017. Nutritional symbionts of a putative vector, *Xyleborus bispinatus*, of the laurel wilt pathogen of avocado, *Raffaelea lauricola*. *Symbiosis*. <https://doi.org/10.1007/s13199-017-0514-3>
- Seibold, S., C. Bäessler, R. Brandl, B. Büche, A. Szallies, S. Thorn, M. D. Ulyshen and J. Müller. 2016. Microclimate and habitat heterogeneity as the major drivers of beetle diversity in dead wood. *J. Appl. Ecol.* 53: 934-943.
- Sittichaya, W., S. Permkam and A. I. Cognato. 2012. Species composition and flight pattern of Xyleborini ambrosia beetles ( Col.: Curculionidae : Scolytinae ) from agricultural areas in southern Thailand. *Environ. Entomol.* 41: 776–784.
- Six D. L. 2003. Bark-beetle fungus symbioses. In Bourtzis K, Miller T.A. (Eds.) *Insect symbiosis*. CR C, Boca Raton, pp 99-116.
- Smith, S. M. and Cognato A. I. 2011. Observations of the Biology of *Camptocerus* Dejean (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) in Peru. *The Coleopterists Bulletin.* 65: 27–32.

- Smith S. M. and Cognato A.I. 2016. A revision of *Coptonotus* Chapuis, 1869 (Coleoptera: Curculionidae: Coptonotinae) with notes on its Biology. The Coleopterists Bulletin. 70: 409–428.
- Smith, S. M. and J. Hulcr. 2015. Scolytus and other economically important bark and ambrosia beetles. pp. 495-531. In F.E. Vega and R. W. Hofstetter (eds.), Bark beetles: biology and ecology of native and invasive species. Elsevier, San Diego, CA. USA.
- Stilwell, A. R., S. M. Smith, A. I. Cognato, M. Martinez and R. W. Flowers. 2014. *Coptoborus ochromactonus*, n. sp. (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), an emerging pest of cultivated balsa (Malvales: Malvaceae) in Ecuador. J. Econ. Entomol. 107: 675–683.
- Tanner, L. D. 2014. Assessment of a pest management strategy for the redbay ambrosia beetle (Coleoptera: Curculionidae), a newly introduced forest pest in Florida. 84 p. Thesis of master. The Florida Agricultural and Mechanical University. USA.
- Tanner, L. D., L. H. Kanga, M. Haseeb, L. Whilby and O. U. Onokpise. 2018. Efficacy of selected attractants for monitoring the populations of the redbay ambrosia beetle, *Xyleborus glabratus* Eichhoff (Coleoptera: Scolytidae ) and other bark beetles in the Florida Panhandle. Curr. Inves. Agri. Curr. Res. 1: 1–7.
- Tews, J., U. Brose, V. Grimm, K. Tielbörger, M. C. Wichmann, M. Schwager and F. Jeltsch. 2004. Animal species diversity driven by habitat heterogeneity/diversity: the importance of keystone structures. J. Biogeogr. 31: 79-92.
- Ulyshen, M. D. and T.N. Sheehan. 2017. Trap height considerations for detecting two economically important forest beetle guilds in southeastern US forests. J. Pest Sci <https://doi.org/10.1007/s10340-017-0883-7>.
- Velazques, E. B. 2014. *La biodiversidad en el Ecuador*. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/6788/1/La%20Biodiversidad.pdf>
- Weber, B. C. and Mcpherson J. E. 1983. Life history of the ambrosia beetle *Xylosandrus germanus* (Coleoptera: Scolytidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 76: 455–462
- Weber M., Stimm B., Lopez M. F., Gerique A., Pohle P., Hildebrandt P. and Kübler D. 2013. Conservation, management of natural forests and reforestation of pastures to retain and restore current provisioning services. In: J. Bendix et al. (eds.) Ecosystem services,

- biodiversity and environmental change in a tropical mountain ecosystems of south Ecuador, ecological Studies. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-38137-9>
- Wermelinger, B. 2004. Ecology and management of the spruce bark beetle *Ips typographus* - a review of recent research. For. Ecol. Manage. 202: 67–82.
- Wood, S. L. 1982. The bark and ambrosia beetles of North and Central America (Coleoptera: Scolytidae), a taxonomic monograph. Great Basin Nat. Mem. Brigham Young University, Provo, UT. 1359p.
- Willig, M. R., Kaufman D. M. and Stevens R. D. 2003. Latitudinal gradients of biodiversity: pattern process, scale, and synthesis. Annu. Rev. Evol. Syst. 34: 273–309
- Wood, S. L. 2007. The bark and ambrosia beetles of South America (Coleoptera: Scolytidae). Monte L. Bean Life Science Museum. Brigham Young University, Provo, Utah. 900p.
- World Bank. 2015. World development indicators: deforestation and biodiversity. <http://documents.worldbank.org/curated/en/795941468338533334/pdf/956820PUB097810til0Apr140at010300am.pdf>
- Yamasaki, M. and K. Futai. 2008. Host selection by *Platypus quercivorus* (Murayama) (Coleoptera: Platypodidae) before and after flying to trees. Appl. Entomol. Zool. 43: 249–257.
- Zanuncio, J. C., M. F. Sossai, C. A. Flechtmann, T. V. Zanuncio, E. M. Guimarães and M. C. Espindula. 2005. Plants of an *Eucalyptus* clone damaged by Scolytidae and Platypodidae (Coleoptera). Pesqui. Agropecu. Bras. 40: 513–515.



## ANNEXES

## **ANNEXE 1**

**Article 1.** Martinez M., A.I. Cognato, M. Guachambala and T. Boivin. 2019. Bark and ambrosia beetle (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) diversity in natural and plantation forests in Ecuador. *Environmental Entomology*. 48: 603-613.

## Bark and Ambrosia Beetle (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) Diversity in Natural and Plantation Forests in Ecuador

Malena Martínez,<sup>1,2,6</sup> Anthony I. Cognato,<sup>3</sup> Marcelino Guachambala,<sup>4</sup> and Thomas Boivin<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Technical State University of Quevedo, Faculty of Environmental Sciences, Avenida Quito, Km 1 ½ vía a Sto. Domingo de los Tsáchilas, Quevedo, Ecuador, <sup>2</sup>University of Montpellier, Montpellier, 34090, France, <sup>3</sup>Department of Entomology, Michigan State University, 288 Farm Lane, room 243, East Lansing, MI 48824, <sup>4</sup>3A Composites, Research and Development, Guayaquil, Ecuador, <sup>5</sup>INRA, UR629, Ecologie des Forêts Méditerranéennes, Domaine Saint Paul Site Agroparc, 84194 Avignon CS40509 Cedex 9, France, and <sup>6</sup>Corresponding author, e-mail: mmartinez@uteq.edu.ec

Subject Editor: Jason Schmidt

Received 31 October 2018; Editorial decision 20 March 2019

### Abstract

The Scolytinae is highly diversified in tropical forests, but richness and abundance patterns within most Ecuadorian forest habitat types are not yet characterized. In this study, we assessed patterns of variation in Scolytinae richness, abundance, and species composition in a primary and a secondary natural forest, and a commercial balsa plantation in Ecuador. We conducted a 1-yr survey of Scolytinae communities with baited traps and measured associated environmental variables. In total, 18,169 Scolytinae individuals were captured and comprised 85 species, 16 genera, and six tribes. In the natural forests, main indicator species were *Xylosandrus morigerus*, *Xyleborus affinis*, *Xyleborus* sp.02, and *Corthylus* sp.01, whereas all species of *Hypothenemus* were indicator species in the balsa plantation. The exotic *Premnobius cavipennis* (lpini), *Xylosandrus compactus*, and *Xylosandrus morigerus* were indicator species for the natural forests. We provide evidence that commercial balsa plantations provide abundant favorable resources for native and exotic scolytines in Ecuador, and that scolytine communities in natural forest and in plantations are more likely to differ in their species composition than in their cumulated species richness. In all habitats, species composition, abundance, and species richness showed temporal patterns of variation that coincided with seasonal variations in climatic conditions, with highest records during the coldest and driest months in the primary forest and the balsa plantation. We provide new knowledge on the native Ecuadorian scolytine fauna and a foundation for the monitoring for potential scolytine pest species of natural and planted tropical forest ecosystems.

**Key words:** scolytine, richness, abundance, species composition, balsa

The Scolytinae (Coleoptera: Curculionidae) includes both bark and ambrosia beetles and represents a group of major economic and ecological importance in worldwide forest ecosystems (Raffa et al. 2008, Weed et al. 2013). Most scolytine species feed on recently cut or injured tissues of woody plants, which can cause massive tree mortalities depending on both tree health and beetle abundance (Wood 1982, Kausrud et al. 2012, Harvey et al. 2014). Although weakened trees (i.e., wind fallen, fire-injured, water-stressed, or damaged trees by other biotic factors) are highly attractive to Scolytinae, healthy trees are rarely attacked (Wood 2007) and less than 1% of species regularly kill healthy standing trees (Kirkendall et al. 2015). The Scolytinae are important forest disturbance agents that affect many processes in forest dynamics by contributing to biological decomposition and nutrient cycling

(Wood 1982, Ronque et al. 2012). All Scolytinae beetles perforate the bark of trees and dig galleries near the cambium, but bark and ambrosia beetles display two different feeding strategies. Bark beetles are mostly monophagous or oligophagous species that feed directly on phloem tissues (i.e., phloemophagy), whereas ambrosia beetles are polyphagous species that feed on fungi that they introduce and cultivate in their galleries (i.e., xylomycetophagy) and on xylem (Atkinson and Equihua 1985; Wood 2007; Hulcr et al. 2007, 2015). The lack of host specificity in ambrosia beetles is a key element for their invasiveness in many forest ecosystems (Kirkendall et al. 2008, Kirkendall and Faccoli 2010).

There are currently 247 genera and 5,990 species of Scolytinae known worldwide (Hulcr et al. 2015, Kirkendall et al. 2015). The greatest diversity of Scolytinae species (80% of the total diversity)

occurs in the tropics and nearly 40% specifically in the Neotropics (Hulcr et al. 2015). A list of 1,126 species has been reported for South America but this may reflect only 25% of the current South American Scolytinae as both diversity and ecological components of these communities have been not been thoroughly investigated (Atkinson and Equihua 1986, Wood 2007, Smith et al. 2017). Specifically in Ecuador, only 50 species of Scolytinae have been described (Wood 2007). Some of these have been recognized as serious pests of both indigenous and exotic tree species. For instance, *Coptoborus ochromactonus* Smith and Cognato is known to regularly attack and kill young balsa trees (*Ochroma pyramidale* Cav. ex Lam. Urb., 1920) in Ecuadorian commercial plantations (Stilwell et al. 2014). In general, though, the diversity and abundance of Scolytinae species within most Ecuadorian forest habitat types, i.e., plantations and natural forests, have yet to be characterized. This missing basic knowledge is a concern for the conservation and the protection of forest ecosystems in Ecuador, as well as in other countries hosting similar host plant species. Furthermore, the economic impact of Scolytinae on Ecuadorian wood products for domestic use or exportation is unknown.

Associations of Scolytinae diversity patterns with environmental factors in different tropical forest types are limited. In the old world tropics, different species of scolytines occurred in different forest habitats, according to climatic factors and habitat disturbance (Hulcr et al. 2008). A number of studies in Brazilian forest plantations established relationships between changes in bark and ambrosia beetle abundance and local seasonal variation of climatic factors (Flechtmann et al. 2001, Sandoval Rodriguez et al. 2017) and reported host shifts of native bark and ambrosia beetle species in larger areas of forest monocultures (Flechtmann et al. 1999).

In the Ecuadorian coastal region, vegetative cover in primary or secondary tropical forests contributes to microclimatic differentials over short distances that generate persistent microclimatic refuges for insect populations (Dangles et al. 2009). Such natural forests favor a wide range of ecological niches through heterogeneity in tree species composition and associated resource and habitat opportunities, which in turn favors diversity in forest insect communities (Tews et al. 2004, Seibold et al. 2016). If species richness is a typical attribute of natural forests, then Ecuadorian tree plantations are also likely to harbor substantial numbers of species, for example, balsa tree plantations and their associated 68 insect pests (Dangles et al. 2009). In Ecuador, national and private natural reserves and commercial plantations currently represent about 20 and 50% (respectively) of the land cover in Ecuador (Dangles et al. 2009). However, local patterns of Scolytinae communities and their environmental associations in natural and plantation forests are little known, despite the importance of these issues for understanding conservation and pest management.

In this paper, we contribute towards a better understanding of Neotropical scolytine diversity by describing Scolytinae abundance (total number of specimens per taxon), species richness (total number of taxon richness), and species composition in a primary and a secondary natural forest, and in a balsa plantation in Ecuador. Using a monitoring program with baited traps for flying insects, we conducted a continuous, year-long survey of Scolytinae communities to assess 1) the patterns of variation according to forest habitat, and 2) the patterns of temporal changes within the three different habitats and their association with the seasonal variations of local climatic factors. The expected outcomes of this study are the provision of critical information for national and international efforts to monitor bark and ambrosia beetles and their associated threats in terms of tropical and subtropical forest ecosystems.

## Materials and Methods

### Study Sites

The survey was conducted in three study sites. The first study site was established in a primary premontane wet forest (110 ha), the 'Yakusinchi Reserve', located on the lower foothills of the Western Andes (Cotopaxi Province, 00°57'02.5"S and 79°08'43.6"W, 300–900 m.a.s.l.). The mean annual temperature was ca. 24°C and the annual rainfall was ca. 2,750 mm with frequent cloudiness. Vegetation was predominantly composed of native trees such as *Ocotea* sp. (Lauraceae), *Grias* sp. (Lecythidaceae), *Hirtella* sp. (Chrysobalanaceae), *Croton lecheri* (Euphorbiaceae), *Inga* sp. (Mimosaceae), *Nectandra laevansis* (Lauraceae), *Iriartea deltoidea* (Arecaceae), *Tabebuia* sp. (Bignoniaceae), *Guarea kunthiana* (Meliaceae), *Pouteria capacifolia* (Sapotaceae), *Faramea monsalvaeae* (Rubiaceae), *Cecropia* sp. (Cecropiaceae), *Castilla elastica* (Moraceae), *Wettinia equalis* (Arecaceae), and *Otoba glycyarpa* (Myristicaceae). The canopy cover was nearly continuous, with regeneration natural of trees species, and absence of lianas. According to Delgado (2017), mean tree diameter at breast height (DBH) was 19.20 cm (range: 10 to 92 cm) and mean tree height was 9 m (range: 4 to 8 m). The vegetation adjacent to the primary forest consisted of permanent preservation areas with native trees.

The second study site was established in a secondary tropical rain forest (50 ha), located at INIAP-Pichilingue Tropical Experimental Station (Los Rios Province, 01°04'26"S and 79°24'14"W, 75 m.a.s.l.). The mean annual temperature was ca. 25.5°C and the annual rainfall was ca. 2,223 mm. Vegetation was composed of tree species such as *Anacardium excelsum* (Anacardiaceae), *Pseudolmedia rigida* (Moraceae), *Cordia alliodora* (Boraginaceae), *Clarcia racemosa* (Moraceae), *Poulsenia armata* (Moraceae), *Castilla elástica* (Moraceae), *Nectandra* sp. (Lauraceae), *Maclura tinctoria* (Moraceae), *Cecropia* sp. (Cecropiaceae), *Inga* sp. (Mimosaceae), *Theobroma cacao* (Sterculiaceae). The canopy cover was discontinuous and dominated by early succession plant species and an important liana component. According to Cedeño (2017), mean tree diameter was 25.46 cm at DBH (range: 10 to 93 cm) and mean height was 13 m (range: 3 to 25 m). The vegetation adjacent to the secondary forest consisted of mixed agroforestry systems involving native trees, cacao, coffee, and palm oil monocultures.

The third study site was established in a balsa plantation (*Ochroma pyramidale*; 35.79 ha) located in Los Ríos Province (00°13'50"S and 79°10'40"W, 158 m.a.s.l.). Climatic conditions were close to that of a tropical rainforest, with a mean annual temperature of ca. 25.5°C and annual rainfall of ca. 2,750 mm. The plantation was composed of 2-yr-old trees with 4 × 3.5 m spacing. The canopy cover was closed. Mean tree diameter was 17.1 cm at DBH (range: 12.54 to 19.51 cm) and mean height was 16 m (range: 14 to 18 m). Balsa was the only tree species present in this study site. The vegetation adjacent to the plantations consisted of agricultural fields composed of native fruits and forest trees, cocoa, and coffee plants.

### Scolytinae Sampling

In each study site, ten ethanol-baited traps were placed 1.30 m above the ground along a 200-m transect. All trap transects were implemented in the center of each forest habitat to limit edge effects on insect captures. Traps were spaced 20 m apart and we assumed spatial pseudoreplication between traps because the limited intertrap distance was not designed to assess spatial pattern at this scale. Ethanol-baited traps consisted of a 1,000-ml plastic bottle filled with 250 ml of a mixture of 90% ethanol and 50-ml hand

sanitizer. One side was open as the entrance for insects and the top was covered with a plastic plate to deflect plant residues and rain water (Hulcr et al. 2008). Traps were inspected every 2 wk from May 2016 to May 2017 in the primary forest and from June 2016 to May 2017 in the secondary forest and the balsa plantation. During each inspection, the trap contents were emptied into a labeled vial filled with 70% ethanol for storage. The collected Scolytinae were further separated and identified in the laboratory using a collection of Scolytinae identified by S.M. Smith (Michigan State University), taxonomic identification keys (Wood 2007), and online sources (<http://www.barkbeetles.info>). Voucher specimens were deposited in the A. J. Cook Arthropod Research Collection, Michigan State University. Species known to originate from outside of South America were classified as exotic.

### Climatic Variables

The three forest habitats were located in the central zone of Ecuadorian littoral, where climate is marked by a relatively cold and dry season (May to December) and a hotter and rainier season (January to April). In the primary forest, minimum, maximum and mean temperatures, and relative humidity were recorded continuously during the study period by a weather station (data logger USB 2, DATAQ Instruments, Ohio) at 6-h intervals and located 1.30 m above the ground, but precipitation data were not available. For both the secondary forest and the balsa plantation, minimum, maximum and mean temperatures, relative humidity and precipitation data were obtained from the nearest station of the National Meteorology and Hydrology Institute (INAMHI).

### Statistics

#### Species Richness

Samples were pooled to compute the observed cumulated species richness for each forest habitat ( $S_{obs}$ ). A bootstrap procedure based on 1,000 randomizations was used to correct observed cumulated richness estimates ( $S_{cor}$ ) for a possible bias due to sampling and we approximated the standard error of  $S_{obs}$  by the standard deviation of the bootstrap estimates (Manly 1997). We also computed the Chao 1 index as an additional control for potential biases emerging from a number of undetected species in the community (Chao et al. 2005). Because our experimental design did not allow for analysis of variance between forest habitats, observed cumulated species richness was compared by means of pair-wise randomization tests controlling for the effect of differences in density of the compared communities (Manly 1997). The richness of the community with highest density was first rarefied to get a richness estimate for a density comparable to that of the lower density community, and a test based on 1,000 randomizations was then performed on the difference between these richness. This procedure returned a probability  $P$  estimated as the number of randomizations for which the observed value for community 1 was higher than the observed value for community 2 divided by the number of randomization + 1 (Manly 1997, Rossi 2011). Species rarity within each forest habitat was assessed as the number and frequency of species with one individual per sample at the most (singleton species) and as the number and frequency of species occurring in only one sample (unique species). Randomization and species rarity test were performed using the rich package (Rossi 2011) in the R environment (R Development Core Team 2008).

#### Diversity Indices

Quantitative measures of the Scolytinae communities involved the calculation of the following diversity indices: Margalef (DMg)

richness index, Shannon–Wiener ( $H'$ ) diversity index, and Pielou ( $J'$ ) evenness index (Magurran 2004). The DMg index measures the number of species or taxa present in a given number of specimens. The  $H'$  diversity index is one of the most widely used biodiversity indexes and is based on species abundance proportions and accounts for both equitability and richness. The Pielou evenness index describes the distribution of taxa in the community within a range of 0 (one species dominates all others) to 1 (all species are equally abundant).

#### Community Structure

As a first step, we conducted a principal coordinate analysis (PCoA) of the raw data set, i.e., total observed richness in each trap of each habitat, to produce a general representation of the Scolytinae samples and to assess to which extent they differed according to forest habitats taking into account within site variability. As a PCoA consists of the Euclidean representation of objects described by any similarity or distance coefficients, we used here distance coefficients based on the Bray–Curtis index to describe our samples (Legendre and Legendre 1998). Coefficients were computed with the labdsv R package (Roberts 2007), the PCoA was conducted with the ade4 R package (Chessel et al. 2004), and the significance of PCoA axes was assessed from a bootstrap procedure (1,000 randomizations) using the PCPS R package (Pillar 1999). Communities of the primary forest, the secondary forest, and the balsa plantation were then tested for similarity using a cluster analysis performed on a distance matrix built with Bray–Curtis similarity using the PAST version 2.15 software (Hammer et al. 2001).

#### Indicator Species Values

An analysis of the relationship between Scolytinae abundance and forest habitats was conducted using the *IndVal* value method of Dufrêne and Legendre (1997). This analysis identified indicator species for each forest habitat, i.e., species mostly present in a habitat, while being typically absent in the other habitats. *IndVal* values and their statistical significance were computed by means of a permutation test (1,000 randomizations) using the labdsv R package (De Caceres et al. 2016). Species were considered as forest habitat indicators for *IndVal* values  $25 \geq \%$  with significant associated probabilities at  $\alpha = 0.05$ .

#### Temporal Patterns of Species Composition, Abundance, and Richness

In each forest habitat, monthly species compositions were tested for similarity across the study period using a cluster analysis performed on a distance matrix built with the Bray–Curtis similarity using the PAST version 2.15 software (Hammer et al. 2001). The association between monthly abundance and species richness with single climatic factors (mean monthly minimum, maximum, and mean temperatures and relative humidity) was established by the nonparametric Spearman's correlation coefficient ( $\alpha = 0.05$ ).

## Results

### General Diversity Patterns in Three Ecuadorian Forests Habitats

In total, 18,169 individuals representing 6 tribes, 16 genera, and 85 species were collected during our 1-yr survey in primary forest, secondary forest, and balsa plantation (Table 1). We identified 22 native and 3 exotic species, and 60 morphotypes, which could only be identified to genus (Table 1). Xyleborini (63.55% of the total catch)

was the most abundant tribe followed by Cryphalini (20.67%), Corthylini (13.25%), Ipini (2.48%), Bothrostermini (0.02%), and Dryocoetini (0.03%; Table 1). However, the Corthylini was the more diverse tribe with 38 species and morphotypes (44.7% of the total species). *Xyleborus* (Xyleborini) was the most abundant genus (48.25% of total catch), represented by eight species (*X. affinis*, *X. bispinatus*, *X. ferrugineus*, *X. spinulosus*, *X. princeps*, *X. volvu-los*, *X. parallelocollis*, and *X. tribulatus*) and twelve morphotypes. The second most abundant genus was *Hypothenemus* (Cryphalini) (19.18%), represented by one species (*Hypothenemus obscurus*) and four morphotypes that were found predominantly in balsa plantation. The third most abundant genus was *Xylosandrus* (Xyleborini) (12.33%), represented by three species (*X. morigerus*, *X. compactus*, and *X. curtulus*). *Xyleborus* sp.02 was overall the most abundant morphotype (24.63% of total catch), followed by *Xyleborus affinis* (13.58%) and *Xylosandrus morigerus* (12%), but the abundance of these three species was lower in the balsa plantation than in both primary forest and secondary forest (Table 1).

The exotic species were unequally distributed among the three forest habitats. *Premnobius cavipennis* (Ipini) was found mainly but in moderate abundance in both balsa plantation and secondary forest. A limited number of *Xylosandrus compactus* (Xyleborini) were found in primary forest and secondary forest and *Xylosandrus morigerus* (Xyleborini) was found in large numbers in primary forest and secondary forest (Table 1).

The Scolytinae community collected in balsa plantation had the highest Shannon ( $H' = 2.463$ ), Margalef ( $DMg = 6.432$ ), and Pielou evenness ( $J' = 0.61$ ) indices, whereas the secondary forest community had the lowest values of these indices ( $H' = 1.777$ ,  $DMg = 5.428$ , and  $J' = 0.458$ ; Table 1). Balsa plantation and primary forest had similar diversity indices ( $H'$ ,  $Dmg$ , and  $J'$ ; Table 1).

#### Species Richness Within and Between Forest Habitats

A total  $S_{obs}$  of 57, 48, and 56 species were observed in the primary forest, the secondary forest, and the balsa plantation, respectively (Table 2). Corresponding bias-corrected  $S_{cor}$  values estimated from bootstrap were slightly higher (Table 2) but between-site ranking was conserved. The Chao-1 estimate also suggested an appropriate sampling effort for all study sites as we collected 96% (primary forest), 81% (secondary forest), and 78% (balsa plantation) of the predicted numbers of species (Table 2). Observed cumulated species richness did not significantly differ among habitats as indicated by the pair-wise permutation tests based each on 1,000 randomizations (primary–secondary forests:  $P = 0.089$ ; primary forest–balsa plantation:  $P = 0.4475$   $p < 0.001$ ; secondary forest–balsa plantation:  $P = 0.1538$ ). Frequencies of singleton and unique species ranged from 10.5 to 29.2% and 12.3 to 35.4%, respectively, with the lowest values in the primary forest and the highest in the secondary forest (Table 2).

#### Community Structure and Indicator Species

The first and second eigenvalues of the PCoA accounted for 69.7 and 12.4% of the total inertia and they differed significantly from those resulting from the 1,000 randomizations. The first axis reflected changes in Scolytinae community structure according to forest habitat, with natural forest samples being opposed to the balsa plantation samples (Fig. 1A). The scattering of samples around each center of inertia represented within-sample heterogeneity, which appeared much more pronounced in natural forests than in the balsa plantation. The second axis mainly reflected within-habitat variability and

did not discriminate habitats. The Bray–Curtis cluster analysis of Scolytinae community affinities indicated that communities in both natural forests formed a cluster apart from that of balsa plantation, suggesting that primary forest and secondary forest shared more common species than they do with balsa plantation (Fig. 1B).

Fourteen species (16.5% of total species catch) were common to all three sites (*Xyleborus affinis*, *Xyleborus bispinatus*, *Xyleborus ferrugineus*, *Xyleborus spinulosus*, *Xyleborus volvu-los*, *Xyleborus* sp.02, *Xyleborus* sp.04, *Xylosandrus morigerus*, *Xylosandrus curtulus*, *Corthylus* sp.01, *Corthylus* sp.03, *Hypothenemus* sp.19, *Hypothenemus* sp.18, and *P. cavipennis*).

In total, 43 morphospecies showed *IndVal* values with significant associated probabilities ( $P < 0.05$ ), among which 20, 4, and 19 species have been detected as significant indicator of the primary forest (35% of  $S_{obs}$ ), the secondary forest (8% of  $S_{obs}$ ), and the balsa plantation (34% of  $S_{obs}$ ), respectively (Table 1). The Xyleborini comprised of more indicator species in the primary forest ( $n = 10$ ) than in the secondary forest and the balsa plantation ( $n = 2$  and  $n = 3$ , respectively), whereas the Cryphalini comprised of indicator species only in the balsa plantation ( $n = 8$ ). The Corthylini comprised of approximately the same number of indicator species in the primary forest and the balsa plantation ( $n = 10$  and  $n = 8$  species, respectively), but none in the secondary forest (Table 1). Out of the three exotic species detected in the survey, two of them are indicator species of the primary forest (*Xylosandrus morigerus* and *Xylosandrus compactus*) and one of the secondary forest (*P. cavipennis*; Table 1). Interestingly, *C. ochromactonus*, the currently most damaging scolytine to balsa in Ecuador, was statistically supported as a species indicator in the balsa plantation (Table 1).

#### Temporal Patterns and Effect of Climatic Variable on Scolytinae Abundance and Species Richness

Both abundance and species richness varied among all forest habitats over the year of sampling. There was also variation in these patterns between forest habitats (Fig. 2), supporting an influence of local environmental variables including vegetation and climate on temporal changes in both abundance and richness. The cluster analyses performed on Bray–Curtis similarity based on monthly specimen accumulations provided statistical support for seasonality effects on Scolytinae species composition within each forest habitat (Fig. 3). In the primary forest, one main cluster of communities sampled during the late dry and rainy seasons (e.g., from December 2016 to April 2017; Fig. 2) was separated from cluster of communities mainly sampled during the dry season (e.g., from June to November 2016, Fig. 2). The sample collected in May 2016 likely differed from all other clusters due to low sample size ( $n = 46$ ,  $S = 7$ ). In the secondary forest, two clusters of communities sampled during the dry and the early rainy seasons (e.g., from June to December 2016 and January–February 2017, respectively, Fig. 2) were separated from one main cluster of communities sampled during the rainy season (e.g., from March to May 2017, Fig. 2). In the balsa plantation, one main cluster of communities sampled during the rainy season (e.g., from February to May 2017, Fig. 2) was separated from two second main clusters of communities sampled during the dry and early rainy seasons (e.g., from June to September 2016 and from October 2016 to January 2017, respectively, Fig. 2).

In the primary forest, there was no significant association of scolytine abundance with the climatic variables (temperatures and relative humidity), but species richness was negatively correlated with both mean and minimum temperatures (Table 3). In the secondary forest, abundance was significantly and positively correlated with

**Table 1.** Abundance and frequency of occurrence (%) of Scolytinae species collected in three forest habitats in Ecuador

Tribe/species	Primary forest	Secondary forest	Balsa plantation	Total	%	Habitat preference ( <i>IndVal</i> )	P
Xyleborini							
<i>Xylosandrus morigerus</i>	1149	1034	10	2193	12.07	PF (0.52)	0.015
<i>Xylosandrus compactus</i>	29	2	0	31	0.17	PF (0.65)	0.002
<i>Xylosandrus curtulus</i>	3	2	11	16	0.09	BP (0.41)	0.032
<i>Xyleborus affinis</i>	1167	1193	108	2468	13.58	–	–
<i>Xyleborus bispinatus</i>	78	104	22	204	1.12	SF (0.51)	0.037
<i>Xyleborus ferrugineus</i>	49	62	26	137	0.75	–	–
<i>Xyleborus spinulosus</i>	9	18	66	93	0.51	BP (0.70)	0.002
<i>Xyleborus princeps</i>	51	0	0	51	0.28	PF (0.90)	0.001
<i>Xyleborus volutus</i>	722	422	65	1209	6.65	PF (0.59)	0.034
<i>Xyleborus</i> sp.02	2042	2342	91	4475	24.63	SF (0.52)	0.025
<i>Xyleborus</i> sp.04	15	2	18	35	0.19	–	–
<i>Xyleborus</i> sp.08	0	4	1	5	0.03	–	–
<i>Xyleborus</i> sp.63	1	0	1	2	0.01	–	–
<i>Xyleborus</i> sp.44	1	3	0	4	0.02	–	–
<i>Xyleborus</i> sp.59	5	0	0	5	0.03	–	–
<i>Xyleborus</i> sp.77	3	0	0	3	0.02	–	–
<i>Xyleborus</i> sp.79	2	0	0	2	0.01	–	–
<i>Xyleborus</i> sp.83	3	0	0	3	0.02	–	–
<i>Xyleborus parallelocollis</i>	17	0	4	21	0.12	PF (0.73)	0.001
<i>Xyleborus tribulatus</i>	13	1	0	14	0.08	PF (0.64)	0.001
<i>Xyleborus</i> sp.43	8	0	0	8	0.04	PF (0.40)	0.019
<i>Xyleborus</i> sp.49	14	11	0	25	0.14	–	–
<i>Xyleborus</i> sp.50	3	0	0	3	0.02	–	–
<i>Xyleborini</i> sp.53	3	0	0	3	0.02	–	–
<i>Xyleborinus bicornatulus</i>	85	35	9	129	0.71	PF (0.66)	0.002
<i>Xyleborinus celatus</i>	297	9	2	308	1.70	PF (0.96)	0.001
<i>Xyleborinus gracilis</i>	1	1	1	3	0.02	–	–
<i>Xyleborinus</i> sp.96	0	1	0	1	0.01	–	–
<i>Xyleborinus</i> sp.76	51	1	0	52	0.29	PF (0.88)	0.001
<i>Ambrosiodmus</i> sp.62	1	0	1	2	0.01	–	–
<i>Sampsonius dampfi</i>	0	1	0	1	0.01	–	–
<i>Coptoborus ochromactonus</i>	0	0	33	33	0.18	BP (0.90)	0.001
<i>Coptoborus pseudotenusis</i>	1	0	5	6	0.03	–	–
<i>Taurodemus bicornutus</i>	0	0	1	1	0.01	–	–
Corthylini							
<i>Corthylus</i> sp.01	831	13	8	852	4.69	PF (0.97)	0.001
<i>Corthylus</i> sp.03	198	7	24	229	1.26	PF (0.86)	0.001
<i>Corthylus insignis</i>	8	3	274	285	1.57	BP (0.96)	0.001
<i>Corthylus pygmaeus</i>	6	0	64	70	0.39	BP (0.82)	0.001
<i>Corthylus</i> sp.10	132	2	3	137	0.75	PF (0.96)	0.001
<i>Corthylus</i> sp.17	16	0	5	21	0.12	PF (0.45)	0.040
<i>Corthylus</i> sp.52	12	0	0	12	0.07	PF (0.40)	0.022
<i>Corthylus</i> sp.54	13	1	0	14	0.08	PF (0.65)	0.001
<i>Corthylus</i> sp.82	2	0	0	2	0.01	–	–
<i>Corthylus</i> sp.84	6	0	0	6	0.03	PF (0.40)	0.027
<i>Corthylus</i> sp.34	1	0	0	1	0.01	–	–
<i>Corthylus</i> sp.100	0	0	1	1	0.01	–	–
<i>Corthylus</i> sp.51	15	0	0	15	0.08	PF (0.50)	0.003
<i>Corthylus</i> sp.80	0	2	0	2	0.01	–	–
<i>Microcorthylus</i> sp.30	6	1	3	10	0.06	–	–
<i>Tricolus</i> sp.13	40	2	189	231	1.27	BP (0.81)	0.001
<i>Tricolus</i> sp.14	14	3	183	200	1.10	BP (0.91)	0.001
<i>Tricolus</i> sp.70	15	1	32	48	0.26	BP (0.66)	0.005
<i>Tricolus</i> sp.71	5	0	3	8	0.04	–	–
<i>Tricolus</i> sp.72	0	0	1	1	0.01	–	–
<i>Tricolus</i> sp.75	18	0	0	18	0.10	PF (0.70)	0.002
<i>Tricolus</i> sp.57	20	0	2	22	0.12	PF (0.64)	0.003
<i>Tricolus</i> sp.103	0	1	1	2	0.01	–	–
<i>Amphicranus quadridens</i>	0	5	10	15	0.08	–	–
<i>Amphicranus argutus</i>	0	1	0	1	0.01	–	–
<i>Monarthrum</i> sp.29	0	2	155	157	0.86	BP (0.98)	0.001
<i>Monarthrum ferrarii</i>	0	6	11	17	0.09	BP (0.45)	0.013
<i>Monarthrum</i> sp.35	0	0	2	2	0.01	–	–

Table 1. Continued

Tribe/species	Primary forest	Secondary forest	Balsa plantation	Total	%	Habitat preference ( <i>IndVal</i> )	P
<i>Monarthrum</i> sp.46	0	0	1	1	0.01	–	–
<i>Monarthrum</i> sp.56	0	1	6	7	0.04	BP (0.34)	0.045
<i>Monarthrum</i> sp.65	4	1	0	5	0.03	–	–
<i>Monarthrum</i> sp.66	0	0	1	1	0.01	–	–
<i>Monarthrum</i> sp.74	0	0	1	1	0.01	–	–
<i>Monarthrum</i> sp.86	2	0	0	2	0.01	–	–
<i>Monarthrum</i> sp.97	0	3	0	3	0.02	–	–
<i>Monarthrum</i> sp.99	5	0	0	5	0.03	–	–
<i>Monarthrum</i> sp.102	0	0	2	2	0.01	–	–
<i>Monarthrum</i> sp.104	0	1	1	2	0.01	–	–
Cryphalini							
<i>Hypothenemus</i> sp.19	19	73	1688	1780	9.80	BP (0.94)	0.001
<i>Hypothenemus</i> sp.18	6	95	947	1048	5.77	BP (0.90)	0.001
<i>Hypothenemus</i> sp.20	0	10	307	317	1.74	BP (0.96)	0.001
<i>Hypothenemus</i> sp.21	0	1	22	23	0.13	BP (0.67)	0.002
<i>Hypothenemus obscurus</i>	0	4	312	316	1.74	BP (0.88)	0.001
<i>Cryphalini</i> sp.42	0	0	1	1	0.01	–	–
<i>Cryptocarenum</i> sp.41	3	5	179	187	1.03	BP (0.95)	0.001
<i>Cryptocarenum</i> sp.68	0	0	4	4	0.02	BP (0.40)	0.011
<i>Cryptocarenum</i> sp.69	2	0	4	6	0.03	–	–
<i>Cryptocarenum</i> sp.73	2	3	68	73	0.40	BP (0.93)	0.001
Ipini							
<b><i>Premnobius cavipennis</i></b>	6	264	181	451	2.48	SF (0.58)	0.005
Bothrostermini							
<i>Cnesinus</i> sp.67	0	0	4	4	0.02	–	–
Dryocoetini							
<i>Coccotrypes</i> sp.47	0	5	0	5	0.03	SF (0.50)	0.011
Total abundance	7.230	5.764	5.175	18.169	100		
Shannon index (H')	2.262	1.777	2.463				
Margalef index (DMg)	6.302	5.428	6.432				
Pielou evenness (J')	0.559	0.458	0.61				

Species preferences for a forest habitat (PF = primary forest; SF = secondary forest; BP = balsa plantation) were inferred from an *IndValue* indicator species analysis based on a 1,000 randomization permutation test (only the species that were significantly associated with forest habitat at  $\alpha = 0.05$  are shown).

Species that are in bold have been identified as being exotic.

relative humidity and precipitation, and there was no significant association of species richness with climatic variables (Table 3). In the balsa plantation, abundance was significantly and negatively correlated with relative humidity and species richness was significantly and positively correlated with maximum temperature and negatively correlated with precipitation (Table 3).

## Discussion

### Forest Habitat Influences Scolytine Species Composition But Not Cumulated Species Richness

The present study provides an important contribution to the knowledge of the Scolytinae diversity and its temporal patterns in three Ecuadorian forest ecosystems. We presented values of observed cumulated species richness that were relatively close to those of bootstrap-corrected species richness and Chao1 indices. Between-site ranking was conserved between observed and corrected values. Insect communities associated with tropical trees can exhibit more than 50% of rare species, which may complicate analyses and may reflect inadequate sampling (Novotný and Bassett 2000), but all of our study sites exhibited moderate proportions of singleton (10–30%) and unique (12–35%) species. This sampling provided an acceptable overview of between- and within-site similarity in terms of species richness among the primary forest, secondary forest, and balsa plantation. The overall species richness described here (85

species) demonstrated that the previously reported 50 species (Wood 2007) was a significant underestimate of Ecuadorian scolytine diversity. Scolytinae abundance and species richness as estimated in this study were higher than compared with other surveys of Neotropical forests (Abreu et al. 2012, Macedo-Reis et al. 2016, Pérez-De la Cruz et al. 2016, Sandoval Rodríguez et al. 2017), but were consistent with previous investigations in Asian tropical native forests and agricultural systems (Hulcr et al. 2008, Sittichaya et al. 2012). In this study, there was no significant divergence in observed cumulative species richness between the three different forest habitats. This suggests that a strong difference in tree species composition between natural forests (15 and 11 dominant tree species) and a plantation (one tree species) was not a source of numerical difference in diversity. Intermediate values of the Pielou evenness index supported the presence of overabundant species in all forest habitats, as usually expected for insect communities in anthropized habitats such as plantations, but this appeared more pronounced in the secondary forest where diversity might be slightly lower with regard to the number of species relative to sample size. One central finding of this study is that scolytine communities in these Ecuadorian forest habitats are more likely to differ in their species composition than in their cumulated species richness. Indeed, both PCoA and cluster analysis of community affinities indicated stronger similarity in species composition between the two natural forests which shared 25–35% of dominant tree species and had similar age-class heterogeneity.

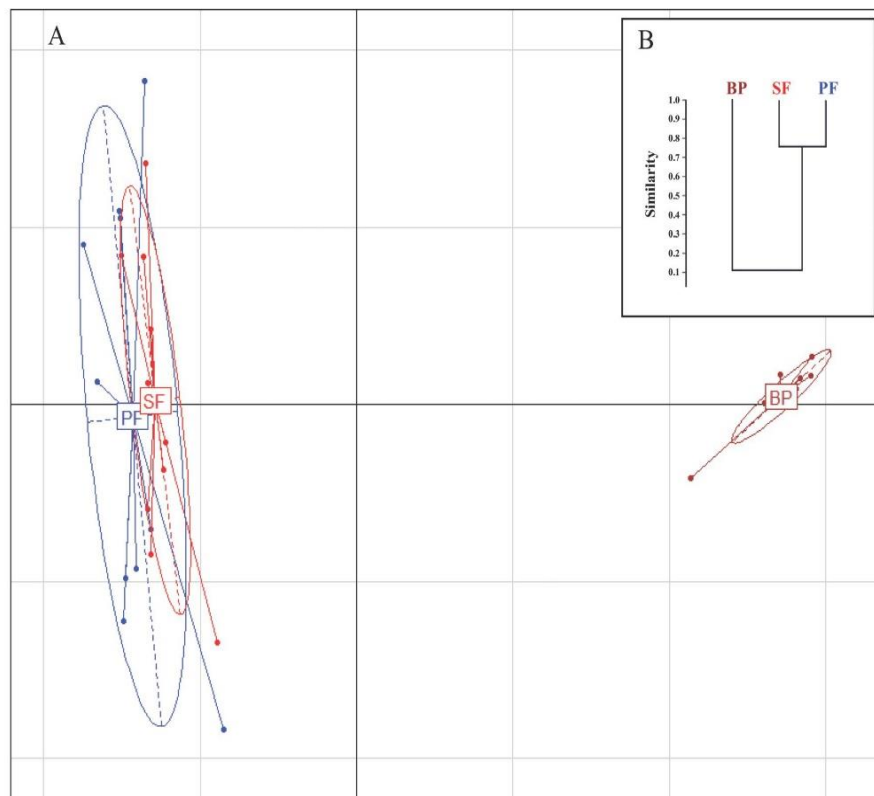


**Table 2.** Diversity of Scolytinae sampled over 1 yr in three forest habitats in Ecuador

Habitat	<i>n</i>	$S_{obs}$	$S_{cor}$	Chao1 index	Singleton	Unique
Primary forest	10	57 (2.6)	62	59.5 (96%)	6 (10.5%)	7 (12.3%)
Secondary forest	10	48 (3.9)	55	59.38 (81%)	14 (29.2%)	17 (35.4%)
Balsa plantation	10	56 (2.9)	61	71.6 (78%)	13 (23.2%)	15 (26.8%)

*n* = number of traps collected biweekly over the study period;  $S_{obs}$  = observed species richness (standard error);  $S_{cor}$  = bias-corrected species richness from a 1,000 randomizations permutation test; singleton = species with one individual per sample at the most; unique = species occurring in only one sample. Chao-1 index = percentage indicate sample coverage according to this index.

Percentages for singletons and unique refer to the total observed species richness in the habitat.



**Fig. 1.** Analyses of the structure of Scolytinae communities collected in three forest habitats of Ecuador (PF = primary forest; SF = secondary forest; BP = balsa plantation). (A) PCoA of the three communities with projection of habitat scores in the plane defined by horizontal axis 1 (69.7%) and vertical axis 2 (12.4%). Habitat labels are at the center of gravity of each habitat and are linked to each sample of the corresponding habitat. (B) Similarity dendrogram using the Bray-Curtis index showing affinities in the three communities (Cophenetic correlation coefficient: 0.9973).

Forest habitat heterogeneity and host plant diversity are a strong influencing factor of arthropod species composition (Tews et al. 2004, Macedo-Reis et al. 2016, Seibold et al. 2016). The observed compositional differences between the natural forests and the balsa plantation may result from more similar habitat heterogeneity associated with more similar structural niche opportunities for species in the natural forests, but also from the high number of species unexpectedly found in the plantation. Natural forests are indeed expected to provide more ecological niches and plant diversity that are acknowledged drivers of tropical herbivore diversity (Macedo-Reis et al. 2016). However, communities of ambrosia beetles may be less sensitive to the diversity of plants (Sittichaya et al. 2012) than

leaf-feeding, herbivorous groups of insects. Many ambrosia beetle species are mainly attracted by ethanol emanating from the vascular tissues of newly dead or decaying trees (Hulcr et al. 2008), which are suitable hosts for many Scolytinae (Rudinsky 1962). Such attractive compounds are present in some tissues of healthy trees species, but their concentration increases dramatically in weakened trees due to limited oxygen availability resulting from a variety of physiological stressors (Ranger et al. 2018). Balsa plantations are particularly subject to environmental stress factors including primary attacks of *C. ochromactonus*, *Euchroma gigantean* (Coleoptera: Buprestidae) or *Heilipus* sp. (Coleoptera: Curculionidae), the fungal diseases *pata roja* (red foot), which is likely caused by *Phytophthora palmivora*

(Butler) and *Phythium vexans* de Bary, and wet-wood, a physiological complex commonly referred to as ‘water heart’ due to excessive water content in the xylem (Stilwell et al. 2014). Moreover, balsa plantations concentrate a native tree species that is favored by

scolytines, ca. 42 species are known to use the tree as a host (Wood 1982, Wood 2007, Martinez et al. 2017). Thinning and logging operations frequently harvest these trees (3 to 4 yr of age) that produces debris piles which are left in the stands (Stilwell et al. 2014). In addition, balsa trees undergo a self-pruning process, which increases the amounts of dead wood and branches, and these tree remains attract a diversity of scolytines (Coyle et al. 2005, Pérez-De la Cruz et al. 2016). A high diversity of scolytines was also observed in Brazilian plantations with concentration of a native Neotropical tree, i.e., rubber trees (Sandoval Rodriguez et al. 2017). As with the Brazilian study, the surrounding natural forests may have been a source of additional scolytine diversity to populate the balsa plantation, given that ambrosia beetles can disperse at the landscape scale (Sitichaya et al. 2012). However, the extent of scolytine attraction to ethanol traps is unknown, and it is unclear whether the traps that were closer to the edge of the balsa plantation might have attracted scolytines from proximal natural areas.

#### Indicator Species Associate Scolytine Tribes With Habitats

In this study, the computation of *IndVal* statistics allowed us to identify indicator species, i.e., species and their associated tribe that were preferentially associated with forest habitat. The Cryphalini comprised indicator species exclusively for the balsa plantation, with an important contribution of *Hypothenemus* species which represented 63.30% of all scolytines captured in this habitat. Six species of *Hypothenemus* have been associated with balsa trees (Wood 1982, 2007), and this genus includes numerous species that develop in woody debris (Kirkendall et al. 2015) in ecologically disturbed areas such as tree monocultures rather than for natural forests (Wood 1982, Hulcr et al. 2008, do Penteadó et al. 2011, Abreu et al. 2012). This agrees with other studies which showed that *H. eruditus* was more prevalent in monocultures of *Eucalyptus grandis* when compared with native areas (Müller and Andreiv 2004). Similarly, *Hypothenemus hampei* was more abundant in a mixed rubber tree-coffee tree system than in a mixed native tree-fruit tree plantation (Sandoval Rodriguez et al. 2017). *Hypothenemus hampei* was also less abundant in other remnants of Atlantic forest (Silva et al. 2009), in Amazon rainforests (Abreu et al. 1997), and the Pantanal in Brazil (Meurer et al. 2013). The Xyleborini comprised of numerous indicator species for the natural forests, with *Xyleborus* as the most abundant genus in both the primary and secondary forests and predominantly represented by *Xyleborus* sp.02 and *Xyleborus*

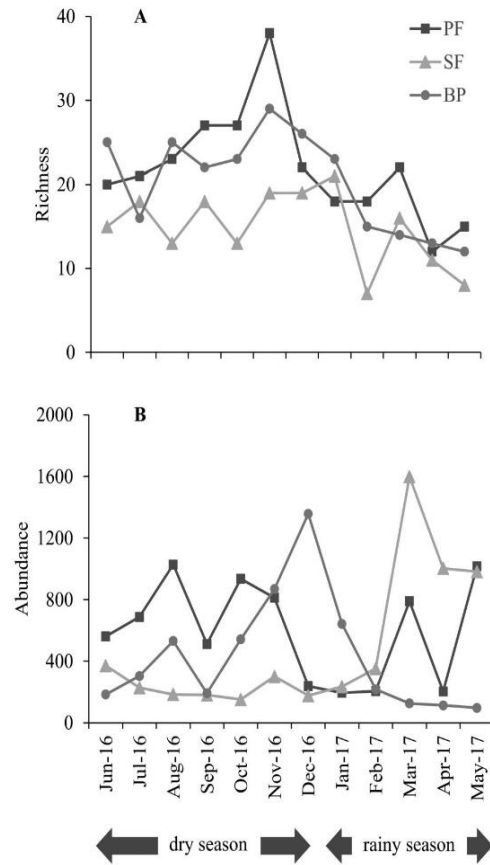


Fig. 2. Total Scolytinae richness (A) and total abundance (B) during a 1-yr period of sampling (June 2016–May 2017) in a primary forest (PF), a secondary forest (SF), and a balsa plantation (BP) in Ecuador.

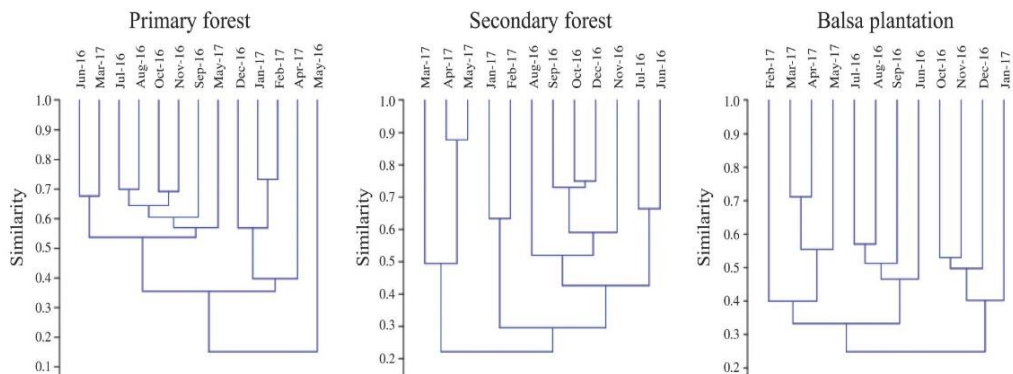


Figure 3. Similarity dendrograms using the Bray–Curtis index showing affinities in Scolytinae communities sampled monthly during 1 yr in a primary forest (PF), a secondary forest (SF), and a balsa plantation (BP) in Ecuador (Cophenetic correlation coefficients: PF = 0.9028, SF = 0.9153, BP = 0.7167).

**Table 3.** Spearman's correlation between climate variables and abundance and richness of Scolytinae in three forest habitats in Ecuador

		Primary forest		Secondary forest		Balsa plantation	
		$r_s$	$P$	$r_s$	$P$	$r_s$	$P$
RH (%)	Abundance	-0.04	0.8940	0.75	0.0047	-0.66	0.0292
	Richness	0.16	0.6016	-0.54	0.0685	-0.54	0.0676
Temperature Max (°C)	Abundance	-0.03	0.9242	-0.18	0.5758	0.50	0.0961
	Richness	0.00	>0.999	0.53	0.0774	0.74	0.0064
Temperature Mean (°C)	Abundance	-0.27	0.3510	0.49	0.1045	-0.36	0.2278
	Richness	-0.76	0.0024	-0.03	0.9309	-0.44	0.1575
Temperature Min (°C)	Abundance	-0.23	0.4241	0.49	0.1084	-0.39	0.2108
	Richness	-0.84	0.0003	-0.15	0.6385	-0.41	0.1874
Precipitation (mm)	Abundance	-	-	0.65	0.0310	-0.57	0.0603
	Richness	-	-	-0.15	0.6313	-0.67	0.0171

*affinis*. The latter species is known as a dominant species in Brazilian tropical wet (Abreu et al. 2012, Meurer et al. 2013) and dry forests (Macedo-Reis et al. 2016). It has a wide pantropical distribution with more than 300 different host plant species (Macedo-Reis et al. 2016, Pérez-De la Cruz et al. 2016). *Xylosandrus* was also preferentially associated with the natural forests. Two *Xylosandrus* species (*X. compactus* and *X. morigerus*) are both of Asian origin, and *X. compactus* was found in Ecuador in 1985 (Delgado and Couturier 2010). *Xylosandrus morigerus* has been disseminated to worldwide tropical and subtropical regions (Kirkendall and Faccoli 2010). It is probably the most important species occurring in primary and secondary wet tropical forests of Costa Rica (Andersen et al. 2012) and may have a greater effect on the Ecuadorian scolytine communities than is currently known. The most abundant tribe in this study was the Xyleborini and this concurs with other studies (Hulcr et al. 2008, Sittichaya et al. 2012, Meurer et al. 2013, Sandoval Rodriguez et al. 2017, Wollmann et al. 2017, Tanner et al. 2018). The Xyleborini includes successful colonizing species benefiting from their tolerance to extreme inbreeding and from abilities to farm and feed on associated symbiotic fungi within their galleries that allow them to have wider host breadth and maintain high-populations levels (Andersen et al. 2012, Francardi et al. 2017, Cognato et al. 2018). The Corthylini comprised of indicator species of both the primary forest and the balsa plantation. This tribe displayed the greatest richness in this study and is one of the most diverse tribes in South America (Hulcr et al. 2015, Smith et al. 2017). *Corthylus* showed statistical associations for both the primary forest and the balsa plantation, which concurs with other studies in protected forest areas in Tabasco, Mexico (Pérez-De la Cruz et al. 2016) and in *Eucalyptus* plantations in Brazil (Müller and Andreiv 2004, Wollmann et al. 2017). The exotic *P. cavipennis* was found to be an indicator species of secondary forest, with substantial abundance in the balsa plantation. It is already regarded as a serious economic pest of eucalyptus plantations in Brazil (Flechtmann et al. 2001, Zanuncio et al. 2005) and it has been abundantly found in diverse teak and balsa plantations in Ecuador (Martínez et al. 2017).

#### Seasonal Patterns of Scolytine Diversity Within Forest Habitats

Conducting this survey across annual dry and rainy seasons in the three forest habitats allowed us to analyze and assess temporal patterns of variation in scolytine diversity according to seasonal changes of climatic variables. Temporal cluster analyses on Bray-Curtis community affinities showed in all habitats that communities collected in dry season months share more species than they did with those collected in wet season months, suggesting a possible response

of species composition to seasonality in climatic conditions. In the natural forests, *Corthylus* sp.01, *Corthylus* sp.54, *Xyleborus bispinatus*, *Xyleborus ferrugineus*, *Xyleborus volvulus*, *Xyleborus* sp.02, *Xyleborus spinulosus*, *Xyleborus affinis*, *Xylosandrus morigerus*, and *P. cavipennis* were mostly trapped during the hot and rainy seasons, when compared with *X. curtulus*, *Hypothenemus* sp.19, *Hypothenemus* sp.18, *Monarthrum* sp.29, *Tricolus* sp.70, *Tricolus* sp.13, *Tricolus* sp.14, and *Cryptocarenum* sp.41 in the balsa plantations. Additional support for significant seasonality in scolytine diversity was provided by correlations of abundance and species richness with the climatic variables, which may have reflected species preferences for particular climatic conditions. For instance, in the secondary forest, the positive association of abundance with relative humidity and precipitation may reflect increasing captures of the predominant species *Xylosandrus morigerus*, *Xyleborus affinis*, and *Xyleborus* sp.02 during the rainy season. This is consistent with Flechtmann et al. (2001) who documented increased activity of ambrosia beetles with increased intensity of precipitation in Brazil. In the balsa plantation, the negative association of abundance with relative humidity may reflect decreasing captures of the predominant genus *Hypothenemus* during the rainy season, while its abundance peak occurred in December 2016 during the dry season. This concurs with Hulcr et al. (2008) who claimed that *Hypothenemus* species are usually not affected by dry conditions. However, the proportion of significant associations of abundance or species richness with the climatic variables was low (7 out of 28) in our survey, which concurs with evidence of limited effects of temperature and precipitation on scolytine activity in South America (Ronque et al. 2012, Abreu et al. 2012, Machado et al. 2013, Meurer et al. 2013). Hulcr et al. (2008) also suggested that *Xyleborus volvulus* and *Xyleborus affinis* were usually not affected by climatic factors in Thailand. However, one cannot exclude other seasonal influences from nonclimatic environmental factors such as tree health, bole diameter, wood density, moisture content in host tissues, fungal symbiont colonization, and the composition of forest vegetation (Hulcr et al. 2008, Macedo-Reis et al. 2016, Wollmann et al. 2017).

Overall, richness and abundance were higher during the coldest and driest months than during the hottest and rainiest months in the primary forest and the balsa plantation. This corroborates previous observations of increased bark and ambrosia beetles population growth during dry seasons, when drought stressed trees are consequently more attractive for scolytines (Müller and Andreiv 2004, Hulcr et al. 2008, Sittichaya et al. 2012, Macedo-Reis et al. 2016, Sandoval Rodriguez et al. 2017). This may also reflect increased scolytine population growth during the wet season, when regular

storms generate more available broken branches and fallen trees for scolytine habitat.

## Conclusion

Scolytinae abundance, species richness, and species composition in Ecuador showed contrasting patterns among forest habitat types and season. In the balsa plantation, species richness was found particularly high and comparable to that of a primary forest, suggesting that more intensively stressed and damaged balsa trees and residual dead wood and branches within the plantation provided favorable resources to many species, some of which were particularly abundant and were identified as indicator species (e.g., *Hypothenemus* spp. and *Corthylus* spp.). We have confirmed the presence of three important exotic species, *X. compactus*, *Xylosandrus morigerus*, and *P. cavipectus*, which were identified as indicator species of the natural forest; however, the extent of their presence throughout Ecuador is unknown. Introduced insect species are considered major threats to forest health and biodiversity due to displacement of indigenous species in managed and unmanaged systems (Kirkendall and Faccoli 2010, Ranger et al. 2018). The impact of these three species of the native scolytine fauna is unknown. Currently, *C. ochromactonus* significantly damages Ecuadorian balsa plantations and we identified it as an indicator species in this plantation. It is surprising that we did not collect the species in both natural forests, given that *C. ochromactonus* has been collected in other Ecuadorian forests (Cognato, personal observation). Given the presence of exotic and pestiferous native species, we emphasize the need for establishment of early detection programs by the Ecuador's Agency for Animal and Plant Health Regulation and Control (AGROCALIDAD, Department of Agriculture) to monitor high-risk balsa plantation and natural forests and to respond rapidly to new introductions.

## Acknowledgments

We are grateful to Jane Sloan of Reserva Yakusini, to the staff of the INIAP-Pichilingue Tropical Experimental Station, and to Plantab S.A. (3A Composites) of Ecuador, who provided access to our field sites. We also thank Dr. Sarah Smith (MSU) for identification of specimens. Luis Cedeño, Jonathan Chévez, Andres Zambrano, Alexis Caliz, and Genesis Bazarro helped collect the specimens. INRA-URFM contribute to the data analysis. Finally, we thank Dr. Wills Flowers and Dr. Cliff Keil for improvements to the text. This research was supported by Plantab S.A. and the Committee for Research and Exploration of the National Geographic Society (9975-16 to A.I.C.). This work was partial fulfillment of requirements for the Ph.D. degree at Montpellier University.

## References Cited

- Abreu, R. L. S., C. R. V. Fonseca, and E. N. Marques. 1997. Análise das principais espécies de Scolytidae coletadas em floresta primária no estado do Amazonas. *An. Soc. Entomol. Bras.* 26: 527–535.
- Abreu, R. L. S., G. A. de Ribeiro, B. F. Vianez, and C. Sales-Campos. 2012. Insects of the subfamily Scolytinae (Insecta: Coleoptera, Curculionidae) collected with pitfall and ethanol traps in primary forests of central Amazonia. *Psyche*. 2012: 1–9.
- Andersen, H. F., B. H. Jordal, M. Kambestad, and L. R. Kirkendall. 2012. Improbable but true: the invasive inbreeding ambrosia beetle *Xylosandrus morigerus* has generalist genotypes. *Ecol. Evol.* 2: 247–257.
- Atkinson, T. H., and A. Equihua. 1985. Notes on biology and distribution of Mexican and Central American Scolytidae (Coleoptera). I. Hylesininae, Scolytinae except Cryphalini and Corthylini. *Coleopterist Bull.* 39: 227–238.
- Atkinson, T. H., and A. Equihua. 1986. Biology of bark and ambrosia beetles (Coleoptera: Scolytidae and Platypodidae) of a tropical rain forest in southeastern Mexico with an annotated checklist of species. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 79: 414–423.
- Cedeño, D. 2017. Composición florística y estructura del bosque en la Estación Experimental Tropical Pichilingue del INIAP, ubicado en el cantón Mocache, provincia de Los Ríos. pp. 50. Engineering thesis, Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Quevedo, Ecuador.
- Chao, A., R. L. Chazdon, R. K. Colwell, and T. J. Shen. 2005. A new statistical approach for assessing similarity of species composition with incidence and abundance data. *Ecol. Lett.* 8: 148–159.
- Chessel, D., A. B. Dufour, and J. Thioulouse. 2004. The ade4 package - I: one-table methods. *R. News.* 4: 5–10.
- Cognato, A. I., B. H. Jordal, and D. Rubinoff. 2018. Ancient “wanderlust” leads to diversification of endemic Hawaiian *Xyleborus* species (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Insect Syst. Divers.* 2: 1–9.
- Coyle, D. R., D. C. Booth, and M. S. Wallace. 2005. Ambrosia beetle (Coleoptera: Scolytidae) species, flight, and attack on living eastern cottonwood trees. *J. Econ. Entomol.* 98: 2049–2057.
- Dangles, O., A. Barragan, R. E. Cardenas, G. Onore, and C. Keil. 2009. Entomology in Ecuador: recent developments and future challenges. *Ann. Soc. Entomol. Fr.* 45: 424–436.
- De Caceres, M., and F. Jansen. 2016. Package ‘indicspecies’. <https://cran.r-project.org/web/packages/indicspecies/indicspecies.pdf>
- Delgado, C. 2017. Composición florística y estructura del bosque en la Reserva Yakusini, ubicada en el cantón La Mana, provincia El Cotopaxi. pp. 52. Engineering thesis, Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Quevedo, Ecuador.
- Delgado, C., and G. Couturier. 2010. *Xylosandrus compactus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), a new pest of *Swietenia macrophylla* in the Peruvian Amazonia. *S.E.A.* 47: 441–443.
- Dufrêne, M., and P. Legendre. 1997. Species assemblages and indicator species: the need for a flexible asymmetrical approach. *Ecol. Monogr.* 67: 345–366.
- Flechtmann, C. A. H., A. L. T. Ottati, and C. W. Berisford. 1999. Attraction of ambrosia beetles (Coleoptera: Scolytidae) to different tropical pine species in Brazil. *Environ. Entomol.* 28: 649–658.
- Flechtmann, C. A. H., A. L. T. Ottati, and C. W. Berisford. 2001. Ambrosia and bark beetles (Scolytidae: Coleoptera) in pine and eucalypt stands in southern Brazil. *For. Ecol. Manage.* 142: 183–191.
- Francardi, V., A. Noal, S. Francescato, R. Pinto, A. Bruni, L. Loffredi, D. Bucini, D. Guarnieri, M. Bellantuono, N. Esposito, et al. 2017. Coexistence of *Xylosandrus crassiusculus* (Motschulsky) and *X. compactus* (Eichhoff) (Coleoptera Curculionida Scolytinae) in the National Park of Circeo (Lazio, Italy). *J. Zool.* 100: 149–155.
- Hammer, Ø., D. A. T. Harper, and P. D. Ryan. 2001. PAST: paleontological statistics, ver. 1.89. *Palaeontol. Electron.* 4: 1–9.
- Harvey, B. J., D. C. Donato, and M. G. Turner. 2014. Recent mountain pine beetle outbreaks, wildfire severity, and postfire tree regeneration in the US Northern Rockies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 111: 15120–15125.
- Hulcr, J., M. Kolarik, and L. R. Kirkendall. 2007. A new record of fungus-beetle symbiosis in Scolytodes bark beetles (Scolytinae, Curculionidae, Coleoptera). *Symbiosis.* 43: 151–159.
- Hulcr, J., R. A. Beaver, W. Puranasakul, S. A. Dole, and S. Sonthichai. 2008. A comparison of bark and ambrosia beetle communities in two forest types in northern Thailand (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae and Platypodidae). *Environ. Entomol.* 37: 1461–1470.
- Hulcr, J., T. H. Atkinson, A. I. Cognato, B. H. Jordal, and D. D. McKenna. 2015. Morphology, taxonomy, and phylogenetics of bark beetles, pp. 41–84. *In* F. E. Vega, and R. W. Hofstetter (eds.), *Bark beetles: biology and ecology of native and invasive species*. Elsevier, San Diego, CA.
- Kausrud, K., B. Okland, O. Skarpaas, J. C. Grégoire, N. Erbilgin, and N. C. Stenseth. 2012. Population dynamics in changing environments: the case of an eruptive forest pest species. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* 87: 34–51.
- Kirkendall, L. R., and M. Faccoli. 2010. Bark beetles and pinhole borers (Curculionidae, Scolytinae, Platypodidae) alien to Europe. *ZooKeys* 56: 227–251.

- Kirkendall, L. R., M. Dal Cortivo, and E. Gatti. 2008. First record of the ambrosia beetle, *Monarthrum mali* (Curculionidae, Scolytinae) in Europe. *J. Pest Sci.* 81: 175–178.
- Kirkendall, L. R., P. H. W. Biedermann, and B. H. Jordal. 2015. Evolution and diversity of bark and ambrosia beetles, pp. 85–156. *In* F. E. Vega and R. W. Hofstetter (eds.), *Bark beetles: biology and ecology of native and invasive species*. Elsevier, San Diego, CA.
- Legendre, P., and L. Legendre. 1998. *Numerical Ecology*, 2nd English ed. pp. 853. Elsevier Science BV, Amsterdam.
- Macedo-Reis, L. E., S. M. Novais, G. F. Monteiro, C. A. Flechtmann, M. L. Faria, and F. S. de Neves. 2016. Spatio-temporal distribution of bark and ambrosia beetles in a Brazilian tropical dry forest. *J. Insect Sci.* 16: 1–9.
- Machado, L. M. 2013. Determinação da altura de voo de escoltídeos em mata nativa e em povoamento de *Pinus taeda*. pp. 57. M.S. thesis in Forestry, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Brazil.
- Magurran, E. A. 2004. *Measuring biological diversity*. pp. 256. Blackwell Publishing, Oxford.
- Manly, B. 1997. *Randomization and Monte Carlo methods in biology*. pp. 281. Chapman and Hall, London, UK.
- Martínez, M., J. Castro, R. Villamar, M. Carranza, J. Muñoz, E. Jiménez, M. Guachambala, M. Heredia, L. Garcia, and S. M. Jazayeri. 2017. Evaluation of the diversity of Scolitids (Coleoptera: Curculionidae) in the forest plantations of the central zone of the Ecuadorian littoral. *Cienc. Tecnol.* 10: 25–32.
- Meurer, E., L. D. Battirolo, D. Colpani, A. Dorval, and M. I. Marques. 2013. Scolytinae (Coleoptera, Curculionidae) associados a diferentes fitofisionomias no Pantanal de Cáceres, Mato Grosso. *Acta Biol. Parana* 42: 195–210.
- Müller, J. A., and J. Andreiv. 2004. Caracterização da família Scolytidae (Insecta: Coleoptera) em três ambientes florestais. *Cerne* 10: 39–45.
- Novotný, V., and Y. Basset. 2000. Rare species in communities of tropical insect herbivores: pondering the mystery of singletons. *Oikos* 89: 564–572.
- do Penteado, S. R. C., A. A. Carpanezzi, E. J. M. Neves, Á. F. dos Santos, and C. A. Flechtmann. 2011. Escoltídeos como bioindicadores do “declínio do nim” no Brasil. *Pesq. Flor. Bras.* 31: 69–73.
- Pérez-De la Cruz, M., M. Hernández-May, A. De la Cruz-Pérez, and S. Sanchez-Soto. 2016. Scolytinae y Platypodinae (Coleoptera: Curculionidae) de dos áreas de conservación en Tabasco, México. *Rev. Biol. Trop.* 64: 335–342.
- Pillar, V. D. 1999. The bootstrapped ordination re-examined. *J. Veg. Sci.* 10: 895–902.
- Raffa, K. F., B. H. Aukema, B. J. Bentz, A. L. Carroll, J. A. Hicke, M. G. Turner, and W. H. Romme. 2008. Cross-scale drivers of natural disturbances prone to anthropogenic amplification: the dynamics of bark beetle eruptions. *AIBS Bull.* 58: 501–517.
- Ranger, C. M., P. H. Biedermann, V. Phuntumart, G. Beligala, S. Ghosh, D. E. Palmquist, R. Mueller, J. Barnett, P. B. Schultz, M. E. Reding, et al. 2018. Symbiont selection via alcohol benefits fungus farming by ambrosia beetles. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 115: 4447–4452.
- R Development Core Team. 2008. R: a language and environment for statistical computing. R foundation for statistical computing, Vienna, Austria. <http://www.r-project.org/>
- Roberts, D. 2007. *labdsv: ordination and multivariate analysis for ecology*. R package version 1.3-1. <http://ecology.msu.montana.edu/labdsv/R>
- Ronque, M. U. V., C. A. Flechtmann, and J. Lopes. 2012. Scolytidae (Coleoptera) in forest fragment of semideciduous tropical forest and reforestation of riparian vegetation in southern of Brazil, pp. 1. *In* 49th Annual meeting of the association for tropical biology and conservation, Bonito-MS, Proceedings, Bonito-Mato Grosso do Sul.
- Rossi, J. 2011. Rich: an R package to analyse species richness. *Divers. 3*: 112–120.
- Rudinsky, J. A. 1962. Ecology of scolytidae. *Annu. Rev. Entomol.* 7: 327–348.
- Sandoval Rodriguez, C., A. I. Cognato, and C. A. Righi. 2017. Bark and ambrosia beetle (Curculionidae: Scolytinae) diversity found in agricultural and fragmented forests in Piracicaba-SP, Brazil. *Environ. Entomol.* 46: 1254–1263.
- Scibold, S., C. Bässler, R. Brandl, B. Büche, A. Szallies, S. Thorn, M. D. Ulyshen, and J. Müller. 2016. Microclimate and habitat heterogeneity as the major drivers of beetle diversity in dead wood. *J. Appl. Ecol.* 53: 934–943.
- Silva, D. G., H. Trevisan, A. L. M. Vieira, L. G. O. Teixeira, A. G. Carvalho, E. F. C. Campello, A. S. Resende, and A. A. Franco. 2009. Entomofauna associada a remanescentes de Mata Atlântica conectados por um corredor ecológico agroflorestal, pp. 4. *In* Congresso Brasileiro de Sistemas Agroflorestais, Luziânia, Brasil.
- Sittichaya, W., S. Permkam, and A. I. Cognato. 2012. Species composition and flight pattern of *Xyleborini ambrosia* beetles (Col.: Curculionidae: Scolytinae) from agricultural areas in southern Thailand. *Environ. Entomol.* 41: 776–784.
- Smith, S. M., A. V. Petrov, and A. I. Cognato. 2017. Beetles (Coleoptera) of Peru: a survey of the families. Curculionidae: Scolytinae. *Coleopt. Bull.* 71: 77–94.
- Stilwell, A. R., S. M. Smith, A. I. Cognato, M. Martinez, and R. W. Flowers. 2014. *Coptoborus ochromactonus*, n. sp. (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), an emerging pest of cultivated balsa (Malvales: Malvaceae) in Ecuador. *J. Econ. Entomol.* 107: 675–683.
- Tanner, L. D., L. H. Kanga, M. Haseeb, L. Whilby, and O. U. Onokpise. 2018. Efficacy of selected attractants for monitoring the populations of the redbay ambrosia beetle, *Xyleborus glabratus* Eichhoff (Coleoptera: Scolytidae) and other bark beetles in the Florida Panhandle. *Curr. Inves. Agri. Curr. Res.* 1: 1–7.
- Tews, J., U. Brose, V. Grimm, K. Tielbörger, M. C. Wichmann, M. Schwager, and F. Jeltsch. 2004. Animal species diversity driven by habitat heterogeneity/diversity: the importance of keystone structures. *J. Biogeogr.* 31: 79–92.
- Weed, A. S., M. P. Ayres, and J. A. Hicke. 2013. Consequences of climate change for biotic disturbances in North American forests. *Ecol. Monogr.* 83: 441–470.
- Wollmann, J., M. S. Garcia, C. A. H. Flechtmann, E. Finkenauer, and F. R. M. Garcia. 2017. Scolytinae assemblage structure (Coleoptera: Curculionidae) in forested areas with *Eucalyptus* spp. in southern Rio Grande do Sul state. *Cienc. Florest.* 27: 1167–1177.
- Wood, S. L. 1982. The bark and ambrosia beetles of North and Central America (Coleoptera: Scolytidae), a taxonomic monograph. pp. 1359. Great Basin Nat. Mem. Brigham Young University, Provo, UT.
- Wood, S. L. 2007. The bark and ambrosia beetles of South America (Coleoptera: Scolytidae). pp. 900. Monte L. Bean Life Science Museum, Brigham Young University, Provo, UT.
- Zanuncio, J. C., M. F. Sossai, C. A. Flechtmann, T. V. Zanuncio, E. M. Guimarães, and M. C. Espindula. 2005. Plants of an *Eucalyptus* clone damaged by Scolytidae and Platypodidae (Coleoptera). *Pesqui. Agropecu. Bras.* 40: 513–515.

## ANNEXE 2

**Article 2:** Castro J., S.M. Smith, A.I. Cognato, D. Lanfranco, M. Martinez and M. Guachambala. 2019. Life cycle and development of *Coptoborus ochromactonus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), a pest of balsa. *Journal of Economic Entomology*. 112: 729-735.

## Life Cycle and Development of *Coptoborus ochromactonus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), a pest of balsa

Jessenia Castro,<sup>1,2</sup> Sarah M. Smith,<sup>3</sup> Anthony I. Cognato,<sup>3,6</sup> Dolly Lanfranco,<sup>2</sup> Malena Martínez,<sup>4</sup> and Marcelino Guachambala<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ingeniería Agronómica, Campus Experimental La Teodomira, Universidad Técnica de Manabí, km 13,5 vía a Santa Ana, Santa Ana, Ecuador, <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Forestales y Recursos Naturales, Programa de doctorado en Ciencias Forestales, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile, <sup>3</sup>Department of Entomology, Michigan State University, 288 Farm Lane, Room 243, East Lansing, MI 48824, <sup>4</sup>Facultad de Ciencias Ambientales, Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Avenida Quito, km 1 ½ vía a Santo Domingo de los Tsachilas, Quevedo, Ecuador, <sup>5</sup>Plantaciones de Balsa, Plantabala, Km 5 de la vía Quevedo, Valencia, Ecuador, and <sup>6</sup>Corresponding author, e-mail: [cognato@msu.edu](mailto:cognato@msu.edu)

Subject Editor: Brian Sullivan

Received 13 June 2018; Editorial decision 4 December 2018

### Abstract

*Coptoborus ochromactonus* Smith and Cognato is a recently described xyleborine ambrosia beetle pest associated with balsa, *Ochroma pyramidale* (Cav. Ex Lam.) Urb., in Ecuador. This pest has caused significant loss of cultivated balsa in Ecuador, but little is known of its biology and ecology. Based on examination of multiple gallery systems, this study describes the gallery pattern and life cycle of *C. ochromactonus* and confirms the generic identity of the symbiotic fungus. Females initiated attack, excavating a gallery perpendicular to the bole. The primary tunnel branched into a secondary tunnel at a mean 3.13 mm. This first secondary tunnel was excavated in a horizontal plane between the phloem and xylem for a mean 18.0 mm. Along its length, two tertiary tunnels were constructed on each side, measuring a mean 26.0 and 20.0 mm, respectively. Conidiophores and conidia of an unidentified *Fusarium* sp. grew on the tunnel walls and were fed upon by the beetle and her progeny. *Coptoborus ochromactonus* exhibits sexual dimorphism. The female is 2.6 mm long and possesses a round pronotum, whereas the male is 2.2 mm long and has a quadrate pronotum. The developmental stages last a mean 6, 14, 6, 4 and 30 d for egg, larva, pupa, teneral adult, and adult, respectively, when reared at 25°C. Three larval instars were present, with mean head capsule widths of 0.23, 0.31, and 0.42 mm, respectively. In general, the life cycle of *C. ochromactonus* is similar to those described for other xyleborine ambrosia beetle species.

### Resumen

*Coptoborus ochromactonus* Smith y Cognato, es un Xyleborini recientemente descrito, un escarabajo de ambrosía plaga asociada a la balsa en Ecuador, causado una pérdida significativa de balsa cultivada. Basado en múltiples sistemas de galería, la biología y ecología es desconocida, describiéndose en este estudio el patrón de galería y ciclo de vida de la especie y se confirma la identificación del hongo simbiote. Las hembras inician el ataque y excavan una galería perpendicular al tronco. El túnel primario mide 3,13 mm, el primer túnel secundario es excavado en plano en plano horizontal entre el floema y xilema de 18 mm, a lo largo dos túneles terciarios que están construidos a cada lado, midiendo, 26 y 20 mm respectivamente. Conidioforos y conidias de una especie de *Fusarium* no identificado crece en las paredes de los túneles y es el alimento para los escarabajos y su progenie. *C. ochromactonus*, exhibe un dimorfismo sexual, la hembra mide 2,6 mm de largo y posee un pronoto redondo, mientras que el macho mide 2,2 mm y el pronoto es cuadrado. Los estados de desarrollo duran 6, 14, 6, 4, 30 días para huevo, larva, pupa, adulto inmaduro y adulto respectivamente, cuando se crían a 25°C. El estado larval presenta tres estadios, con un promedio de ancho de cápsula cefálica de 0,23, 0,31 y 0,42 mm respectivamente. En general, el ciclo de vida de *C. ochromactonus*, es similar a los ciclos de vida descritos para especies de escarabajos de ambrosía, tribu Xyleborini.

**Key words:** ambrosia beetle, Xyleborini, Scolytidae, balsa

*Coptoborus ochromactonus* Smith and Cognato is a native Neotropical xyleborine ambrosia beetle, which was recently described following large infestations of balsa plantations [*Ochroma pyramidale* (Cav. Ex Lam.) Urb., Malvales: Malvaceae] beginning in 2006 in the western Ecuadorian provinces of Cotopaxi, Guayas, Los Ríos, and Santo Domingo de los Tsáchilas (Stilwell et al. 2014). Ecuador is the world's leading producer and exporter of balsa wood (Fletcher 1949, Midgley et al. 2010) with more than 20,000 ha of plantations (González Osorio et al. 2010). Balsa is native to the New World with a range extending from southern Mexico to Brazil and is naturalized in Asia and Africa (Brink 2008). Although the damage caused by *C. ochromactonus* has been described, little is known of its biology and ecology (Stilwell et al. 2014).

*Coptoborus* Hopkins, 1915 contains 22 species endemic to tropical and subtropical forests of the New World of which 18 are present in South America (Wood 2007, Alonso-Zarazaga and Lyal 2009, Stilwell et al. 2014). Like other xyleborines, *Coptoborus* species excavate galleries in the sapwood of their host trees and cultivate a fungus that serves as food for the adults and larvae (Beaver 1989, Wood 2007, Stilwell et al. 2014). *Coptoborus* species are generally benign decomposers and colonize dead and dying trees. In contrast, *C. ochromactonus* appears to prefer live small diameter trees as well as moisture- and light-stressed trees. It has been collected only from balsa (Stilwell et al. 2014).

*Coptoborus ochromactonus* host colonization begins with adults excavating galleries in the upper branches of a balsa tree. As gallery densities increase, branches begin to wilt, and the tree is ultimately killed. Trees in infested plantations can suffer high attack rates (e.g., 58%) and mortality (~25%; Stilwell et al. 2014). Initial symptoms of infestation include a progression from chlorotic foliage, reduced leaf development, to wilting leaves. Locally referred to as *muerte regresiva de la balsa* or 'balsa dieback', the insect-disease complex is characterized by dieback of the balsa, with evident entrance holes, a resinous substance that is exuded from the entrance holes, areas on the branch and bole covered with boring dust, and new galleries covered in white mycelium and older galleries (i.e., without a beetle

brood) covered in bluish-black mycelium. Molecular studies of diseased xylem indicated an unidentified *Fusarium* species associated with *C. ochromactonus*, which is hypothesized to be the vector of the fungus (Stilwell et al. 2014, A. I. Cognato, unpublished data).

The life cycles of only a few xyleborine ambrosia beetles have been studied, and they share general characteristics of developmental stages and last between 25 and 30 d (Ngoan et al. 1976, Hara and Beardsley 1979, Brar et al. 2013). Gallery system architecture is variable among species, and the nutritional (ambrosia) fungus is variable among genera. Xyleborini are associated with the fungal genera *Ambrosiella* Brader (Microascales), *Raffaelea* Arx & Hennebert (Ophistomatales), *Fusarium* Link (Hypocreales), and *Flavodon* Ryvarden (Polyporales) (Batra 1985, Beaver 1989, Fraedrich et al. 2008, Massoumi Alamouti et al. 2009, Jaramillo et al. 2011, Kasson et al. 2013, Li et al. 2015). To date, no investigations of the life cycle of any *Coptoborus* species have been undertaken. Here, we report the life cycle and development of *C. ochromactonus* on balsa, describe the gallery system structure, and confirm the identity of the symbiotic fungus.

## Materials and Methods

### Study Site

In July 2014 and 2015, a total of 15 balsa trees infested with *C. ochromactonus* were observed for an hour (16:00–17:00) at a balsa plantation established in 2012. The plantation was located in el sector Poza Honda, recinto El Vergel, Canton Valencia, Los Ríos Province, Ecuador (0° 13' 50" S, 79° 10' 40" W), 182 m elevation, and was situated within a rainforest climatic zone.

### Habits, Gallery System, and Fungi

The natural history of *C. ochromactonus* including the beetle's pioneer flight to the host tree, initiation of the entrance hole, and the excavation of the gallery was observed in the field. Ten balsa branches with entrance holes were taken to the microbiology

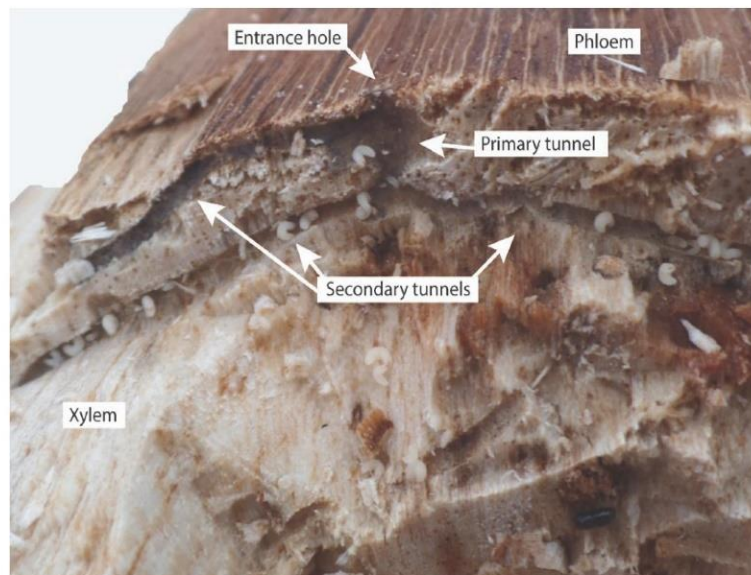


Fig. 1. Cross-section of a typical *Coptoborus ochromactonus* gallery excavated in balsa.



laboratory at the Universidad Técnica Estatal Quevedo, Quevedo, Ecuador, where they were dissected. Under 0–20 $\times$  magnification, 24 galleries were observed and 16 galleries were documented qualitatively and quantitatively to describe the gallery system. The presence of fungus on the gallery walls was determined by direct observation with a magnifying glass, and a wet mount was made for microscopic observation. The fungal mass was directly isolated in Petri plates with PDA culture medium and was morphologically identified to the genus level using the key of von Arx (1981). One gallery was imaged using a scanning electron microscope (SEM) (Jeol JSM 5310, Tokyo, Japan), at the electron microscopy laboratory of the National Institute of Public Health Research (INSPI- Guayaquil, Ecuador). Thin films were cut from the gallery using a scalpel. The films were placed in a jar containing osmium tetroxide, avoiding direct contact, and were allowed to set for a day. Once set, films were covered with gold for observation.

### Life Cycle

To investigate the *C. ochromactonus* life cycle, two balsa trees of 18 and 34 m in height were selected from the field, which exhibited many female *C. ochromactonus* drilling entrance holes into the boles. The infested trees were cut into 2-m-long sections and transported to the laboratory. At the lab, the pieces were inspected for galleries, measured, and cut into 30 pieces (10 cm in diameter and 3 cm thick). Each piece was individually placed in a plastic container and maintained in an incubator (Memmert BE-600, Schwabach, Germany) at 25°C in the dark. Galleries were examined for the presence of the egg and pupal stages by using an Olympus (SZ61, Tokyo, Japan) stereomicroscope. Galleries with these stages were dissected, the stages removed, placed in a Petri dish (9 cm diameter) with a piece of moistened cotton, and kept in an incubator at 25°C until the next stage appeared to determine stage duration. First-instar larvae were collected upon eclosion and stored in 70% ethanol to measure the head capsule width.

Using an Olympus CX21FS1 microscope equipped with an ocular micrometer, we measured the head capsule width of 277 larvae to determine the number of instars with a frequency distribution analysis. We quantified the number of instars according to Dyar's rule of geometric progression (Dyar 1890):  $y = ar^{(x-1)}$ , where  $a$  is the width of the head capsule of the first instar,  $r$  is the average ratio of the head capsule widths in two consecutive instars (e.g., first and second instars; Lekander 1968), and  $x$  is the instar number. We further correlated the number of instars with head capsule widths using least squares linear regression:  $y = a + bx$ , where  $y$  is the head capsule width and  $x$  is the instar.

### Quantitative Statistical Analysis

All statistical analyses were performed using Infostat v.2014 (Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina). The gallery structure and developmental stages were analyzed using descriptive statistics. Mean and SD are reported. Frequency distribution and a linear regression plot were performed to determine the relationship between the width of larval head capsule and instar.

## Results

### Gallery System

Adult females were observed initiating gallery entrance holes ( $n = 138$ ). Signs of gallery construction included boring dust on the bole and entrance holes plugged with boring dust by the pioneer female ( $n = 126$ ).

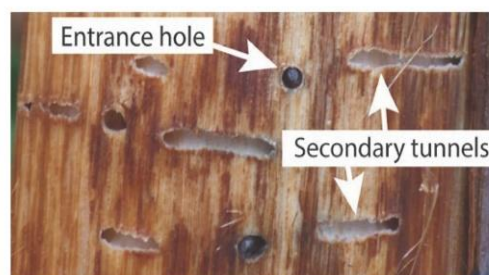


Fig. 2. External view of *Coptoborus ochromactonus* galleries in balsa with bark removed.

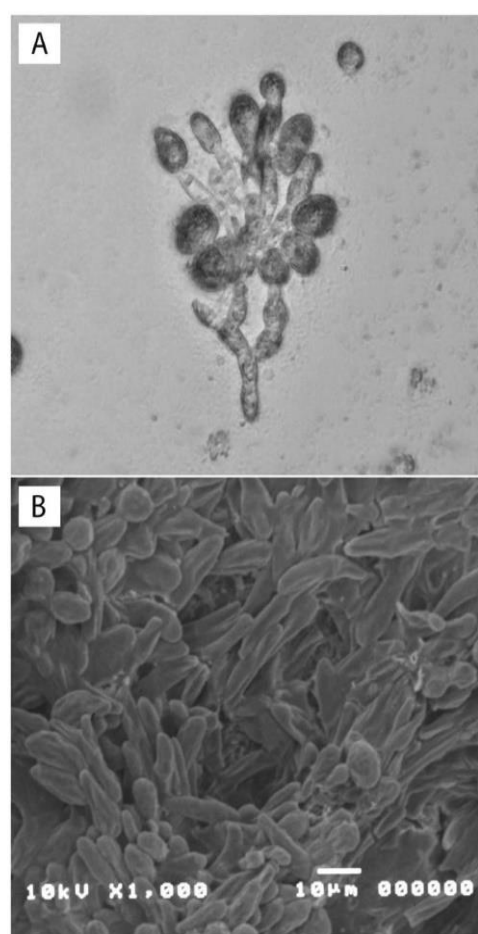


Fig. 3. Images of the *Fusarium* fungus from *Coptoborus ochromactonus* galleries: (a) light micrograph of conidiophore, (b) SEM observation of gallery wall with fungal hyphae bearing microconidia.

The gallery system was a branched gallery without brood chambers or pupal cells, and each life stage was found within different tunnels of the same gallery (Fig. 1). The entrance hole measured  $2.0 \pm 0.01$  mm in diameter ( $n = 48$ ) and was constructed perpendicular to the trunk in a horizontal plane. Overall, the gallery system consisted of one primary and three secondary tunnels. The primary tunnel was  $7.0 \pm 1.41$  mm long and directed toward the phloem.

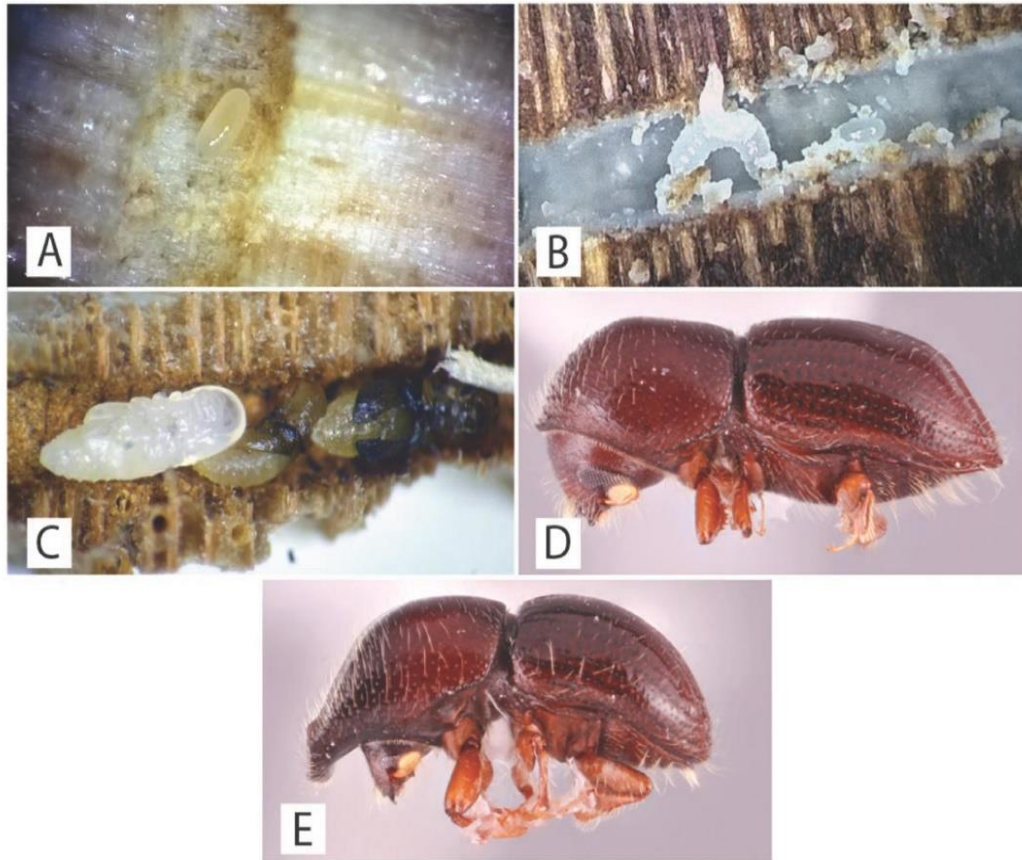


Fig. 4. Developmental stages of *Coptoborus ochromactonus*: (a) egg, (b) larva, (c) pupa, (d) adult female, and (e) adult male.

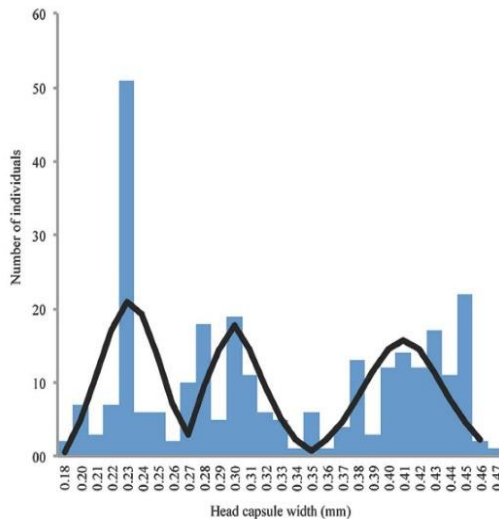


Fig. 5. Frequency distribution of head capsule width from larvae of *Coptoborus ochromactonus* ( $n = 277$ ; bars). Black line corresponds to the distribution of individuals of each of the three instars based on the mean and SD of each stage: 1)  $0.23 \pm 0.03$ ; 2)  $0.33 \pm 0.03$ ; 3)  $0.43 \pm 0.33$ .

At the junction between the bark and phloem, the primary tunnel branched into the first secondary tunnel. This secondary tunnel was  $18.0 \pm 2.1$  mm and was excavated in a horizontal plane between the bark and phloem. It was clearly visible when the bark was removed (Fig. 2). Two additional secondary tunnels were excavated deeper into the xylem one on each side of the primary tunnel, measuring  $26.0 \pm 4.2$  and  $20.0 \pm 3.5$  mm, respectively. Gallery walls were covered with a layer of white-colored fungus, and in a few cases, the larvae, teneral adults, and mature adults were observed feeding. Microscopic and SEM observation of the fungus showed the presence of penicillate (branched) conidiophores and ovate conidia that are characteristic of *Fusarium* (Hypocreales) (Fig. 3).

#### Qualitative and Quantitative Characterization of Developmental Stages

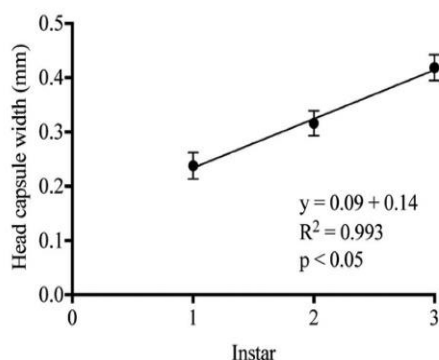
Egg: Pearly white, translucent, and ovate (Fig. 4a). Mean length and width were  $0.66 \pm 0.03$  mm long and  $0.31 \pm 0.02$  mm wide ( $n = 50$ ).

Larva: Legless, dull white, and head capsule sclerotized with dark brown mandibles (Fig. 4b). The cephalic width ( $n = 277$ ) frequency distribution showed much individual variation; however, three width groups were discernible (Fig. 5). Using the histogram (Fig. 5), we estimated the range and mean for the three instars. The first instar was clearly evident in the first group (0.18–0.28 mm, mean = 0.23 mm); however, distinct mode values for the second and third instars were

**Table 1.** Head capsule width measured for the three larval instars of *Coptoborus ochromactonus* and head capsule head width estimated based on geometric progression (Dyar's rule) and least squares (linear regression)

Instar no.	N	Head capsule width (mm)			$X_{n+1}/X_n$	Predicted head capsule width (mm)	
		Mean	SE	Range		Dyar's rule <sup>a</sup>	Linear regression
						$y = ar^{(x-1)}$	$y = a + b * x$
I	94	0.23	0.02	0.18–0.28	1.22	0.23	0.23
II	72	0.33	0.03	0.28–0.37	1.35	0.31	0.32
III	111	0.42	0.02	0.37–0.47	1.35	0.42	0.41

<sup>a</sup>Geometric progression of head capsule widths;  $a$  is head capsule width first instar;  $r$  is the average ratio of the head capsule widths in two consecutive instars.

**Fig. 6.** Linear regression of mean head capsule width as a function of larval instar in *Coptoborus ochromactonus*.

not as clear. The second instar appeared as a group between 0.28 and 0.37 mm (mean = 0.33) and the third instar between 0.37 and 0.47 mm (mean = 0.42). The average ratio of the cephalic capsule widths (growth rate) was 1.35 ( $r$ ). These instar groupings were consistent with a linear regression model calculated using least squares ( $y = 0.132 + 0.094x$ ), with a significant correlation ( $r = 0.92$ ,  $P = 0.0001$ ) between head capsule width and instar (Table 1). The widths of the observed instars when compared with the widths of the predicted values indicated a fit to a model of geometric progression ( $y = 0.23 \times 1.35^{(x-1)}$ , Fig. 6) and supported the designated instars.

Pupa: white, exarate (Fig. 4c).

Teneral adult: light brown in color.

Adult: dark brown to black and exhibiting marked sexual dimorphism of the pronotum and in body length. Laterally, the female (Fig. 4d) pronotum is anteriorly rounded, whereas that of the male (Fig. 4e) is flattened and expanded beyond the vertex of the head. Females are larger than males with lengths of  $2.6 \pm 0.06$  mm ( $n = 102$ ) and  $2.2 \pm 0.09$  mm ( $n = 91$ ), respectively.

#### Life Cycle

The duration of the *C. ochromactonus* life cycle was  $30.0 \pm 2.8$  d ( $n = 38$ ). The sex ratio of females to males was 7:1 ( $n = 93$ ). Hatching of all eggs lasted  $6.1 \pm 0.75$  d ( $n = 72$ ) with an average hatching rate of 2.7 eggs per day, for clutches of 2–15 eggs ( $n = 24$ ). We could not directly assess the duration of the larval stage from eclosion to pupation because many of the larvae died. In most cases, larval death was apparently due to desiccation of the wood. Thus, we approximated 14 d for the larval stage, which was the duration of the longest-lived larvae. The pupal stage was an average of  $5.54 \pm 0.51$  d ( $n = 28$ ). The teneral adult stage had a duration of  $3.7 \pm 0.53$  d ( $n = 30$ ; Fig. 7).

Eggs, larvae, pupae, teneral adults, and adults were simultaneously present in the galleries ( $n = 28$ ; Fig. 7).

Males emerged from the gallery system 30–35 d after gallery initiation ( $n = 28$ ). On three trees in the field, adult males ( $n = 28$ ) were observed walking on the bole and approaching female-occupied entrance tunnels. The males did not enter because the females' abdomens blocked entrance.

#### Discussion

Xyleborine ambrosia beetle gallery systems typically vary by genus and rarely by species (Wood 2007). Many galleries have brood chambers for eggs including *Xyleborinus saxesenii* (Ratzeburg) and *Xylosandrus germanus* (Blandford) (Weber and McPherson 1983, Biedermann et al. 2009); however, *C. ochromactonus* galleries lack brood chambers, with all developmental stages found in the different tunnels of the gallery as previously reported (Stilwell et al. 2014). The generalized *Coptoborus* gallery system is star-shaped (S. M. Smith, personal observation), with species-specific modifications in the number, length, and placement of the tunnels. With *C. ochromactonus* galleries, the location of a secondary tunnel between the bark and phloem or within phloem is unusual for both *Coptoborus* and other Neotropical xyleborines (Browne 1961, Beaver 1976, S. M. Smith and A. I. Cognato, personal observation). In *Ambrosiodmus lecontei* Hopkins, *Xyleborinus saxesenii*, *Xyleborus glabratus* Eichhoff, *Xylosandrus germanus*, the secondary tunnels are made in the xylem (Weber and McPherson 1983, Biedermann et al. 2009, Brar et al. 2013).

Female xyleborines possess mycangia, specialized structures in which beetles carry symbiotic fungal spores/hyphae from their natal tree to a new host. Upon initiating a gallery, these spores or hyphae are expelled and are cultivated along the walls of the galleries (Batra 1985, Beaver 1989, Wood 2007). Most fungal gardens are white and are clearly visible growing on the gallery walls (Jaramillo et al. 2011, Freeman et al. 2013, Li et al. 2015). The fungal garden observed on the *C. ochromactonus* galleries was also white and was made up of penicillate conidiophores and ovate conidia. The fungus typified the morphological characteristics of *Fusarium*, which had been previously reported for the species (Stilwell et al. 2014). *Fusarium* is an ambrosial fungus and has been reported as the ambrosia fungus for eight *Euwallacea* species (Short et al. 2017) and two additional species, *Xylosandrus compactus* (Eichhoff) and *Xyleborus ferrugineus* (F.) from Costa Rica (Ngoan et al. 1976, Hulcr and Stelinski 2017). Both larvae and the pioneer females feed on fungal conidia as also reported for *Xylosandrus compactus* and *X. germanus* (Kaneko et al. 1965, Weber and McPherson 1983). The location of the mycangium is unknown for any *Coptoborus*.

The galleries of *C. ochromactonus* contain all developmental stages from egg to adult, whose general qualitative characteristics

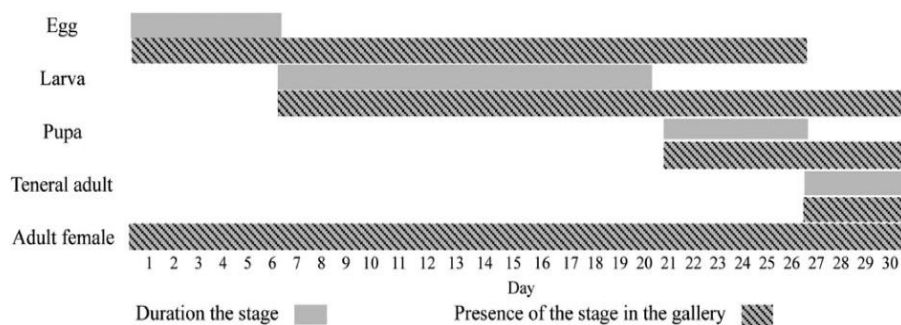


Fig. 7. Presence and duration of *Coptoborus ochromactonus* developmental stages in balsa logs maintained at 25°C for 30 d.

are similar to those described for other scolytines (Wood 2007, Brar et al. 2013, Jordal 2014). Prior to this investigation, information regarding quantitative traits beyond adult sizes and sexual dimorphism of *Coptoborus* species were not reported. Both of these characteristics were included in the species description, and the average body length of 2.0 and 1.7 mm for female and male, respectively, was 0.5–0.6 mm smaller when compared with the findings in this study (Stilwell et al. 2014). Differences in micrometer calibration may explain this discrepancy although individual size of scolytines can vary among populations (e.g., Cerezke 1995). Sexual dimorphism in size is typical of xyleborines (Kirkendall 1993).

We determined the number of instars using the distribution of head capsule widths, a method that has been used to define instars of other insects (Gadd 1947, Caltagirone et al. 1983, Weber and McPherson 1983, García del Pino and de Haro 1987, Brar et al. 2013) and applying geometric progression and least squares estimates, which have also been shown to be effective in determining the number of scolytine instars (Dallara et al. 2012, Brar et al. 2013). Three instars have been reported in *Xyleborus celsus* Eichhoff (Gagne and Kearby 1979), *X. ferrugineus* (Norris and Chu 1985), *X. glabratus* (Brar et al. 2013), *Euwallacea fornicatus* (Gadd 1947), and *Xylosandrus germanus* (Weber and McPherson 1983). The larval stage of *C. ochromactonus* was shown to have three instars with head capsule width of 0.23, 0.33, and 0.42 mm, respectively. These widths are similar to those reported for *E. fornicatus* (0.272, 0.374, 0.425, or 0.442 mm depending on host), *Xylosandrus germanus* (0.25, 0.33, and 0.47 mm), and *Xyleborus glabratus* (0.21, 0.26, and 0.37 mm; Gadd 1947, Weber and McPherson 1983, Brar et al. 2013). The growth rate (1.35) was also similar to that reported for *Xylosandrus germanus* (1.32) and *Xyleborus glabratus* (1.36) and is within the range of growth rate of bark beetles (1.17–1.48; Lekander 1968, Weber and McPherson 1983, Brar et al. 2013).

The duration of scolytine developmental stages varies according to ambient temperature (Gadd 1947). In this study, all stages were maintained at 25°C, and the duration times were similar to those reported for *Xyleborus glabratus*: 6.6, 9.3, and 5.0 for egg, larval, and pupal stages evaluated at 25 ± 2°C (Brar et al. 2013; Fig. 7). Different stages occur contemporaneously even with the dispersal of some adults from the natal gallery, which has also been reported for *X. glabratus* and *Xyleborinus saxesenii* (Biedermann et al. 2009, Brar et al. 2013). Xyleborine sex ratios (female:male) also dramatically vary by species, ranging from 83:1 to 2:1 for *Webbia bififormis* Browne and *Anisandrus dispar* (F.), respectively (Kirkendall 1993). The 7:1 sex ratio reported herein is within this range.

Male *C. ochromactonus* that emerged from the natal gallery walked on the bole of the tree, similar to the behaviors observed in male *Campitocerus noel* Smith and Cognato, *E. fornicatus*, and *Xylosandrus*

*germanus* (Peer and Taborsky 2004, Smith and Cognato 2011, Cooperband et al. 2016). The male walked closed to the entrance hole where the adult female exposed her abdomen, possibly for copulation.

All Xyleborini species are characterized by a haplodiploid reproductive system (inbreeding harem polygamy) in which diploid females produce haploid males from unfertilized eggs. Sex ratios are biased toward females with only one or a very few dwarf flightless males occurring in a brood gallery. The males rarely venture outside their natal gallery and most matings occur between siblings (Kirkendall 1993, Cognato et al. 2011). Given the similarity of reproductive systems among xyleborine species, many of the quantitative characteristics of *C. ochromactonus* are similar to the other five xyleborine species whose life cycles have been previously investigated: *Xylosandrus compactus*, *X. crassiusculus* (Motschulsky), *X. germanus*, *Xyleborus glabratus*, and *Xyleborinus saxesenii*. In all of these species, the pioneer female initiates the entrance tunnel and excavates the gallery, inoculating it with an ambrosia fungal garden, and produces her brood (Kaneko et al. 1965, Ngoan et al. 1976, Weber and McPherson 1983, Brar et al. 2013). However, all of the previously investigated species are polyphagous, whereas *C. ochromactonus* is monophagous and is currently known to be associated only with balsa.

Typically, xyleborines are polyphagous and can colonize and successfully raise broods in a large diversity of woody plant families (Hulcr et al. 2007). There are a few exceptions, most notably *Xyleborus glabratus* that prefers Lauraceae trees and *Xyleborus vochysiae* Kirkendall that is solely found on a single species of *Vochysia* Aubl. (Kirkendall 2006). Given the species recent discovery, it is still unknown if this species is truly host specific or whether the host specificity is simply a function of inadequate sampling of native forests.

## Acknowledgments

We thank Abby Stilwell and Jorge Venegas, whose initial research on *C. ochromactonus* made this study possible. This research was funded by the Secretaría de Educación Superior Ciencia, Tecnología e Innovación (SENESCYT) scholarships, 2011, Quito, Ecuador, Plantabal S.A., and the Universidad Técnica Estatal de Quevedo. A.I.C. was partially supported by USDA-FS Early Detection and Rapid Response of Exotic Bark Beetles (07-DG-11420004-182).

## References Cited

- Alonso-Zarazaga, M. A., and C. H. C. Lyal. 2009. A catalogue of family and genus group names in Scolytinae and Platypodinae with nomenclatural remarks (Coleoptera: Curculionidae). *Zootaxa* 2258: 1–134.
- Batra, L. R. 1985. Ambrosia beetles and their associated fungi: research trends and techniques. *Proc. Indian Acad. Sci.* 94: 137–148.

- Beaver, R. A. 1976. Biological studies of Brazilian Scolytidae and Platypodidae (Coleoptera). V. The tribe Xyleborini. Z. Angew. Entomol. 8: 15–30.
- Beaver, R. A. 1989. Insect – fungus relationships in the bark and ambrosia beetles, pp. 121–143. In N. Wilding, N. Collins, P. Hammond, and J. Webber (eds.), Insect – fungus interactions. Academic Press, London, United Kingdom.
- Biedermann, P. H., K. D. Klepzig, and M. Taborsky. 2009. Fungus cultivation by ambrosia beetles: behaviors and laboratory breeding success in the three Xyleborine species. Environ. Entomol. 38: 1096–1105.
- Brar, G. S., J. L. Capinera, P. E. Kendra, S. McLean, and J. E. Peña. 2013. Life cycle, development and culture of *Xyleborus glabratus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). Fla. Entomol. 96: 1158–1167.
- Brink, M. 2008. *Ochroma pyramidale* (cav. Ex Lam.) Urb. In D. Louppe, A. A. Oteng-Amoako, and M. Brink (eds.). PROTA (Plant Resources of Tropical Africa), Wageningen, The Netherlands.
- Browne, F. G. 1961. The biology of Malayan Scolytidae and Platypodidae. Malay. For. Rec. 22: 1–255.
- Caltagirone, L. E., W. Getz, and D. W. Meals. 1983. Head capsule width as an index of age in larvae of navel orangeworm, *Amyelois transitella* (Lepidoptera: Pyralidae). Environ. Entomol. 12: 219–221.
- Cerezke, H. F. 1995. Egg gallery, brood production, and adult characteristics of mountain pine beetle, *Dendroctonus ponderosae* Hopkins (Coleoptera: Scolytidae) in three pine hosts. Can. Entomol. 127: 955–965.
- Cognato, A. I., J. Hulcr, S. A. Dole, and B. H. Jordal. 2011. Phylogeny of haplo-diploid, fungus-growing ambrosia beetles (Curculionidae: Scolytinae: Xyleborini) inferred from molecular and morphological data. Zool. Scripta 40: 174–186.
- Cooperband, M. F., R. Stouthamer, D. Carillo, A. Eskalen, T. Thibault, A. A. Cossé, L. A. Castrillo, J. D. Vandenberg, and P. F. Rugman-Jones. 2016. Biology of two members of the *Euwallacea fornicatus* species complex (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), recently invasive in the U.S.A., reared on an ambrosia beetle artificial diet. Agric. For. Entomol. 18: 223–237.
- Dallara, P. L., M. L. Flint, and S. J. Seybold. 2012. An analysis of the larval instar of the walnut twig beetle, *Pityophthorus juglandis* Backman (Coleoptera: Scolytidae), in northern California black walnut, *Juglans hindsii*, and a new host record for *Hylocurus birtellus*. Pan Pac. Entomol. 88: 248–266.
- Dyar, H. 1890. The number of molts of lepidopterous larvae. Psyche 5: 420–422.
- Fletcher, M. I. 1949. Balsa industry in Ecuador. Econ. Geogr. 25: 47–54.
- Fraedrich, S. W., T. C. Harrington, R. J. Rabaglia, M. D. Ulyshen, A. E. Mayfield III, J. L. Hanula, J. M. Eickwort, and D. R. Miller. 2008. A fungal symbiont of the redbay ambrosia beetle causes a lethal wilt in redbay and other Lauraceae in the southeastern United States. Plant Dis. 92: 215–224.
- Freeman, S., A. Protasov, M. Sharon, K. Mohotti, M. Eliyohu, N. Okon-Levy, M. Maymon, and Z. Mendel. 2013. Obligate feed requirement of *Fusarium* sp. nov., an avocado wilting agent, by the ambrosia beetle *Euwallacea* aff. *fornicata*. Symbiosis 58: 245–251.
- Gadd, C. H. 1947. The life-history of the shot-hole borer of tea. Tea Q. 14: 5–22.
- Gagne, J. A., and W. H. Kearby. 1979. Life history, development, and insect–host relationships of *Xyleborus celsus* (Coleoptera: Scolytidae) in Missouri. Can. Entomol. 111: 295–305.
- García del Pino, F., and A. de Haro. 1987. Determinación y caracterización de los estadios larvales de *Zeuzera pyrina* (Lep. Cossidae) en un cultivo de laboratorio. Boletín Asoc. Esp. Entom. 371: 329–340.
- González Osorio, B., X. Cervantes Molina, E. Torres Navarrete, C. Sánchez Fonseca, and L. Simba. 2010. Caracterización del cultivo de balsa (*Ochroma pyramidale*) en la provincia de Los Ríos – Ecuador. Ciencia Tecnol. 3: 7–11.
- Hara, A. H., and J. Beardsley. 1979. The biology of the black twig borer, *Xylosandrus compactus* (Eichhoff) in Hawaii. Proc. Hawaii. Entomol. Soc. 13: 55–70.
- Hulcr, J., and I. L. Stelinski. 2017. The ambrosia symbiosis: from evolutionary ecology to practical management. Annu. Rev. Entomol. 62: 285–303.
- Hulcr, J., S. A. Dole, R. A. Beaver, and A. I. Cognato. 2007. Cladistic review of generic taxonomic characters in Xyleborina (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). Syst. Entomol. 32: 568–584.
- Jaramillo, J. L., C. M. Ospina, Z. N. Gil, E. C. Montoya, and P. Benavides. 2011. Avances en la biología de *Corthylus zulmae* (Coleoptera: Curculionidae) en plantaciones de *Alnus acuminata* (Betulaceae). Rev. Colomb. Entomol. 37: 48–55.
- Jordal, B. H. 2014. Scolytinae, pp. 349–358. In R. A. B. Leschen and R. Beutel (eds.), Handbook of zoology, Band IV Arthropoda: Insecta. Part 38: Coleoptera, Beetles, vol. 3. deGruyter Press, Berlin, Germany.
- Kaneko, T., Y. Tamaki, and K. Takagi. 1965. Preliminary report on the biology of some Scolytid beetles, the tea root bores, *Xyleborus germanus* Blanchard, attacking tea roots, and the tea stem bores *Xyleborus compactus* Eichhoff, attacking tea twigs. Jpn. J. Appl. Entomol. Zool. 9: 23–28.
- Kasson, M. T., K. O'Donnell, A. Rooney, S. Sink, R. Ploetz, J. N. Ploetz, J. L. Konkol, D. Carrillo, S. Freeman, Z. Mendel, J. A. Smith, A. W. Black, J. Hulcr, C. Bateman, K. Stefkova, P. R. Campbell, A. D. Geering, E. K. Dann, A. Eskalen, K. Mohotti, D. P. Short, T. Aoki, K. A. Fenstermacher, D. D. Davis, and D. M. Geiser. 2013. An inordinate fondness for *Fusarium*: phylogenetic diversity of fusaria cultivated by ambrosia beetles in the genus *Euwallacea* on avocado and other plant hosts. Fung. Gen. Biol. 56: 147–157.
- Kirkendall, L. R. 1993. Ecology and evolution of biased sex ratios in bark and ambrosia beetles, pp. 235–345. In D. L. Wrensch and M. A. Ebbert (eds.), Evolution and diversity of sex ratios in insects and mites. Chapman and Hall, New York.
- Kirkendall, L. R. 2006. A new host-specific ambrosia beetle, *Xyleborus vochysiae* (Curculionidae: Scolytinae), from Central America breeding in live Trees. Ann. Entomol. Soc. Am. 99: 211–217.
- Lekander, B. 1968. Scandinavian bark beetle larvae, description and classification. Institutionen for Skogszoologi, Skogshogskolan, Rapportur och Uppsater 4, Stockholm, Sweden.
- Li, Y., D. R. Simmons, C. C. Bateman, D. P. G. Short, M. T. Kasson, R. J. Rabaglia, and J. Hulcr. 2015. New fungus – insect symbiosis: culturing, molecular and histological methods determine saprophytic Polyporales mutualists of *Ambrosiodmus* ambrosia beetles. PLoS One 10: e0137689.
- Massoumi Alamouti, S., C. K. M. Tsui, and C. Breuil. 2009. Multigene phylogeny of filamentous ambrosia fungi associated with ambrosia and bark beetles. Mycol. Res. 113: 822–835.
- Midgley, S., M. Blyth, N. Howcroft, D. Midgley, and A. Brown. 2010. Balsa: biology, production and economics in Papua New Guinea. ACIAR Technical Reports 73. Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra, Australia. pp. 98.
- Ngoan, N. D., R. C. Welkinson, D. E. Short, C. S. Moses, and J. R. Mangold. 1976. Biology of an introduced ambrosia beetle, *Xylosandrus compactus*, in Florida. Ann. Entomol. Soc. Am. 69: 872–876.
- Norris, D. M., and H. M. Chu. 1985. *Xyleborus ferrugineus*, pp. 303–315. In P. Singh and R. F. Moore (eds.), Handbook of insect rearing, vol. I. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands.
- Peer, K., and M. Taborsky. 2004. Female ambrosia beetles adjust their offspring sex ratio according to outbreeding opportunities for their sons. J. Evol. Biol. 17: 257–264.
- Short, D. P. G., K. O'Donnell, J. E. Stajich, M. C. Berger, A. M. Macias, E. J. Spahr, J. Hulcr, T. Kijimoto, A. Eskalen, C. C. Bateman, et al. 2017. PCR multiplexes discriminate *Fusarium* symbionts of invasive *Euwallacea* ambrosia beetles associated with canker and dieback diseases of trees in the United States. Plant Dis. 101: 233–240.
- Smith, S. M., and A. I. Cognato. 2011. Observations of the biology of *Camptocorus* Dejean (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) in Peru. Coleopt. Bull. 65: 27–32.
- Stilwell, A. R., S. M. Smith, A. I. Cognato, M. Martinez, and R. W. Flowers. 2014. *Coptoborus ochromactonus*, n. sp. (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), an emerging pest of cultivated balsa (*Ochroma pyramidale*) in Ecuador. J. Econ. Entomol. 107: 675–683.
- von Arx, J. A. 1981. The genera of fungi sporulating in pure culture, 3rd ed. Lubrecht and Cramer, Vaduz, Germany.
- Weber, B. C., and J. E. McPherson. 1983. Life history of the ambrosia beetle *Xylosandrus germanus* (Coleoptera: Scolytidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 76: 455–462.
- Wood, S. L. 2007. Bark ambrosia beetles of South America (Coleoptera, Scolytidae). Monte L. Bean Life Science Museum, Brigham Young University, Provo, UT.

## ANNEXE 3

**Article 3.** Martinez M., A.I. Cognato, M. Guachambala, J.P. Urdanigo and T. Boivin. 2019. Effects of climate and host age on flight activity, prevalence and intensity of infestations by *Coptoborus ochromactonus* Smith and Cognato (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) in commercial balsa plantations of Ecuador. Soumis à la revue Journal of Economic Entomology.

**Effects of climate and host age on flight activity, prevalence and intensity of infestations by *Coptoborus ochromactonus* Smith and Cognato (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) in commercial balsa plantations of Ecuador**

Journal:	<i>Journal of Economic Entomology</i>
Manuscript ID:	ECONENT-2019-0262
Manuscript Type:	Research
Date Submitted by the Author:	08-Apr-2019
Complete List of Authors:	Martinez, Malena; Technical State University of Quevedo, Faculty of Environmental Sciences Cognato, Anthony; Michigan State University, Dept of Entomology Guachambala, Marcelino; 43A Composites, Research and Development Urdanigo, Juan ; Technical State University of Quevedo, Faculty of Environmental Sciences Boivin , Thomas; INRA, Domaine Saint Paul Site Agroparc, Ecologie des Forêts Méditerranéennes
<b>Please choose a section from the list</b>:	Forest Entomology
Field Keywords:	Forest Entomology, Ecology
Organism Keywords:	Ambrosia Beetles, Curculionidae

SCHOLARONE™  
Manuscripts

<https://mc.manuscriptcentral.com/econent>

1 M. Martínez  
2 Universidad Técnica Estatal de  
3 Quevedo  
4 Facultad de Ciencias Ambientales  
5 Avenida Quito, Km 1 ½ vía a Sto.  
6 Domingo de los Tsáchilas  
7 Quevedo, Ecuador  
8 Email: mmartinez@uteq.edu.ec  
9

10 **Effects of climate and host age on flight activity, prevalence and intensity of**  
11 **infestations by *Coptoborus ochromactonus* Smith and Cognato (Coleoptera:**  
12 **Curculionidae: Scolytinae) in commercial balsa plantations of Ecuador**

13 Malena Martínez<sup>1,2,7</sup>, Anthony Cognato<sup>3</sup>, Marcelino Guachambala<sup>4</sup>, Juan Pablo  
14 Urdanigo<sup>5</sup>, Thomas Boivin<sup>6</sup>

15 <sup>1,5</sup> Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Facultad de Ciencias Ambientales, Avenida  
16 Quito, Km 1 ½ vía a Sto. Domingo de los Tsáchilas, Quevedo, Ecuador. <sup>2</sup> University of  
17 Montpellier, Montpellier, 34090, France. <sup>3</sup> Michigan State University, Department of  
18 Entomology, 288 Farm Lane, room 243, East Lansing, MI 48824, U.S.A. <sup>4</sup>3A  
19 Composites, Research and Development, Guayaquil, Ecuador. <sup>6</sup> INRA, UR629,  
20 Ecologie des Forêts Méditerranéennes, Domaine Saint Paul Site Agroparc, 84194  
21 Avignon CS40509 Cedex 9, France. <sup>7</sup> Corresponding author, mmartinez@uteq.edu.ec.  
22  
23  
24  
25  
26



27 **Abstract**

28 *Coptoborus ochromactonus* Smith and Cognato is one of the most common and  
29 important pest of balsa, *Ochroma pyramidale* (Cav. Ex Lam.) Urb., an economic pillar  
30 of wood industry in Ecuador. Commercial balsa plantations have been expanded from  
31 humid to dry climate areas to limit pest damage but basic knowledge is still lacking on  
32 the interaction of *C. ochromactonus* activity with variation in climate and age of  
33 plantation. We investigated the effects of climate and host age on the seasonal flight  
34 activity of *C. ochromactonus* and its prevalence and infestation intensity, as well as the  
35 effect of age and individual infestation intensity on individual percentage of balsa  
36 defoliation. Experiments were conducted in 1-, 2- and 3-year old commercial balsa  
37 plantations located in areas of humid and dry climates. Seasonal flight activity differed  
38 between study sites, with a significant influence of increasing relative humidity and  
39 mean temperature and decreasing precipitation during the dry season in the humid site,  
40 and of increasing precipitation, mean and minimum temperature during rainy season in  
41 the dry site. Prevalence of *C. ochromactonus* attacks significantly increased with age of  
42 plantation, especially in the humid site. Individual infestation intensity was significantly  
43 influenced by both climate and age of plantation and was particularly severe in the dry  
44 site and in 3-year old trees. Defoliation significantly increased with individual  
45 infestation intensity. Overall, our results show that *C. ochromactonus* is a serious pest  
46 throughout the distribution range of its host and highlights the urgent need of suitable  
47 management strategies of its populations.

48 **Key words:** ambrosia beetle, damage, phenology, neotropical, insect-plant interaction

49

50

51 **Introduction**

52 The balsa tree (*Ochroma pyramidale* Cav. ex Lam. Urb., 1920) is a fast-growing tree,  
53 with highly desirable commercial qualities to a wide range of industries given the  
54 wood's light density and high strength. In balsa plantations, trees harvested at an age of  
55 five to six years produce the highest wood (Francis 1991). However in Ecuador, in  
56 recent years, harvesting generally occurs earlier, at three and four years when trees, due  
57 to increased threats by pests and pathogens that devalue wood quality (González  
58 Osorio et al. 2010). In 2010, approximately 794,447 m<sup>3</sup> of balsa wood was globally  
59 traded (Ministerio del Ambiente 2011), and the 20,000 ha of planted balsa in Ecuador  
60 have been expanded for 4,300 hectares owing to government incentives to respond to a  
61 steady increase in market demands (MAG 2018). The balsa industry is an economic  
62 pillar for Ecuador, which is the world's leading producer and exporter of balsa wood  
63 accounting for 76% of the global demand in 2016, with the main importers including  
64 China (33% of the exports), and countries in North America (27%), South America  
65 (14%), Europe (10%), Central America (9%) (Jativa 2017). Ecuadorian balsa  
66 plantations were initially established in humid tropical areas at high elevations so to  
67 benefit from higher annual precipitation, consistent cloud cover, and lower temperatures  
68 (Midgley et al. 2010). Further expansions of plantations in other humid areas such as  
69 coastal plain and hills have been associated with the emergence of a serious native  
70 ambrosia beetle pest, *Coptoborus ochromactonus* Smith and Cognato (Coleoptera:  
71 Curculionidae: Scolytinae), which has consistently increased annual economic losses to  
72 the commercial balsa production (Stilwell et al. 2014).

73 The vast majority of ambrosia beetle species are regarded as opportunists species  
74 that live and breed in dying and dead plants (Wood 2007, Hulcr et al. 2015, Kirkendall  
75 et al. 2015, Smith and Hulcr 2015). In contrast, *C. ochromactonus* was found attacking

76 apparently healthy trees. Balsa in western Ecuadorian of displayed greater than 25%  
77 tree mortality and ~58% infestation rates, mostly on small diameter trees (Stilwell et al.  
78 2014). Castro (2016) reported the capture of *C. ochromactonus* mostly at ~8 meters and  
79 suggested a possible preference for branches. Castro (2016) and Stilwell et al. (2014)  
80 suggested that the ambrosia beetle vectored an associated *Fusarium* spp. fungi, that  
81 leads to tree mortality or to an irreversible depreciation of commercial wood value  
82 (namely “balsa wilt” or locally called “muerte regresiva). Beetle attack is characterized  
83 by the presence of circular entrance holes (~2.5 mm diameter) on the bark of branches  
84 and trunks, with a resinous substance and sawdust protruding from the entrance and a  
85 bluish-black mycelium covering galleries (Stilwell et al. 2014, Castro 2016).  
86 *Coptoborus ochromactonus* adult females initiate colonization by excavating a gallery  
87 perpendicular to the bark of branches and trunk between the phloem and the xylem,  
88 which can be further associated with leaf losses (defoliation hereafter) depending on  
89 attack intensity (Castro et al. 2017). Attack may begin in the upper branches, which  
90 makes them difficult to detect unless the tree is felled. Many species of ambrosia and  
91 bark beetles infest specific locations of a tree’s trunk and branches, possibly in response  
92 to the most favorable humidity levels for the growth of their symbiotic fungi (Lee et al.  
93 2011).

94         As a response to increasing pest damage in forest plantations including balsa and  
95 rubber trees originally in humid areas, have been extended 50 km towards drier areas of  
96 Ecuador where they were expected to be less exposed to pest and disease attacks despite  
97 possibly less favorable conditions for tree growth (Rivano et al. 2015). However, the  
98 effects of varying climatic conditions on interactions between balsa and *C.*  
99 *ochromactonus* have been poorly documented and little is known about both abiotic and  
100 biotic drivers of *C. ochromactonus* activity within plantations. In scolytines, flight

101 activity, infestation prevalence (frequency of infestation of trees) and infestation  
102 intensity (number of infestations on individual trees) may depend on climatic conditions  
103 and host health (Rudinsky 1962, Lee et al. 2011, Sittichaya et al. 2012). In the case of *C.*  
104 *ochromactonus* infestation frequency and intensity may be linked to tree age class and  
105 tree growing conditions (Stilwell et al. 2014, Castro 2016, Castro et al. 2017).

106 In this paper, we contribute towards understanding the effects of climate and age  
107 of plantation on the interaction of *C. ochromactonus* with balsa. We conducted a year-  
108 long survey of *C. ochromactonus* populations in humid and dry climate sites, each  
109 composed of 1-, 2- and 3-year old balsa plantations. In this context we assessed adult  
110 flight activities, prevalence of live tree infestations and tree mortality within plantations.  
111 We also assessed individual tree infestation intensity and its relationship with individual  
112 defoliation level within each climatic zone. We found that climate and plantation age  
113 variably affected the behavior of *C. ochromactonus*. These results provide baseline  
114 knowledge for the management of *C. ochromactonus* in balsa plantations.

115

## 116 **Materials and Methods**

### 117 **Study sites**

118 The research was conducted in commercial balsa plantations (4 x 3.5 m tree spacing)  
119 located in humid and dry sites, both with a rainy (January-May) and a dry (June-  
120 December) season. The humid study site was located in a rainforest climatic zone in el  
121 recinto El Vergel, Cantón Valencia, Los Ríos Province (00°13'50''S and 79°10'40''W,  
122 158 m.a.s.l.), and the dry study site was located in a tropical dry climatic zone in Canton  
123 El Empalme, El Guayas Province (01°02'46''S and 79°38'01''W, 63 m.a.s.l.). These  
124 site were approximately 50 km apart. Meteorological data (daily minimum, mean and

125 maximum temperatures; daily mean relative humidity; daily accumulate precipitation)  
126 for each site were obtained from the nearest station of the National Meteorology and  
127 Hydrology Institute (INAMHI) in a maximum radius of 25 km. Both study sites were of  
128 similar size (El Vergel: 98 ha, El Empalme: 100 ha) and were composed of similarly  
129 managed monospecific balsa plantations of 1-, 2- and 3-year old trees. All experiments  
130 were conducted in the center area of each plantation to control for border effects (i.e.  
131 influences of site surrounding areas) that could differ between sites. Based on these site  
132 characteristics and apart from soil properties that could not be assessed here, we  
133 considered that these two study sites were primarily differentiated by their climate  
134 conditions. Therefore, we used and tested site effects as a proxy of climate effects on  
135 the different variables, hypothesized to affect beetle behavior. Harvest of trees occurred  
136 during their third or fourth year in these commercial plantations.

#### 137 **Annual flight activity of *C. ochromactonus***

138 In each study site and each class of plantation age, three insect trapping plots of 500 m<sup>2</sup>  
139 per were provided with three ethanol-baited traps (i.e. 27 traps per study site), with a  
140 spacing of 50 meters and at a height of 14 m above ground. Previous trapping of *C.*  
141 *ochromactonus* supports the placement of traps above 8 m (Castro, 2016). Traps were  
142 baited with 250 mL of a mixture of 90% ethanol and 50 mL of hand sanitizer. They  
143 were checked every two weeks for one year (December 2016 - November 2017) and the  
144 collected *C. ochromactonus* specimens were preserved in 50 ml vial with 70° ethanol  
145 and returned to the laboratory. Annual flight activities were assessed by the temporal  
146 variations in *C. ochromactonus* abundance in the trapping network.

#### 147 **Prevalence of *C. ochromactonus* infestation and tree mortality**

148 In each study site, nine circular experimental plots of 500 m<sup>2</sup> each were established in  
149 each age class of balsa plantations (i.e. a total of 27 plots per study site). At the end of  
150 the flight activity of *C. ochromactonus* (humid site: December 2016, dry site: April  
151 2017), all trees of each plot were visually examined for evidence of insect infestation  
152 and mortality, e.g. using the presence of sawdust and sap exudates near *C.*  
153 *ochromactonus* holes on trunk or on branches as indicators of insect penetration.  
154 Prevalence of infestation was estimated as the proportion of infested live and the dead  
155 trees among the total number of trees in each plot.

#### 156 **Defoliation and individual infestation intensity by *C. ochromactonus***

157 In order to assess an association of defoliation with scolytine attack intensity, fifteen  
158 similar-sized balsa trees showing evidence of *C. ochromactonus* infestations were  
159 selected in one plot of 1-, 2- and 3-year old balsa plantations in each site (i.e. a total of  
160 45 selected trees per site). Individual percentage of defoliation was estimated using the  
161 tree displaying the lowest percentage of defoliation as the healthiest tree in the plot and  
162 thus as the defoliation reference for all other trees. Each selected tree was felled  
163 following defoliation estimation. Branches were separated from trunks and individual  
164 infestation intensity of *C. ochromactonus* was then assessed as an exhaustive count of  
165 insect penetration holes on both trunk and branches of each tree. Bark was first removed  
166 along the trunk to facilitate counting of the beetle entrance holes, which were covered  
167 with bluish-black mycelium.

#### 168 **Statistics**

##### 169 *Climatic characterization of study sites*

170 In order to test for significant differences in climate between the humid and the dry  
171 study sites during the study period, maximum (T<sub>max</sub>), mean (T<sub>mean</sub>) and minimum

172 (Tmin) temperatures, relative humidity (RH) and precipitation (PP) data were averaged  
173 per month and analyzed as response variables in a ANOVA with study site as an  
174 explanatory variable and time as a random factor using the R software v. 3.1.1 (R  
175 Development Core Team 2014).

176 *Effects of climate and age of plantation on C. ochromactonus abundance in traps and*  
177 *on prevalence of infestations and mortality in plantations*

178 The fixed effects of study site, age plantation, and their interaction on log-transformed  
179 total abundance of *C. ochromactonus* in traps during the 12 months of survey were  
180 tested using a Generalized Linear Mixed Model (GLMM with a Poisson family) with  
181 the R lme package. Plots were used as a random factor in the model. Only trap data  
182 from 2- and 3- year old plantations were analyzed in the GLMM as no insects were  
183 captured throughout the study period in 1 –year old plantations in both humid and dry  
184 sites. The influence of climatic variables on the monthly abundances of *C.*  
185 *ochromactonus* in pooled traps of 2- and 3-year old plantations was tested with the non-  
186 parametric Spearman’s correlation coefficient ( $\alpha= 0.05$ ) in each study site separately.

187 The fixed effects of site, age of plantation, and their interaction on prevalence of insect  
188 infestation of live trees and of tree mortality were tested using a GLMM with a binomial  
189 family with the R lme package, and plots were used as a random factor in the model.

190 *Effects of climatic and age of plantation on individual infestation intensity of trees by C.*  
191 *ochromactonus*

192 The fixed effects of site and age of plantation on log-transformed individual infestation  
193 intensity we tested using a Generalized Linear Model (GLM with quasi-Poisson family)  
194 in the R software. The interaction between these factors was not tested because plots  
195 were not replicated with sites in our estimation of prevalence of infestation.

196 *Effects of age of plantation and individual infestation intensity by C. ochromactonus on*  
197 *defoliation within humid and dry study sites*

198 The effects of age of plantation, infestation intensity and their interaction on percentage  
199 of individual defoliation were tested within each study site using a GLM in the R  
200 software with quasi-Poisson family as the response variable was regarded as a count  
201 data according to our experimental design.

## 202 **Results**

203 *Climate variation between study sites*

204 In the humid study site, the mean annual temperature was ca.  $25.59^{\circ}\text{C} \pm 0.30$ , with the  
205 highest value in December 2016 and October 2017 ( $35^{\circ}\text{C}$ ) and the lowest value in  
206 November 2017 ( $17.8^{\circ}\text{C}$ ). Annual relative humidity was ca.  $88.81\% \pm 0.7$ , with June  
207 2017 and January 2017 the wettest (93%) and driest (84.3%) months, respectively. The  
208 annual cumulative precipitation was ca. 2,744.2 mm, with maximum and minimum  
209 rainfalls in March 2017 (912.6 mm) and July 2017 (1.6 mm), respectively. In the dry  
210 study site, the mean annual temperature was ca.  $25.47^{\circ}\text{C} \pm 0.29$ , with the highest and  
211 lowest values in October 2017 ( $35^{\circ}\text{C}$ ) and November 2017 ( $18.5^{\circ}\text{C}$ ) respectively.  
212 Annual relative humidity was ca.  $83.62\% \pm 1.18$ , with June 2017 and December 2016  
213 the wettest (87.36%) and the driest (74.6%) months, respectively. The annual  
214 cumulative precipitation was ca. 1,058.8 mm, with maximum rainfalls in February  
215 (228.7 mm), in March (221.1 mm) and April 2017 (245.1 mm) and minimum rainfall in  
216 July 2017 (0.7 mm) (Fig. 1). Climate in the humid site was significantly different from  
217 dry site for all measured climatic variables except for mean temperatures (Table 1). The  
218 mean annual maximum temperature and relative humidity, and total cumulative



219 precipitation were higher in the humid than in the dry study site, while the mean annual  
220 minimum temperature was lower in site humid than dry study site (Fig. 1).

221 *Annual flight activity of C. ochromactonus*

222 A total of 943 individuals of *C. ochromactonus* were captured throughout the study  
223 period, i.e. 261 individuals (27.67% of the total catch) in the humid study site and 682  
224 individuals (72.32%) in the dry study site. Flight activity of adults occurred at different  
225 seasons depending on study sites, i.e. during the dry season (April to November 2017)  
226 in the humid site and during the rainy season (February to May 2017) in the dry site  
227 (Fig. 2). There was apparent temporal variation in peak flight activity between 2-  
228 (October 2017) and 3-year old (June-August 2017) plantations in the humid study site  
229 (Fig. 2). The October peak resulted from a sharp increase in abundance at one single  
230 collection date, there was no evidence of a phenological differentiation between insects  
231 captured in 2- and 3- year old plantation in this study site. In the dry study site, peak  
232 flight activities were broadly similar in both 2- and 3-year old plantations (March-April  
233 2017, Fig. 2). Specimens of *C. ochromactonus* were not captured in traps of 1-year old  
234 of plantations in both study sites.

235 *Effects of climate and age of plantation on total C. ochromactonus abundance in traps*

236 There were no significant effects of study site, age of plantation and their interaction on  
237 the total abundance of *C. ochromactonus* in traps throughout the study period (Table 2).  
238 Within study sites, patterns of abundance variation among months were significantly  
239 associated with climatic variables, suggesting a climate-driven seasonality of flight  
240 activity of *C. ochromactonus* in these plantations. In the humid site, monthly abundance  
241 trap catch was significantly and positively correlated with relative humidity and mean  
242 temperature, and significantly and negatively associated with precipitation, but not with

243 maximum and minimum temperatures (Table 3). In the dry study site, monthly  
244 abundance was significantly and positively correlated with precipitation, mean and  
245 minimum temperature, but association was not found with both relative humidity and  
246 maximum temperature (Table 3).

247 *Effects of climate and age of plantation on prevalence of C. ochromactonus infestation*  
248 *of live trees and of tree mortality*

249 We surveyed a total of 735 and of 874 individual trees to estimate the prevalence of *C.*  
250 *ochromactonus* infestations within the humid and the dry study sites, respectively.  
251 Overall, 37.24% and 16.94% were live and infested, while 10.29% and 4.80% were  
252 found dead due to *C. ochromactonus* attacks in the humid and dry study sites,  
253 respectively. There was no significant effect of study site on prevalence of live tree  
254 infestation but older live trees were largely more infested than younger trees in the  
255 humid site, which resulted in a significant interaction between both site and age of  
256 plantation factors (Table 2; Fig. 3). Neither study site nor age of plantation had a  
257 significant influence on the prevalence of tree mortality (Table 2).

258 *Effects of climate and age of plantation on individual infestation intensity by C.*  
259 *ochromactonus*

260 There was a significant effect of study site on individual infestation intensity (Table 2),  
261 with a higher mean number of beetle entrance holes per tree in the dry (1,590.6 holes)  
262 than in the humid (417.31 holes) study site (Fig. 4). Within study sites, there was a  
263 significant effect of age of plantation on individual infestation intensity (Table 2) with  
264 older trees being more intensively infested than 1-year old trees (Fig. 4).

265 *Effect of age of plantation and individual infestation intensity on defoliation*

266 There was a significant effect of individual infestation intensity on the percentage of  
267 defoliation in both humid and dry study sites (Table 4), where defoliation increased  
268 with increasing entrance holes in the trees. The effects of age of plantation and its  
269 interaction with infestation intensity on defoliation were not significant (Table 4).

270

## 271 **Discussion**

272 This study provides basic knowledge on spatio-temporal variation of the occurrence  
273 and impact of an important insect pest of a wood product industry in Ecuador. One  
274 central finding of this study is that both climate and age of plantation influenced both  
275 flight activity and infestation patterns of *C. ochromactonus* in balsa commercial  
276 plantations. Flight activities of *C. ochromactonus* adults differed between both humid  
277 and dry study sites as peaks of flight activity occurred several months later in the humid  
278 site than in the dry site. Adult beetles appeared active in a shorter time window (ca. 5  
279 months) in the dry site and they were captured almost throughout the year (ca. 10  
280 months) in the humid site. The absence of beetles in traps within 1- year old plantations  
281 in both study sites suggested that this age class was not attractive to *C. ochromactonus*  
282 females, but this was inconsistent with the infestation of trees at the end of the flight  
283 activity. One explanation is that trapping occurred during the first year of plantation,  
284 and perhaps the trees were not totally lignified until the end of the year and were  
285 probably not attractive to *C. ochromactonus*. These trapping results supported previous  
286 evidence of spatial variation in seasonal activity of this species (Castro 2016) and in  
287 other scolytines (Saruhan and Akyol 2012). Among the measured climatic variables,  
288 relative humidity and precipitation were influential on female flight activity, with trap  
289 abundance positively responding to higher humidity and less precipitation during the  
290 dry season in the humid site and to more precipitation during the rainy season in the dry

291 site. Flechtmann et al. (2001) documented increased activity of ambrosia beetles with  
292 increasing intensity of precipitation in a sub-tropical forest plantation in Brazil, and  
293 such phenological adjustment of ambrosia beetles to seasonal climatic changes is likely  
294 linked to favorable humidity levels for the growth of their symbiotic fungi (Lee et al.  
295 2011). In humid climate areas, the yearly sustainability of favorable environmental  
296 conditions for fungi development may be a driver of almost continuous flight activity in  
297 the associated scolytines (Stilwell et al. 2014, Castro et al. 2019). Some scolytines are  
298 however not substantially affected by dry seasons as associated water stresses result in  
299 lower host defense abilities (Hulcr et al. 2008, Durand-Gillmann et al. 2014), and as this  
300 period often associated with more broken branches and fallen trees due regular storms  
301 during the preceding rainy season in tropical areas (Sittichaya et al. 2012).

302       Prevalence of *C. ochromactonus* infestation and associated tree mortality were  
303 overall similar in both humid and dry study sites. This suggested that balsa plantations  
304 face similar risks concerning this pest no matter annual climate conditions and despite a  
305 shorter flight period of these beetles in a drier climate. Trees older than 1 year were  
306 more frequently infested within plantations, with a strong increase in prevalence on 3-  
307 year old trees (90% of damage trees) compared to 2-year old ones within the humid  
308 study site, and also compared to 3-year old trees in the dry site. Preference of bark and  
309 ambrosia beetles for older trees has been widely documented across diverse forest  
310 ecosystems (Shore et al. 2000, Yamasaki and Sakimoto 2009, Lee et al. 2011, Zeiri et  
311 al. 2018). One possible explanation is a fitness benefit of targeting bigger sized trees  
312 that provide host tissues of higher nutritious content. These include higher moisture and  
313 thicker phloem that favor brood survival and contribute to the increase of population  
314 size (Kolb et al. 2006, Choi et al. 2008, Yamakasi and Futai 2008). Bigger and older  
315 trees may also provide more sustainably favorable micro-climate conditions to insects

316 due to larger canopy compared with younger trees. In addition, older trees are more  
317 vulnerable to attack and be more prone to disease and beetle attack. It is similar in  
318 *Quercus crispula* trees resistance to *Platypus quercivorus* attack decreases in older trees  
319 (Yamasaki and Futai 2008). On balsa, *C. ochromactonus* may preferentially infest both  
320 upper trunk and main branches where thin bark, wood density and larger amounts of  
321 dead branches facilitate gallery excavation by adults and brood development (Castro et  
322 al. 20017). Another possible explanation lies in the amount of non-managed dead wood  
323 that accumulates within balsa plantations of increasing age until harvest. This wood  
324 substantially increases available resources for insects at the plantation scale. Deadwood  
325 volumes and management history are key influential factors of both behavior and local  
326 dynamics of scolytines (Lassauce et al. 2012, Fettig and Hilszczański 2015, Ulyshen  
327 and Sheehan 2017).

328         There is a contrasting pattern of *C. ochromactonus* damage to balsa between the  
329 humid and the dry study sites related to individual tree infestation intensity, despite a  
330 common trend with infestation prevalence; older trees were more intensively infested  
331 than younger ones in both sites. Higher individual damage by the insects in the dry site  
332 might result from an increase in balsa vulnerability to biotic stressors following the dry  
333 season and under substantially lower rainfall amount during the wet season. Soil water  
334 deficit during dry seasons generates drought-stress conditions that alter tree  
335 photosynthesis, transpiration, respiration and finally growth, which generally make trees  
336 more vulnerable to infestation of bark and ambrosia beetles (Krams et al. 2012, Gaylord  
337 et al. 2013, Netherer et al. 2015). Tree responses to environmental stress also include  
338 synthesis and emission of secondary compounds (monoterpenes), ethanol (stress  
339 indicator) or acetaldehyde (microbial infection or decay indicator) that act as chemical  
340 cues triggering and directing insects' flight and landing on their host (Raffa et al. 2015).

341 Dos Santos et al. (2015) documented that water deficit for balsa trees results in  
342 important changes in physiological and metabolic processes that affect transpiration,  
343 starch concentration and total soluble carbohydrates, and we posit that these changes  
344 may be associated with the emission of other chemical elicitors of *C. ochromactonus*  
345 attacks and lower tree resistance. Overall, our records emphasized the potential for  
346 extremely high levels of individual tree infestation by *C. ochromactonus* preceding  
347 harvest no matter the climatic environment of the plantations (ca. 1,000 – 6,000 insect  
348 galleries per 3-year old tree depending on sites). Although we suggested that *C.*  
349 *ochromactonus* attacks occurred preferentially on older trees, we could not quantify the  
350 yearly increase in attacks on each individual as exhaustive counting of insect entrance  
351 holes required a destructive approach. Although further work is needed to clarify how  
352 fast trees may die from initial attacks, field monitoring indicated that repeated and  
353 massive attack intensities can lead to total defoliation and tree death in a month  
354 (Martinez, personal observation). It is thus likely that higher individual infestation  
355 intensity on 3-year old live trees resulted from an accumulation of yearly infestations  
356 over the period in the favor of continuous tree growth until harvest.

357         A significant association of individual infestation intensity with individual  
358 defoliation level within both the humid and dry study sites demonstrated the impact of  
359 *C. ochromactonus* on tree heath. An increase in *C. ochromactonus* successful attacks  
360 (i.e. a perforation hole with a bluish-black mycelium) on both trunk and branches led to  
361 an increase in defoliation percentage, independent of tree age. Stilwell et al. (2014)  
362 suggested that balsa foliage of the upper branches begin to wilt until branches die as the  
363 number of successful *C. ochromactonus* infestations increases. Crown dieback and  
364 subsequent tree mortality have been reported on Mongolian oaks following increasing  
365 individual infestations by the ambrosia beetle *Platypus koryoensis* in Korea (Lee et al.

366 2011). In Japan, the density of *P. quercivorus* galleries that succeeded in producing  
367 offspring was positively correlated to both the degree of discoloration of oak sapwood  
368 by its ambrosial fungus *Raffaelea quercivora* and oak mortality rates (Kinuura and  
369 Kobayashi 2006). In the balsa plantations of this study, we detected massive individual  
370 infestations by *C. ochromactonus* associated with fungus-derived lesions in the wood,  
371 which suggest important risk of mortality and wood-quality depreciation resulting  
372 directly from disturbance of water translocation in the sapwood by the ambrosial fungus  
373 (Kinuura and Kobayashi 2006, Stilwell et al. 2014, Castro 2019), or indirectly from  
374 lower photosynthesis activity following defoliation (Galiano et al. 2011). We were not  
375 able to establish a threshold of *C. ochromactonus* infestation for tree death because  
376 infestation count on dead trees was likely biased by ongoing attacks after recent death  
377 and as trees were harvested during their fourth year.

378 To conclude, although this study was carried out in only two, but large,  
379 commercial balsa plantations, it overall suggested that *C. ochromactonus* remains a  
380 serious pest for balsa production in Ecuador no matter the climatic areas. Prevalence  
381 and intensity of beetle infestations were not limited by transplantation of balsa in drier  
382 areas, where environmental conditions may be more for their host's growth and defense  
383 capacities compared to more humid areas. This is similar to *Ips typographus*-spruce  
384 interactions in European forests where changes in climate may affect insect  
385 performance through repeated drought events that trigger tree vulnerability to insect  
386 attacks (Wermelinger 2004). Timber loss to *I. typographus* was also greater on the  
387 warmer side of spruce's natural climatic range (Marini et al. 2012), emphasizing that  
388 forests planted in warmer sites than historical species distribution likely face increasing  
389 insect-related risks, especially in the context of climate change. Further work is required  
390 on multiannual infestations dynamics of *C. ochromactonus* within a larger sample of

391 commercial balsa plantation of Ecuador, in particular to assess the distribution and the  
392 magnitude of damage of this pest throughout the country. Given the short turnover of  
393 balsa production (within four years), we suggested that the implementation of  
394 prophylactic measures such as systematic removal of all types of dead wood in all  
395 plantation age classes may be a critical first step in bringing local populations of *C.*  
396 *ochromactonus* to lower levels and possibility mitigating their damages to plantations.  
397 Specific research on the identification and the pathogenicity of the fungal symbionts  
398 associated with *C. ochromactonus* may shed new light on factors of tree mortality and  
399 on the resulting ecological and economic impacts of this pest in commercial balsa  
400 plantations. Finally, although *C. ochromactonus* is typically Neotropical and described  
401 to date only in Ecuadorian balsa plantations, we point out the need for early detection  
402 and monitoring programs in neighboring countries or those benefitting from Ecuadorian  
403 balsa wood imported commodities to anticipate cost-effective management strategies  
404 against this pest.

405

406

#### Acknowledgments

407 We are grateful to the staff of the Research and Development department of Plantabal  
408 S.A. (3A Composites) of Ecuador for their contribution in supported in the field and to  
409 access to balsa plantations. Jonathan Chévez, Luis Cedeño, Andres Zambrano and  
410 Mauricio Villon for their contribution to field measurements. INRA-URFM contribute  
411 to the data analysis. This research was supported by Plantabal S.A. and the Committee  
412 for Research and Exploration of the National Geographic Society (9975-16 to A.I.C.).  
413 This work was partial fulfillment of requirements for PhD degree at Montpellier  
414 University, France.



415

416 **References Cited**

- 417 Castro, J. 2016. Aspectos Biológicos y ecológicos de *Coptoborus ochromactonus* Smith  
418 y Cognato (Coleoptera: Scolytinae), y la relación de sus hongos asociados en la  
419 muerte regresiva de *Ochroma pyramidale* (Cav. Ex. Lam.) Urb. 149 p. Doctoral  
420 thesis, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
- 421 Castro, J., D. Lanfranco, M. Martínez, M. Guachambala, C. Belezaca and A. Obrebska.  
422 2017. Ataque de *Coptoborus ochromactonus* (Coleoptera: Curculionidae:  
423 Scolytinae) en plantaciones de *Ochroma pyramidale* (Cav. Ex Lam.). Ciencia  
424 Tecnol. 10: 19–23.
- 425 Castro, J., S. M. Smith, A. I. Cognato, D. Lanfranco, M. Martínez and M.  
426 Guachambala. 2019. Life cycle and development of *Coptoborus ochromactonus*  
427 Smith and Cognato (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), a pest of balsa. J.  
428 Econ. Entomol. 112: 729-735.
- 429 Choi, W. I., J. S. Lee, K. S. Choi, J. K. Kim and S. C. Shin. 2008. Tree trunk level  
430 distribution of entry hole by *Platypus koryoensis* (Coleoptera: Platypodidae) and  
431 its implication to tree damage. Korean J. Appl. Entomol. 47: 127–131.
- 432 Dos Santos, G. A., T. de Oliveira, E. da Silva Lima, B. Maltarolo, A. Luiz da Silva, D.  
433 de Franca, R. da Silva, V. de Jesus Matos, C. de Oliveira and R. da Costa. 2015.  
434 Eco-physiological behavior and carbon metabolism in young plants of balsa wood  
435 (*Ochroma pyramidale*) under three different water regimes. AJCS. 9: 1106–1112.
- 436 Durand-Gillmann, M., M. Cailleret, T. Boivin, L.M. Nageleisen and H. Davi. 2014.  
437 Individual vulnerability factors of Silver fir (*Abies alba* Mill.) to parasitism by two

- 438 contrasting biotic agents: mistletoe (*Viscum album* L. ssp. *abietis*) and bark beetles  
439 (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) during a decline process. *Ann. For. Sci.*  
440 71: 659-673.
- 441 Fettig, C. J. and J. Hilszczański. 2015. Management strategies for bark beetles in conifer  
442 forests. pp. 555-584. *In* F. E. Vega and R. W. Hofstetter (eds.), *Bark beetles:*  
443 *biology and ecology of native and invasive species.* Elsevier, San Diego, CA.  
444 USA.
- 445 Flechtmann, C. A. H., A. L. T. Ottati and C. W. Berisford. 2001. Ambrosia and bark  
446 beetles (Scolytidae: Coleoptera) in pine and eucalypt stands in southern Brazil.  
447 *For. Ecol. Manage.* 142: 183–191.
- 448 Francis, J. K. 1991. *Ochroma pyramidale* Cav. Balsa Bombacaceae. Monograph SO-  
449 ITF-SM-41, p.6. Institute of Tropical Forestry. United States Department of  
450 Agriculture (U.S. Dep. Agric.) Forest Service, Washington, DC.
- 451 Galiano, L., J. Martínez-Vilalta and F. Lloret. 2011. Carbon reserves and canopy  
452 defoliation determine the recovery of Scots pine 4 yr after a drought episode. *New*  
453 *Phytol.* 190: 750–759.
- 454 Gaylord, M. L., T. E. Kolb, W. T. Pockman, J. A. Plaut, E. A. Yopez, A.K. Macalady,  
455 R.E. Pangle and N.G. McDowell. 2013. Drought predisposes piñon–juniper  
456 woodlands to insect attacks and mortality. *New Phytol.* 198:567–578.
- 457 González Osorio, B., X. Cervante Molina, E. Torres Navarrete, C. Sánchez Fonseca and  
458 L. Simba. 2010. Caracterización del cultivo de balsa (*Ochroma pyramidale*) en la  
459 provincia de Los Ríos. *Ciencia y Tecnol.* 3: 7-11.
- 460 Hulcr, J., T. H. Atkinson, A. I. Cognato, B. H. Jordal and D. D. McKenna. 2015.

- 461 Morphology, taxonomy, and phylogenetics of bark beetles, pp. 41-84. *In* F. E.  
462 Vega and R. W. Hofstetter (eds.), *Bark beetles: biology and ecology of native and*  
463 *invasive species*. Elsevier, San Diego, CA. USA.
- 464 Hulcr, J., R. A. Beaver, W. Puranasakul, S. A. Dole and S. Sontichai. 2008. A  
465 comparison of bark and ambrosia beetle communities in two forest types in  
466 northern Thailand (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae and Platypodinae).  
467 *Environ. Entomol.* 37:1461–1470.
- 468 Jativa, E. 2017. Análisis de la cadena de valor de la madera de balsa: El caso de la  
469 provincia de Esmeraldas, Ecuador, pp. 1-22. In XXII Congreso internacional de  
470 contaduría, administración e informática, 27-29 Septiembre 2017, Quito, Ecuador.  
471 <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/24706/2/articulo4.pdf>
- 472 Kinuura, H. and M. Kobayashi. 2006. Death of *Quercus crispula* by inoculation with  
473 adult *Platypus quercivorus* (Coleoptera: Platypodidae). *Appl. Entomol. Zool.*  
474 41:123–128.
- 475 Kirkendall, L. R., P. H. W. Biedermann and B. H. Jordal. 2015. Evolution and diversity  
476 of bark and ambrosia beetles. pp. 85-156. *In* F. E. Vega and R. W. Hofstetter (eds.),  
477 *Bark beetles: biology and ecology of native and invasive species*. Elsevier, San  
478 Diego, CA. USA.
- 479 Kolb, T. E., N. Guerard, R. W. Hofstetter and M. R. Wagner. 2006. Attack preference of  
480 *Ips pini* on *Pinus ponderosa* in northern Arizona: tree size and bole position. *Agric.*  
481 *For. Entomol.* 8: 295–303.
- 482 Krams, I., J. Daukste, I. Kivleniece, G. Brumelis, R. Cibulskis, M. Āboliņš-Ābols, M.  
483 Rantala, P. Mierauskas and T. Krama. 2012. Drought-induced positive feedback in  
484 xylophagous insects: Easier invasion of Scots pine leading to greater investment in

- 485 immunity of emerging individuals. *For. Ecol. Manage.* 270:147-152.
- 486 Lassaue, A., L. Larrieu, Y. Paillet and C. Bouget. 2012. The effects of forest age on  
487 saproxylic beetle biodiversity: implications of shortened and extended rotation  
488 lengths in a French oak high forest. *Insect. Conserv. Divers.* 6: 396-410.
- 489 Lee, J., R. Haack and W. Choi. 2011. Attack pattern of *Platypus koryoensis*  
490 (Coleoptera: Curculionidae: Platypodinae) in relation to crown dieback of  
491 Mongolian oak in Korea. *Environ. Entomol.* 40: 1363–1369.
- 492 MAG. 2018. Mapa de plantaciones forestales incentivadas 2013 - 2017.  
493 <http://geoportal.agricultura.gob.ec>
- 494 Marini, L., M. P. Ayres, A. Battisti and M. Faccoli. 2012. Climate affects severity and  
495 altitudinal distribution of outbreaks in an eruptive bark beetle. *Clim. Change.*  
496 115:327–341.
- 497 Midgley, S., M. Blyth, N. Howcroft, D. Midgley and A. Brown. 2010. Balsa: biology,  
498 production and economics in Papua New Guinea. pp. 98. ACIAR Technical  
499 Reports No. 73. Australian Centre for International Agricultural Research,  
500 Canberra, Australia.
- 501 Ministerio del Ambiente. 2011. Aprovechamiento de Recursos Forestales en el Ecuador  
502 (Periodo 2010) y procesos de infracciones y decomisos.  
503 [https://doi.org/http://www.itto.int/files/user/pdf/PROJECT\\_REPORTS/PD%20406\\_06\\_%20Forest%20Harvesting%20in%20Ecuador%202010%20offenses%20and%20forfeiture.pdf](https://doi.org/http://www.itto.int/files/user/pdf/PROJECT_REPORTS/PD%20406_06_%20Forest%20Harvesting%20in%20Ecuador%202010%20offenses%20and%20forfeiture.pdf)  
504  
505
- 506 Netherer, S., B. Matthews, K. Katzensteiner, E. Blackwell, P. Henschke, P. Hietz, J.  
507 Pennerstorfer, S. Rosner, S. Kikuta, H. Schume and A. Schopf. 2015. Do water-

- 508 limiting conditions predispose Norway spruce to bark beetle attack ? *New Phytol.*  
509 205:1128–1141.
- 510 R Development Core Team. 2014. R: A language and environment for statistical  
511 computing. R foundation for statistical computing, Vienna, Austria. URL  
512 <http://www.r-project.org/>.
- 513 Raffa, K.F., J.C. Grégoire and B.S. Lindgren. 2015. Natural history and ecology of bark  
514 beetles. pp. 1-140. *In* F.E. Vega and R. W. Hofstetter (eds.), *Bark beetles: biology*  
515 *and ecology of native and invasive species*. Elsevier, San Diego, CA. USA.
- 516 Rivano, F., L. Maldonado, B. Simba, R. Lucero, E. Gohet, V. Cevallos and T. Yugcha.  
517 2015. Suitable rubber growing in Ecuador: An approach to South American leaf  
518 blight. *Ind. Crop. Prod.* 66: 262–270.
- 519 Rudinsky, J. A. 1962. Ecology of Scolytidae. *Annu. Rev. Entomol.* 7: 327-348.
- 520 Saruhan, I. and H. Akyol. 2012. Monitoring population density and fluctuations of  
521 *Anisandrus dispar* and *Xyleborinus saxesenii* (Coleoptera: Scolytinae,  
522 Curculionidae) in hazelnut orchards. *Afr. J. Bio.* 11: 4202-4207.
- 523 Shore, T. L., L. Safranyik and J. P. Lemieux 2000. Susceptibility of lodgepole pine  
524 stands to the mountain pine beetle: testing of a rating system. *Can. J. For. Res.* 30:  
525 44–49.
- 526 Sittichaya, W., S. Permkam and A. I. Cognato. 2012. Species composition and flight  
527 pattern of Xyleborini ambrosia beetles (Col.: Curculionidae: Scolytinae) from  
528 agricultural areas in southern Thailand. *Environ. Entomol.* 41: 776–784.
- 529 Smith, S. M. and J. Hulcr. 2015. Scolytus and other economically important bark and  
530 ambrosia beetles. pp. 495-531. *In* F.E. Vega and R. W. Hofstetter (eds.), *Bark*

- 531 beetles: biology and ecology of native and invasive species. Elsevier, San Diego,  
532 CA, USA.
- 533 Stilwell, A. R., S. M. Smith, A. I. Cognato, M. Martinez and R. W. Flowers. 2014.  
534 *Coptoborus ochromactonus*, n. sp. (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), an  
535 emerging pest of cultivated balsa (Malvales: Malvaceae) in Ecuador. J. Econ.  
536 Entomol. 107: 675–683.
- 537 Ulyshen, M. D. and T.N. Sheehan. 2017. Trap height considerations for detecting two  
538 economically important forest beetle guilds in southeastern US forests. J. Pest Sci  
539 <https://doi.org/10.1007/s10340-017-0883-7>.
- 540 Wermelinger, B. 2004. Ecology and management of the spruce bark beetle *Ips*  
541 *typographus* - a review of recent research. For. Ecol. Manage. 202: 67–82.
- 542 Wood, S. L. 2007. The bark and ambrosia beetles of South America (Coleoptera:  
543 Scolytidae). Monte L. Bean Life Science Museum. Brigham Young University,  
544 Provo, Utah. 900p
- 545 Yamasaki, M. and K. Futai. 2008. Host selection by *Platypus quercivorus* (Murayama)  
546 (Coleoptera: Platypodidae) before and after flying to trees. Appl. Entomol. Zool.  
547 43: 249–257.
- 548 Yamasaki, M. and M. Sakimoto. 2009. Predicting oak tree mortality caused by the  
549 ambrosia beetle *Platypus quercivorus* in a cool-temperate forest. J. Appl. Entomol.  
550 133: 673–681.
- 551 Zeiri, A., M. Z. Ahmed, A. G. S. Cuthbertson and M. Braham. 2018. Monitoring the  
552 attack incidences and damage caused by the Almond Bark Beetle, *Scolytus*  
553 *amygdali*, in Almond Orchards. Insects. 1–9.

554

555 **Figure legends**

556

557 **Fig. 1.** Monthly climatic variables for humid (A) and dry (B) commercial balsa  
558 plantations of Ecuador, from December 2016 to November 2017.

559

560 **Fig. 2.** Seasonal abundance of *C. ochromactonus* trapped in 1-, 2-, and 3-year old humid  
561 (A) and dry (B) commercial balsa plantations in Ecuador, from December 2016 to  
562 November 2017.

563

564 **Fig. 3.** Prevalence of *C. ochromactonus* infestation on live trees (A) and of tree  
565 mortality (B) in 1-, 2-, and 3-year old humid and dry balsa plantations of Ecuador. Bars  
566 represent mean proportions ( $\pm$  SE) of attacked trees in the plantations. The presence of  
567 different letters indicate statistical significance using post-hoc comparison on the age  
568 factor in a GLMM testing the effects of site, age of plantation and their interactions on  
569 prevalence ( $P < 0.05$ ).

570

571 **Fig. 4.** Individual infestation intensity by *C. ochromactonus* (mean  $\pm$  SE) in 1-, 2-, and  
572 3-year old humid and dry balsa plantations of Ecuador. Bars represent mean number of  
573 successful attacks ( $\pm$  SE) per tree. Different letters indicate statistical significance using  
574 post-hot comparisons on the age factor in a GLM testing the effects of site and age of  
575 plantation on infestation intensity ( $P < 0.05$ ).

576

577 **Table 1.** Monthly climate variables in humid and dry balsa plantations of Ecuador.

	Humid site (mean $\pm$ SE)	Dry site (mean $\pm$ SE)	F	d.f.	P
Relative humidity (%)	88.81 $\pm$ 0.7	83.62 $\pm$ 1.18	23.926	11	0.0005
Maximum temperature ( $^{\circ}$ C)	32.82 $\pm$ 0.47	29.23 $\pm$ 0.81	17.774	11	0.0014
Mean temperature ( $^{\circ}$ C)	25.59 $\pm$ 0.3	25.47 $\pm$ 0.29	0.563	11	0.469
Minimum temperature ( $^{\circ}$ C)	20.03 $\pm$ 3.08	22.75 $\pm$ 0.65	43.771	11	<.0001
Precipitation (mm)	228.68 $\pm$ 87.01	88.23 $\pm$ 29.54	5.081	11	0.0456

578

579

580 **Table 2.** GLMM-based analysis of variance evaluating the effects of site, age and their  
 581 interactions on total abundance, infestation intensity and on prevalence of live tree  
 582 infestation and mortality caused by *C. ochromactonus* in balsa plantations of Ecuador.

	Total abundance			Infestation intensity			Prevalence					
							Live tree infestation			Tree mortality		
	d.f.	$\chi^2$	P	d.f.	$\chi^2$	P	d.f.	$\chi^2$	P	d.f.	$\chi^2$	P
Site	1	8.257	0.05	1	3.242	0.0213*	1	0.038	0.845	1	0.278	0.597
Age	1	0.497	0.480	1	23.66	<0.0001*	1	14.79	0.0001*	1	1.714	0.19
Site: Age	1	0.393	0.530	-	-	-	1	4.647	0.031*	1	1.973	0.16

583 \* Statistical significance at the 5% threshold.

584

585 **Table 3.** Spearman' correlation coefficients between monthly measures of climate  
 586 variables and abundance of *C. ochromactonus* in humid ad dry balsa plantations of  
 587 Ecuador.

	Humid plantation		Dry plantation	
	$r_s$	P	$r_s$	P
Relative humidity (%)	0.86	0.0003	0.28	0.3805
Maximum temperature ( $^{\circ}$ C)	-0.45	0.1403	-0.55	0.0633
Mean temperature ( $^{\circ}$ C)	0.68	0.0151	0.83	0.0007
Minimum temperature ( $^{\circ}$ C)	-0.36	0.245	0.79	0.0024
Precipitation (mm)	-0.63	0.029	0.76	0.0042

588



589 **Table 4.** Analysis of variance evaluating the effect of age, individual infestation  
 590 intensity their interactions on percentage of defoliation (using a GLM with quasi-  
 591 Poisson family) in humid and dry balsa plantations of Ecuador.

	Humid plantation			Dry plantation		
	d.f.	$\chi^2$	<i>P</i>	d.f.	$\chi^2$	<i>P</i>
Age	2	5.1500	0.0761	2	4.7172	0.09455
Infestation intensity	1	5.5286	0.0187*	1	16.966	0.00003*
Age: Infestation intensity	2	3.2645	0.1954	2	4.9667	0.0834

592

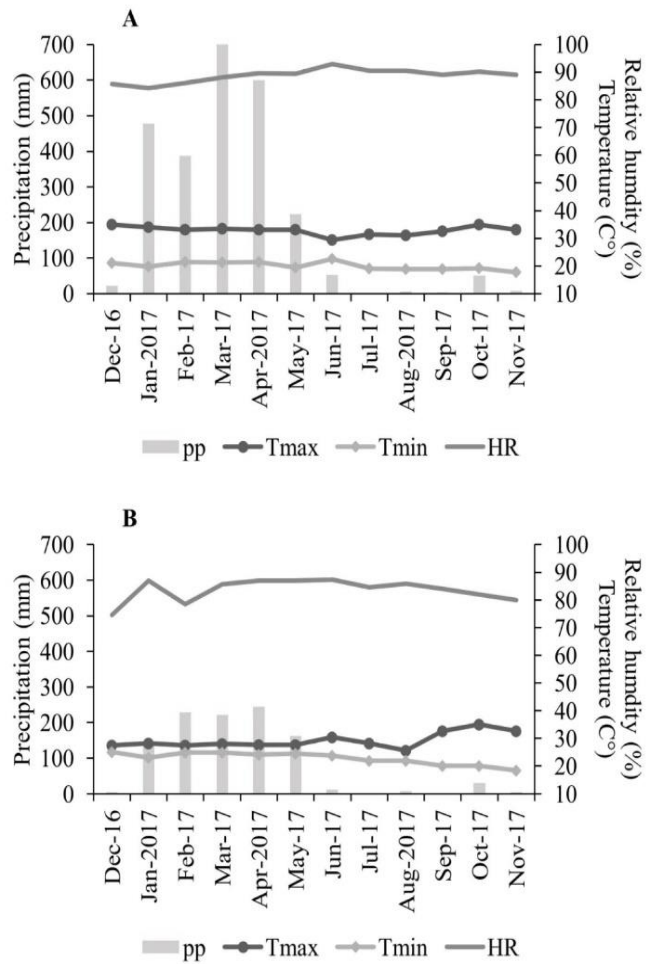


Fig 1.

134x169mm (300 x 300 DPI)

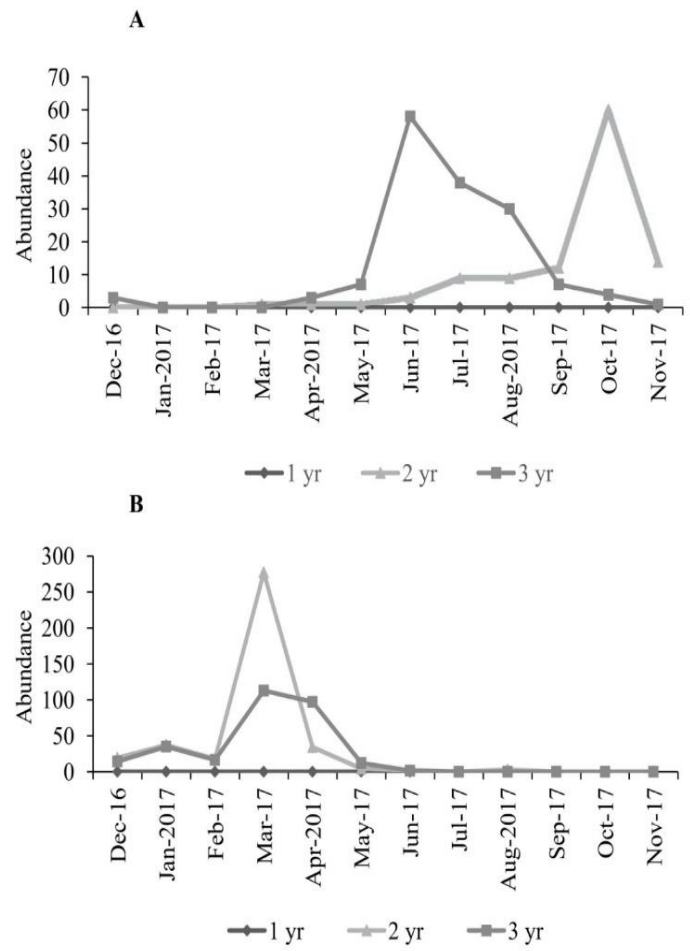


Fig 2.

145x169mm (300 x 300 DPI)

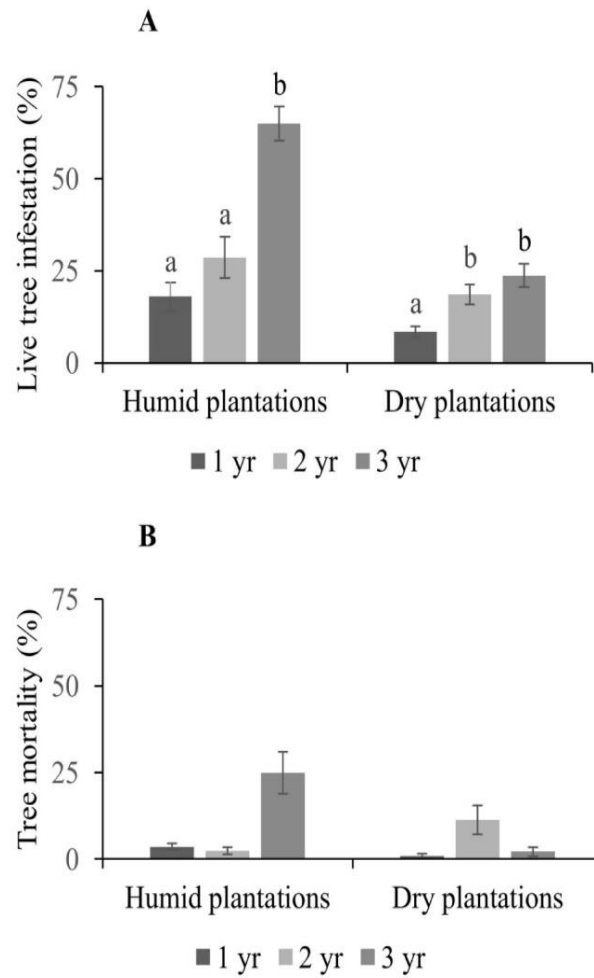


Fig 3.

111x139mm (300 x 300 DPI)

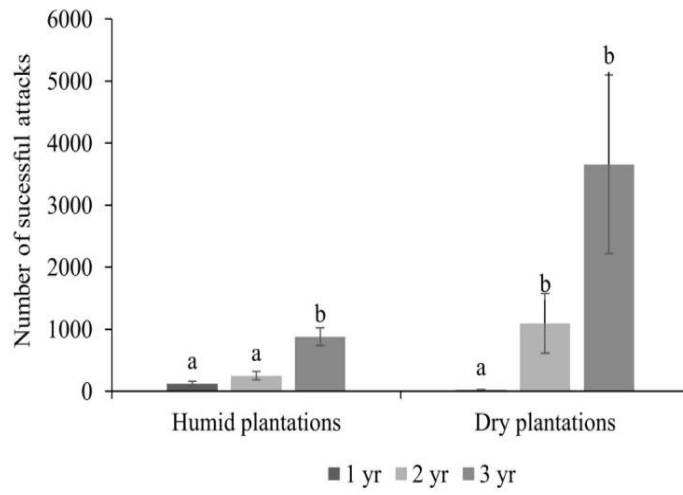


Fig 4.

141x97mm (300 x 300 DPI)

## Diversité des scolytes (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) et de leurs champignons associés dans l'écosystème forestier d'Equateur

### Résumé

Les insectes coléoptères Scolytinae, ou scolytes, sont des agents biotiques majeurs de perturbation des écosystèmes forestiers à travers le monde. Ils peuvent être avoir des impacts écologiques et économiques sévères en milieu naturel et dans les plantations forestières. La dynamique et l'écologie des scolytes des forêts tempérées, boréales et méditerranéennes ont été abondamment documentées, définissant un cadre conceptuel approprié pour l'étude de ces insectes dans d'autres écosystèmes forestiers où les connaissances restent parcellaires. C'est le cas des forêts néo-tropicales équatoriales, au sein desquelles les communautés de scolytes restent à ce jour relativement méconnues, malgré leur implication croissante dans les dégâts et mortalités observés dans le cadre du changement global et du remplacement des forêts naturelles en plantations forestières. Dans cette thèse, je me suis intéressée aux facteurs climatiques et écologiques qui régissent la diversité et l'impact des scolytes dans des forêts naturelles et dans des plantations de balsa (*Ochroma pyramidale*) en Equateur, ainsi qu'aux associations scolytes-champignons mises en place chez certaines espèces dans ce milieu. Ce travail a permis d'enrichir les connaissances actuelles sur la diversité des scolytes en Equateur. J'ai pu montrer notamment que les différents types d'habitats forestiers (forêts naturelles et plantations de balsa) influencent davantage la composition en espèces que la richesse spécifique cumulée. Il existe par ailleurs des espèces indicatrices de ces habitats, dont l'une d'entre elles est un ravageur majeur du balsa dans les plantations (*Coptoborus ochromactonus*), et trois autres sont des espèces exotiques. L'étude spécifique de la biologie et de la dynamique des populations de *C. ochromactonus* dans les plantations de balsa a montré que des facteurs climatiques et d'âge des arbres influencent significativement les dégâts occasionnés par ce scolyte. Enfin, j'ai pu mettre en évidence l'association des champignons ambrosia *Raffaelea* sp. nr. *arxii* et *Fusarium ambrosium* avec des scolytes *Xyleborus*, l'un des genres les plus diversifiés et abondants en forêt naturelle et en plantation de balsa. Ma thèse donne de nouvelles perspectives en termes de biodiversité et de gestion des risques sanitaires liés aux scolytes dans les écosystèmes forestiers d'Equateur.

**Mots-clés:** scolytes, richesse, abondance, composition des espèces, forêt primaire, balsa, dégâts, phénologie, interaction plante-insecte, champignon ambrosia, *Xyleborus*

## Diversity of ambrosia beetles (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) and their fungal associated in the forest ecosystem in Ecuador

### Abstract

Scolytinae insects, or bark beetles, are major biotic agents of forest ecosystem disturbance throughout the world. They can have severe ecological and economic impacts in both natural forests and commercial plantations. The dynamics and ecology of bark beetles in temperate, boreal and Mediterranean forests have been extensively documented, defining an appropriate conceptual framework for the study of these insects in other forest ecosystems where knowledge remains fragmented. This is the case of the equatorial neotropical forests, in which bark beetle communities remain to date relatively unknown, despite their increasing involvement in the damage and mortality observed in the context of global change and the replacement of natural forests by plantations. In this thesis, I focused on the climatic and the ecological factors driving the diversity and impact of bark beetles in natural forests and in balsa (*Ochroma pyramidale*) plantations in Ecuador, as well as in scolytines-fungi associations that can take place in a number of scolytine species. This work has enriched current knowledge on the diversity of bark beetles in Ecuador. In particular, I have shown that different types of forest habitats (natural forests and balsa plantations) have a greater influence on species composition than on cumulative species richness. I also identified indicator species of these habitats, one of which is a major pest of balsa in plantations (*Coptoborus ochromactonus*), and three others are exotic species. The specific study of the biology and population dynamics of *C. ochromactonus* in balsa plantations has shown that climatic and tree age factors significantly influence the damages caused by this bark beetle. Finally, I was able to highlight the association of ambrosia fungi *Raffaelea* sp. nr. *arxii* and *Fusarium ambrosium* with *Xyleborus* bark beetles, one of the most diverse and abundant genera in natural forest and balsa plantation. My thesis provides stimulating new perspectives in terms of biodiversity and management of health risks related to bark beetles in forest ecosystems of Ecuador.

**Key words:** scolytine, richness, abundance, species composition, primary forest, damage, phenology, insect-plant interaction, ambrosia fungi, *Xyleborus*