



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y SUSTENTABILIDAD

ECOLOGÍA

**FUNCIONES ECOLÓGICAS DE LOS ESCARABAJOS COPRÓFAGOS
(SCARABAEINAE: COLEOPTERA) EN UN PAISAJE ANTROPOGÉNICO
EN EL SUR DE MÉXICO**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS

PRESENTA:

M. EN C. MARIA CAROLINA SANTOS HEREDIA

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DOCTORA ELLEN ANDRESEN

**INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN
ECOSISTEMAS Y SUSTENTABILIDAD, UNAM**

COMITÉ TUTOR: DOCTORA EK DEL VAL DE GORTARI

**INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN
ECOSISTEMAS Y SUSTENTABILIDAD, UNAM**

DOCTOR FEDERICO ESCOBAR SARRIA

INSTITUTO DE ECOLOGÍA, A.C.

MORELIA, MICHOACÁN, NOVIEMBRE 2015.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente.-

Me permito informar a usted, que el Subcomité de (Ecología y Manejo Integral de Ecosistemas), en su sesión ordinaria del día 17 de agosto de 2015, aprobó el jurado para la presentación de su examen para obtener el de grado de **DOCTORA EN CIENCIAS**, de la alumna **MARIA CAROLINA SANTOS HEREDIA** con número de cuenta **512451510** del Posgrado en Ciencias Biológicas, con la tesis titulada "**Funciones ecológicas de los escarabajos coprófagos (Scarabaeinae: Coleoptera) en un paisaje antropogénico en el sur de México**", bajo la dirección de la Dra. Ellen Andresen.

Presidente: Dr. Victor Joaquin Jaramillo Luque
Vocal: Dra. Lucrecia Arellano Gámez
Secretario: Dra. Ek del Val de Gortari
Suplente: Dr. Miguel Martínez Ramos
Suplente: Dr. Federico Escobar Sarria

Sin otro particular, quedo de usted.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 26 de junio de 2015

M. del Coro Arizmendi

Dra. María del Coro Arizmendi Arriaga
Coordinadora del Programa



AGRADECIMIENTOS

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), agradezco la formación recibida y el apoyo durante mis estudios de doctorado.

Agradezco la beca proporcionada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONACyT, que cubrió mis estudios de posgrado (número 262610). A CONACyT (Proyecto SEP-CONACyT 2010-152884) y al Programa de Apoyos a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica, PAPIIT (PAPIIT-UNAM, Proyecto IN-207711) agradezco por financiar mi proyecto de investigación doctoral. En particular, a la UNAM le agradezco por el apoyo de impresión de tesis recibido a través del PAEP.

Agradezco a mi tutora principal la Dra. Ellen Andresen y a los miembros del comité tutorial, la Dra. Ek del Val y el Dr. Federico Escobar, por la impecable dedicación en todas las fases de mis estudios, especialmente por los comentarios que contribuyeron en la calidad del proyecto de investigación y de la tesis.

AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

Al Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad (IIES) de la UNAM y a todos los investigadores y técnicos del IIES, les agradezco por su disposición para aclarar mis dudas. En particular agradezco a la Dra. Julieta Benítez y la Dra. Mayra Gavito, por el préstamo de materiales y equipos. Al Dr. Víctor Jaramillo y a M. en C. Maribel Nava Mendoza agradezco por el análisis de los contenidos de nutrientes foliares. Al Dr. Ernesto Vega, por las tutorías en los análisis estadísticos.

Quiero agradecerle profundamente a Ellen por ser mi tutora durante estos poco más de 9 años, nuestra relación y los productos de ella han llenado de éxitos y satisfacciones mi vida. Gracias a Ellen por ser el mejor ejemplo a seguir, la mejor consejera y amiga, y por contribuir significativamente en mi formación personal y profesional. Especialmente durante estos últimos 4 años de estudios de doctorado agradezco a Ellen por su impecable, cariñosa y certera manera de enseñar. En particular, le agradezco su absoluta confianza y su permanente disposición para realizar la totalidad de las correcciones en las diferentes fases de este trabajo. Agradezco a Ek del Val y Federico Escobar, por sus certeros consejos, amistad y por ir mucho más allá de su labor como miembros del comité tutorial.

Por formar parte de mi jurado de examen de grado y por los valiosos comentarios, agradezco a Dr. Miguel Martínez Ramos, Dra. Lucrecia Arellano Gámez, Dra. Ek del Val de Gortari, Dr. Víctor Jaramillo Luque y Dr. Federico Escobar Sarria.

Agradezco especialmente a M. en C. Fernando Escobar del Instituto de Ecología A.C., Xalapa, Veracruz, por su colaboración en la identificación de las especies de escarabajos.

Agradezco por sus consejos, amistad y colaboración durante mis estudios, a: Dra. Julieta Benítez y Dr. Víctor Jaramillo.

Agradezco al personal de posgrado y administración del IIES, especialmente a Dolores Rodríguez, Janik Equihua, Leonarda Terán y Amaranta Amador por su total apoyo, amable disposición y asistencia durante mis estudios. También agradezco al personal de la coordinación del PCBiol, en especial a la Dra. María del Coro Arizmendi, a Lilia Judith Espinosa y al Dr. Armando Rodríguez, por su asistencia y apoyo durante mis estudios.

Agradezco a Annette González Di Pierro, Rafael Lombera, Miguel Miranda, Isaías Lombera, Juanita Lombera, Don Manuel Lombera, Doña Chana de Lombera e Isidro López Lira por su cariñosa e invaluable asistencia y soporte logístico en mi trabajo de campo.

Agradezco a mis amigos y compañeros Whaleeha Gudiño, Jenny Trilleras, Erick Monterrosa, Erika de la Peña, Juan Luis Peña, Edison Díaz, Omar Hernández, Adriana Aguilar, Lina Urrea, Leonardo Martínez, Rafael Lombera, Annette González Di Pierro, Francisco Mora, Ana Yesica Martínez, Isela Zermeño, y Moy Méndez por compartir maravillosos momentos en familia. Particularmente, agradezco a Edison Díaz, Omar Hernández, Leonardo Martínez y Lina Urrea por su asistencia con los documentos de los tutoriales y de la titulación.

A mi dulce amiga Whaleeha Gudiño, agradezco por su cariño y apoyo logístico imprescindible durante mis estudios.

A mis amados padres y hermanas gracias por ser mi constante apoyo moral y por confiar siempre en mis decisiones.

Agradezco especialmente a mi socio, colega, esposo y padre de mi hija Diego Zárate, por serlo todo y lo máximo en mi vida. En especial quiero agradecerle a Diego por sus importantes e invaluable aportes a esta investigación.

ÍNDICE	Página
LISTA DE FIGURAS	2
LISTA DE TABLAS	4
RESUMEN	5
ABSTRACT	7
INTRODUCCIÓN GENERAL	9
CAPÍTULO PRIMERO	19
Comunidades de escarabajos coprófagos y sus funciones ecológicas en agroecosistemas arbóreos y bosque húmedo tropical	
CAPÍTULO SEGUNDO	54
Upward movement of buried seeds: another ecological role of dung beetles promoting seedling establishment	
CAPÍTULO TERCERO	64
Los escarabajos coprófagos aumentan el crecimiento y el contenido de nutrientes foliares pero disminuyen la supervivencia de plántulas de árboles tropicales	
DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES	89
LITERATURA CITADA	96

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO PRIMERO

Figura 1. Sitios de estudio, estado de Chiapas, México.....	45
Figura 2. Análisis de escalamiento multidimensional (NMDS) de abundancia de todas las especies de escarabajos coprófagos capturados en los sitios de estudio.....	46
Figura 3. Curvas de rango-abundancia en los sitios de estudio.....	47
Figura 4. Atributos de la comunidad de escarabajos coprófagos y cantidad de las funciones ecológicas realizadas, en los sitios de estudio.....	48
Figura A1. Correlaciones entre la remoción de heces y el suelo excavado, la dispersión y la exhumación de semillas.....	51
Figura A2. Correlaciones entre la remoción de heces y el suelo excavado, la dispersión y la exhumación de semillas (excluyendo el hule de los análisis).....	52

CAPÍTULO SEGUNDO

Figure 1. Percentage of plastic beads used as artificial seeds, of three different sizes, exhumed by dung beetles.....	57
Figure 2. Mean number of seedling individuals and seedling species in 1 m ² plots with three different treatments.....	57
Figure 3. Mean number of seedling individuals and seedling species in 0.07 m ² plots with two different treatments.....	58

CAPÍTULO TERCERO

Figura 1. Promedio de las concentraciones de nutrientes foliares de las plántulas experimentales, bajo tres tratamientos diferentes.....	84
--	----

Figura 2. Crecimiento neto a los 6 y 11 meses de las plántulas de <i>Brosimum lactescens</i> bajo tres tratamientos diferentes.....	85
Figura 3. Curvas de supervivencia de plántulas de <i>Brosimum lactescens</i> , bajo tres tratamientos diferentes.....	86
Figura S1. Promedio de las concentraciones de nutrientes foliares en las plántulas bajo los árboles parentales	87
Figura S2. Número de hojas a los 6 y a los 11 meses de las plántulas experimentales, bajo tres tratamientos diferentes.....	88

LISTA DE TABLAS

CAPÍTULO PRIMERO

Tabla A1. Número de individuos y número de especies escarabajos de coprófagos capturadas en los sitios de estudio.....	49
--	----

CAPÍTULO SEGUNDO

Tabla A1. Total number of seedlings established in 1 m ² plots with three different treatments.....	61
Tabla A2. Total number of seedlings established in 0.07 m ² plots with two different treatments.....	62

RESUMEN

Existe un creciente interés por evaluar el impacto de la intensificación del manejo sobre las comunidades de animales que en ellos habitan. También existe un creciente interés en estudiar las funciones ecológicas que la fauna desempeña en los ecosistemas. Sin embargo, aún es poco frecuente que en las investigaciones se midan empíricamente tanto las características de las comunidades animales como las funciones ecológicas que éstas desempeñan. Los escarabajos coprófagos (Scarabaeinae: Coleoptera) constituyen un grupo de insectos muy importante en muchos ecosistemas terrestres, tanto naturales como antropogénicos, por las funciones ecológicas que desempeñan. Estos insectos procesan las heces de animales enterrándolas para su alimentación, con importantes consecuencias ecológicas. El objetivo principal de esta investigación fue estudiar las funciones ecológicas de los escarabajos coprófagos y sus impactos para la dinámica de semillas y plántulas en ambientes alterados y en condiciones naturales en bosques tropicales perennifolios. Para esto, se compararon las características de las comunidades de escarabajos coprófagos (abundancia, riqueza, biomasa y longitud promedio) en tres tipos de agroecosistemas arbóreos (hule, cacao policultivo, cacao rústico) y en el bosque conservado, en el sur de México. Además, se relacionaron dichas características con la cantidad de función ecológica que estos insectos llevan a cabo en cada hábitat (remoción de heces, excavación de suelo, dispersión de semillas y exhumación de semillas). El presente estudio demuestra que la comunidad de escarabajos coprófagos y sus funciones ecológicas son afectadas negativamente en los hábitats que tienen una mayor intensidad de manejo (hule y cacao policultivo). Los cacaotales con manejo rústico mantienen condiciones adecuadas para la comunidad de escarabajos coprófagos y mantienen niveles de funciones ecológicas semejantes al bosque conservado (Capítulo I). Asimismo, se llevaron a cabo tres experimentos de campo en el bosque conservado, con semillas artificiales y con semillas presentes naturalmente en el banco de semillas bajo el suelo, manipulando la

presencia de materia fecal y la actividad de los escarabajos coprófagos. Se demostró que los escarabajos coprófagos a través de su actividad de enterrar las heces, desempeñan una función ecológica no cuantificada previamente: el movimiento ascendente de las semillas enterradas, con consecuencias positivas para el establecimiento de plántulas (Capítulo II). Finalmente, se llevaron a cabo dos experimentos de campo con plántulas, manipulando la presencia de materia fecal y la actividad de los escarabajos coprófagos. Se demostró que la actividad de los escarabajos coprófagos provoca un aumento en los contenidos de nitrógeno y fósforo foliar, así como un aumento en el crecimiento de las plántulas, pero provoca mayor mortalidad de las mismas (Capítulo III). En conclusión, el presente estudio contribuye a nuestro entendimiento sobre algunos de los efectos que la actividad de los escarabajos coprófagos puede tener sobre el destino de semillas y plántulas tropicales. Asimismo, resalta interesantes temas para considerar en estudios futuros.

ABSTRACT

There is growing interest in assessing the impact of the intensification of management on animal communities. There is also a growing interest in studying the ecological functions that animals play in ecosystems. It is still uncommon, however, that investigations measure empirically both the characteristics of the animal communities as well as the ecological functions they perform. Dung beetles (Scarabaeinae: Coleoptera) are a very important group of insects in many terrestrial ecosystems, both natural and anthropogenic, because of the ecological roles they play. These insects process the feces of animals by burying them for food; this behavior has important ecological consequences. The main objective of this research was to study the ecological functions of dung beetles and their impacts on the dynamics of seeds and seedlings in anthropogenically disturbed and conserved tropical forest. To this end, the characteristics of the dung beetle communities (abundance, richness, biomass and mean beetle length) in three types of tree agroecosystems (rubber, cocoa polyculture, rustic cocoa) as well as conserved forest in southern Mexico are compared. In addition, these characteristics were related with the amount of ecological function that these insects carry out in each habitat (removal of feces, soil excavation, seed dispersal and seed exhumation). The present study demonstrates that the community of dung beetles and their ecological functions are negatively affected in habitats with greater management intensity (rubber and cocoa polyculture). The cacao plantations with rustic management maintained conditions suitable for the community of dung beetles and maintained levels of ecological functions similar to those observed in the conserved forest (Chapter I). It was also conducted three field experiments in conserved forest, with artificial seeds and seeds naturally present in the underground seed bank, manipulating the presence of fecal matter and the activity of dung beetles. It was shown that dung beetles, through their activity of burying feces, play a yet

unquantified ecological function: the upward movement of buried seeds, with positive consequences for seedling establishment (Chapter II). Finally, two field experiments were carried out with seedlings, manipulating the presence of fecal matter and the activity of dung beetles. It was shown that dung beetle activity increased foliar phosphorus and nitrogen contents and an increase in seedling growth, but also caused higher seedling mortality (Chapter III). In conclusion, the present study contributes to our understanding of some of the effects that the activity of the dung beetles may have on the fate of tropical seeds and seedlings. It also shows interesting issues to consider in future studies.

INTRODUCCIÓN GENERAL

La transformación de los bosques tropicales por la intensificación agrícola es la mayor causa de pérdida de biodiversidad y amenaza el funcionamiento de estos ecosistemas (Hoekstra *et al.* 2005). Sin embargo, algunas matrices agrícolas, en particular aquellas que mantienen estratos arbóreos, pueden tener un alto valor para la conservación al favorecer la movilidad y/o persistencia de especies nativas de plantas y animales en los paisajes antropogénicos (Tschardtke *et al.* 2012, Teuscher *et al.* 2015).

De especial valor ecológico son aquellos agroecosistemas arbóreos que mantienen una vegetación florísticamente diversa y estructuralmente compleja, como por ejemplo, los cultivos de café y cacao bajo sombra (Perfecto & Vandermeer 2008, Pak *et al.* 2015). Se ha visto que, dependiendo de la intensidad del manejo, algunos de estos agroecosistemas pueden funcionar como hábitats permanentes o temporales para diversos grupos de organismos (Perfecto & Armbrecht 2002, Tschardtke *et al.* 2012). Esto, a su vez, podría ayudar a mantener importantes niveles de las funciones ecológicas desempeñadas por éstos organismos (Williams-Guillén & Perfecto 2010, Borkhataria *et al.* 2012).

Un grupo de animales que lleva a cabo numerosas funciones ecológicas importantes en los ecosistemas terrestres son los escarabajos coprófagos (Scarabaeinae, Coleoptera), un taxón de insectos muy abundante y diverso, particularmente en los bosques tropicales (Hanski & Cambefort 1991). Estos insectos procesan las heces de animales y las entierran para su alimentación y/u oviposición (Halfpeter & Edmonds 1982). Este comportamiento tiene importantes consecuencias en varios procesos ecológicos, como el reciclaje de nutrientes, la aireación del suelo, la absorción de nutrientes por las plantas, el control de plagas y parásitos, y la dinámica del banco de semillas, entre otros (Nichols *et al.* 2008, Scholtz *et al.* 2009).

Las perturbaciones antropogénicas afectan a las comunidades de escarabajos coprófagos a través de cambios en la estructura de la vegetación (Nichols *et al.* 2007), en las

características del suelo, en las condiciones microclimáticas (Estrada & Coates- Estrada 2002; Vulinec 2002) y en las poblaciones de mamíferos que proporcionan el recurso alimenticio para los escarabajos (Andresen & Laurance 2007, Culot *et al.* 2013). Por estos motivos, los escarabajos coprófagos son ampliamente usados como taxón focal en estudios de biodiversidad en bosques tropicales, principalmente en el contexto de los efectos de las perturbaciones del hábitat (Halffter & Favila 1993, Spector 2006, Nichols & Gardner 2011). Sin embargo, y a pesar de su conocida importancia funcional en los ecosistemas, son relativamente pocos los estudios que, además de cuantificar la comunidad de escarabajos, cuantifican empíricamente las funciones de los Scarabaeinae (Dangles *et al.* 2012, Braga *et al.* 2013, Griffiths *et al.* 2015).

Los estudios que usan a los Scarabaeinae como taxón focal generalmente asumen una relación directa entre las características de la comunidad (e.g. riqueza, abundancia, biomasa) y la cantidad de las funciones ecológicas realizadas. Sin embargo, se ha visto que los atributos de la comunidad y sus funciones pueden no seguir el mismo patrón de declive ante un gradiente de intensidad de la perturbación (Slade *et al.* 2011, Dangles *et al.* 2012, Kudavidanage *et al.* 2012, Braga *et al.* 2013, Nichols *et al.* 2013, Hosaka *et al.* 2014). Además, los pocos estudios que miden función, generalmente miden sólo la remoción de heces, asumiendo que esta variable se correlaciona estrechamente con las demás funciones. Sin embargo, esta correlación puede ser débil o ausente, por lo que la cuantificación de las demás funciones también es necesaria (Braga *et al.* 2013).

Varias de las funciones ecológicas de los Scarabaeinae tienen efectos positivos sobre las plantas. En este contexto, una de las funciones más estudiadas en los bosques tropicales es la dispersión secundaria de semillas presentes en las heces que los escarabajos usan como alimento (Andresen 2005, Estrada & Coates-Estrada 1991, Santos-Heredia *et al.* 2010, Santos-Heredia *et al.* 2011). Sin embargo, los escarabajos coprófagos no sólo entierran las

semillas o las mueven horizontalmente, sino que su actividad puede tener otros efectos sobre la estructura y la dinámica del banco de semillas (Feer et al. 2013), y por lo tanto sobre la regeneración de la vegetación. Por ejemplo, como consecuencia de su actividad los escarabajos coprófagos mueven grandes cantidades de suelo de estratos inferiores hacia estratos superiores (Mittal 1993), lo cual puede favorecer la germinación de semillas enterradas en estratos profundos. Se ha visto que semillas que se encuentran a profundidades >5 cm pueden no encontrar condiciones adecuadas para germinar o establecerse como plántulas (Andresen & Feer 2005). En estos casos, las semillas necesitan acercarse a la superficie nuevamente, antes de poder germinar y establecerse (Grant 1983, Donath & Eckstein 2012). Los escarabajos coprófagos, junto con otros mecanismos bióticos y/o abióticos, probablemente también estén jugando un papel importante, previamente no estudiado, en los movimientos ascendentes de las semillas enterradas.

Finalmente, otras funciones derivadas de la actividad de los Scarabaeinae, con importantes consecuencias para las plantas, se conocen únicamente de estudios en sistemas productivos (pastizales, cultivos) y no han sido estudiadas en condiciones naturales de bosques tropicales. En particular, se sabe que la actividad de los escarabajos provoca la bioturbación del suelo, aumentando su porosidad y permeabilidad, lo cual, a su vez, provoca cambios en el pH, en la capacidad de intercambio catiónico y en las propiedades hidrológicas del suelo (Mittal 1993, Bertone *et al.* 2006, Scholtz *et al.* 2009, Brown *et al.* 2010). Además, la actividad de los Scarabaeinae también acelera la incorporación y mineralización de los nutrientes contenidos en las heces (Yokoyama *et al.* 1991). Después de que las heces son enterradas por los escarabajos, las plantas pueden usar los recursos de manera más eficiente (Hanafy 2012). Las heces de los animales contienen nutrientes que son limitantes en los suelos de los bosques tropicales (Hutton *et al.* 1967), por lo que su rápida incorporación al suelo por parte de los escarabajos coprófagos podría favorecer el desempeño de las plantas.

El objetivo principal de esta investigación fue estudiar la comunidad de Scarabaeinae y sus funciones ecológicas en tres tipos de agroecosistemas con estrato arbóreo y en el bosque conservado tropical perennifolio, así como determinar otros efectos que los escarabajos pueden tener sobre la vegetación a través de su comportamiento de enterrar las heces de vertebrados. Para esto, comparamos las características de las comunidades de escarabajos coprófagos (número de individuos, de especies, biomasa y longitud promedio) en tres tipos de agroecosistemas (plantaciones de hule, plantaciones de cacao policultivo y plantaciones de cacao rústico) así como en el bosque conservado, y relacionamos dichas características con la cantidad de función ecológica que estos insectos llevan a cabo en cada hábitat (remoción de heces, suelo excavado, dispersión y exhumación de semillas).

Nuestro estudio demuestra que la comunidad de escarabajos coprófagos y sus funciones ecológicas son afectadas negativamente en los hábitats con mayor intensificación del manejo (hule, cacao policultivo); sin embargo el cacao rústico mantiene condiciones adecuadas para la comunidad de escarabajos coprófagos y mantienen niveles de funciones ecológicas semejantes al bosque conservado (Capítulo I). Asimismo, llevamos a cabo tres experimentos de campo en bosque conservado, con semillas artificiales y con semillas presentes naturalmente en el banco de semillas bajo el suelo, manipulando la presencia de materia fecal y la actividad de los escarabajos coprófagos. Demostramos que los escarabajos coprófagos a través de su actividad de enterrar las heces, desempeñan otra importante función ecológica, a la que llamamos movimiento ascendente de las semillas enterradas, con importantes consecuencias para el establecimiento de plántulas (Capítulo II). Finalmente, llevamos a cabo dos experimentos de campo con plántulas, manipulando la presencia de materia fecal y la actividad de los escarabajos coprófagos. Demostramos que la actividad de los escarabajos coprófagos provoca un aumento en los contenidos de nitrógeno y fósforo foliar en las

plántulas, así como en el crecimiento, pero provoca mayor mortalidad en las mismas (Capítulo III).

En resumen este estudio contribuye al entendimiento sobre algunos de los efectos que la actividad de los escarabajos coprófagos puede tener sobre el destino de semillas y plántulas tropicales. En particular, esta tesis contribuye a entender cómo la intensificación del manejo afecta a la estructura de las comunidades de escarabajos coprófagos y a sus funciones. También, este estudio muestra que el movimiento ascendente de las semillas enterradas por escarabajos coprófagos tiene implicaciones para el establecimiento de las plántulas tropicales y muestra interesantes temas para estudios futuros. Finalmente el presente trabajo contribuye al entendimiento sobre la dinámica del banco de semillas bajo el suelo del bosque y muestra cómo la actividad de los escarabajos coprófagos puede afectar tanto positiva como negativamente la dinámica de plántulas.

LITERATURA CITADA

- Andresen E. 2005. Interacción entre primates, semillas y escarabajos coprófagos en bosques húmedos tropicales: un caso de diplocoria. *Universidad y Ciencia* Número especial II: 73–84.
- Andresen E, & Feer F. 2005. The role of dung beetles as secondary seed dispersers and their effect on plant regeneration in tropical rainforests. Pp. 331–349 en Forget PM, Lambert J, Hulme P, & Vander Wall SB. (eds). *Seed fate: predation, dispersal and seedling establishment*. CABI Publishing, Wallingford.
- Andresen E, & Laurance SG. 2007. Possible indirect effects of mammal hunting on dung beetle assemblages in Panama. *Biotropica* 39: 141–146.
- Bertone MA, Green JT, Washburn SP, Poore MH, & Watson D. 2006. The contribution of tunneling dung beetles to pasture soil nutrition. *Forage and Grazing lands* doi:10.1094/FG-2006-0711-02-RS.
- Borkhataria RR, Collazo JA, & Groom MJ. 2012. Species abundance and potential biological control services in shade vs. sun coffee in Puerto Rico. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 151:1–5.
- Braga RF, Korasaki V, Andresen E, & Louzada J. 2013. Dung beetle community and functions along a habitat-disturbance gradient in the Amazon: A rapid assessment of ecological functions associated to biodiversity. *PLoS ONE* 8: e57786 doi:101371/journalpone0057786.
- Brown J, Scholtz CH, Janeau JL, Grellier S, & Podwojewski P. 2010. Dung beetles (Coleoptera: Scarabaeidae) can improve soil hydrological properties. *Applied Soil Ecology* 46: 9–16.

- Culot L, Bovy E, Zagury Vaz-de-Mello F, Guevara R, & Galetti M. 2013. Selective defaunation affects dung beetle communities in continuous Atlantic rainforest. *Biological Conservation* 163: 79–89.
- Dangles O, Carpio C, & Woodward G. 2012. Size-dependent species removal impairs ecosystem functioning in a large-scale tropical field experiment. *Ecology* 93: 2615–2625.
- Donath TW, & Eckstein RL. 2012. Litter effects on seedling establishment interact with seed position and earthworm activity. *Plant Biology* 14: 163–170.
- Estrada A, & Coates-Estrada R. 1991. Howler monkeys (*Alouatta palliata*), dung beetles (Scarabaeidae) and seed dispersal: ecological interactions in the tropical rain forest of Los Tuxtlas, Mexico. *Journal of Tropical Ecology* 7: 459–474.
- Estrada A, & Coates-Estrada R. 2002. Dung beetles in continuous forest, forest fragments and in an agricultural mosaic habitat-island at Los Tuxtlas, Mexico. *Biodiversity and conservation* 11: 1903–1918.
- Feer F, Ponge JF, Jouard S, & Gomez D. 2013. Monkey and dung beetle activities influence soil seed bank structure. *Ecological Research* 28: 93–102.
- Grant JD. 1983. The activities of earthworms and the fate of seeds. Pp. 107–122 en Satchell JE (ed). *Earthworm ecology from Darwin to vermiculture*. Chapman and Hall, London.
- Griffiths HM, Louzada J, Bardgett RD, Beiroz W, França F, Tregidgo D, & Barlow J. 2014. Biodiversity and environmental context predict dung beetle mediated seed dispersal in a tropical forest field experiment. *Ecology* 96: 1607–1609.

- Halffter G, & Favila ME. 1993. The Scarabaeinae (Insecta: Coleoptera) an animal group for analysing, inventoring and monitoring biodiversity in tropical rainforest and modified landscapes. *Biology International* 27: 15–21.
- Hanski I, & Cambefort Y. 1991. *Dung beetle ecology*. Pp. 463. Princeton, NJ: Princeton University Press.
- Halffter G, & Edmonds WD. 1982. The nesting behavior of dung beetles (Scarabaeinae). Pp. 176. *An ecological and evolutive approach*. Instituto de Ecología, Mexico, D. F.
- Hanafy HEM. 2012. Effect of dung beetles, *Scarabaeussacer* (Scarabaeidae: Scarabaeinae) on certain biochemical contents of leaves and fruits of tomato and squash plants. *Journal of Applied Sciences Research* 8: 4927–4936.
- Hoekstra JM, Boucher TM, Ricketts TH, & Roberts C. 2005. Confronting a biome crisis: global disparities of habitat loss and protection. *Ecology Letters* 8: 23–29.
- Hosaka T, Niino M, Kon M, Ochi T, Yamada T, Fletcher C, & Okuda T. 2014. Effects of logging road networks on the ecological functions of dung beetles in Peninsular Malaysia. *Forest Ecology and Management* 326: 18–24.
- Hutton JB, Jury KE, & Davies EB. 1967. Studies of the nutritive value of New Zealand dairy pastures. V. The intake and utilization of potassium, sodium, calcium, phosphorus and nitrogen in pasture herbage by lactating dairy cattle. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 10: 367–388.
- Kudavidanage EP, Qie L, & Lee JSH. 2012. Linking biodiversity and ecosystem functioning of dung beetles in South and Southeast Asian tropical rainforests. *Raffles Bulletin of Zoology* 25: 141–154.
- Mittal I. 1993. Natural manuring and soil conditioning by dung beetles. *Tropical Ecology* 34: 150–159.

- Nichols E, Larsen T, Spector S, Davis AL, Escobar F, Favila M, & Vulinec K. 2007. Global dung beetle response to tropical forest modification and fragmentation: A quantitative literature review and meta-analysis. *Biological Conservation* 137: 1–19.
- Nichols E, Spector S, Louzada J, Larsen T, Amezcuita S, Favila ME, & TSR Network. 2008. Ecological functions and ecosystem services provided by Scarabaeinae dung beetles. *Biological Conservation* 141: 1461–1474.
- Nichols E, & Gardner TA. 2011. Dung beetles as a candidate study taxon in applied biodiversity conservation research. Pp. 267–291 en Simmons LW, & Ridsdill-Smith TJ (eds). *Ecology and Evolution of Dung Beetles*. John Wiley & Sons, UK.
- Nichols E, Uriarte M, Peres CA, Louzada J, Braga RF, Schiffler G, Endo W, & Spector SH. 2013. Human-induced trophic cascades along the fecal detritus pathway. *PLOS One* 8(10):e75819. doi:10.1371/journal.pone.0075819.
- Pak D, Iverson AL, Ennis KK, Gonthier DJ, & Vandermeer JH. 2015. Parasitoid wasps benefit from shade tree size and landscape complexity in Mexican coffee agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 206: 21–32.
- Perfecto I & Armbrecht I. 2002. The coffee agroecosystem in the neotropics: Combining ecological and economic goals. Pp 159–194 en Vandermeer J (ed). *Tropical agroecosystems, Advances in Agroecology Series*. CRC Press, New York.
- Perfecto I & Vandermeer J. 2008. Biodiversity conservation in tropical agroecosystems: A new paradigm. *Annals of the New York Academy of Science* 1134: 173–200.
- Santos-Heredia C, Andresen E, & Zárate DA. 2010. Secondary seed dispersal by dung beetles in a Colombian rain forest: Effects of dung type and defecation pattern on seed fate. *Journal of Tropical Ecology* 26: 355–364.

- Santos-Heredia C, Andresen E, & Stevenson P. 2011. Secondary seed dispersal by dung beetles in an Amazonian forest fragment of Colombia: influence of dung type and edge effect. *Integrative Zoology* 6: 399–408.
- Scholtz CH, Davis ALV, & Kryger U. (eds.). 2009. *Evolutionary Biology and Conservation of Dung Beetles*. Pp. 567. Pensoft Publishers, Bulgaria.
- Slade EM, Mann DJ, & Lewis OT. 2011. Biodiversity and ecosystem function of tropical forest dung beetles under contrasting logging regimes. *Biological Conservation* 144: 166–174.
- Spector S. 2006. Scarabaeine dung beetles (Coleoptera: Scarabaeidae: Scarabaeinae): An invertebrate focal taxon for biodiversity research and conservation. *The Coleopterists Bulletin* 5: 71–83.
- Teuscher M, Vorlaufer M, Wollni M, Brose U, Mulyani Y, & Clough Y. 2015. Trade-offs between bird diversity and abundance, yields and revenue in smallholder oil palm plantations in Sumatra, Indonesia. *Biological Conservation* 186: 306–318.
- Tscharntke T, Clough Y, Wanger TC, Jackson L, Motzke I, Perfecto I, Vandermeer J, & Whitbread A. 2012. Global food security, biodiversity conservation and the future of agricultural intensification. *Biological Conservation* 151: 53–59.
- Vulinec K. 2002. Dung beetle communities and seed dispersal in primary forest and disturbed land in Amazonia. *Biotropica* 34: 297–309.
- Yokoyama K, Kai H, & Tsuchiyama H. 1991. Paracoprid dung beetle and gaseous loss of nitrogen from cow dung. *Soil Biology and Biochemistry* 23: 649–653.

CAPÍTULO PRIMERO

Comunidades de escarabajos coprófagos y sus funciones ecológicas en agroecosistemas arbóreos y bosque húmedo tropical

Preparado para ser enviado a Oecologia

Carolina Santos-Heredía, Ellen Andresen & Federico Escobar

C. Santos-Heredia

Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad, Universidad Nacional
Autónoma de México, Antigua Carretera a Pátzcuaro No. 8701, Ex-Hacienda de San José de
la Huerta, CP 58090, Morelia, Michoacán, México

Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Ciudad
Universitaria 3000, C.P. 04360, Coyoacán, Distrito Federal, México

E. Andresen (*)

Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad, Universidad Nacional
Autónoma de México, Antigua Carretera a Pátzcuaro No. 8701, Ex-Hacienda de San José de
la Huerta, CP 58090, Morelia, Michoacán, México. email: andresen@cieco.unam.mx

F. Escobar

Red de Ecoetología, Instituto de Ecología, A.C., Xalapa, Veracruz, México

Contribuciones de los autores: CSH, EA, FE formularon la idea, CSH, EA diseñaron la
metodología. CSH realizó el trabajo de campo. CSH, EA, FE analizaron los datos y
escribieron el manuscrito.

RESUMEN

Existe un creciente interés por evaluar el impacto de la intensificación del manejo sobre las comunidades de animales y sus funciones ecológicas, frecuentemente reconocidas como servicios ecosistémicos. Sin embargo, aún es poco frecuente que se relacionen características de las comunidades animales con valores empíricos de la cantidad de función ecológica desempeñada. Mediante trampas de caída y experimentos de campo, estudiamos diferentes atributos de las comunidades de escarabajos coprófagos (abundancia, riqueza, biomasa, tamaño promedio de escarabajo) y cuantificamos sus funciones ecológicas (remoción de heces, excavación de suelo, dispersión de semillas, exhumación de semillas) en tres tipos de agroecosistemas con estrato arbóreo (hule, cacao policultivo, cacao rústico) y en bosque húmedo tropical conservado. En general, el tipo de hábitat afectó a las comunidades de escarabajos y sus funciones, con efectos negativos sobre las variables de respuesta en los hábitats con mayor intensidad de manejo y por lo tanto más perturbados (hule y cacao policultivo). Las plantaciones con mayor intensificación de manejo, como las de hule y cacao policultivo albergan comunidades de escarabajos muy empobrecidas en comparación con el bosque y el cacao rústico, muchas veces con profundos efectos sobre la cantidad de función desempeñada. Por otro lado, el agroecosistema de cacao rústico mostró valores equiparables al bosque bien conservado, para casi todos los atributos de la comunidad y para todas sus funciones. Asimismo, encontramos que, aunque no todas las funciones ecológicas siguieron el mismo patrón de respuesta al cambio de uso de suelo, la cantidad de función estuvo explicada en > 69% por los atributos de la comunidad de escarabajos coprófagos. Concluimos que los cacaotales rústicos estudiados proveen un hábitat propicio para el mantenimiento de las comunidades y de las funciones ecológicas medidas, sin embargo, no es un sustituto de las áreas naturales conservadas. *Palabras clave:* cacao de sombra, dinámica de semillas; hule, Lacandona, remoción de heces; Scarabaeinae; servicios ecosistémicos.

Introducción

Los ecosistemas cuya flora y fauna nativas han sido reemplazadas por cultivos y ganado, actualmente cubren más de un cuarto del área terrestre del planeta (Altieri 2004). La rápida y extensa transformación de los paisajes naturales tiene consecuencias directas para la supervivencia de las especies y para el funcionamiento de los ecosistemas (Alkorta 2003). Sin embargo, la evidencia acumulada en la última década sugiere que algunos tipos de sistemas agrícolas pueden actuar como refugio para la biodiversidad, al constituir un hábitat temporal o permanente para especies nativas de plantas y animales en paisajes antropogénicos, contribuyendo a la conservación de la biodiversidad (Caudill et al. 2015, González-Esquivel et al. 2015, Häger et al. 2015, Tschardtke et al. 2011, Vandermeer et al. 2008).

Para el caso particular de los bosques tropicales, se ha identificado que los agroecosistemas con mayor valor para la conservación de la biodiversidad son los que presentan una estructura compleja de la vegetación, incluyendo un estrato arbóreo (Perfecto & Vandermeer 2008, Tschardtke et al. 2011, Vandermeer & Perfecto 2007). Así, por ejemplo, agroecosistemas en los cuales los cultivos de interés son sembrados bajo un dosel arbóreo (e.g. café, cacao, cardamomo y pimienta), han mostrado su valor como hábitat para diferentes grupos de organismos (e.g., Caudill et al. 2015, Estrada et al. 2012, Goodal et al. 2015, Pak et al. 2015), además de amortiguar los efectos de la pérdida de los hábitats naturales y contribuir a la dinámica funcional del ecosistema. Sin embargo, aún son relativamente pocos los estudios que han cuantificado empíricamente la relación entre las funciones ecológicas y la estructura de las comunidades que habitan en los agroecosistemas (Borkhataria et al. 2012, Johnson et al. 2010, Williams-Guillén & Perfecto 2010, Zárate et al. 2014).

Un taxón animal muy importante en los bosques tropicales, tanto por su abundancia y riqueza, como por las funciones ecológicas que desempeña, es el de los escarabajos coprófagos (Scarabaeinae, Coleoptera). Este grupo de insectos usa las heces de animales,

principalmente de vertebrados herbívoros, para su alimentación y nidificación (Nichols et al. 2008). La gran mayoría de los Scarabaeinae tiene un comportamiento de re-localización de la materia fecal, el cual implica la rápida remoción y enterramiento de las heces mediante la excavación de suelo y la construcción de túneles (Halfpter & Edmonds 1982). Como consecuencia de este comportamiento, los escarabajos coprófagos juegan un papel crucial en varios procesos ecológicos como el reciclaje de nutrientes, la bioturbación del suelo, el control de plagas y parásitos, y la dinámica del banco de semillas (Feer et al. 2013, Nichols et al. 2008, Santos-Heredia & Andresen 2014).

Es reconocido que las perturbaciones antropogénicas de los bosques tropicales afectan negativamente a las comunidades de escarabajos coprófagos (Andresen & Laurance 2007, Nichols et al. 2007, Scholtz et al. 2009, Culot et al. 2013). No obstante, para este grupo de animales también se ha demostrado que algunos tipos de agroecosistemas pueden servir como hábitat (Arellano et al. 2005, Estrada & Coates-Estrada 2002, Giraldo et al. 2011, Neita & Escobar 2012, Pineda et al. 2005). Sin embargo, no todos los agroecosistemas tienen el mismo valor para la conservación ya que diferentes intensidades de manejo y características de la vegetación mantienen diferentes niveles de biodiversidad (Moguel & Toledo 1999, Tisovec *et al.* 2014, Williams-Guillén & Perfecto 2010).

A pesar de que los Scarabaeinae son usados como un taxón focal en estudios aplicados de la biodiversidad enfocados en evaluar los efectos de las perturbaciones del hábitat (Nichols et al. 2007, 2013, Nichols & Gardner 2011), es poco frecuente que se cuantifiquen simultáneamente sus funciones ecológicas. Generalmente los efectos funcionales se deducen a partir de parámetros de las comunidades (e.g. riqueza de especies, abundancia), pero las relaciones entre parámetros y funciones no necesariamente son lineales ó predecibles (Braga et al. 2013, Dangles et al. 2012, Hosaka et al. 2014, Kudavidanage et al. 2012, Slade et al. 2011). Además, aquellos estudios que miden las consecuencias funcionales asociadas a los

cambios en la diversidad de escarabajos coprófagos, generalmente cuantifican la remoción de heces, asumiendo, una relación directa con las otras funciones (Dangles et al. 2012, Horgan 2005, Kudavidanage et al. 2012, Larsen et al. 2005, Slade et al. 2011), lo cual tampoco ocurre necesariamente (Braga et al. 2013, Hosaka et al. 2014, Nichols et al. 2013).

En esta investigación estudiamos las características de las comunidades de escarabajos coprófagos y medimos cuatro de sus funciones ecológicas en tres tipos de agroecosistemas con estrato arbóreo (hule, cacao policultivo, cacao rústico) y en bosque húmedo tropical conservado. Estos cuatro hábitats (hule, cacao policultivo, cacao rústico, bosque) representan diferentes tipos de usos del suelo, que se pueden ubicar en un gradiente de intensidad de manejo. Los objetivos específicos que se abordaron fueron: (i) determinar los efectos del hábitat sobre los atributos de la comunidad de Scarabaeinae (riqueza, abundancia, biomasa, tamaño promedio de escarabajo), (ii) determinar los efectos del hábitat sobre las funciones ecológicas de los escarabajos (remoción de heces, excavación de suelo, dispersión de semillas y exhumación de semillas), y (iii) evaluar la relación entre los atributos de las comunidades y la cantidad de función realizada.

Esperamos encontrar diferencias en las comunidades de escarabajos entre los diferentes tipos de agroecosistemas con estrato arbóreo y el bosque húmedo tropical conservado. En particular, esperamos las diferencias más notorias en las plantaciones con mayor intensificación de manejo. Los efectos sobre las variables de respuesta (número de individuos, número de especies, biomasa y longitud promedio de escarabajos), en relación a los valores observados en el bosque húmedo tropical, serán más notorios en el hule, seguido por el cacao con policultivo, y por último el cacao rústico. También esperamos que, como consecuencia de los cambios en las comunidades de escarabajos coprófagos, los ‘niveles’ de las funciones ecológicas que desempeñan los escarabajos sean afectados negativamente. Por lo tanto, esperamos menores valores para la remoción de heces, la dispersión secundaria de

semillas, la exhumación de semillas y la excavación de suelo, en los cultivos de hule y de cacao policultivo. Por el contrario, esperamos los mayores valores de estas funciones ecológicas en el cacao rústico y en el bosque.

Métodos

Región y sitios de estudio

El estudio se llevó a cabo en la Reserva de la Biósfera Montes Azules (REBIMA) de la Selva Lacandona y en el paisaje antropogénico al este del río Lacantún, en los ejidos de Playón de la Gloria, Loma Bonita y Francisco Grajales, en los municipios de Marqués de Comillas, Ocosingo y Benemérito de las Américas, respectivamente, en el estado de Chiapas. El paisaje al este del río Lacantún está formado por un mosaico de tipos de vegetación entre los cuales figuran: áreas de bosque húmedo tropical (> 1000 ha), fragmentos de bosque, áreas cubiertas por bosques secundarios en diferentes estadios sucesionales, pastizales, cultivos temporales y plantaciones de hule, cacao y palma (Couturier et al. 2012). La zona presenta una temperatura media anual de 22 °C, y una precipitación media anual de 3,000 mm, donde la mayor cantidad de la precipitación (88%) ocurre entre junio y noviembre (Medellín & Equihua 1998). La investigación se llevó a cabo en un periodo de 17 meses (octubre 2011– febrero 2013) en 12 sitios de estudio, 3 en cada uno de los siguientes cuatro hábitats: (i) plantaciones de hule, (ii) plantaciones de cacao policultivo, (iii) plantaciones de cacao rústico; y (iv) bosque conservado (Figura 1).

(i) Hule (*Hevea brasiliensis*). Las tres plantaciones, localizadas en el ejido Francisco J. Grajales, fueron sembradas a principios de los 90' en terrenos totalmente talados, con una separación de 6 m entre hileras y 3 m entre plantas. Al momento de llevar a cabo esta investigación, las plantaciones tenían una altura promedio del dosel de 12 m, y su manejo incluía la completa eliminación de los árboles nativos, la remoción manual constante del

sotobosque y el uso de fertilizantes, pero no de pesticidas (Figura 1a). Las tres plantaciones usadas en la investigación tenían un área de 0.5–0.7 ha, una separación entre sí de 0.8–1 km, y se encontraban inmersas en una matriz de aproximadamente 240 ha de hule con diferentes edades (1–20 años) y manejo (activos o inactivos, con y sin uso de pesticidas). Este mosaico de plantaciones de hule estaba rodeado por pastizales, palma africana y cultivos anuales. El hule es una de las principales especies arbóreas para uso industrial en las regiones tropicales de México y el gobierno fomenta su cultivo en la región. Al momento de esta investigación había hule en 1600 ha de las 2000 ha que comprenden el ejido Francisco J. Grajales.

(ii) Cacao policultivo (*Theobroma cacao*). Las tres parcelas usadas en la investigación, ubicadas en el ejido Loma Bonita, fueron sembradas a principios de los 80' en terrenos totalmente talados. La sombra de dichos cacaotales está conformada principalmente por 6 especies arbóreas que fueron plantadas junto con el cacao (*Pithecellobium saman*, *Erythrina* sp., *Schizolobium parahyba*, *Vochysia guatemalensis*, *Vatairea lundelli*, *Glyricidia* sp.). En el momento de llevar a cabo la investigación eran plantaciones activas, y su manejo incluía la remoción manual constante del sotobosque y el uso de fertilizantes, pero no de pesticidas (Figura 1b). Los tres cacaotales usados tenían un área de 1.8–2.2 ha y se encontraban separados entre sí por 2–5 km. Por un lado colindaban con el río Lacantún y por los otros estaban rodeados por pastizales y otros cultivos temporales (*e.g.* maíz, frijol, plátano).

(iii) Cacao rústico (*Theobroma cacao*). Las tres parcelas, ubicadas en el ejido Playón de la Gloria, fueron sembradas a principios de los 80' insertando las plantas de cacao en el sotobosque de la selva, es decir dejando intacta la mayor parte de la cobertura arbórea original. En el momento de la investigación, las tres plantaciones tenían niveles bajos de extracción de cacao y el manejo únicamente incluía la poda o remoción de muy pocos árboles de sombra (Figura 1c). Estas plantaciones tenían un área de 4–7 ha, estaban separadas por 1–1.5 km y estaban inmersas en una matriz de aproximadamente 120 ha de cultivos de cacao

con diferentes manejos (activos/inactivos, con/sin sombra de árboles nativos, con/sin uso de agroquímicos). Dicho mosaico de cacaotales se encontraba conectado, al momento de nuestro estudio, con un área de bosque (reserva ejidal) de más de 2000 ha. Desde el año 2005 muchos dueños de plantaciones de cacao rústico en la región han talado o abandonado sus parcelas por considerarlos improductivos, debido a la llegada del hongo del cacao (complejo *Phytophthora*).

(iv) Bosque conservado. Los tres sitios de bosque conservado se ubicaron en la REBIMA, a distancias similares del río Lacantún (aprox. 800 m) y con una separación de 5–11 km entre sitios. La mayor parte de la vegetación corresponde a bosque tropical lluvioso (Holdridge 1967), con algunos árboles que alcanzan > 50 m de altura (Figura 1d).

Comunidades de escarabajos coprófagos

Para el muestreo de escarabajos coprófagos se utilizaron trampas de caída cebadas con heces frescas de monos aulladores (*Alouatta pigra*). Cada trampa consistió de un recipiente plástico (9 cm de diámetro x 11 cm de altura) llenado a un tercio de su capacidad con agua jabonosa y enterrado a ras del suelo. Para proteger las trampas de la lluvia, se colocó un techo plástico de 30 cm de diámetro a unos 20 cm por encima de cada trampa. Cada cebo consistió de 30 g de heces colocadas dentro de una bolsita de tul fino, la cual se suspendió a unos 5 cm por encima del borde superior del recipiente enterrado.

Se utilizaron un total de 48 trampas de caída, cuatro en cada uno de los 12 sitios de estudio. Las trampas de cada sitio fueron dispuestas en las esquinas de un cuadro de 50 m x 50 m (distancia recomendada para lograr independencia entre trampas; Larsen & Forsyth 2005). Las trampas fueron abiertas al atardecer (16:00 – 18:00 h) y se mantuvieron abiertas por 48 horas. Las 48 trampas se abrían dentro de un periodo de 10 días. Se realizaron tres muestreos: octubre 2011, febrero 2012 y octubre 2012. La ubicación de las trampas fue la

misma en los tres muestreos. Todos los individuos capturados fueron almacenados en frascos con alcohol y posteriormente identificados a nivel de especie con la ayuda del especialista Fernando Escobar en el Instituto de Ecología A.C., Xalapa, Veracruz, México. Para cada especie se calcularon valores promedio de longitud corporal y peso seco.

Funciones ecológicas de los escarabajos

En la misma temporada de 2012, cuantificamos cuatro funciones ecológicas de los escarabajos coprófagos: remoción de heces, excavación de suelo, dispersión de semillas y exhumación de semillas. Llevamos a cabo un experimento con 48 estaciones experimentales, colocando una estación junto a cada trampa de caída (a 50cm). En cada estación experimental colocamos 50 g de heces frescas de mono aullador una semana antes de la apertura de las trampas de caída. Para cuantificar la dispersión y la exhumación de semillas, colocamos en las heces cuentas plásticas esféricas (a manera de semillas artificiales; Andresen 2002). En cada montículo colocamos 50 cuentas de 4 mm, 20 de 8 mm y 10 de 12 mm (Braga *et al.* 2013). En cada sitio también colocamos una porción de heces protegida por una malla para estimar la pérdida de peso por evaporación.

Dos días después de colocados los montículos de heces en las estaciones experimentales, se recogieron de la superficie del suelo las heces no removidas por escarabajos; estas se pesaron para, por diferencia, calcular la cantidad de heces removidas (haciendo la corrección por evaporación). El suelo excavado por los escarabajos coprófagos, visiblemente reconocible sobre la superficie de cada estación, fue recogido, secado (durante tres días) y posteriormente pesado.

La dispersión de semillas por escarabajos incluye tanto dispersión vertical (semillas enterradas) como dispersión horizontal (Andresen 2002). En el presente trabajo no cuantificamos la dispersión horizontal, sólo la vertical, y por lo tanto en el resto del

documento cuando hablamos de dispersión de semillas o semillas dispersadas, nos referimos a semillas enterradas. Para medir la dispersión de semillas, contamos las cuentas que quedaron en la superficie (con o sin heces) para restarlas del total de cuentas dispuestas en el sitio y calcular el porcentaje de las cuentas dispersadas. Finalmente, para medir la exhumación de semillas, contamos aquellas cuentas que encontramos sobre la superficie del suelo varios meses después de que habían sido enterradas por los escarabajos. Calculamos el porcentaje de semillas exhumadas en base al total de las cuentas que habían sido enterradas en ocasiones previas.

Todo el experimento fue repetido en tres ocasiones: t_1 (octubre 2011), t_2 (febrero 2012), t_3 (octubre 2012), usando cuentas de diferentes colores (moradas en t_1 , rosadas en t_2 y blancas en t_3). Cuatro meses después de t_3 fueron dispuestas 50 g de heces en cada estación experimental, pero sin disponer cuentas (t_4 , febrero 2013). La remoción de heces, el suelo excavado y la dispersión de semillas fueron cuantificados en t_1 , t_2 y t_3 ; la exhumación de semillas fue cuantificada en t_2 , t_3 y t_4 .

Análisis de los datos

Para analizar las comunidades y las funciones de los escarabajos, la unidad muestral fue la trampa y estación experimental, respectivamente (*i.e.* $n = 12$ en cada hábitat). Los datos de las tres repeticiones temporales fueron promediados de tal manera que se tuvo un dato por trampa y estación experimental, para cada variable de respuesta. Las variables de respuesta para los muestreos de escarabajos fueron: número de individuos, número de especies, biomasa y longitud promedio de escarabajos (longitud de cabeza a pigidio). La longitud promedio de escarabajo por trampa es una medida del tamaño representativo de los escarabajos que cayeron en una trampa dada. Esta variable se calculó de la siguiente manera para cada trampa: $[\sum(\text{longitud sp } i * \text{abundancia sp } i) / \sum \text{abundancia sp } i]$, donde $i = 1, 2, \dots, n$, y n es el número de especies capturadas en esa trampa. Las variables de respuesta de las funciones ecológicas

fueron: porcentaje de heces removidas, peso de suelo excavado (g), porcentaje de cuentas dispersadas, porcentaje de cuentas exhumadas. Analizamos los datos usando modelos lineales generalizados (GLM), con el tipo de hábitat como factor fijo. Se utilizó un error quasipoisson para los datos de conteos (número de individuos y de especies) y estructura de error de Gauss para biomasa, longitud promedio y suelo excavado. Se utilizó un error quasibinomial para los datos de porcentajes (remoción de heces, dispersión y exhumación de semillas). Todos los GLM fueron comprobados con análisis residual para evaluar la adecuación de la distribución de los errores (Crawley 2007). Las comparaciones múltiples a posteriori se realizaron con el paquete "multcomp" en el programa estadístico R.

Para detectar diferencias entre los hábitats en términos de las abundancias relativas de las diferentes especies capturadas construimos una curva de rango-abundancia para cada tipo de hábitat y realizamos un análisis de ordenación de las 48 trampas (12 por cada hábitat). La ordenación la realizamos mediante escalamiento multidimensional no métrico utilizando distancia de Sorensen (Bray-Curtis). Para establecer las diferencias entre los grupos usamos Procedimientos de permutación Multi-respuesta (MRPP) en el programa estadístico R, con el paquete "vegan" versión 2.0-7.

Para examinar la correlación entre la remoción de heces y las demás funciones (excavación de suelo, dispersión de semillas y exhumación de semillas), se calcularon los coeficientes de correlación de Spearman. Finalmente, realizamos una regresión multivariada, para relacionar los atributos del ensamble de escarabajos coprófagos en cada trampa con las cantidades de las funciones ecológicas cuantificadas para la estación experimental correspondiente. Usamos el programa estadístico R versión 2.15.3 (R Development Core Team 2013) con el paquete "car" (<http://www.R-project.org/>).

Resultados

Comunidades de escarabajos coprófagos

Colectamos, en los cuatro hábitats, un total de 8785 individuos pertenecientes a 40 especies de la subfamilia Scarabaeinae (material complementario, Tabla A1). En particular, capturamos 17 especies (177 individuos) en hule, 27 especies (1248 individuos) en cacao policultivo, 28 especies (3528 individuos) en cacao rústico, y 37 especies (3832 individuos) en bosque. En general, tres especies representaron el 63% de los individuos capturados:

Eurysternus caribaeus (2976 individuos), *Copris laeviceps* (1471 individuos) y *Onthophagus batesi* (1090 individuos). En los agroecosistemas encontramos una especie exclusiva para cada tipo: *Dichotomius annae* (4 individuos) en hule, *Onthophagus yucatanus* (50 individuos) en cacao policultivo y *Bdelyroptis bowditchi* (443 individuos) en cacao rústico. En el bosque encontramos cuatro especies exclusivas: *Coprophanaeus telamon corythus* (2 individuos), *Deltochilum scabriusculum* (2 individuos), *Onthophagus carpophilus* (2 individuos) y *Uroxys platypiga* (26 individuos).

El análisis de ordenación discriminó tres grupos (stress = 0.178; Linear fit, $R^2 = 0.789$, $P = 0.001$). Un grupo constituido por las trampas del hule, otro grupo con las trampas del cacao policultivo, y un tercer grupo en el cual las trampas del bosque y del cacao rústico no se separan claramente. El 46% de la variación es debida al eje 1 y el 29% al eje 2 (Figura 2a). Sin embargo, al repetir el análisis excluyendo las trampas del hule, se reduce el porcentaje de variación y podemos observar que, en este caso, claramente se distingue el cacao rústico del bosque (stress = 0.178; Linear fit, $R^2 = 0.847$, $P = 0.001$). El 31% de la variación es debida al eje 1 y el 13% al eje 2 (Figura 2b). Por otra parte, en las curvas de rango-abundancia podemos ver *Eurysternus caribaeus*, *Copris laeviceps* y *Onthophagus batesi* fueron especies dominantes en todos los hábitats (entre las cinco primeras), mientras que *Canthon femoralis* no se encontró en los cultivos de hule y *Bdelyroptis bowditchi* fue exclusiva de los cultivos de cacao rústico (Figura 3).

Con respecto a las variables de respuesta expresadas en términos de promedios por trampa, encontramos el mismo patrón observado para el número total de individuos y especies capturados en cada hábitat (ver arriba): bosque > cacao rústico > cacao policultivo > hule (Figura 4a-d). Los análisis mostraron que el efecto del hábitat fue significativo para las cuatro variables (individuos: $F_{3,44} = 84.971$, $P < 0.001$; especies: $F_{3,44} = 134.59$, $P < 0.001$; biomasa: $F_{3,44} = 41.252$, $P < 0.001$; longitud: $F_{3,44} = 10.33$, $P < 0.001$). Para el número de individuos los valores fueron estadísticamente similares entre el bosque y el cacao rústico, pero significativamente menores en el cacao policultivo; además, el hule tuvo los valores significativamente más bajos en comparación a los otros tres hábitats (Figura 4a). Para el número de especies hubo diferencias significativas entre todos los pares de hábitats (Figura 4b). Para la longitud y biomasa promedio de los individuos, los valores fueron estadísticamente similares para el bosque y el cacao rústico, y similares entre el cacao policultivo y el hule, pero significativamente mayores en los dos primeros hábitats (Figura 4c y 4d).

Funciones ecológicas de los escarabajos

Las cuatro funciones ecológicas realizadas por los escarabajos coprófagos fueron afectadas significativamente por el hábitat. Los escarabajos coprófagos removieron más heces en el bosque y en los cacaotales (> 97%) en comparación con el hule (62%; $F_{3,44} = 105.18$, $P < 0.001$; Figura 4e). Los escarabajos excavaron más suelo en el bosque (55 g) y en el cacao rústico (50 g) que en los otros dos hábitats (cacao policultivo: 31 g; hule: 11 g; $F_{3,44} = 47.48$, $P < 0.001$; Figura 4f). Asimismo, los escarabajos coprófagos dispersaron más semillas en el bosque y en el cacao rústico (62–68 %) que en los otros hábitats (15–51 %; semillas chicas: $F_{3,44} = 51.55$, $P < 0.001$; medianas: $F_{3,44} = 20.45$, $P < 0.001$; grandes: $F_{3,44} = 28.53$, $p < 0.001$; Figura 4g). Finalmente, la ocurrencia de la exhumación de semillas sólo fue observada en el

bosque y en cacao rústico y los porcentajes fueron bajos (1–6%; semillas chicas: $F_{3,44} = 281.24$, $P < 0.001$; medianas: $F_{3,44} = 40.29$, $P < 0.001$; grandes: $F_{3,44} = 10.38$, $P < 0.001$; Figura 4h).

Las comparaciones *a posteriori* entre pares de osos del suelo mostraron que el bosque y el cacao rústico tuvieron valores estadísticamente similares para todas las funciones (Figura 4e-h). El cacao policultivo tuvo valores similares al bosque y cacao rústico para la función de remoción de heces y dispersión de semillas medianas. Finalmente, en el hule, la cantidad de función fue significativamente menor, en comparación a los otros tres hábitats, para remoción de heces, excavación de suelo, y la dispersión de los tres tamaños de semillas. Al igual que en el cacao policultivo, la exhumación de semillas no ocurrió en el hule.

Relaciones entre parámetros de la comunidad y funciones ecológicas

La mayoría de las funciones ecológicas de los escarabajos son consecuencia de la remoción de heces. Esto se vio reflejado por correlaciones positivas significativas entre la remoción de heces y las demás funciones (material complementario, Figura A1). Sin embargo, al excluir el hule de los análisis no encontramos correlaciones entre la remoción de heces y las demás funciones (excepto en el caso de exhumación de semillas medianas y grandes, Figura A2).

Por otra parte, los resultados de la regresión multivariada demuestran que la variación en las cuatro funciones ecológicas de semillas son explicadas en un 69% por los cuatro atributos de la comunidad de escarabajos coprófagos ($R^2 = 0.687$, $P < 0.001$). Todas las relaciones entre las funciones y los atributos de la comunidad fueron positivas. En particular, encontramos que la remoción de heces fue influida significativamente por todos los atributos de la comunidad ($R^2 = 0.676$, P 's < 0.030), al igual que la cantidad de suelo excavado ($R^2 = 0.752$, P 's < 0.010), excepto por la longitud promedio. Para la dispersión de semillas,

encontramos que es influida significativamente sólo por el número de especies ($R^2= 0.787$, $P=0.002$). Finalmente, ninguno de los atributos de la comunidad influyó la exhumación de semillas ($R^2= 0.695$, $P's > 0.05$). No obstante, al excluir al hule de los análisis, los resultados de la regresión multivariada demuestran que la variación en las cuatro funciones ecológicas de semillas son explicadas solo en un 36% por los cuatro atributos de la comunidad de escarabajos coprófagos ($R^2= 0.362$, $P=0.005$). En particular, encontramos que el número de especies influyó tanto en la remoción de heces ($R^2= 0.258$, $P's =0.029$) como en la exhumación de semillas ($R^2= 0.787$, $P's =0.017$). Finalmente, ninguno de los atributos de la comunidad influyó ni en la cantidad de suelo excavado ($R^2= 0.340$, $P's > 0.05$) ni en la dispersión de semillas ($R^2= 0.208$, $P's > 0.05$).

Discusión

Intensificación del manejo: comunidades de escarabajos coprófagos y sus funciones

En general, la intensificación del manejo afectó negativamente tanto a los atributos de las comunidades de escarabajos coprófagos, como a las funciones ecológicas que desempeñan. Sin embargo, los cultivos de cacao rústico mostraron valores equiparables al bosque bien conservado, en casi todos los atributos de la comunidad (excepto número de especies) y en todas sus funciones, lo que sugiere la importancia ecológica de estos cultivos para el mantenimiento de las comunidades de los escarabajos coprófagos y las funciones ecológicas que desempeñan. Otros trabajos también han demostrado la capacidad que tienen algunos tipos de agroecosistemas para mantener valores altos de atributos de la comunidad (Nichols et al. 2007). Es posible que nuestros resultados pueden estar influenciados por la gran franja de bosque (>2000 ha) a la cual se encontraba conectada el área de cacao en el momento del estudio. Es reconocido, que la conectividad es un importante aspecto de los

paisajes antrópicos, debido que permite el mantenimiento a largo plazo de muchas especies (Taylor 1993).

A pesar de no encontrar diferencias estadísticas entre el bosque y el cacao rústico (excepto número de especies) sí se observa que los valores de algunas de las variables tienden a ser menores en cacao rústico que en el bosque (número de individuos, suelo excavado, biomasa, semillas dispersadas y exhumadas; Figura 4). Asimismo, en la ordenación de los sitios basada en la abundancia de las especies capturadas, y al excluir a los cultivos de hule del análisis, se puede ver que el cacao rústico es diferente del bosque en cuanto a la estructuración de la comunidad de escarabajos.

Por otra parte, algunos agroecosistemas han mostrado un importante empobrecimiento de las comunidades de escarabajos coprófagos y por tanto de las funciones que desempeñan (Braga et al. 2013, Gardner et al. 2008, Slade et al. 2011). En nuestro estudio, los cultivos de cacao policultivo presentaron menores valores para todos los atributos de la comunidad y las funciones (excepto remoción de heces y dispersión de semillas medianas) en comparación con el bosque y en algunos casos también menores en comparación con los cacaos rústicos (Fig. 7). Creemos que el manejo de estas plantaciones de cacao policultivo y la configuración del paisaje (tamaño pequeño y fuerte grado de aislamiento de las parcelas), han tenido profundos efectos sobre las comunidades de estos insectos en estos sitios. Además, a diferencia de los cacaotales rústicos, los cuales albergaban monos (*Alouatta pigra* y *Ateles geoffroyi*) y otros mamíferos (Zárate et al. 2014), cuyas heces representan una fuente muy importante de recurso alimenticio para los escarabajos, los cacaotales policultivo no albergaban a estos animales (obs. pers.). No obstante, con nuestro estudio no es posible determinar cuáles de las características asociadas a las parcelas de cacao policultivo (tamaño, aislamiento, manejo, presencia de mamíferos) son las más importantes en determinar la comunidad de escarabajos coprófagos. Es necesario que futuros estudios sean realizados en zonas donde haya más

cacaotales y en donde se pueda tener un diseño en el cual diferentes sitios incluyan diferentes combinaciones de factores.

Con respecto a la función de exhumación de semillas nuestros resultados sugieren que el tipo de uso del suelo tiene una fuerte influencia sobre ella, debido a que sólo fue registrada en bosque y en cacao rústico. Es muy probable que la exhumación de semillas dependa de variables no incluidas en este estudio, como las propiedades físicas de los suelos. El bosque y los cacaotales rústicos presentaron suelos con mayor resistencia a la penetración (98 y 120 Psi, respectivamente), en comparación con los cacaotales policultivo y los cultivos de hule (43 y 55 Psi, respectivamente). Esta resistencia a la penetración puede estar relacionada con tipo de suelo (más arcillosos en bosque y cacao rústico, más arenosos en cacao policultivo y hule; obs. pers.) y/o a la cantidad de raíces en el suelo. Estas características podrían provocar que los escarabajos entierren semillas a menor profundidad en suelos más duros y por tanto que sea más probable su posterior exhumación. La exhumación de semillas, pese a que ocurre en bajas proporciones (6%), puede tener importantes consecuencias para la dinámica del banco de semillas y para el establecimiento de plántulas (Santos-Heredia & Andresen 2014). Sin embargo, nosotros no diseñamos un estudio particular para medir la exhumación de semillas, ésta función fue encontrada una vez montado el experimento, por lo tanto estudios futuros podrían considerar implementar en sus metodologías a este interesante y muy poco estudiado aspecto funcional.

Relaciones entre parámetros de la comunidad y funciones ecológicas

En los estudios que cuantifican empíricamente las funciones de los escarabajos, además de los atributos de las comunidades, la remoción de heces es una de la función más frecuentemente evaluada, dada la facilidad para ser cuantificada y por su relación con las demás funciones realizadas por los escarabajos coprófagos (Braga et al. 2013, Nichols et al. 2008). La mayoría de las funciones ecológicas de estos escarabajos son consecuencia directa

de la remoción de heces (Braga et al. 2013, Slade et al. 2007). En este estudio, nosotros también corroboramos la relación que existe entre la remoción de heces y las demás funciones mediante correlaciones positivas significativas (Figura A1). Sin embargo, en los diferentes hábitats la remoción de heces no refleja las demás funciones de manera muy exacta (Braga et al. 2013). Nosotros, encontramos que el suelo excavado, la dispersión de semillas y la exhumación no se correlacionaron fuertemente con la cantidad de heces removidas en cada tipo de hábitat (Figura 7). Asimismo, encontramos que la remoción de heces fue la variable menos sensible al tipo de hábitat. No obstante, al incluir al hule en los análisis observamos que claramente enmascara los patrones cuando se trata de tipos de usos del suelo que no son drásticamente diferentes (Figura A2). Estos resultados demuestran la importancia de medir empíricamente los efectos de la intensificación del manejo sobre las diversas funciones de los escarabajos, en lugar de simplemente usar la remoción de heces como predictor de los efectos que puede haber sobre las otras funciones ecológicas en las cuales participan estos escarabajos.

Conforme a lo encontrado en otros estudios (Bang et al. 2005, Braga et al. 2013, Slade et al. 2007) nosotros encontramos una relación entre los atributos de las comunidades de escarabajos coprófagos (abundancia, biomasa y riqueza) y las funciones ecológicas (69% de la variación explicada). Sin embargo, en estos estudios es muy variable el grado de relación entre los atributos y las funciones. Por otra parte, nuestros resultados sugieren que los atributos de la comunidad de escarabajos que más influyen sobre las funciones ecológicas, son el número de individuos, el número de especies y la biomasa. No obstante, estos atributos no influyeron de igual forma a todas las funciones. En particular, el número promedio de especies por trampa fue el atributo que más funciones influyó, mientras que la longitud promedio de escarabajo fue el atributo que menos funciones influyó. Estudios previos han resaltado también a la riqueza de especies como un importante predictor de la cantidad de

función (Barragán et al. 2011, Dangles et al. 2012, Slade et al. 2007). En la literatura podemos encontrar resultados contradictorios, en donde no siempre los mismos atributos de la comunidad se relacionan con las funciones (Braga et al. 2013, Horgan 2005, Nichols et al. 2013, Slade et al. 2007). Por otra parte, ninguno de los atributos de la comunidad de escarabajos coprófagos medidos influyó la exhumación de semillas. Por lo tanto, atributos de la comunidad no considerados (e.g., grupos funcionales) o el ambiente (e.g., características del suelo), probablemente estén relacionados con la pérdida de las funciones ecológicas realizadas por los escarabajos (Barragán et al. 2011, Braga et al. 2013), en especial de la exhumación de semillas.

En conclusión, los cacaotales rústicos estudiados proveen un hábitat propicio para el mantenimiento de las comunidades y de las funciones ecológicas medidas. Sin embargo, este tipo de agroecosistema aunque importante para la conservación, no sustituye a las áreas naturales conservadas. Nosotros demostramos que el cambio en el uso del suelo afecta a tanto a la estructura como a la función, de las comunidades de escarabajos coprófagos. Nuestro trabajo resalta la importancia de medir empíricamente los efectos de la intensificación del manejo sobre aspectos funcionales de las comunidades de escarabajos, en lugar de simplemente usar parámetros de las poblaciones como reflejo de los efectos que puede haber sobre las funciones.

Agradecimientos

Esta investigación fue financiada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (proyecto de investigación SEP-CONACyT 2010-152884, beca de posgrado CONACyT 245258) y el Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT - UNAM, proyecto IN-207711). Agradecemos a la administración de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SGPA/DGVS/03075/13) y la Comisión Nacional de Áreas

Naturales Protegidas (Oficio No. REBIMA/009/12) por los permisos necesarios y el acceso a la Reserva de la Biósfera de Montes Azules. Al Posgrado en Ciencias Biológicas (PCBIOL) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y al Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad (IIES) de la UNAM, Agradecemos por el apoyo logístico. Este estudio no habría sido posible sin la ayuda en el campo de Diego A. Zárate, Rafael Lomera, Miguel Miranda, Isaías Lomera e Isidro López Lira. Agradecemos especialmente a Fernando Escobar por la identificación de las especies de escarabajos coprófagos.

Literatura citada

- Alkorta I, Albizu I, Garbisu C (2003) Biodiversity and agroecosystems. *Biodiversity and Conservation* 12: 2521–2522
- Altieri MA (2004) Globally Important Indigenous Agricultural Heritage Systems (GIAHS): Extent, significance, and implications for development. FAO, Rome
- Andresen E (2002) Dung beetles in a Central Amazonian rainforest and their ecological role as secondary seed dispersers. *Ecological Entomology* 27: 257–270
- Andresen E, Laurance SG (2007) Possible indirect effects of mammal hunting on dung beetle assemblages in Panama. *Biotropica* 39:141–144
- Arellano L, Favila ME, Huerta C (2005) Diversity of dung and carrion beetles in a disturbed Mexican tropical montane cloud forest and on shade coffee plantations. *Biodiversity & Conservation* 14: 601–615
- Bang HS, Lee JH, Kwon OS, Na YE, Jang YS, Kim WH (2005) Effects of paracoprid dung beetles (Coleoptera: Scarabaeidae) on the growth of pasture herbage and on the underlying soil. *Applied Soil Ecology* 29:165–171
- Barragán F, Moreno CE, Escobar F, Halffter G, Navarrete D (2011) Negative impacts of human land use on dung beetle functional diversity. *PLOS Biology* 6:6: e17976. doi:10.1371/journal.pone.0017976

- Borkhataria RR, Collazo JA, Groom MJ (2012) Species abundance and potential biological control services in shade vs. sun coffee in Puerto Rico. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 151:1–5
- Braga RF, Korasaki V, Andresen E, & Louzada J. 2013. Dung beetle community and functions along a habitat-disturbance gradient in the Amazon: A rapid assessment of ecological functions associated to biodiversity. *PLoS ONE* 8(2): e57786
doi:101371/journalpone0057786
- Caudill SA, DeClerck FJ, Husband TP (2015) Connecting sustainable agriculture and wildlife conservation: Does shade coffee provide habitat for mammals? *Agriculture, Ecosystems & Environment* 199:85–93
- Couturier S, Núñez JM, Kolb M (2012) Measuring tropical deforestation with error margins: a method for REDD monitoring in southeastern Mexico. En: Sudarshana P (ed) *Tropical forests*. InTech, China, pp 269–296
- Crawley MJ (2012) *The R book*. John Wiley & Sons, Chichester
- Culot L, Mann DJ, Muñoz Lazo FJ, Huynen MC, Heymann EW (2011) Tamarins and dung beetles: An efficient diplochorous dispersal system in the Peruvian Amazonia. *Biotropica* 43:84–92
- Culot L, Bovy E, Vaz-de-Mello FZ, Guevara R, Galetti M (2013). Selective defaunation affects dung beetle communities in continuous Atlantic rainforest. *Biological Conservation* 163:79–89
- Dangles O, Carpio C, Woodward G (2012) Size-dependent species removal impairs ecosystem functioning in a large-scale tropical field experiment. *Ecology* 93:2615–2625

- Estrada A, Coates-Estrada R (2002) Dung beetles in continuous forest, forest fragments and in an agricultural mosaic habitat–island at Los Tuxtlas, Mexico. *Biodiversity and Conservation* 11:1903–1918
- Estrada A, Raboy BE, Oliveira LC (2012). Agroecosystems and primate conservation in the tropics: a review. *American Journal of Primatology* 74:696–711
- Feer F, Ponge JF, Jouard S, Gomez D (2013) Monkey and dung beetle activities influence soil seed bank structure. *Ecological Research* 28:93–102
- Gardner TA, Barlow J, Araujo IS, Ávila-Pires TC, Bonaldo AB, Costa JE, Esposito MC, Ferreira LV, Hawes J, Hernandez MIM, Hoogmoed MS, Leite RN, Lo-Man-Hung NF, Malcolm JR, Martins MB, Mestre LAM, Miranda-Santos R, Overal WL, Parry L, Peters SL, Ribeiro-Junior MA, Da-Silva MNF, Da-Silva-Motta C, Peres CA (2008) The cost-effectiveness of biodiversity surveys in tropical forests. *Ecology Letters* 11:139–150
- Giraldo C, Escobar F, Chara JD, Calle Z (2011) The adoption of silvopastoral systems promotes the recovery of ecological processes regulated by dung beetles in the Colombian Andes. *Insect Conservation and Diversity* 4:115–122
- González-Esquivel CE, Gavito ME, Astier M, Cadena-Salgado M, del-Val E, Villamil-Echeverri L, Merlín-Uribe Y, Balvanera, P (2015) Ecosystem service trade-offs, perceived drivers, and sustainability in contrasting agroecosystems in central Mexico. *Ecology and Society* 20(1): 38. <http://dx.doi.org/10.5751/ES-06875-200138>
- Goodall KE, Bacon CM, Mendez VE (2015) Shade tree diversity, carbon sequestration, and epiphyte presence in coffee agroecosystems: A decade of smallholder management in San Ramón, Nicaragua. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 199:200–206

- Häger A, Otárola MF, Stuhlmacher MF, Castillo RA, Arias AC (2015) Effects of management and landscape composition on the diversity and structure of tree species assemblages in coffee agroforests. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 199:43–51
- Halffter G, Edmonds WD (1982) The nesting behavior of dung beetles (Scarabaeinae). An ecological and evolutive approach. Instituto de Ecología, México DF
- Holdridge R (1967). Life zone ecology. Tropical Science Center, San José
- Horgan FG (2005) Effects of deforestation on diversity, biomass and function of dung beetles on the eastern slopes of the Peruvian Andes. *Forest Ecology and Management* 216:117–133
- Hosaka T, Niino M, Kon M, Ochi T, Yamada T, Fletcher C, Okuda T (2014) Effects of logging road networks on the ecological functions of dung beetles in Peninsular Malaysia. *Forest Ecology and Management* 326:18–24
- Johnson MD, Kellermann JL, Stercho AM (2010) Pest reduction services by birds in shade and sun coffee in Jamaica. *Animal Conservation* 13:140–147
- Kudavidanage EP, Qie L, Lee JSH (2012) Linking biodiversity and ecosystem functioning of dung beetles in South and Southeast Asian tropical rainforests. *Raffles Bulletin of Zoology* 25:141–154
- Larsen TH, Williams NM, Kremen C (2005) Extinction order and altered community structure rapidly disrupt ecosystem functioning. *Ecology Letters* 8:538–547
- Medellín RA, Equihua M (1998) Mammal species richness and habitat use in rainforest and abandoned agricultural fields in Chiapas, México. *Journal of Applied Ecology* 35:13–23
- Moguel P, Toledo V (1999) Biodiversity and conservation in traditional coffee systems of México. *Conservation Biology* 13:11–21

- Neita JC, Escobar F (2012) The potential value of agroforestry to dung beetle diversity in the wet tropical forests of the Pacific lowlands of Colombia. *Agroforestry Systems* 8:121–131
- Nichols E, Larsen T, Spector S, Davis AL, Escobar F, Favila M, Vulinec K (2007) Dung beetle response to tropical forest modification and fragmentation: a quantitative literature review and meta-analysis. *Biological Conservation* 137: 1–19
- Nichols E, Spector S, Louzada J, Larsen T, Amezcuita S, Favila ME, TSR Network (2008) Ecological functions and ecosystem services provided by Scarabaeinae dung beetles. *Biological Conservation* 141:1461–1474
- Nichols E, Uriarte M, Peres CA, Louzada J, Braga RF, Schiffler, G, Whaldener E, Spector SH (2013). Human-induced trophic cascades along the fecal detritus pathway. *PloS one*, 8(10), e75819
- Pak D, Iverson AL, Ennis KK, Gonthier DJ, Vandermeer JH (2015) Parasitoid wasps benefit from shade tree size and landscape complexity in Mexican coffee agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 206:21–32
- Perfecto I, Vandermeer J (2008) Biodiversity conservation in tropical agroecosystems: A new paradigm. *Annals of the New York Academy of Science* 1134:173–200
- Pineda E, Moreno C, Escobar F, Halffter G (2005) Frog, bat and dung beetle diversity in the cloud forest and coffee agroecosystems of Veracruz, Mexico. *Conservation Biology* 19: 400–410
- Santos-Heredia C, Andresen E, Stevenson P (2011) Secondary seed dispersal by dung beetles in an Amazonian forest fragment of Colombia: influence of dung type and edge effect. *Integrative Zoology* 6:399–408

- Santos-Heredia C, Andresen E (2014) Upward movement of buried seeds: another ecological role of dung beetles promoting seedling establishment. *Journal of Tropical Ecology* 30: 409–417
- Scholtz CH, Davis ALV, Kryger U (2009) *Evolutionary Biology and Conservation of Dung Beetles*. Sofia, Bulgaria: Pensoft
- Simelane TS (2010) Impacts of traditional land uses on biodiversity outside conservation areas: effects on dung beetle communities of Vaalbos National Park. *African Journal of Ecology* 48:490–501
- Slade EM, Mann DJ, Villanueva JF, Lewis OT (2007) Experimental evidence for the effects of dung beetle functional group richness and composition on ecosystem function in a tropical forest. *Journal of Animal Ecology* 76:1094–1104
- Slade EM, Mann DJ, Lewis OT (2011) Biodiversity and ecosystem function of tropical forest dung beetles under contrasting logging regimes. *Biological Conservation* 144:166–174
- Taylor PD, Fahrig L, Henein K, Merriam G (1993) Connectivity is a vital element of landscape structure. *Oikos* 68:571–573
- Tisovec KC, Cassano CR, Boubli JP, Pardini R (2014) Mixed-species groups of marmosets and tamarins across a gradient of agroforestry intensification. *Biotropica* 46:248–255
- Tscharntke T, Clough Y, Wanger TC, Jackson L, Motzke I, Perfecto I, Vandermeer J, Whitbread A (2012) Global food security, biodiversity conservation and the future of agricultural intensification. *Biological Conservation* 151:53–59
- Tscharntke T, Clough Y, Bhagwat SA, Buchori D, Faust H, Hertel D, Hölscher D, Jührbandt J, Kessler M, Perfecto I, Scherber C, Schroth G, Veldkamp E, Wanger T (2011) Multifunctional shade-tree management in tropical agroforestry landscapes – a review. *Journal of Applied Ecology* 48:619–629

- Vandermeer JH, Perfecto I (2007) The agricultural matrix and a future paradigm for conservation. *Conservation Biology* 21:274–277
- Vandermeer JH, Perfecto I, Philpott SM, Chappell MJ (2008) Reenfocando la conservación en el paisaje: La importancia de la matriz. En: Harvey CA, Saénz JC (eds) *Evaluación y conservación de biodiversidad en paisajes fragmentados en Mesoamérica*. Santo Domingo de Heredia, Instituto Nacional de Biodiversidad (INBio), Costa Rica, pp 75–104
- Williams-Guillén K, Perfecto I (2010) Effects of agricultural intensification on the assemblage of leaf-nosed bats (Phyllostomidae) in a coffee landscape in Chiapas, Mexico. *Biotropica* 42:605–613
- Zárate DA, Andresen E, Estrada A, Serio-Silva JC (2014) Black howler monkey (*Alouatta pigra*) activity, foraging and seed dispersal patterns in shaded cocoa plantations versus rainforest in southern Mexico. *American Journal of Primatology* 76:890–899

Leyendas de las figuras

Figura 1. Ubicación de los 12 sitios de estudio (banderitas) en los municipios de Marqués de Comillas, Ocosingo, Benemérito de las Américas, estado de Chiapas, México (a). Fotografías de los tipos de hábitats estudiados: hule (b), cacao policultivo (c), cacao rústico (d) y bosque conservado (e).

Figura 2. Análisis de escalamiento multidimensional (NMDS) de las trampas basada en la abundancia de las especies de escarabajos coprófagos capturados en tres tipos de cultivos arbóreos (hule, cacao policultivo, cacao rústico) y en el bosque húmedo tropical (a) y sin hule (b). Los símbolos representan las 12 trampas del bosque (▲), 12 trampas del cacao rústico (■), 12 trampas del cacao policultivo (□) y 12 trampas del hule (●).

Figura 3. Curvas de rango-abundancia, indicando las cuatro especies más abundantes en tres tipos de cultivos arbóreos (hule, cacao con sombra plantada, cacao rústico) y en el bosque húmedo tropical.

Figura 4. Atributos de la comunidad de escarabajos coprófagos (a – d) y cantidad de las funciones ecológicas realizadas (e – h) expresados en valores promedio por trampa, en los cuatro hábitats. Los paneles (g) y (h) muestran por separado los resultados para las semillas chicas (barras negras), medianas (barras grises) y grandes (barras blancas). Las barras de error representan el error estándar. Las diferentes letras sobre las barras indican las diferencias con las pruebas *a posteriori* de Tukey; en los paneles (g) y (h) las letras en mayúsculas, minúsculas y negritas, corresponden a las semillas chicas, medianas y grandes, respectivamente.

Figura 1.

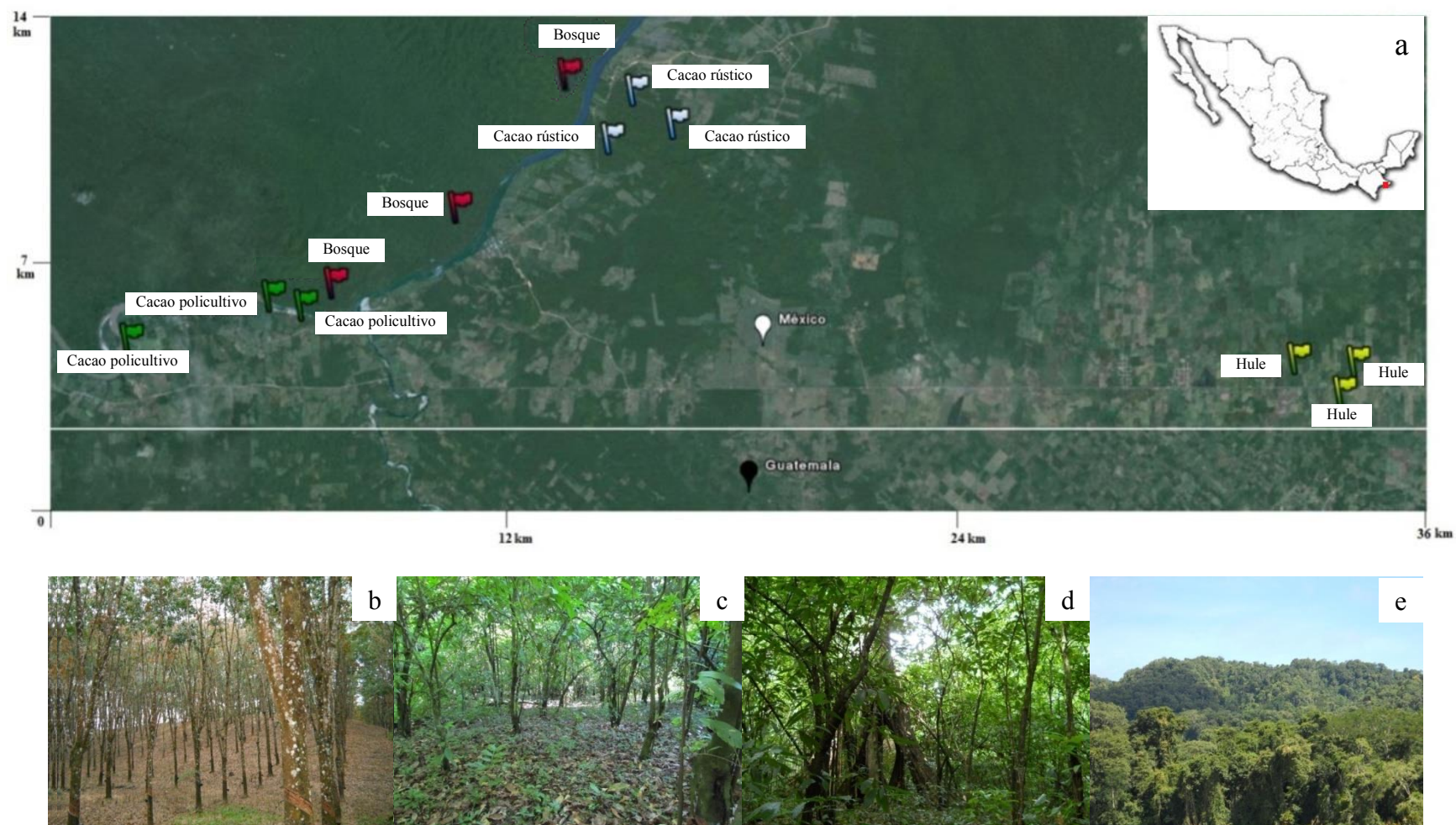


Figura 2.

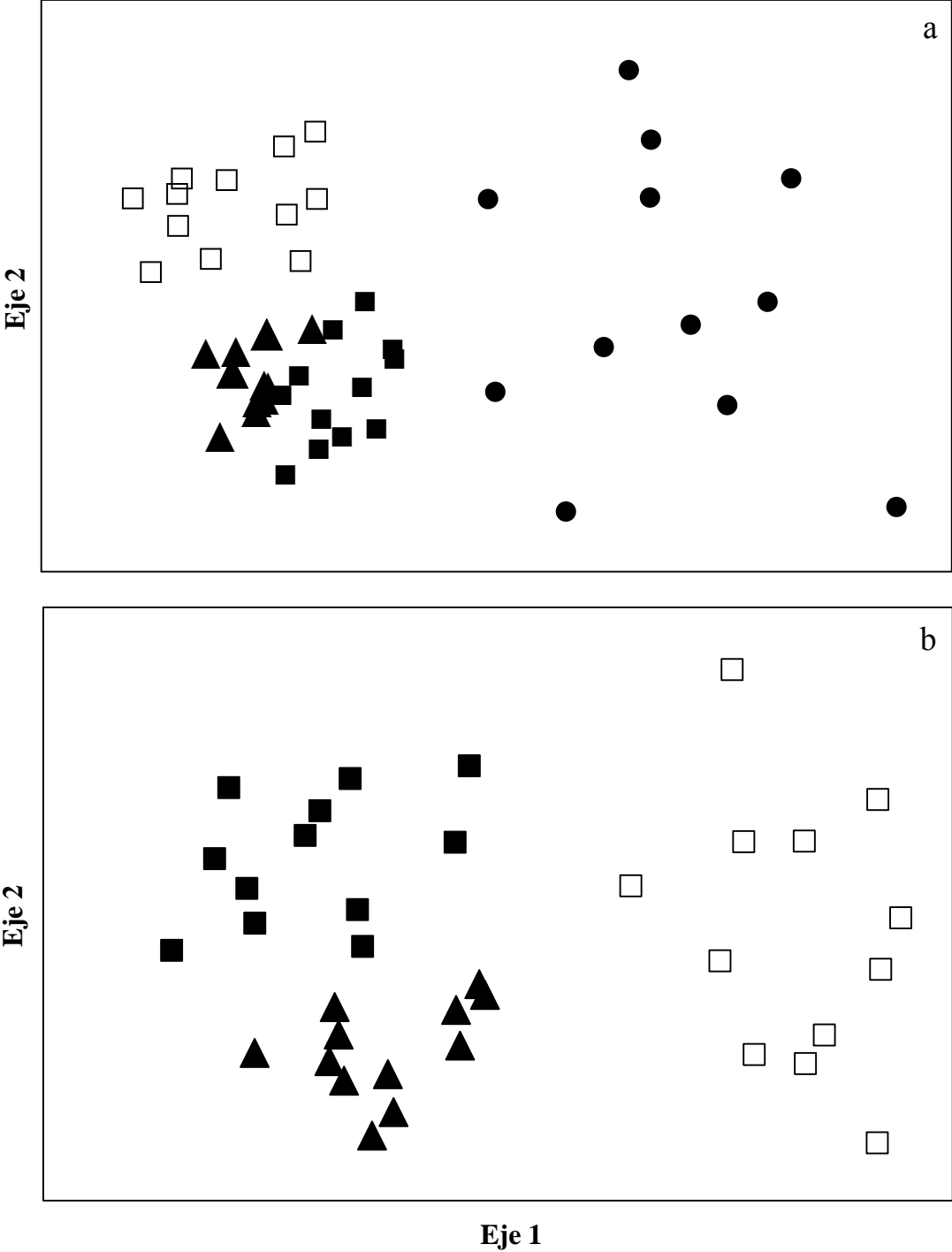


Figura 3

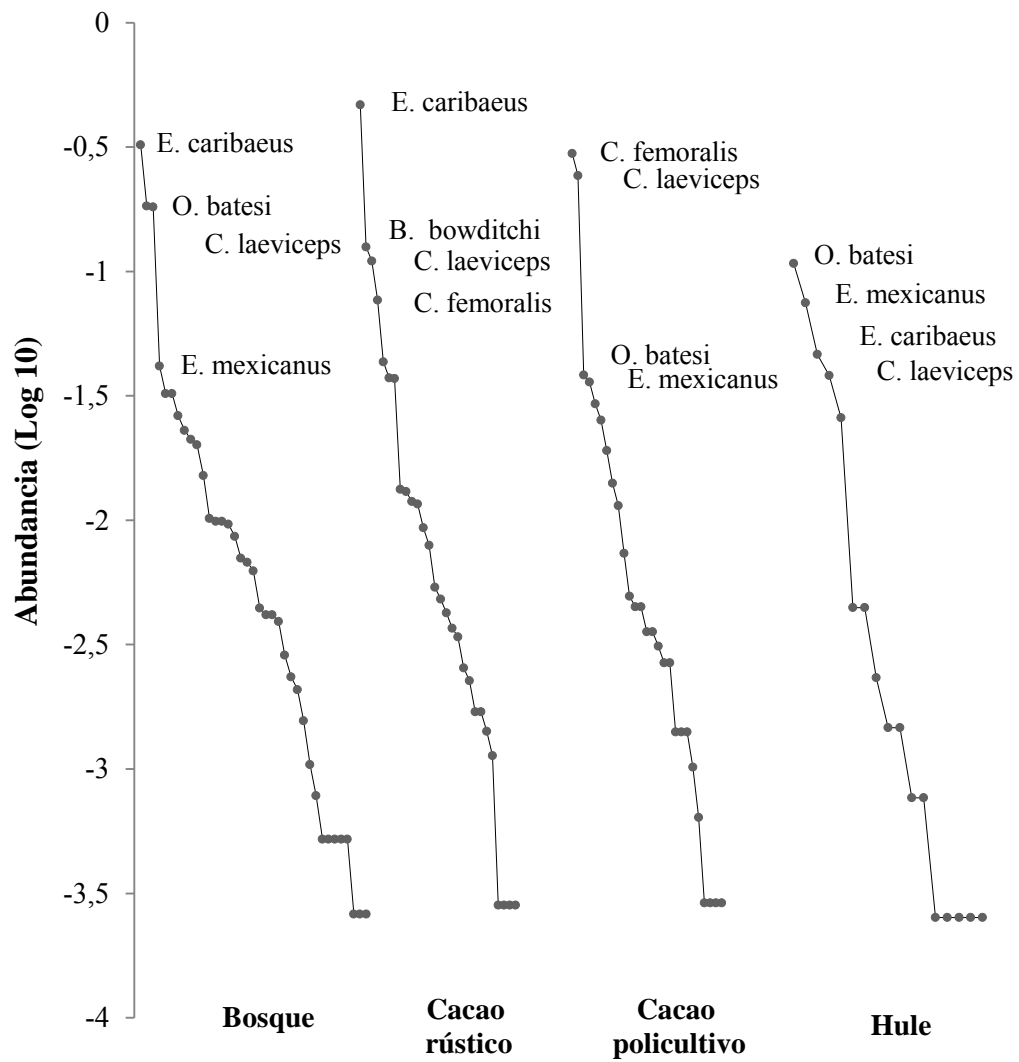
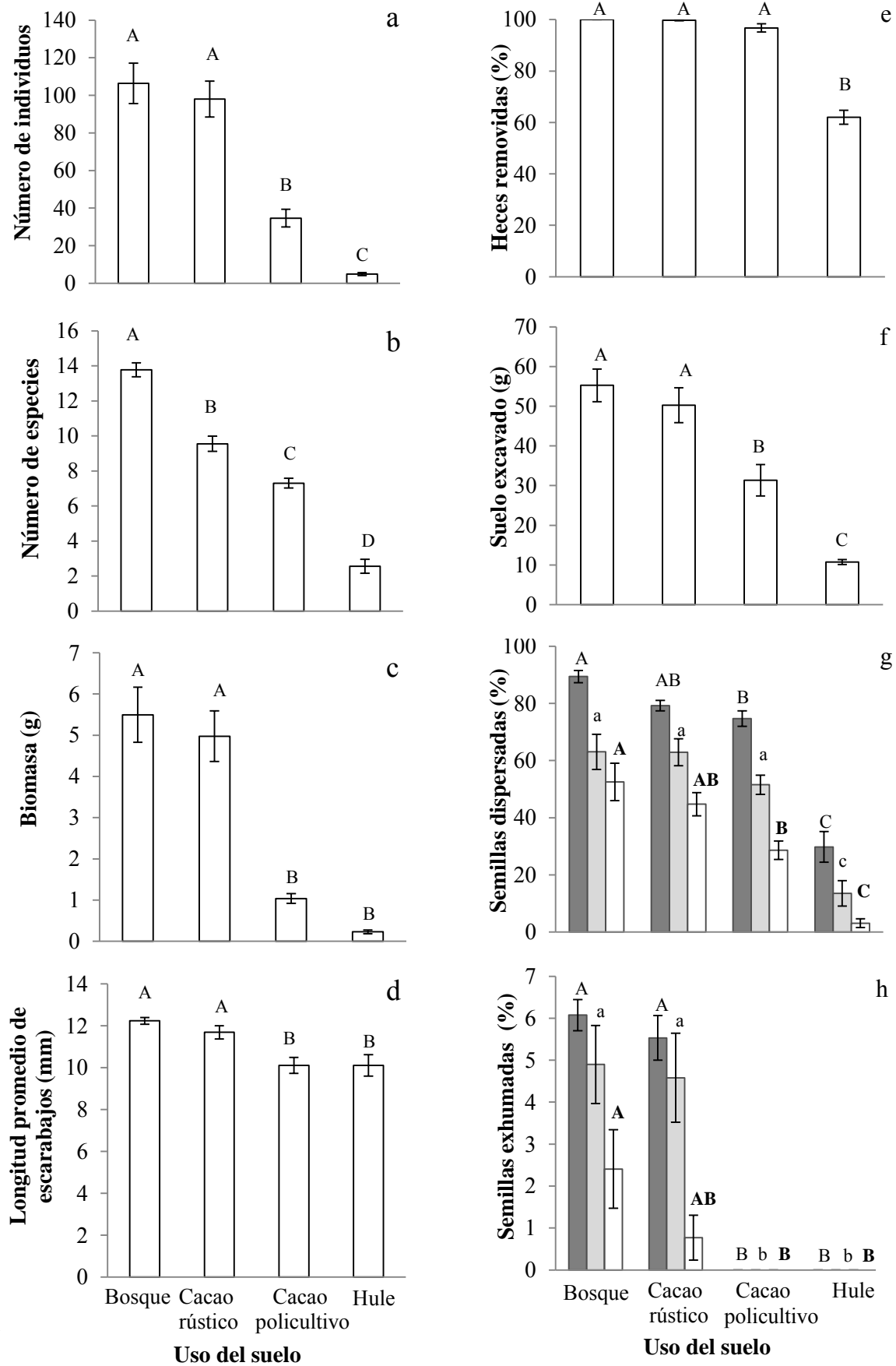


Figura 4.



Material complementario

Tabla A1. Total del número de individuos y número de especies de escarabajos coprófagos capturadas en trampas de caída (12 trampas por sitio abiertas durante 48h, en cada una de tres repeticiones temporales, para un esfuerzo de muestreo total por sitio de 1728 horas-trampa) cebadas con 30g de heces de mono aullador (*Alouatta pigra*) en cuatro tipos de hábitats: hule, cacao policultivo, cacao rústico y bosque húmedo tropical.

Especies	Sitio				Longitud
	Bosque	Cacao rústico	Cacao plantado	Hule	
<i>Ateuchus candezei</i> Harold, 1868	38	42	25	1	6.52
<i>Ateuchus illaesum</i> Harold, 1868	38	46	12	1	7.05
<i>Bdelyroptis bowditchi</i> Paulian, 1939	0	443	0	0	5.73
<i>Canthidium ardens</i> Bates, 1887	6	33	2	2	5.18
<i>Canthidium centrale</i> Boucomont, 1928	16	6	11	3	8.89
<i>Canthon subhyalinus</i> Harold, 1867	4	1	0	0	7.91
<i>Canthon angustatus</i> Harold, 1867	81	47	0	0	5.86
<i>Canthon eurycelis</i> Harold, 1867	33	4	9	0	7.85
<i>Canthon femoralis</i> Chevrolat, 1834	124	153	433	0	6.00
<i>Copris laeviceps</i> Harold, 1869	697	389	362	23	12.51
<i>Copris lugubris</i> Boheman, 1858	1	0	7	0	17.73
<i>Coprophanaeus telamon corythus</i> Harold, 1863	2	0	0	0	19.90
<i>Deltochilum gibbosum</i> Fabricius, 1775	37	8	0	0	27.20
<i>Deltochilum lobipes</i> Bates, 1887	1	0	7	1	25.39
<i>Deltochilum pseudoparile</i> Paulian, 1938	16	9	1	0	12.06
<i>Deltochilum scabriusculum</i> Bates, 1887	2	0	0	0	26.15
<i>Dichotomius amplicollis</i> Harold, 1869	24	5	17	1	20.48
<i>Dichotomius annae</i> Kohlmann y Solís, 1997	0	0	0	4	27.15

<i>Dichotomius satanas</i> Harold, 1867	3	0	1	0	19.70
<i>Eurysternus angustulus</i> Harold, 1869	124	41	0	0	8.66
<i>Eurysternus caribaeus</i> Herbst, 1789	1239	1654	57	26	15.76
<i>Eurysternus foedus</i> Guérin Méneville, 1844	88	12	1	0	18.07
<i>Eurysternus mexicanus</i> Harold, 1869	160	132	68	35	11.74
<i>Megathoposoma candezei</i> Harold, 1873	8	13	0	0	22.70
<i>Onthophagus acuminatus</i> Harold 1880	58	131	4	18	5.50
<i>Onthophagus batesi</i> Howden & Cartwright	703	271	72	44	6.99
<i>Onthophagus carpophilus</i> Pereira and Halffter, 1961	2	0	0	0	8.91
<i>Onthophagus coscineus</i> Bates, 1887	15	1	4	0	7.80
<i>Onthophagus crinitus</i> Harold, 1869	101	17	30	0	20.14
<i>Onthophagus maya</i> Zunino, 1981	77	15	39	0	9.51
<i>Onthophagus rhinolophus</i> Harold, 1869	9	0	3	0	8.25
<i>Onthophagus</i> sp1	2	0	9	2	7.76
<i>Onthophagus</i> sp2	1	0	0	6	4.35
<i>Onthophagus yucatanus</i> Delgado, 2006	0	0	50	0	5.32
<i>Phanaeus endymion</i> Harold, 1863	11	6	11	1	17.29
<i>Phanaeus sallei</i> Harold, 1863	27	19	4	3	18.69
<i>Scatimus ovatus</i> Harold, 1862	39	28	8	6	6.07
<i>Sulcophanaeus chryseicollis</i> Harold, 1863	2	1	0	0	16.65
<i>Uroxys microcularis</i> Howden and Young, 1981	17	1	1	0	3.75
<i>Uroxys platypiga</i> Howden and Young, 1981	26	0	0	0	4.24
Total de individuos	3832	3528	1248	177	
Total de especies	38	28	27	17	

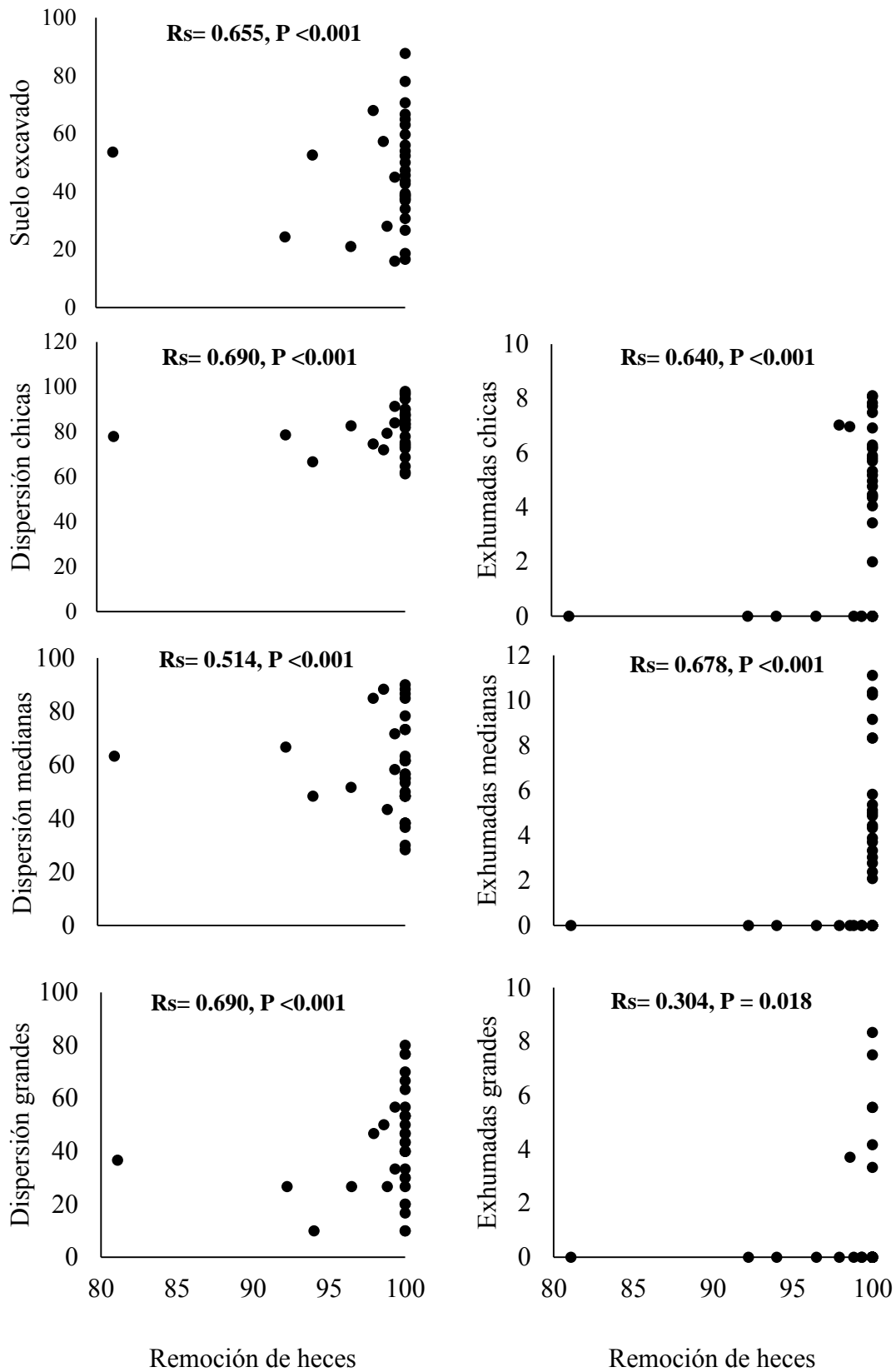


Figura A1. Correlaciones entre la remoción de heces y el suelo excavado, la dispersión y la exhumación de semillas (chicas, medianas y grandes).

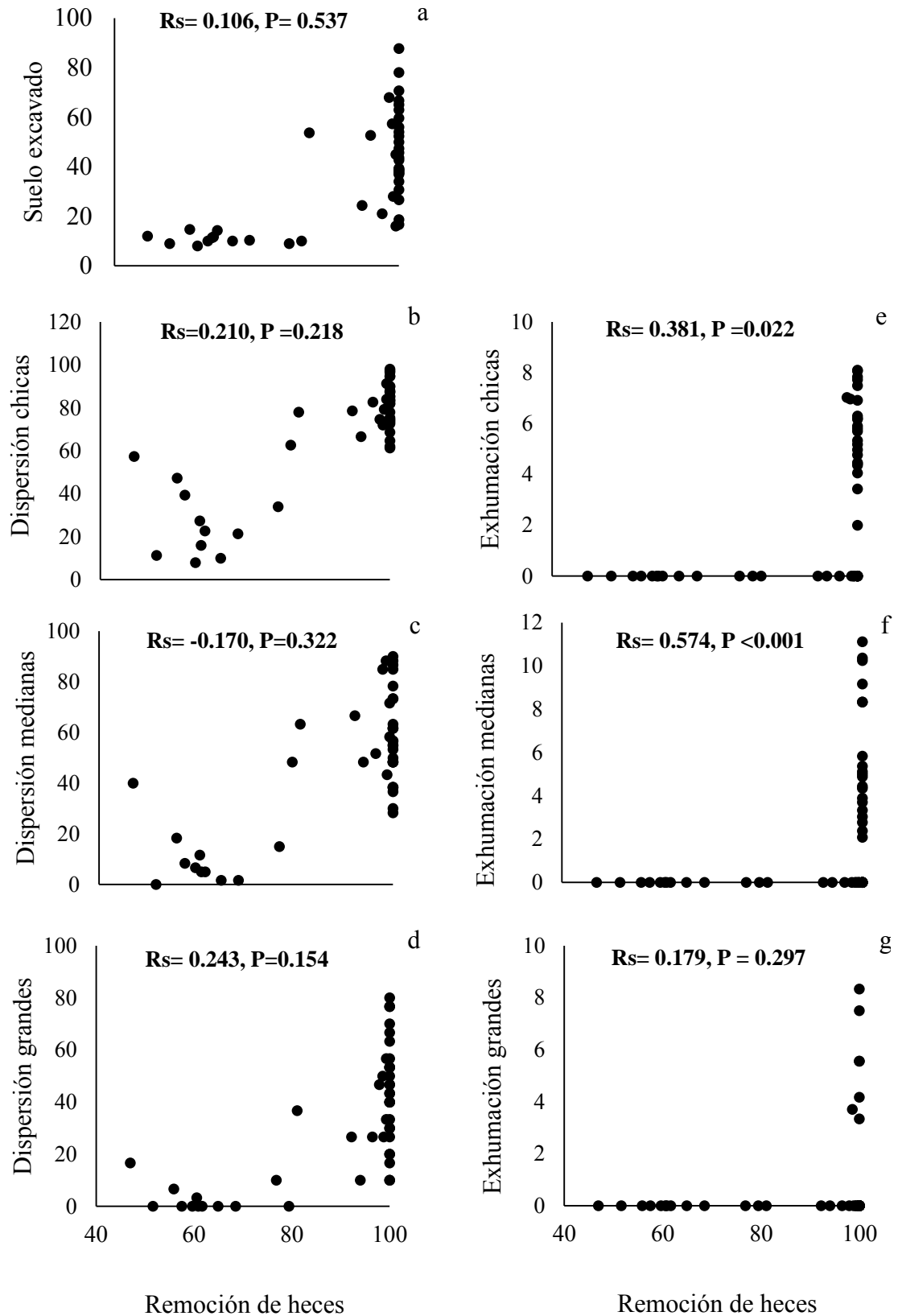


Figura A2. Correlaciones entre la remoción de heces y el suelo excavado, la dispersión y la exhumación de semillas (chicas, medianas y grandes), excluyendo al hule de los análisis.

CAPÍTULO SEGUNDO

Upward movement of buried seeds: another ecological role of dung beetles promoting seedling establishment

Publicado en *Journal of Tropical Ecology* (2014), 30:409–417

Carolina Santos-Heredia & Ellen Andresen

ABSTRACT

Dung beetles are known to play important ecological roles as a consequence of their dung-relocation behavior. Among other roles, dung beetles are secondary seed dispersers, affecting seed and seedling fate. In this study we show that dung beetles not only disperse seeds present in dung, but they also bring buried seeds back to the surface. In other words, dung beetles are active in seed exhumation. We carried out three experiments to answer these questions: (i) What proportion of seeds buried by beetles are later exhumed by them, and does it depend on seed size? (ii) Does the soil-tunneling activity of dung beetles promote seedling establishment? (iii) Is seedling establishment increased by recurrent dung beetle activity? We found that, on average, 5.4% of seeds buried by beetles are later exhumed by them, and that this proportion was negatively associated with seed size. Also, more seedling individuals and species became established in plots with vs. without beetle activity. Finally, in sites with recurrent activity, such as may occur in mammal latrines, seedling establishment was higher than in sites with single-time activity. In conclusion, dung beetles are responsible for yet another ecological function with important consequences for plant regeneration.

Upward movement of buried seeds: another ecological role of dung beetles promoting seedling establishment

Carolina Santos-Heredia^{*,†,1} and Ellen Andresen^{*}

^{*} Centro de Investigaciones en Ecosistemas, Universidad Nacional Autónoma de México, Antigua Carretera a Pátzcuaro No. 8701, Ex-Hacienda de San José de la Huerta, CP 58090, Morelia, Michoacán, México

[†] Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Ciudad Universitaria 3000, C.P. 04360, Coyoacán, Distrito Federal, México

(Received 18 April 2014; revised 23 June 2014; accepted 24 June 2014)

Abstract: Dung beetles are known to perform important ecological functions, such as secondary seed dispersal of vertebrate-defecated seeds. We found that dung beetles also move buried seeds upwards, with positive consequences for seedling establishment. In the Lacandon rain forest of southern Mexico we conducted field experiments to address three questions: (1) What proportions of different-sized seeds buried by dung beetles are exhumed by them? (2) Does upward relocation of seeds caused by dung beetle activity promote seedling establishment? (3) Does recurrent beetle activity increase seedling establishment? Using 4-mm, 8-mm and 12-mm beads as seed mimics, embedded in howler-monkey dung, we found that 2–6% of buried beads were later exhumed by beetles, with smaller beads exhumed more often. In small plots (N = 100) where beetles were allowed to bury dung and seed rain was excluded, seedling establishment was over three times higher compared with plots without beetle activity. In plots (N = 8) where we placed dung on four occasions in 1 mo, seedling establishment was more than twice as high compared with plots with single-time dung placement. We believe that our findings open up interesting research opportunities to help further elucidate this newly discovered ecological function of dung beetles.

Key Words: Lacandon rain forest, Scarabaeinae, seed dynamics, seed fate, soil seed bank

INTRODUCTION

After dispersal a seed may follow many possible fate paths depending on the biotic and abiotic factors it encounters (Vander Wall *et al.* 2005). Seeds deposited on the soil surface can germinate, die or be secondarily dispersed. When secondary dispersal involves seed burial, seeds become part of the underground seed bank (the concept of seed bank also includes seeds on the surface and in the leaf litter; Simpson *et al.* 1989), thus we use the term ‘underground’ to characterize the portion of the seed bank that is buried. Seeds can be buried by biotic agents (e.g. fossorial animals), abiotic agents (e.g. rain) or simply by gravity (Beattie & Culver 1982, Marthews *et al.* 2008).

Buried seeds remain viable during a variable period of time, depending on morpho-physiological seed traits (e.g. latency), microclimatic conditions (e.g. light, humidity) and the action of predators/pathogens (Dalling *et al.* 2011, Garwood 1989, Wang *et al.* 2013). It is well established

that buried seeds are better protected from detection by seed predators than seeds on the surface (Crawley 2000, Hulme 2002). Yet, the effects of other factors influencing survival of buried seeds, as well as those affecting seed germination and seedling emergence, are more unpredictable and context-specific (Dalling 2005, Fenner 2000, Pearson *et al.* 2002).

In tropical rain forests it has been shown that buried seeds, in particular those found at depths > 5 cm, may not encounter adequate conditions for germination (Pearson *et al.* 2002), or may not be able to emerge as seedlings after germination has occurred (Andresen & Levey 2004, Dalling 2005). It has been suggested that these seeds may need to be brought back to the surface, or shallower depths, for germination and seedling establishment to occur (Donath & Eckstein 2012, Grant 1983, Putz & Appanah 1987). It is to be expected that many of the animals responsible for burying seeds through their burrowing behaviour may also play a role in moving buried seeds upwards (Donath & Eckstein 2012). Through upward relocation, seeds may be brought back to the surface, which we call seed exhumation, or may

¹ Corresponding author. Email: macasahe@gmail.com

be brought closer to the surface, remaining buried at shallower depths.

Dung beetles (Coleoptera: Scarabaeinae) constitute an abundant and diverse insect taxon in tropical forests, and are known to play important ecological functions (see Nichols *et al.* 2008). In the last decade several studies have shown that rain-forest dung beetles bury and/or move horizontally many vertebrate-defecated seeds (Andresen & Feer 2005). It has also been shown that this secondary seed dispersal by dung beetles can have a positive effect on seedling establishment through reduced predation of buried seeds (Andresen 2001, Andresen & Levey 2004) and/or a reduction in the spatial aggregation of seedlings (Lawson *et al.* 2012). More recently, one study also concluded that by burying seeds, dung beetles may play a major role in structuring tropical soil seed banks (Feer *et al.* 2013). Finally, we know that, as they dig tunnels to bury faeces, dung beetles excavate a large amount of soil (Braga *et al.* 2013). Yet, the question remains: Are dung beetles, through their tunnelling and soil excavation behaviour, also moving buried seeds upwards, possibly enhancing seedling establishment?

The main objective of this study was to address this general question. With this purpose we designed field experiments to test the following hypotheses: (1) Some of the seeds buried by dung beetles are later exhumed by them, depending on seed size; (2) Through their dung-burying activity, dung beetles cause the upward movement of seeds present in the underground seed bank, which in turn promotes seedling establishment; (3) The frequency of dung beetle activity will be positively associated with seedling establishment.

METHODS

Study site

This study was carried out between September 2011 and September 2013 in the Montes Azules Biosphere Reserve (16°07'58"N, 90°56'36"W), located in the Lacandon rain-forest region in the Mexican state of Chiapas. This reserve covers an area of 3310 km², most of which corresponds to conserved tropical rain forest (Holdridge 1967). Mean annual temperature and precipitation are 24 °C and 3000 mm, respectively (Medellín 1994). More information on the study site can be found elsewhere (Medellín 1994).

Seed exhumation

We established 12 experimental stations in three groups of four stations. In each group, stations were placed in the corners of a 50 × 50-m square; distance among groups

was > 500 m. In each station we placed 50 g of fresh dung (we used the dung of the howler monkey, *Alouatta pigra* Lawrence) containing spherical plastic beads used as artificial seeds (Andresen 2002). In each dung pile we introduced 50 small beads (4 mm), 20 medium beads (8 mm) and 10 large beads (12 mm). Each station was checked after 48 h, when all dung had been removed by dung beetles. We collected and counted all beads that remained on the surface. All beads that were not found on the surface were assumed to have been buried by dung beetles underneath the dung source, although some beads might have been buried at some distance from the station.

The whole experimental setup was repeated in three time periods, t_1 , t_2 , t_3 , with 4 mo between t_1 and t_2 and 8 mo between t_2 and t_3 (due to logistical reasons we were unable to have equal time intervals), always using the same locations. Beads were of different colours: purple in t_1 , pink in t_2 and white in t_3 . Four months after t_3 we again placed 50 g of dung in each station, but without beads (t_4). Seed exhumation was quantified in periods t_2 (February 2012), t_3 (October 2012) and t_4 (February 2013). In a given time period t_i (where $i = 2, 3$ or 4) we counted the number of beads, of those that had been buried in previous time periods (t_{i-1} and/or earlier periods), that we found in the loose soil excavated by dung beetles. Thus, in t_2 we quantified exhumation of beads that had been buried during t_1 ; in t_3 we quantified exhumation of beads buried during t_1 and/or t_2 ; finally, in t_4 we quantified exhumation of beads buried during t_1 , t_2 and/or t_3 .

Seedling establishment

To assess the effect of the soil-tunnelling activity of dung beetles, and of the frequency of this activity, on the establishment of seedlings from seeds naturally present in the soil seed bank we carried out two complementary experiments. Experiment 1 was designed to address both questions by comparing three treatments simultaneously (no beetle activity vs. single-time beetle activity vs. recurrent beetle activity). However, during the first months after setting up Experiment 1 we observed very few seedlings establishing and thus decided to increase sample size by setting up Experiment 2. Yet, the large scale of this second experiment did not allow us to include the 'recurrent beetle activity' treatment (due to the large amount of monkey dung needed).

Experiment 1. We established 1 × 1-m plots with all sides surrounded by a wire mesh (2 mm mesh size) 30 cm high and buried 5–10 cm into the ground (the mesh was buried to make sure that dung beetles started building their tunnels inside the experimental plots, so that all excavated soil would be within plots). We had a total of eight groups of three plots each, distributed in eight forest locations or blocks ($N = 8$), with a distance of 2 m between plots

in a block and 50 m between blocks. All seedlings found inside the plots were removed. Plots within a block were randomly assigned to three treatments: (1) single-time placement of 100 g of fresh howler monkey dung (divided into three piles to mimic natural defecation patterns); (2) repeated placement of 100 g of dung, once every week, for a total of four times; and (3) control, no dung added. All seeds were removed from dung used in this experiment, except for seeds of *Cecropia obtusifolia* Bertol. which could not be removed due to their small size. Thus, *C. obtusifolia* seedlings establishing in experimental plots were excluded from analyses. During 2 d the tops of all plots were left open to allow dung beetle activity. Thereafter, all tops were covered using the same type of mesh; this was done to avoid the arrival of new seeds, and to prevent access to herbivores. Plots were checked every 2 wk for 12 mo. During every check we counted, identified and marked all seedlings of woody plant species. When possible, using several information sources (literature, internet, experts, direct measurements) we classified seedlings according to life form (tree, shrub, liana), primary seed dispersal syndrome (zoochory, anemochory, barochory) and seed size category (<5 mm and ≥ 5 mm).

Experiment 2. We established small circular plots, 0.17 m² in area, by burying plastic cylinders (we used 25-cm tall buckets with bottoms removed) 5–10 cm into the soil. All seedlings found inside plots were removed. We placed 100 pairs of plots along existing trails; distance between plots in a pair was 0.5 m and distance between pairs was 30 m. Half the pairs were set out in October 2012 and the other half in February 2013. Plots in each pair were assigned randomly to two treatments: (1) single-time placement of 50 g of seedless monkey dung, and (2) control, no dung added. As in Experiment 1, plots were left open for 2 d to allow dung beetle activity; thereafter they were covered with mosquito net. Plots were checked for seedling establishment every 2 wk for 6 mo.

Data analyses

To analyse the effect of seed size on the proportion of seeds exhumed by dung beetles we used a generalized linear model with artificial seed size as the independent variable. Exhumation data obtained in the three periods were pooled for analyses. A quasi-binomial error structure was used due to overdispersion of data (Crawley 2007).

To analyse the effect of dung beetle activity and its frequency on seedling establishment (Experiment 1) we used two generalized linear models with treatment as fixed factor with three levels (repeated dung, single-time dung, no dung). A quasi-Poisson error structure was used for each of the dependent variables: 'number of species' and 'number of individuals'. Post hoc comparisons between pairs of treatments were performed using the HSD Tukey

test. To analyse paired data from Experiment 2 (single-time dung vs. no dung), for the same dependent variables as in Experiment 1, we used the non-parametric Wilcoxon test for paired comparisons. G-tests were used to test for independence between seed size of established seedlings (<5 mm and ≥ 5 mm) and experimental treatments.

Adequacy of error structures used in the generalized linear models was corroborated with residual analyses (Crawley 2007). Analyses were carried out in R version 2.15.3 (R Development Core Team. <http://www.R-project.org/>).

RESULTS

Seed exhumation

Dung beetles buried an average of 68% \pm 30% (mean \pm SD) of the artificial seeds (pooling all sizes) placed inside dung piles. Dung beetles exhumed 5.4% \pm 1.06% of previously buried beads. As expected, smaller beads had a higher probability of being exhumed by dung beetles compared with larger beads (6.1% for small beads, 4.9% for medium beads and 2.4% for large beads; $F_{1,34} = 8.52$, $P = 0.006$; Figure 1).

Seedling establishment

Experiment 1. Pooling the 24 plots of 1 m² we recorded the establishment of 269 seedlings of 27 woody plant species, in 1 y (Appendix 1). Additionally, 130, 27 and 36 seedlings of *C. obtusifolia* established in the repeated dung, single-time dung and no dung treatments, respectively, but were not included in analyses. Both the mean number of individuals and mean number of species per plot were affected by treatment (individuals: $F_{2,7} = 12.5$, $P < 0.001$; species: $F_{2,7} = 6.53$, $P < 0.001$; Figure 2). Post hoc tests revealed that values were significantly higher in plots with repeated dung placement, when compared with the treatment with single-time dung placement (individuals: $N = 8$, $Z = -3.49$, $P = 0.001$; species: $N = 8$, $Z = -2.98$, $P = 0.008$) and the control treatment (individuals: $N = 8$, $Z = 4.24$, $P < 0.001$; species: $N = 8$, $Z = 2.98$, $P < 0.001$). No significant differences were found between the latter two treatments (individuals: $Z = 0.990$, $P = 0.579$; species: $Z < 0.001$, $P = 1$; Figure 2). Seed size (two categories: <5 mm and ≥ 5 mm) of established seedlings was independent of treatment (species, $G = 0.047$, $df = 2$, $P = 0.977$; individuals, $G = 3.15$, $df = 2$, $P = 0.207$).

Experiment 2. In the 200 plots of 0.17 m² pooled together we recorded the establishment of 187 seedlings of 26 woody plant species, in 6 mo (Appendix 2). Contrary to the results in the previous experiment, having increased statistical power in this experiment, we found increased

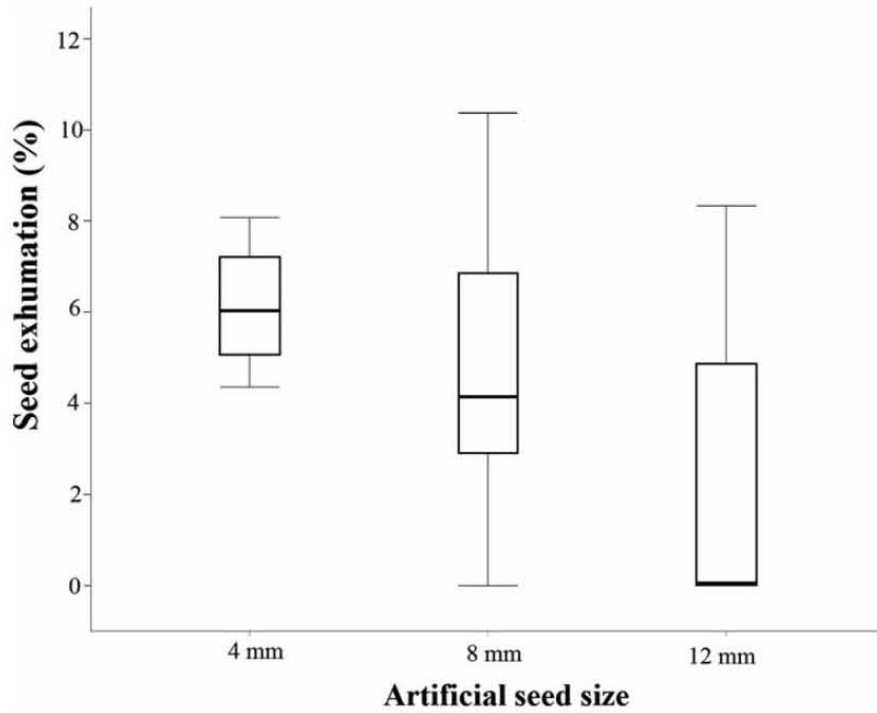


Figure 1. Percentage of plastic beads used as artificial seeds, of three different sizes, exhumed by dung beetles ($N = 12$ for each size). Boxes represent the interval between the 25th and 75th percentiles; also shown are the positions of the medians. The whiskers indicate the minimum and maximum values observed.

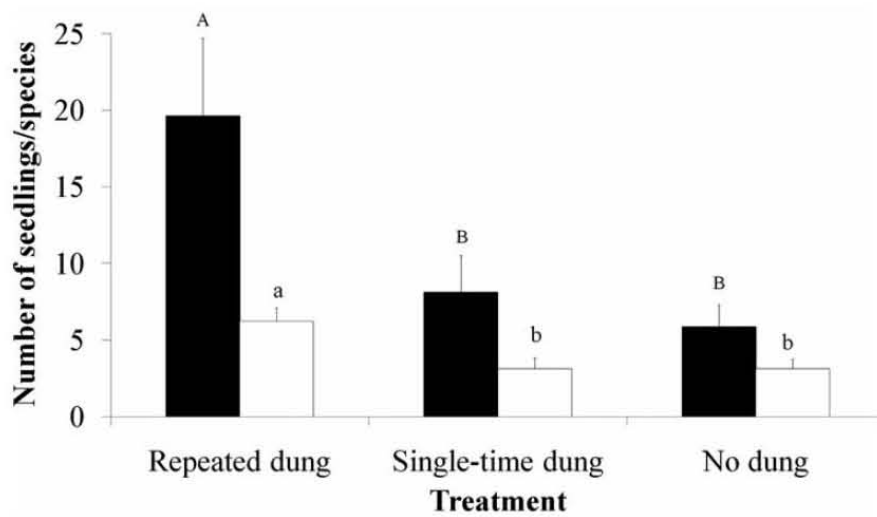


Figure 2. Mean number of seedling individuals (black bars) and species (white bars) in 1-m^2 plots with three different treatments: repeated placement of 100 g of dung (once a week for 4 wk), single-time placement of 100 g of dung, and no dung placement. Error bars represent 1 SE. Different letters above bars indicate statistical differences with the HSD Tukey post hoc tests; uppercase letters are for number of individuals and lowercase letters for number of species.

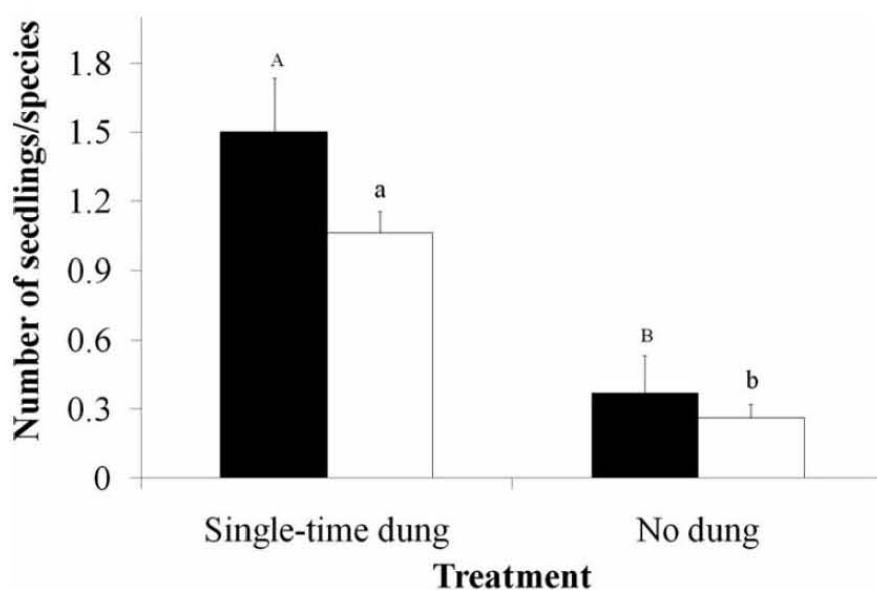


Figure 3. Mean number of seedling individuals (black bars) and species (white bars) in 0.17-m² plots with two different treatments: single-time placement of 50 g of dung, and no dung placement. Error bars represent 1 SE. Different letters above bars indicate statistical differences based on the Wilcoxon paired test; uppercase letters are for number of individuals and lowercase letters for number of species.

seedling establishment in plots with dung beetle activity than in plots without it (individuals: $Z = -5.38$, $N = 100$, $P < 0.001$; species: $Z = -5.27$, $N = 100$, $P < 0.001$; Figure 3). As in Experiment 1, seed size of established seedlings was independent of treatment (species, $G = 0.123$, $df = 1$, $P = 0.726$; individuals, $G = 0.377$, $df = 1$, $P = 0.539$).

DISCUSSION

Seed bank dynamics involves processes that are crucial for plant regeneration (Thompson 2000), with important practical implications for management and restoration (Garwood 1989, Skoglund 1992). With our study we have shown that dung beetles, through their dung-processing behaviour of building underground tunnels, actively participate in seed bank dynamics, not only by burying seeds, but also by moving buried seeds upwards. We propose that upward relocation of buried seeds be added to the large list of ecological functions performed by dung beetles in tropical rain-forest ecosystems (Nichols *et al.* 2008).

In some instances the upward relocation of seeds brings seeds back to the surface, resulting in seed exhumation. Every time rain-forest dung beetles bury a given amount of dung, they excavate more than twice that amount of soil (Braga *et al.* 2013), which would be expected to contain at least some seeds in most cases (Dalling *et al.* 1994).

Although the percentage of artificial seeds exhumed estimated in our study was low ($\leq 6\%$), this represents a conservative figure. We only measured exhumation for those beads buried immediately underneath the experimental station, and we assumed that all buried beads had been buried there. However, it is most likely that roller beetles incorporated some of the artificial seeds into their dung balls and buried them at some distance away from the experimental station. Thus our estimate of the total number of seeds buried underneath each station was likely overestimated, and consequently our percentages of seeds exhumed were likely underestimated.

Seed exhumation was negatively associated with seed size, as previously documented for seed burial by dung beetles (Andresen & Feer 2005, Culot *et al.* 2009). However, in the case of upward seed relocation it may occur that, rather than actively being excluded by dung beetles as in the case of seed burial, the inherent size of larger seeds might hamper their upward movement through soil layers during the tunnelling activity of dung beetles. To more accurately describe and quantify seed exhumation, future studies could carry out experiments in which known numbers of beads are buried by the researcher at known depths, and in which the activity of dung beetles is restricted to a certain area. Also, use of a broader range of seed sizes, in particular small ones (1–3 mm), would be very informative. Future studies would also need to compare the role played by dung beetles in the upward relocation of buried seeds, relative to other

soil-dwelling organisms. Finally, future studies on seed exhumation would need to assess the increased risk of seed predation due to seed exposure on the surface. Indeed, the best-documented advantage of secondary seed dispersal by beetles is that seeds buried by them suffer very low rates of seed predation by granivores, compared with seeds on the surface (Santos-Heredia *et al.* 2010). So, seed exhumation might have a high associated cost in terms of seed survival, one that remains to be quantified.

However, exhumed seeds represent only a proportion of all seeds moved upwards by dung beetles, and likely a small proportion, with most upward-relocated seeds remaining buried close to the surface. Yet, future studies would need to corroborate this by conducting careful experiments in which the downward and upward movements of seeds along soil profiles, as a consequence of dung beetle tunnelling activity, is measured with more detail. Although in our study we did not quantify the exhumed and relocated seed bank directly, we did so indirectly by quantifying seedling establishment, which provides a conservative estimate of actual seed bank abundance and composition (Dalling *et al.* 1994). We found that significantly more individuals and species established as seedlings in plots in which dung beetles had buried dung and excavated soil, compared with plots where beetles had not been active (Appendix 2, Figure 3).

Studies on the ecology of tropical soil seed banks have shown that soil depth tends to be negatively associated with seed viability (Pouvelle *et al.* 2009) and seedling emergence (Dalling *et al.* 1994), and that many seeds need to be in shallower depths in order to encounter conditions that trigger germination and/or allow seedling emergence (Donath & Eckstein 2012, Grant 1983, Pearson *et al.* 2002, Putz & Appanah 1987). Upward relocation by dung beetles may be particularly important for small seeds, which are often buried more deeply (Andresen & Feer 2005, Feer *et al.* 2013), and which have greater depth constraints for seed germination and seedling emergence (Dalling 2005).

Our study also showed that in specific rain-forest areas in which dung beetle activity occurs repeatedly over time, seedling establishment is further increased, in comparison to areas in which dung beetle activity is less frequent (Appendix 1, Figure 2). Recurrent dung beetle activity is expected to occur in areas which receive an equally recurrent input of dung. Many mammal species defecate repeatedly in the same sites, a pattern known as 'latrine behaviour' (Irwin *et al.* 2004). Among Neotropical frugivorous mammals, primates and tapirs are well known for this behaviour (Fragoso *et al.* 2003, González-Zamora *et al.* 2012), and studies focusing on the consequences of primary seed dispersal by these mammals often show increased seedling establishment of the dispersed plant species in these sites (Bravo 2012, Russo & Augspurger 2004).

Such increased seedling establishment is primarily caused through the continuous seed deposition by the frugivorous mammals. However, our results suggest that dung beetle activity may also in part be responsible for facilitating such increased seedling establishment in recurrent defecation sites of frugivorous mammals. Indeed, results of a recent study suggest that the combined effect of primary seed dispersal by primates and secondary seed dispersal by dung beetles is actively shaping seed bank structure and dynamics (Feer *et al.* 2013). That study also found that dung beetle activity was significantly higher in sites in which monkey defecation was more frequent. Our results on seedling establishment further suggest that dung beetle activity will independently enhance seedling establishment through upward relocation of seeds present in the underground seed bank, i.e. even in defecation sites of non-frugivorous mammals where seed input is not increased through primary seed dispersal. This remains to be tested through future studies.

In conclusion, our study shows that dung beetles play yet another important ecological role through their dung-relocation behaviour, namely the upward movement of buried seeds. In turn, upward seed movement is likely to be an important process in the dynamics of seed banks, with relevant consequences for plant populations and communities. We believe that our study opens up a promising avenue for future research in our way to attaining a more detailed understanding of all the possible outcomes of the interactions between seeds and dung beetles, and the overall role of this insect group in plant regeneration. Finally, as dung beetles are increasingly being used as a model taxon in studies assessing the effects of biodiversity loss on ecosystem functions and services (Braga *et al.* 2013, Dangles *et al.* 2012), we propose that assessment protocols could easily incorporate the measurement of this new ecological function.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported by grants from the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (research project SEP-CONACyT 2010-152884, graduate fellowship CONACyT 245258) and Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT – UNAM, Project IN-207711). We thank the administration of the Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SGPA/DGVS/03075/13) and the Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (Oficio No. REBIMA/009/12) for the necessary permits and access to the Reserva de la Biosfera de Montes Azules. We are grateful to UNAM's Centro de Investigaciones en Ecosistemas (CIECO) and Programa de Posgrado en Ciencias Biológicas (PCBiología) for logistical support. This

article constitutes a partial fulfillment of the requirements for obtaining the doctoral degree at PCBIol. This study would not have been possible without the help in the field of Diego A. Zárate, Rafael Lombera, Miguel Miranda, Isaías Lombera and Isidro Lopez Lira. We thank Diego A. Zárate and Rafael Lombera for seedling identification. We are grateful to two anonymous reviewers for insightful comments on a previous version of the manuscript.

LITERATURE CITED

- ANDRESEN, E. 2001. Effects of dung presence, dung amount, and secondary dispersal by dung beetles on the fate of *Micropholis guyanensis* (Sapotaceae) seeds in Central Amazonia. *Journal of Tropical Ecology* 17:61–78.
- ANDRESEN, E. 2002. Dung beetles in a Central Amazonian rainforest and their ecological role as secondary seed dispersers. *Ecological Entomology* 27:257–270.
- ANDRESEN, E. & FEER, F. 2005. The role of dung beetles as secondary seed dispersers and their effect on plant regeneration in tropical rainforests. Pp. 331–349 in Forget, P.-M., Lambert, J., Hulme, P. & Vander Wall, S. B. (eds). *Seed fate: predation, dispersal and seedling establishment*. CABI Publishing, Wallingford.
- ANDRESEN, E. & LEVEY, D. J. 2004. Effects of dung and seed size on secondary dispersal, seed predation, and seedling establishment of rain forest trees. *Oecologia* 139:145–154.
- BEATTIE, A. J. & CULVER, D. C. 1982. Inhumation: how ants and other invertebrates help seeds. *Nature* 297:627.
- BRAGA, R. F., KORASAKI, V., ANDRESEN, E. & LOUZADA, J. 2013. Dung beetle community and functions along a habitat-disturbance gradient in the Amazon: a rapid assessment of ecological functions associated to biodiversity. *PLOS ONE* 8(2): e57786. doi:10.1371/journal.pone.0057786.
- BRAVO, S. P. 2012. The impact of seed dispersal by black and gold howler monkeys on forest regeneration. *Ecological Research* 27:311–321.
- CRAWLEY, M. J. 2000. Seed predators and plant population dynamics. Pp. 167–182 in Fenner, M. (ed.). *Seeds: the ecology of regeneration in plant communities*. CABI Publishing, Wallingford.
- CRAWLEY, M. J. 2007. *The R book*. Wiley & Sons, Chichester. 942 pp.
- CULOT, L., HUYNEN, M.-C., GÉRARD, P. & HEYMANN, E. W. 2009. Short-term post-dispersal fate of seeds defecated by two small primate species (*Saguinus mystax* and *Saguinus fuscicollis*) in the Amazonian forest of Peru. *Journal of Tropical Ecology* 25:229–238.
- DALLING, J. W. 2005. The fate of seed banks: factors influencing seed survival for light-demanding species in moist tropical forests. Pp. 31–44 in Forget, P.-M., Lambert, J., Hulme, P. & Vander Wall, S. B. (eds). *Seed fate: predation, dispersal and seedling establishment*. CABI Publishing, Wallingford.
- DALLING, J. W., SWAINE, M. D. & GARWOOD, N. C. 1994. Effect of soil depth on seedling emergence in tropical soil seed-bank investigations. *Functional Ecology* 9:119–121.
- DALLING, J. W., DAVIS, A. S., SCHUTTE, B. J. & ARNOLD, A. E. 2011. Seed survival in soil: interacting effects of predation, dormancy and the soil microbial community. *Journal of Ecology* 99:89–95.
- DANGLES, O., CARPIO, C. & WOODWARD, G. 2012. Size-dependent species removal impairs ecosystem functioning in a large-scale tropical field experiment. *Ecology* 93:2615–2625.
- DONATH, T. W. & ECKSTEIN, R. L. 2012. Litter effects on seedling establishment interact with seed position and earthworm activity. *Plant Biology* 14:163–170.
- FEER, F., PONGE, J. F., JOUARD, S. & GOMEZ, D. 2013. Monkey and dung beetle activities influence soil seed bank structure. *Ecological Research* 28:93–102.
- FENNER, M. 2000. *Seeds: the ecology of regeneration in plant communities*. (Second edition). CABI Publishing, Wallingford. 410 pp.
- FRAGOSO, J. M. V., SILVIUS, K. M. & CORREA, J. A. 2003. Long-distance seed dispersal by tapirs increases seed survival and aggregates tropical trees. *Ecology* 84:1998–2006.
- GARWOOD, N. C. 1989. Tropical soil seed banks: a review. Pp. 149–209 in Leck, M. A., Parker, V. T. & Simpson, R. L. (eds). *Ecology of soil seed banks*. Academic Press, San Diego.
- GONZÁLEZ-ZAMORA, A., ARROYO-RODRÍGUEZ, V., OYAMA, K., SORK, V., CHAPMAN, C. A. & STONER, K. E. 2012. Sleeping sites and latrines of spider monkeys in continuous and fragmented rainforests: implications for seed dispersal and forest regeneration. *PLOS ONE* 7(10):e46852. doi:10.1371/journal.pone.0046852.
- GRANT, J. D. 1983. The activities of earthworms and the fate of seeds. Pp. 107–122 in Satchell, J. E. (ed). *Earthworm ecology from Darwin to vermiculture*. Chapman and Hall, London.
- HOLDRIDGE, L. R. 1967. *Life zone ecology*. Tropical Science Center, San José. 206 pp.
- HULME, P. E. 2002. *Seed-eaters: dispersal, destruction and demography*. Pp. 257–273 in Levey, D. J., Silva, W. R. & Galetti, M. (eds.). *Seed dispersal and frugivory: ecology, evolution and conservation*. CABI Publishing, Wallingford.
- IRWIN, M. T., SAMONDS, K. E., RAHARISON, J. L. & WRIGHT, P. C. 2004. Lemur latrines: observations of latrine behavior in wild primates and possible ecological significance. *Journal of Mammalogy* 85:420–427.
- LAWSON, C. R., MANN, D. J. & LEWIS, O. T. 2012. Dung beetles reduce clustering of tropical tree seedlings. *Biotropica* 44:271–275.
- MARTHEWS, T. R., MULLINS, C. E., DALLING, J. W. & BURSLEM, D. F. 2008. Burial and secondary dispersal of small seeds in a tropical forest. *Journal of Tropical Ecology* 24:595–605.
- MEDELLÍN, R. A. 1994. Mammal diversity and conservation in the Selva Lacandona, Chiapas, Mexico. *Conservation Biology* 8:780–799.
- NICHOLS, E., SPECTOR, S., LOUZADA, J., LARSEN, T., AMEZQUITA, S., FAVILA, M. E. & TSR NETWORK. 2008. Ecological functions and ecosystem services provided by Scarabaeinae dung beetles. *Biological Conservation* 141:1461–1474.
- PEARSON, T. R. H., BURSLEM, D. F., MULLINS, C. E. & DALLING, J. W. 2002. Germination ecology of neotropical pioneers: interacting effects of environmental conditions and seed size. *Ecology* 83:2798–2807.

- POUVELLE, S., JOUARD, S., FEER, F., TULLY, T. & PONGE, J.-F. 2009. The latrine effect: impact of howler monkeys on the distribution of small seeds in a tropical rain-forest soil. *Journal of Tropical Ecology* 25:239–248.
- PUTZ, F. E. & APPANAH, S. 1987. Buried seeds, newly dispersed seeds, and the dynamics of a lowland forest in Malaysia. *Biotropica* 19:326–333.
- RUSSO, S. E. & AUGSPURGER, C. K. 2004. Aggregated seed dispersal by spider monkeys limits recruitment to clumped patterns in *Virola calophylla*. *Ecology Letters* 7:1058–1067.
- SANTOS-HEREDIA, C., ANDRESEN, E. & ZÁRATE, D. A. 2010. Secondary seed dispersal by dung beetles in a Colombian rain forest: effects of dung type and defecation pattern on seed fate. *Journal of Tropical Ecology* 26:355–364.
- SIMPSON, R. L., LECK, M. A. & PARKER, V. T. 1989. Seed banks: general concepts and methodological issues. Pp. 3–8 in Leck, M. A., Parker, V. T. & Simpson, R. L. (eds), *Ecology of soil seed banks*. Academic Press, San Diego.
- SKOGLUND, J. 1992. The role of seed banks in vegetation dynamics and restoration of dry tropical ecosystems. *Journal of Vegetation Science* 3:357–360.
- THOMPSON, K. 2000. The functional ecology of soil seed banks. Pp. 215–235 in Fenner, M. (ed.), *Seeds: the ecology of regeneration in plant communities*. CABI Publishing, Wallingford.
- VANDER WALL, S. B., FORGET, P.-M., LAMBERT, J. & HULME, P. 2005. Seed fate pathways: filling the gap between parent and offspring. Pp. 1–8 in Forget, P.-M., Lambert, J., Hulme, P. & Vander Wall, S. B. (eds), *Seed fate: predation, dispersal and seedling establishment*. CABI Publishing, Wallingford.
- WANG, Y., JIANG, D., TOSHIO, O. & ZHOU, Q. 2013. Recent advances in soil seed bank research. *Contemporary Problems of Ecology* 6:520–524.

Appendix 1. Total number of seedlings established in 1-m² plots (N = 8 plots per treatment) with three different treatments: repeated placement of 100 g of dung (once a week for 4 wk), single-time placement of 100 g of dung, and no dung placement. Information on life form, primary seed dispersal syndrome and seed size (width) are given for each species, when available. For those species, for which we could not measure seeds directly or obtain measurements from other sources, we provide two broad categories (<5 mm and ≥5 mm) based on the information available for the particular genera in our study region.

Species	Repeated dung	Single-time dung	No dung	Life form	Dispersal	Seed size (mm)
<i>Acalypha</i> sp. 1	4			Shrub	Barochory	<5
<i>Ardisia</i> sp. 1	2			–	Zoochory	<5
<i>Arrabidaea</i> sp. 1	5	1	1	Liana	Anemochory	≥5
Bignoniaceae		2	1	–	–	–
<i>Brosimum lactescens</i> (S. Moore) C.C. Berg	6			Tree	Zoochory	7
<i>Ceiba pentandra</i> (L.) Gaertn.	1			Tree	Anemochory	≥5
<i>Celtis iguanaea</i> (Jacq.) Sarg.	3		1	Liana	Zoochory	6
<i>Cissus microcarpa</i> Vahl	3	4	6	Liana	Zoochory	7
cf. <i>Combretum</i>	14	10	2	Liana	Anemochory	–
<i>Davilla</i> sp. 1	12	10		Liana	Zoochory	≥5
<i>Dialium guianense</i> (Aubl.) Sandwith	4			Tree	Zoochory	4
<i>Erythrina</i> sp. 1	3	5	2	Tree	Barochory	<5
<i>Eugenia</i> sp. 1	7	2	8	Tree	Zoochory	13
<i>Gliricidia</i> sp. 1	4		2	Tree	Barochory	<5
<i>Guarea excelsa</i> Kunth	3	7	2	Tree	Zoochory	5
Malpighiaceae	2		2	–	–	–
<i>Inga pavoniana</i> G. Don	2			Tree	Zoochory	5
<i>Ochroma pyramidale</i> (Cav. ex Lam.) Urb.	3			Tree	Anemochory	<5
<i>Passiflora</i> sp. 1	34	2	8	Liana	Zoochory	<5
<i>Paullinia</i> sp. 1	7	2		Liana	Zoochory	9
<i>Psychotria</i> sp. 1	6	3		Shrub	Zoochory	2
<i>Rinorea</i> sp. 1	8	2	5	Shrub	Barochory	2
<i>Serjania</i> sp. 1	16	12	6	Liana	Anemochory	2
<i>Spondias mombin</i> L.	1			Tree	Zoochory	12
<i>Trophis racemosa</i> (L.) Urb.	4	3	1	Tree	Zoochory	5
<i>Virola guatemalensis</i> (Hemsl.) Warb.	1			Tree	Zoochory	17
<i>Vochysia guatemalensis</i> Donn. Sm.	2			Tree	Anemochory	5
Total number of individuals	157	65	47			
Total number of species	26	14	14			

Appendix 2. Total number of seedlings established in 0.17-m² plots (N = 100 plots per treatment) with two different treatments: single-time placement of 50 g of dung, and no dung placement. Information on life form, primary seed dispersal syndrome and seed size (width) are given for each species, when available. For those species, for which we could not measure seeds directly or obtain measurements from other sources, we provide two broad categories (<5 mm and ≥ 5 mm) based on the information available for the particular genera in our study region.

Species	Single-time dung	No dung	Life form	Dispersal	Seed size (mm)
<i>Acalypha</i> sp.1	8	1	Shrub	Barochory	<5
<i>Arrabidaea</i> sp.1	4	6	Liana	Anemochory	≥5
<i>Calophyllum brasiliense</i> Cambess.	5		Tree	Zoochory	13
<i>Castilla elastica</i> Sessé	1		Tree	Zoochory	5
<i>Celtis iguanaea</i> (Jacq.) Sarg.	12	3	Liana	Zoochory	6
<i>Cissus microcarpa</i> Vahl	2		Liana	Zoochory	7
<i>Combretum</i> sp. 1	4	2	Liana	Anemochory	≥5
<i>Davilla</i> sp. 1	3		Liana	Zoochory	≥5
<i>Dialium guianense</i> (Aubl.) Sandwith	4	1	Tree	Zoochory	4
<i>Erythrina</i> sp. 1	7	1	Tree	Barochory	<5
<i>Eugenia</i> sp. 1	31	11	Tree	Zoochory	13
<i>Eugenia</i> sp. 2	3		Tree	Zoochory	≥5
<i>Eugenia</i> sp. 3	2		Tree	Zoochory	≥5
<i>Gliricidia</i> sp. 1	9		Tree	Barochory	<5
<i>Guarea excelsa</i> (Aubl.) Sandwith	1	1	Tree	Zoochory	5
<i>Hirtella americana</i> L.	1		Tree	Zoochory	4
Malpighiaceae	5		–	–	–
cf. <i>Tapirira</i>	6	4	–	–	–
<i>Passiflora</i> sp. 1	14	7	Liana	Zoochory	<5
<i>Passiflora</i> sp. 2	1		Liana	Zoochory	<5
<i>Posoqueria latifolia</i> (Rudge) Schult.	3		Tree	Zoochory	10
<i>Rinorea</i> sp. 1	4		Shrub	Barochory	2
<i>Schizolobium parahyba</i> (Vell.) S.F. Blake	2		Tree	Anemochory	2
<i>Trophis racemosa</i> (L.) Urb.	8		Tree	Zoochory	5
<i>Virola guatemalensis</i> (Hemsl.) Warb.	1		Tree	Zoochory	17
<i>Vochysia guatemalensis</i> Donn. Sm.	9		Tree	Anemochory	5
Total number of individuals	150	37			
Total number of species	26	10			

CAPÍTULO TERCERO

Dung Beetle Activity Increases Seedling Growth and Nutrient Content but Decreases Survival

Carolina Santos-Heredia^{1,2}, Ellen Andresen^{1,4}, Ek del-Val¹, Diego A. Zárate³, Maribel Nava Mendoza¹ & Víctor J. Jaramillo¹

¹Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad, Universidad Nacional Autónoma de México, Antigua Carretera a Pátzcuaro No. 8701, Ex-Hacienda de San José de la Huerta, CP 58190, Morelia, Michoacán, México

²Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Universidad 3000, Ciudad Universitaria, CP 04360, Distrito Federal, México

³Centro de Investigación La Suiza, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, Km 32 vía al mar, vereda Galápagos, Rionegro-Santander, Colombia

⁴Corresponding author; email: andresen@cieco.unam.mx

Enviado a Biotropica

ABSTRACT

Dung beetles constitute a very important insect group due to the functions they perform in terrestrial ecosystems, many of which have relevant consequences for plants. In tropical forests a relatively well-studied function of dung beetles with effects on plants, is seed dispersal. However, our knowledge about other effects that the activity of dung beetles can have on plants comes mostly from agricultural systems and laboratory experiments. In this study we quantify, for the first time, some effects that dung beetle activity can have on rainforest seedlings under natural conditions, through mechanisms other than seed movement. Through field experiments with one tree species (*Brosimum lactescens*, Moraceae) and manipulation of dung presence and dung beetle access, we determined the effects of dung beetle activity on seedlings' foliar nutrients, growth, and survival. Foliar nitrogen was higher in seedlings with dung and dung beetles, compared to seedlings without dung or beetles; it was intermediate in the treatment with dung but no beetles. In the case of phosphorous, seedlings with dung and beetles had higher concentrations than seedlings in the other two treatments. After 6 months we found a significant positive effect of dung beetle activity on net growth in leaf number. However, dung beetle activity was associated with lower seedling survival, possibly due to higher pathogen attack. Our results open up new avenues of research to assess the multiple effects that dung beetles can have, not only on the fate of rainforest seeds, but also on the fate of seedlings.

RESUMEN

Los escarabajos coprófagos son un grupo de insectos muy importante por las funciones que desempeñan en los ecosistemas terrestres, muchas de las cuales pueden tener consecuencias relevantes para las plantas. En bosques tropicales una función de los escarabajos coprófagos relativamente bien conocida, y con efectos sobre las plantas, es la dispersión de semillas. Sin

embargo, nuestro conocimiento acerca de otros efectos que la actividad de estos escarabajos puede tener sobre las plantas proviene mayormente de sistemas agrícolas y experimentos de laboratorio. En este estudio cuantificamos, por primera vez, algunos efectos que la actividad de los escarabajos coprófagos puede tener sobre plántulas del bosque tropical bajo condiciones naturales, a través de mecanismos diferentes al movimiento de semillas. Mediante experimentos de campo con una especie de árbol (*Brosimum lactescens*, Moraceae) y la manipulación de la presencia de heces y de escarabajos coprófagos, determinamos los efectos de la actividad de los escarabajos sobre el contenido de nutrientes foliares, el crecimiento y la supervivencia de plántulas. El contenido de nitrógeno foliar fue mayor en plántulas con actividad de escarabajos, en comparación a plántulas sin heces; el contenido fue intermedio en el tratamiento con heces pero sin escarabajos. En el caso del fósforo, plántulas con heces y escarabajos tuvieron mayores concentraciones que las plántulas en los otros dos tratamientos. Después de 6 meses encontramos un efecto positivo significativo de la actividad de los escarabajos coprófagos sobre el crecimiento neto en número de hoja. Sin embargo, la actividad de los escarabajos coprófagos también estuvo asociada con una menor supervivencia de plántulas, posiblemente debido a un mayor ataque por patógenos. Nuestros resultados abren nuevas rutas de investigación que permitirán determinar los múltiples efectos que los escarabajos coprófagos tienen, no sólo sobre el destino de semillas tropicales, sino también de plántulas.

Key words: Ecological functions; foliar nutrients; Lacandon rainforest; Mexico; Scarabaeinae; seedling performance.

DUNG BEETLES (SCARABAEINAE, COLEOPTERA) CONSTITUTE AN IMPORTANT INSECT TAXON IN many terrestrial ecosystems, both natural and anthropogenic, due to the ecological functions and ecosystem services they perform (Nichols *et al.* 2008, Benyon *et al.* 2015). These insects process the dung of animals by excavating soil and building underground tunnels where they then locate the dung for feeding or ovipositing (Halffter & Edmonds 1982). This dung-relocation behavior has important effects on the soil, such as nutrient return, bioturbation, movement of the seed bank, all of which can, in turn, have important consequences for plants (Nichols *et al.* 2008, Scholtz *et al.* 2009, Santos-Heredia & Andresen 2014).

In the last few decades, dung beetles have been extensively used as a focal taxon in many studies assessing the effects of anthropogenic disturbances on biodiversity, particularly in tropical forest ecosystems, where this insect group reaches very high values of abundance and species richness (Nichols & Gardner 2011). Yet, despite its extensive use as a focal taxon and its assumed functional importance, relatively few studies have quantified the consequences of Scarabaeinae activity for plants in tropical forests (with the exception of secondary seed dispersal, Andresen & Feer 2005).

Information for most ecological functions recognized for this insect group comes from other ecosystems, particularly productive systems (crops and cattle pastures) and/or controlled laboratory experiments (see Nichols *et al.* 2008, Scholtz *et al.* 2009). Such studies have shown that, by burying dung, these beetles accelerate nutrient return to the soil (Stevenson & Dindal 1987), as well as nutrient mineralization (Brey Meyer *et al.* 1975, Yokoyama *et al.* 1991, Elkins *et al.* 1994). Further, by digging tunnels and excavating soil, dung beetles cause soil bioturbation, which in turn increases its aeration, permeability and pH (Mittal 1993, Bertone *et al.* 2006, Scholtz *et al.* 2009).

In crop and pasture systems it has been shown that the chemical and physical consequences of dung beetle activity are often associated with a more efficient use of soil

resources by plants, and with better plant performance (Bornemissza & Williams 1970, Bang *et al.* 2005, Hanafy 2012). In cattle pastures, for example, grasses grow higher in sites with dung beetle activity (Galbiati *et al.* 1995), while crops (Hanafy 2012) and fodder (Bang *et al.* 2005) have higher values of foliar nutrient concentrations when Scarabaeinae are present.

The weathered soils of many tropical rainforests are known to have low availability of phosphorus that can be readily used by plants, while nitrogen seems to be less limited (Vitousek & Sanford 1986, Cleveland *et al.* 2011, Brookshire *et al.* 2012). Nonetheless, both nutrients are crucial for plant growth and survival (Schachtman *et al.* 1998, Hörtensteiner & Feller 2002), and their availability is likely to affect plant performance, particularly during the more susceptible early life stages (Leck *et al.* 2008). These two elements are abundant in animal feces (Hutton *et al.* 1967, Voigt *et al.* 2015), and thus their fast return to the soil through dung beetle activity could have positive effects on seedling performance in tropical rainforests.

The aim of our research was to test the hypothesis that, in tropical rainforests under natural conditions, the activity of dung beetles (dung burial through soil excavation) affects seedling performance positively. Our predictions were that dung beetle activity would be associated with an increase in the following seedling variables: (1) concentrations of foliar nitrogen and phosphorus, (2) growth, and (3) survival probability. To test these predictions we carried out two field experiments using seedlings of one common tree species (*Brosimum lactescens*), manipulating both dung presence and dung beetle activity.

METHODS

STUDY SITE.— This study was carried out between June 2012 and October 2013 in the Montes Azules Biosphere Reserve (16°07'58'' N, 90°56'36'' W), located in the Lacandon rainforest in the Mexican state of Chiapas. This reserve has an area of 3310 km², which is mostly covered by mature tropical moist forest (Holdridge 1967). Mean annual temperature and rainfall are 24°C and 3000 mm, respectively (Medellín 1994). For this study we used sites within the reserve which had similar geomorphology, avoiding floodplains and karst areas (Birkeland 1984).

Approximately 37 species of Scarabaeinae can be found in the study site, with sizes varying between 4 and 27 mm (C. Santos-Heredia, unpubl. data). On average, 106 individuals of 14 species are attracted to a single baited (30 g monkey dung) pitfall trap in 48 h, and 100 percent of dung removal occurs generally within 24 h (C. Santos-Heredia, unpubl. data).

FOLIAR NITROGEN AND PHOSPHORUS.— To determine if seedlings accumulate higher amounts of N and or P in their leaves, as a consequence of dung beetle activity, we conducted a field experiment using seedlings of *Brosimum lactescens* (from here onwards referred to by its genus name), a canopy tree species (30–40 m height) in the Moraceae family. In the study region *Brosimum* is one of the tree species with highest relative densities (Zárate *et al.* 2014) and their fruits and leaves represent important food resources for many animal species (D. Zárate pers. obs.). *Brosimum* seedlings were subject to treatments in which both presence of dung and access to dung beetles were manipulated. In this, and the following experiment, we used fresh dung of howler monkeys (*Alouatta pigra*).

For the experiment we used naturally-established seedlings under five parent trees (150–350 m among trees), making sure that all seedlings belonged to the same cohort, *i.e.* they all had cotyledons still attached and heights between 5 and 15 cm. Under each parent tree we chose seedling groups, each group consisting of five seedlings in close proximity such that

they could be surrounded by a plastic cylinder 30 cm in diam and 25 cm high (of which 5–7 cm were buried). Under each tree we established 30 seedling groups which were randomly assigned to three treatments: (1) +D+B, in which 25 g of dung were placed in the middle of the area covered by the cylinder and access to dung beetles was not excluded; (2) +D–B, with 25 g of dung and exclusion of dung beetles; and, (3) –D–B, seedlings with no manipulation. Seedling groups of the +D–B treatment were immediately covered with a resistant tulle fabric to prevent dung beetles from entering the cylinder, but allow the passage of light and water. After 48 h, when all dung in the cylinders of the +D+B treatment had been buried by dung beetles, all cylinders were covered with tulle, to maintain similar environmental conditions for seedlings in all treatments.

After 24 d all seedlings were harvested and taken to the laboratory. Roots were discarded to avoid contamination with any soil particle; the aerial parts were thoroughly washed, then dried at 60°C for 36 h, and finally grounded finely using a ball mill. To have sufficient material for analyses (≥ 0.25 g) we had to randomly pool seedlings from two cylinders (from the same tree and treatment), for a total of five samples per treatment, in each of tree. Nitrogen and phosphorous concentrations were obtained through Kjeldahl wet digestion (Technicon Industrial System, method No. 696-82 W) and colorimetry analysis using a Bran+Luebbe AutoAnalyzer 3.

GROWTH AND SURVIVAL.— To determine if dung beetle activity has a positive effect on seedling performance we carried out a second field experiment with *Brosimum* seedlings, with the same treatments as in the previous experiment, but using a different experimental design. In one location of the forest understory we established three rectangular plots 4 m x 5 m, with a distance of 2 m between adjacent plots. The perimeter of each plot consisted of plastic mosquito netting (2 mm mesh size) 35 cm high and buried 10 cm deep, supported by wooden stakes at the corners. All plants inside the plots were removed, but not the leaf litter.

In each plot we sowed 200 *Brosimum* by burying them at 1–2 cm depth, using regular spacing. Seeds were obtained from freshly-fallen mature fruits collected underneath eight parent trees. After approximately 7 wk, seedlings had established and we chose the 100 most vigorous ones (5–15 cm high) in each plot; the other seedlings were removed. Each experimental seedling was marked individually with a small tag, and initial height and number of leaves was recorded. In this experiment each seedling constituted a sample unit for statistical analyses. One plot was randomly assigned to each treatment.

In plots corresponding to the +D+B and +D–B treatments we placed 25 g of fresh dung at the base of each seedling. The top of the +D–B plot was immediately covered with mosquito netting, to prevent access by dung beetles while allowing passage of light and water. After 48 h the tops of the other two plots were also covered. We registered seedling survival and growth once a month, until completing 1 yr since the onset of the experiment. Regarding seedling growth, for each surviving seedling in a given month we calculated net growth in terms of both seedling height and number of leaves. Since net growth is the result of a dynamic process that may include both an increase and a decrease in growth, we also registered the numbers of new leaves and lost leaves in a given month. After the check on the 6th mo the mosquito netting on top of the three plots was removed, as it was deteriorating.

DATA ANALYSES.—All analyses were carried out using R 2.15.3 (R Development CoreTeam 2013, <http://www.R-project.org/>). To assess the effect of dung beetle activity on foliar nutrients we used block-design ANOVA's with replicates (with parent trees representing blocks, and five replicates per treatment in each block). Trees were considered random factor and treatments (+D+B, +D–B, –D–B) fixed factor. We carried out multiple comparisons with HSD Tukey tests using the package "multcomp".

To analyze the response variables related to seedling growth (net growth in seedling height, net growth in number of leaves, number of leaves lost, number of new leaves) we used generalized linear models, with treatment as fixed factor. Separate analyses were carried out for two time periods: at the 6th mo (time after which the cover of the plots was removed), and at the 11th mo (end of the experiment). Adequacy of models and error distributions used was evaluated with residual analyses (Crawley 2007). We carried out multiple comparisons with HSD Tukey tests using the package "multcomp".

To analyze seedling survival we carried out a survival analyses with the Kaplan-Meier method for censored data (using the package "Survival"). The survival matrix was built using survival time of each individual, a censored variable [1 = dead, 0 = alive] and a grouping factor with three levels (+D+B, +D-B, -D-B). To compare survival curves we carried out a Mantel-Haenzel test through contingency tables.

RESULTS

FOLIAR NITROGEN AND PHOSPHOROUS.—Seedlings in the +D+B treatment showed the highest values for mean concentration of nitrogen (32.52 mg/g) and phosphorous (4.09 mg/g), followed by +D-B seedlings (N: 27.43 mg/g; P: 3.44 mg/g), and finally the -D-B seedlings (N: 25.01 mg/g; P: 3.15 mg/g). Treatment effect was significant for both nutrients (N: $F_{2,8} = 6.079$, $P = 0.025$; P: $F_{2,8} = 11.137$, $P = 0.005$; Fig. 1). Multiple comparisons in the case of nitrogen showed that seedlings with dung beetle activity had higher concentrations of the nutrient, but only compared to the treatment with no dung ($P = 0.022$); seedlings with dung added but dung beetles excluded, had intermediate nitrogen concentrations (Fig. 1A). In the case of phosphorous seedlings of the +D+B treatment had higher concentrations compared to both the -D-B ($P = 0.004$), and the +D-B ($P = 0.03$) treatments, very clearly demonstrating

the importance of dung beetle activity in the seedlings' assimilation of this nutrient (Fig. 1B). The effect of tree (random factor) was significant for both nutrients (N: $F_{4,8} = 14.56$, $P < 0.001$; P: $F_{4,8} = 5.46$, $P = 0.020$), probably reflecting high variability in soil nutrient contents at the tree level (Fig. S1).

GROWTH AND SURVIVAL.— At 6 mo, net growth in terms of seedling height was affected by treatment ($F_{2,210} = 6.5914$, $P = 0.002$; Fig. 2A), but only the effect of dung addition was evidenced. In particular, seedlings without dung ($-D-B$ treatment) had lower mean net growth values compared to both $+D+B$ seedlings ($N = 213$, $Z = -3.366$, $P = 0.002$) and $+D-B$ seedlings ($N = 213$, $Z = -2.801$, $P = 0.014$), but seedlings from the two latter treatments had similar net growth values ($N = 213$, $Z = -0.658$, $P = 0.788$). At 11 mo, trends were similar to those observed at 6 mo, but no statistically significant effect of treatment was detected ($F_{2,87} = 2.0155$, $P = 0.139$; Fig. 2B).

Regarding net growth in terms of number of leaves, treatment effect was also significant at 6 mo ($\chi^2 = 4.677$, $df = 2$, $P = 0.010$; Fig. 2C). In this case, however, seedlings from the plot with dung beetle activity ($+D+B$) had higher values of net growth than seedlings from both the $+D-B$ ($N = 213$, $Z = -2.698$, $P = 0.019$) and the $-D-B$ treatment ($N = 213$, $Z = -2.695$, $P = 0.019$). Indeed $+D+B$ seedlings were the only ones showing net positive growth in terms of leaves at 6 mo. This was the result of seedlings in the $+D+B$ treatment producing more new leaves while losing the same amount of leaves, compared to the other treatments (Fig. S2A, C). At 11 mo net growth in the number of leaves was highly variable within treatments, and thus no effect of treatment could be detected ($\chi^2 = 2.639$, $df = 2$, $P = 0.771$; Fig. 2D).

However, seedlings in both treatments with dung added ($+D+B$ and $+D-B$) had a mean positive net growth in leaves, while it was still negative for seedlings without dung, due to the significantly lower number of new leaves produced in this treatment (Fig. S2B).

The survival analysis showed significant differences among treatments (Fig. 3) both considering only the first 6 mo ($\chi^2 = 8.395$, $df = 2$, $P = 0.015$) as well as the whole period of 11 mo ($\chi^2 = 14.388$, $df = 2$, $P < 0.001$). At 6 mo seedlings with dung beetle activity (+D+B) had significantly lower survival than seedlings without dung ($\chi^2 = 7.851$, $df = 2$, $P < 0.005$); seedlings with dung but no beetle activity had intermediate survival. At 11 mo seedlings without dung beetle activity, either with or without dung, had similar survival ($\chi^2 = 1.259$, $df = 2$, $P = 0.262$), which in turn was higher when compared to survival of seedlings with dung beetle activity (+D+B vs. +D-B, $\chi^2 = 6.385$, $df = 2$, $P = 0.012$; +D+B vs. -D-B, $\chi^2 = 13.496$, $df = 2$, $P = 0.001$).

DISCUSSION

Dung beetle activity may affect plants positively or negatively, through a variety of mechanisms. In tropical forests, for example, movement of seeds by dung beetles has been shown to increase seed survival probabilities (see Andresen & Feer 2005 and references therein), increase or decrease seedling establishment probabilities (Andresen & Levey 2004, Culot *et al.* 2015), decrease the spatial clustering of seedlings (Lawson *et al.* 2012), and favor seedling establishment from the soil seed bank (Santos-Heredia & Andresen 2014). However, and despite the fact that in productive systems and laboratory studies it has been shown that dung beetles can affect plants through other mechanisms, such as bioturbation and facilitation of nutrient uptake (*e.g.*, Bang *et al.* 2005, Hanafy 2012), this is the first study showing that such effects also occur for rainforest seedlings under natural conditions.

In terms of foliar nutrients, we found that dung beetle activity increased the concentration of nitrogen and phosphorous in *Brosimum* seedlings. In the case of nitrogen, dung presence by itself (*i.e.*, without dung beetle activity) caused a slight increase in the foliar content of this

nutrient. However, only when dung beetles were allowed to process the dung, was the increase in foliar nitrogen statistically significant. In the case of phosphorous, the importance of dung beetle activity was more strongly demonstrated, since only the presence of dung with dung beetle activity caused an increase in foliar concentration of this nutrient. Approximately 80 percent of the nutrients in vertebrate dung are lost through volatilization, and only the part incorporated into the soil may be mineralized (Gillard 1967). Our results corroborate that, when dung beetles bury fecal material, a larger proportion of nutrients contained in it may be used by plants (Galbiati *et al.* 1995, Fincher *et al.* 1981).

By burying dung, Scarabaeinae not only increase the concentration of readily-used nutrients in the soil, they also alter the soil's pH, its cationic interchange capacity, and its hydrological properties (Bertone *et al.* 2006, Brown *et al.* 2010). All these changes may affect plant performance, which was indeed observed in this study. In terms of seedling growth, 6 mo after a small portion of dung had been placed at the base of seedlings and buried by dung beetles, these seedlings showed a higher net increase in the number of leaves (but not seedling height). This finding is in accordance with the results of studies conducted with crops, cattle pastures, and/or under controlled laboratory conditions, in which an increase in plant height and biomass have been reported (*e.g.*, Galbiati *et al.* 1995, Lastro 2006).

At the end of the experiment (11 mo) we did not detect any treatment effect on net growth in the number of leaves. In this regard, it is important to remember that net growth in leaf number is the consequence of a dynamic process that involves both production of new leaves and loss of leaves. At 6 mo the significant higher value in net number of leaves was a consequence of seedlings with dung beetle activity both producing more and losing fewer leaves (despite non-significant differences between most treatments for these two variables; Fig. S2). At 11 mo this was not the case anymore. It would be reasonable to argue that the effect of dung beetle activity may be relatively short-lived, *i.e.* the boost in plant nutrient

uptake occurs soon after dung burial by beetles, and the advantage accrued to plants does not transcend long-term. More studies will be needed to corroborate if this is the case.

Interestingly, the effect of dung presence was still observed at 11 mo, with seedlings in both treatments with added dung producing more leaves than seedlings without dung (Fig. S2B). Finally, at 11 mo we had reduced statistical power due to high intra-treatment variability in the net number of leaves (Fig. 2D) and low seedling number (caused, in turn, by high mortality rates, see below).

Contrary to the effects on net growth and foliar nutrients, both of which were favored by dung beetle activity, the effect Scarabaeinae on seedling survival was contrary to our expectation. After 11 mo, seedlings with dung beetle activity had suffered 81 percent mortality, compared to 67 percent in the case of seedlings with dung but without beetle activity, and 61 percent in seedlings without dung. This pattern was consistent throughout the duration of the experiment, with the survival curve of +D+B seedlings always below the other curves. We found that seedlings with dung beetle activity developed brown necrotic patches with yellow borders on their leaves. These patches grew until leaves withered and fell; at the end only the dry stems remained. These symptoms coincide with those described for pathogen damage (Jones 1998), and they were not observed in seedlings of the other two treatments. Some studies have reported that the use of agrochemicals may cause increased vulnerability of plants to pathogen infection, by decreasing plant tolerance or resistance (Altieri & Nicholls 1990, Meyer 2000, Altieri & Nicholls 2003, Veresoglou *et al.* 2013). We speculate that the increase of foliar nutrients in *Brosimum* seedlings due to dung beetle activity, affected seedling survival negatively by making them more attractive and/or less tolerant/resistant to pathogen attack. This is a line of research that warrants further study in order to clearly determine the mechanism responsible for increased seedling mortality, and also to assess whether this negative effect of dung beetles can be generalized.

In conclusion, our study shows that dung beetles, under natural field conditions, through their dung-relocation and soil-excavation behavior, may affect rainforest seedlings positively or negatively. Yet, our study was conducted with only one plant species; future research should include more plant species and also different soil types, before we can determine the degree of context-specificity or generality of the findings outlined here. Additionally, future studies should also address the effects of dung beetle activity on other life stages (juveniles, adults), particularly in sites in which animal dung is deposited recurrently over time, such as animal latrines or resting areas (Irwin *et al.* 2004, Voigt *et al.* 2015). We believe that our study contributes through opening new lines of research that will allow us to increase our understanding of the multiple effects that rainforest dung beetles may have on plants in tropical forests.

ACKNOWLEDGMENTS

This research was funded by CONACyT (project SEP–CONACyT 2010-152884, graduate fellowship CONACyT 245258) and PAPIIT–UNAM (project IN-207711). We are thankful to SEMARNAT and CONANP for issuing the necessary permits (SGPA/DGVS/03075/13; Oficio No. REBIMA/009/12) and facilitating access to the Montes Azules Biosphere Reserve. We thank the following people for invaluable assistance in the field: Rafael Lombera, Miguel Miranda, Isaías Lombera, and Isidro López Lira.

LITERATURE CITED

ALTIERI, M. A., AND C. L. NICHOLLS. 1999. Biodiversity, ecosystem function and insect pest management in agricultural systems. *In* W. Collins and C. O. Qualset (Eds.). Biodiversity in Agroecosystems, pp. 69–84. CRC Press, Boca Raton, U.S.A.

- ALTIERI, M. A., AND C. L. NICHOLLS. 2003. Soil fertility management and insect pests: harmonizing soil and plant health in agroecosystems. *Soil Till. Res.* 72: 203–211.
- ANDRESEN, E., AND F. FEER. 2005. The role of dung beetles as secondary seed dispersers and their effect on plant regeneration in tropical rainforests. *In* P.-M. Forget, J. Lambert, P. Hulme, and S. B. Vander Wall (Eds.). *Seed Fate: Predation, Dispersal and Seedling Establishment*, pp. 331–349. CABI Publishing, Wallingford, UK.
- ANDRESEN, E., AND D. J. LEVEY. 2004. Effects of dung and seed size on secondary dispersal, seed predation, and seedling establishment of rain forest trees. *Oecologia* 139: 145–154.
- BANG, H. S., J. H., O. S. LEE KWON, Y. E. NA, Y. S. JANG, AND W. H. KIM. 2005. Effects of paracoprid dung beetles (Coleoptera: Scarabaeidae) on the growth of pasture herbage and on the underlying soil. *Appl. Soil Ecol.* 29: 165–171.
- BEYNON, S. A., W. A. WAINWRIGHT, AND M. CHRISTIE. 2015. The application of an ecosystem services framework to estimate the economic value of dung beetles to the U.K. cattle industry. *Ecol. Entomol.* 40:124–135.
- BERTONE, M. A., J. T. GREEN, S. P. WASHBURN, M. H. POORE, AND D. WATSON. 2006. The contribution of tunneling dung beetles to pasture soil nutrition. *Forage and Grazinglands*, online, doi: 10.1094/FG-2006-0711-02-RS.
- BIRKELAND, P. W. 1984. *Soils and geomorphology*. Oxford University Press, Oxford, UK.
- BORNEMISSZA, G. E., AND C. H. WILLIAMS. 1970. An effect of dung beetle activity on plant yield. *Pedobiologia* 10: 1–7.
- BREYMEYER, A., H. JAKUBCZYK, AND E. OLECHOWICZ. 1975. Influence of coprophagous arthropods on microorganisms in sheep feces laboratory investigations. *Bulletin de L'academie Polonaise des Science, Serie des Science Biologiques* 23: 257–262.

- BROOKSHIRE, E. N. J., S. GERBER, D. N. MENGE, AND L. O. HEDIN. 2012. Large losses of inorganic nitrogen from tropical rainforests suggest a lack of nitrogen limitation. *Ecol. Lett.* 15: 9–16.
- BROWN, J., C. H. SCHOLTZ, J. L. JANEAU, S. GRELLIER, AND P. PODWOJEWSKI. 2010. Dung beetles (Coleoptera: Scarabaeidae) can improve soil hydrological properties. *Appl. Soil Ecol.* 46: 9–16.
- CLEVELAND, C. C., A. R. TOWNSEND, P. TAYLOR, S. ALVAREZ-CLARE, M. BUSTAMANTE, G. CHUYONG, S. Z. DOBROWSKI, P. GRIERSON, K.E. HARMS, B. Z. HOULTON, A. MARKLEIN, W. PARTON, S. PORDER, S. C. REED, C. A. SIERRA, W. L. SILVER, E. V. J. TANNER, AND W. R. WIEDER. 2011. Relationships among net primary productivity, nutrients and climate in tropical rain forest: a pan-tropical analysis. *Ecol. Lett.* 14: 939–947.
- CRAWLEY, M. J. 2007. *The R book*, pp.942. Wiley & Sons, Chichester, UK.
- CULOT, L., M.-C. HUYNEN, AND E. W. HEYMANN. 2015. Partitioning the relative contribution of one-phase and two-phase seed dispersal when evaluating seed dispersal effectiveness. *Methods Ecol. Evol.* 6: 178–186.
- ELKINS, N. Z., L. W. PARKER, AND E. F. ALDON. 1994. Response of soil biota to organic amendments in strip-mine spoils in northwestern New Mexico. *J. Environ. Qual.* 12: 215–219.
- FINCHER, G. T. 1981. The potential value of dung beetles in pasture ecosystems. *J. Georgia Entomol. So.* 16: 301–316.
- GALBIATI, C., C. BENSI, C. H. C. CONCCIÇÃO, J. L. FLORCOVSKI, M. H. CALAFIORI, AND A. C. T. TOBIAS. 1995. Estudo comparativo entre besouros do esterco *Dichotomius analypticus* (Mann, 1829). *Ecosystema* 20: 109–118.

- GILLARD, P. 1967. Coprophagous beetles in pasture ecosystems. *J. Aust. I. Agr. Sci.* 33: 30–34.
- HALFFTER G, AND EDMONDS W. D. 1982. The Nesting Behavior of Dung Beetles (Scarabaeinae), An Ecological and Evolutive Approach. Instituto de Ecología, Mexico City, Mexico.
- HANAFY, H. E. M. 2012. Effect of dung beetles, *Scarabaeussacer* (Scarabaeidae: Scarabaeinae) on certain biochemical contents of leaves and fruits of tomato and squash plants. *J. Appl. Sci. Res.* 8: 4927–4936.
- HOLDRIDGE, L. R. 1967. Life Zone Ecology. Tropical Science Center, San José, Costa Rica.
- HÖRTENSTEINER, S., AND U. FELLER. 2002. Nitrogen metabolism and remobilization during senescence. *J. Exp. Bot.* 53: 927–937.
- HUTTON, J. B., K. E. JURY, AND E.B. DAVIES. 1967. Studies of the nutritive value of New Zealand dairy pastures. V. The intake and utilization of potassium, sodium, calcium, phosphorus and nitrogen in pasture herbage by lactating dairy cattle. *New Zeal. J. Agr. Res.* 10: 367–388.
- IRWIN, M. T., K. E. SAMONDS, J. L. RAHARISON, P. C. 2004. Lemur latrines: Observations of latrine behavior in wild primates and possible ecological significance. *J. Mammal.* 85: 420–427.
- JONES, D. G. 1998. An introduction to plant disease epidemiology. *In* D. G. JONES (Ed.). *The Epidemiology of Plant Diseases*, pp. 3–13. Springer, Dordrecht, Netherlands.
- LASTRO, E. 2006. Dung beetles (Coleoptera: Scarabaeidae and Geotrupidae) in North Carolina pasture ecosystems. MSc Dissertation, North Carolina State University, Raleigh, U.S.A.
- LAWSON C. R., D. J. MANN, AND O. T. LEWIS. 2012. Dung beetles reduce clustering of tropical tree seedlings. *Biotropica* 44: 271–275.

- LECK, M. A., AND H. A. OUTRED. 2008. Seedling natural history. *In* M. A. Leck, V. T. Parker, and R. L. Simpson (Eds.). *Seedling Ecology and Evolution*, pp. 17–55. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- MEDELLÍN, R. A. 1994. Mammal diversity and conservation in the Selva Lacandona, Chiapas, Mexico. *Conserv. Biol.* 8: 780–799.
- MEYER, G. A. 2000. Interactive effects of soil fertility and herbivory on *Brassica nigra*. *Oikos* 22: 433–441.
- MITTAL, I. 1993. Natural manuring and soil conditioning by dung beetles. *J. Trop. Ecol.* 34: 150–159.
- NICHOLS, E., S. SPECTOR, J. LOUZADA, T. LARSEN, S. AMEZQUITA, M.E. FAVILA, AND T.S.R. NETWORK. 2008. Ecological functions and ecosystem services provided by Scarabaeinae dung beetles. *Biol. Cons.* 141: 1461–1474.
- NICHOLS, E., AND T.A. GARDNER. 2011. Dung beetles as a candidate study taxon in applied biodiversity conservation research. *In* L.W. Simmons, and T. J. Ridsdill-Smith (Eds.). *Dung Beetles Ecology and Evolution*, pp. 267–291. Wiley-Blackwell, Chichester, UK.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. 2010. *R: A language and environment for statistical computing*, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- SANTOS-HEREDIA, C., AND E. ANDRESEN. 2014. Upward movement of buried seeds: another ecological role of dung beetles promoting seedling establishment. *J. Trop. Ecol.* 30: 409–417.
- SCHACHTMAN, D. P., R. J. REID, AND S. M. AYLING. 1998. Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. *Plant Physiol.* 116: 447–453.
- SCHOLTZ, C. H., A. L. V. DAVIS, AND U. KRYGER. 2009. *Evolutionary Biology and Conservation of Dung Beetles*. Pensoft Publishers, Sofia, Bulgaria.

- STEVENSON, B. G., AND D. L. DINDAL. 1987. Insect effects on decomposition of cow dung in microcosms. *Pedobiologia* 30: 81–92.
- VERESOGLOU, S. D., E. K. BARTO, G. MENEXES, AND M. C. RILLIG. 2013. Fertilization affects severity of disease caused by fungal plant pathogens. *Plant Pathol.* 62: 961–969.
- VOIGT, C. C., I. BORISSOV, AND D. H. KELM. 2015. Bats fertilize roost trees. *Biotropica* 47: 403–406.
- VITOUSEK, P. M., AND R. L. SANFORD. 1986. Nutrient cycling in moist tropical forest. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 17: 137–167.
- YOKOYAMA, K., H. KAI, AND H. TSUCHIYAMA. 1991. Paracoprid dung beetle and gaseous loss of nitrogen from cow dung. *Soil Biol. Biochem.* 23: 649–653.
- ZÁRATE, D. A., E. ANDRESEN, A. ESTRADA, AND J. C. SERIO-SILVA. 2014. Black howler monkey (*Alouatta pigra*) activity, foraging and seed dispersal patterns in shaded cocoa plantations versus rainforest in southern Mexico. *Am. J. Primatol.* 76: 890–899.

FIGURE LEGENDS

FIGURE 1. Mean concentration of foliar nitrogen (A) and phosphorus (B) for *Brosimum* seedlings under three treatments: with fresh dung and access to dung beetles (+D+B), with fresh dung and exclusion of dung beetles (+D–B), without dung or beetles (–D–B). Error bars represent ± 1 SEM. Letters above bars represent statistical significance of multiple comparison tests.

FIGURE 2. Mean net growth in seedling length (A and B) and number of leaves (C and D) after 6 mo (A and C) and 11 mo (B and D) for *Brosimum* seedlings under three treatments: with fresh dung and access to dung beetles (+D+B), with fresh dung and exclusion of dung beetles (+D–B), without dung or beetles (–D–B). Error bars represent ± 1 SEM. Letters above bars represent statistical significance of multiple comparison tests.

FIGURE 3. Survival curves of *Brosimum* seedlings under three treatments: with fresh dung and access to dung beetles (black solid line), with fresh dung and exclusion of dung beetles (black dotted line), without dung or beetles (grey solid line). The dotted vertical line marks the 6th mo, time after which the netting covering the plots was removed (see Methods). Letters next to the curves indicate statistical significance of multiple comparison tests carried out separately at 6 mo and 11 mo.

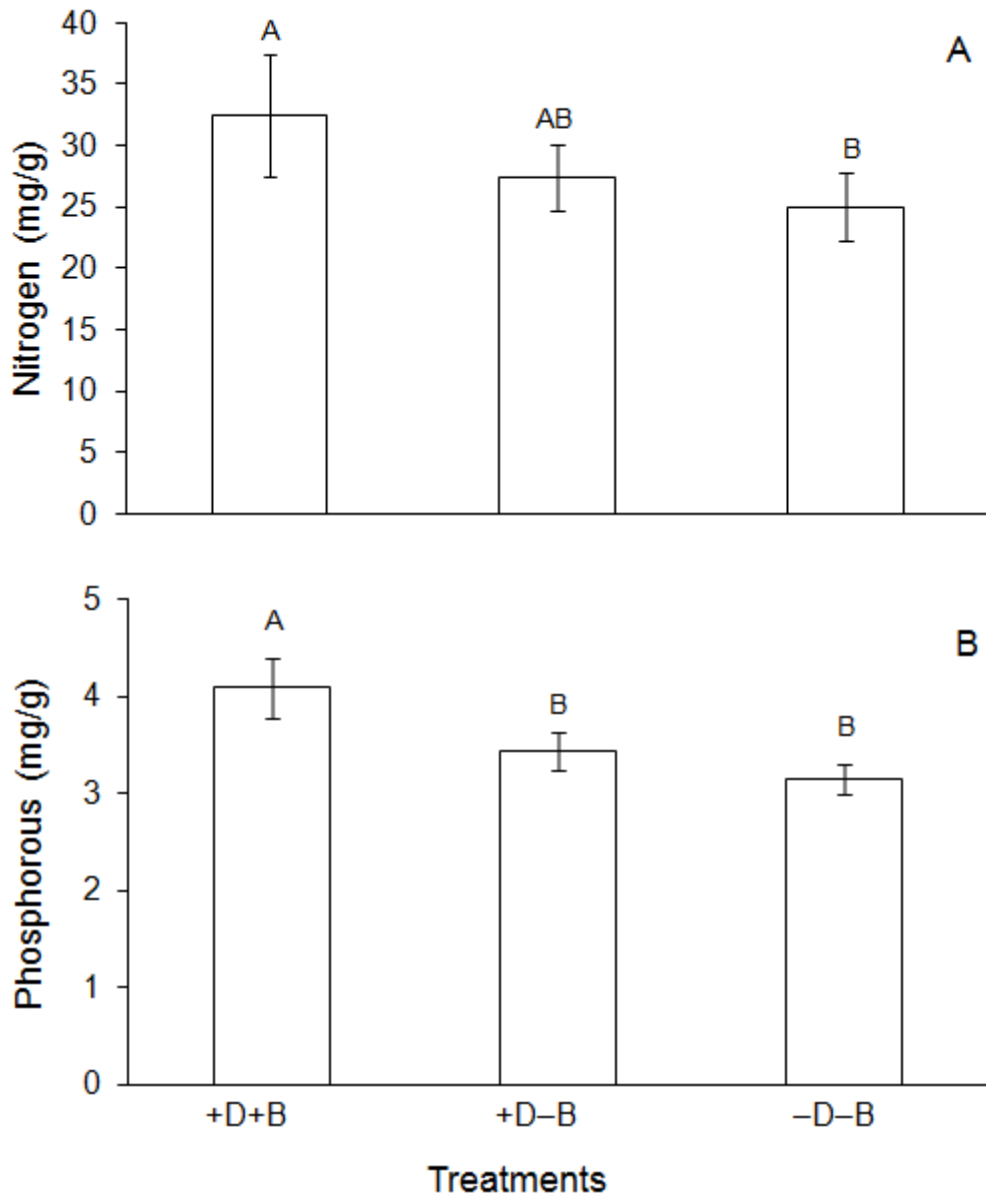


FIGURE 1

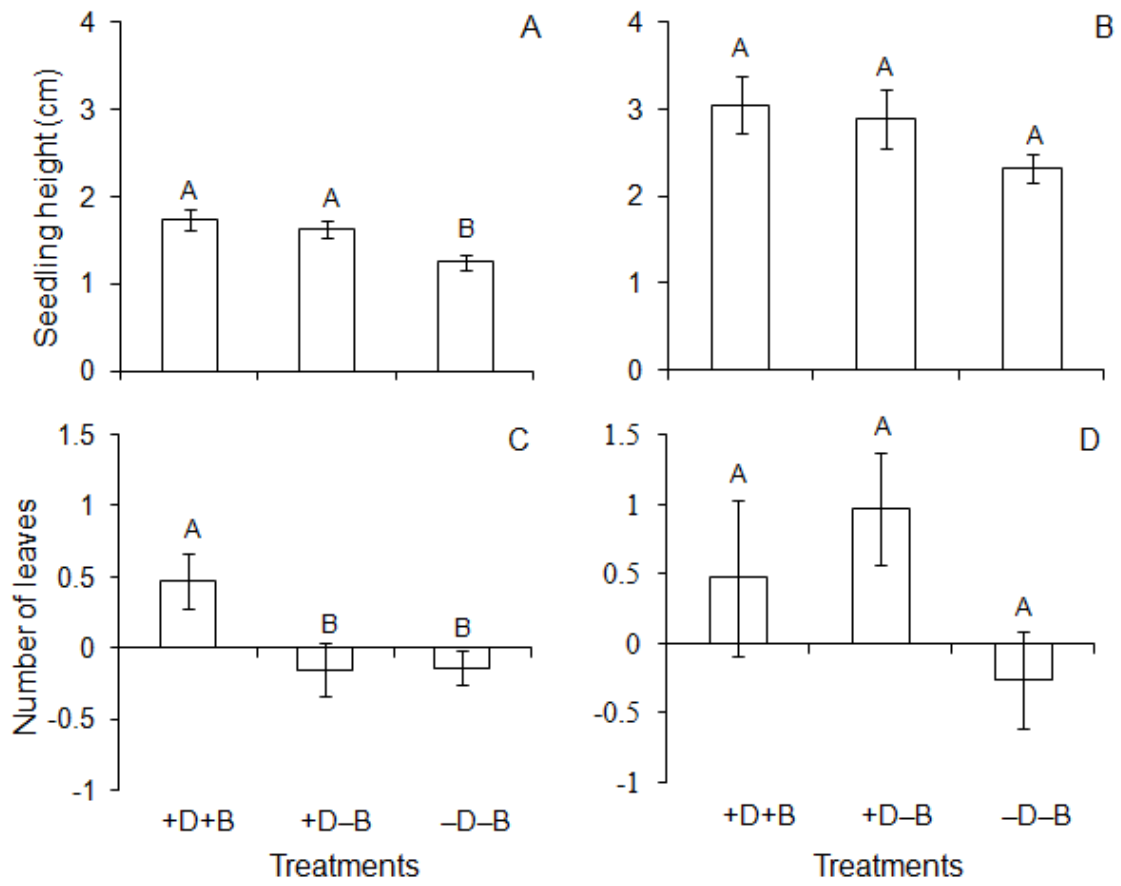


FIGURE 2

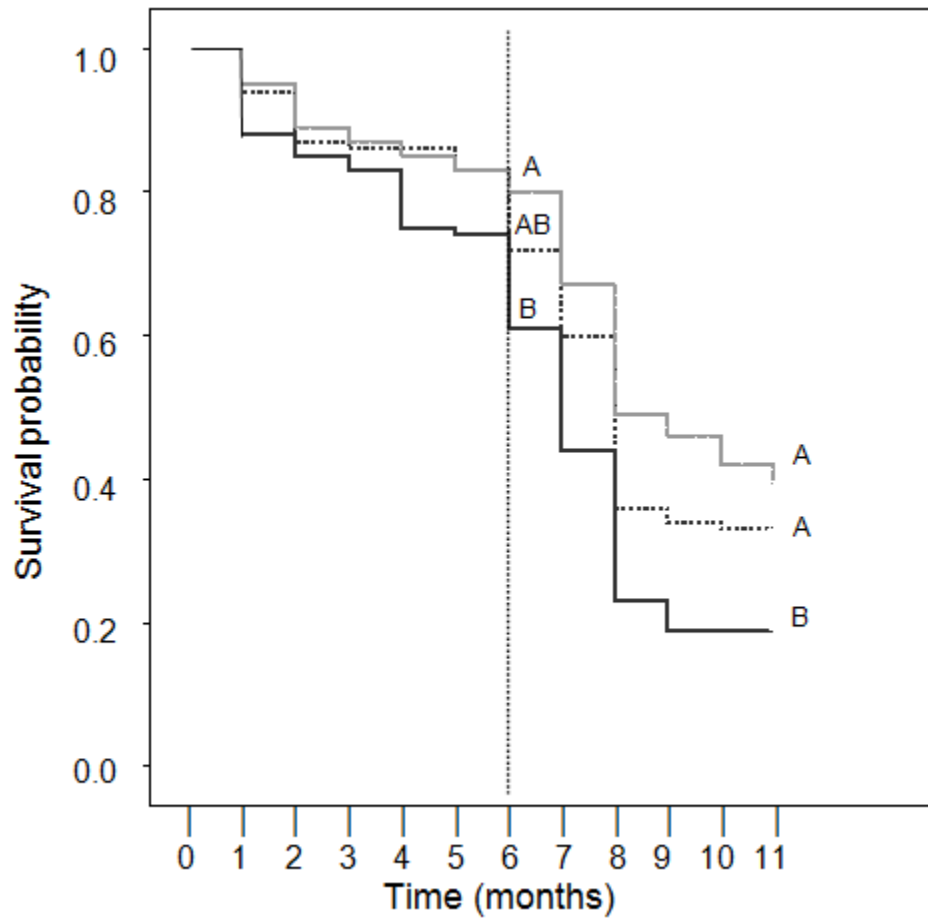


FIGURE 3

SUPPORTING INFORMATION

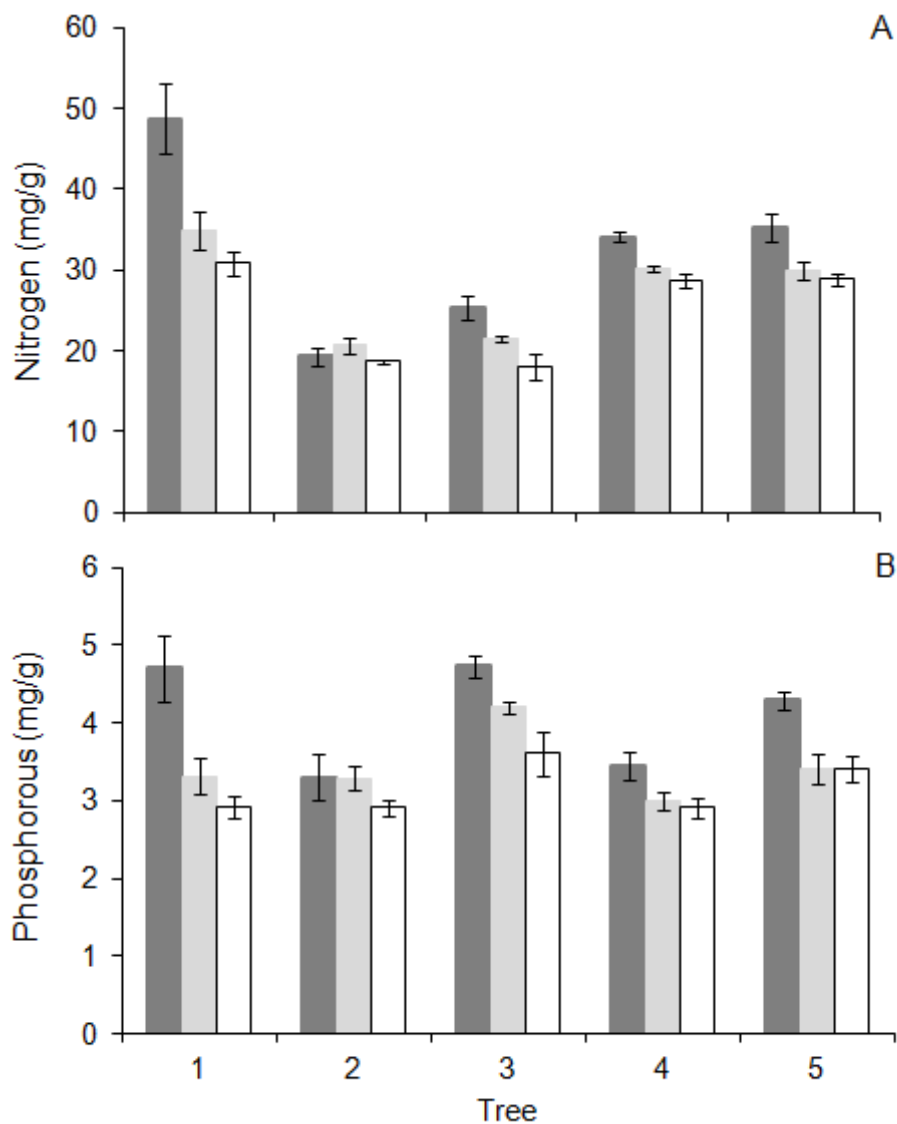


FIGURE S1. Mean concentrations of foliar nitrogen (A) and phosphorus (B) for *Brosimum* seedlings under five parent trees. Seedlings were subject to three treatments: with fresh dung and access to dung beetles (dark grey bars), with fresh dung and exclusion of dung beetles (light grey bars), without dung or beetles (white bars). Error bars represent ± 1 SEM.

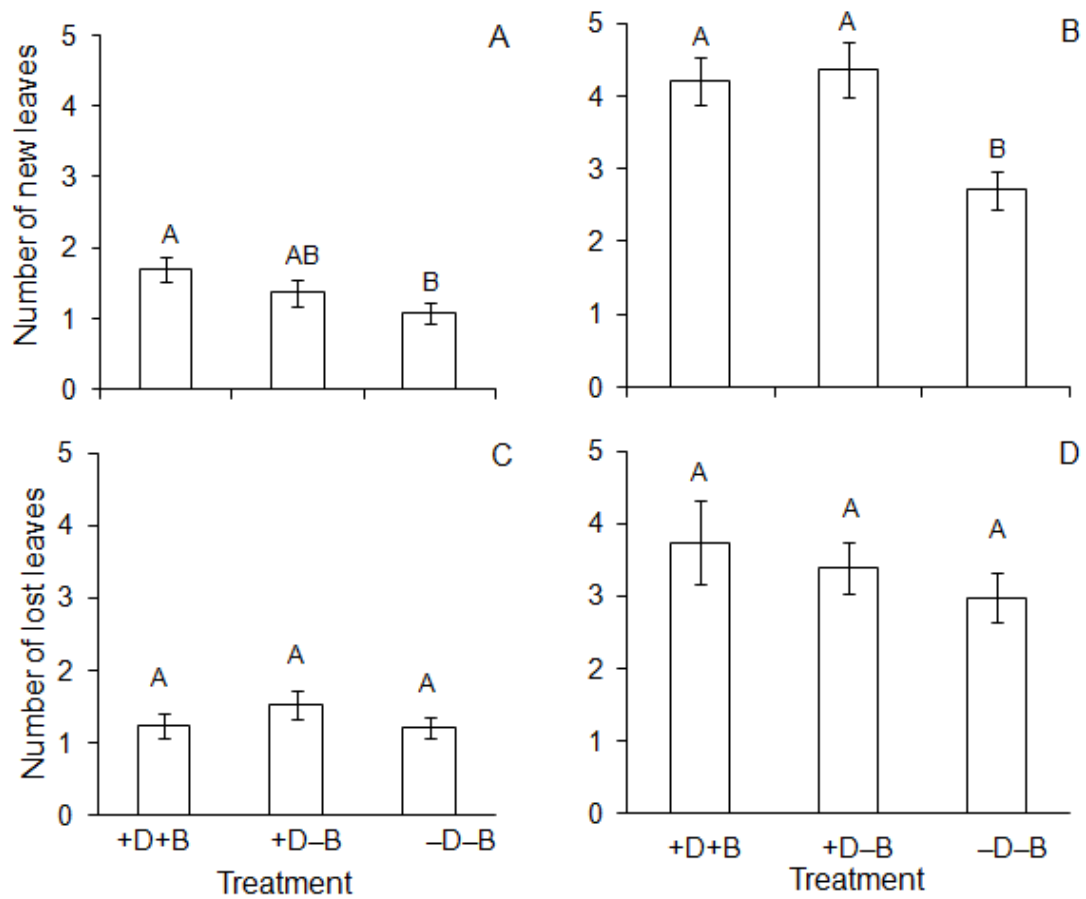


FIGURE S2. Mean number of new leaves (A and B) and lost leaves (C and D) after 6 mo (A and C) and 11 mo (B and D) for *Brosimum* seedlings under three treatments: with fresh dung and access to dung beetles (+D+B), with fresh dung and exclusion of dung beetles (+D-B), without dung or beetles (-D-B). Error bars represent ± 1 SEM. Letters above bars represent statistical significance of multiple comparison tests.

DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES

Las comunidades de escarabajos coprófagos y sus funciones son afectadas por el tipo de hábitat

Existe un creciente interés por evaluar los efectos de la transformación del hábitat sobre los escarabajos coprófagos, debido principalmente a su utilidad como taxón focal (Nichols & Gardner 2011) y a las importantes y numerosas funciones ecológicas que llevan a cabo en los ecosistemas terrestres (Nichols et al. 2008). Los escarabajos coprófagos (Scarabaeinae, Coleoptera) entierran las heces de vertebrados para la alimentación del adulto o de la larva, afectando profundamente a varios procesos ecológicos, como el reciclaje de nutrientes, aireación del suelo, absorción de nutrientes por las plantas, control de plagas y parásitos, y dinámica del banco de semillas, entre otros (Nichols et al. 2008, Scholtz et al. 2009). Sin embargo, apenas se comienza a entender los efectos que tiene la intensificación del manejo sobre la función de las comunidades de escarabajos coprófagos.

En este estudio fue evidente que los diferentes hábitats estudiados (hule, cacao policultivo, cacao rústico y bosque conservado) afectaron los atributos de las comunidades y a la cantidad de función desempeñada. Sin embargo, la semejanza entre el bosque y el cacao rústico, fue uno de los resultados que más llamó la atención. Se encontró que los cacaotales con manejo rústico mantienen condiciones adecuadas para la comunidad de escarabajos coprófagos y mantienen niveles de funciones ecológicas semejantes al bosque conservado. Una de las posibles explicaciones ante los valores equiparables entre el bosque y el cacao rústico, es que los cacaotales rústicos estudiados conservaron parámetros de la vegetación muy similares a los del bosque (Zárate et al. 2014). Así, por ejemplo, a pesar de que los cacaotales estudiados tienen una menor densidad de árboles y lianas nativos, la alta diversidad y la presencia de especies importantes, favorecen la presencia de otros animales y el

mantenimiento de sus funciones (e.g. monos aulladores y su función en la dispersión primaria de semillas; Zárate et al. 2014). Vale la pena resaltar que, los cacaotales rústicos estudiados proveen un hábitat propicio para el mantenimiento de las comunidades y de las funciones ecológicas medidas, sin embargo, no son un sustituto de las áreas naturales conservadas.

Por otra parte, los cultivos de cacao en policultivo y los cultivos de hule mostraron un importante empobrecimiento de las comunidades de escarabajos coprófagos y disminución en las funciones medidas. Es razonable creer, que el manejo y la configuración del paisaje pueden tener profundos efectos sobre las comunidades de escarabajos coprófagos y sus funciones. Otros autores han reportado también los impactos del cambio en el uso del suelo sobre las comunidades de escarabajos coprófagos y sus funciones (Braga et al. 2013, Gardner et al. 2008, Slade et al. 2011). En particular, en la presente investigación se encontró que una de las funciones más fuertemente afectadas por el hábitat fue la exhumación de semillas, la cual no fue observada ni en cacao policultivo ni en hule. Es muy probable que la exhumación de semillas dependa de variables no incluidas en este estudio (e.g. físicas de los suelos), por lo que futuras investigaciones podrían considerar incluirlas. Asimismo, es necesario que estudios futuros consideren implementar metodologías específicas para cuantificar esta poco estudiada función, que puede tener importantes consecuencias para la dinámica del banco de semillas y para el establecimiento de plántulas (Santos-Heredia & Andresen 2014).

Relación entre las funciones y los atributos de la comunidad de escarabajos coprófagos

Se ha destacado las importantes relaciones entre los atributos de la comunidad y las funciones desempeñadas por los escarabajos coprófagos en bosques tropicales (Andresen 2002, Bang et al. 2005, Feer & Hingrat 2005, Horgan 2005, Slade et al. 2007, Slade et al. 2011, Dangles et al. 2012, Braga et al. 2013, Nichols et al. 2013). En especial, varios estudios han resaltado la influencia de la abundancia y la biomasa sobre las funciones (Bang et al.

2005, Andresen 2002, Slade et al. 2011, Feer & Hingrat 2005). No obstante, un atributo que ha demostrado ser importante en predecir la cantidad de función, es la riqueza de especies (Slade et al. 2011, Dangles et al. 2012, Braga et al. 2013). En este trabajo se encontró, una relación entre los atributos de las comunidades de escarabajos coprófagos (abundancia, biomasa y riqueza) y las funciones ecológicas. No obstante la influencia de estos atributos no fue igual sobre todas las funciones. Los resultados resaltan también a la riqueza de especies como un importante predictor de la cantidad de función, dado que fue el atributo que más funciones influyó.

Finalmente, es necesario que futuros estudios cuantifiquen varias funciones ecológicas y no solamente la remoción de heces, como predictor de los efectos que puede haber sobre las otras funciones. La remoción de heces es una variable frecuentemente usada en las investigaciones, por su facilidad al ser medida y por su relación con las demás funciones realizadas por los escarabajos coprófagos (Braga et al. 2013, Nichols et al. 2008). Sin embargo, al igual que otros estudios (Braga et al. 2013), en la presente investigación se observó que no todas las funciones son un buen reflejo de la cantidad de heces removidas y que es además la variable menos sensible a las diferencias de hábitat.

La actividad de los escarabajos coprófagos incrementa el establecimiento de plántulas a partir del banco de semillas

Con el presente trabajo se ha demostrado que los escarabajos coprófagos, al construir túneles para enterrar su alimento, participan activamente en la dinámica del banco de semillas, no sólo enterrando semillas, sino también moviendo hacia arriba semillas enterradas. Por medio del movimiento ascendente en el suelo, las semillas pueden volver a la superficie (exhumación) o pueden ser traídas a estratos más superficiales i.e. quedando enterradas a una

menor profundidad. Esta función tiene consecuencias positivas para el establecimiento de plántulas. Se propone que el movimiento ascendente de semillas sea añadida a la extensa lista de funciones ecológicas desempeñadas por los escarabajos coprófagos (Nichols et al. 2008).

Cuando los escarabajos coprófagos entierran las heces, excavan grandes cantidades de suelo (Braga et al. 2013), que lógicamente debe contener semillas (Dalling et al. 1994). En la presente investigación se reporta que la exhumación de semillas previamente enterradas por los mismos escarabajos ocurre en bajos porcentajes ($\leq 6\%$). Sin embargo, este porcentaje constituye un subestimado de la cantidad total de semillas, presentes en el suelo, que podrían estar siendo exhumadas (ver Capítulo 2). Es necesario que futuros estudios diseñen experimentos que permitan cuantificar y describir la exhumación de semillas con mayor precisión. En especial, es necesario experimentos donde se limite la actividad de los escarabajos a un área determinada y en donde se conozca la profundidad a la que se encuentren enterradas las semillas experimentales.

El efecto de los escarabajos sobre la dinámica del banco de semillas incluye, la relativamente bien estudiada dispersión secundaria de semillas presentes en las heces que los escarabajos usan (Andresen & Feer 2005, Feer et al. 2013) y el hasta hace poco desconocido movimiento ascendente de semillas (Santos-Heredia & Andresen 2014). Muchos estudios han establecido la estrecha relación entre el entierro de semillas por escarabajos coprófagos y la disminución significativa la depredación de éstas (Estrada & Coates-Estrada 1991, Shepherd & Chapman 1998, Andresen 1999, Andresen 2001, Andresen & Levey 2004). Sin embargo, aún se desconoce si la exhumación de semillas podría llevar a un aumento del riesgo de depredación de semillas debido a la exposición de la semilla en la superficie, aspecto que debe ser considerado en futuros estudios. Otro aspecto en el que futuras investigaciones podrían concentrarse, es en comparar entre el movimiento ascendente de semillas realizado por los escarabajos coprófagos vs. el realizado por otros factores bióticos y abióticos.

En la presente investigación se encontró, mayor establecimiento de plántulas en las parcelas en las que los escarabajos habían enterrado heces y excavado el suelo, en comparación con las parcelas donde los escarabajos no habían estado activos (Apéndice 2, Figura 3). Incluso, se encontró que el establecimiento de plántulas se incrementa aún más, en las zonas en las que la actividad de los escarabajos es más frecuente (Anexo 1, Figura 2). Estos últimos hallazgos pueden cobrar particular importancia en las zonas donde recurrentemente los mamíferos defecan (comportamiento de letrinas, Irwin et al. 2004), y donde diversos estudios han mostrado un aumento en el establecimiento de plántulas (e.g. Bravo 2012, Russo y Augspurger 2004). Si bien este aumento de plántulas en letrinas está relacionado a la dispersión primaria de semillas por los mamíferos, el presente estudio sugiere que los escarabajos coprófagos podrían estar también jugando un papel en acentuar dicho efecto.

Se ha relacionado negativamente la profundidad de entierro de las semillas y su probabilidad de supervivencia (Pouvelle et al. 2009). Por lo tanto, el movimiento ascendente de semilla puede tener importantes implicaciones para muchas especies, en especial para aquellas que cuyas semillas necesitan estar en profundidades menores para germinar y/o para su establecimiento como plántulas. Sin embargo, se cuantificó indirectamente las semillas que volvieron a la superficie o que fueron traídas más cerca de la superficie, mediante el establecimiento de plántulas, por tanto es necesario que futuros trabajos cuantifiquen el movimiento ascendente de semillas directamente. Entonces, es razonable creer que el movimiento ascendente de semillas por escarabajos coprófagos probablemente sea un proceso importante en la dinámica de los bancos de semillas, con consecuencias relevantes para las poblaciones y comunidades vegetales.

La actividad de los escarabajos coprófagos afecta el desempeño de las plántulas

Se ha demostrado que la actividad de los Scarabaeinae tiene importantes consecuencias para las plantas, a través de la dispersión secundaria, el movimiento ascendente de semillas, la bioturbación del suelo y el reciclaje de nutrientes (Andresen & Feer 2005, Nichols et al. 2008, Scholtz et al. 2009, Santos-Heredia et al. 2014). Al construir túneles, estos escarabajos aumentan la probabilidad de supervivencia de semillas, favorecen el establecimiento de plántulas, disminuyen la agregación espacial de plántulas y facilitan la asimilación de nutrientes (Andresen & Feer 2005, Andresen & Levey 2004, Lawson et al. 2012, Bang et al. 2005, Hanafy 2012, Santos-Heredia & Andresen 2014). Con el presente estudio, se demostró que el rápido enterramiento de las heces mediante la excavación de suelo y la construcción de túneles por parte de los escarabajos coprófagos puede afectar tanto positiva como negativamente la dinámica de plántulas tropicales.

Conforme a lo encontrado en otras investigaciones realizadas en sistemas agrícolas, pecuarios y/o experimentos bajo condiciones controladas (Stevenson & Dindal 1987, Breymeyer et al. 1975, Yokoyama et al. 1991, Elkins et al. 1994), los resultados de esta investigación demostraron que la actividad de los escarabajos coprófagos afectó el desempeño de plántulas en bosques tropicales bajo condiciones naturales. En términos de contenidos de nitrógeno y fósforo foliares, fue positivo el efecto provocado por la actividad de estos insectos sobre las plántulas de *Brosimum*. Es particularmente interesante el caso del fósforo, considerando la baja disponibilidad de este elemento asimilable por la vegetación en los bosques tropicales (Cleveland et al. 2011) y a su papel crucial en el crecimiento y supervivencia de las plantas (Schachtman *et al.* 1998, Hörtensteiner & Feller 2002). Por lo tanto, son potencialmente importantes las implicaciones del incremento en el contenido de nutrientes causada por la actividad escarabajos coprófagos, sobre las características del suelo y la dinámica de plántulas.

Evidencia previa en sistemas agropecuarios han sugerido que una mayor parte de los nutrientes contenidos en las heces, puede ser aprovechada por las plantas cuando los escarabajos entierran las heces (Galbiati et al. 1995, Fincher et al. 1981). El presente trabajo corrobora que este patrón se mantiene en plántulas en bosques tropicales bajo condiciones naturales. Al enterrar heces, los escarabajos coprófagos provocan también otros cambios en el suelo que pueden afectar el desarrollo de las plantas (Bertone et al. 2006, Brown et al. 2010). En esta investigación se encontró, que la actividad de los escarabajos produjo un aumento en el número de hojas, pero sólo lo fue detectada en los primeros seis meses. Al contrario de lo esperado, se encontró que las plántulas con actividad de escarabajos sufrieron significativamente mayor mortalidad (81% al final del experimento) en comparación con las plántulas de los otros tratamientos (plántulas con heces y plántulas sin heces). El patrón observado en las plántulas a causa de la actividad de escarabajos, concuerda con el ataque de patógenos y podría deberse al incremento de las concentraciones de N, P y/u otros nutrientes. Evidencia previa ha demostrado la relación entre las mayores concentraciones de N y P en las hojas con el aumento dramático de lesiones y enfermedades en las plantas (Morales et al. 2001, Brodbeck et al. 2001, Veresoglou et al. 2013). Entonces, para las plántulas de *Brosimum* el incremento en la cantidad de nutrientes probablemente las hizo más susceptibles a enfermedades provocando una mayor mortalidad. No obstante, es necesario realizar estudios más detallados para determinar el mecanismo, la enfermedad y el origen causante de la mortalidad en las plántulas.

En conclusión, nuestro trabajo ha demostrado que la comunidad de escarabajos coprófagos y sus funciones ecológicas son afectadas negativamente en los hábitats que tienen una mayor intensidad de manejo (hule y cacao policultivo). Los cacaotales con manejo rústico constituyen un hábitat adecuado para la comunidad de escarabajos coprófagos y permiten mantener niveles de funciones ecológicas semejantes a los observados en el bosque

conservado. Por otra parte, el movimiento ascendente de semillas por los escarabajos coprófagos tiene consecuencias positivas para el establecimiento de plántulas, con importantes implicaciones para la dinámica de plántulas. Será necesario que futuras investigaciones presten atención sobre los vacíos de información, dado que apenas se comienza a entender la multitud de efectos que la actividad de los escarabajos coprófagos puede tener sobre el destino de semillas y plántulas tropicales.

LITERATURA CITADA

- Alkorta I, Albizu I, Garbisu C (2003) Biodiversity and agroecosystems. *Biodiversity and Conservation* 12: 2521–2522
- Altieri MA (2004) Globally Important Indigenous Agricultural Heritage Systems (GIAHS): Extent, significance, and implications for development. FAO, Rome
- Andresen E (2002) Dung beetles in a Central Amazonian rainforest and their ecological role as secondary seed dispersers. *Ecological Entomology* 27: 257–270
- Andresen E, Laurance SG (2007) Possible indirect effects of mammal hunting on dung beetle assemblages in Panama. *Biotropica* 39:141–144
- Arellano L, Favila ME, Huerta C (2005) Diversity of dung and carrion beetles in a disturbed Mexican tropical montane cloud forest and on shade coffee plantations. *Biodiversity & Conservation* 14: 601–615.
- Bang HS, Lee JH, Kwon OS, Na YE, Jang YS, Kim WH (2005) Effects of paracoprid dung beetles (Coleoptera: Scarabaeidae) on the growth of pasture herbage and on the underlying soil. *Applied Soil Ecology* 29:165–171
- Barragán F, Moreno CE, Escobar F, Halffter G, Navarrete D (2011) Negative impacts of human land use on dung beetle functional diversity. *PLOS Biology* 6:6: e17976. doi:10.1371/journal.pone.0017976

- Borkhataria RR, Collazo JA, Groom MJ (2012) Species abundance and potential biological control services in shade vs. sun coffee in Puerto Rico. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 151:1–5
- Braga RF, Korasaki V, Andresen E, & Louzada J. 2013. Dung beetle community and functions along a habitat-disturbance gradient in the Amazon: A rapid assessment of ecological functions associated to biodiversity. *PLoS ONE* 8(2): e57786
doi:101371/journalpone0057786.
- Caudill SA, DeClerck FJ, Husband TP (2015) Connecting sustainable agriculture and wildlife conservation: Does shade coffee provide habitat for mammals? *Agriculture, Ecosystems & Environment* 199:85–93
- Couturier S, Núñez JM, Kolb M (2012) Measuring tropical deforestation with error margins: a method for REDD monitoring in southeastern Mexico. En: Sudarshana P (ed) *Tropical forests*. InTech, China, pp 269–296
- Crawley MJ (2012) *The R book*. John Wiley & Sons, Chichester
- Culot L, Mann DJ, Muñoz Lazo FJ, Huynen MC, Heymann EW (2011) Tamarins and dung beetles: An efficient diplochorous dispersal system in the Peruvian Amazonia. *Biotropica* 43:84–92
- Culot L, Bovy E, Vaz-de-Mello FZ, Guevara R, Galetti M (2013). Selective defaunation affects dung beetle communities in continuous Atlantic rainforest. *Biological Conservation* 163:79–89
- Dangles O, Carpio C, Woodward G (2012) Size-dependent species removal impairs ecosystem functioning in a large-scale tropical field experiment. *Ecology* 93:2615–2625

- Estrada A, Coates-Estrada R (2002) Dung beetles in continuous forest, forest fragments and in an agricultural mosaic habitat–island at Los Tuxtlas, Mexico. *Biodiversity and Conservation* 11:1903–1918
- Estrada A, Raboy BE, Oliveira LC (2012). Agroecosystems and primate conservation in the tropics: a review. *American Journal of Primatology* 74:696–711
- Feer F, Ponge JF, Jouard S, Gomez D (2013) Monkey and dung beetle activities influence soil seed bank structure. *Ecological Research* 28:93–102
- Gardner TA, Barlow J, Araujo IS, Ávila-Pires TC, Bonaldo AB, Costa JE, Esposito MC, Ferreira LV, Hawes J, Hernandez MIM, Hoogmoed MS, Leite RN, Lo-Man-Hung NF, Malcolm JR, Martins MB, Mestre LAM, Miranda-Santos R, Overal WL, Parry L, Peters SL, Ribeiro-Junior MA, Da-Silva MNF, Da-Silva-Motta C, Peres CA (2008) The cost-effectiveness of biodiversity surveys in tropical forests. *Ecology Letters* 11:139–150
- Giraldo C, Escobar F, Chara JD, Calle Z (2011) The adoption of silvopastoral systems promotes the recovery of ecological processes regulated by dung beetles in the Colombian Andes. *Insect Conservation and Diversity* 4:115–122
- González-Esquivel CE, Gavito ME, Astier M, Cadena-Salgado M, del-Val E, Villamil-Echeverri L, Merlín-Uribe Y, Balvanera, P (2015) Ecosystem service trade-offs, perceived drivers, and sustainability in contrasting agroecosystems in central Mexico. *Ecology and Society* 20(1): 38. <http://dx.doi.org/10.5751/ES-06875-200138>
- Goodall KE, Bacon CM, Mendez VE (2015) Shade tree diversity, carbon sequestration, and epiphyte presence in coffee agroecosystems: A decade of smallholder management in San Ramón, Nicaragua. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 199:200–206

- Häger A, Otárola MF, Stuhlmacher MF, Castillo RA, Arias AC (2015) Effects of management and landscape composition on the diversity and structure of tree species assemblages in coffee agroforests. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 199:43–51
- Halffter G, Edmonds WD (1982) The nesting behavior of dung beetles (Scarabaeinae). An ecological and evolutive approach. Instituto de Ecología, México DF
- Holdridge R (1967). Life zone ecology. Tropical Science Center, San José
- Horgan FG (2005) Effects of deforestation on diversity, biomass and function of dung beetles on the eastern slopes of the Peruvian Andes. *Forest Ecology and Management* 216:117–133
- Hosaka T, Niino M, Kon M, Ochi T, Yamada T, Fletcher C, Okuda T (2014) Effects of logging road networks on the ecological functions of dung beetles in Peninsular Malaysia. *Forest Ecology and Management* 326:18–24
- Johnson MD, Kellermann JL, Stercho AM (2010) Pest reduction services by birds in shade and sun coffee in Jamaica. *Animal Conservation* 13:140–147
- Kudavidanage EP, Qie L, Lee JSH (2012) Linking biodiversity and ecosystem functioning of dung beetles in South and Southeast Asian tropical rainforests. *Raffles Bulletin of Zoology* 25:141–154
- Larsen TH, Williams NM, Kremen C (2005) Extinction order and altered community structure rapidly disrupt ecosystem functioning. *Ecology Letters* 8:538–547
- Medellín RA, Equihua M (1998) Mammal species richness and habitat use in rainforest an abandoned agricultural fields in Chiapas, México. *Journal of Applied Ecology* 35:13–23
- Moguel P, Toledo V (1999) Biodiversity and conservation in traditional coffee systems of México. *Conservation Biology* 13:11–21

- Neita JC, Escobar F (2012) The potential value of agroforestry to dung beetle diversity in the wet tropical forests of the Pacific lowlands of Colombia. *Agroforestry Systems* 8:121–131
- Nichols E, Larsen T, Spector S, Davis AL, Escobar F, Favila M, Vulinec K (2007) Dung beetle response to tropical forest modification and fragmentation: a quantitative literature review and meta-analysis. *Biological Conservation* 137: 1–19
- Nichols E, Spector S, Louzada J, Larsen T, Amezcuita S, Favila ME, TSR Network (2008) Ecological functions and ecosystem services provided by Scarabaeinae dung beetles. *Biological Conservation* 141:1461–1474
- Nichols E, Uriarte M, Peres CA, Louzada J, Braga RF, Schiffler, G, Whaldener E, Spector SH (2013). Human-induced trophic cascades along the fecal detritus pathway. *PloS one*, 8(10), e75819.
- Pak D, Iverson AL, Ennis KK, Gonthier DJ, Vandermeer JH (2015) Parasitoid wasps benefit from shade tree size and landscape complexity in Mexican coffee agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 206:21–32
- Perfecto I, Vandermeer J (2008) Biodiversity conservation in tropical agroecosystems: A new paradigm. *Annals of the New York Academy of Science* 1134:173–200
- Pineda E, Moreno C, Escobar F, Halffter G (2005) Frog, bat and dung beetle diversity in the cloud forest and coffee agroecosystems of Veracruz, Mexico. *Conservation Biology* 19: 400–410
- Santos-Heredia C, Andresen E, Stevenson P (2011) Secondary seed dispersal by dung beetles in an Amazonian forest fragment of Colombia: influence of dung type and edge effect. *Integrative Zoology* 6:399–408

- Santos-Heredia C, Andresen E (2014) Upward movement of buried seeds: another ecological role of dung beetles promoting seedling establishment. *Journal of Tropical Ecology* 30: 409–417
- Scholtz CH, Davis ALV, Kryger U (2009) *Evolutionary Biology and Conservation of Dung Beetles*. Sofia, Bulgaria: Pensoft
- Slade EM, Mann DJ, Villanueva JF, Lewis OT (2007) Experimental evidence for the effects of dung beetle functional group richness and composition on ecosystem function in a tropical forest. *Journal of Animal Ecology* 76:1094–1104
- Slade EM, Mann DJ, Lewis OT (2011) Biodiversity and ecosystem function of tropical forest dung beetles under contrasting logging regimes. *Biological Conservation* 144:166–174.
- Taylor PD, Fahrig L, Henein K, Merriam G (1993) Connectivity is a vital element of landscape structure. *Oikos* 68:571–573
- Tisovec KC, Cassano CR, Boubli JP, Pardini R (2014) Mixed-species groups of marmosets and tamarins across a gradient of agroforestry intensification. *Biotropica* 46:248–255
- Tscharntke T, Clough Y, Wanger TC, Jackson L, Motzke I, Perfecto I, Vandermeer J, Whitbread A (2012) Global food security, biodiversity conservation and the future of agricultural intensification. *Biological Conservation* 151:53–59
- Tscharntke T, Clough Y, Bhagwat SA, Buchori D, Faust H, Hertel D, Hölscher D, Jührbandt J, Kessler M, Perfecto I, Scherber C, Schroth G, Veldkamp E, Wanger T (2011) Multifunctional shade-tree management in tropical agroforestry landscapes – a review. *Journal of Applied Ecology* 48:619–629
- Vandermeer JH, Perfecto I (2007) The agricultural matrix and a future paradigm for conservation. *Conservation Biology* 21:274–277

- Vandermeer JH, Perfecto I, Philpott SM, Chappell MJ (2008) Reenfocando la conservación en el paisaje: La importancia de la matriz. En: Harvey CA, Saénz JC (eds) Evaluación y conservación de biodiversidad en paisajes fragmentados en Mesoamérica. Santo Domingo de Heredia, Instituto Nacional de Biodiversidad (INBio), Costa Rica, pp 75–104
- Williams-Guillén K, Perfecto I (2010) Effects of agricultural intensification on the assemblage of leaf-nosed bats (Phyllostomidae) in a coffee landscape in Chiapas, Mexico. *Biotropica* 42:605–613
- Zárate DA, Andresen E, Estrada A, Serio-Silva JC (2014) Black howler monkey (*Alouatta pigra*) activity, foraging and seed dispersal patterns in shaded cocoa plantations versus rainforest in southern Mexico. *American Journal of Primatology* 76:890–899.