



Diversidad genética de los Cicindelini
ibéricos. Comentarios sobre
Cephalota (Taenidia) deserticoloides
(Codina, 1931) e implicaciones
para su conservación

Alejandro López López

Trabajo Fin de Máster
Curso 2008-09



Dirección: Dr. José Galián Albaladejo
Departamento de Zoología y Antropología Física

Resumen

En este trabajo se realiza un análisis filogenético de 13 de las 21 especies de Cicindelini presentes en la península Ibérica. El análisis sitúa al género *Cephalota* como un taxón basal dentro de este grupo. Así mismo, las especies *Cicindela campestris* y *C. maroccana* muestran una estrecha relación como taxones hermanos; dentro de estas especies se observa una correlación entre geografía y filogenia. La especie amenazada *Cephalota deserticoloides* muestra una mayor diversidad genética de la establecida por trabajos previos; este trabajo propone unas recomendaciones para la elaboración de un plan de conservación para esta especie.

Palabras clave: *Cicindela*, filogenia, sureste ibérico.

Abstract

A phylogenetic analysis of 13 of the 21 species of Cicindelini of the Iberian Peninsula has been carried out. The analysis places the genus *Cephalota* as a basal taxon within this group. Likewise, the species pair *Cicindela campestris* and *C. maroccana* show a close relationship as sister taxa; within these species a correlation between geography and phylogeny has been observed. The endangered species *Cephalota deserticoloides* shows a greater genetic diversity than previously described; recommendations for the establishment of a conservation plan for this species are proposed.

Key words: *Cicindela*, phylogeny, Southeastern Iberian Peninsula.

Introducción

Los escarabajos tigre o cicindélidos conforman un grupo de Coleópteros compuesto por aproximadamente 2300 especies (Pearson & Vogler 2001) distribuidas por todos los continentes. Ocupan una amplia variedad de hábitats, con los que algunas especies poseen una especificidad muy elevada que las hace útiles como indicadores del estado ecológico de los mismos.



Figura 1: Primer plano de un cicindélido adulto (izquierda, fotografía de Igor Siwanowicz), un túnel de larva (centro) y una larva obstruyendo la entrada a su túnel con su cabeza (derecha, fotografías de A.J. Silverside).
Figure 1: Close up of an adult tiger beetle (left, photograph by Igor Siwanowicz), a larvae tunnel (center) and a larvae blocking his tunnel entry with his head (right, photographs by A.J. Silverside).

Los cicindélidos se distinguen de otros grupos de coleópteros por sus largas mandíbulas en forma de hoz con dientes simples alineados a lo largo de su borde interior, su cuerpo alargado, su ancha cabeza con ojos de gran tamaño, sus largas patas marchadoras y el comportamiento excavador de túneles característico de los estadios larvarios. Los adultos son cazadores activos, mientras que la larva embosca a sus presas desde su galería (Figura 1).

Los escarabajos tigre han sido estudiados desde múltiples puntos de vista y disciplinas: sistemática, biología, ontogenia, ecología, etología, biogeografía, citogenética, filogenia, etcétera (Pearson et al. 1988, Knisley & Schultz 1997, Pearson & Vogler 2001, Galián et al. 2007 y referencias allí citadas).

En la actualidad se encuentran registradas 21 especies de cicindélidos presentes en la península Ibérica (Serrano 2003), de las cuales 20 pertenecen a la tribu Cicindelini y una (*Grammognatha euphratica* Dejean, 1822) a la tribu Megacephalini.

Dentro de la tribu Cicindelini podemos diferenciar cinco géneros. El género *Cephalota* comprende a seis especies, entre las cuales se incluye la especie *Cephalota (Taenidia) deserticoloides* (Codina, 1931), un endemismo del sureste ibérico muy amenazado, o la recientemente descrita *Cephalota (Taenidia) dulcinea* López, De la Rosa y Baena, 2006. El género con mayor abundancia de especies es el género *Cicindela s.str.*, con nueve miembros. Los géneros *Cylindera*, *Lophyra* y *Myriochila* presentan un menor número de especies, incluyendo 3 el primero y estando los otros dos representados por una sola especie cada uno.

Dos especies de Cicindelini muy comunes distribuidas a lo largo de toda la península Ibérica son *Cicindela campestris* Linnaeus 1758 y *Cicindela maroccana* Fabricius, 1801 (Figura 2). La primera de ellas presenta una distribución paleártica, mientras que la segunda está restringida a la mitad occidental de la cuenca mediterránea. Ambas especies presentan una morfología y hábitos muy similares, habiendo sido separadas recientemente (Rivalier 1950) en base a caracteres morfológicos del órgano copulador masculino. Se suele considerar que *C. maroccana* es la vicariante bético-rifeña de *C. campestris*.

Estas especies han sido abordadas desde diversos puntos de vista, como es el citogenético y filogenético (Galián & Vogler 2003), mostrando un elevado grado de parentesco que ha llevado a algunos autores a postular posibles fenómenos de hibridación entre ambas.

La especie *Cicindela deserticoloides* (Figura 3), actualmente considerada por ciertos autores como *Cephalota (Taenidia) deserticoloides* (Lorenz 2005), se trata de un endemismo del sureste ibérico restringido a las provincias de Murcia y Alicante. Habita en saladares con un reducido grado de alteración antrópica, cada vez más escasos y fragmentados. Se ha recolectado históricamente en los saladares del Guadalentín, la rambla de Ajauque, Arneva, San Isidro, la laguna de el Hondo y las salinas de Santa Pola.



Figura 2: Un ejemplar de *C. campestris* (izquierda) y otro de *C. maroccana* (derecha).
Figure 2: Individuals of *C. campestris* (left) and *C. maroccana* (right).



Figura 3: Un ejemplar de *C. deserticoloides*.
Figure 3: An individual of *C. deserticoloides*.

Esta especie fue abordada desde un punto de vista genético en el trabajo de Diogo et al. (1999), quienes revelaron una escasa diversidad genética hallando tan sólo una mutación entre cada una de las tres poblaciones que analizaron.

Los cicindélidos han sido objeto de numerosos estudios filogenéticos para conocer las relaciones genealógicas o evolutivas entre las diferentes especies, como es el caso del trabajo de Vogler & Pearson (1996), de Vogler & Welsh (1997), el de Vogler et al. (2005) o el estudio de

Galián et al. (2002). Todos ellos engloban a la mayoría de grupos de cicindélidos; sin embargo otros autores han realizado estudios más específicos para ciertos grupos, como Cardoso & Vogler (2005) o Pons et al. (2006).

Recientemente ha hecho su aparición una metodología conocida como código de barras de ADN (Hebert et al. 2003) para identificar organismos usando técnicas moleculares y comparaciones en bases de datos. También permite identificar, por ejemplo, estadios larvarios de dudosa afiliación taxonómica, especialmente en grupos para los que no existen descripciones de los estadios larvarios de todas las especies que lo componen. Esta metodología fue empleada con ese fin por Ahrens et al. (2007) con larvas de escarabeoideos.

La molécula más utilizada para estudios filogenéticos y la aplicación del código de barras de ADN es el ADN mitocondrial, debido a las ventajas que presenta frente al ADN nuclear. Dado que se presenta en gran número en cada célula, su extracción es más fácil. Así mismo, no posee ADN repetitivo, pseudogenes, intrones u otras estructuras que puedan afectar a los análisis. Su tasa de mutación es mayor que la del ADN nuclear, cuyas secuencias a menudo son idénticas en diferentes especies. Además se hereda monoparentalmente, por lo que se evitan los efectos derivados del fenómeno de la recombinación meiótica. Uno de los genes mitocondriales más frecuentes en trabajos de filogenia y filogeografía es el de la subunidad I de la citocromo oxidasa (COI), aunque actualmente comienzan a emplearse otros marcadores.

Hasta la fecha no ha sido abordado el conjunto de Cicindelini ibéricos en un contexto filogenético. Trabajos previos indican que el origen de los cicindélidos tuvo origen en la época inicial de la fragmentación de Gondwana hace 150 millones de años (cifrado de Hunt et al. 2007). Debido a este temprano origen, los linajes iniciales de los cicindélidos quedaron repartidos en todas las grandes masas continentales resultantes, extendiéndose posteriormente a las masas resultantes de la fragmentación de Laurasia. Por este motivo las especies presentes en la península Ibérica no constituyen un grupo monofilético, sino que constituyen linajes cuyos parientes más cercanos se encuentran en otras regiones biogeográficas. En el presente trabajo se va a poner a prueba esta hipótesis analizando un fragmento del gen mitocondrial de la citocromo oxidasa I, utilizando secuencias propias y otras obtenidas de las bases de datos públicas. Adicionalmente, conocer las afinidades genealógicas de las diferentes especies de este grupo ayudará a aclarar relaciones taxonómicas dudosas y a crear un marco de partida para futuros estudios. Así mismo, se pretende poner a prueba la metodología para identificación de estadios larvarios de insectos por código de barras de ADN, tal como proponen Ahrens et al. (2007), en el caso de unas larvas capturadas en Alhama de Murcia, asociadas de forma tentativa a la

especie *C. deserticoloides* en base al hábitat y localización geográfica en los que fueron halladas. Además, los datos moleculares que se obtengan para la especie *C. deserticoloides* ayudarán a aclarar el estado de diversidad genética que presenta esta especie, gravemente amenazada.

Material y métodos

Material

Los ejemplares empleados en este trabajo tienen diversas procedencias (Tabla 1): a) ejemplares capturados durante el último año (2008/09), preservados en etanol absoluto hasta su análisis; se incluyeron cuatro larvas capturadas en Alhama de Murcia, en un área de presencia potencial de *C. deserticoloides*; y b) material preservado en etanol absoluto en el Área de Biología Animal del Departamento de Zoología y Antropología Física de la Universidad de Murcia. Además para los análisis filogenéticos se añadieron secuencias de diferente origen (Tabla 1): c) secuencias disponibles en las bases de datos públicas (GenBank), y d) secuencias de *C. campestris* y *C. maroccana* obtenidas por Daniel Durán y José Galián (no publicadas).

Obtención de las secuencias

El ADN fue extraído a partir de los diferentes ejemplares preservados en etanol absoluto empleando el kit de extracción Invisorb[®] Spin Tissue Mini Kit. Fue amplificada una región de unas 800 pares de bases del gen de la citocromo oxidasa I (COI) mitocondrial utilizando para ello un programa estándar de la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), realizada mediante los beads de PCR suministrados por la empresa GE Healthcare Co. y los cebadores Jerry (CAACATTTATTTTGATTTTTTGG) y Pat (TCCAATGCACTAATCTGCC-ATATTA). Tras comprobar en un gel de agarosa al 1'5% que la reacción había tenido lugar, el ADN fue separado del resto de productos de la PCR mediante el protocolo estándar de purificación con isopropanol y acetato amónico. Finalmente la secuencia, tras medir la concentración de ADN en un Nanodrop 1000 de Thermo Fisher Scientific[®], fue obtenida en un secuenciador automático ABI Prism 3130 de Applied Biosystems[®] propiedad del Servicio de Apoyo a la Investigación de la Universidad de Murcia.

Análisis filogenético

El alineamiento de las secuencias fue realizado utilizando el programa MEGA 4 (Tamura et al. 2007), y posteriormente fueron editadas para eliminar los extremos con baja resolución, quedando un fragmento de una longitud de 613 pares de bases. Se construyeron dos matrices (tabla 1). La primera matriz contenía todas las especies de Cicindelini ibéricos para las que se obtuvieron secuencias, junto con otras especies de otras regiones biogeográficas, empleando el subgénero australiano *Rivacindela* como grupo externo. La segunda matriz comprendía todas las secuencias disponibles de *C. campestris* y *C. maroccana*, obtenidas por D.P. Duran y J. Galián, junto con una de las secuencias de *C. iberica* procedentes de la base de datos GenBank como grupo externo.

Las matrices resultantes fueron sometidas a sendos análisis de Neighbor-Joining usando el modelo de 2 parámetros de Kimura como modelo de sustitución nucleotídica, obteniendo un fenograma de los Cicindelini ibéricos y otros de las especies *C. campestris* y *C. maroccana*. Las matrices de datos fueron exportadas a formato Nexus para su análisis en el programa TNT 1.1. (Goloboff et al. 2003). En él fueron realizados dos análisis de Máxima Parsimonia utilizando como algoritmo de intercambio el TBR. Con los 110 árboles obtenidos para todos los Cicindelini fue obtenido el árbol de consenso estricto, así como con los 40 árboles resultantes del análisis de la matriz de *C. campestris* y *C. maroccana*. Tanto sobre los fenogramas de Neighbor-Joining como sobre los cladogramas de Máxima Parsimonia fue implementado el algoritmo de *bootstrap* mediante los respectivos programas para medir la validez de los nodos obtenidos.

Previamente al análisis de Inferencia Bayesiana, las matrices de datos fueron introducidas en el programa jMODELTEST 0.1 (Posada 2009) para determinar qué modelo de sustitución nucleotídica se ajustaba mejor a los datos. Posteriormente fueron realizados los respectivos análisis de Inferencia Bayesiana en el programa MRBAYES 3.1.2 (Huelsenbeck & Ronquist 2001), implementando como modelo de sustitución nucleotídica el TPM2uf (Modelo de Dos Frecuencias) (Kimura 1981). El análisis para todos los Cicindelini se mantuvo durante 2 millones de generaciones, hasta que la desviación típica fue menor a 0'01 (Ronquist et al. 2005), mientras que el correspondiente a las especies *C. campestris* y *C. maroccana* precisó de únicamente 510000 generaciones para alcanzar ese valor.

Resultados

Los análisis de Neighbor-Joining y de Máxima Parsimonia no logran resolver los nodos basales del árbol, obteniéndose ciertas incongruencias, todas ellas con valores de *bootstrap* reducidos. Sin embargo, el análisis de Inferencia Bayesiana (Figura 4) sí muestra un cladograma congruente con la clasificación taxonómica tradicional, soportado por unos valores de probabilidad posterior mayores del 50%.

En este cladograma se observa la agrupación de todas las especies pertenecientes al género *Cephalota*, dentro del cual se presenta una politomía no resuelta entre tres diferentes grupos: a) *C. deserticoloides*, b) *C. maura* y su taxón hermano *J. chloropleura*, el cual no pertenece al género *Cephalota*, y c) *C. dulcinea*, *C. circumdata* y *C. litorea*. Este género conforma el grupo hermano del resto de Cicindelini. Dentro de este último grupo los representantes ibéricos se dividen en diversos agrupamientos. Por un lado se recuperan las especies *C. littoralis* y *L. flexuosa* como taxones hermanos, formando un grupo hermano de las especies *C. germanica* y *C. fabriciana*. Las restantes especies de Cicindelini ibéricos se presentan conformando un único grupo monofilético, relacionado con las especies *C. parowana* y *L. chloris*. Este grupo se muestra dividido en dos subgrupos monofiléticos. En uno de ellos se incluyen las especies *C. iberica*, *C. lusitanica* y *C. hybrida*, mientras que el otro está compuesto por los ejemplares de *C. campestris* y *C. maroccana*, junto con la especie asiática *C. japana*. Las larvas capturadas en Alhama de Murcia se muestran incluidas en el clado correspondiente a *C. campestris*.

El análisis de Inferencia Bayesiana particular para las especies *C. campestris* y *C. maroccana* muestra una clara separación de ambas (Figura 5).

Dentro de *C. maroccana* se muestra el ejemplar capturado en Santa Inés (Burgos) separado y en una posición basal respecto al resto de ejemplares de esta especie, todos ellos capturados en el sureste de la península Ibérica. Este grupo se divide en dos, uno de ellos compuesto por el ejemplar capturado en Riopar (Albacete) y el disponible en la base de datos GenBank (de localidad desconocida), y el otro compuesto por los ejemplares procedentes del norte de la Región de Murcia.

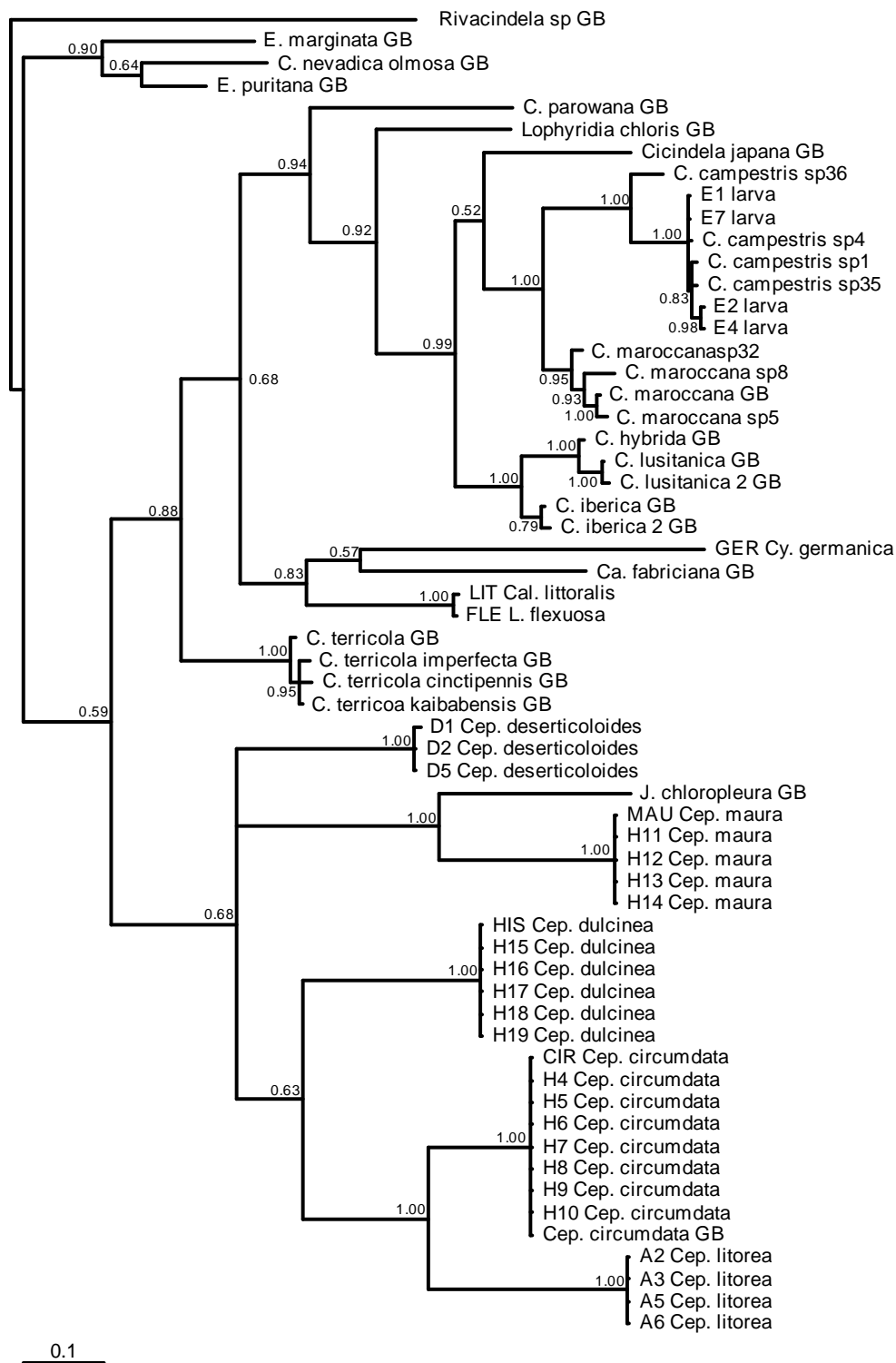
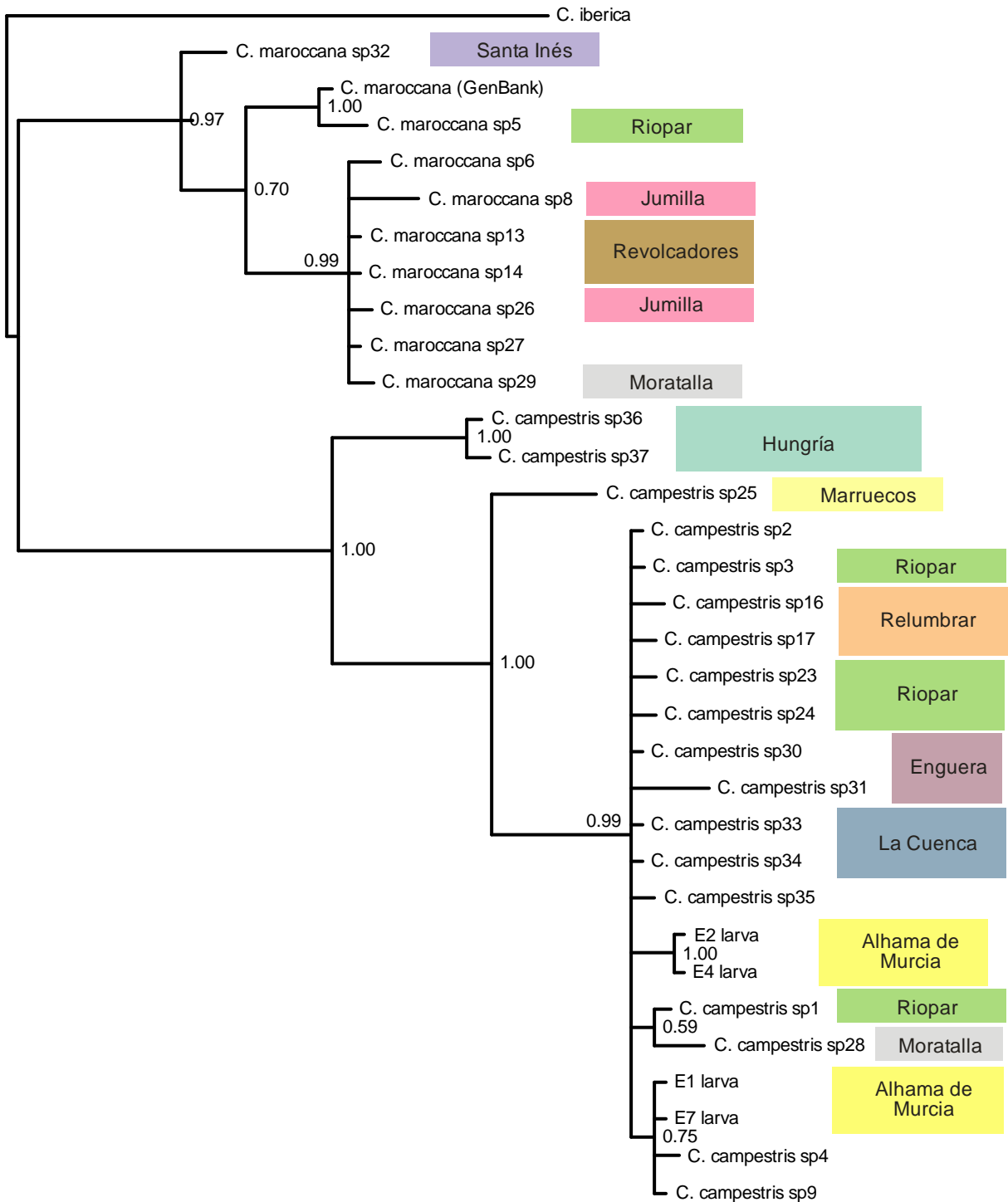


Figura 4: Cladograma de Inferencia Bayesiana obtenida en el análisis de los Cicindelini ibéricos. Se muestra en cada nodo su valor de probabilidad posterior.

Figure 4: Bayesian Inference cladogram obtained from the analysis of all Iberian Cicindelini. Posterior probability values are shown at each node.



0.1

Figura 4: Cladograma de Inferencia Bayesiana obtenida en el análisis de los *C. campestris* y *C. maroccana*. Se muestra en cada nodo su valor de probabilidad posterior.

Figure 4: Bayesian Inference cladogram obtained from the analysis of *C. campestris* and *C. maroccana*. Posterior probability values are shown at each node.

En *C. campestris* se recuperan los dos ejemplares procedentes de Rila (Hungría) en una posición basal. El ejemplar capturado en Marruecos también se halla situado basalmente. El resto de ejemplares forman una politomía no resuelta formada por todos los individuos procedentes de la península Ibérica.

Las larvas halladas en Alhama de Murcia se muestran incluidas en el grupo de las *C. campestris*, separadas en dos clados: uno de ellos conformado por las larvas E2 y E4, y el otro por las larvas E1 y E7 junto con dos ejemplares de procedencia desconocida.

Discusión

Filogenia de los Cicindelini ibéricos. Género *Cephalota*.

El análisis filogenético muestra una división de los Cicindelini ibéricos en dos grupos separados y monofiléticos: por un lado el género *Cephalota* y por el otro el resto de géneros, por tanto las especies ibéricas de cada uno de los dos grupos habrían tenido orígenes diferentes. Por esta razón se acepta la hipótesis de partida que indica que los Cicindelini ibéricos no constituyen un grupo monofilético. Para el género *Cephalota* no se disponía de datos filogenéticos, no habiendo sido incluidos en el estudio realizado por Vogler et al. (2005). En base a los datos obtenidos en este trabajo, este género ocuparía la posición basal respecto al resto de Cicindelini ibéricos, incluidos en los géneros *Cicindela s. str.*, *Cylindera* y *Lophyra*.

Llama la atención la inclusión del taxón *Jansenia chloropleura* junto a *C. maura*, posición que se repite en todos los análisis. *C. maura* es considerada por ciertos autores como perteneciente a su propio género (*Cassolaia*) (Wiesner 1985), aunque en este análisis se muestra formando parte del género *Cephalota* como parte de una tritomía que podrá ser resuelta incluyendo más ejemplares. Este hecho implica que debe revisarse la taxonomía de este grupo, posiblemente incluyendo a *J. chloropleura* junto con *C. maura* en el género *Cephalota*.

Las especies *L. flexuosa* y *C. (Calomera) littoralis* poseen una cercana relación, tal como se desprende de la escasa distancia que las separa. Ambas se muestran emparentadas con la especie europea *C. germanica* y *C. fabriciana*, de la India. La posición de *C. littoralis*, separada del resto de especies del género *Cicindela s. str.*, indica que posiblemente el subgénero al que pertenece, *Calomera*, deba ascender a la categoría de género. No obstante, este análisis

debería ser completado con representantes de otras especies pertenecientes a este subgénero antes de revisar su taxonomía.

Dentro del género *Cicindela s. str.* se enclava la especie *Lophyridia chloris*, indicando que debería revisarse el estatus taxonómico de esta especie o el de *C. parowana*, en una posición más basal.

Las especies de *Cicindela s. str.* de la península Ibérica se dividen en dos grupos, como ya se ha indicado. En el primero de ellos se recuperan con un alto grado de relación las especies *C. iberica*, cuya distribución se limita a España, y *C. lusitanica*, residente en Portugal. Con esta última se muestra estrechamente emparentada la especie europea *C. hybrida*. No es descartable que estas especies puedan haberse originado en la península Ibérica, expandiéndose posteriormente *C. hybrida* al resto del continente europeo, como indica el trabajo de Cardoso & Vogler (2005).

En el segundo grupo de *Cicindela s. str.* se recuperan las especies *C. campestris* y *C. maroccana*, ambas relacionadas con la especie oriental *C. japana*. De estas dos especies se tratará en el siguiente apartado con más detalle.

Este trabajo no reúne a todas las especies de Cicindelini presentes en la Península Ibérica, de los cuales no han podido capturarse ejemplares o éstos no se mostraban en condiciones de ser sometidos a una extracción de ADN satisfactoria. Estas especies deberían añadirse en un futuro a los análisis realizados en este trabajo con el fin de completar el conocimiento sobre el origen y evolución de los representantes ibéricos de la tribu Cicindelini.

Relaciones dentro del par de especies *C. campestris* y *C. maroccana*

Estas dos especies estrechamente emparentadas se muestran en todos los análisis conformando un grupo monofilético, con una cercana relación entre ambas que confirma este grado de parentesco. No ha sido hallado ningún caso de posible hibridación detectable con el análisis empleado. Un análisis más a fondo, utilizando además otras técnicas como la citogenética (en la línea del trabajo de Galián & Vogler 2003), permitiría disponer de más herramientas para descartar definitivamente la existencia de este tipo de eventos.

Dentro de la especie *C. maroccana* se distinguen tres grupos. El primero de ellos, más basal, estaría conformado por el ejemplar sp32, capturado en Santa Inés (Burgos). En este caso la separación geográfica se corresponde con la separación filogenética, revelando un origen

diferente para esta población. El segundo grupo se compone del ejemplar sp5, capturado en Riopar (Albacete) y la secuencia procedente de la base de datos pública GenBank, cuya localidad de captura no se encontraba especificada. El tercer grupo se revela conformado por las *C. maroccana* capturadas en la Región de Murcia, entre las cuales no existe una elevada variabilidad, salvo en el caso del ejemplar sp8 capturado en Jumilla, que se revela con un cierto grado mayor de separación del resto de ejemplares.

Dentro de *C. campestris* hallamos de nuevo tres diferentes grupos. El más basal de ellos se muestra formado por dos ejemplares, sp36 y sp37, capturados en Rila (Hungría). El segundo grupo se compone de un solo individuo, capturado en Marruecos, mientras que el tercero y más numeroso se revela conformado por los ejemplares procedentes de la península Ibérica. Nuevamente se establece una relación estrecha entre geografía y filogenia.

Se debe remarcar que la procedencia de los ejemplares estudiados, recolectados a lo largo de salidas de campo realizadas por miembros del Área de Biología Animal del Departamento de Zoología y Antropología Física de la Universidad de Murcia, muestra un sesgo importante hacia localidades cercanas a Murcia. Si en el futuro se amplía este estudio, utilizando para ello las técnicas filogeográficas para conocer la historia evolutiva y geográfica de estas especies, se deberían incorporar ejemplares de localidades pertenecientes al resto del área de distribución de cada especie.

Utilidad del código de barras de ADN para identificación de estadios larvarios

Como ha sido comentado, durante una salida de muestreo a Alhama de Murcia para prospectar la presencia de *C. deserticoloides* en un hábitat potencial para esta especie fueron recolectadas una serie de larvas. Una vez en el laboratorio, se observó una correspondencia entre la morfología de las larvas capturadas y las de *C. campestris* descritas en la tesis doctoral de Artur Serrano (1990). Se decidió, ya que no se dispone de la descripción de la larva de *C. deserticoloides*, secuenciar su ADN y aplicar la metodología del código de barras de ADN para determinar, por métodos moleculares, a cuál de las dos especies pertenecían estos estadios larvarios.

En todos los análisis, las larvas se recuperan estrechamente relacionadas con los ejemplares de *C. campestris* y separados de los ejemplares de *C. deserticoloides*. Con estos resultados se puede concluir que dichas larvas pertenecen a la especie *C. campestris*.

La técnica del código de barras de ADN puede ser de utilidad para determinar la identidad de estadíos larvarios en este grupo de insectos, tal como queda demostrado en este trabajo y en el de Ahrens et al. (2007), así como en otros grupos como crustáceos (Barber & Boyce 2006) o incluso vertebrados (Pegg et al. 2006).

***Cephalota (Taenidia) deserticoloides*. Implicaciones para su conservación**

La especie endémica del sureste ibérico *Cephalota deserticoloides* es, posiblemente, la especie de cicindélido más amenazada. A pesar de ello, sólo figura en el Libro Rojo de los Invertebrados de España (Verdú & Galante 2006) (Domingo et al. 2007) con categoría de Vulnerable, siendo ignorada en el resto de catálogos y legislación a nivel regional, nacional y europeo, en los cuales se presenta un sesgo importante hacia la fauna de vertebrados (Warren et al. 2007).

Esta especie posee unos requerimientos de hábitat muy específicos, hecho que, unido al progresivo declive en extensión y naturalidad de los saladares hipersalinos en los que reside, se convierten en el principal factor de amenaza sobre ella. Esta especificidad tan extrema por un tipo de hábitat concreto se muestra como causa de la disminución de las poblaciones de otras especies de cicindélidos, como la especie norteamericana *Cicindela lunalonga* (Woodcock et al. 2007). En la actualidad sólo hay registros de su presencia en los saladares del Guadalentín, la rambla de Ajauque y San Isidro de Albaterra, no habiéndose recolectado ningún individuo en el Hondo o Santa Pola desde hace varios años, a pesar de repetidos intentos.

El estudio genético llevado a cabo por Diogo et al. (1999) reveló una escasa diversidad genética en esta especie, encontrando únicamente una mutación entre individuos de dos poblaciones. Sin embargo, en este trabajo, analizando tres individuos procedentes de la población de San Isidro, se han hallado dos haplotipos diferentes, separados por dos mutaciones. Este hecho implicaría que su situación genética, siendo grave, no es tan extrema como mostraban Diogo y sus colaboradores. Lamentablemente no han podido obtenerse secuencias de un mayor número de individuos, ya que no pudo extraerse ADN de otros ejemplares disponibles en el Área de Biología Animal del Departamento de Zoología y Antropología Física de la Universidad de Murcia, y además no se hallaron individuos en las salidas de prospección realizadas en los saladares del Guadalentín. Se evitó realizar un mayor esfuerzo de muestreo para evitar posibles efectos sobre la viabilidad de las reducidas poblaciones de esta especie.

Orientaciones para la propuesta de un plan de conservación para *Cephalota deserticoloides*.

Indudablemente, un plan de conservación dirigido hacia esta especie debe centrarse en la protección de su hábitat. En la actualidad los saladares en los que habita *Cephalota deserticoloides* se hallan sometidos a una intensa presión antrópica: los saladares del Guadalentín se hallan muy fragmentados y amenazados por la expansión de urbanizaciones y polígonos industriales y la rambla de Ajauque sufre un excesivo pastoreo. Los parches de saladares de San Isidro se ven en peligro por los cambios de los usos del suelo: la localidad en la que se capturaron los tres ejemplares utilizados en este trabajo es utilizada como campo de entrenamiento de perros de caza y además figura como urbanizable en el Plan General de Ordenación Urbana de dicho municipio, hecho que ha sido denunciado por diversas organizaciones con preocupaciones medioambientales como la Asociación de Amigos de los Humedales del Sur de Alicante (ver noticia en la edición para la Vega Baja del diario Información, con fecha 25/02/2009). Todos los saladares figuran en el convenio Ramsar como humedales, y por lo tanto deben ser objeto de protección. En la actualidad, tanto los saladares del Guadalentín como la rambla de Ajauque se encuentran catalogados como Lugares de Importancia Comunitaria siguiendo las directrices de la Directiva Hábitats. Sin embargo, hoy en día esta categoría no evita que sigan viéndose amenazados.

Una sencilla actuación que redundaría en un beneficio inmediato para esta especie podría ser el cercado durante la época de apareamiento (septiembre-octubre) de los lugares utilizados por *Cephalota deserticoloides* para el apareamiento y puesta de los huevos, tal como se está realizando en el caso de la especie americana *Cicindela ohlone* (Pearson & Cassola 2007). Así mismo se debe incrementar el grado de protección de estos hábitats, incluyendo en espacios protegidos aquellos parches de saladar que no se hallen bajo ninguna figura de protección, como es el caso de San Isidro o La Alcanara (Verdú JR & Galante E. 2006).

Siguiendo los pasos propuestos por Pearson & Cassola (2007), en primer lugar se debería conocer mejor el ciclo vital de esta especie, del cual se tienen datos únicamente de la época de reproducción e indicios de un prolongado desarrollo larvario. Además debería incrementarse el conocimiento de su biología y ecología: qué presas consume, sus respuestas a factores ambientales, etcétera. Con estos datos se elaborarían modelos que ayudarían a predecir la respuesta de *Cicindela deserticoloides* frente a las amenazas que afectan a su hábitat.

Finalmente, la aplicación de técnicas moleculares a un mayor número de individuos y poblaciones permitirían conocer con más detalle el estatus genético de la especie, ayudando a seleccionar aquellas poblaciones que requieran un mayor grado de protección por su mayor diversidad genética.

Agradecimientos

Se agradece al personal del Área de Biología Animal del Departamento de Zoología y Antropología Física por la recolección de ejemplares y por su ayuda y sugerencias durante el análisis filogenético. Este trabajo ha sido subvencionado por el proyecto CGL2008-03628 de la Dirección General de Programas y Transferencia de Conocimiento del Ministerio de Ciencia e Innovación.

Bibliografía

- Ahrens D, Monaghan MT & Vogler AP. 2007. DNA-based taxonomy for associating adults and larvae in multi-species assemblages of chafers (Coleoptera: Scarabaeidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 44: 436-449.
- Barber P & Boyce SL. Estimating diversity of Indo-Pacific coral reef stomatopods through DNA barcoding of stomatopod larvae. *Proceedings of the Royal Society of London B* 273: 2053-2061.
- Cardoso A & Vogler AP. 2005. DNA taxonomy, phylogeny and Pleistocene diversification of the *Cicindela hybrida* species group (Coleoptera: Cicindelidae). *Molecular Ecology* 14: 3531-3546.
- Codina A. 1931. Una *Cicindela* (Col.) nueva de España. *Boletín de la Sociedad Entomológica Española* 14: 161-164.
- Diogo AC, Vogler AP, Giménez A, Gallego D & Galián J. 1999. Conservation genetics of *Cicindela deserticoloides*, and endangered tiger beetle endemic to southeastern Spain. *Journal of Insect Conservation* 3: 117-123.
- Domingo J, Montagud S & Sendra A (coord.). 2007. *Invertebrados endémicos de la Comunitat Valenciana*. Generalitat Valenciana: Conselleria de Territori i Habitatge.
- Galián J & Vogler AP. 2003. Evolutionary dynamics of a satellite DNA in the tiger beetles species pair *Cicindela campestris* and *C. maroccana*. *Genome* 46: 213-223.
- Galián J, Hogan JE & Vogler AP. 2002. The origin of multiple sex chromosomes in tiger beetles. *Molecular Biology and Evolution* 19: 1792-1796.
- Galián J, Proença SJR & Vogler AP. 2007. Evolutionary dynamics of autosomal-heterosomal rearrangements in a multiple-X chromosome system of tiger beetles (Cicindelidae). *BMC Evolutionary Biology* 7: 158.
- Goloboff P, Farris J & Nixon K. 2003. TNT: Tree analysis using New Technology. Programa y documentación disponibles desde los autores y en www.zmuc.dk/public/phylogeny.
- Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL & deWaard JR. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London B* 270: 313-321.

- Huelsenbeck JP & Ronquist F. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics* 17: 754-755.
- Hunt T, Bergsten J, Levkanicova Z, Papadopoulou A, St. John O, Wild R, Hammond PM, Ahrens D, Balke M, Caterino MS, Gómez-Zurita J, Ribera I, Barraclough TG, Bocakova M, Bocak L & Vogler AP. 2007. A comprehensive phylogeny of beetles reveals the evolutionary origins of a superradiation. *Science* 318: 1913-1916.
- Kimura M. 1981. Estimation of evolutionary distances between homologous nucleotide sequences. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 78: 454-458.
- Knisley B & Schultz TD. 1997. *The biology of tiger beetles and a guide to the species of the south atlantic states*. Martinsville: Virginia Museum of Natural History.
- López MA, de la Rosa JJ & Baena M. 2006. Descripción de *Cephalota (Taenidia) dulcinea* sp. n. de la Península Ibérica (Coleoptera, Cicindelidae). *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa* 39: 165-170.
- Lorenz W. 2005. *Nomina Carabidarum: A directory of the scientific names of ground beetles*. Alemania: Tutzing.
- Pearson DL & Cassola F. 2007. Are we doomed to repeat history? A model of the past using tiger beetles (Coleoptera: Cicindelidae) and conservation biology to anticipate the future. *Journal of Insect Conservation* 11: 47-59.
- Pearson DL & Vogler AP. 2001. *Tiger beetles: the evolution, ecology and diversity of the cicindelids*. Nueva York: Cornell University Press.
- Pearson DL, Blum MS, Jones TH, Fales HM, Gonda E & White BR. 1988. Historical perspective and the interpretation of ecological patterns: defensive compounds of tiger beetles (Coleoptera: Cicindelidae). *American Naturalist* 132: 404-416.
- Pegg GG, Sinclair B, Briskey L & Aspden WJ. MtDNA barcode identification of fish larvae in the southern Great Barrier Reef (Australia). *Scientia Marina* 70S2: 7-12.
- Pons J, Barraclough TG, Gómez-Zurita J, Cardoso A, Duran DP, Hazell S, Kamoun S, Sumlin WD & Vogler AP. 2006. Sequence-based species delimitation for the DNA taxonomy of undescribed insects. *Systematic Biology* 55: 595-609.
- Posada D. (en prensa). jModelTest: phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution*.

- Rivalier E. 1950. Démembrement du genre *Cicindela* Linné. Rev. Franc. Entomol. 17: 217-244.
- Ronquist F, Huelsenbeck JP & van der Mark P. 2005. MrBayes 3.1 Manual. Versión del 26/05/2005.
- Serrano ARM. 1990. Os cicindelídeos (Coleoptera, Cicindelidae) da Região de Castro Marim-Vila Real de Santo António: biosistemática, citogenética e ecologia. Tesis doctoral: Universidad de Lisboa.
- Serrano J. 2003. Catálogo de los Carabidae (Coleoptera) de la península Ibérica. Monografías S.E.A. 9.
- Tamura K, Dudley J, Nei M & Kumar S. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. Molecular Biology and Evolution 24:1596-1599.
- Verdú JR & Galante E (Eds.). 2006. Libro Rojo de los Invertebrados de España. Madrid: Dirección General para la Biodiversidad, Ministerio de Medio Ambiente.
- Vogler AP & Welsh A. 1997. Phylogeny of North American *Cicindela* tiger beetles inferred from multiple mitochondrial DNA sequences. Molecular Phylogenetics and Evolution 8: 225-235.
- Vogler AP, Cardoso A & Barraclough TG. 2005. Exploring rate variation among and within sites in a densely sampled tree: species level phylogenetics of North American tiger beetles (Genus *Cicindela*). Systematic Biology 54: 4-20.
- Vogler AP & Pearson DL. 1996. A molecular phylogeny of tiger beetles (Cicindelidae): congruence of mitochondrial and nuclear rDNA data sets. Molecular Phylogenetics and Evolution 6: 321-338.
- Warren MS, Bourn N, Brereton T, Fox R, Middlebrock I & Parsons MS. 2007. What have Red Lists done for us? The values and limitations of protected species listing of invertebrates. En: Insect Conservation Biology (Stewart AJA, New TR & Lewis OT, eds.). London: Royal Entomological Society.
- Woodcock MR, Kippenhan MG, Knisley CB & Foster JA. 2007. Molecular genetics of *Cicindela (Cylindera) terricola* and elevation of *C. lunalonga* to species level, with comments on its conservation status. Conservation Genetics 8: 865-877.

Tabla 1: Relación de ejemplares empleados en este estudio, indicando la procedencia del ejemplar o el código de la secuencia en la base de datos GenBank. Se indica además si esa secuencia se empleó en el análisis general de los Cicindelini ibéricos (A) o en el específico para *C. campestris* y *C. maroccana*.

Table 1: List of specimens used in this study, indicating the source of the specimen or the code of the sequence in GenBank database. Whether the sequence was used in the analysis of the Iberian Cicindelini (A) or in the specific analysis for *C. campestris* and *C. maroccana* is also indicated.

Código	Especie	Localidad	Fecha de recolección	Código GenBank	Análisis ¹	
					A	B
A2	<i>Cephalota litorea</i>	Salinas del Rasall	07-2002	-	X	
A3	<i>Cephalota litorea</i>	Salinas del Rasall	07-2002	-	X	
A5	<i>Cephalota litorea</i>	Salinas del Rasall	07-2002	-	X	
A6	<i>Cephalota litorea</i>	Salinas del Rasall	07-2002	-	X	
D1	<i>Cephalota deserticoloides</i>	San Isidro (Estación)	02-10-2008	-	X	
D2	<i>Cephalota deserticoloides</i>	San Isidro (Estación)	02-10-2008	-	X	
D5	<i>Cephalota deserticoloides</i>	San Isidro (Estación)	02-10-2008	-	X	
E1	Larva sin identificar	Alhama (Polígono)	12-05-2009	-	X	
E2	Larva sin identificar	Alhama (Polígono)	12-05-2009	-	X	
E4	Larva sin identificar	Alhama (Polígono)	12-05-2009	-	X	
E7	Larva sin identificar	Alhama (Polígono)	12-05-2009	-	X	
MAU	<i>Cephalota maura</i>	Salinas de Pinilla	05-07-1996	-	X	
CIR	<i>Cephalota circumdata</i>	Salinas de Pinilla	05-07-1996	-	X	
GER	<i>Cylindera germanica</i>	Alemania	1997	-	X	
LIT	<i>Cicindela (Calomera) littoralis</i>	San Isidro (Estación)	02-10-2008	-	X	
HIS	<i>Cephalota dulcinea</i>	Peñahueca (Toledo)	02-06-2000	-	X	
FLE	<i>Lophyra flexuosa</i>	Sierra de Enguera	07-05-2000	-	X	
H4	<i>Cephalota circumdata</i>	Salinas de Pinilla	05-07-1996	-	X	
H5	<i>Cephalota circumdata</i>	Salinas de Pinilla	05-07-1996	-	X	
H6	<i>Cephalota circumdata</i>	Salinas de Pinilla	05-07-1996	-	X	
H7	<i>Cephalota circumdata</i>	Salinas de Pinilla	05-07-1996	-	X	
H8	<i>Cephalota circumdata</i>	Salinas de Pinilla	05-07-1996	-	X	
H9	<i>Cephalota circumdata</i>	Salinas de Pinilla	05-07-1996	-	X	
H10	<i>Cephalota circumdata</i>	Salinas de Pinilla	05-07-1996	-	X	
H11	<i>Cephalota maura</i>	Salinas de Pinilla	05-07-1996	-	X	
H12	<i>Cephalota maura</i>	Salinas de Pinilla	05-07-1996	-	X	
H13	<i>Cephalota maura</i>	Salinas de Pinilla	05-07-1996	-	X	
H14	<i>Cephalota maura</i>	Salinas de Pinilla	05-07-1996	-	X	
H15	<i>Cephalota dulcinea</i>	Peñahueca (Toledo)	02-06-2000	-	X	
H16	<i>Cephalota dulcinea</i>	Peñahueca (Toledo)	02-06-2000	-	X	
H17	<i>Cephalota dulcinea</i>	Peñahueca (Toledo)	02-06-2000	-	X	
H18	<i>Cephalota dulcinea</i>	Peñahueca (Toledo)	02-06-2000	-	X	
H19	<i>Cephalota dulcinea</i>	Peñahueca (Toledo)	02-06-2000	-	X	
C. circumdata (GB)	<i>Cephalota circumdata</i>	-	-	AJ514976	X	
E. marginata (GB)	<i>Ellisoptera marginata</i>	-	-	AJ514980	X	
C. terricola (GB)	<i>C. terricola</i>	-	-	DQ923344	X	
C. nevadica olmosa (GB)	<i>C. nevadica</i> subsp. <i>olmosa</i>	-	-	DQ923378	X	
C. terricola imperfecta (GB)	<i>C. terricola</i> subsp. <i>imperfecta</i>	-	-	DQ923361	X	
C. terricola cincipennis (GB)	<i>C. terricola</i> subsp. <i>cincipennis</i>	-	-	DQ923336	X	
C. maroccana (GB)	<i>Cicindela maroccana</i>	-	-	AJ514962	X	
C. lusitanica (GB)	<i>Cicindela lusitanica</i>	-	-	AJ583534	X	
C. iberica (GB)	<i>Cicindela iberica</i>	-	-	AJ833752	X	X
C. lusitanica 2 (GB)	<i>Cicindela lusitanica</i>	-	-	AJ583536	X	
C. hybrida (GB)	<i>Cicindela hybrida</i>	-	-	AJ833745	X	

¹ A: Análisis de los Cicindelini ibéricos. B: Análisis de las especies *C. campestris* y *C. maroccana*.

Código	Especie	Localidad	Fecha de recolección	Código GenBank	Análisis ¹	
					A	B
C. iberica 2 (GB)	<i>Cicindela iberica</i>	-	-	AJ833751	X	
C. japana (GB)	<i>Cicindela japana</i>	-	-	AJ514963	X	
J. chloropleura (GB)	<i>Jansenia chloropleura</i>	-	-	AJ514989	X	
E. puritana (GB)	<i>Ellisoptera puritana</i>	-	-	AJ514978	X	
C. parowana (GB)	<i>Cicindela parowana</i>	-	-	AJ514965	X	
Ca. fabriciana (GB)	<i>Calochroa fabriciana</i>	-	-	AJ514973	X	
C. terricola kaibabensis (GB)	<i>C. terricola</i> subsp. <i>kaibabensis</i>	-	-	DQ923338	X	
L. chloris (GB)	<i>Lophyridia chloris</i>	-	-	AJ514957	X	
Rivacindela sp (GB)	<i>Rivacindela</i> n. sp.	-	-	AJ618351	X	
sp32	<i>Cicindela maroccana</i>	Santa Inés	desconocida	-	X	X
sp5	<i>Cicindela maroccana</i>	Riopar	desconocida	-	X	X
sp6	<i>Cicindela maroccana</i>	desconocida	desconocida	-		X
sp8	<i>Cicindela maroccana</i>	Jumilla	desconocida	-	X	X
sp13	<i>Cicindela maroccana</i>	Revolcadores	desconocida	-		X
sp14	<i>Cicindela maroccana</i>	Revolcadores	desconocida	-		X
sp26	<i>Cicindela maroccana</i>	Jumilla	desconocida	-		X
sp27	<i>Cicindela maroccana</i>	desconocida	desconocida	-		X
sp29	<i>Cicindela maroccana</i>	Moratalla	desconocida	-		X
sp36	<i>Cicindela campestris</i>	Rila (Hungría)	desconocida	-	X	X
sp37	<i>Cicindela campestris</i>	Rila (Hungría)	desconocida	-		X
sp25	<i>Cicindela campestris</i>	Marruecos	desconocida	-		X
sp2	<i>Cicindela campestris</i>	desconocida	desconocida	-		X
sp3	<i>Cicindela campestris</i>	Riopar	desconocida	-		X
sp16	<i>Cicindela campestris</i>	Relumbrar	desconocida	-		X
sp17	<i>Cicindela campestris</i>	Relumbrar	desconocida	-		X
sp23	<i>Cicindela campestris</i>	Riopar	desconocida	-		X
sp24	<i>Cicindela campestris</i>	Riopar	desconocida	-		X
sp30	<i>Cicindela campestris</i>	Sierra de Enguera	desconocida	-		X
sp31	<i>Cicindela campestris</i>	Sierra de Enguera	desconocida	-		X
sp33	<i>Cicindela campestris</i>	La Cuenca	desconocida	-		X
sp34	<i>Cicindela campestris</i>	La Cuenca	desconocida	-		X
sp35	<i>Cicindela campestris</i>	desconocida	desconocida	-	X	X
sp1	<i>Cicindela campestris</i>	Riopar	desconocida	-	X	X
sp28	<i>Cicindela campestris</i>	Moratalla	desconocida	-		X
sp4	<i>Cicindela campestris</i>	desconocida	desconocida	-	X	X
sp9	<i>Cicindela campestris</i>	desconocida	desconocida	-		X

