

UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

FACULTAD DE BIOLOGÍA

TRABAJO FIN DE GRADO

PROCESOS SELECTIVOS EN EL MIMETISMO DE COLEÓPTEROS ALTICINOS

Yeray Folgar Cameán

Curso académico 2019-2020



ÍNDICE

Resumen del trabajo	3
Lista de abreviaturas y símbolos	3
Introducción.....	4
Objetivos	7
Metodología del trabajo.....	7
Creación de una base de datos	7
Relación de dependencia entre variables por test de χ^2	7
Análisis de redes de interacciones	8
Relación entre las características morfológicas de los escarabajos	9
Resultados y discusión	10
Resultados.....	10
Discusión	13
Conclusiones	17
Bibliografía.....	18

Este trabajo me ha concedido la oportunidad de entrar en contacto con mi pasión, la investigación. Estoy plenamente agradecido de cada una de las vivencias sucedidas en el camino, desde haber podido asistir y presentar resultados preliminares en el “European Ecological Federation Congress 2019” en Lisboa, hasta la parte más humana del proyecto que mis tutores han proporcionado.

RESUMEN DEL TRABAJO

Los coleópteros conocidos como *flea beetles* (Chrysomelidae: Alticini) han desarrollado una recién descubierta estrategia de enmascaramiento. Similitudes de color y tamaño entre el cuerpo de los escarabajos y los agujeros que hacen al alimentarse de las hojas podrían actuar como una defensa frente a depredadores orientados visualmente. Hemos analizado el origen evolutivo de esta característica utilizando la fauna francesa de alticinos (284 especies), preguntándonos si el tipo de tejidos vegetales de las hojas ha contribuido a la selección del color y tamaño de las especies de escarabajos debido a su propensión a sufrir daños de una manera determinada (hipótesis 1) o, alternativamente, si características restrictivas asociadas al escarabajo han delimitado el patrón de daño que este produce maximizando su camuflaje (hipótesis 2). Para ello nos hemos fundamentado en el análisis de redes bipartitas, computando los módulos de red y luego evaluando si los escarabajos dentro de cada módulo compartían una característica común, tono o tamaño corporal, en comparación con modelos nulos. Descubrimos que las interacciones de alimentación de alticinos entre las plantas huésped son altamente modulares. Además, ciertos taxones de plantas interactúan preponderantemente con un subconjunto de especies de escarabajos de morfología corporal específica, por el contrario, la mayoría de los taxones analizados parecen interactuar con especies de escarabajos morfológicamente diferentes. En conclusión, los resultados sugieren que el origen evolutivo de esta forma de camuflaje puede ser parcialmente explicado por ambas hipótesis, siendo en algunos casos las plantas el factor clave y en el resto los propios escarabajos.

LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

F_{ratio}	Estadístico F, refleja el grado de parecido existente entre las medias que se están comparando.
H1	Hipótesis 1 (planta dependiente).
H2	Hipótesis 2 (planta independiente).
M1	Módulo 1 de la red bipartita. Abreviatura extensible al resto de módulos (M1, M2, ..., Mn).
P	Valor p , probabilidad de que un valor estadístico calculado sea posible dada una hipótesis nula cierta.
Q	Modularidad de Newman.
χ^2	Estadístico de chi-cuadrado empleado en el test χ^2 .
z_Q	Valor de z-score (para la fórmula, véase Metodología del trabajo).

INTRODUCCIÓN

El mimetismo es una técnica de defensa ampliamente distribuida que reduce el riesgo de que los depredadores detecten a sus presas. Concretamente, el enmascaramiento (*masquerading* en la literatura científica) es un determinado tipo de camuflaje por el que los organismos se asemejan a objetos inanimados, generalmente no comestibles, que se encuentran en su hábitat. Se asume que los individuos que utilizan esta estrategia defensiva reducen su depredación al ser identificados erróneamente por sus depredadores como objetos no comestibles (Skelhorn *et al.* 2009, 2010). Para lograr esta estrategia, algunos animales son capaces de modificar y adaptar sus características corporales según el entorno, como las larvas de la mariposa de los abedules (*Biston betularia*) (Eacock *et al.* 2019) o la sepia (Buresch *et al.* 2011). Por otra parte, algunas especies tienden a modificar su entorno con el mismo fin, como es el caso de la araña *Cyclosa ginnaga* que añade un elemento blanco discoide a su tela para que, cuando esta se posiciona encima, sea confundida con un excremento de pájaro (Liu *et al.* 2014). No obstante, determinadas especies han desarrollado características corporales o comportamientos persistentes que les permiten ocultarse bajo ciertas circunstancias, lo que se observa en muchas orugas e insectos palo con una morfología similar a ramas o tallos estrechos (Quicke 2017). Este fenómeno también ha sido descrito en los alticinos (Coleoptera, Chrysomelidae, Galerucinae, Alticini), coleópteros que se alimentan de las hojas de sus plantas huésped produciendo agujeros que se asemejan en color y tamaño a sus propios cuerpos. De esta forma, sobre las hojas se encuentran rodeados de agujeros que en una visión plana se parecen al cuerpo del escarabajo, dificultando su identificación por los depredadores (Konstantinov *et al.* 2018).

Los coleópteros alticinos (Alticini) son el grupo taxonómico más diverso de los crisomélidos (Chrysomelidae), con aproximadamente 590 géneros y 9900 especies descritas (Konstantinov 1994, 2016). Estos escarabajos son insectos fitófagos altamente especializados (Biondi *et al.* 2013) cuyos ejemplares adultos se alimentan principalmente por encima del suelo en varias partes de plantas superiores, incluyendo hojas, tallos no leñosos, raíces y rara vez flores (Konstantinov y Vandenberg 1996). Un patrón común en su alimentación es la realización de agujeros en las hojas, en contraste con otros taxones que se alimentan de los márgenes o de su superficie inferior (Ren *et al.* 2018). Los agujeros realizados consisten en una mezcla compleja de patrones de alimentación específicos de cada especie, los cuales varían en extensión y coloración,

pudiendo ser estos claros u oscuros. Los agujeros tienen tonos claros cuando el escarabajo se alimenta de la hoja raspando la epidermis superior y tan solo una parte del mesófilo, dejando así la matriz poco coloreada. En cambio, los tonos oscuros se obtienen cuando el escarabajo se alimenta realizando agujeros que penetran el total del ancho de las hojas, lo que permite observar el fondo ensombrecido que se encuentra tras ellas (Konstantinov *et al.* 2018). En cuanto a la extensión del agujero, esta es dependiente del volumen de material vegetal ingerido por el individuo.

Los alticinos son presas de aves insectívoras, habiendo sido documentado el vencejo común (*Apus apus*) alimentándose de *Phyllotreta atra* (Lack y Owen 1955), *P. nemorum* (Lack y Owen 1955, Owen 1955), *P. nigripes* (Campbell 1994), *P. vittula* (Owen 1955), y *Aphthona euphorbiae* (Owen 1955), o el avión cazador (*Riparia riparia*) de *P. nigripes* (Whitehead 1991). Las aves aparentan ser depredadores más eficientes cuando los escarabajos se encuentran en el suelo y no sobre sus plantas huésped (Lindroth 1971). Esto ha sido tradicionalmente atribuido a un clásico mecanismo anti depredador: su asombrosa habilidad de saltar permitiéndoles desaparecer de repente (Maulik 1929, Chapman 1998, Nadein y Betz 2016). Sin embargo, estudios recientes han señalado la existencia de una estrategia defensiva adicional en estas situaciones. Konstantinov *et al.* (2018) demostraron una correlación entre el color del cuerpo de los escarabajos y el color del daño que producen al alimentarse, así como entre el tamaño del escarabajo con la extensión del agujero (Fig. 1). En base a ello se ha planteado la hipótesis de que los alticinos han desarrollado un parecido cercano entre las características de su cuerpo y el daño que realizan en las hojas (Konstantinov *et al.* 2018). En este escenario, el camuflaje funcionaría como una defensa primaria reduciendo el riesgo de ser detectados y/o reconocidos por depredadores orientados visualmente, como aves insectívoras, lo que incrementaría el tiempo de detección y brindaría a los escarabajos la oportunidad de escapar empleando su característica y notablemente rápida capacidad de salto como defensa secundaria (Dimitrova y Merilaita 2009, Xiao y Cuthill 2016, Konstantinov *et al.* 2018).

Se han propuesto dos hipótesis (basadas en dos procesos selectivos alternativos) para explicar el origen evolutivo de la semejanza entre los alticinos y el daño que producen al alimentarse de las hojas. En ambas hipótesis, los depredadores desempeñarían un papel clave en la selección de aquellas combinaciones de apariencia de agujero y cuerpo del escarabajo que maximicen la efectividad del camuflaje. Bajo la hipótesis 1

(planta dependiente), los tejidos foliares de las plantas huésped serían propensos a sufrir daños de una forma particular (*i.e.* solo daño superficial [agujeros claros] o solo daño profundo [agujeros oscuros]), favoreciendo así la supervivencia de los escarabajos que coinciden visualmente con las características de color y tamaño de los agujeros en las hojas. Si el aspecto de los agujeros está condicionado por las características de la planta, entonces solo los escarabajos con características semejantes a los agujeros que se producen en cada planta se beneficiarían del enmascaramiento. Según esta hipótesis, se espera una asociación entre el taxón de la planta huésped y rasgos morfológicos específicos de los escarabajos (color y tamaño de los escarabajos seleccionados por el tipo de planta). Según la hipótesis 2 (planta independiente), las características propias del escarabajo (color y tamaño) podrían ejercer presiones selectivas sobre su propio patrón de alimentación para maximizar el camuflaje y, por lo tanto, aumentar su fitness y tasa de supervivencia. Según esta hipótesis no se espera ninguna asociación entre los rasgos del coleóptero y el taxón de las plantas debido a que especies de escarabajos con rasgos diferentes (escarabajos claros y oscuros, por ejemplo) podrían alimentarse de la misma planta realizando patrones de alimentación dispares.

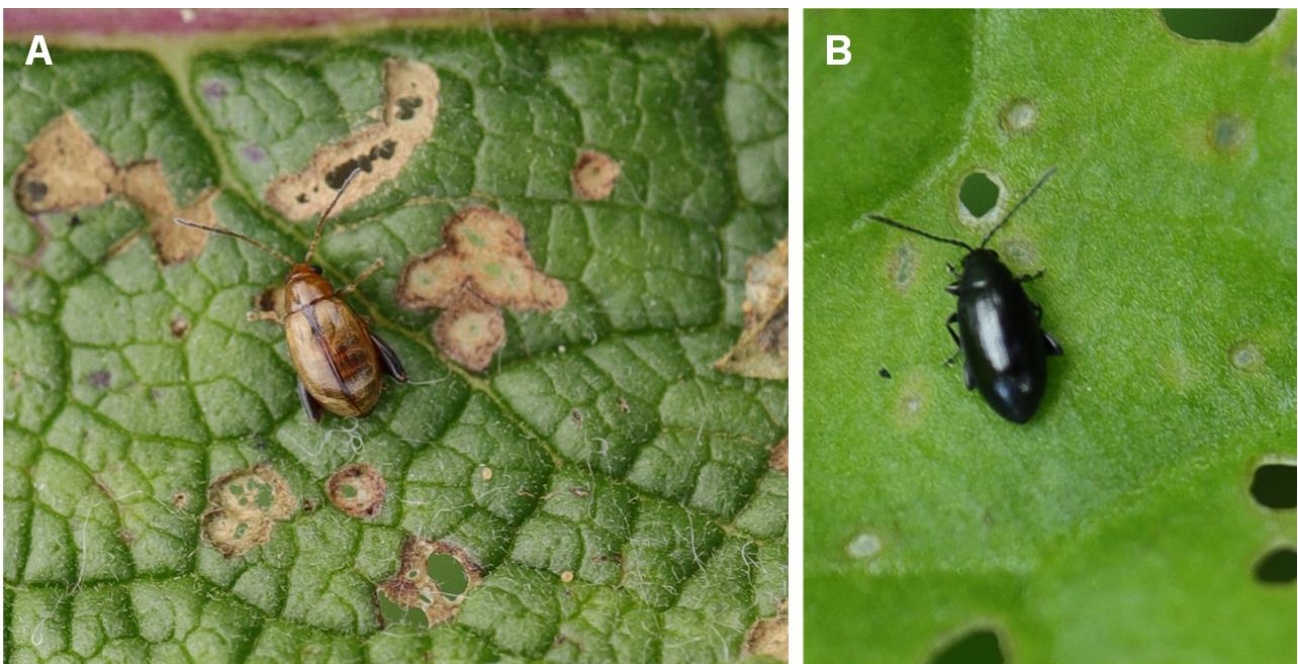


Figura 1. Enmascaramiento en alticinos. A - escarabajo y agujeros de color claro, concordantes en el tamaño [*Longitarsus tabidus* en la superficie de una hoja de su planta huésped *Verbascum* sp. (Scrophulariaceae)]. B - escarabajo y agujeros de color oscuro, parcialmente concordantes en el tamaño [*Phyllotreta atra* en la superficie de una hoja de su planta huésped *Rorippa armoracioides* (Brassicaceae)]. Fotos cedidas y tomadas en Rusia, Smolensk Oblast, río Ugrá, por Alexander Konstantinov.

OBJETIVOS

El objetivo del presente trabajo es el estudio de los posibles mecanismos evolutivos que hayan podido contribuir al desarrollo del enmascaramiento en alticinos. Para ello, se evalúa si las observaciones empíricas en toda una fauna nacional (284 especies de coleópteros alticinos franceses como caso de estudio) concuerdan con las predicciones de la H1 (planta dependiente) o de la H2 (planta independiente). En otras palabras, nuestro objetivo es estudiar si el tipo de tejidos vegetales de las hojas ha seleccionado el color y tamaño de las especies de escarabajos debido a su propensión a sufrir daños de una manera determinada o, alternativamente, si características propias del escarabajo han seleccionado el patrón de daño que este produce.

METODOLOGÍA DEL TRABAJO

Creación de una base de datos

La fauna francesa de alticinos (Coleoptera, Chrysomelidae, Galerucinae, Alticini) ha sido seleccionada como caso de estudio debido a su grado de completitud con respecto al conocimiento taxonómico así como a las interacciones con plantas huésped. Se han recogido datos de Doguet (1994) con un total de 284 especies de coleópteros pertenecientes a 27 géneros, incluyendo su coloración y tamaño corporal, así como sus respectivas plantas huésped (familias y géneros). El color de los escarabajos ha sido clasificado en (i) “claro”, desde tonos amarillentos a marrón claro; y (ii) “oscuro”, incluyendo negro, azul, rojo y verde metálico. Por otra parte, el tamaño de los escarabajos se ha tomado como la media entre los valores máximo y mínimo, clasificándolo en “pequeño” (≤ 2.50 mm), “mediano” (2.50 - 3.75 mm) y “grande” (≥ 3.75 mm).

Relación de dependencia entre variables por test de χ^2

Para evaluar de forma preliminar si la frecuencia de asociación entre las plantas huésped y rasgos corporales de los escarabajos es o no aleatoria, se aplicó un test de χ^2 . Se procedió al estudio de la relación de dependencia entre las siguientes parejas de variables cualitativas: familia de plantas huésped y tono de escarabajos asociados, familia de plantas y tamaño de escarabajos, género de plantas y tono de escarabajos, género de plantas y tamaño de escarabajos. Además, dada la alta proporción de plantas huésped asociadas a una sola especie de escarabajo (en adelante, especies únicas, *singleton* en inglés), los mismos análisis han sido efectuados en un subconjunto sin especies únicas para evitar posibles sesgos estadísticos. Para estos análisis se

definen las siguientes hipótesis de estudio: hipótesis nula (H2) - las características corporales de los escarabajos asociados (tono/tamaño) son independientes de la planta huésped seleccionada (familia/género); e hipótesis alternativa (H1) - las características corporales de los escarabajos asociados (tono/tamaño) son dependientes de la planta huésped seleccionada (familia/género). Con un nivel de confianza del 95%, valor $P < 0.05$, se rechaza la H2 a favor de la H1.

Análisis de redes de interacciones

En el campo matemático de la teoría de grafos, una red bipartita es un gráfico cuyos elementos se pueden dividir en dos conjuntos separados e independientes. Los nodos o vértices se utilizan para representar los elementos de un sistema de interés, mientras que las aristas representan conexiones entre pares de nodos de conjuntos distintos (Serban 2020). Para evaluar la estructura de interacciones en lo que respecta a la fauna francesa de alticinos, hemos desarrollado redes bipartitas de interacciones plantas huésped vs. escarabajos. Decidimos considerar dos redes diferentes: una atendiendo a las familias de plantas y otra a los géneros, de forma independiente.

Por otra parte, el concepto de módulo se emplea para representar cómo los sistemas biológicos se pueden dividir en asociaciones o componentes más pequeños, con interacciones limitadas o controladas entre sí (Serban 2020). Muchas redes se encuentran divididas en dichos módulos, conjuntos de interacciones entre ambos niveles cuyos nodos (individuos) tienen una mayor probabilidad de estar conectados entre sí (interacciones) que con los nodos fuera del conjunto (Newman 2006, Barber 2007). La prevalencia de módulos en una red puede ser cuantificada, siendo la modularidad (Q) una estima, en comparación con un modelo nulo, del grado en que las interacciones tienden a aparecer con mayor probabilidad dentro del módulo que entre ellos. Empleando el paquete “bipartite” (v2.15; Dormann *et al.* 2009) para R (R Core Team 2019) se calculó la modularidad de Newman de cada una de las redes y esta fue estandarizada en base al z-score ($z_Q = \frac{Q_{observado} - \bar{Q}_{nulo}}{\sigma_{Q_{nulo}}}$), cuyos valores superiores a 2 indican modularidad en la red (Dormann y Strauss 2014). Además, para obtener la significancia del valor Q observado, este fue comparado con 100 réplicas de redes de interacciones aleatorias de las mismas características (modelos nulos). Debido a la importante carga computacional de los análisis emitidos, los cuales no pudieron ser finalizados en el marco temporal de 1 mes con un ordenador de mesa, estos fueron enviados al Centro de Supercomputación de Galicia (CESGA).

Para evaluar si las plantas huésped dentro de un módulo están asociadas predominantemente a un tono particular o tamaño de cuerpo de los escarabajos, hemos comparado el tono y tamaño de los escarabajos dentro de cada módulo, recogidos como el porcentaje de escarabajos oscuros y la desviación estándar del tamaño corporal, respectivamente, con expectativas de modelos nulos. El porcentaje de escarabajos oscuros en cada módulo fue comparado con 100,000 modelos nulos con el mismo número de especies de escarabajos, pero seleccionados al azar dentro de todo el conjunto de datos. De manera similar, la desviación estándar de los diversos tamaños corporales en cada módulo ha sido comparada con la desviación estándar obtenida en 100,000 modelos nulos generados bajo las mismas condiciones.

La significación estadística de la diferencia entre el valor observado y los valores predichos por el modelo nulo fue calculada para cada variable (color y tamaño) y nivel taxonómico (familia y género de plantas). El valor P se calculó como una comparativa entre los valores del modelo nulo ($N=100,000$) y el observado, considerando estadísticamente significativos valores inferiores a 0.05 o superiores a 0.95 (para tono: $P < 0.05$ o > 0.95 ; para tamaño: $P < 0.05$). Los módulos constituidos por menos de 10 especies fueron excluidos de dicho análisis. Diferencias significativas entre los valores observados y las simulaciones de los modelos nulos respaldarían la hipótesis de que los escarabajos con una determinada característica, color o tamaño corporal, están asociados con determinadas plantas huésped (H1), mientras que la ausencia de diferencias significativas apoyaría una distribución aleatoria de colores y tamaños en las plantas huésped (H2).

Relación entre las características morfológicas de los escarabajos

Una asociación entre el tono y el tamaño del escarabajo apoyaría la H2 (correlación entre escarabajos grandes y oscuros, y entre escarabajos pequeños y de color claro; véase Discusión). Por lo tanto, se evaluó la relación entre las variables morfológicas estudiadas (tono y tamaño corporal) para comprobar si los alticinos de un tono concreto muestran una tendencia a un tamaño determinado o si, por el contrario, el tamaño del escarabajo es independiente del tono que presenta. Para ello se aplicó el test ANOVA unifactorial (*one-way ANOVA*, en inglés) empleando el paquete “stats” (v3.6.1; R Core Team 2019) para R (R Core Team 2019). Evaluamos el efecto del factor tono, con dos niveles (claro y oscuro), sobre el tamaño medio del cuerpo como variable respuesta. En este caso un nivel de confianza del 95%, valor $P < 0.05$, apoyaría la hipótesis de que existen diferencias significativas en el tamaño de los escarabajos según sean claros u oscuros.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados

Los alticinos franceses han sido registrados alimentándose de 59 familias y 305 géneros de plantas. La distribución de los escarabajos entre las plantas huésped no es uniforme, de hecho, las 10 familias de plantas con mayor número de interacciones (Brassicaceae, Asteraceae, Lamiaceae, Boraginaceae, Euphorbiaceae, Plantaginaceae, Poaceae, Cyperaceae, Polygonaceae, y Juncaceae, en orden decreciente) están asociadas al 75.0% de las especies de escarabajos estudiadas. Algunos alticinos son monófagos, lo que implica que estas especies están asociadas a una única familia y género de plantas. Sin embargo, ya que muchas especies son oligófagas (se alimentan de varias especies de plantas relacionadas), la especificidad es más alta a mayor categoría taxonómica, por lo que un 69.4% de las especies de coleópteros se alimentan de una única familia vegetal, mientras que tan solo el 34.5% se alimentan de un único género de plantas. En el otro extremo del espectro de la especificidad, el 4.2% de las especies de escarabajos están asociadas a 4 o más familias de plantas diferentes, mientras que son el 33.8% de las especies las asociadas a 4 o más géneros.

Las especies de escarabajo fueron clasificadas de acuerdo con su color y tamaño corporal. Un 70.1% de las especies muestran coloración oscura (40.9% negras, 16.9% azules, 7.7% verdes, y un 4.6% rojas), siendo el 29.9% restante especies de coloración clara (21.1% amarillas y 8.8% marrón claro). Con relación al tamaño corporal, un 62.0% de las especies miden 2.50 mm de longitud o menos, incluidas en el rango “pequeño”, un 31.3% son especies de tamaño “mediano”, entre 2.50 y 3.75 mm, mientras que el 6.7% restante recoge especies de tamaño “grande”, con una longitud igual o superior a 3.75 mm.

Según los resultados de los test de χ^2 , los rasgos estudiados en los escarabajos (tono claro u oscuro; tamaño pequeño, mediano o grande) no se distribuyen aleatoriamente con las plantas huésped. La relación de dependencia empleando tanto familias (con tono: $\chi^2 = 133.30$, $P < 0.001$; con tamaño: $\chi^2 = 251.64$, $P < 0.001$) como géneros de plantas (con tono: $\chi^2 = 550.06$, $P < 0.001$; con tamaño: $\chi^2 = 913.31$, $P < 0.001$) fue significativa, rechazándose la hipótesis nula (H2) a favor de la hipótesis alternativa (H1). Para evitar posibles sesgos estadísticos las pruebas de χ^2 fueron repetidas omitiendo las especies únicas. Sin embargo, los resultados obtenidos se mantuvieron como significativos ($P < 10^{-8}$ para todos los casos), por lo que los datos de interacciones únicas no fueron excluidos en los análisis posteriores.

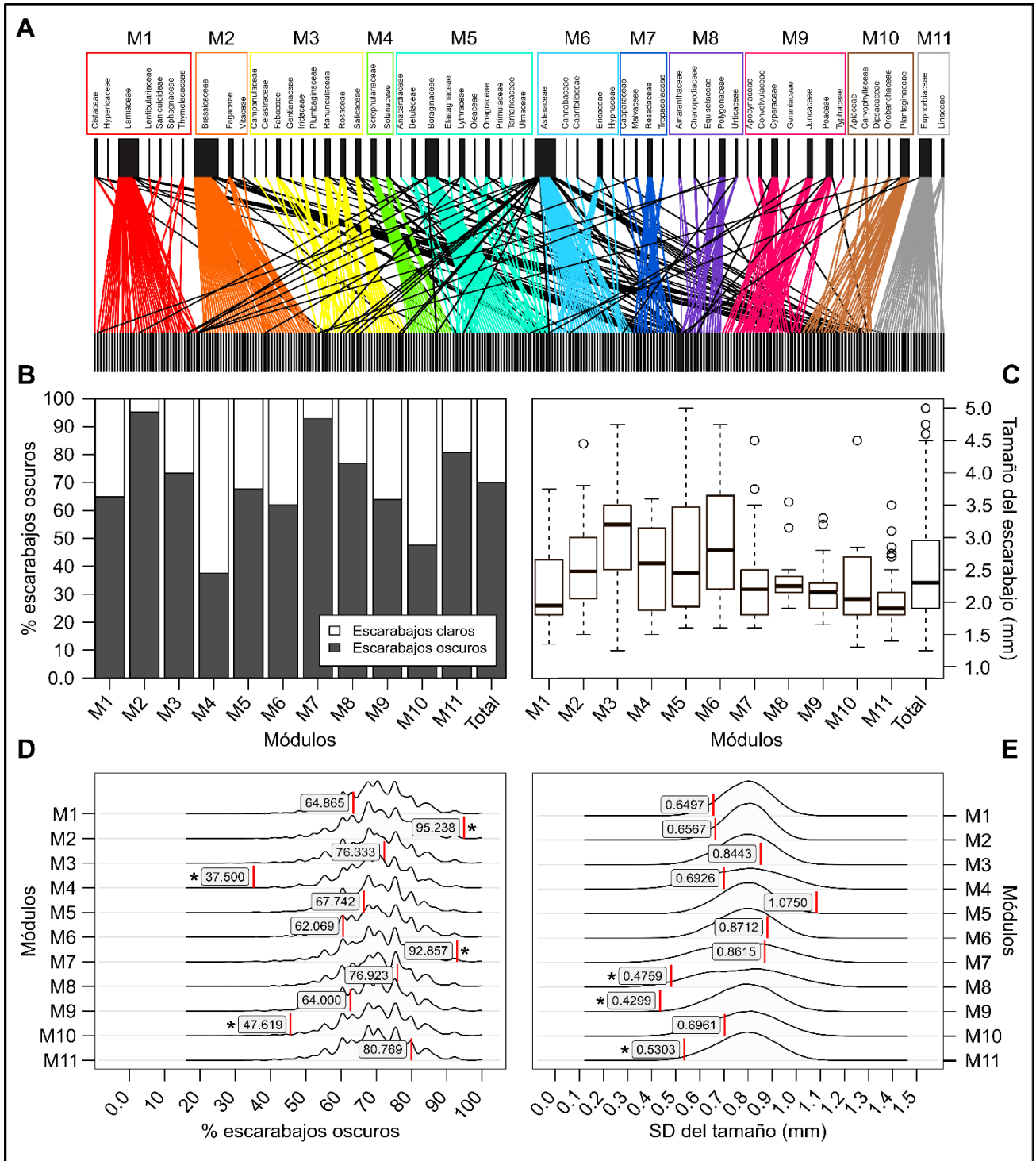


Figura 2. Análisis de la red de interacciones con las familias de plantas. A - Red de interacciones bipartita (arriba plantas, abajo escarabajos) con los módulos computados. B - Distribución del tono de los escarabajos en cada módulo y en el total de los datos. C - Distribución del tamaño de los escarabajos en cada módulo y en el total de los datos. D - Comparación de la proporción de especies oscuras predicha por el modelo nulo para cada módulo (curva de densidad) y el valor observado en cada módulo (marca roja). E - Comparación de la desviación estándar del tamaño predicha por el modelo nulo para cada módulo (curva de densidad) y el valor observado en cada módulo (marca roja). Los valores señalados con * son estadísticamente significativos.

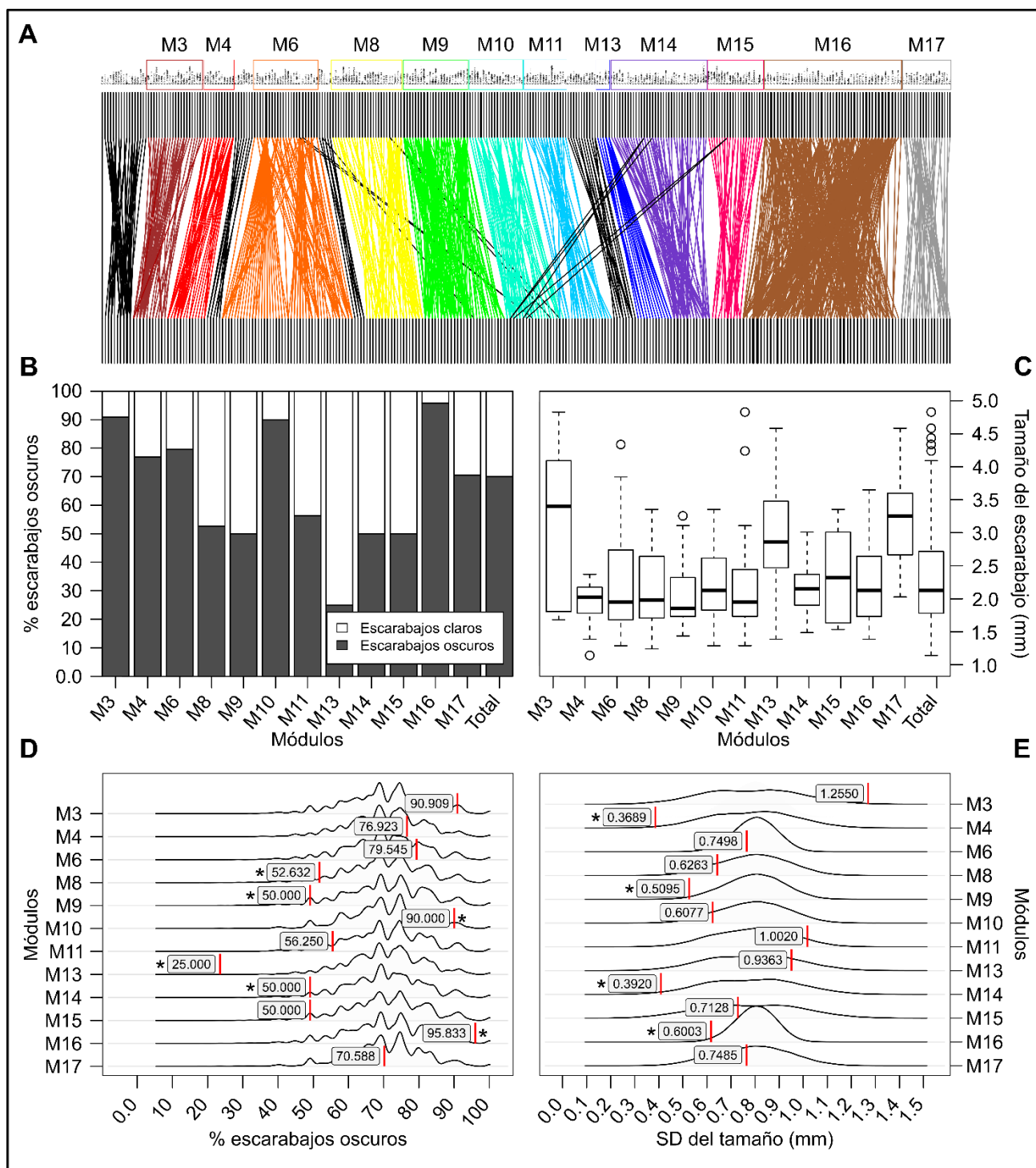


Figura 3. Análisis de la red de interacciones con los géneros de plantas. A - Red de interacciones bipartita (arriba plantas, abajo escarabajos) con los módulos computados. B - Distribución del tono de los escarabajos en cada módulo y en el total de los datos. C - Distribución del tamaño de los escarabajos en cada módulo y en el total de los datos. D - Comparación de la proporción de especies oscuras predicha por el modelo nulo para cada módulo (curva de densidad) y el valor observado en cada módulo (marca roja). E - Comparación de la desviación estándar del tamaño predicha por el modelo nulo para cada módulo (curva de densidad) y el valor observado en cada módulo (marca roja). Los valores señalados con * son estadísticamente significativos.

Las redes de interacciones bipartitas presentaron una modularidad elevada y estadísticamente significativa en comparación con los modelos nulos, tanto al evaluar la red con familias de plantas ($Q = 0.686$, $z_Q = 18.15$, $P < 0.001$) como la red con géneros ($Q = 0.716$, $z_Q = 63.74$, $P < 0.001$). En la red con las familias se han identificado 11 módulos, constituidos por entre 13 y 42 especies de escarabajo (valor medio = 25.8) (Fig. 2A); mientras que al emplear los géneros se delimitaron 17 módulos, con entre 1 y 48 especies de escarabajo (valor medio = 16.2) (Fig. 3A). La distribución del tono y tamaño de los escarabajos en cada módulo se muestra en las Figuras 2 (B, C) y 3 (B, C). Al evaluar si las plantas dentro de cada módulo estaban asociadas predominantemente con alguna característica del cuerpo de los escarabajos, se ha observado que la proporción de especies oscuras vs. claras fue significativamente diferente ($P < 0.05$ o > 0.95) de los valores predichos por los modelos nulos en 4 de los 11 módulos (36.0%) para la red con las familias (Fig. 2D), y en 6 de los 12 módulos (50.0%) para la red con los géneros (Fig. 3D). Por otra parte, la variación (considerada como la desviación estándar del conjunto) en el tamaño del cuerpo de las especies pertenecientes a un módulo dado fue significativamente menor ($P < 0.05$) que en los modelos nulos en 3 de los 11 módulos (27.0%) para la red de familias (Fig. 2E), y en 4 de los 12 módulos (33.0%) para la red de géneros de plantas (Fig. 3E).

En base a los resultados del test ANOVA unifactorial, el tamaño corporal de los escarabajos no es independiente del tono que estos presentan, sino que los escarabajos oscuros son significativamente de mayor tamaño (2.68 ± 0.82 mm) que los escarabajos claros (2.05 ± 0.49 mm). Se ha obtenido un $F_{\text{ratio}} = 43.4$, estadístico estudiado en el test ANOVA como el ratio de la intervarianza entre la intravarianza, así como un valor $P = 2.1 \cdot 10^{-10}$. Dado que $P < 0.05$, se puede concluir que existen diferencias significativas en la variable respuesta tamaño corporal según los niveles del factor tono (claro u oscuro).

Discusión

Nuestro estudio sugiere que el origen evolutivo de la recién descubierta forma de enmascaramiento por Konstantinov *et al.* (2018) puede ser parcialmente explicado por las dos hipótesis consideradas. Ciertos taxones de plantas se asocian preponderantemente con un subconjunto de especies de escarabajo de morfología corporal específica (basándonos en su color y tamaño), por el contrario, la mayoría de los taxones de plantas parecen asociarse con especies de escarabajo morfológicamente diferentes, con tonos y tamaños que no difieren de los que esperaríamos si se distribuyesen al azar. En el primer caso, sugerimos que las

plantas huésped restringen la apariencia del daño en sus hojas, favoreciendo la supervivencia de aquellos escarabajos con el color y tamaño coincidentes (H1). Sin embargo, en la mayoría de los taxones vegetales la distribución al azar de colores y tamaños de los escarabajos parece sugerir que son las características de estos las que ejercen una presión selectiva para que el escarabajo realice un tipo de daño en la hoja de color y tamaño similar a su propio cuerpo (H2). En ambas situaciones los depredadores orientados visualmente desempeñan un papel clave en la selección de aquellas combinaciones de apariencia del agujero y morfología del escarabajo que maximicen la efectividad del camuflaje.

La hipótesis 1 (planta dependiente) supone la existencia de características morfológicas y/o fisiológicas asociadas a la planta, capaces de determinar el tipo de daño causado por la alimentación de los escarabajos (agujeros profundos y oscuros, o superficiales y claros; así como de mayor o menor extensión). Además, estas características deben ser específicas del taxón de la planta. Analizar qué características de las plantas podrían condicionar el tipo de daño producido por la alimentación de los escarabajos está más allá del objeto de este estudio, pero existen algunos ejemplos que sugieren que estos mecanismos existen. Por ejemplo, Bodnaryk (1992a) encontró dos patrones de alimentación distintivos (alimentación en el borde y alimentación distribuida aleatoriamente por toda la hoja) empleados por el escarabajo alticino *Phyllotreta cruciferae* en plantas de la familia Brassicaceae. En un intento por comprender la base de este comportamiento se reveló una concordancia entre el patrón de alimentación utilizado por el escarabajo y la especie vegetal seleccionada. Un artículo posterior (Bodnaryk 1992b) mostró que la cera epicuticular era la característica foliar determinante en la tasa y patrón de alimentación que empleaba el coleóptero. Sin embargo, el ejemplo presentado engloba una única especie de escarabajo, por lo que no hay evidencias sobre cómo de general es este fenómeno o si es extensible al conjunto de alticinos.

Por otra parte, la hipótesis 2 (planta independiente) no considera ninguna restricción asociada a las plantas, sino que asume la existencia de restricciones cognitivas, morfológicas y/o fisiológicas asociadas al escarabajo, las cuales deben ser capaces de determinar su propio patrón de alimentación. La forma en que se determina la profundidad del agujero según la H2 puede ser explicada por el tamaño del escarabajo. Se descubrió que algunos alticinos extremadamente pequeños, *Orthaltica syzygium* y *Orthaltica terminalia* (longitud 1.2 - 1.6 mm), son incapaces de cortar agujeros en la lámina de la hoja, realizando en su lugar zanjas

en la superficie adaxial (Prathapan *et al.* 2013); mientras que los escarabajos más grandes, como miembros de la familia Curculionidae (longitud 2.2 - 4.5 mm), son capaces de realizar agujeros profundos al alimentarse de las mismas especies vegetales (*Terminalia* y *Syzygium*). Si esta relación entre tamaño corporal y profundidad del daño existiese entre los alticinos, entonces los escarabajos grandes cortarían agujeros profundos advertidos como agujeros oscuros, por lo que el enmascaramiento solo surgiría si el escarabajo grande también es de color oscuro. En consecuencia, debería existir una correlación entre escarabajos grandes y oscuros, y entre escarabajos pequeños y claros. Esta correlación aparece en nuestro conjunto de datos (ANOVA: $F_{ratio} = 43.4$, $P < 0.05$), lo que respalda la idea de que el tamaño del escarabajo actúa como una restricción a la profundidad del agujero. Dicha restricción, según muestra la H2, generaría una presión selectiva sobre el tono de color del escarabajo. Con respecto al tamaño del orificio, se encontró que en el alticino *Altica cirsiicola* este estaba directamente determinado por dos factores de su anatomía: (1) la flexibilidad de la cabeza-protórax y (2) el tamaño de su sistema digestivo. La movilidad de la cabeza-protórax es responsable del ancho del agujero, mientras que el volumen del intestino anterior restringe el consumo de comida, lo que a su vez limita la extensión del agujero (Ren *et al.* 2018). En resumen, el tamaño del escarabajo, la movilidad de la cabeza-protórax y el volumen del sistema digestivo son restricciones asociadas al escarabajo que determinan las características de los agujeros realizados, lo que respalda y explica parcialmente los requisitos bajo esta hipótesis.

Tras ambas hipótesis debe existir variabilidad, en términos de fitness y supervivencia de los individuos, entre aquellos escarabajos con una apariencia similar a los agujeros de alimentación que realizan, y los que no han desarrollado el camuflaje. Sin una presión selectiva que favorezca a los escarabajos enmascarados, la similitud entre la morfología de su cuerpo y la apariencia del agujero de alimentación sería tan solo una curiosidad de unos pocos individuos en lugar del ya demostrado rasgo generalizado entre los alticinos. Los depredadores orientados visualmente, como las aves insectívoras, se han propuesto como los responsables de la intensa selección que ha llevado a estos escarabajos a desarrollar esta variante única de la estrategia de enmascaramiento (Konstantinov *et al.* 2018, Ren *et al.* 2018). Aun así, no hay datos empíricos que demuestren que las aves ven reducida su eficiencia de búsqueda frente a escarabajos con este tipo de camuflaje. Sin embargo, se ha concluido que la búsqueda visual en humanos como sujetos de prueba se vuelve más

ineficiente a medida que aumenta el número de agujeros y a medida que el tamaño del agujero se acerca al del cuerpo del escarabajo, siendo el efecto que esperaríamos encontrar en las aves (Ren *et al.* 2018).

Estos resultados deben interpretarse con precaución y cumple tener en cuenta varias limitaciones. El área de distribución de los alticinos es cosmopolita (Konstantinov y Vandenberg 1996) y, sin embargo, se ha utilizado una compilación restringida a la fauna francesa. Por lo tanto, sería interesante extender el conjunto de datos a otras regiones geográficas. Además, incluso en una de las faunas mejor estudiadas, como la francesa, la información sobre las plantas huésped de los escarabajos es incompleta, lo que hace difícil discernir en qué medida los módulos computados están afectados por sesgos geográficos en lugar de asociaciones reales planta/huésped derivadas de presiones selectivas. Asimismo, nuestro estudio ha tenido que realizar algunas simplificaciones metodológicas para poder formalizar los análisis. En relación con el color del cuerpo de los escarabajos, en nuestra base de datos hay numerosas especies de alticinos monocromáticos, pero también se incluyen algunas especies caracterizadas por patrones contrastantes de rayas o manchas, que se han asignado a la categoría claro/oscurito en función del color predominante. Esta simplificación podría introducir alguna incertidumbre en los análisis, porque desconocemos en qué medida estos patrones afectan a la percepción visual de los depredadores. Sin embargo, podemos señalar que esto representa tan solo un 10.2% de nuestras especies de escarabajos, mientras que el 89.8% restante presentan colores monocromáticos. Por tanto, cualquier incertidumbre introducida en los análisis debería tener un efecto pequeño, poco relevante en nuestros resultados.

Otro fenómeno que podría influir en los resultados es la presencia de conservación filogenética del nicho ecológico (*phylogenetic niche conservatism*, en inglés). Este término engloba un tipo de inercia evolutiva que hace que las especies tiendan a retener características ecológicas ancestrales, por lo que especies próximas en la filogenia tienden a mantener nichos ecológicos parecidos (Wiens y Graham 2005). Esto da como resultado que especies que han divergido de una especie ancestral común tienden a ocupar un espacio ecológico común (Harvey y Rambaut 2000). El grado de conservación de nicho es variable en diferentes clados, desde la existencia de una inercia filogenética muy fuerte a una total ausencia de señal filogenética en los nichos ecológicos. En los alticinos, las familias de plantas huésped tienden a estar asociadas de manera preponderante a especies de escarabajos del mismo género, sugiriendo la existencia de cierto grado de

conservación filogenética. Por lo tanto, la estrategia de mimetismo por enmascaramiento podría haberse desarrollado en una especie de escarabajo ancestral, divergiendo luego en otras especies que han mantenido la morfología corporal original y la especificidad de plantas huésped, ya que lo contrario disminuiría sus oportunidades de supervivencia. Sin embargo, para analizar el efecto de la conservación filogenética del nicho sería necesario construir un árbol filogenético de todas las especies de alticinos consideradas, lo cual excede las posibilidades de este trabajo. Por tanto, la señal filogenética de los rasgos morfológicos analizados (tono y tamaño) y el nicho ecológico trófico (plantas huésped) en Alticini deberían ser analizados en el futuro.

CONCLUSIONES

En definitiva, encontramos un apoyo parcial a ambos tipos de restricciones asociadas a plantas (H1) y escarabajos (H2). Conjuntamente habrían contribuido a la aparición del enmascaramiento entre los alticinos, pero no sabemos cómo o con qué preponderancia han sido unos u otros los protagonistas en la delimitación del tipo de daño. Además, es probable que la depredación orientada visualmente sea la fuerza selectiva que ha impulsado la evolución del camuflaje favoreciendo la supervivencia de aquellos escarabajos con agujeros de alimentación coincidentes con su morfología.

- La hipótesis 1 (planta dependiente) recibe apoyo por la existencia de módulos en la red trófica con distribuciones de tono y/o tamaño de los escarabajos diferentes de las esperadas al azar. Esto implica una asociación de determinados colores y tamaños con determinadas plantas huésped, cuya evidencia sugiere que lo hallado en estudios previos no son casos aislados sino que son fenómenos relativamente frecuentes. Estos estudios habrían demostrado que diferentes especies de plantas pueden determinar patrones de daño dispares realizados por un mismo herbívoro.
- La hipótesis 2 (planta independiente) recibe apoyo por la existencia de módulos en los que la distribución de tono y/o tamaño de los escarabajos no difiere de la que esperaríamos por azar. Esto sugiere que son características de los escarabajos las que determinan su propio patrón de alimentación, de manera independiente a la planta de la que se alimentan. Esta evidencia también apoya lo encontrado en otros estudios previos, que proponen al tamaño del escarabajo, la movilidad cabeza-protórax y el volumen del sistema digestivo como determinantes del tipo de daño realizado.

BIBLIOGRAFÍA

- Barber M. J.** (2007). Modularity and community detection in bipartite networks. *Physical Review E*, 76(6): 066102.
- Biondi M., Urbani F. y D'Alessandro P.** (2013). Endemism patterns in the Italian leaf beetle fauna (Coleoptera, Chrysomelidae). *ZooKeys*, 332: 177-205.
- Bodnaryk R. P.** (1992a). Distinctive leaf feeding patterns on oilseed rapes and related Brassicaceae by flea beetles, *Phyllotreta cruciferae* (Goeze) (Coleoptera: Chrysomelidae). *Canadian Journal of Plant Science*, 72(2): 575-581.
- Bodnaryk R. P.** (1992b). Leaf epicuticular wax, an antixenotic factor in Brassicaceae that affects the rate and pattern of feeding of flea beetles, *Phyllotreta cruciferae* (Goeze). *Canadian journal of plant science*, 72(4): 1295-1303.
- Buresch K. C., Mäthge L. M., Allen J. J., Bennice C., Smith N., Schram J., ... y Hanlon R. T.** (2011). The use of background matching vs. masquerade for camouflage in cuttlefish *Sepia officinalis*. *Vision research*, 51(23-24): 2362-2368.
- Campbell J. M.** (1994). *An atlas of Oxfordshire Coleoptera, Chrysomelidae*. Oxfordshire Museum, Woodstock (England).
- Chapman R.** (1998). *The insects: structure and function*. Cambridge University Press, Cambridge (England).
- Dimitrova M. y Merilaita S.** (2009). Prey concealment: visual background complexity and prey contrast distribution. *Behavioral Ecology*, 21(1): 176-181.
- Doguet S.** (1994). *Coleopteres Chrysomelidae Vol. 2, Alticinae. Faune de France, 80*. Federation Francaise des Societes de Sciences Naturelles, Paris (France).
- Dormann C. F., Frund J., Bluthgen N. y Gruber B.** (2009). Indices, graphs and null models: Analyzing bipartite ecological networks. *The Open Ecology Journal*, 2: 7-24.
- Dormann C. F. y Strauss R.** (2014). A method for detecting modules in quantitative bipartite networks. *Methods in Ecology and Evolution*, 5(1): 90-98.

- Eacock A., Rowland H. M., van't Hof A. E., Yung C. J., Edmonds N. y Saccheri I. J.** (2019). Adaptive colour change and background choice behaviour in peppered moth caterpillars is mediated by extraocular photoreception. *Communications Biology*, 2(1): 1-8.
- Harvey P. H. y Rambaut A.** (2000). Comparative analyses for adaptive radiations. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 355(1403): 1599-1605.
- Konstantinov A. S.** (1994). Comparative morphology and some evolutionary trends in flea beetles (Alticinae). Ed.: P. H. Jolivet, M. L. Cox, E. Petitpierre. En: *Novel Aspects of the Biology of Chrysomelidae*. Springer, Dordrecht (Netherlands).
- Konstantinov A. S.** (2016). Possible living fossil in Bolivia: a new genus of flea beetles with modified hind legs (Coleoptera, Chrysomelidae, Galerucinae, Alticini). *Zookeys*, 592: 103-120.
- Konstantinov A. S. y Vandenberg N. J.** (1996). Handbook of Palearctic flea beetles (Coleoptera: Chrysomelidae: Alticinae). *Contributions on Entomology, International*, 1(3): 235-439.
- Konstantinov A. S., Prathapan K. D. y Vencel F. V.** (2018). Hiding in plain sight: leaf beetles (Chrysomelidae: Galerucinae) use feeding damage as a masquerade decoy. *Biological Journal of the Linnean Society*, 123(2): 311-320.
- Lack D. y Owen D. F.** (1955). The food of the swift. *Journal of Animal Ecology*, 24: 120-136.
- Lindroth C. H.** (1971). Disappearance as a protective factor. *Insect Systematics & Evolution*, 2(1): 41-i.
- Liu M. H., Blamires S. J., Liao C. P. y Tso I. M.** (2014). Evidence of bird dropping masquerading by a spider to avoid predators. *Scientific Reports*, 4: 5058.
- Maulik S.** (1929). On the structure of the hind femur in halticine beetles. *Proceedings of the Zoological Society of London*, 99(2): 305-308.
- Nadein K. y Betz O.** (2016). Jumping mechanisms and performance in beetles. I. Flea beetles (Coleoptera: Chrysomelidae: Alticini). *Journal of Experimental Biology*, 219(13): 2015-2027.
- Newman M. E.** (2006). Modularity and community structure in networks. *Proceedings of the national academy of sciences*, 103(23): 8577-8582.

Owen D. F. (1955). Coleoptera taken by swifts (*Apus apus* L.). *Journal of the Society for British Entomology*, 5: 105-109.

Prathapan K. D., Konstantinov A. S., Shameem K. M. y Balan A. P. (2013). First record of leaf-hole shelters used and modified by leaf beetles (Coleoptera, Chrysomelidae), with descriptions of two new *Orthaltica* Crotch species from southern India. *ZooKeys*, 336: 47.

Quicke D. L. (2017). *Mimicry, crypsis, masquerade and other adaptive resemblances*. John Wiley & Sons, West Sussex (England).

R Core Team (2019). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.

Ren J., de Gunten N., Konstantinov A. S., Vencel F. V., Ge S. y Hu D. L. (2018). Chewing Holes for Camouflage. *Zoological science*, 35(3): 199-208.

Serban M. (2020). Exploring modularity in biological networks. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 375(1796): 20190316.

Skelhorn J., Rowland H. M. y Ruxton G. D. (2009). The evolution and ecology of masquerade. *Biological Journal of the Linnean Society*, 99(1): 1-8.

Skelhorn J., Rowland H. M., Speed M. P. y Ruxton G. D. (2010). Masquerade: camouflage without crypsis. *Science*, 327(5961): 51-51.

Whitehead P. F. (1991). Observations on Coleoptera in the diet of two bird species in Worcestershire. *The Entomologist's Record and Journal of Variation*, 103: 81-82.

Wiens J. J. y Graham C. H. (2005). Niche conservatism: integrating evolution, ecology, and conservation biology. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 36: 519-539.

Xiao F. y Cuthill I. C. (2016). Background complexity and the detectability of camouflaged targets by birds and humans. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 283(1838): 20161527.

Fotografías de la portada: *Psylliodes affinis* (izquierda) y *Aphthona euphorbiae* (derecha), Udo Schmidt.
Licencia de distribución Attribution-ShareAlike 2.0 Generic (CC BY-SA 2.0) de Creative Commons.