



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental

**Factores bióticos y abióticos que limitan la distribución austral de la
pequeña hormiga de fuego *Wasmannia auropunctata***

Tesis presentada para optar al Título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires en el área
de Ciencias Biológicas

Licenciado Ignacio Joaquín Muñoz

Director de tesis: Pablo E. Schilman

Codirector de tesis: Luis A. Calcaterra

Consejero de Estudios: Gabriel Manrique

Laboratorio de Ecofisiología de Insectos. IBBEA-CONICET. Departamento de Biodiversidad
y Biología Experimental. Facultad de Exactas y Ciencias Naturales. Universidad de Buenos
Aires

Tesis defendida el 15/06/2023

Ciudad Autónoma de Buenos Aires, 2023

Índice

Agradecimientos	5
Resumen	7
Abstract	9
CAPITULO I: Introducción general	11
Área de distribución de las especies.....	12
Influencia de los factores abióticos en el área de distribución de las especies.....	14
Influencia de los factores bióticos en el área de distribución de las especies.....	15
Invasiones biológicas	15
Hormigas invasoras.....	17
Hormigas invasoras nativas de la Cuenca del Plata	18
Modelo de estudio	21
Objetivos e hipótesis	25
CAPITULO II: Efecto de la temperatura como limitante de la distribución de <i>Wasmannia auropunctata</i>	26
Introducción.....	27
Materiales y Métodos.....	31
Recolección y mantenimiento de las colonias	31
Temperaturas críticas (TC)	32
"Chill coma recovery time" (CCRT)	34
Biovariables	34
Determinación de haplotipos y haplogrupos	34
Análisis estadístico	35
Resultados.....	37
Temperaturas críticas.....	37
"Chill coma recovery time"	42
Tolerancias térmicas de los diferentes haplotipos y haplogrupos.....	44
Discusión	48
Temperaturas críticas.....	48
"Chill coma recovery time"	53

Conclusión.....	55
CAPITULO III: Efecto de la humedad como limitante de la distribución de <i>Wasmannia auropunctata</i>.....	56
Introducción.....	57
Materiales y métodos	59
Recolección y mantenimiento de las colonias	59
Tasa de pérdida de agua.....	59
Permeabilidad cuticular.....	61
Análisis estadístico	63
Resultados.....	64
Tasa de pérdida de agua y permeabilidad cuticular.....	64
Tasa de pérdida de agua y permeabilidad cuticular entre haplotipos y haplogrupos	66
Discusión	68
Tasa de pérdida de agua y permeabilidad cuticular.....	68
Tasa de pérdida de agua y permeabilidad cuticular entre haplotipos y haplogrupos	70
Conclusión.....	72
CAPITULO IV: Habilidades competitivas de <i>Wasmannia auropunctata</i> dentro de un ensamble de hormigas ubicado en su límite austral de distribución.....	73
Introducción.....	74
Materiales y Métodos	77
Muestreo usando trampas de caída.....	77
Muestreo usando cebos atrayentes.....	78
Análisis estadístico	81
Resultados.....	83
Muestreo usando trampas de caída.....	83
Muestreo usando cebos atrayentes.....	87
Discusión	91
Muestreo usando trampas de caída.....	91
Muestreo usando cebos atrayentes.....	92
Conclusión.....	95

CAPITULO V: Efecto de la temperatura sobre la jerarquía de dominancia entre <i>Wasmannia auropunctata</i> y otras tres especies de hormigas invasoras simpátricas en su límite austral de distribución	96
Introducción.....	97
Materiales y Métodos.....	99
Recolección y mantenimiento de las colonias	99
Temperaturas críticas (TC)	99
Índice de Dominancia	99
Cuantificación del comportamiento.....	100
Análisis estadístico	102
Resultados.....	104
Temperaturas críticas.....	104
Índice de Dominancia	105
Cuantificación del comportamiento.....	109
Discusión	115
Temperaturas críticas.....	115
Índice de Dominancia	117
Cuantificación del comportamiento.....	119
Conclusión.....	123
 CAPITULO VI: Conclusiones generales	 124
 Bibliografía	 131

Agradecimientos

Primero que nada siento que es necesario agradecer a todas las hormigas que usé durante estos seis años para obtener los resultados que aquí se muestran. Creo que parte de mostrar el respeto que uno le tiene como científico a los animales, es sacarle el mayor provecho a los datos que uno obtiene y creo que logré hacerlo en esta tesis.

A mi director Pablo por dirigirme durante toda esta travesía, sabiendo aprovechar mis fortalezas así como aconsejando en los momentos que se necesitó una mano. Siempre nos pudimos decir lo que pensábamos sin ningún problema y eso para mí es rarísimo de encontrar en un director hoy en día. Su apoyo y formación fueron importantísimos para sacar esta tesis adelante.

A mi codirector Luis, gracias.

A mis viejos, Claudia y Fernando, que no solo me acompañaron durante esta tesis, sino que siempre me bancaron desde el momento que comprendí que los animales me fascinaban, razón por la cual elegí esta carrera. Nunca me faltó nada, me dieron absolutamente todo lo que necesité y nunca limitaron mi forma de pensar y de ser. Este logro académico es en gran parte mérito de ellos. Los quiero muchísimo.

A mi hermano Facu, por ser una de la persona que equilibró mi mente y me hizo recordar mis metas en los peores momentos de los seis años que llevó este trabajo.

A Cami, mi amorcito, por escucharme y aconsejarme cada vez que esta tesis me desconfiguró el cerebro. Sin vos no sé cómo podría haber enfrentado este último año y medio de tesis. Gracias por ser la mejor compañera de vida.

A la Nona y a la Quqi, mis abuelas, donde sea que estén las quiero y las extraño. Son un inmenso ejemplo de persona en mi vida. Me educaron y formaron, fomentando siempre la libre expresión y la creatividad. Rasgos que creo que están presentes en este trabajo.

A mis tíos: Marce, Ana, Andrea y Liliana. Mis grandes fuentes de conocimiento polirrubro. Gran parte de la curiosidad necesaria que requiere esta carrera y este tipo de trabajo, fue cultivada por ellos cuatro.

A mi prima favorita Agus, la primera persona a la cual tuve que enseñar y a la vez la que me enseñó y sigue enseñando tanto. Gracias por estar siempre presente.

A mis amigos con los que comparto y/o compartí estadía en el Laboratorio de Ecofisiología de Insectos: Gina, Flor, Agus, Lula, Carmen y Lucas. No solo me asesoraron y aconsejaron a lo largo de toda mi tesis, sino que me bancaron en momentos donde ni yo mismo me bancaba. Todos en algún momento me han ayudado con algún análisis o alguna interpretación. Sus participaciones están plasmadas en este trabajo.

A las personas del Laboratorio de Fisiología de Insectos: Clau, Alicia (mi madre de la ciencia), Gabo, Franco, Fer, Tomi y Seba. Me han ayudado a resolver situaciones varias ya sean laborales o de la vida. Hacen que los días de trabajo sean más ligeros y divertidos. Han prestado sus oídos y hombros cuando me fue necesario y también han ayudado con las correcciones de la presentación.

A mis amigas del FuEDEI: Ana, Belén y Nadia. Las tres me han ayudado a conectar con la gente e instalaciones de su laboratorio siempre que fue necesario. Además me asistieron de infinitas maneras para lidiar con todos los problemas que surgieron a lo largo de esta tesis.

A mis amigos de la facu: Tomi, Mati, Lau, Juli y Adro. Con los que he compartido toda mi vida académica, la cual no hubiese podido transitar sin su falta. Hemos compartido innumerable cantidad de buenos momentos y me han sacado a flote en los peores. Esta tesis llega a ser defendida el día de la fecha conmigo en una sola pieza gracias a ustedes.

A mis amigas de la facu: Maru, Lu, Ale, Ceci y Flor. El otro pilar anímico que me ayudo a atravesar toda mi trayectoria académica. Han formado mi carácter de adulto, me han aconsejado millones de veces y me han parado el carro cuando era necesario hacerlo. También llego al día de hoy a defender esta tesis gracias a ustedes.

A mis amigas académicas internacionales Lula y Lau, que a pesar de la distancia física que nos separa, siempre estuvieron presentes para darme ánimos. Sus palabras me han impulsado para no rendirme y completar esta tesis.

A mis amigos de la vida: Brian, Pato y Mati. Brian fuiste mi maestro durante todo el inicio de mi carrera, imposible haber logrado superar esos primeros años sin vos. Pato creo que no hay persona que me haya apoyado más para continuar con mis estudios y sentirme orgulloso de mis logros académicos que vos. Mati siempre fuiste un gran ejemplo de cómo seguir adelante con las metas que uno se propone. Los tres son grandes partícipes de este logro.

A mis artistas invitadas: Lucy, Claudia (mi madre) y Ceci. Usaron su arte para mejorar la presentación de esta tesis, confeccionando algunas de las caratulas de los capítulos.

Resumen

La dispersión de especies invasoras se ha incrementado en los últimos 200 años, tanto en frecuencia como en magnitud geográfica, en gran medida por acción del hombre. No solo de manera directa a través del transporte y comercio, sino también, indirectamente por efecto del calentamiento global. En particular, la pequeña hormiga de fuego, *Wasmannia auropunctata* ha expandido su rango de distribución en los últimos 130 años por fuera del área nativa de distribución neotropical (desde Guatemala hasta el norte de Argentina), hacia regiones tropicales y subtropicales de otros continentes. Durante los últimos 60 años, ha logrado expandir su distribución, incluso hacia regiones templadas aledañas a su rango nativo, como es el caso de la provincia de Buenos Aires - Argentina, región donde se la considera invasora y actualmente es su límite austral de distribución. En esta región experimenta climas mucho más secos y fríos que en su distribución nativa, además interactúa con otras especies de hormigas invasoras de interés. A pesar de representar un problema a nivel económico, sanitario, y principalmente ecológico, poco se sabe acerca de su comportamiento y rangos de tolerancia en los territorios invadidos. En este trabajo se estudian algunos factores bióticos y abióticos, junto con características fisiológicas y genéticas de las poblaciones, que podrían limitar la expansión de *W. auropunctata* hacia regiones más australes. Para estudiar como la temperatura y la humedad afectan el límite austral de distribución de esta especie, se colectaron 15 colonias ubicadas a lo largo de un gradiente latitudinal de temperaturas y un gradiente longitudinal de precipitaciones. Solo 14 de ellas se secuenciaron para el gen Citocromo Oxidasa subunidad I (COI), obteniendo cuatro haplotipos nuevos (H54, H55, H56 y H57) pertenecientes a haplogrupos ya definidos (BIV, BV y BVI) dentro del clado B, el único presente en Argentina. Mediante el estudio de sus termotolerancias se observó que las colonias que soportan temperaturas más altas durante el mes más cálido del año son las que alcanzan una mayor temperatura crítica máxima (TC_{max}). Además las que soportan temperaturas más bajas durante el mes más frío del año son las que presentan un menor tiempo de recuperación al coma inducido por frío (CCRT). A su vez, se observó cómo procesos de endurecimiento y aclimatación aumentan la termotolerancia de dichas colonias. Este aumento se vio reflejado también a nivel poblacional, para los distintos haplotipos y haplogrupos. Por otro lado, el estudio de la tasa de pérdida de agua y la permeabilidad cuticular, como indicadores de tolerancia a la desecación, reveló que las colonias que toleran climas más secos no son las que pierden menos agua y las menos permeables. No obstante, la tasa de pérdida de agua total y cuticular fue mayor a mayores temperaturas, tanto para las distintas colonias como a nivel poblacional entre los distintos haplotipos y haplogrupos. Para estudiar como un factor biótico como la competencia interespecífica afecta el límite de distribución austral de *W. auropunctata*, se estudiaron las habilidades competitivas de esta especie en un ensamble de hormigas ubicado en

C.A.B.A. - Argentina. *W. auropunctata* logra una alta abundancia local medida como dominancia espacial y numérica. Sin embargo, esta abundancia local no le alcanza para descubrir primero un gran número de fuentes de alimento, las cuales llega a dominar en mayor o menor medida debido a su alta capacidad de reclutamiento. Finalmente se estudió como la temperatura puede afectar la jerarquía de dominancia entre *W. auropunctata* y otras tres especies invasoras simpátricas (*Linepithema humile*, *Solenopsis invicta* y *Nylanderia fulva*) en su límite austral de distribución. Para ello primero se calculó el índice de dominancia en confrontaciones pareadas de 10 vs 10 obreras entre estas especies a distintas temperaturas y luego se cuantificó el comportamiento en confrontaciones pareadas de 1 vs 1 obrera de cada especie. *W. auropunctata* presentó un alto índice de dominancia independientemente de la temperatura ensayada, adoptando una estrategia generalista frente a cualquiera de las otras tres especies. En base a los resultados obtenidos, se postula que las bajas temperaturas son uno de los principales limitantes para la expansión de *W. auropunctata* hacia distribuciones más australes. Esta barrera ambiental podría ser superada eventualmente aumentando su tolerancia al frío por plasticidad. Por otra parte, al destacarse principalmente por su habilidad de reclutamiento y no tanto por el descubrimiento y dominancia de las fuentes de alimento, la competencia interespecífica podría representar otra barrera para esta especie al invadir territorios más australes. No obstante, esta especie presenta una dominancia comportamental que no difiere o incluso es superior a la de otros grandes competidores, como lo son otras especies de hormigas invasoras simpátricas que ya invadieron territorios más australes. Cabe destacar que la expansión de esta especie hacia distribuciones más australes debería a su vez verse afectada por las actividades antrópicas, ya sea directamente mediante el transporte de colonias y las ciudades que actúan como islas de calor y fuente permanente de agua, como indirectamente mediante el aumento de la temperatura por el calentamiento global. Es entonces menester proporcionar la atención y los recursos necesarios para monitorear, y así prevenir futuras invasiones por parte de esta especie, la cual podría causar daños a nivel ecológico, sanitario y económico.

Biotic and abiotic factors limiting the southern distribution of the little fire ant, *Wasmannia auropunctata*

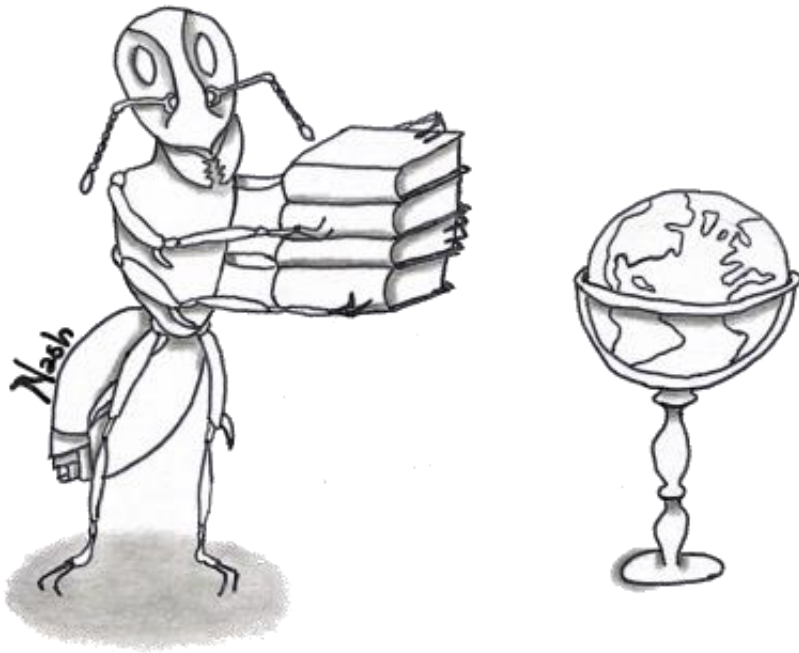
Abstract

The dispersion of invasive species has been on the rise over the past 200 years, both in frequency and geographical magnitude, due to human actions. This has occurred not only directly through transport and commerce, but also indirectly through the effect of global warming. One of such invasive species, the little fire ant *Wasmannia auropunctata*, has expanded its distribution range in the last 130 years outside its native neotropical distribution area, towards tropical and subtropical regions of other continents. In the past 60 years, it has even managed to expand its distribution to neighboring temperate regions of its native range, such as Buenos Aires - Argentina, where it is considered an invasive species, and it is currently its southernmost distribution limit. Despite representing an economic, sanitary, and mainly ecological problem, little is known about its behavior and tolerance ranges in the invaded territory. To investigate this, we conducted a study to examine the abiotic, *i.e.*, temperature and humidity, and biotic factors, *i.e.*, interspecific competition, together with physiological and genetic traits of the populations that could limit the southern distribution of *W. auropunctata*. We collected 15 colonies along a latitudinal gradient of temperatures, and a longitudinal gradient of precipitations to investigate how temperature and humidity affect the southern distribution limits. Four new haplotypes (H54, H55, H56, and H57) belonging to previously defined haplogroups (BIV, BV, and BVI) within the clade B, the only one present in Argentina, were obtained from 14 colonies that were sequenced for the Cytochrome oxidase subunit I (COI) gene. In addition, the thermotolerance of the colonies was studied, and it was observed that the colonies that withstand higher temperatures during the warmest month of the year are the ones that reach a higher maximum critical temperature (CT_{max}). Similarly, colonies that endure lower temperatures during the coldest month of the year have a shorter chill coma recovery time (CCRT). Also, it was observed that hardening and acclimation processes increase the thermotolerance of these colonies. On the other hand, the study of cuticular permeability as an indicator of desiccation tolerance demonstrated that colonies that tolerate drier climates do not exhibit the lowest permeability. Nonetheless, total and cuticular water loss rate (WLR) was higher at higher temperatures, both for different colonies and populations across different haplotypes and haplogroups. The competitive abilities of *W. auropunctata* were studied in an ant assemblage located in Buenos Aires - Argentina, to investigate how a biotic factor such as interspecific competition affects the southern distribution limits of this species. The results showed that *W.*

auropunctata achieves a high abundance that helps it reach good spatial and numerical dominance. However, these characteristics are not enough to discover food sources first, which it manages to dominate to a greater or lesser extent due to its high recruitment capacity. Finally, the study investigated how temperature can affect the dominance hierarchy between *W. auropunctata* and three other sympatric invasive species (*Linepithema humile*, *Solenopsis invicta*, and *Nylanderia fulva*) at its southern distribution limit. The dominance index was calculated in confrontations of 10 vs. 10 workers across these species at different temperatures, and their behaviors in confrontations between 1 vs. 1 worker of different species were quantified. *W. auropunctata* showed a high dominance index regardless of the temperature tested, adopting a generalist strategy against any of the other three ant species. Based on the results obtained, it is postulated that for *W. auropunctata*, low temperatures are one of the main limiting factor to reaching more southern distributions. This limitation could eventually be overcome by developing plasticity in its cold tolerance. As it stands out mainly for its recruitment ability and not so much for the discovery and dominance of food sources, interspecific competition could represent another barrier for this species when invading more southern territories. However, this species displays a behavioral dominance that is not different or even superior to that of other major competitors, such as other sympatric invasive ants that have already invaded more southern territories. It should be noted that the impact of humans on the expansion of this species, whether directly through the transport of colonies or indirectly through climate change, is a highly determining factor. It is therefore necessary to provide the necessary attention and resources to this issue in order to control and prevent future invasions by this species, which could cause immense damage at ecological, sanitary, and economic levels.

CAPITULO I

Introducción general



Área de distribución de las especies

A lo largo de todo el planeta se observa que las distintas especies de organismos se distribuyen de forma acotada, es decir que no todas las especies habitan los mismos sitios. El nicho ecológico, reúne una sumatoria de tolerancias y requerimientos que conforman un hipervolumen n-dimensional con límites marcados donde cada especie puede vivir, crecer y reproducirse (Hutchinson, 1957). Esta noción que le permite a una especie mantener una población viable, si se dan ciertas combinaciones de recursos y condiciones, no tiene en cuenta la presencia de depredadores y competidores. Es entonces cuando se habla de nicho fundamental, concepto que describe las potencialidades generales de una especie para subsistir. Mientras que por otro lado se define nicho realizado como el concepto que describe el espectro más limitado de condiciones y recursos que le permiten a una especie subsistir, incluso en presencia de competidores y depredadores. Este último siempre es más reducido que el primero, ya que tiene en cuenta la interacción con otras especies (Begon & Townsend, 2020).

Debido a este requerimiento de condiciones y recursos, que junto con los competidores y depredadores definen el nicho realizado, se espera que las especies se distribuyan diferencialmente a lo largo del planeta. Es así que ciertas áreas como los trópicos presentan mayor diversidad y riqueza que los polos (Wallace, 1878). Fenómeno que se ha observado en distintos taxones como órdenes, familias, géneros y especies (Chown et al., 2002; Emerson & Kolm, 2005; Taylor & Gaines, 1999). Incluso se han estudiado patrones de distribución en gradientes latitudinales en grupos de especies terrestres y se ha comprobado que los trópicos poseen una mayor riqueza y diversidad debido a que las áreas de distribución de las especies es más acotada (Rapoport, 2013). El estudio de estos patrones a distintos niveles taxonómicos desembocó en el establecimiento de una generalización que culmina en la postulación de la llamada “Regla de Rapoport”. La misma establece que el rango geográfico de las especies es función de la latitud (o altitud); es decir, a medida que la latitud (o altitud) desciende, se observa una disminución en la amplitud del rango geográfico (Gaston & Chown, 1999; Stevens, 1989). Se conocen por lo menos cinco grandes hipótesis que tratan de explicar esta regla: hipótesis de la extinción diferencial, hipótesis de competencia, hipótesis de variación en la superficie terrestre, hipótesis de límites biogeográficos e hipótesis de variabilidad climática. La primera propone que las especies a mayor latitud sufrieron extinciones provocadas por glaciaciones y cambio climático (Brown, 1995). Esta hipótesis es muy similar a otra llamada “hipótesis de tiempo evolutivo”, que postula que la baja riqueza de algunas regiones es consecuencia de un período de tiempo disponible insuficiente para que las especies colonicen o recolonicen, luego de un trastorno ecológico anterior (glaciaciones, sequía, cambio climático, etc.). De ser verdadera, esta hipótesis implica que el tiempo transcurrido en los trópicos luego del último

trastorno ecológico fue mucho mayor que a mayores latitudes y permitió la amplia especiación observada actualmente (Gaston & Blackburn, 2000). La segunda hipótesis sugiere que las especies ubicadas en mayores latitudes tienen áreas de distribución mayores debido a la menor competencia que resulta de una menor riqueza (Pianka, 1989; Stevens, 1996; Stevens & Enquist, 1998). Estas dos hipótesis no explican por sí mismas la mayor riqueza de los trópicos con respecto a latitudes mayores (Blackburn & Gaston, 1996a; Blackburn & Gaston, 1996b; Lyons & Willig, 1997; Rohde et al., 1993; Roy et al., 1994; Ruggiero, 1994). La tercera hipótesis expresa que una mayor área de terreno a mayores latitudes (mayor espacio), da como resultado mayores rangos de distribución (Gaston & Blackburn, 2000). Esta hipótesis presenta el problema de que los análisis que ajustan la variación en la superficie terrestre de los sitios analizados todavía revelan una variación latitudinal en los tamaños de los rangos (Blackburn & Gaston, 1996a; Pagel et al., 1991; Rapoport, 2013). La cuarta hipótesis propone que las áreas de distribución de las especies están limitadas por la extensión de las provincias biogeográficas, siendo que es más fácil expandir su distribución dentro que fuera de ellas (Roy et al., 1994). Esta hipótesis plantea la dificultad de establecer qué factores determinan los límites de cada provincia biogeográfica (Gaston & Blackburn, 2000). De hecho, si se pudiera demostrar que los límites biogeográficos de las provincias biogeográficas son áreas en las que los cambios en las condiciones ambientales limitan la distribución de las especies, se podría tomar esta hipótesis como una modificación a la última y más consensuada de las hipótesis propuestas, la hipótesis de variabilidad climática. Esta hipótesis establece que las diferencias en la amplitud del rango geográfico y la riqueza de las especies se deben al rango de tolerancia a las condiciones climáticas que presenta cada una de ellas. De esta manera, las especies que habitan mayores latitudes poseen rangos mucho más amplios porque soportan condiciones climáticas más variables, que las que habitan menores latitudes (Stevens, 1989). Esto se debe a que poseen tolerancias fisiológicas más amplias que aquellas que habitan menores latitudes (Addo-Bediako et al., 2000).

El rango de distribución de las especies no solo está dado por el rango de tolerancias que poseen, sino también por las interacciones que mantienen con otras especies de su mismo entorno (Davis et al., 1998; Gaston, 2003; Hochberg & Ives, 1999; Quinn et al., 1997). Este tema ha sido estudiado por MacArthur (1984), que sugiere que las especies pertenecientes al Hemisferio Norte limitan su distribución sur debido a factores bióticos como depredación, competencia y parasitismo (entre otras), mientras que por otro lado limitan su distribución norte debido a factores abióticos como la temperatura y la humedad (entre otros). Incluso esta idea llegó a ser aplicada para todo el rango de latitudes, sosteniendo que hay una relación costo-beneficio entre la influencia de factores bióticos en latitudes menores y factores abióticos en latitudes mayores (Brown, 1999). De esta manera estos

factores se combinan para producir los límites de los rangos de distribución de las especies (Case & Taper, 2000).

Influencia de los factores abióticos en el área de distribución de las especies

Uno de los factores abióticos más importantes que limita la distribución geográfica de las especies es la temperatura, ya que afecta varios procesos como: interacciones moleculares y cinéticas bioquímicas (Somero, 1995), morfología (Arrighi et al., 2013), procesos fisiológicos, comportamentales y ecológicos (Huey & Berrigan, 2001), hasta en un nivel superior como son los procesos evolutivos (Clarke, 2003). En el caso de los insectos, la influencia de la temperatura es incluso mayor, ya que son organismos ectotermos que poseen una alta conductancia. Es decir, por un lado su temperatura corporal en mayor medida depende de medios externos (radiación, convección, conducción y evaporación), ya que producen un bajo calor metabólico y por otro lado al tener una alta relación superficie/volumen son altamente susceptibles a la pérdida de calor (Chapman, 1998).

Así como la temperatura, otro factor abiótico importante que limita la distribución geográfica de las especies es la humedad. El balance de agua en los animales es vital, ya que sus cuerpos están mayormente constituidos por agua, y la mayoría de los procesos metabólicos que ocurren dentro de los mismos se producen en un medio líquido. Incluso el volumen de agua está involucrado en el balance osmorregulatorio de cada organismo (Hickman et al., 2001). En insectos terrestres esto se vuelve un problema ya que, como fue mencionado con anterioridad, su relación superficie/volumen es muy alta por lo que tienden a perder mucha agua no solo por respiración y excreción, sino también por su cutícula (Harrison et al., 2012).

Debido a la importancia de la temperatura y la humedad como factores abióticos que afectan a los insectos, estos desarrollaron estrategias para paliar sus efectos: cambiar sus niveles de actividad según la temperatura y humedad ambiente, elección de micro-hábitats, contracción y relajación de músculos para entrar en calor, condensar y beber la humedad del medio ambiente, etc. Incluso a nivel fisiológico existen mecanismos de plasticidad fenotípica que permiten modificar las tolerancias frente a cambios en la temperatura y la humedad ambiente (Gray, 2013; Hahn & Denlinger, 2011; Harrison et al., 2012; Williams et al., 2012; Coulin et al., 2019; Belliard et al., 2019). De esta manera, y en concordancia con la hipótesis de variabilidad climática, las especies que habitan o se desplazan hacia latitudes mayores, donde la variación diaria y estacional de temperatura y humedad es mayor, pueden desarrollar por plasticidad fisiológica mayores tolerancias a climas más hostiles.

Influencia de los factores bióticos en el área de distribución de las especies

Como fue mencionado anteriormente los factores bióticos, como la competencia, depredación y parasitismo, pueden limitar la abundancia y distribución de las especies (Brown & Heske, 1990; Brown & Munger, 1985; Heske et al., 1994). Eso ocurre ya que se produce un solapamiento en el uso de los recursos, interfiriendo en la reproducción, crecimiento y supervivencia de cada especie. Aun así, los efectos de las variables bióticas generalmente se encuentran por debajo de los niveles establecidos por las variables abióticas (Gaston & Blackburn, 2000). De esta manera sería esperable que las especies que habitan a mayores latitudes se distribuyan libremente debido a sus amplias tolerancias, hasta verse limitadas por interacciones bióticas. Esto podría ser así, ya que es más fácil adaptarse a un estrés producido por una variable abiótica que a un estrés provocado por la interacción con otras especies (Brown, 1995). Este tipo de interacción con otras especies es llamado competencia interespecífica y es de principal interés para este trabajo de tesis doctoral.

Invasiones biológicas

Las especies invasoras expanden su territorio más allá de su distribución natural, por acción del hombre, hacia zonas en las que no se encontraban presentes, logrando alcanzar una mayor abundancia que en las poblaciones del hábitat original (Lee, 2002). Generalmente ocurren con la llegada de una semilla o hembra fecundada de una especie a una zona completamente nueva, una vez ahí se reproduce y dispersa perdurando en el tiempo (Ricciardi, 2007). La dispersión de las especies se ha dado naturalmente a lo largo de la historia, como por ejemplo, con el movimiento de las placas tectónicas (Vermeij, 1991), los ciclos glaciares e incluso a corta escala de tiempo con los cambios de los factores bióticos y abióticos (Lodge, 1993). No obstante, en los últimos 200 años este proceso de dispersión se ha incrementado significativamente por la acción del hombre, aumentando la magnitud geográfica, la frecuencia y el número de especies involucradas a causa del transporte y comercio (Deyrup et al., 2000; Lodge, 1993; Ricciardi, 2007; Suarez et al., 2005). A su vez, estas dispersiones mediadas por el hombre o invasiones biológicas también ocurren por la construcción de grandes obras de infraestructura que permiten el intercambio entre lugares que antes estaban aislados por barreras naturales. Son ejemplos de este caso, el canal de Suez construido en 1869 y el canal de Panamá construido en 1914 (Vermeij, 1991). Incluso el hombre influye indirectamente en el aumento de las invasiones mediante la modificación de la temperatura y los ambientes del planeta, como consecuencia del calentamiento global y la antropización. Esto provoca que muchas especies expandan sus territorios desde su área natural de distribución y otras los reduzcan (Lodge, 1993; Perry et al., 2005; Thomas & Lennon, 1999).

La introducción de especies exóticas invasoras representa un gran problema, ya que no solo produce una reducción de la biodiversidad, sino también la homogenización de la biota mediante el desplazamiento y a veces la extinción de algunas especies nativas a nivel mundial (Clavero & García-Berthou, 2005; Kupferberg, 1997; Lodge, 1993; Sax & Gaines, 2008; Vitousek et al., 1997). Estos cambios, a veces se traducen en alteraciones en los predadores, competidores y hasta del hábitat, lo que puede provocar una modificación en la estructura trófica de las comunidades e incluso inducen perturbaciones que afectan los ecosistemas (Lodge, 1993; Vitousek et al., 1996). El éxito de las especies invasoras es comúnmente explicado por la hipótesis de liberación de enemigos naturales (Keane & Crawley, 2002), la cual postula que una vez establecidas fuera de su rango nativo, las especies invasoras están libres de la regulación que ejercen sus enemigos naturales (especies competidoras, depredadores, parásitos y/o patógenos). Esto se traduce en un aumento en sus abundancias y la expansión de sus rangos de distribución en las áreas invadidas. No obstante, el daño producido por las especies invasoras no se reduce solo al ecosistema, sino que también tienen un diverso y complejo costo económico para la sociedad. Estos incluyen daños y pérdidas, como a infraestructuras, capital humano o producción de cultivos (Paini et al., 2016). Estos daños pueden ser directos, por ejemplo impactando en la salud humana a través de la transmisión de enfermedades (Bradshaw et al., 2016) o indirecto, como por ejemplo el daño producido por la degradación ambiental (Walsh et al., 2016). Por otro lado, se generan gastos para evitar o reducir el impacto de las invasiones a través de la prevención, el control o la erradicación de las especies invasoras (Alvarez & Solís, 2018; Hoffmann & Broadhurst, 2016; Woodford et al., 2016). En base a esta problemática, se creó una base de datos llamada “*InvaCost*” que compila costos económicos documentados de las especies exóticas invasoras a nivel global (Diagne et al., 2020). Este catálogo actualizable proporciona grandes oportunidades para evaluar exhaustivamente y entender el impacto económico y sanitario de las invasiones a diferentes escalas.

Por lo general, las especies invasoras poseen un conjunto de características comunes que las hacen muy eficientes a la hora de conquistar nuevos territorios. Entre ellas se pueden mencionar: tamaño pequeño, una alta tasa de reproducción, elevada fecundidad, ciclo de vida corto, reproducción asexual, tasa de dispersión alta, gran plasticidad fenotípica, rango nativo amplio, alta diversidad genética, y especialmente comensalismo con el hombre (Lodge, 1993). Esta última característica cobra una mayor importancia, ya que muchas especies son exitosas al invadir nuevos territorios debido a su alta predisposición a ser transportadas por humanos, soportando dicho proceso así como también la posterior introducción, establecimiento y dispersión (Suarez & Tsutsui, 2008).

Hormigas invasoras

En general las hormigas tienen un rol importante en los ecosistemas terrestres ya que cumplen una gran diversidad de funciones. Actúan como predadoras, carroñeras, herbívoras, detritívoras y granívoras (Hölldobler & Wilson, 1990). A su vez presentan una gran variedad de asociaciones con plantas y otros insectos (Beattie, 1985; Hölldobler & Wilson, 1990; Huxley & Cutler, 1991). Incluso sirven como importantes agentes de renovación del suelo y distribución de nutrientes (Folgarait, 1998; Hölldobler & Wilson, 1990; MacMahon et al., 2000). Debido a esta amplia gama de roles que desempeñan en los ecosistemas, algunas de ellas suponen una grave amenaza para la biodiversidad cuando se tornan invasoras, así como para los intereses humanos como la agricultura y la salud pública (Holway et al., 2002a; O'Dowd et al., 2003; Williams, 2021). De las aproximadamente 14 mil especies de hormigas descritas, solo un subconjunto pequeño de menos de 150 especies, fueron introducidas en nuevos entornos por el hombre (McGlynn, 1999). Estas especies son conocidas como hormigas vagabundas o "*tramp ants*", debido a que conviven con humanos, lo que facilita su dispersión (Hölldobler & Wilson, 1990; Passera, 2021). En general permanecen confinadas a ambientes antropizados, pero algunas de estas especies logran colonizar también ambientes naturales. Diecinueve de estas especies están catalogadas como especies invasoras o altamente problemáticas por la Unión Internacional por la Conservación de la Naturaleza (IUCN) (SSC Invasive Species Specialist Group, 2012), incluso cinco de ellas se encuentran en la lista de la IUCN como "100 de las peores especies invasoras del mundo" (Lowe et al., 2000). Las especies invasoras de hormigas poseen la capacidad de penetrar en ecosistemas naturales, provocando una reducción de la diversidad de hormigas nativas, lo que afecta tanto directa como indirectamente a otros organismos. Al ser especies competidoras muy dominantes y altamente agresivas, por lo general desplazan a muchas especies tanto por competencia por explotación, como por interferencia (Carpintero & Reyes-López, 2008; Holway, 1999; Rowles & O'Dowd, 2007). Otros grupos taxonómicos afectados incluyen artrópodos (cangrejos, arañas e insectos), aves, reptiles, anfibios, mamíferos y plantas (Holway et al., 2002a; Lach & Hooper-Bui, 2010; Rabitsch, 2011; Wittman, 2014). Diferentes estudios apuntan a las hormigas invasoras como una de las causas que inciden en el descenso de la fauna de vertebrados e invertebrados nativos, disminución de dispersión de semillas (lo cual impacta en la estructura de la vegetación nativa), pérdida en la productividad agropecuaria, ya sea por consumo de cultivos o por el aumento asociado de fitófagos e interferencia en las interacciones mutualistas de otras especies de hormigas con plantas y otros artrópodos (Holway et al., 2002a). Como si esto no fuera suficiente, una vez establecidas han probado ser muy difíciles de controlar y virtualmente imposible de erradicar (Holway et al., 2002a).

Las hormigas invasoras poseen además una serie de características que les permiten conquistar nuevos territorios rápidamente. Una de las más importantes es su tendencia a formar poblaciones con una organización social supercolonial (varias colonias grandes) o unicolonial (una sola colonia muy grande). Este tipo de “supercolonias” son altamente expansivas, poseen múltiples reinas (poligínicas) y no presentan barreras comportamentales entre las obreras de los distintos nidos (polidomia) que conforman la supercolonia. Los nidos son mudados frecuentemente, lo que puede generar nidos con obreras y larvas pero carentes de reinas e interconectados entre sí (Debout et al., 2007). Los nuevos nidos o colonias suelen formarse por gemación, es decir que alguna de las reinas inseminadas abandona la colonia original con un grupo de obreras y forma un nuevo nido o colonia en las cercanías (Heinze et al., 2006). Debido a estas características logran aumentar rápidamente su abundancia y consecuentemente dominar hábitats completos (Holway et al., 2002a). Muchas de estas especies muestran además bajos o casi nulos niveles de agresión intraespecífica, lo que potencia aún más sus habilidades de colonización y dominancia (Haines & Haines, 1978; Morel et al., 1990; Vander Meer et al., 2019). Como fue mencionado anteriormente, poseen una dieta omnívora, lo que las hace altamente adaptables: carroñan animales muertos, depredan pequeños invertebrados y cosechan exudados ricos en carbohidratos a partir de plantas (como nectarios extraflorales) u otros insectos (Hölldobler & Wilson, 1990).

Entre las hormigas invasoras que actualmente ocasionan más problemas, se encuentran: la hormiga invasora de jardín *Lasius neglectus*, la hormiga cabezona *Pheidole megacephala*, la hormiga roja común *Myrmica rubra*, la hormiga loca amarilla *Anoplolepis gracilipes*, la hormiga loca de cuernos largos *Paratrechina longicornis*, la hormiga loca rojiza *Nylanderia fulva*, la hormiga de fuego *Solenopsis invicta*, la hormiga argentina *Linepithema humile*, y la pequeña hormiga de fuego *Wasmannia auropunctata*. Estas últimas cuatro especies invasoras conviven en simpatria a lo largo de gran parte de la Cuenca del Plata en Argentina y son de gran interés, ya que en la actualidad siguen expandiendo su rango de distribución tanto en otras regiones del mundo, como en regiones próximas a su área nativa de distribución (Calcaterra et al., 2016; Chifflet et al., 2018).

Hormigas invasoras nativas de la Cuenca del Plata

La hormiga loca rojiza *N. fulva* es una especie nativa de Sudamérica, que se distribuye desde la parte central de Brasil (Mato Grosso y Bahía) y Bolivia hasta la parte central de Argentina (Buenos Aires), incluyendo Uruguay y Paraguay (Gotzek et al., 2012; Kumar et al., 2015; Williams & Lucky, 2020). Sin embargo, ha sido introducida por la acción del hombre en: las Antillas Menores, Colombia, Costa Rica, Cuba, Ecuador, Haití, Jamaica, México, Panamá, Puerto Rico y República Dominicana (Gotzek et

al., 2012; Trager, 1984; Wang et al., 2016; Wetterer & Keularts, 2008; Williams & Lucky, 2020). Incluso ha llegado a territorios muy al norte de su distribución nativa como Estados Unidos, donde recientemente se ha extendido a lo largo de Alabama, Florida, Misisipi, Georgia, Luisiana y Texas (Eyer et al., 2018; Klotz et al., 1995; MacGown & Layton, 2010; Meyers & Gold, 2008; Trager, 1984; Wang et al., 2016). También se encontraron colonias en Europa tanto en Islas Canarias, como en Francia y Bélgica (Blatrix et al., 2018; Williams et al., 2022). Sus colonias son monomórficas con obreras de 2 a 2,3 milímetros de longitud y poligínicas con reinas que pueden variar de cinco a cientos, siendo que a mayor cantidad de estas, mayor es la capacidad reproductiva (Arcila et al., 2002; Eyer et al., 2018; McDonald, 2012). Sus nidos pueden ser permanentes o transitorios y suelen estar contruidos entre la hojarasca, troncos en proceso de descomposición, debajo de macetas e incluso en conductos eléctricos subterráneos. Estos últimos son los más comunes de observar en procesos de colonización de nuevos territorios invadidos y son trasladados casi diariamente (Zenner-Polania, 2019). En las zonas invadidas, gracias a su baja agresión entre nidos, suelen adoptar una estructura de supercolonia con la que abarcan grandes distancias (LeBrun et al., 2013; LeBrun et al., 2014). Esta especie representa un gran problema económico por los daños producidos indirectamente a cultivos debido a su asociación con hemípteros de los cuales consumen sus exudados como fuente de carbohidratos (Sharma et al., 2013; Zenner-Polania, 2019). A su vez también causan daños en la zona urbana donde sus hábitos de forrajeo y nidificación en construcciones producen cortocircuitos en sistemas eléctricos (Meyers & Gold, 2008). Por otro lado también producen un gran daño ecológico al reducir la diversidad de artrópodos y principalmente del ensamble de hormigas nativas debido a su alta dominancia y habilidades competitivas (LeBrun et al., 2013).

La hormiga argentina *L. humile* es una hormiga nativa del área de la Cuenca del Río de la Plata, que incluye a Brasil, Paraguay, Uruguay y Argentina (su límite austral está documentado en Rawson, Chubut) (Wild, 2004). Posteriormente expandieron su territorio por acción del hombre a países cercanos como: Chile, Colombia, Perú y Ecuador (Wetterer et al., 2009). Debido al transporte comercial entre Argentina y Portugal y su similitud climática, esta especie fue introducida vía este país a la zona Mediterránea, especialmente por la isla de Madeira (Wetterer & Wetterer, 2006; Wetterer et al., 2006). A su vez fue detectada en una gran cantidad de países a lo largo de toda Europa abarcando desde Portugal hasta Polonia y desde Grecia hasta Noruega (Wetterer et al., 2009). Luego comenzó a expandirse hacia el norte de África a países como: Argelia, Marruecos y Túnez (Frisque, 1935; Wetterer et al., 2006; Wetterer et al., 2009). Alcanzando el centro-sur de África en regiones como: Sudáfrica, Lesoto, Namibia, Camerún y Zimbabue (Wetterer et al., 2009). También fue introducida en una buena parte de Estados Unidos, siendo el primer lugar en ser

reportada Nueva Orleans, Luisiana (Titus, 1905; Wetterer et al., 2009). Incluso hay registros que confirman su invasión en México y Bermudas (Wetterer & Wetterer, 2004; Wild, 2004). Finalmente ha alcanzado recientemente los continentes de Asia y Oceanía llegando a países como: Japón, Yemen, Emiratos Árabes Unidos, Corea del Norte, Vietnam, Australia, Nueva Zelanda, Indonesia, Filipinas y Malasia (Wetterer et al., 2009). Las colonias de *L. humile* son poligínicas y monomórficas, con obreras de entre 2,2 y 2,6 milímetros de longitud (Wild, 2004). Suelen anidar directamente en la tierra por debajo de la hojarasca o madera en descomposición, incluso en grietas en el material de los hogares. Mudan estos nidos regularmente a la vez que producen nuevos por gemación lo que hace que puedan conquistar nuevos terrenos rápidamente (Sanders et al., 2001). Su dieta omnívora y su gran habilidad de reclutamiento las hace altamente competitivas ya que demandan una gran cantidad de una amplia variedad de recursos. Por esta razón su impacto en el ensamble de hormigas nativas es inmenso, reduciendo su diversidad y produciendo desplazamientos (Carpintero & Reyes-López, 2008) e incluso a veces causándoles bajas de forma directa (Zee & Holway, 2006). Su impacto no solo se reduce al ensamble de hormigas nativas sino que también se propaga a otras comunidades de artrópodos (Holway, 1998; Human & Gordon, 1996; Human & Gordon, 1997; Suarez et al., 1998), las interacciones de hormigas con vertebrados (Suarez et al., 2000) y las relaciones entre hormigas y plantas (Blancafort & Gómez, 2005; Bond & Slingsby, 1984; Gómez & Oliveras, 2003; Visser, 1996). A su vez se han documentado impactos a nivel de infraestructuras por sus hábitos de nidificación y forrajeo (Chang & Ota, 2019) y en cultivos y plantaciones debido a su fuerte interacción mutualista con hemípteros (Ness & Bronstein, 2004; Vega, 2001).

La hormiga de fuego *S. invicta* es una hormiga nativa de países ubicados en el centro y norte de Sudamérica: Ecuador, Brasil, Bolivia, Perú, Paraguay, Uruguay y Argentina; su límite de distribución austral es Bahía Anegada, Buenos Aires (Bezděčková et al., 2015; Canepuccia et al., 2016; Puig & Alvear, 2015; Tschinkel, 2013). Esta hormiga ha expandido su territorio hasta Estados Unidos donde actualmente se la encuentra por lo menos en 13 estados del sur del país y desde donde ha alcanzado Puerto Rico y México (Callcott, 2002; Rosas-Mejía et al., 2021). También desde el mismo país se presume que alcanzo Jamaica, las islas ubicadas en las Antillas Menores y las Bahamas (Davis Jr et al., 2001; Wetterer, 2013a; Wetterer & Davis Jr, 2010). A su vez también fue exportada desde Estados Unidos a China, Taiwán, Macao, Hong Kong, Australia y Nueva Zelanda (Ascunce et al., 2011; Chen et al., 2005; Leong et al., 2017; Wetterer, 2013a; Zhang et al., 2007). Incluso se han reportado casos de invasión por esta hormiga en distintas localidades de Japón (Murakami, 2018). Esta especie se caracteriza por poseer colonias polimórficas con obreras que varían su tamaño desde 3 a 6 milímetros. Construyen túneles subterráneos de los cuales usan el sustrato excavado para construir un montículo por encima del nivel del suelo el cual participa en la termorregulación del nido

(Tschinkel, 2013). Estos nidos son más frecuentes en lugares soleados y que fueron perturbados por actividades como la agricultura, la tala o construcciones (Brown et al., 1980; Porter & Savignano, 1990). La cantidad de reinas por colonia puede variar, ya que estas pueden ser monogínicas o poligínicas, alcanzando estas últimas una densidad de nidos 2 o 3 veces superior (Macom & Porter, 1996), siendo la forma más abundante en los territorios invadidos, ya que se reproducen por gemación, conquistando rápidamente nuevas áreas (DeHeer, 2002; Porter et al., 1988). De esta manera afectan a una gran variedad de especies de distintos grupos taxonómicos. De los cuales los adultos solo se ven afectados por su picadura que produce una fuerte irritación o por la baja disponibilidad de alimento en caso de ser insectívoros, debido a la gran voracidad de *S. invicta* al depredar otras especies de insectos (Allen et al., 2004; Wojcik et al., 2001). Por otro lado, prácticamente cualquier invertebrado que no pueda defenderse a sí mismo o escapar es depredado debido a su gran capacidad de reclutamiento y agresividad (Wojcik et al., 2001). Particularmente las especies de hormigas nativas se ven afectadas, ya que son desplazadas de su territorio o reducen su abundancia, debido a que *S. invicta* es una especie altamente competitiva que posee un comportamiento agresivo de forrajeo, alta capacidad reproductiva y dieta omnívora (Allen et al., 2004; Morris & Steigman, 1993; Porter & Savignano, 1990; Tschinkel, 2013). Este último punto cobra una mayor importancia en cuanto a los campos de cultivos, los que se ven gravemente perjudicados debido a que esta hormiga no solo se alimenta de los exudados de plantas y hemípteros (mutualismo que favorece la presencia de ambos), sino que también ataca plántulas y semillas en germinación. Incluso la presencia de montículos construidos por esta especie dificulta la futura cosecha de estos cultivos (Adams, 2019; Allen et al., 2004; Davidson & Stone, 1989; Lofgren & Adams, 2019; Taber, 2000; Vinson, 1997). Finalmente a nivel sanitario se sabe que el veneno de *S. invicta* es un alcaloide que puede causar reacciones alérgicas severas que pueden resultar en infecciones, sepsis, shock anafiláctico y hasta la muerte (Adams, 2019; Prahlow & Barnard, 1998).

Modelo de estudio

La pequeña hormiga de fuego, *W. auropunctata*, es una hormiga nativa del Neotrópico que se distribuye desde México hasta el norte de Argentina, estando presente en todos los países, exceptuando a Chile. Dentro de esta inmensa área geográfica, se diferenciaron mediante estudios de ADN mitocondrial dos clados genéticos (A y B). El primero se distribuye desde México por todo Centroamérica hasta el sur de Bolivia, Brasil y Paraguay, mientras que el segundo comparte esta misma distribución, pero extendiéndose hasta el centro de Argentina y Uruguay (Mikheyev & Mueller, 2007, Chifflet et al. 2018). No obstante no está del todo claro si realmente esta especie es

nativa de toda esta gran región neotropical, ya que no se sabe a ciencia cierta cuál era su rango nativo antes de la influencia de las actividades humanas (Wetterer & Porter, 2003). En los últimos 130 años ha expandido su distribución por fuera del área nativa de distribución neotropical hacia regiones tropicales y subtropicales de otros continentes, y durante los últimos 60 años ha logrado expandir su distribución incluso hacia regiones templadas del mundo (e.g. Israel y España) o aledañas a su distribución nativa, como Buenos Aires, donde se encuentra actualmente su límite sur de distribución (Chifflet et al., 2016; Chifflet et al., 2018; Cuezco et al., 2015). Dentro de los territorios invadidos se pueden mencionar: Estados Unidos, Canadá, prácticamente todas las islas del Caribe y las Antillas Menores, Bermuda, Galápagos, Islas Cocos, Reino Unido, Países Bajos, España, Italia, Sierra Leona, República Centroafricana, Camerún, Gabón, Israel, Taiwán, China, Papúa Nueva Guinea, Australia, Islas Marianas, Islas Salomón, Vanuatu, Nueva Caledonia, Nueva Zelanda, Tuvalu, Islas de la Sociedad, Tahití, Wallis y Futuna e Islas Santa Cruz (Boer & Vierbergen, 2008; Bousseynroux et al., 2018; Chen et al., 2022; Espadaler et al., 2018; Jucker et al., 2008; Lee et al., 2020; Raymundo & Miller, 2012; Vonshak et al., 2010; Ward et al., 2006; Wetterer, 2013b; Wetterer & Porter, 2003). La mayoría de estas invasiones tienen como partícipes a las colonias del clado A, sin embargo algunas de ellas (este africano, Nueva Caledonia, Tahití e Israel) corresponden a colonias del clado B (Mikheyev & Mueller, 2007; Rey et al., 2012). *W. auropunctata* posee colonias monomórficas con obreras de color cobre/dorado de aproximadamente 1,5 milímetros de largo (Fig. 1), las cuales son de movimiento lento (Longino & Fernández, 2007).



Figura 1. La pequeña hormiga de fuego *W. auropunctata*. Foto de una típica obrera (izquierda) y de una reina de *W. auropunctata* dentro del nido rodeada de obreras, pupas y larvas (derecha). Fotos capturadas por Alexander Wild (www.alexanderwild.com).

Los nidos no son subterráneos, sino que son superficiales y con una amplia variedad de cavidades. Normalmente se ubican debajo de piedras, debajo o dentro de madera en descomposición y hojarasca (Wetterer & Porter, 2003). Dichos nidos pueden ser monogínicos o poligínicos, siendo el primero comúnmente encontrado en colonias que reproducen sexualmente dentro de su rango nativo, mientras que el segundo es comúnmente encontrado en poblaciones que reproducen clonalmente tanto en su rango nativo, como en los territorios invadidos. Estos mismos son transportados con facilidad de un lugar a otro y se reproducen por gemación, lo que facilita su fácil expansión y por lo tanto rápida colonización de nuevos territorios (Wetterer & Porter, 2003). Además poseen características de organización social unicolonial, es decir que los individuos de distintas colonias presentan una casi nula agresión entre ellos formando una supercolonia con una altísima densidad poblacional y altamente competitiva con individuos de otras especies (Wetterer & Porter, 2003). El tipo de reproducción de esta especie puede depender del contexto: la clásica reproducción haplodiplonte de los himenópteros en la cual las obreras y reinas se producen por reproducción sexual y los machos por partenogénesis arrenótoca o reproducción clonal en la que las reinas y los machos se producen por clonación y las obreras por reproducción sexual (Foucaud et al., 2007; Fournier et al., 2005). Las colonias que se reproducen clonalmente son más grandes y tienen más reinas, por lo que presentan una mayor tasa de crecimiento poblacional (Foucaud et al., 2009; Sakai et al., 2001; Vorburger et al., 2003). Otro hábito de esta especie que le confiere grandes ventajas a la hora de invadir un nuevo territorio es su tipo de dieta omnívora, la cual puede ir desde la depredación de artrópodos hasta el consumo de exudados de nectarios florales o secreciones de hemípteros (Wetterer & Porter, 2003). Esta última característica la convierte en un grave problema económico en los cultivos, ya que su presencia favorece la de insectos succionadores de savia que no solo disminuyen la producción de los cultivos sino que son vectores de enfermedades para los mismos (De Souza et al., 1998; Fasi et al., 2009). Incluso representan un problema para los trabajadores y animales en dichos cultivos, ya que su picadura es muy dolorosa, pudiendo infringir irritaciones e incluso infecciones (Rosselli & Wetterer, 2017). También es importante destacar su marcada agresión a individuos de otras especies de hormigas, la cual le permite dominar fácilmente un territorio (Brandão & Paiva, 2021; Delsinne et al., 2001; Le Breton et al., 2003; Way & Bolton, 1997). Es por todas estas características que *W. auropunctata* supera ampliamente al ensamble de hormigas nativo produciendo no solo un impacto negativo en su abundancia y diversidad por competencia y depredación, sino también en la fauna de artrópodos y vertebrados nativa de los territorios invadidos (Berman et al., 2013; Bertelsmeier et al., 2016; Clark et al., 1982; Jourdan et al., 2001; Le Breton et al., 2003; Lubin, 1984; Roque Albelo & Causton, 1999; Vonshak et al., 2010; Walker, 2006; Walsh et al., 2004; Wetterer, 1999).

Como fue establecido anteriormente, *W. auropunctata* representa un grave problema económico, sanitario y principalmente ecológico en los territorios invadidos en otros continentes. Gracias a la actividad humana directa mediante el transporte e indirecta mediante el calentamiento global, estos territorios son cada vez más amplios y numerosos. Aun así, poco se sabe sobre su comportamiento y rangos de tolerancia en su área nativa de distribución y en especial en su límite austral, que actualmente se encuentra en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires (C.A.B.A.) - Argentina (región donde es considerada invasora). En esta región experimenta climas más templados que presentan una mayor variabilidad, tanto de temperatura, como de humedad. Además coexiste con otras tres especies de hormigas invasoras de interés mundial: *S. invicta*, *L. humile* y *N. fulva*. Conocer cuáles son los factores abióticos y bióticos que limitan su distribución, permitirá predecir cuáles son los lugares más susceptibles a ser invadidos en el futuro en un escenario de calentamiento global.

Objetivos e hipótesis

El objetivo general de esta tesis es estudiar cómo algunos factores bióticos y abióticos limitan actualmente la distribución austral de la pequeña hormiga de fuego *W. auropunctata*. Por un lado, se estudiará cómo se ven afectadas sus tolerancias fisiológicas por factores abióticos como la temperatura y la humedad. Por el otro, se investigará cómo factores bióticos como la competencia interespecífica por explotación e interferencia, con otras especies de hormigas con las que coexiste en un ensamble de hormigas en C.A.B.A., afectan su dominancia. Además, se evaluará si la jerarquía de dominancia entre *W. auropunctata* y otras tres especies de hormigas invasoras observadas en el campo, cambia a distintas temperaturas ambiente en experimentos de laboratorio. De este objetivo se dependen las siguientes hipótesis:

- 1) Dentro de un gradiente latitudinal de temperaturas, las colonias de *W. auropunctata* que soportan climas más cálidos poseen una mayor tolerancia a temperaturas altas, mientras que las que soportan climas más fríos poseen un mayor tolerancia a temperaturas bajas.
- 2) Dentro de un gradiente longitudinal de precipitaciones, las colonias de *W. auropunctata* que soportan climas más secos poseen una mayor tolerancia a la desecación.
- 3) *W. auropunctata* es una buena competidora gracias a que logra escapar al compromiso entre descubrir y dominar fuentes de alimento en el ensamble de hormigas con el que coexiste en su límite sur de distribución.
- 4) Cambios en la temperatura producen modificaciones en la jerarquía de dominancia entre *W. auropunctata* y otras tres especies invasoras simpátricas: *N. fulva*, *L. humile* y *S. invicta*.

CAPITULO II

*Efecto de la temperatura como limitante de la distribución de *Wasmannia auropunctata**



Introducción

La temperatura es uno de los principales factores abióticos para la supervivencia de un organismo, ya que afecta prácticamente todos sus procesos fisiológicos (Angilletta Jr & Angilletta, 2009; Chown et al., 2004; Stevens, 1989; Terblanche et al., 2007). En insectos esto se vuelve aún más importante ya que, como fue mencionado en el capítulo anterior, son ectotermos poiquilotermos y poseen una alta relación superficie/volumen. Por lo tanto su temperatura corporal está altamente influenciada por la temperatura ambiente, lo que los hace altamente susceptibles a los cambios de temperatura (Chapman, 1998). No obstante los insectos no son receptores pasivos de las variaciones en la temperatura, sino que despliegan una variedad de cambios comportamentales y fisiológicos para mantener la homeostasis (Chown et al., 2004). El repertorio de cambios comportamentales comprende: elección de micro-hábitats, construcción de estructuras para maximizar o minimizar la pérdida de calor, variación en el nivel de actividad y agregación, entre otros (Chown et al., 2004). Por otro lado, los cambios fisiológicos comprenden procesos como: variaciones en la tasa metabólica, enfriamiento evaporativo y síntesis de proteínas de choque térmico, de crioprotectantes y de agentes nucleadores de hielo (Chapman, 1998; Chown et al., 2004; Edney, 2012; Lahondère & Lazzari, 2012; Prange, 1996). Estas características comportamentales y fisiológicas propias de cada especie determinan el rango de tolerancias térmicas en el cual un insecto puede mantenerse activo, determinando así su nicho fisiológico (Chown et al., 2004; Spicer & Gaston, 2009). Este rango está delimitado por un extremo inferior o temperatura crítica mínima (TC_{min}), a partir del cual el desempeño aumenta hasta llegar a su valor máximo o temperatura óptima (T_{opt}), para luego decaer hasta alcanzar su límite superior o temperatura crítica máxima (TC_{max} , ver fig. 2) (Huey et al., 2012). Los insectos no pueden responder más allá de estas temperaturas (TC_{min} y TC_{max}) y por lo tanto se vuelven vulnerables a la depredación o son víctimas de las temperaturas letales (Byrne et al., 2004). Tanto la TC_{min} como la TC_{max} son dos medidas estándar de termotolerancias en insectos, pero no son las únicas. El tiempo de recuperación al coma producido por el frío (en inglés "*chill coma recovery time*" o CCRT) es otra variable comúnmente utilizada para medir los límites inferiores de tolerancia térmica (Gibert & Huey, 2001; Hoffmann et al., 2002; Kostal et al., 2004). Así como la TC_{min} representa la pérdida del control locomotor, el CCRT representa el tiempo de recuperación a partir de ese estado.

El rango de desempeño de una especie comprendido por sus límites de termotolerancia puede ser afectado por la historia térmica del individuo, que fue moldeada por las condiciones ambientales previas a su evaluación, la variación estacional en el clima y/o las variaciones diarias en la temperatura (Chown & Terblanche, 2006; Hoffmann et al., 2003). De esta manera, las especies

pueden modificar estos rangos frente a cambios en la temperatura ambiente mediante mecanismos de plasticidad fenotípica (Belliard et al., 2019; Gray, 2013; Hahn & Denlinger, 2011; Williams et al., 2012). Este mecanismo de plasticidad se manifiesta luego de un tiempo prolongado de aclimatación a temperaturas más bajas o más altas, mientras que los cambios producidos en un corto plazo se dan mediante endurecimiento (en inglés “*hardening*”). Esto último también resulta efectivo para lograr un aumento o corrimiento en las termotolerancias (Hoffmann & Hewa-Kapuge, 2000; Huey et al., 1999; Scott et al., 1997).

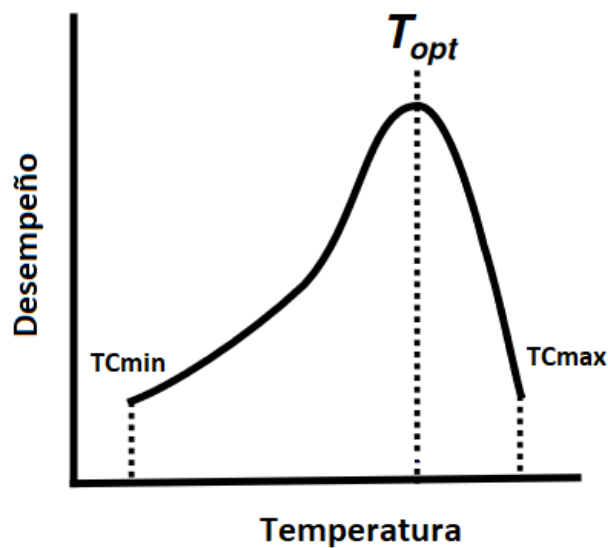


Figura 2. Curva de desempeño para insectos ectotermos. Curva que ilustra el desempeño en función de la temperatura, el rango de tolerancias térmicas está delimitado por la TCmin y TCmax. El desempeño máximo se alcanza en la T_{opt}. Gráfico modificado de Colinet y colaboradores (2015).

Como fue comentado en el capítulo anterior, la hipótesis de variabilidad climática (Gaston, 2003) postula que la variabilidad climática que experimentan los animales terrestres aumenta con la latitud. De esta forma, los individuos de poblaciones que habitan en latitudes mayores requieren un rango de tolerancia fisiológica más amplio. Este rango más amplio de tolerancias fisiológicas le permite a una especie tener una distribución más extensa. Dado que el rango de tolerancia de un organismo está relacionado con su plasticidad fenotípica, la hipótesis de variabilidad climática implica que esta última aumenta con la latitud (Chown et al., 2004). Esto es especialmente cierto cuando se trata de las tolerancias a bajas temperaturas que se dan en climas fríos a mayores latitudes. El aumento de la tolerancia a bajas temperaturas en especies extratropicales depende básicamente de la disminución de la TCmin con el aumento de la latitud, debido a la rápida

disminución de las temperaturas mínimas en ambientes más australes. Por el contrario, la variación en las temperaturas ambiente máximas parecería ser relativamente independiente de la latitud, haciendo a la TCmax geográficamente invariante (Gaston, 2003). Este patrón asimétrico parecería ser una tendencia general (Addo-Bediako et al., 2000; Araújo et al., 2013; Clusella-Trullas et al., 2011; Huey et al., 2009) y se considera una regla en ectotermos terrestres (Gaston, 2003). En su trabajo, Addo-Bediako y colaboradores (2000), encontraron diferencias pronunciadas en el grado de variabilidad de los límites térmicos. La variación latitudinal en las temperaturas letales superiores (temperatura más alta a la cual un organismo muere), aunque son significativas son mucho menos pronunciadas que la variación en las temperaturas letales inferiores (temperatura más baja a la cual un organismo muere). Esto da lugar a un incremento general en el rango de tolerancias con la latitud. Mientras que la variación en las temperaturas letales superiores parecerían ser similares a lo largo del globo, la variación en las temperaturas letales inferiores es mucho más pronunciada a mayores latitudes (Addo-Bediako et al., 2000).

En el proceso de invasión, la temperatura constituye una segunda barrera, luego de la barrera geográfica, al determinar las posibilidades de que una especie introducida pueda sobrevivir y reproducirse en el nuevo territorio (Colautti & MacIsaac, 2004; Hellmann et al., 2008). La barrera de la temperatura puede ser sorteada por la especie invasora de dos maneras. La primera sostiene que las adaptaciones fisiológicas ocurren en sitios invadidos intermedios llamados “cabeza de puente”, donde las presiones de selección son similares a las del territorio finalmente invadido (Lombaert et al., 2010). Por otro lado, la segunda establece que las adaptaciones ocurren dentro del rango nativo de la especie, antes de su dispersión a nuevas regiones. Esta situación se da en un escenario descrito como “adaptación invasiva antropogénicamente inducida” (AIAI), que está caracterizada por la alteración del hábitat por humanos, los cuales permiten el establecimiento de propágulos de poblaciones previamente adaptadas. Dicho proceso posiblemente ocurra debido a que la antropización homogeneiza ciertos factores bióticos y abióticos en los sitios invadidos, volviéndolos similares a los observados en la distribución nativa (Bossdorf et al., 2008; Foucaud et al., 2009; Hufbauer et al., 2012). Este fenómeno fue observado en *W. auropunctata*, donde se vio que poblaciones presentes en los márgenes australes de su territorio nativo (Zárate, Buenos Aires), sufrieron adaptaciones fisiológicas a climas más fríos, que le permitieron invadir y establecerse con éxito en varias regiones antropizadas de Israel (Rey et al., 2012).

Es entonces que surge el interrogante acerca de si *W. auropunctata* extendió su área de distribución hacia territorios más australes que su distribución nativa como consecuencia de un proceso de adaptación a temperaturas más frías, es decir si aumentó su tolerancia térmica. A partir de ello, se

propone la siguiente hipótesis. Dentro de un gradiente latitudinal de temperaturas, las colonias de *W. auropunctata* que soportan climas más cálidos poseen una mayor tolerancia a temperaturas altas, mientras que las que soportan climas más fríos poseen un mayor tolerancia a temperaturas bajas. En consecuencia, se espera que las colonias ubicadas en sitios que soportan temperaturas máximas más altas durante el año, alcancen mayores TCmax que las que experimentan menores temperaturas máximas. En contraposición, se espera que las colonias ubicadas en sitios que soportan temperaturas mínimas más bajas durante el año, alcancen menores TCmin y CCRT que las que experimentan mayores temperaturas mínimas.

Materiales y Métodos

Recolección y mantenimiento de las colonias

Se recolectaron colonias de *W. auropunctata* dentro de un gradiente latitudinal que abarcó desde Carahunco (Jujuy) hasta C.A.B.A. (Buenos Aires) y dentro de un gradiente longitudinal que abarcó desde Carahunco (Jujuy) hasta Assis Chateaubriand (Paraná, Brasil). En total se recolectaron 15 colonias diferentes, trece provenientes de cinco provincias argentinas y dos provenientes de países limítrofes (Paraguay y Brasil) (Fig. 3): Carahunco - Jujuy - Argentina (-24,308671; -65,084222), El Carmen - Jujuy - Argentina (-24,37472; -65,25431), Assis Chateaubriand - Paraná - Brasil (-24,345; -53,530), Caacupé - Cordillera - Paraguay (-25,386869; -57,136139), Candelaria - Misiones - Argentina (-27,4727129; -55,7416449), Gobernador Virasoro - Corrientes - Argentina (-28,0533613; -56,0154941), Romang - Santa Fe - Argentina (-29,4998608; -59,7426529), Cayastá - Santa Fe - Argentina (-31,2010953; -60,1577103), Barrancas - Santa Fe - Argentina (-32,2704503; -60,9743521), Ramallo - Buenos Aires - Argentina (-33,367328; -60,394031), Don Torcuato - Buenos Aires - Argentina (-34,50278; -58,65030), Ciudad Universitaria (Limonero) - C.A.B.A. - Argentina (-34,539510; -58,445069), Ciudad Universitaria (Transportes) - C.A.B.A. - Argentina (-34,542830; -58,440747), Ciudad Universitaria (Industrias) - C.A.B.A. - Argentina (-34,543206; -58,437923) y Agronomía - C.A.B.A. - Argentina (-34,591596; -58,486448).

Cada colonia, formada por un gran número de obreras y por lo menos una reina, junto con una porción importante del sustrato donde se hallaron, fue colocada en contenedores plásticos con las paredes recubiertas con Fluón para evitar escapes. Los contenedores poseían tapas con una malla metálica para permitir una buena aireación. Las colonias se mantuvieron dentro de una cámara de cría a una temperatura de $25 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ con un ciclo luz:oscuridad de 12:12 hs. Para ciertos experimentos, se conservó el mismo régimen lumínico, pero se usó una temperatura de $15 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ o un ciclo fluctuante (explicado más adelante). La alimentación consistió en porciones de pechuga de pollo y cucarachas dos veces por semana. Además, cada recipiente contenía un tubo de ensayo con agua y otro con una solución de agua y azúcar, los cuales eran reemplazados continuamente, ambos tubos fueron tapados con algodones para garantizar el libre acceso al recurso.

Se utilizaron todas las colonias, excepto las provenientes de Agronomía (C.A.B.A.) y Caacupé (Paraguay), para analizar las TC_{max}, TC_{min} y CCRT. Las mismas no fueron utilizadas ya que al momento de realizar las mediciones no poseían el número suficiente de obreras para mantener la viabilidad de la colonia. No obstante, se incluyó la colonia de Agronomía (C.A.B.A.) en los análisis de haplogrupos y haplotipos.



Figura 3. Distribución geográfica de las colonias de *W. auropunctata* usadas en los experimentos de tolerancias. Las colonias fueron colectadas a lo largo de un gradiente latitudinal y longitudinal. Cada letra indica la referencia usada para cada colonia: Carahunco (C), El Carmen (EC), Assis Chateaubriand (B), Caacupé (P), Candelaria (CA), Gobernador Virasoro (G), Romang (R), Cayastá (CY), Barrancas (BA), Ramallo (RA), Don Torcuato (DT), Ciudad Universitaria - Limonero (L), Ciudad Universitaria - Industrias (I), Ciudad Universitaria - Transportes (T), Agronomía (A).

Temperaturas críticas (TC)

Estos ensayos se realizaron en una placa Peltier conectada a un controlador de temperatura (SSI, PELT-5), configurado para realizar una rampa de temperatura ascendente, en el caso de la temperatura crítica máxima (TCmax) o descendente, en el caso de la temperatura crítica mínima (TCmin) (Fig. 4). Las rampas comienzan desde los 25°C (temperatura de cría) y ascienden o descienden a una tasa constante de 0,25°C/min.

Para obtener la temperatura crítica, cada hormiga es colocada en la placa Peltier y es cubierta con una placa de Petri, con las paredes internas recubiertas con Fluón para garantizar que en todo momento la hormiga se encuentre en contacto con la superficie de la misma. La temperatura a la que la hormiga pierde su control motor (se queda inmóvil completamente, comienza con espasmos, se voltea, etc.) es considerada la temperatura crítica máxima si la rampa es ascendente o mínima, si es descendente. Tanto para obtener la TCmax media, como para la TCmin media, se usaron 30 obreras de cada colonia colectada en cada sitio.

Tanto para las mediciones de TCmax, como para las de TCmin, se utilizaron colonias aclimatadas durante dos semanas a 25°C (temperatura de cría). Por otro lado, también se midieron las TCmin en las mismas colonias aclimatadas a 15°C durante 2 semanas.

Solo tres colonias (Don Torcuato, Limonero y El Carmen), las cuales presentaban una cantidad suficiente de obreras para realizar estos ensayos, fueron aclimatadas durante dos semanas usando un ciclo fluctuante de temperaturas que consistió en: 10hs a 35°C con luz, a continuación 2hs a 25°C también con luz, luego 10hs a 15°C en oscuridad y finalmente 2hs a 25°C también en oscuridad. Este ciclo fue configurado en función de que las colonias experimenten la mayor cantidad de horas las temperaturas extremas (15 y 35°C), pasando de una a la otra en ciclos cortos con una temperatura intermedia (25°C). Las mediciones de TC para las colonias sometidas al ciclo fluctuante se realizaron durante el día y la noche. Además, se calcularon los rangos de tolerancia para cada colonia, que consisten en la diferencia entre las TCmax y TCmin de distintas obreras de una misma colonia.

Tanto las temperaturas de aclimatación extremas del ciclo fluctuante (15 y 35°C) como la temperatura de aclimatación para la TCmin (15°C), fueron elegidas según la máxima plasticidad en las termotolerancias mostrada por *W. auropunctata* en el trabajo de Coulin y colaboradores (2019).

Por otro lado, se realizaron ensayos de endurecimiento o “*hardening*” que consistieron en exponer a una temperatura de 37°C durante una hora, previo a la medición de su TCmax, a obreras de una sola colonia (Limonero) que se criaron a 25°C. Debido al corto tiempo de exposición se optó por usar 2°C más de lo utilizado por Coulin y colaboradores (2019) en aclimataciones más largas en ensayos de TCmax, de manera de garantizar la respuesta.

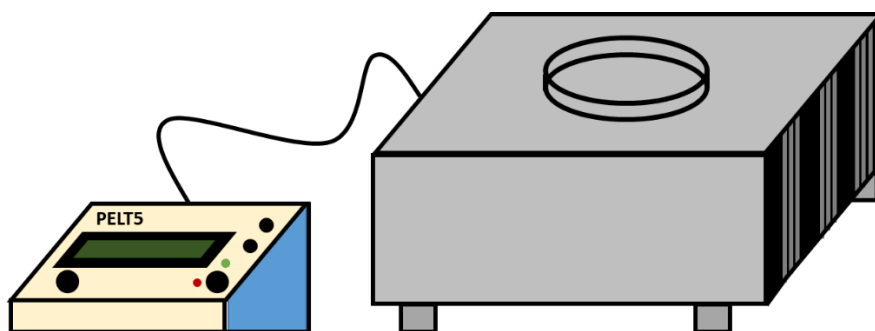


Figura 4. Dispositivo usado para calcular temperaturas críticas y CCRT. Este dispositivo consiste en un controlador de temperatura, configurado para realizar una rampa de temperatura ascendente (TCmax), descendente (TCmin) o fijar una temperatura constante (CCRT), conectado a una placa Peltier donde se coloca la placa de Petri con cada hormiga.

"Chill coma recovery time" (CCRT)

Para estos ensayos cada hormiga fue sometida a un coma inducido por frío de 0°C durante 3 horas. Para ello, se sumergieron dichas hormigas en tubos dentro de una cuba que contenía hielo y agua, así como un termómetro para controlar que la temperatura se mantenga constante. Una vez transcurrido el tiempo establecido, cada una de las obreras fue colocada en una placa Peltier debajo de una placa de Petri recubierta con Fluón, de manera de garantizar el contacto permanente del insecto con la placa (Fig. 4). Esta misma estaba configurada para mantener constante una temperatura de $25 \pm 0,2^\circ\text{C}$ mediante un controlador de temperatura (SSI, PELT-5). El tiempo que cada hormiga tardó en incorporarse fue tomado como el CCRT. Se usaron 30 obreras por cada colonia colectada en cada sitio y aclimatación. Se utilizaron las mismas colonias aclimatadas a 25°C (temperatura de cría) y a 15°C (temperatura de aclimatación a bajas temperaturas durante 2 semanas). Nuevamente la temperatura de aclimatación de 15°C fue elegida en base a la máxima plasticidad en las termotolerancias alcanzadas por *W. auropunctata* en el trabajo de Coulin y colaboradores (2019).

Biovariables

Tanto para el análisis de las TC como para el de CCRT se utilizó información climática disponible en la base de datos WorldClim (Fick & Hijmans, 2017). La misma compila datos climáticos globales históricos (1970-2000) a distintos niveles de resolución. Específicamente, se utilizaron las biovariables 5 y 6, las cuales representan datos promediados de la temperatura máxima del mes más cálido y la temperatura mínima del mes más frío, respectivamente. Estas dos biovariables se extrajeron para cada uno de los sitios en los que fueron colectadas las colonias con una resolución de aproximadamente 1 km², mediante la utilización del programa QGIS.

Determinación de haplotipos y haplogrupos

Se realizó la extracción de ADN genómico de una obrera de cada una de las 14 colonias analizadas utilizando el kit Qiagen DNeasy Blood and Tissue Kit (Qiagen, Inc., Valencia, CA, USA). De dicho extracto, se amplificó un fragmento de 628 pares de bases pertenecientes al gen mitocondrial Citocromo Oxidasa I (COI) mediante una PCR (Polymerase Chain Reaction) utilizando los primers LCO y HCO (Folmer et al., 1994). Cada reacción de PCR contuvo 1 µl de ADN, 0,9 µl MgCl₂ 3mM (Invitrogen), 1,5 µl de buffer de PCR 1x, 0,06 µl de Taq polimerasa (1 unidad; Invitrogen), 1,2 µl de cada dNTP (Promega), 0,3 µl de cada primer y agua Milli-Q® hasta completar un volumen final de 15

μl. Los ciclos de PCR comprendieron los siguientes pasos: (1) un ciclo de desnaturalización por 3 min a 95°C; (2) 35 ciclos de a) desnaturalización por un minuto a 94°C, b) *annealing* por 1 min a 48°C y c) extensión por 1 min a 74°C; (3) un ciclo de extensión por 10 min a 74°C. Los productos obtenidos por PCR fueron revelados con gel de agarosa al 1% con Gel Red (Biotium, Hayward, CA, EEUU), luego purificados con el kit Bioneer (GenBiotech) y finalmente secuenciados en la Unidad de Secuenciación y Genotipificado de la FCEN-UBA (secuenciador automático 3130-XL; Applied Biosystems) o en MacroGen. Una vez obtenidas las secuencias del gen COI para cada colonia se alinearon y editaron utilizando ClustalW (Thompson et al., 1994) mediante el programa Bioedit v.7.2.3..

Se identificaron los distintos haplotipos de las colonias utilizadas en los experimentos en relación a los haplotipos ya conocidos para la región obtenidos por Chifflet y colaboradores (2016 y 2018) utilizando el programa DNAsp v.5.0 (Librado & Rozas, 2009). Se infirieron sus relaciones filogenéticas bajo un criterio de Máxima Parsimonia (MP) y usando como criterio probabilístico un Análisis Bayesiano (AB). El primero se realizó mediante el programa TNT v.1.1 (Goloboff et al., 2008), calculando el soporte de cada nodo por medio de remuestreo (bootstrap) realizando 1000 réplicas, mientras que el segundo se efectuó con el programa BEAST v.1.6.2 (Drummond & Rambaut, 2007; Heled & Drummond, 2009), que permite estimar el árbol filogenético más probable y los tiempos de divergencia de cada nodo. Para determinar los haplotipos encontrados en las 14 colonias analizadas, se construyó una red de haplotipos utilizando el programa TCS v.1.21 (Crandall et al., 2000) con una confianza del 95%. Esta red se construye a partir del árbol más parsimonioso y no posee raíz; los haplotipos se conectan con ramas cuyo largo es proporcional al número de mutaciones que los diferencian. Los haplotipos más antiguos se ubican hacia el interior de la red, mientras que los que surgieron más recientemente se ubican hacia los extremos de la red.

Análisis estadístico

Para el análisis de las temperaturas críticas se utilizaron regresiones lineales usando como variable dependiente a las TC_{max} o TC_{min}, y como variables independientes a la latitud o las biovariables 5 y 6. Por otro lado, se utilizó un ANOVA para comparar las medias de las TC_{min} de las distintas colonias sometidas a las distintas aclimataciones. Se tomó a la temperatura de aclimatación como factor fijo. El método de Tukey se usó para realizar los contrastes *a posteriori*.

Para comparar las medias de las TC_{max} y TC_{min} en los distintos ciclos de cría y su rango de tolerancia se utilizó un ANOVA, estableciendo al ciclo de cría y a las colonias como factor fijo. El método de Tukey se usó para realizar los contrastes *a posteriori*.

Se utilizó un ANOVA para analizar las medias de las TCmax de los ensayos de endurecimiento, tomando a la pre-exposición como factor fijo. El método de Tukey se usó para realizar los contrastes *a posteriori*.

Se realizaron regresiones lineales para analizar el CCRT, usando como variable dependiente a la CCRT y como variables independientes a la latitud o la biovariable 6.

Se realizaron ANOVAS para comparar las medias de las distintas medidas de tolerancia agrupadas según el haplotipo y haplogrupo. Para la TCmax se usó haplotipo o haplogrupo como factor fijo, y se anido a la colonia en los mismos. Lo mismo se hizo con la TCmin y el CCRT, solo que además se utilizó la temperatura como factor fijo. El método de Tukey se usó para realizar los contrastes *a posteriori*.

Para todos los análisis estadísticos realizados en este capítulo se utilizó el programa estadístico InfoStat (Di Rienzo, 2009).

Resultados

Temperaturas críticas

Como primer paso se quiso explorar si había una relación entre los valores obtenidos de TCmax de las 13 colonias utilizadas y su ubicación latitudinal según el sitio donde fueron colectadas. Los resultados obtenidos indican que no hay una relación lineal entre dichos valores ($T = -0,65$; $p = 0,5139$; $R^2 = 0,01$; Fig. 5).

Luego se procedió a estudiar si las que experimentaban mayores temperaturas durante el año eran las que mayores TCmax alcanzaban. Para ello se planteó una regresión lineal entre las TCmax y la biovariable 5, cuyo análisis resultó ser significativo ($F_{(1;389)} = 2,34$; $p = 0,0198$; $R^2 = 0,01$; Fig. 6).

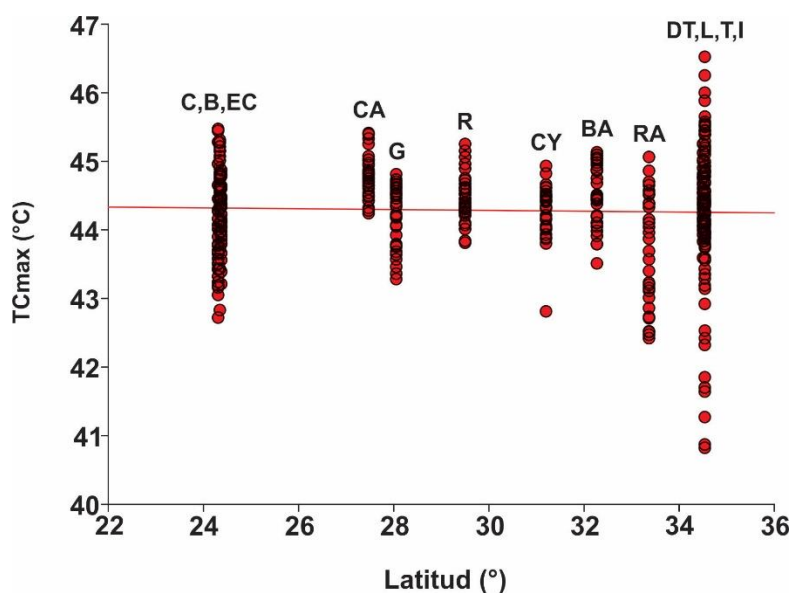


Figura 5. TCmax en función de la latitud. Regresión lineal entre la temperatura crítica máxima y la latitud para 13 colonias de *W. auropunctata*: Carahunco - Jujuy (C), El Carmen - Jujuy (EC), Assis Chateaubriand - Paraná - Brasil (B), Candelaria - Misiones - (CA), Gobernador Virasoro - Corrientes (G), Romang - Santa Fe (R), Cayastá - Santa Fe (CY), Barrancas - Santa Fe (BA), Ramallo - Buenos Aires (RA), Don Torcuato - Buenos Aires (DT), Ciudad Universitaria (Limonero) - C.A.B.A. (L), Ciudad Universitaria (Transportes) - C.A.B.A. (T) y Ciudad Universitaria (Industrias) - C.A.B.A. (I).

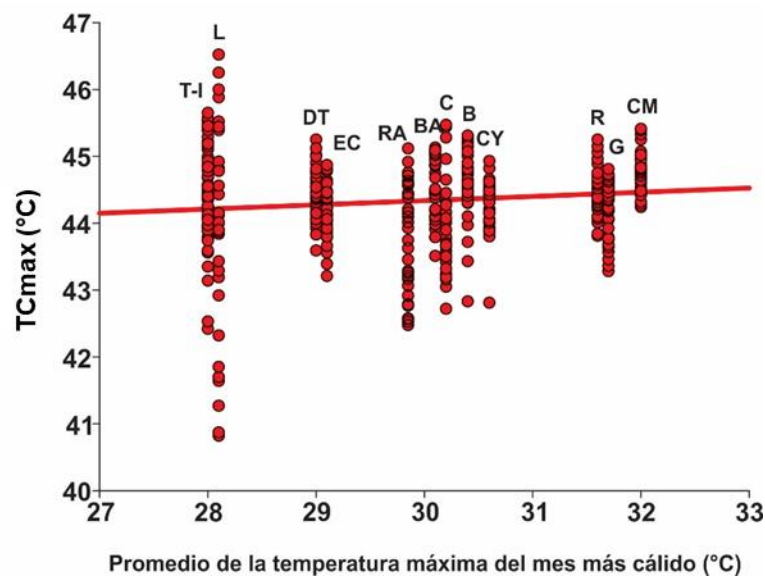


Figura 6. TCmax en función de la biovariable 5. Regresión lineal entre la temperatura crítica máxima y el promedio de la temperatura máxima del mes más cálido para 13 colonias de *W. auropunctata*: Carahunco - Jujuy (C), El Carmen - Jujuy (EC), Assis Chateaubriand - Paraná - Brasil (B), Candelaria - Misiones - (CA), Gobernador Virasoro - Corrientes (G), Romang - Santa Fe (R), Cayastá - Santa Fe (CY), Barrancas - Santa Fe (BA), Ramallo - Buenos Aires (RA), Don Torcuato - Buenos Aires (DT), Ciudad Universitaria (Limonero) - C.A.B.A. (L), Ciudad Universitaria (Transportes) - C.A.B.A. (T) y Ciudad Universitaria (Industrias) - C.A.B.A. (I).

Posteriormente se realizó el mismo procedimiento, pero para la TCmin. En este caso, se comprobó una relación lineal de la TCmin con la latitud tanto para la aclimatación a 25°C ($T = -9,83$; $p < 0,0001$; $R^2 = 0,02$; Fig. 7), como para la aclimatación a 15°C ($T = 2,40$; $p = 0,0168$; $R^2 = 0,01$; Fig. 7).

Al estudiar cómo variaba la TCmin en función del promedio de las temperaturas mínimas del mes más frío, no se observó una relación lineal significativa para la aclimatación de 25°C ($T = 1,63$; $p = 0,1034$; $R^2 = 0,01$; Fig. 8), pero sí para la aclimatación a 15°C ($T = -3,96$; $p < 0,0001$; $R^2 = 0,04$; Fig. 8).

Cabe destacar que las regresiones utilizadas para analizar la TCmax y TCmin en función de las distintas biovariables y coordenadas, explican muy poco de la variabilidad observada. Esto se ve reflejado en el bajo R^2 obtenido en cada uno de los análisis.

El análisis de la TCmin reveló diferencias significativas para las temperaturas de aclimatación ($F_{(1; 753)} = 2019,10$; $p < 0,0001$). Las colonias que fueron aclimatadas a 15°C alcanzaron una TCmin media significativamente menor que las que fueron aclimatadas a 25°C.

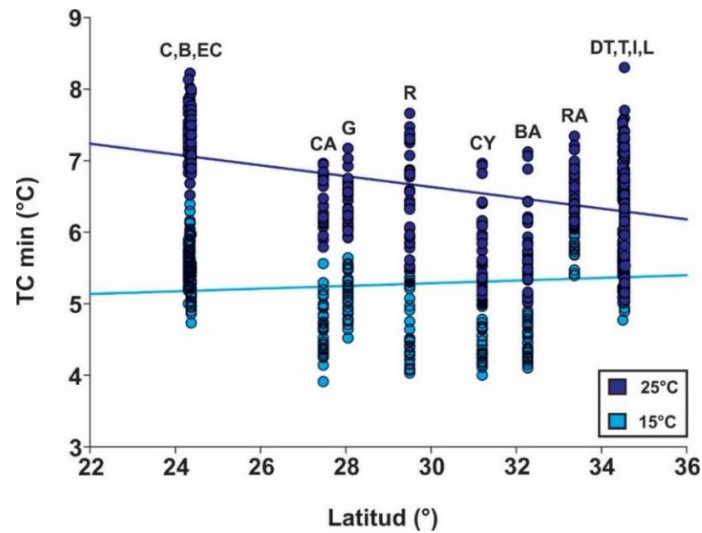


Figura 7. TCmin en función de la latitud. Regresión lineal entre la temperatura crítica mínima y la latitud para 13 colonias de *W. auropunctata*: Carahunco - Jujuy (C), El Carmen - Jujuy (EC), Assis Chateaubriand - Paraná - Brasil (B), Candelaria - Misiones - (CA), Gobernador Virasoro - Corrientes (G), Romang - Santa Fe (R), Cayastá - Santa Fe (CY), Barrancas - Santa Fe (BA), Ramallo - Buenos Aires (RA), Don Torcuato - Buenos Aires (DT), Ciudad Universitaria (Limonero) - C.A.B.A. (L), Ciudad Universitaria (Transportes) - C.A.B.A. (T) y Ciudad Universitaria (Industrias) - C.A.B.A. (I). Las dos aclimataciones para las distintas colonias se muestran en azul (25°C) y celeste (15°C).

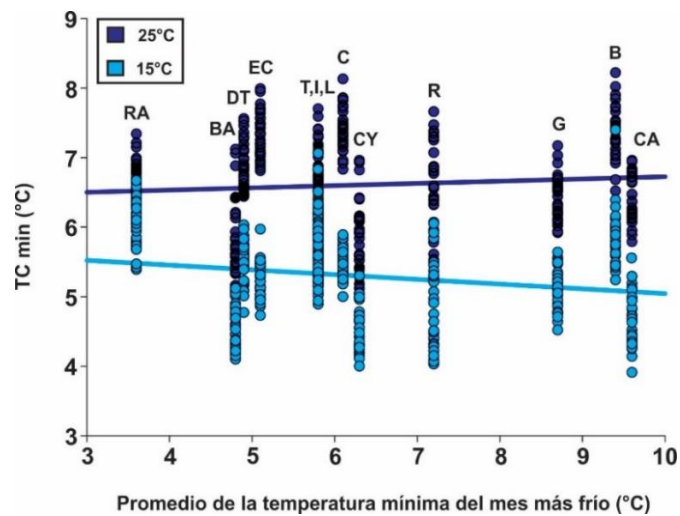


Figura 8. TCmin en función de la biovariable 6. Regresión lineal entre la temperatura crítica mínima y el promedio de la temperatura mínima del mes más frío para 13 colonias de *W. auropunctata*: Carahunco - Jujuy (C), El Carmen - Jujuy (EC), Assis Chateaubriand - Paraná - Brasil (B), Candelaria - Misiones - (CA), Gobernador Virasoro - Corrientes (G), Romang - Santa Fe (R), Cayastá - Santa Fe (CY), Barrancas - Santa Fe (BA), Ramallo - Buenos Aires (RA), Don Torcuato - Buenos Aires (DT), Ciudad Universitaria (Limonero) - C.A.B.A. (L), Ciudad Universitaria (Transportes) - C.A.B.A. (T) y Ciudad Universitaria (Industrias) - C.A.B.A. (I). Las dos aclimataciones para las distintas colonias se muestran en azul (25°C) y celeste (15°C).

Se observaron diferencias significativas en la TCmax ($F_{(8; 265)} = 43,94$; $p < 0,0001$; Fig. 9A) y la TCmin ($F_{(8; 263)} = 50,14$; $p < 0,0001$; Fig. 9B) de las colonias sometidas a un ciclo fluctuante, al compararlas con sus respectivas TCmax y TCmin obtenidos al someterlas a un ciclo constante. Para las tres colonias, la TCmax fue significativamente mayor ($p < 0,05$, contrastes *a posteriori*) para las mediciones realizadas durante el ciclo fluctuante tanto de día (Don Torcuato $45,70 \pm 0,09^\circ\text{C}$, El Carmen $45,73 \pm 0,09^\circ\text{C}$ y Ciudad Universitaria Limonero $45,80 \pm 0,18^\circ\text{C}$), como de noche (Don Torcuato $45,98 \pm 0,09^\circ\text{C}$, El Carmen $45,51 \pm 0,08^\circ\text{C}$ y Ciudad Universitaria Limonero $46,01 \pm 0,18^\circ\text{C}$), que para las mediciones realizadas durante el ciclo constante (Don Torcuato $44,47 \pm 0,09^\circ\text{C}$, El Carmen $44,14 \pm 0,08^\circ\text{C}$ y Ciudad Universitaria Limonero $43,86 \pm 0,18^\circ\text{C}$). Lo mismo ocurrió al analizar la TCmin, las tres colonias alcanzaron un valor significativamente mayor al ser sometidas a un ciclo fluctuante tanto de día (Don Torcuato $7,57 \pm 0,10^\circ\text{C}$, El Carmen $8,36 \pm 0,08^\circ\text{C}$ y Ciudad Universitaria Limonero $8,01 \pm 0,09^\circ\text{C}$), como de noche (Don Torcuato $7,92 \pm 0,10^\circ\text{C}$, El Carmen $8,53 \pm 0,08^\circ\text{C}$ y Ciudad Universitaria Limonero $8,05 \pm 0,10^\circ\text{C}$), que al ser sometidas a un ciclo constante (Don Torcuato $6,87 \pm 0,10^\circ\text{C}$, El Carmen $7,32 \pm 0,08^\circ\text{C}$ y Ciudad Universitaria Limonero $6,64 \pm 0,09^\circ\text{C}$) ($p < 0,05$, contrastes *a posteriori*).

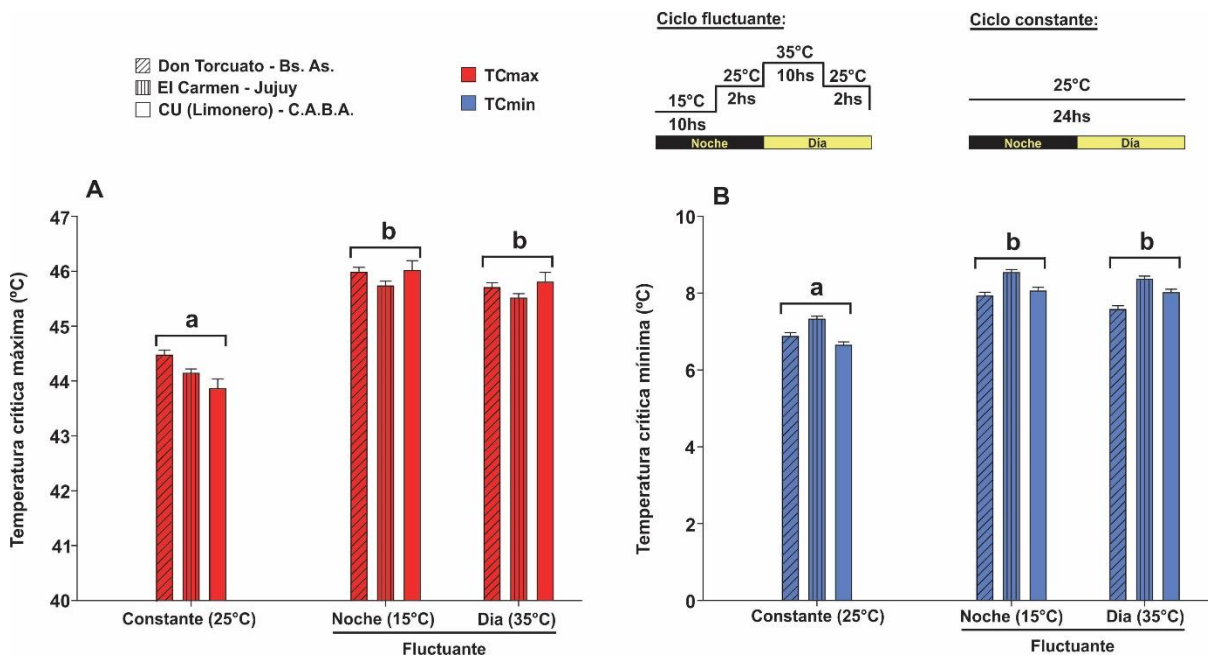


Figura 9. Temperaturas críticas en ciclos constantes y fluctuantes. TCmax (en rojo; A) y TCmin (en azul; B) en función del ciclo de cría, constante a 25°C y fluctuante (día a 35°C y noche a 15°C) para tres colonias colectadas en: Don Torcuato, Buenos Aires (rallado oblicuo); El Carmen, Jujuy (rallado vertical); Ciudad Universitaria Limonero, C.A.B.A. (vacío). Se muestran las medias junto con sus errores estándar. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$, contrastes *a posteriori*). Se acompañan los gráficos con esquemas de los ciclos utilizados para el experimento. N=30 obreras para cada colonia en cada tratamiento.

Para estudiar si las diferencias obtenidas en las TC usando distintos ciclos de temperaturas se debe a un aumento del rango de tolerancia o solo un corrimiento de la misma, se calculó el rango de tolerancia, es decir las temperaturas en las que las hormigas pueden estar activas. Se observaron diferencias significativas entre los distintos ciclos ($F_{(2; 263)} = 8,24$; $p = 0,0003$; Fig. 10). Las colonias mantenidas en un ciclo constante alcanzaron un rango significativamente menor ($37,21 \pm 0,10^{\circ}\text{C}$) que las colonias mantenidas en un ciclo fluctuante ($p < 0,05$, contrastes *a posteriori*), tanto para las mediciones realizadas durante la noche ($37,66 \pm 0,10^{\circ}\text{C}$), como las mediciones realizadas durante el día ($37,76 \pm 0,10^{\circ}\text{C}$).

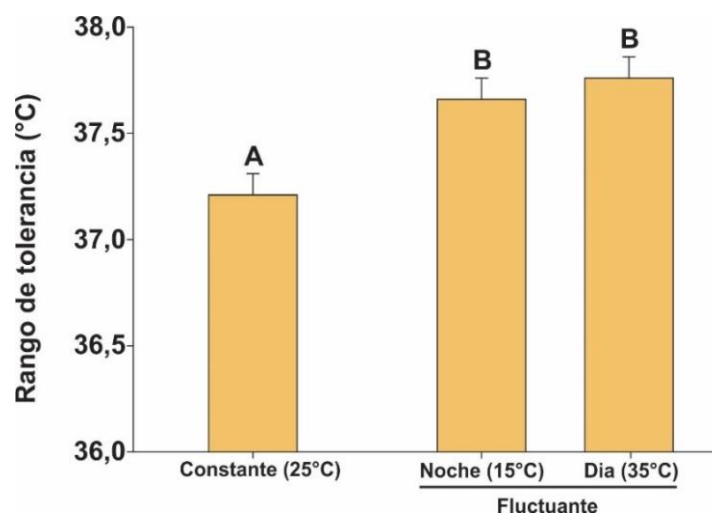


Figura 10. Rango de tolerancia en ciclos constantes y fluctuantes. Rango de tolerancia en función de los distintos ciclos de cría utilizados para medir las TCmax y TCmin (constante a 25°C y fluctuante llegando a 35°C de día y 15°C de noche). Se muestran las medias junto con sus errores estándar. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$, contrastes *a posteriori*). N=30 obreras para cada tratamiento.

Los ensayos de endurecimiento arrojaron diferencias significativas en cuanto a la TCmax para la colonia del Limonero ($F_{(1; 58)} = 15,35$; $p = 0,0002$; Fig. 11). Las hormigas que sufren el proceso de endurecimiento de 1 hr a 37°C alcanzan una TCmax significativamente mayor ($45,12 \pm 0,12^{\circ}\text{C}$); que las que no pasaron por dicho proceso y siempre fueron mantenidas a 25°C ($44,46 \pm 0,12^{\circ}\text{C}$; $p < 0,05$, contrastes *a posteriori*).

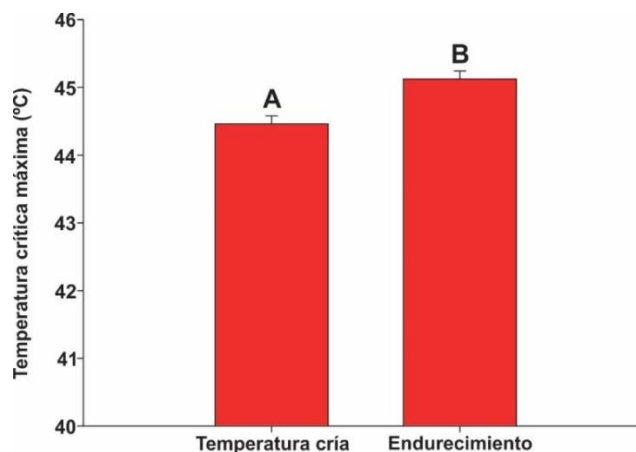


Figura 11. Endurecimiento. Temperatura crítica máxima en función de la pre-exposición, con o sin tratamiento de endurecimiento (1hr a 37°C previo al ensayo). Se muestran las medias junto con sus errores estándar. Letras distintas indican diferencias significativas. N=30 obreras para cada tratamiento

"Chill coma recovery time"

El análisis de la regresión lineal entre el CCRT y la latitud resultó no significativo tanto para la aclimatación a 25°C ($T = -0,53$; $p < 0,5946$; $R^2 = 0,01$; Fig. 12), como para la aclimatación a 15°C ($T = 1,06$; $p < 0,2915$; $R^2 = 0,01$; Fig. 12).

Para conocer si las colonias que experimentan temperaturas más bajas durante el año son las que se recuperan del coma inducido por frío más rápido se utilizó la biovariable 6, la cual representa un promedio de las temperaturas más bajas del mes más frío. La regresión lineal entre dichas variables resultó significativa para la aclimatación a 25°C ($T = 4,08$; $p < 0,0001$; $R^2 = 0,05$; Fig. 13) y no significativa para la aclimatación a 15°C ($T = -1,68$; $p < 0,0952$; $R^2 = 0,01$; Fig. 13).

Nuevamente cabe destacar que los modelos utilizados para analizar el CCRT en función de las distintas biovariables y coordenadas, explican muy poco de la variabilidad observada. Esto se ve reflejado en el bajo R^2 obtenido en cada una de las regresiones.

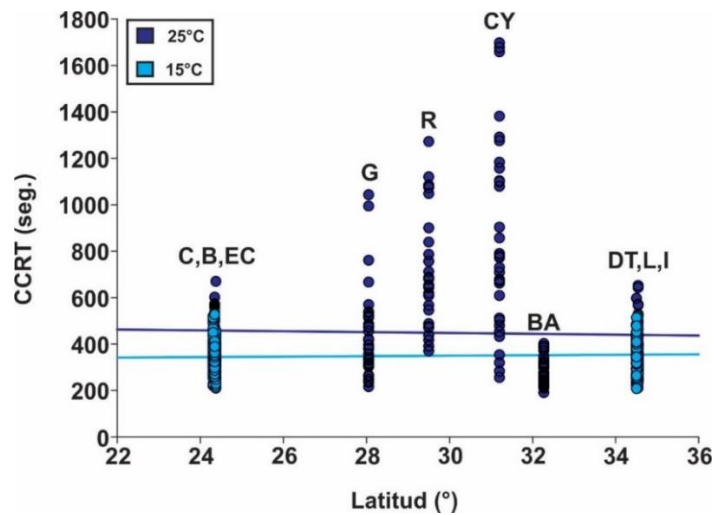


Figura 12. CCRT en función de la latitud. Regresión lineal entre el "chill coma recovery time" y la latitud para diez colonias mantenidas a 25°C y seis a 15°C de *W. auropunctata*: Carahunco - Jujuy (C), El Carmen - Jujuy (EC), Assis Chateaubriand - Paraná - Brasil (B), Gobernador Virasoro - Corrientes (G), Romang - Santa Fe (R), Cayastá - Santa Fe (CY), Barrancas - Santa Fe (BA), Don Torcuato - Buenos Aires (DT), Ciudad Universitaria (Limonero) - C.A.B.A. (L) y Ciudad Universitaria (Industrias) - C.A.B.A. (I). Las dos aclimataciones para las distintas colonias se muestran en azul (25°C) y celeste (15°C).

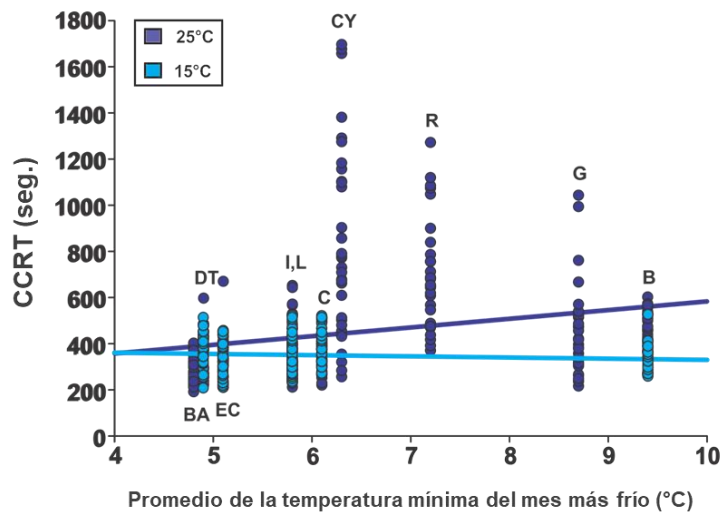


Figura 13. CCRT en función de la biovariable 6. Regresión lineal entre el "chill coma recovery time" y el promedio de la temperatura mínima del mes más frío para diez colonias mantenidas a 25°C y seis a 15°C de *W. auropunctata*: Carahunco - Jujuy (C), El Carmen - Jujuy (EC), Assis Chateaubriand - Paraná - Brasil (B), Gobernador Virasoro - Corrientes (G), Romang - Santa Fe (R), Cayastá - Santa Fe (CY), Barrancas - Santa Fe (BA), Don Torcuato - Buenos Aires (DT), Ciudad Universitaria (Limonero) - C.A.B.A. (L) y Ciudad Universitaria (Industrias) - C.A.B.A. (I). Las dos aclimataciones para las distintas colonias se muestran en azul (25°C) y celeste (15°C).

Tolerancias térmicas de los diferentes haplotipos y haplogrupos

Las secuencias del gen COI obtenidas de cada una de las 14 colonias usadas en los ensayos fueron alineadas junto a las secuencias disponibles obtenidas previamente en el trabajo de Chifflet y colaboradores (2016), para de este modo obtener el árbol filogenético más parsimonioso (Fig. 14) del cual se obtuvieron los haplotipos y haplogrupos definidos en ese estudio (Fig. 15). Cuatro de las 14 secuencias correspondieron a cuatro nuevos haplotipos (H54, H55, H56 y H57). Las colonias de Limonero, Transportes, Industrias, Agronomía, Don Torcuato, Ramallo (todas de Buenos Aires) y El Carmen (Jujuy) pertenecen al haplotipo 1 (H1). La colonia de Barrancas (Santa Fe) pertenece al haplotipo 54 (H54) y posee solo una mutación de diferencia con el H1. La colonia de Candelaria (Misiones) pertenece al haplotipo 22 (H22) y la de Cayastá (Santa Fe) al haplotipo 53 (H53). Estas diez colonias se encuentran dentro del mismo haplogrupo B-IV. Por otro lado, las colonias de Gobernador Virasoro (Corrientes) y Romang (Santa Fe) pertenecen a los haplotipos 55 (H55) y 56 (H56), respectivamente. La primera tiene solo una mutación de diferencia y la segunda dos mutaciones con respecto al H5. La colonia de Carahunco (Jujuy) pertenece al haplotipo 12 (H12), que junto a los dos haplotipos anteriores se sitúan en el haplogrupo B-VI. Finalmente, la colonia de Assis Chateaubriand proveniente de Brasil pertenece al haplotipo 57 (H57), que se encuentra dentro del haplogrupo B-V, teniendo solo una mutación de diferencia con el H6.

Los datos obtenidos de haplotipos y haplogrupos se analizaron con ANOVAs para detectar diferencias significativas entre los mismos. Los resultados obtenidos se encuentran resumidos en la Tabla 1, siendo que la mayoría de ellos fueron no significativos. Tanto para la TCmin, como para el CCRT se observaron diferencias significativas para las distintas aclimataciones realizadas en los distintos haplotipos y haplogrupos, siendo que ambas variables son significativamente menores cuando estos son aclimatados a 15°C (Tabla 1). Solo se observaron diferencias significativas en el CCRT entre haplotipos en las colonias aclimatadas a 25°C ($F_{(6; 294)} = 38,12$; $p = 0,0063$; Fig. 16). Los haplotipos H54 ($286,15 \pm 34,11$ seg.), H12 ($337,77 \pm 36,63$ seg.) y H1 ($353,12 \pm 18,65$ seg.) presentaron un menor CCRT que los haplotipos H56 ($702,83 \pm 37,26$ seg.) y H53 ($850,16 \pm 36,04$ seg.), a su vez los primeros tres no difirieron significativamente entre sí. Los haplotipos H55 ($442,53 \pm 34,41$ seg.) y H57 ($461,63 \pm 36,63$ seg.) no difieren significativamente entre sí y presentaron un CCRT significativamente menor que el haplotipo H53. Finalmente, los haplotipos H56 y H53 no difirieron significativamente entre sí.

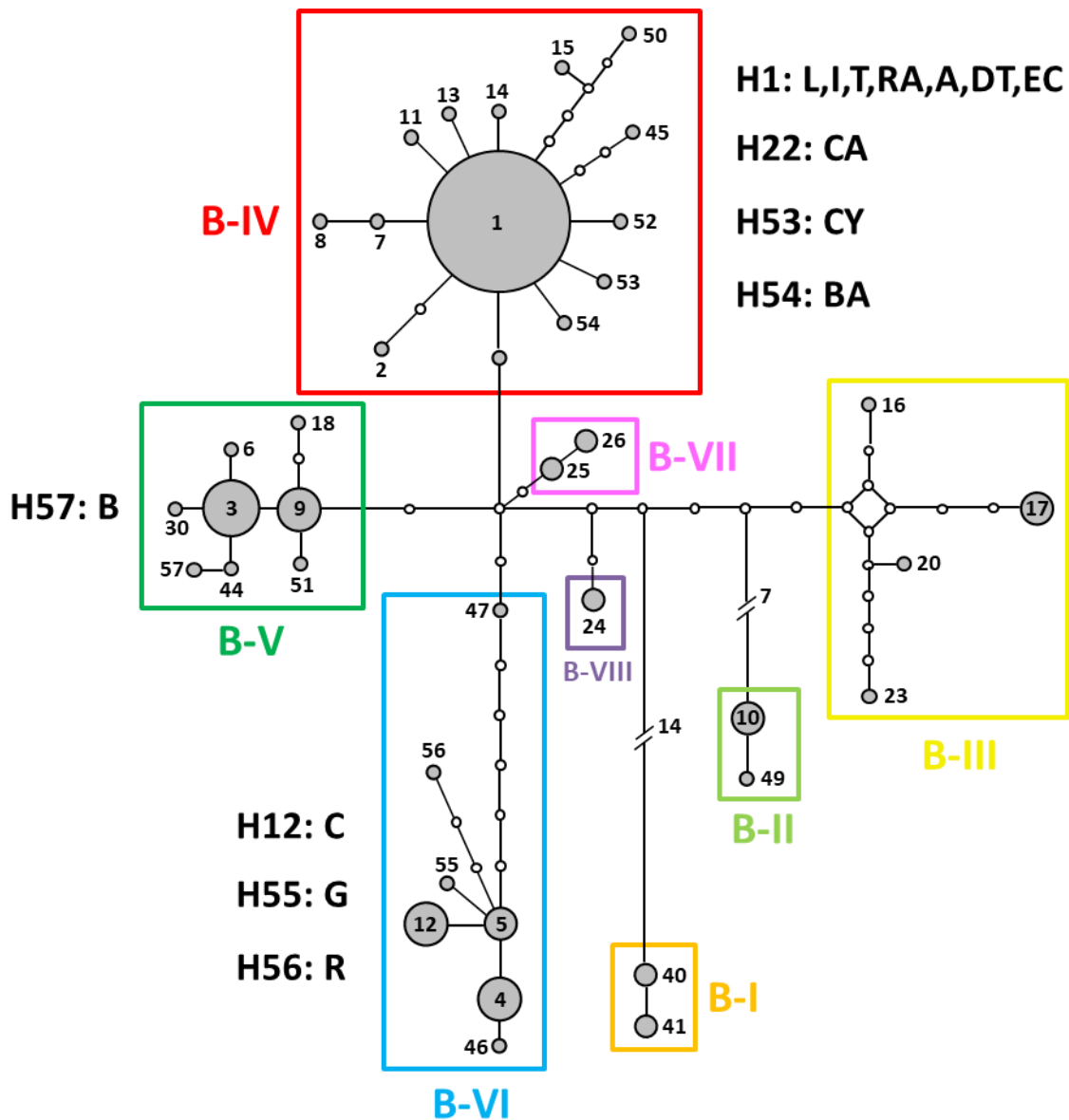


Figura 15. Red de haplotipos y haplogrupos. Haplotipos y haplogrupos para el gen mitocondrial Citocromo Oxidasa subunidad I (COI) obtenido de poblaciones de *W. auropunctata* pertenecientes al clado B. En la red se puede observar a qué haplotipo/haplogrupo corresponde cada una de las 14 colonias estudiadas en este trabajo: Ciudad Universitaria (Limonero/L) - C.A.B.A., Ciudad Universitaria (Industrias/I) - C.A.B.A., Ciudad Universitaria (Transportes/T) - C.A.B.A., Agronomía (A) - C.A.B.A., Ramallo (RA) - Buenos Aires, Don Torcuato (DT) - Buenos Aires, El Carmen (EC) - Jujuy, Cayastá (CY) - Santa Fe, Barrancas (BA) - Santa Fe, Candelaria (CA) - Misiones, Assis Chateaubriand (B) - Paraná - Brasil, Romang (R) - Santa Fe, Gobernador Virasoro (G) - Corrientes, Carahunco (C) - Jujuy. Los círculos grises representan los distintos haplotipos y su tamaño representa la frecuencia con la que se los encontró en un trabajo previo (Chifflet et al. 2016). Los cuadros de colores representan a los haplogrupos. Gráfico modificado de Chifflet y colaboradores (2016).

Tabla 1. Comparación de las variables de tolerancia térmica de los distintos haplotipos y haplogrupos. El estadístico que se muestra es el F de Fisher junto con los grados de libertad de la variable explicativa y del error estándar, también se muestra el p-valor.

Variables		Haplotipo			Haplogrupo		
		Estadístico (F)	Grados de libertad	p-valor	Estadístico (F)	Grados de libertad	p-valor
TCmax	25°C	0,79	7;378	0,6276	0,46	2;378	0,6467
TCmin	25°C	2,38	7;380	0,178	1,76	2;380	0,2221
	15°C	5,94	7;373	0,0537	0,72	2;373	0,5091
	Entre temperaturas	14,25	1;758	<0,0001	1614,51	1;763	<0,0001
CCRT	25°C	38,12	6;294	0,0063	0,12	2;294	0,9057
	15°C	1,64	2;200	0,3307	1,64	2;200	0,3307
	Entre temperaturas	58,24	1;497	<0,0001	58,24	1;497	<0,0001

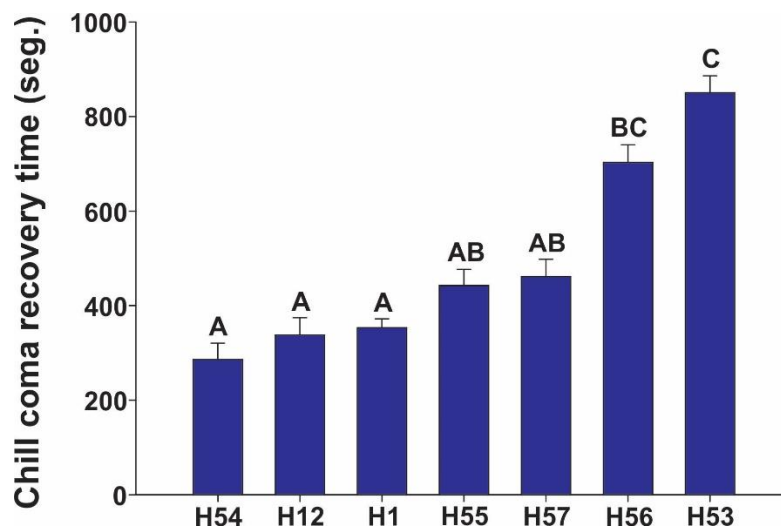


Figura 16. CCRT de los distintos haplotipos de *W. auropunctata*. CCRT para los distintos haplotipos obtenidos a partir del gen mitocondrial Citocromo Oxidasa subunidad I para colonias aclimatadas a 25°C. La colonia de Barrancas (Santa Fe) pertenece al H54, la colonia de Carahunco (Jujuy) pertenece al H12, las colonias de Buenos Aires y la de El Carmen (Jujuy) pertenecen al H1, la colonia de Gobernador Virasoro (Corrientes) al H55, la colonia de Brasil pertenece al H57, la colonia de Romang (Santa Fe) pertenece al H56 y la colonia de Cayastá (Santa Fe) pertenece al H53. Se muestran las medias junto con sus errores estándar, letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$, contrastes *a posteriori*). N=30 obreras para cada haplotipo.

Discusión

Temperaturas críticas

A lo largo de este capítulo se ha podido estudiar cómo un factor abiótico, como la temperatura, afecta la tolerancia térmica de distintas colonias de *W. auropunctata* localizadas en un gradiente latitudinal de temperatura. No solo mediante la medición de las temperaturas críticas y el CCRT a nivel de especie, sino también a un nivel poblacional analizando las mismas variables entre los diferentes haplotipos y haplogrupos al que pertenecen las diferentes colonias de *W. auropunctata* utilizadas en este trabajo. Cuatro de los cuales fueron haplotipos nuevos (H54, H55, H56 y H57), pertenecientes a haplogrupos ya definidos (BIV, BV y BVI) dentro del clado B, el único presente en Argentina. Este es el único clado que se extiende hasta climas templados, ya que el clado A está restringido a climas tropicales y subtropicales (Chifflet et al., 2016).

Al medir la TC_{max}, se pudo observar que para las distintas colonias de *W. auropunctata* no existe una variación lineal con la latitud, es decir que la tolerancia a temperaturas altas no dependió de la latitud en la que se encontraba cada colonia. Esto concuerda en mayor medida con los estudios realizados agrupando taxones (muchos de ellos insectos), donde se ve que la tolerancia a temperaturas altas en ectotermos terrestres varía escasamente con la latitud (Addo-Bediako et al., 2000; Araújo et al., 2013; Sunday et al., 2014). Incluso resultados similares se han encontrado entre distintas especies de triatomíneos distribuidos a lo largo de América, donde se vio que la TC_{max} no varía linealmente con la latitud (de la Vega & Schilman, 2018).

Si bien no se encontró una relación entre la tolerancia a las altas temperaturas y la latitud, las colonias de *W. auropunctata* que provienen de lugares que presentan temperaturas más altas durante el mes más cálido alcanzaron valores de TC_{max} más altos. Estos resultados reflejan que podría existir una adaptación en la tolerancia para soportar temperaturas altas que varía entre colonias, según qué tan cálidas sean las temperaturas que soportan. Sin embargo, dicha adaptación no parecería estar basada en diferencias genéticas para el gen medido, ya que el análisis de las colonias clasificadas en función de sus haplotipos y haplogrupos (COI), no presentó diferencias significativas en sus TC_{max}. Estos resultados concuerdan en gran medida con trabajos realizados en otras especies, colonias y/o poblaciones de hormigas, respecto a las tolerancias a temperaturas altas. Se ha observado este mismo patrón para un gradiente latitudinal donde especies que soportan climas más cálidos logran valores de TC_{max} más altos (Arnan & Blüthgen, 2015; Diamond & Chick, 2018; Garcia-Robledo et al., 2018). Por otro lado, se observó que distintas especies de hormigas en gradientes altitudinales presentan valores de TC_{max} cada vez más bajos al aumentar la altitud, donde las temperaturas son más frías (Baudier et al., 2018; Chick et al., 2020). Específicamente, se

observó este mismo patrón en las especies *Aphaenogaster picea*, *Aphaenogaster rudis* y *Solenopsis invicta* en un gradiente altitudinal, donde además se vio que la especie que proviene de lugares más cálidos (*S. invicta*), presenta valores de TCmax más altos en el gradiente altitudinal, mientras que la especie que proviene de lugares más fríos (*A. picea*) alcanza valores más bajos (Lytle et al., 2020; Warren & Chick, 2013). A una escala regional estos patrones se repiten siendo que para distintas zonas de una reserva o distintas laderas de una montaña las especies que están expuestas a climas más secos y cálidos presentan valores de TCmax más altos (Baudier & O'Donnell, 2020; Wiescher et al., 2012). Incluso estas variaciones se dan a nivel de estratos de una comunidad, donde las especies de hormigas que están expuestas a mayor radiación solar por habitar el dosel alcanzan valores de TCmax más altos que las que habitan a nivel del suelo o son subterráneas (Bujan et al., 2020a; Kaspari et al., 2015). También puede observarse esto mismo en una escala temporal, ya sea estacionalmente durante el año, donde distintas especies de hormigas presentan un TCmax más alta durante el verano que durante el invierno (Bujan et al., 2020b; Coulin et al., 2019), o durante un mismo día donde las especies u obreras de una misma colonia diurnas presentan una TCmax más alta que las nocturnas (Esch et al., 2017; Garcia-Robledo et al., 2018; Garcia-Robledo et al., 2020; Jayatilaka et al., 2011). Finalmente está el caso de antropización donde las distintas colonias o especies que habitan zonas con mayor grado de perturbación presentan una TCmax más alta, debido a las temperaturas mayores que experimentan con respecto a zonas menos perturbadas o rurales (Boyle et al., 2021; Diamond et al., 2017; Diamond et al., 2018). A grandes rasgos se puede observar que independientemente de la escala, las distintas especies o colonias de hormigas definen su tolerancia térmica superior en base las temperaturas más cálidas que experimentan. Sin embargo, el hecho de que las distintas colonias/poblaciones de *W. auropunctata* estudiadas no presentaron diferencias significativas en su TCmax cuando se consideró su haplotipo y haplogrupo mitocondrial (COI), parece indicar que, al menos para este gen, el desarrollo de su termotolerancia no se debe a un proceso de adaptación genética que opere sobre su temperatura crítica máxima. No obstante, podría haber algún efecto de base genética sobre el tiempo de recuperación de los distintos haplotipos, luego de haber experimentado altas temperaturas.

En el caso de la TCmin, observamos una relación lineal negativa con la latitud para las colonias de *W. auropunctata* aclimatadas a 25°C (temperatura de cría). Es decir, que las colonias ubicadas a mayores latitudes tuvieron TCmin más bajas. Estos resultados parecen ser un patrón que se repite entre las distintas especies de insectos, donde a medida que aumenta la latitud aumenta la tolerancia a bajas temperaturas, específicamente disminuye la TCmin (Addo-Bediako et al., 2000; Araújo et al., 2013; Clusella-Trullas et al., 2011; Sunday et al., 2014). Sorpresivamente este patrón se invierte, aunque con una pendiente casi nula, y es significativamente menor en colonias aclimatadas

a 15°C, con respecto a las colonias aclimatadas a 25°C. Sin embargo, la disminución de los valores de TC_{min} observados a 15°C, se debe principalmente a la plasticidad térmica que presenta esta especie, la cual le permite reducir sus TC_{min} al experimentar temperaturas más frías (Coulin et al., 2019). Esta plasticidad se observa incluso cuando consideramos los haplotipos y haplogrupos de las colonias, ya que la TC_{min} disminuye también al ser aclimatadas a 15°C. Otro fenómeno que se observa es que a medida que aumenta la latitud, disminuye drásticamente la diferencia entre las TC_{min} obtenidas a las dos temperaturas de aclimatación. Esta característica está relacionada con el límite de dicha plasticidad, es decir que las colonias que desarrollan su tolerancia lo hacen a expensas de perder capacidad de aclimatación. Dicho fenómeno se ha observado al estudiar las tolerancias térmicas en otros invertebrados ectotermos como triatominos y cangrejos de porcelana (Belliard et al., 2019; Stillman, 2003).

En colonias de *W. auropunctata* aclimatadas a 25°C, la TC_{min} no varía linealmente con las temperaturas más bajas de los meses más fríos, mientras que, para las colonias aclimatadas a 15°C, la relación resulta ser significativamente negativa. Aun así, los resultados no son los esperados y no son los que se observan en la bibliografía disponible al respecto, ya que se postula que las especies o colonias que soportan más frío durante el año, son las que alcanzan valores de TC_{min} más bajos. Por ejemplo, en trabajos donde se estudió la TC_{min} en gradientes altitudinales, se ve que las especies a mayor altura son las que alcanzan los valores más bajos (Baudier et al., 2018; Bishop et al., 2017; Chick et al., 2020). Este patrón también se da a nivel latitudinal entre comunidades de hormigas, en donde las que soportan climas más fríos, son las que alcanzan TC_{min} más bajas (Bujan et al., 2020a; Diamond & Chick, 2018). Lo mismo ocurre con las especies *A. picea*, *A. rudis* y *S. invicta*, que logran valores de TC_{min} que se intercalan de acuerdo a la latitud en la que habitan (*A. picea* TC_{min} menor que *A. rudis*, ya que vive a mayores latitudes) o en el caso de *S. invicta* y *Brachyponera chinensis*, las cuales presentan una mayor TC_{min} que *A. picea* y *A. rudis*, ya que son invasoras que provienen de latitudes menores (Lytle et al., 2020; Warren & Chick, 2013; Warren et al., 2020). A nivel de estratos, se ve que las distintas especies de una comunidad de hormigas presentan distintos TC_{min}. Las especies subterráneas logran valores más bajos que las especies que habitan por sobre el nivel del suelo (Baudier et al., 2018). Estos patrones se repiten a nivel temporal, como fue observado en *W. auropunctata*, cuyas colonias colectadas en invierno alcanzaron un valor de TC_{min} más bajo que las colonias que fueron colectadas en verano (Coulin et al., 2019). También a nivel temporal, se observa que las especies nocturnas logran valores inferiores de TC_{min} que las especies diurnas que soportan mayores temperaturas (García-Robledo et al., 2020; Jayatilaka et al., 2011). Finalmente, este patrón se repite con la antropización, donde colonias de *Temnothorax curvispinosus* presentan una TC_{min} más baja en zonas rurales que en zonas urbanas aledañas, las cuales son más cálidas (Diamond et al.,

2017; Diamond et al., 2018). Para todas estas escalas descriptas puede observarse que las colonias o poblaciones de especies de hormigas aumentan su tolerancia al frío, cuando las temperaturas ambientes de los lugares a donde habitan disminuyen. Estos patrones no coinciden con los que se observaron en este trabajo para ninguna de las temperaturas usadas, pero si coinciden con los patrones de aclimatación obtenidos. Podría ser que al aumentar el número de colonias dentro del gradiente latitudinal e incluso dentro de cada sitio de colecta (más de una colonia por sitio), ayude a reducir la variabilidad de los datos observados, de manera de obtener una relación que concuerde con los otros trabajos aquí citados. En cuanto a la aclimatación a 15°C, la relación lineal, si bien tiene una pendiente poco marcada, es completamente contraria a la esperada. Nuevamente podría deberse al fenómeno descrito anteriormente en el cual las colonias que soportan más frío durante el año, pierden capacidad de aclimatación a costa del desarrollo de sus termotolerancias (Belliard et al., 2019; Stillman, 2003).

Al estudiar la TCmax y TCmin de las distintas colonias se utilizaron modelos que explicaron muy poco la variabilidad observada. Esto se debe mayormente a la gran variabilidad que se observa para las variables de termotolerancia dentro de cada colonia. No obstante, esto podría corregirse al obtener más colonias dentro de cada punto de colecta e incluso extendiendo el gradiente latitudinal de temperaturas, de manera de reducir dicha variabilidad y obtener colonias que soporten temperaturas más disímiles.

Para probar como se expresa la plasticidad en la termotolerancia de *W. auropunctata*, es decir si ambos extremos de la termotolerancia podían incrementarse simultáneamente, o si existe un corrimiento de los límites de termotolerancia, se realizaron ensayos con colonias de *W. auropunctata* sometidas a un ciclo fluctuante. Estos ensayos revelaron que desarrollan una mayor tolerancia a temperaturas más altas a costa de sacrificar su tolerancia a temperaturas bajas. Es decir, que su TCmax y su TCmin son significativamente mayores que para colonias sometidas a un ciclo constante, tanto en las mediciones realizadas de día, como en las realizadas de noche, las cuales no difieren significativamente entre sí. Sin embargo, también se observa un mayor rango de termotolerancia, siendo significativamente mayor para el ciclo fluctuante en ambas mediciones (día y noche), que para el ciclo constante. Es decir que dicho rango es más amplio y está ligeramente corrido hacia temperaturas más altas. Estos resultados obtenidos en ciclos fluctuantes son los primeros obtenidos para esta especie y para hormigas en general. Por lo tanto, se recurrió a comparar los resultados obtenidos con otros taxones, en su mayoría dípteros y lepidópteros. En general, se observa que al someter distintos dípteros a ciclos fluctuantes con una variación de 5°C o más, el rango de tolerancia térmica aumenta, especialmente porque aumenta la tolerancia a

temperaturas más altas y en muchos casos con una pérdida de tolerancia a temperaturas bajas (Bozinovic et al., 2011; Colinet et al., 2015; Mutamiswa et al., 2020; Terblanche et al., 2010). Incluso se ha visto este mismo fenómeno para el lepidóptero *Lycaena tityrus*, cuando se lo somete a un ciclo de temperaturas fluctuantes (Fischer et al., 2011). Esta asimetría en el aumento de las termotolerancias inferiores y superiores podría representar un compromiso entre las mismas. Esto puede verse claramente en una curva de desempeño en función de la temperatura, donde hay una clara asimetría entre ambos lados de la misma (Fig. 2). Pequeños aumentos en la temperatura son mucho más perjudiciales que pequeñas disminuciones, ya que la curva decrece con mayor pendiente a temperaturas altas que a temperaturas bajas, llegando a los límites de TCmax con mucha más facilidad que a los límites de la TCmin (Colinet et al., 2015). Entonces, frente a un ciclo de temperatura fluctuante con bastante amplitud, como el realizado en este trabajo, se producen cambios fisiológicos asimétricos que se traducen en el aumento de la TCmax a costa de la pérdida de tolerancia a temperaturas más bajas. Este compromiso entre las tolerancias térmicas podría deberse al daño inmediato irreparable que podrían causar las temperaturas altas con respecto al daño retardado y menos letal que producen las temperaturas bajas.

Por otro lado, para probar si la plasticidad de una colonia podría expresarse rápidamente a corto plazo, se sometió a una de las colonias de *W. auropunctata* a un proceso de endurecimiento. Se comprobó que manteniendo a las hormigas durante una hora a 37°C previo a medir su TCmax, la misma aumentó significativamente con respecto a los valores de la misma colonia sin pre-exponer (solo mantenida a 25°C). Esto demuestra que la plasticidad observada para las termotolerancias a temperaturas altas no solo se da durante procesos a mediano o largo plazo, como los de aclimatación, sino también en procesos de corto plazo, como los de endurecimiento. Poco se conoce acerca de este fenómeno en insectos, siendo pocos los trabajos que miden termotolerancias en procesos de endurecimiento. En algunos drosófilidos y el heteróptero *Nysius groenlandicus*, se ha observado que la TCmax y en otros casos el tiempo de noqueo por calor aumentan significativamente luego de un proceso de endurecimiento por calor (Kalra et al., 2017; Sørensen et al., 2019; van Heerwaarden et al., 2016). En hormigas, los estudios de endurecimiento por calor son escasos y por lo general miden supervivencia pero no termotolerancias, encontrando como en el caso de hormigas del género *Cataglyphis* que dicho tratamiento aumenta la supervivencia a temperaturas altas (Perez et al., 2021). El incremento en la tolerancia a temperaturas altas luego de un proceso de endurecimiento podría deberse principalmente a la síntesis de proteínas del tipo HSP (del inglés “heat shock protein”), las cuales se sintetizan frente a una situación de estrés. Mediante las mismas los insectos evitan la desnaturalización de otras proteínas, que se da en estos casos a causa de las temperaturas elevadas a las cuales son sometidos (González-Tokman et al., 2020; Zhao

& Jones, 2012). De esta manera, *W. auropunctata* podría aumentar su TCmax, aumentando la tolerancia a temperaturas altas y así protegerse a corto plazo de un aumento drástico en la temperatura.

"Chill coma recovery time"

El CCRT resultó no variar linealmente con la latitud para las distintas colonias de *W. auropunctata* a ninguna de las temperaturas de aclimatación. Este resultado no es el esperado, ya que como fue dicho anteriormente, las tolerancias a temperaturas bajas suelen aumentar con la latitud (Addo-Bediako et al., 2000; Araújo et al., 2013; Clusella-Trullas et al., 2011; Sunday et al., 2014). Los trabajos que han medido el CCRT en un gradiente geográfico en insectos, encontraron que el CCRT es menor a latitudes mayores (Hallas et al., 2002; Poikela et al., 2021; Sisodia & Singh, 2010; Wiberg et al., 2021). Esto también fue observado en un trabajo realizado en dos hormigas del género *Myrmica*, donde una de ellas, *Myrmica rubra*, muestra el mismo patrón (Maysov, 2014). Las diferencias observadas entre este trabajo y otros podría deberse a las mayores altitudes de dos de las colonias colectadas ubicadas en Jujuy (El Carmen y Carahunco). De este modo, su CCRT podría ser menor al soportar climas más fríos de altura que colonias a la misma latitud, pero a altitud más baja.

Por otro lado, al comparar el CCRT de las distintas colonias en base a las temperaturas más frías que soportan durante el mes más frío del año, se detectó una relación lineal positiva para la aclimatación a 25°C pero invariable para la aclimatación a 15°C. Las colonias que están sometidas a climas más fríos, son las que se recuperan antes del coma, cuando son aclimatadas a 25°C. Esto es razonable ya que al adaptarse a dichos climas su tolerancia al frío es mucho más alta. No obstante, no todas las colonias disminuyen su CCRT al aclimatarlas a 15°C, demostrando nuevamente que existen límites en la plasticidad que pueden desarrollar al someterse a climas tan fríos sin perder capacidad de aclimatación (Belliard et al., 2019; Stillman, 2003). La mayoría de los trabajos que midieron CCRT en hormigas concuerdan con los resultados aquí obtenidos, observando menores CCRT en climas con menores temperaturas: ya sea por estar a mayores latitudes (Martin-Roy et al., 2021), mayores altitudes (Tonione et al., 2020), zonas con menor promedio de temperatura anual (Nguyen et al., 2019), zonas con menor cobertura vegetal (Maysov & Kipyatkov, 2011) o incluso en obreras que salen del nido en comparación a las que se quedan en el mismo (Modlmeier et al., 2012). Además, en algunos de estos trabajos se puede observar el fenómeno de plasticidad en el CCRT con aclimataciones a menores temperaturas. Siendo que las hormigas se recuperan antes del coma producido por frío aclimatándolas a menores temperaturas, como en el presente trabajo (Maysov, 2014; Modlmeier et al., 2012; Tonione et al., 2020).

Nuevamente al estudiar el CCRT de las distintas colonias se utilizaron modelos que explicaron muy poco la variabilidad observada. Esto se debe mayormente a la gran variabilidad que se observa para esta variable de termotolerancia dentro de cada colonia. No obstante, esto podría corregirse al obtener más colonias dentro de cada punto de colecta e incluso extendiendo el gradiente latitudinal de temperaturas, de manera de reducir dicha variabilidad y obtener colonias que soporten temperaturas más disímiles.

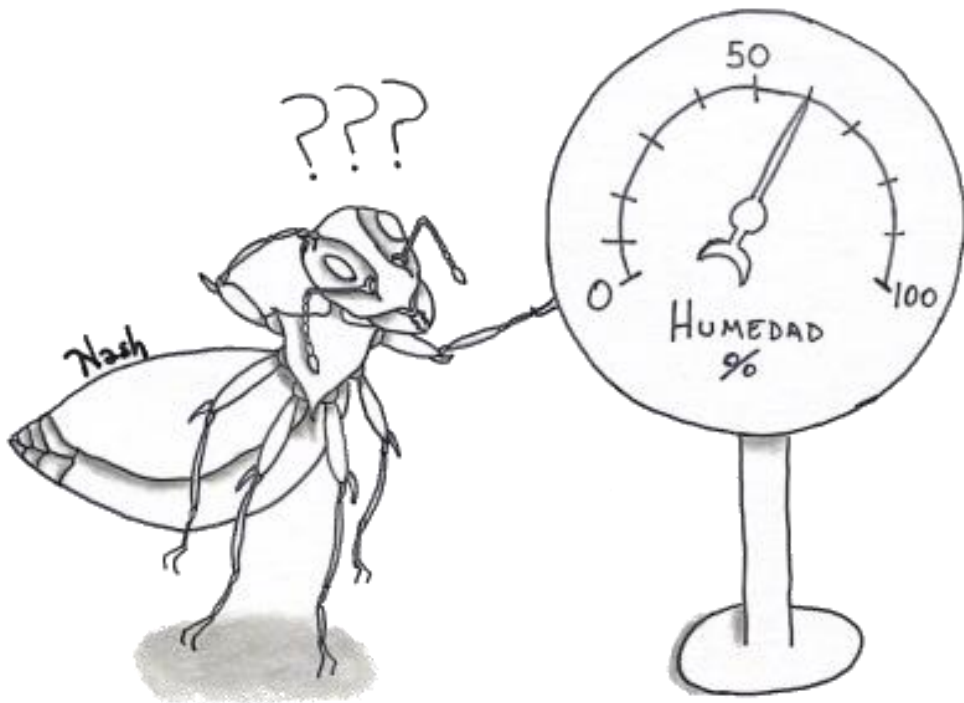
Cabe remarcar que al analizar las distintas colonias de *W. auropunctata* considerando sus haplotipos y haplogrupos, la aclimatación a 15°C desencadenó un menor CCRT, en concordancia con los trabajos previos citados. Por otro lado, la aclimatación a 25°C resultó en diferencias significativas entre haplotipos, siendo que los pertenecientes a Jujuy (H12 y H1), Buenos Aires (H1) y el más austral de Santa Fe (H54), no difirieron significativamente en su CCRT, pero son menores al de los haplotipos más boreales de Santa Fe (H56 y H53). Esto indica que lo observado a nivel de especie tiene un correlato a un nivel genético, ya que las poblaciones de haplotipos que soportan climas más fríos durante el año son las que alcanzan menores CCRT.

Conclusión

A lo largo de este capítulo se pudo observar que las colonias de *W. auropunctata* que soportan temperaturas más altas y más bajas durante el año presentan una mayor tolerancia térmica. A su vez también se observó el compromiso en el aumento/disminución de las TC entre colonias, cuando experimentan ambos extremos térmicos. Los cambios en la termotolerancia observados a nivel de especie tienen un correlato parcial a nivel genético, en el caso de la tolerancia a temperaturas bajas. Estos resultados reflejan la plasticidad que posee esta especie para extender su termotolerancia frente a climas adversos. En base a esta evidencia, la hipótesis propuesta para este capítulo no se rechaza. Es decir, que dentro de un gradiente latitudinal de temperaturas, las colonias de *W. auropunctata* que soportan climas más cálidos poseen una mayor tolerancia a temperaturas altas, mientras que las que soportan climas más fríos poseen un mayor tolerancia a temperaturas bajas. Por lo tanto, la temperatura, específicamente las bajas temperaturas, parecerían ser un factor limitante en la expansión austral de *W. auropunctata*.

CAPITULO III

*Efecto de la humedad como limitante de la distribución de *Wasmannia auropunctata**



Introducción

La humedad es uno de los factores más importantes que afecta la vida de los insectos en la naturaleza, principalmente por el estrés que puede ejercer su ausencia. Como fue mencionado en el capítulo I, uno de los principales problemas de los insectos ante el riesgo a la desecación es su alta relación superficie/volumen, la cual los hace más susceptibles a la deshidratación (Edney, 2012). Esto cobra una mayor importancia en insectos terrestres, los cuales son más propensos a la pérdida de agua. Los mismos están compuestos por un porcentaje de agua que varía entre 40 y 90% de su masa viva o fresca (Edney, 2012; Hadley, 1994). Este valor varía entre especies, estadios, individuos e incluso en el tiempo para un mismo individuo (Wharton, 1985). A su vez este valor es de gran importancia en el balance de agua de un insecto, el cual está definido por la diferencia entre la cantidad de agua ganada y perdida (Wharton, 1985). Es entonces que la resistencia a la desecación en un insecto va a depender de la cantidad de agua que sea capaz de perder sin tener efectos adversos y la tasa a la cual se pierde dicha agua (Chown et al., 2004; Edney, 2012; Hadley, 1994).

Las vías de ingreso de agua se dan mediante: ingestión, absorción del vapor de agua y recuperación del agua metabólica (Hadley, 1994). En cambio, las vías de egreso se dan mediante: pérdida por cutícula, respiración, defecación y secreción (Hadley, 1994; Wharton, 1985). Muchos insectos, sobre todo aquellos que habitan climas secos, muestran adaptaciones para reducir este egreso al mínimo, como son: el desarrollo de morfologías corporales que reducen la relación superficie/volumen, modificaciones comportamentales que evitan la exposición, regulación de la actividad de los espiráculos en la respiración, composición de lípidos cuticulares especializada, permeabilidad cuticular reducida y tolerancias fisiológicas desarrolladas en respuesta a climas más secos (Arlian & Veselica, 1979; Hadley, 1994). En particular, la permeabilidad cuticular es una de las características altamente relacionada con la tolerancia a la desecación, ya que los insectos pierden agua pasivamente a través de la cutícula. En consecuencia, aquellos insectos que habitan climas más áridos, para disminuir su tasa de pérdida de agua, deberían tener una menor permeabilidad cuticular que insectos del mismo tamaño que habitan climas más húmedos (Zachariassen, 1996). En trabajos que consideran la relación entre la tasa de liberación de agua y los factores ambientales, se vio que la tasa de pérdida de agua está relacionada positivamente con la precipitación y por ende negativamente con la aridez ambiental (Addo-Bediako et al., 2001). También se ha observado en moscas de la especie *Drosophila melanogaster* que existe una correlación positiva entre la resistencia a la desecación y la disminución de la humedad con la latitud y la altitud (Parkash et al., 2008). Escasos son los trabajos que estudian estos fenómenos en especies de hormigas. Sin embargo, en ellos se han llegado a conclusiones similares. Las hormigas muestran una

permeabilidad cuticular mucho menor en ambientes xéricos que en ambientes méxicos (e.g., Lighton & Feener, 1989; Schilman et al., 2005).

Poco se sabe sobre cómo un factor abiótico como la humedad afecta la distribución de las especies de hormigas invasoras, las cuales representan un grave problema ecológico y económico a nivel mundial. Este es el caso de *W. auropunctata*, de la que se conoce muy poco sobre su tolerancia a la desecación a nivel de especie o si esta tolerancia presenta variación entre distintas poblaciones (o genotipos) a lo largo de un gradiente longitudinal de precipitaciones. La capacidad de tolerar ambientes más secos podría ser clave en su reciente expansión hacia regiones más áridas. En base a esto, se establece la siguiente hipótesis. Dentro de un gradiente longitudinal de precipitaciones, las colonias de *W. auropunctata* que soportan climas más secos poseen una mayor tolerancia a la desecación. Bajo dicha hipótesis se espera que las colonias que estén sometidas a climas más secos, es decir menores precipitaciones, muestren una menor tasa de pérdida de agua y permeabilidad cuticular, que las que están sometidas a climas más húmedos, con mayores precipitaciones.

Materiales y métodos

Recolección y mantenimiento de las colonias

Las colonias utilizadas en los ensayos realizados para medir la tolerancia a la desecación en este capítulo fueron recolectadas a lo largo de un gradiente creciente de precipitaciones (Oeste-Este). Estas fueron obtenidas de los sitios marcados en la Figura 3 del Capítulo II, y mantenidas de la misma manera que se describió en ese capítulo. Las colonias usadas fueron las siguientes: Assis Chateaubriand - Paraná - Brasil (B), Caacupé - Cordillera - Paraguay (P), Don Torcuato - Buenos Aires (DT), Ciudad Universitaria (Limonero) - C.A.B.A. (L) y Ciudad Universitaria (Industrias) - C.A.B.A. (I), Ciudad Universitaria (Transportes) - C.A.B.A. (T), Agronomía - C.A.B.A. (A), Carahunco - Jujuy (C), El Carmen - Jujuy (EC).

Tasa de pérdida de agua

La tasa de pérdida de agua se midió utilizando un respirómetro de flujo abierto de alta resolución TR-2 Sable System International (SSI, Las Vegas, Nevada, EEUU). Dicho dispositivo permite medir la producción de CO₂ y vapor de agua simultáneamente de un grupo de hormigas en tiempo real a distintas temperaturas, en este caso, a 15, 25 y 35°C (Fig. 17).

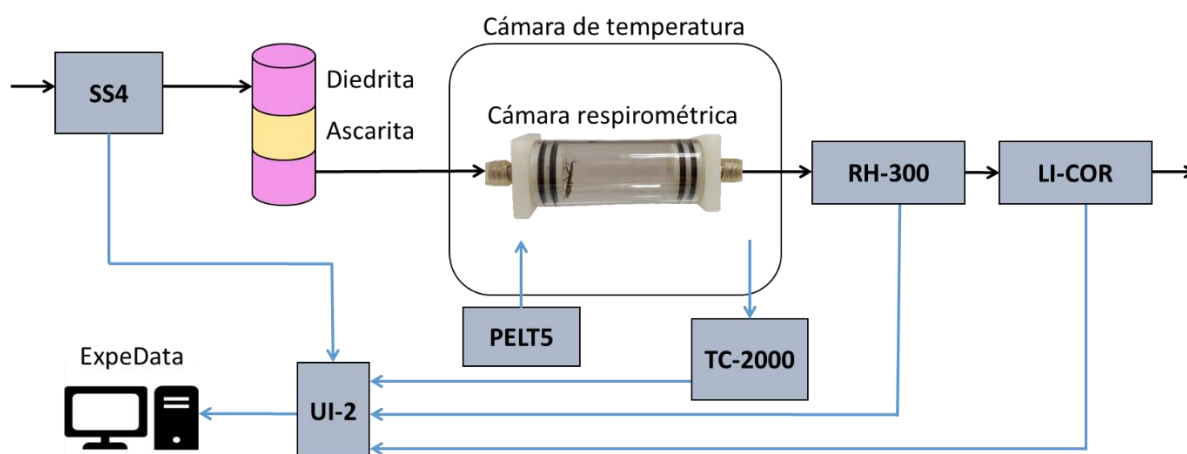


Figura 17. Respirómetro de flujo abierto. La figura muestra un esquema del dispositivo usado para medir tasa de pérdida de agua y calcular la permeabilidad cuticular de las hormigas. El flujo de aire, mostrado con flechas negras circula desde la bomba (SS4) hasta el detector de CO₂ (LI-COR), pasando por la cámara respirométrica y el detector de vapor de agua (RH-300). Todas las conexiones eléctricas entre los dispositivos, como la del termómetro (TC-2000), el controlador de temperatura (PELT5) y el convertidor analógico digital (UI-2), se muestran con flechas celestes.

El equipo está compuesto por una bomba (SS4, Sable Systems International (SSI); Nevada, EEUU), que impulsa aire con un flujo constante y controlado de 80 ml/min hacia un recipiente que contiene Driedita (malla 8, con indicador; Sigma-Aldrich, Missouri, EEUU) y Ascarita (malla 20-30; Thomas Scientific, New Jersey, EEUU), cuya función es absorber la humedad y el CO₂ respectivamente. Luego, el flujo de aire pasa por perclorato magnésico, Mg(ClO₄)₂ (Sigma-Aldrich, Missouri, EEUU), el cual remueve aún más el agua, llegando posteriormente a una cámara respirométrica de vidrio cilíndrica donde se coloca al o los insectos. Esta cámara cuenta con dos tapas de aluminio en sus extremos aseguradas con anillos de tipo O-Ring para lograr un ambiente hermético. Posteriormente el flujo llega al analizador de vapor de agua (rango de densidad de vapor de agua 0 a 10 µg/ml, resolución 0,0001 µg/ml; Sable System International (SSI) RH-300, Nevada, EEUU). Finalmente, previo circular nuevamente por Mg(ClO₄)₂, la corriente de aire llega a un analizador infrarrojo de dióxido CO₂ (LI-6251, resolución 0,1 p.p.m. CO₂; Li-Cor, Nebraska, EEUU). Durante todo el recorrido el flujo de aire circula por una serie de tubos de baja permeabilidad Bev-A-Line, que minimizan el error asociado a la absorbancia de H₂O y CO₂.

La cámara respirométrica se encuentra dentro de una cámara de temperatura (PTC-1; SSI) con un controlador de temperatura (PELT-5; SSI) que fue fijado en las tres temperaturas usadas: 15, 25 y 35°C. Además, posee un espiral de cobre de aproximadamente 6,5 m de longitud por el cual circula el aire antes de entrar a la cámara respirométrica, de modo de equilibrar la temperatura del aire que ingresa con la de la cámara de temperatura. Finalmente, la temperatura se midió dentro de la cámara respirométrica mediante una termocupla (tipo T) unida a un termómetro electrónico TC-2000 (resolución 0,01°C, precisión 0,2°C; SSI). Las salidas analógicas de la bomba, el termómetro y los analizadores de H₂O y CO₂ se conectaron a una computadora por medio de un conversor A/D (UI-2, 16 bits, precisión 0,05 %; SSI). Todos estos datos se visualizaron y almacenaron mediante el programa de adquisición de datos ExpeData.

Dado que la sensibilidad del dispositivo no permite hacer un registro para una única hormiga de *W. auropunctata* por su tamaño reducido, se realizaron varios ensayos para establecer el número de obreras necesarias para obtener datos distinguibles. Se concluyó que el valor óptimo para cada registro fueran 10 obreras. Para cada uno de ellos, primero se realiza un registro con la cámara respirométrica vacía (línea de base), luego se detiene el registro para introducir las hormigas y se espera unos minutos a que en el dispositivo circule el aire que entró al abrir la cámara. A continuación, se reanuda el registro y se realiza aproximadamente durante 60 min, para finalmente retirar a las hormigas y realizar nuevamente una línea de base con la cámara vacía. Con la ayuda del programa ExpeData a cada registro se le realizó una regresión lineal entre ambas líneas de base, la

cual se le resta a los valores obtenidos durante el registro punto a punto. Finalmente con el mismo programa se transforman los valores de emisión de CO₂ de p.p.m. a ul/h según la fórmula tomada de Lighton (2018). Se realizaron cinco ensayos de 10 obreras cada uno para cada colonia, a cada temperatura.

Antes de realizar los registros, los analizadores de CO₂ y H₂O fueron calibrados. Para el analizador de CO₂ se utilizó nitrógeno gaseoso para definir el cero, y una concentración patrón de CO₂ de 97 ± 5 p.p.m. (Grupo Linde Gas S.A., Buenos Aires, Argentina). Para calibrar el analizador de vapor de agua también se utilizó nitrógeno gaseoso para definir el cero y luego aire saturado de humedad (el aire se burbujea en una botella de 1 litro de agua bi-distilada) a una temperatura conocida (medida por una termocupla sumergida en el agua de la botella y conectada al termómetro digital TC-2000) de aproximadamente 5°C por debajo de la temperatura ambiente para evitar que el agua se condense dentro del analizador. El analizador de vapor de agua (RH-300) se coloca en modo "dewpoint" y se ajusta para que coincida la temperatura del medidor de vapor de agua con el termómetro digital, es decir, la lectura del TC-2000 y el RH-300 coinciden.

A partir de los registros obtenidos de pérdida de agua, con ayuda del respirómetro de flujo abierto, se calculó la tasa de pérdida de agua (TPA) total y por cutícula. La primera se obtuvo directamente de la medición cruda del dispositivo, dividiéndola por la superficie calculada de las obreras de esta especie (S), como se describe en la siguiente sección, y por la cantidad de obreras usadas por ensayo (10). La segunda se obtuvo realizando el mismo cálculo, pero partiendo de la pérdida de agua por cutícula (PAC), calculada con el método de correlación como se describe en la siguiente sección.

Permeabilidad cuticular

Para calcular la permeabilidad cuticular (PC), primero es necesario estimar la tasa de pérdida de agua a través de la cutícula. Existen dos metodologías para discernir la tasa de pérdida de agua a través de la cutícula en registros de intercambio gaseoso continuo, por ejemplo cuando se registran grupos de insectos como es en este caso. Estas dos metodologías son: el cambio de aire normal a O₂ puro o "hyperoxic switch" (Lighton et al., 2004) y el método de correlación entre la tasa de pérdida de agua y la tasa de producción de CO₂ (Gibbs & Johnson, 2004), la cual fue utilizada en este trabajo. Es decir, primero se realizó una relación lineal de la emisión de vapor de agua en función de la emisión de CO₂, con esta última se hizo una extrapolación a cero para obtener la pérdida de agua por cutícula (PAC), ya que en dicho valor los espiráculos se encontrarían completamente cerrados (Gibbs & Johnson, 2004). Luego la superficie (S) de cada hormiga se calculó según la fórmula usada

en Lighton y Feener (1989) y Schilman y colaboradores (2005), donde se toma a cada hormiga como un conjunto de figuras geométricas y se calcula su área en función de la masa (m_h): la cabeza y el tórax como un sólido rectangular, las patas y el pecíolo como cilindros y el abdomen como un esferoide prolato. Con los datos de la pérdida de agua a través de la cutícula para cada hormiga (el valor total se divide por las 10 obreras usadas en el ensayo) y la superficie calculada para cada hormiga, se obtiene la pérdida de agua por superficie (PAS). Por último se calcula la presión de vapor (PV) dentro de la cámara respirométrica, usando la temperatura de la misma (T), basado en la fórmula utilizada en Lighton y Feener (1989) y Schilman y colaboradores (2005). Con el valor del agua perdida por superficie y el valor de presión de vapor transformado a Torr, se calcula la permeabilidad cuticular (PC).

$$S = 0,103 \cdot m_h^{0,667}$$

$$PAS = \frac{PAC/10}{S}$$

$$PC = \frac{PAS}{PV}$$

$$PV = 512 + (73.662 \cdot T) - (0,72645 \cdot T^2) + (0,079616 \cdot T^3)$$

Por otro lado, para realizar las correspondientes regresiones lineales se calculó un déficit de presión de vapor máximo del mes más seco (DPV). Este valor se obtiene restándole la presión de vapor real (PVR) a la presión de vapor saturada (PVS) con la formula usada en de la Vega y Schilman (2018). El primer valor se obtiene usando la biovariable con el mismo nombre del sitio WorldClim con una resolución de 30 segundos, para cada uno de los sitios donde se colectaron las colonias. Este valor se obtiene en kPa y se transformó a Torr. El segundo valor se obtiene de la formula en Mitchell y colaboradores (2004), que usa la temperatura máxima del mes más cálido (biovariable 5) para obtener la presión de vapor cuando el aire está saturado de agua. Para obtener el valor de DPV del mes más seco, se calculó el mismo en todos los meses y se utilizó el que presento el valor más alto para cada colonia.

$$PVS = 0,6107 \cdot e^{(17,38 \cdot bio5/239 + bio5)}$$

$$DPV = PVS - PVR$$

Análisis estadístico

Para analizar la tasa de pérdida de agua total, por cutícula y la permeabilidad cuticular, se realizaron regresiones lineales usando como variable dependiente al DPV y como variables independientes a la longitud o el promedio del déficit de vapor máximo del mes más seco. Por otro lado, para comparar las medias de la tasa de pérdida de agua total y por cutícula a distintas temperaturas, se utilizó un ANOVA. La temperatura se tomó como factor fijo, utilizando el método de Tukey para realizar los contrastes *a posteriori*.

Para analizar si hay diferencias en la permeabilidad cuticular entre los distintos haplotipos y haplogrupos mitocondriales (COI) de *W. auropunctata*, se realizó un ANOVA. Se utilizó haplotipo o haplogrupo como factor fijo y se anidó a la colonia en ellos, usando a la temperatura como factor fijo. El método de Tukey se usó para realizar los contrastes *a posteriori*.

Para todos los análisis estadísticos realizados en esta sección se utilizó el programa estadístico InfoStat (Di Rienzo, 2009).

Resultados

Tasa de pérdida de agua y permeabilidad cuticular

A una temperatura de 15°C, no hubo una relación lineal entre la TPA total y la longitud ($T = 0,35$; $p = 0,7302$; $R^2 = 0,04$; Fig. 18A), ni entre la TPA cuticular y la longitud ($T = 0,40$; $p = 0,6889$; $R^2 = 0,01$; Fig. 18B). Tampoco se encontró una relación lineal entre la permeabilidad cuticular y la longitud a la misma temperatura ($T = 0,72$; $p = 0,4735$; $R^2 = 0,01$; Fig. 18C). Por otro lado, a una temperatura de 25°C, hubo una relación lineal entre la TPA total y la longitud ($T = 2,32$; $p = 0,0255$; $R^2 = 0,12$; Fig. 18A), pero no entre la TPA cuticular y la longitud ($T = 1,47$; $p = 0,1484$; $R^2 = 0,05$; Fig. 18B), ni entre la permeabilidad cuticular y la longitud ($T = 1,34$; $p = 0,1877$; $R^2 = 0,02$; Fig. 18C). Finalmente a 35°C, las tres variables presentaron una relación lineal significativa con la longitud: TPA total ($T = 4,16$; $p = 0,0002$; $R^2 = 0,30$; Fig. 18A), TPA cuticular ($T = 3,34$; $p = 0,0018$; $R^2 = 0,21$; Fig. 18B) y permeabilidad cuticular ($T = 3,41$; $p = 0,0015$; $R^2 = 0,22$; Fig. 18C). Sin embargo, el modelo explica muy poco de la variación de algunas de las regresiones, reflejado en valores bajos de R^2 .

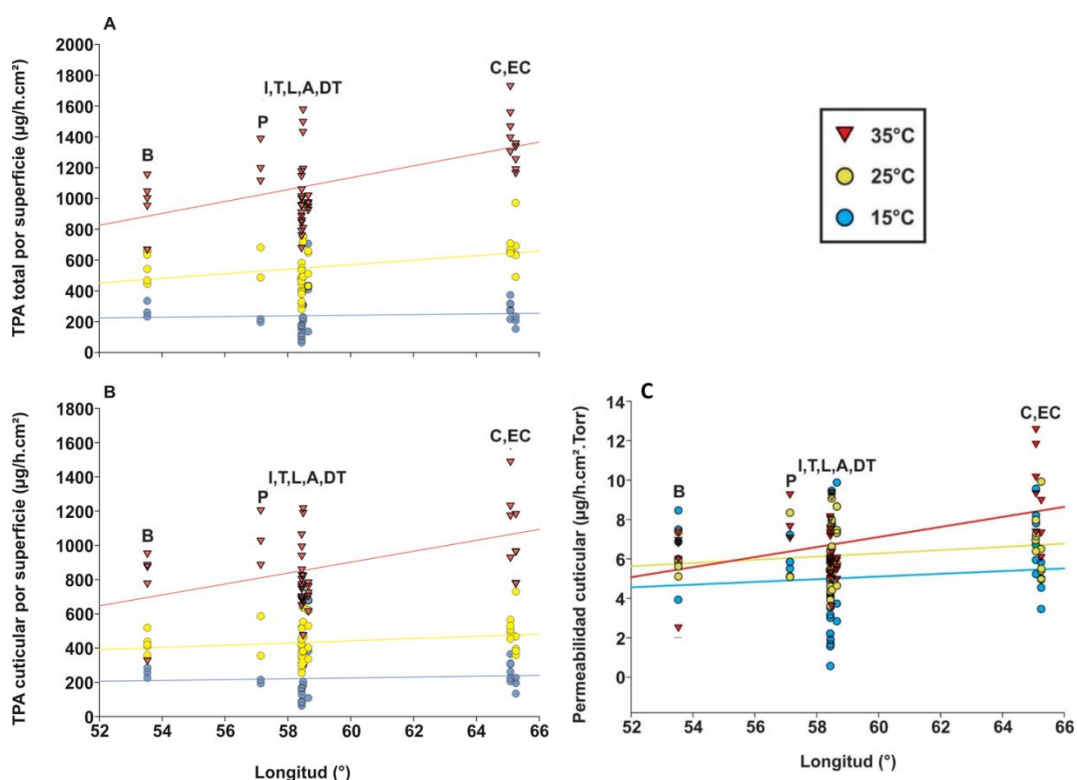


Figura 18. Tasa de pérdida de agua y permeabilidad cuticular en función de la longitud. Regresión lineal para la TPA total (A), la TPA cuticular (B) y la permeabilidad cuticular (C), en función de la longitud medidas a tres temperaturas (15°C = celeste, 25°C = amarillo y 35°C = rojo) para nueve colonias de *W. auropunctata*: Assis Chateaubriand - Paraná - Brasil (B), Caacupé - Cordillera - Paraguay (P), Don Torcuato - Buenos Aires (DT), Ciudad Universitaria (Limonero) - C.A.B.A. (L) y Ciudad Universitaria (Industrias) - C.A.B.A. (I), Ciudad Universitaria (Transportes) - C.A.B.A. (T), Agronomía - C.A.B.A. (A), Carahunco - Jujuy (C), El Carmen - Jujuy (EC).

A 15°C, tanto la TPA total ($T = 4,04$; $p = 0,0004$; $R^2 = 0,37$; Fig. 19A), como la TPA cuticular ($T = 4,01$; $p = 0,0004$; $R^2 = 0,36$; Fig. 19B) y la permeabilidad cuticular ($T = 4,42$; $p < 0,0001$; $R^2 = 0,32$; Fig. 19C) presentaron una relación lineal significativa con el DPV máximo del mes más seco. Por otro lado, a 25°C, la TPA total presentó una relación lineal significativa con el DPV máximo del mes más seco ($T = 2,10$; $p = 0,0425$; $R^2 = 0,10$; Fig. 19A). Sin embargo, la TPA cuticular ($T = 2,00$; $p = 0,0527$; $R^2 = 0,09$; Fig. 19B) y la permeabilidad cuticular ($T = 1,98$; $p = 0,0545$; $R^2 = 0,09$; Fig. 19C), no estuvieron relacionadas linealmente con el DPV máximo del mes más seco. Finalmente, a 35°C, tanto la TPA total ($T = 1,36$; $p = 0,1819$; $R^2 = 0,04$; Fig. 19A), como la TPA cuticular ($T = 1,00$; $p = 0,3253$; $R^2 = 0,02$; Fig. 19B) y la permeabilidad cuticular ($T = 0,89$; $p = 0,3788$; $R^2 = 0,02$; Fig. 19C), no presentaron una relación lineal significativa con el DPV máximo del mes más seco. Sin embargo, el modelo explica muy poco de la variación de algunas de las regresiones, reflejado en valores bajos de R^2 .

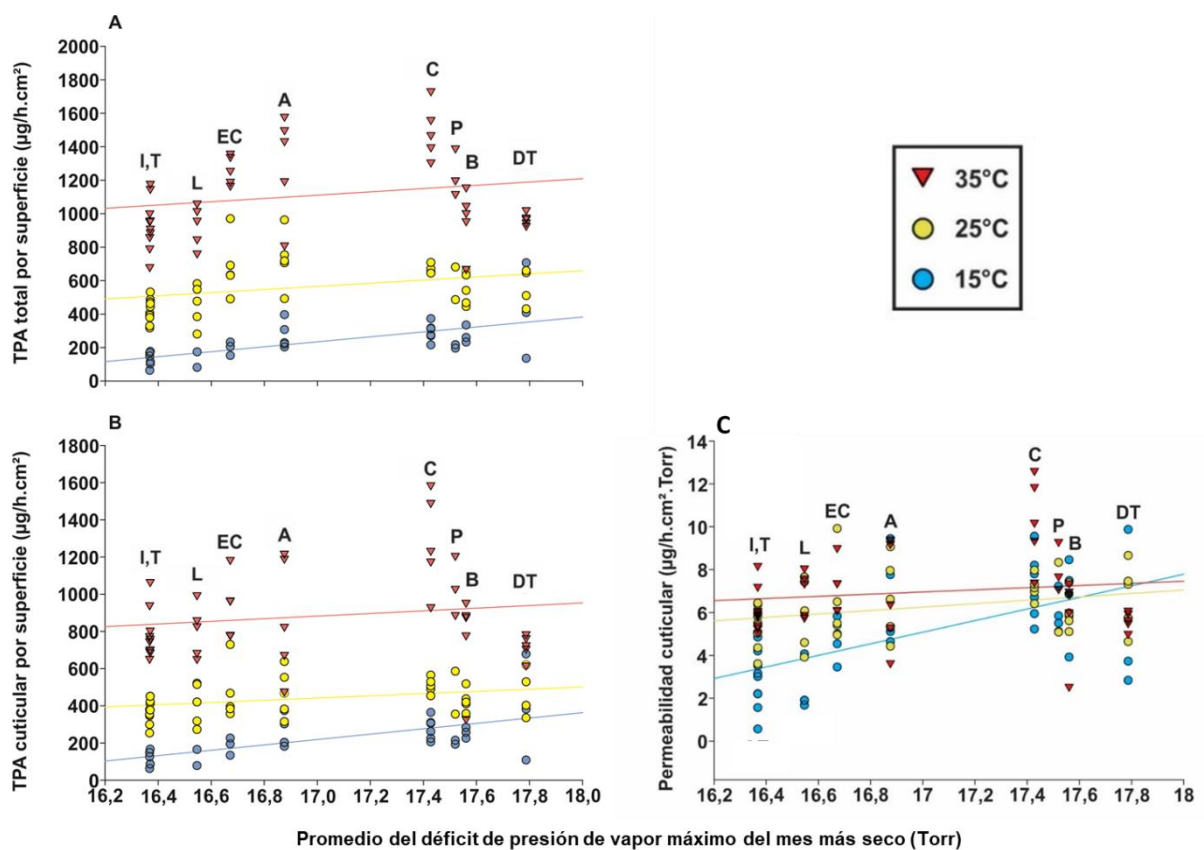


Figura 19. Tasa de pérdida de agua y permeabilidad cuticular en función del promedio del déficit de presión de vapor máximo del mes más seco. Regresión lineal para la TPA total (A), la TPA cuticular (B) y la permeabilidad cuticular (C), en función del DPV máximo del mes más seco medida a tres temperaturas (15°C = celeste, 25°C = amarillo y 35°C = rojo) para nueve colonias de *W. auropunctata*: Assis Chateaubriand - Paraná - Brasil (B), Caacupé - Cordillera - Paraguay (P), Don Torcuato - Buenos Aires (DT), Ciudad Universitaria (Limonero) - C.A.B.A. (L) y Ciudad Universitaria (Industrias) - C.A.B.A. (I), Ciudad Universitaria (Transportes) - C.A.B.A. (T), Agronomía - C.A.B.A. (A), Carahunco - Jujuy (C), El Carmen - Jujuy (EC).

El análisis de las TPA totales ($F_{(2; 87)} = 395,89$; $p < 0,0001$) y cuticulares ($F_{(2; 87)} = 190,28$; $p < 0,0001$) mostró diferencias significativas para todas las colonias en cuanto a la temperatura utilizada, siendo que a mayor temperatura, mayor es la tasa de pérdida de agua total y cuticular ($p < 0,05$, contrastes *a posteriori*).

Tasa de pérdida de agua y permeabilidad cuticular entre haplotipos y haplogrupos

Con los datos obtenidos de haplotipos y haplogrupos (excluyendo a la colonia obtenida de Paraguay la cual no pudo ser secuenciada), se corrieron ANOVAs para detectar diferencias significativas entre las tres variables medidas en los ensayos de tolerancia a la desecación (Tabla 2).

Tanto para la TPA total, como TPA cuticular, solo se encontraron diferencias significativas al someter a las hormigas a una temperatura de 35°C, siendo el haplotipo H12, perteneciente al haplogrupo BVI (Carahunco - Jujuy), el que presenta una tasa de pérdida de agua total y cuticular significativamente mayor al resto, que no difieren significativamente entre sí ($p < 0,05$, contrastes *a posteriori*). Por otro lado, las mismas dos variables mostraron diferencias significativas para las temperaturas utilizadas, mostrando que a medida que la temperatura aumenta la TPA total y cuticular es significativamente más alta ($p < 0,05$, contrastes *a posteriori*).

El análisis de la permeabilidad cuticular no reveló interacciones entre la temperatura y los haplotipos/haplogrupos por lo cual se analizaron los efectos principales. El haplotipo H12 perteneciente al haplogrupo B-VI (Carahunco - Jujuy) es el que presenta una permeabilidad cuticular significativamente mayor al resto, que no difiere significativamente entre sí ($p < 0,05$, contrastes *a posteriori*). A su vez, no se detectaron diferencias significativas entre las temperaturas utilizadas para medir la permeabilidad cuticular.

Tabla 2. Comparación de las variables de tolerancia a la desecación de los distintos haplotipos/haplogrupos usando ANOVAs. El estadístico que se muestra es el F de Fisher junto con los grados de libertad de la variable explicativa y del error estándar, también se muestra el p-valor.

Variables		Haplotipo/Haplogrupo		
		Estadístico (F)	Grados de libertad	p-valor
TPA total	15°C	0,78	2;25	0,4674
	25°C	1,30	2;36	0,2846
	35°C	9,99	2;37	0,0003
	Entre temperaturas	121,62	2;75	<0,0001
TPA cuticular	15°C	0,83	2;25	0,4472
	25°C	1,43	2;36	0,2537
	35°C	12,69	2;37	<0,0001
	Entre temperaturas	108,37	2;75	<0,0001
PC	Entre Haplotipos/Haplogrupos	6,76	2;104	0,0017
	Entre temperaturas	1,93	2;104	0,1496

Discusión

Tasa de pérdida de agua y permeabilidad cuticular

Se logró estudiar con éxito distintas variables que están relacionadas con la tolerancia a la desecación en distintas poblaciones de *W. auropunctata*, ubicadas a lo largo de un gradiente de precipitaciones longitudinal. Este es uno de los pocos trabajos que estudia la tolerancia a la desecación entre poblaciones de una especie de hormiga en una amplia región geográfica que incluye un gradiente de precipitaciones longitudinal. La mayoría de los estudios en hormigas comparan la tolerancia a la desecación entre distintas especies (variación interespecífica), donde las diferencias son mucho más evidentes.

Contrariamente a lo esperado, la TPA total se incrementó linealmente con el incremento de la longitud cuando las colonias fueron expuestas a 25 y 35°C, mientras que la TPA cuticular y la permeabilidad cuticular incrementaron linealmente con el incremento de la longitud solo a 35°C. Dado que a mayores longitudes, los climas son más secos, la predicción es que las colonias deberían evitar la pérdida de agua, es decir que su cutícula debería ser menos permeable a mayores longitudes. En nuestro caso, pasó exactamente lo inverso, especialmente a la mayor temperatura ensayada (35°C), cuando en teoría la pérdida de agua se aceleraría por efecto del incremento del calor. Esta inesperada mayor pérdida de agua en ambientes más secos, que sería perjudicial para la colonia, parece no operar a la temperatura más baja y la intermedia (15 y 25°C), ya que todas las variables (a excepción de la TPA total a 25°C) resultaron no variar linealmente con la longitud a estas dos temperaturas. Esto concuerda parcialmente con estudios realizados en moscas del género *Drosophila*, donde se demostró que la longitud no es una buena variable para explicar las diferencias encontradas en las tolerancias a la desecación (Horvath et al., 2022; Rajpurohit et al., 2013).

El déficit de presión de vapor máximo del mes más seco (DPV), ilustra qué tan seco puede ser el clima que soporta cada colonia en cada lugar. A valores más altos, más seco es el clima. Al usar esta variable uno puede independizarse de la longitud en la que fue obtenida cada colonia. Se encontró una relación lineal positiva entre el DPV máximo del mes más seco y la TPA total a 15 y 25°C, y con la TPA cuticular y la permeabilidad cuticular a 15°C. Esto significa que las colonias que están en climas más secos son las que tienen una cutícula más permeable por la que pierden una mayor cantidad de agua. Estos resultados, al igual que al relacionar la tolerancia a la desecación con la longitud, fueron contrarios a lo esperado. Dichos resultados no son congruentes con trabajos donde se muestra que distintas especies de hormigas adaptadas a climas xéricos muestran una TPA y una permeabilidad cuticular menor que especies adaptadas a climas méxicos, posiblemente a causa de una adaptación orientada a reducir la cantidad de agua perdida (e.g., Lighton & Feener, 1989; Schilman et al., 2005;

Schilman et al., 2007). Incluso se observó que entre estratos de un mismo ambiente, las especies de hormigas que habitan ambientes más secos, como el dosel, muestran una resistencia a la desecación mayor que las especies que habitan sobre ambientes más húmedos como el sotobosque (Bujan et al., 2016).

Al igual que lo ocurrido en el capítulo II, los modelos utilizados para estudiar la tolerancia a la desecación en esta especie explicaron muy poco la variabilidad observada. Esto se debe mayormente a la gran variabilidad que se observa para estas variables de tolerancia dentro de cada colonia. Esto podría corregirse al obtener más colonias dentro de cada punto de colecta e incluso extendiendo el gradiente longitudinal de precipitaciones, de manera de reducir dicha variabilidad y obtener colonias que soporten distintos niveles de aridez.

Disminuir la TPA y la permeabilidad cuticular para perder menos agua no es la única manera de tolerar climas más secos, ya que hay una amplia variedad de estrategias que las especies podrían desplegar para lograrlo. Entre ellas, se podrían mencionar las estrategias comportamentales que podría desplegar *W. auropunctata*, como refugiarse dentro de su nido, un ambiente más húmedo, en los meses u horas del día cuando el ambiente externo es más seco. Otro escenario posible podría ser incluso que esta especie esté adaptada a climas más secos y de esta manera sea capaz de perder una mayor cantidad de agua que otras especies, sin sufrir síntomas de deshidratación. De hecho, *W. auropunctata* posee un valor de permeabilidad cuticular tres veces más bajo que otras especies de hormigas invasoras de climas méxicos e incluso de especies nativas de climas xéricos (Tabla 3). Dada su mayor tolerancia no necesitaría ajustar su permeabilidad para tolerar los climas secos de los sitios de colecta, y por eso su permeabilidad no varía en el gradiente de precipitaciones medido. Esta mayor tolerancia a la desecación podría haberle ayudado a conquistar zonas mucho más secas y áridas, como es el caso de Israel en el Medio Oriente (Vonshak et al., 2010).

Tabla 3. Comparación de las distintas permeabilidades cuticulares. Valores de permeabilidad cuticular para hormigas nativas de ambientes mésicos y xéricos.

Especie	PC (ug/h.cm ² .Torr)	Ambiente	Trabajo
<i>W. auropunctata</i>	6,24	Mésico	Datos tesis
<i>S. invicta</i>	25,93 - 31,96	Mésico	(Appel et al., 1991)
<i>L. humile</i>	25,64	Mésico	(Schilman et al., 2005)
<i>P. rugosus</i>	11,56	Xérico	(Lighton & Feener, 1989)
<i>Crematogaster californica</i>	14,32	Xérico	(Schilman et al., 2005)
<i>Veromessor pergandei</i>	17,00	Xérico	
<i>Forelius mccooki</i>	19,14	Xérico	
<i>Solenopsis xyloni</i>	21,48	Xérico	
<i>Dorymyrmex insanus</i>	22,10	Xérico	

Tasa de pérdida de agua y permeabilidad cuticular entre haplotipos y haplogrupos

Se encontraron diferencias significativas entre las poblaciones de *W. auropunctata* para ambas tasas de pérdida de agua solo a 35°C. El haplotipo H12 pertenecientes al haplogrupo B-VI presentó una TPA total y cuticular significativamente más alta que los otros haplotipos/haplogrupos. Este mismo patrón se observó para la permeabilidad cuticular. Este resultado también es contrario a lo esperado, ya que este haplotipo/haplogrupo pertenece a la colonia de Carahunco, Jujuy, la cual experimenta uno de los climas más secos durante el año. Parecería ser, como se vio en la sección anterior, que la pérdida de agua total o cuticular, junto a la permeabilidad cuticular, no reflejan qué tan secos son los climas que soportan las distintas poblaciones.

Por otro lado, no hay que dejar de mencionar, que para todas las colonias/poblaciones (incluso cuando consideramos sus haplotipos y haplogrupos), la TPA total y cuticular fue significativamente mayor a medida que aumentó la temperatura ambiente. Un patrón que concuerda con estudios previos realizados en hormigas del género *Pogonomyrmex*, donde al aumentar la temperatura, la TPA fue mayor (Lighton & Feener, 1989; Quinlan & Lighton, 1999). Incluso se han visto resultados similares en otras especies de insectos, como escarabajos estercoleros (Terblanche et al., 2010) y vinchucas (Rolandi et al., 2014). Este fenómeno se explica por el hecho de que a temperaturas mayores, si la humedad relativa es constante (cerca a 0% en nuestras mediciones), el déficit de presión de vapor de agua aumenta significativamente, por lo que la pérdida de agua a través de la cutícula es mayor. Además, la tasa metabólica aumenta a temperaturas altas, provocando la

apertura por períodos prolongados de los espiráculos para un mayor intercambio gaseoso (Contreras & Bradley, 2010), lo que resulta en un aumento en la pérdida de agua.

Conclusión

En base a los resultados obtenidos y el análisis que se desprende de ellos, no se puede rechazar la hipótesis propuesta. Es decir, que existen diferentes tolerancias a la desecación entre distintas colonias de *W. auropunctata* ubicadas en una clina longitudinal de precipitaciones. No obstante, solo se observaron diferencias para el DPV entre las colonias/poblaciones en todas las variables a bajas temperaturas (15°C) y en una sola variable a la temperatura intermedia (25°C). Sin embargo, los resultados obtenidos en esos casos fueron contrarios a los esperados. Es decir que las colonias que soportan climas más secos no fueron las que tuvieron una TPA y una permeabilidad cuticular menor. El hecho de que la especie perdió en todas las situaciones mucho menos agua que otras especies de clima xéricos, podría indicar que esta variación entre colonias no afecta su supervivencia en el rango estudiado. Por lo cual, la variación observada podría deberse a otros factores microambientales (microhábitat). Los resultados obtenidos de este modo sugieren que la humedad no sería ser un factor abiótico limitante en la dispersión de *W. auropunctata*, por lo menos para las dos variables medidas en este capítulo (TPA y PC). No obstante, la tolerancia a la desecación podría estar definida por otras variables como el contenido de agua disponible o cambios comportamentales que favorezcan la conservación de agua. Estudios adicionales son necesarios para profundizar sobre la tolerancia a la desecación en esta especie.

CAPITULO IV

*Habilidades competitivas de
Wasmannia auropunctata dentro de un
ensamble de hormigas ubicado en su
límite austral de distribución*



Introducción

Como se observó en los capítulos anteriores, ciertos factores abióticos, como la temperatura, son importantes para *W. auropunctata* a la hora de colonizar, establecerse con éxito y expandirse en nuevos territorios. No obstante, como fue mencionado en la introducción general, existen también factores bióticos relacionados con la interacción con otras especies, que limitan estos procesos. Entre ellos se pueden mencionar relaciones de depredación, parasitismo, comensalismo o mutualismo. Sin embargo, un tipo de interacción específica puntual ha cobrado mayor relevancia que las demás, la competencia (Hölldobler & Wilson, 1990). En este tipo de interacción, los distintos individuos de una misma especie o de distintas especies luchan por un recurso, especialmente cuando este es limitante, como puede ser: alimento, territorio, pareja, etc. (Begon & Townsend, 2020).

Dentro de una comunidad de hormigas, la competencia toma un papel preponderante, si los recursos son limitantes. La competencia entre especies de hormigas tiene un rol importante en cuanto a la distribución espacial, la abundancia y el comportamiento que despliegan los contrincantes, muchas veces empleando comportamientos agresivos que incluyen el uso de sus mandíbulas y venenos o repelentes químicos que usan para establecer territorios exclusivos (Andersen & Patel, 1994; Andersen et al., 1991; Hölldobler & Wilson, 1990). Estas comunidades han sido organizadas en jerarquías de dominancia basadas mayormente en diferencias en la habilidad para recolectar alimentos y defenderlos agresivamente. Las jerarquías son relativamente consistentes y robustas dentro y a lo largo de las regiones biogeográficas. Del amplio repertorio de comportamientos, los de evitación y agresión son los principales para formar estas jerarquías de dominancia. Las especies con menor dominancia comportamental huyen o son expulsadas rápidamente al encontrarse con especies comportamentalmente dominantes (Cerdeña et al., 1997; Morrison, 1996; Vepsäläinen & Pisarski, 1982).

Comúnmente se usan dos clasificaciones jerárquicas que ordenan a las distintas especies de una comunidad de hormigas, según qué tan dominantes son. La primera se enfoca en su comportamiento de forrajeo y las divide en tres categorías (Wilson, 1971): extirpadoras, oportunistas e insinadoras.

- Extirpadoras: especies dominantes que defienden agresivamente la fuente de alimento que explotan.

- Oportunistas: especies que descubren las fuentes de alimento y las explotan rápidamente antes de que otras arriben.
- Insinuadoras: especies que logran robar pequeñas partes de las fuentes de alimento de las especies extirpadoras y oportunistas sin ser detectadas.

La segunda provee una clasificación ecológica basada en su agresividad e impacto sobre otras especies y las ordena nuevamente en tres categorías (Arnan et al., 2011; Majer et al., 1994; Savolainen et al., 1989; Vepsäläinen & Pisarski, 1982): dominantes o territoriales, subdominantes o halladoras y subordinadas o sumisas.

- Dominantes: especies altamente agresivas y que predominan numéricamente, tienen patrones de distribución mutuamente excluyentes y ocupan territorios grandes y continuos.
- Subdominantes: especies no territoriales, pero agresivas cuando defienden o tratan de tomar una fuente de alimento, suelen alcanzar densidades moderadas en ausencia de las dominantes.
- Subordinadas: especies con colonias pequeñas y sistemas de reclutamientos simples o no existentes, suelen evitar el contacto físico con obreras de otras colonias u otras especies excepto cuando su propio nido es atacado.

A grandes rasgos se puede observar que ambos tipos de clasificación dividen a las especies de hormigas de una comunidad, según su comportamiento a la hora de competir con otras especies. Por un lado, encontramos a las que realizan un tipo de competencia por interferencia (extirpadoras, dominantes y subdominantes) y, por otro lado, las que realizan un tipo de competencia por explotación (oportunistas, insinuadoras y subordinadas). Es decir, que se podría hablar de que hay especies de hormigas dentro de un ensamble que son mejores dominando un recurso (competencia por interferencia) y otras que son mejores descubriendo un recurso (competencia por explotación). Las especies son ecológicamente dominantes cuando se encuentran en una gran proporción de fuentes de alimento, los monopolizan y además se ven representadas en ellos en una mayor proporción que la que uno esperaría por su abundancia en la zona (Cerdá et al., 2013). A su vez una especie es una buena descubridora, si se presenta y descubre primero más fuentes de alimento que

lo que se esperaría en base a su abundancia (Calcaterra et al., 2016). Esta diferenciación entre las especies, en la manera de encarar una fuente de alimento, permite la convivencia de distintas especies en una comunidad de hormigas, ya que existe un compromiso (“*trade-off*”) entre ser buena descubriendo un recurso y ser buena dominándolo. Las especies comportamentalmente dominantes mantienen alejadas agresivamente a las subordinadas de la fuente de alimento, mientras que las especies subordinadas llegan antes a la fuente de alimento y la explotan rápidamente para evitar la confrontación (Davidson, 1998; Fellers, 1987; Lebrun & Feener Jr, 2007). Sin embargo, en algunos casos pueden darse ambas características en una misma especie, como es el caso de algunas especies invasoras (Calcaterra et al., 2008; Calcaterra et al., 2016).

Las hormigas invasoras, por lo general, son competidoras dominantes altamente agresivas que desplazan a muchas de las especies nativas en las regiones invadidas tanto por explotación, como por interferencia (Holway 1999; Rowles & O’Dowd 2007; Carpintero & Reyes-López 2008). Es por ello que se piensa que este tipo de hormigas elude el compromiso entre estas dos estrategias, ya que son excelentes en ambas (Human & Gordon 1996; Holway, 1998; Holway, 1999). Esta capacidad de eludir el compromiso entre descubrir y dominar una fuente de alimento (Fellers 1987; Lebrun & Feener 2007; Parr & Gibb 2012; Cerdá et al. 2013), puede conferirles ventajas por sobre las hormigas que se destacan en solo una de ellas.

La pequeña hormiga de fuego, *W. auropunctata*, parece eludir el compromiso entre competencia por explotación y competencia por interferencia en algunas regiones en donde ha sido introducida. Esta hormiga desplaza a otras especies nativas exhibiendo un comportamiento extremadamente agresivo, que incluye la depredación de otras hormigas (Clark et al., 1982; Delsinne et al., 2001; Le Breton et al., 2003; Vonshak et al., 2010; Wetterer & Porter, 2003). Sin embargo, muy poco se conoce aún sobre su desempeño competitivo en ensambles dentro del territorio invadido (Calcaterra et al., 2008; Calcaterra et al., 2016; Feener et al., 2008; LeBrun et al., 2007), donde sus habilidades competitivas no son del todo claras.

Es por ello que el objetivo de este capítulo es estudiar las habilidades competitivas de *W. auropunctata* en el norte de la provincia de Buenos Aires, Argentina, el límite austral de su distribución actual conocida (región donde se la considera invasora), donde la especie habita en simpatria con otras especies invasoras. En base a esto se propone como hipótesis que *W. auropunctata* es una buena competidora gracias a que logra escapar al compromiso entre descubrir y dominar fuentes de alimento en el ensamble de hormigas con el que coexiste en su límite sur de distribución. Bajo dicha hipótesis esperamos que esta especie sea una de las mejores tanto descubriendo, como dominando las fuentes de alimento (*e.g.* cebos).

Materiales y Métodos

Con el objetivo de evaluar las habilidades competitivas de *W. auropunctata* en relación a las otras especies de hormigas con las que convive en simpatria en el límite sur de su distribución, se realizó un estudio de campo utilizando una combinación de trampas de caída y cebos atrayentes durante los meses de marzo y abril de 2021 en el predio de la Ciudad Universitaria (C.A.B.A.). Cabe destacar que este estudio tuvo muchas limitaciones para su ejecución debido a las fuertes restricciones impuestas por las autoridades durante este período por la pandemia de Covid-19 en Argentina, lo que no permitió extender el estudio a otros ambientes del predio.

Muestreo usando trampas de caída

Se colocaron un total de 90 trampas de caída (*"pitfall traps"*) a fines de marzo del 2021 en transectas distribuidas a lo largo de cinco zonas con distinto grado de modificación (nivel de perturbación), delimitadas principalmente por calles y caminos con diferentes características ambientales y de vegetación. Las trampas de caída están compuestas de tubos Falcon® de 50ml enterrados a nivel del suelo y rellenos hasta la mitad con una solución de agua y unas gotas de detergente. Las trampas fueron colocadas al menos a 10 m de distancia entre ellas. Las cinco zonas muestreadas fueron: (1) zona de entrada a la reserva, al noroeste del pabellón 3 (Reserva, trampas 1 al 26, Fig. 20); (2) alrededores de la playa de estacionamiento, próximo a los cimientos del pabellón 4 (Estacionamiento, trampas 27 al 40, Fig. 20); (3) área del bioterio ubicado al oeste del IFIBYNE (Bioterio, trampas 41 a 52, Fig. 21); (4) alrededor del pabellón de industrias (Industrias, trampas 53 a 71, Fig. 22); (5) inmediaciones de la entrada al campo experimental, al sur del pabellón 1 (Campo experimental, trampas 72 a 90, Fig. 23). Las trampas estuvieron activas durante 48 hs, con la excepción de dos que fueron extraviadas. Luego de retirar las trampas, su contenido fue vaciado en placas de Petri, desde donde todos los representantes de la familia Formicidae fueron separados y colocados dentro de tubos Eppendorf rotulados. Luego se separó y contabilizó el número de individuos de cada morfoespecie, y con la ayuda de una lupa binocular y claves taxonómicas, se identificó a cada una hasta género o especie de ser posible.

En base a los datos obtenidos en el muestreo realizado con las *"pitfalls"*, se calculó la incidencia, como la cantidad de trampas en las que cada especie apareció, sobre el total de las mismas. La frecuencia se calculó como la cantidad de individuos de una especie o morfoespecie de hormiga capturada, sobre el total de individuos capturados de todas las especies o morfoespecies. Tanto la incidencia como la frecuencia fueron calculadas de la misma manera que en el trabajo de Calcaterra

y colaboradores (2016). También se calculó la predominancia en “*pitfalls*” como el porcentaje de trampas en las que cada especie presenta un mayor número de hormigas (Solá, 2015).

Muestreo usando cebos atrayentes

Para estudiar las relaciones de dominancia dentro del ensamble de hormigas, se realizó un muestreo con cebos, utilizando las mismas transectas trazadas en las distintas zonas del predio a principios de abril del 2021: reserva, estacionamiento, bioterio, industrias y campo experimental (Fig. 19-22). En total, se colocaron 90 cebos que se correspondieron a las 90 trampas de caída colocadas durante el relevamiento previo, de ser posible en el mismo lugar. Cada cebo estaba formado por una lámina de plástico duro cuadrada de 25 cm², en la cual se colocó media cucharada de pasta de maní (Bon-o-Bon). Una vez colocados al menos a 10 m uno de otro, se controlaron cada 15 min durante 90 min anotando tanto las especies o morfoespecies presentes, como la cantidad de obreras de cada una, excepto en la primera medición dentro de los primeros 15 minutos, en la cual solo se anotó la presencia de la especie/morfoespecie que descubrió el cebo. Para tener un criterio acerca de qué especie dominó cada cebo, se utilizaron los siguientes parámetros (Calcaterra et al., 2008):

- 1) Una especie domina el cebo si se encuentran presentes al menos 5 obreras durante 30 minutos seguidos (dos períodos de observación seguidos) y en ese período hay en el cebo menos de 3 obreras de otra especie.
- 2) Una especie intenta usurpar el cebo, si por lo menos 3 obreras se encuentran presentes en el cebo durante más de 30 minutos seguidos (dos períodos de observación).
- 3) Ocorre un recambio de especies en el cebo, si la especie usurpadora desplaza a la que estaba dominándolo, y lo retiene durante al menos 30 minutos seguidos, con al menos 5 obreras presentes. La especie que exitosamente usurpó el cebo, se convierte en la dominante.

Con los distintos datos obtenidos de los ensayos realizados con trampas y cebos, se calcularon distintos índices que reflejan las capacidades de descubrimiento, reclutamiento y dominancia que tiene cada especie. Se calculó la incidencia, como la cantidad de cebos en la que cada especie apareció sobre el total de los mismos (I_c). Con el porcentaje de cebos que una especie descubrió primero (C_{pr}) y su incidencia en “*pitfalls*” (I_p) se calculó el descubrimiento de alimento (DA) para cada especie. Por otro lado, se confeccionó un modelo nulo en el cual todas las especies son igualmente

buenas descubridoras dividiendo la sumatoria de C_{pr} y la I_p de todas las especies registradas en los cebos y multiplicando dicho valor por I_p de cada especie. Al restarle este modelo nulo a la incidencia en cebos de cada especie (I_c), se obtiene el descubrimiento residual (DR), que da una noción de cuánto se aleja cada especie del valor esperado de descubrimiento de cebos debido a su abundancia (debido a esto el índice puede adquirir valores negativos). Tomando solo los cebos donde se declaró a una especie como dominante, se calculó el promedio de obreras reclutadas por especie al final del ensayo (minuto 90), y se dividió dicho valor por la I_p de manera de obtener un valor teórico de reclutamiento masivo (RM) independiente de la abundancia. Finalmente se calcularon tres índices de dominancia diferentes: espacial (DE), numérica (DN) y ecológica (DEC). La primera equivale a la I_p , la segunda equivale a la frecuencia en "pitfalls" y la última es la división entre la cantidad de cebos dominados (C_d) y la I_p . Este último valor refleja la capacidad de una especie de dominar un recurso, independientemente de su abundancia en el ambiente.

$$DA = C_{pr}/I_p$$

$$DR = I_c - (\sum C_{pr}/\sum I_p) \cdot I_p$$

$$DEC = C_d/I_p$$



Figura 20. Muestreo realizado en la reserva y el estacionamiento. Imagen satelital con la ubicación de las transectas dispuestas en las zonas de la reserva (amarillo) y el estacionamiento (rojo), ambas al noroeste del pabellón 3.



Figura 21. Muestreo realizado en el bioterio. Imagen satelital con la ubicación de la transecta realizada en la zona del bioterio (verde).

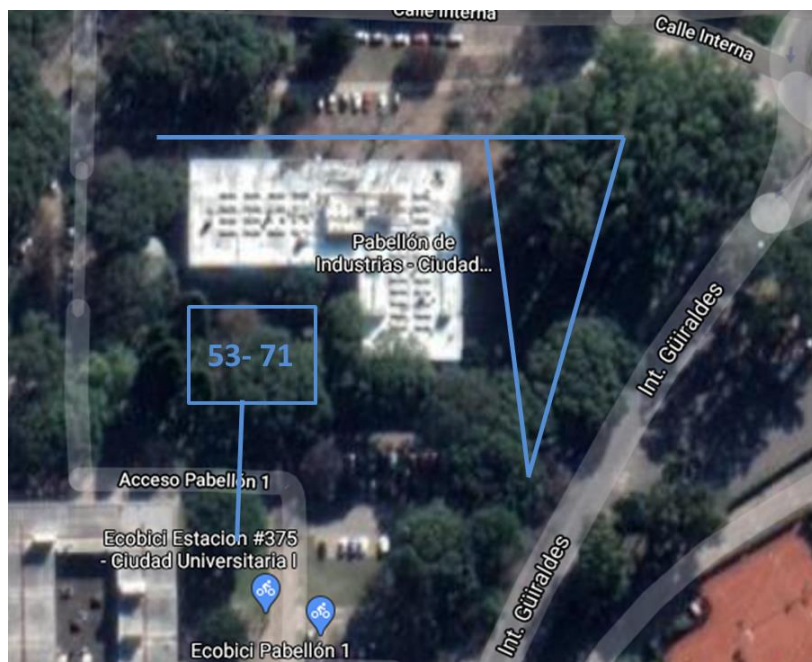


Figura 22. Muestreo realizado en industrias. Imagen satelital con la ubicación de la transecta realizada en la zona del pabellón de industrias (azul).



Figura 23. Muestreo realizado en el campo experimental. Imagen satelital con la ubicación de la transecta realizada en la zona de la entrada del campo experimental (naranja).

Análisis estadístico

Se estimó el número de especies esperadas (riqueza esperada) a través del promedio de tres índices de riqueza: Chao-1, iChao-1 y ACE. Además, se estimó la diversidad con los índices de Simpson y Shannon-Wiener y la equitatividad con el índice de Shannon. A su vez, se comparó el promedio de especies capturadas por “*pitfall*” en cada zona mediante un ANOVA, utilizando las zonas como factor fijo. Las comparaciones *a posteriori* se realizaron con el método de Tukey.

Se usó un análisis escalado multidimensional no-métrico (EMD) usando el índice de Jaccard como índice de similitud, para analizar similitudes o diferencias en la composición de especies de hormigas entre las distintas zonas muestreadas con “*pitfalls*”. Posteriormente para comparar estadísticamente si había diferencias en la composición de especies de hormigas entre las distintas zonas, se utilizó un análisis de similitudes de a pares (ANOSIM).

Para comparar las proporciones de cebos descubiertos y dominados por las distintas especies, se utilizó un modelo lineal generalizado mixto (GLMM) con distribución Bernoulli. En dicho análisis se asignó el valor de “0” a cada cebo para cada especie, si la misma no lo descubrió/dominó y de “1” si lo descubrió/dominó. Se trató a la variable especie como fija, mientras que la variable cebo fue tratada como aleatoria. Las comparaciones *a posteriori* se realizaron con el método de Tukey.

Para estudiar la relación entre las habilidades relativas de cada especie para descubrir y dominar los cebos, se realizó un análisis de correlación entre el número de cebos descubiertos y dominados por

cada especie, utilizando el coeficiente de Spearman como indicador de la correlación de estas dos variables.

Para analizar la cantidad de obreras reclutadas en función del tiempo, se utilizó un modelo lineal generalizado mixto (GLMM) con distribución binomial negativa. Solamente fueron tomados para el análisis los cebos en los cuales hubo solo una especie durante los 90 minutos. La variable especie fue tomada como factor fijo, mientras que el cebo fue tomado como factor aleatorio. Las comparaciones *a posteriori* se realizaron con el método de Tukey.

Para todos los análisis estadísticos se utilizó el software InfoStat (Di Rienzo et al., 2019) y R versión 3.6.3 (R Development Core Team, 2021).

Resultados

Muestreo usando trampas de caída

El relevamiento de las cinco zonas de estudio con trampas de caída dejó un total de 6690 hormigas colectadas (Tabla 4): 1866 en la reserva, 590 en el estacionamiento, 367 en el bioterio, 1192 en industrias y 2675 en el campo experimental. Se colectó un total de 28 especies pertenecientes a 18 géneros, siendo *Pheidole* el género con el mayor número de especies (5). Las especies y morfoespecies halladas y clasificadas fueron: *Wasmannia auropunctata*, *Pogonomyrmex naegeli*, *Dorymyrmex steigeri*, *Dorymyrmex brunneus*, *Pheidole cordiceps*, *Pheidole triconstricta*, *Pheidole bergi*, *Pheidole aberrans*, *Pheidole flavens*, *Acromyrmex lundii*, *Linepithema humile*, *Cyphomyrmex rimosus*, *Brachymyrmex cordemoyi*, *Brachymyrmex 2*, *Solenopsis invicta*, *Solenopsis clytemnestra*, *Solenopsis wasmanni*, *Gnamptogenys triangularis*, *Nylanderia fulva*, *Nylanderia steinheili*, *Hypoponera opaciceps*, *Hypoconera opacior*, *Camponotus punctulatus*, *Crematogaster sp.*, *Pseudomyrmex termitarius*, *Strumigenys louisianae*, *Typhlomyrmex pillosus*, *Neivamyrmex sp.*

Tabla 4. Relevamiento con trampas "pitfall". Número de hormigas capturadas de cada especie y su incidencia (%) en las trampas para las cinco zonas muestreadas del predio de Ciudad Universitaria (número de muestras): reserva (24), estacionamiento (15), bioterio (12), industrias (19) y campo experimental (18).

Especie	Número de hormigas capturadas / % incidencia en "pitfalls"											
	Reserva		Estacionamiento		Bioterio		Industrias		Campo experimental		Total	
	n=24	n=15	n=12	n=19	n=18	n=88						
<i>W. auropunctata</i>	432	70,83	435	100,00	4	33,33	21	42,11	0	0,00	892	50,00
<i>P. naegeli</i>	128	62,50	12	26,67	24	33,33	7	26,32	3	5,56	174	32,95
<i>D. steigeri</i>	23	25,00	0	0,00	2	13,33	0	0,00	5	20,00	30	12,50
<i>D. brunneus</i>	0	0,00	0	0,00	1	8,33	0	0,00	0	0,00	1	1,14
<i>P. cordiceps</i>	210	62,50	53	40,00	79	75,00	17	31,58	114	66,67	473	54,55
<i>P. triconstricta</i>	31	20,83	48	13,33	77	66,67	178	89,47	46	27,78	380	42,05
<i>P. bergi</i>	5	8,33	0	0,00	7	8,33	0	0,00	0	0,00	12	3,41
<i>P. aberrans</i>	6	8,33	0	0,00	12	13,33	3	5,26	2	5,26	23	6,82
<i>P. flavens</i>	0	0,00	0	0,00	0	0,00	8	15,79	6	15,79	14	6,82
<i>A. lundii</i>	872	50,00	17	40,00	17	33,33	54	75,00	18	22,22	978	39,77
<i>L. humile</i>	83	37,50	3	6,67	94	75,00	747	100,00	0	0,00	927	43,18
<i>C. rimosus</i>	7	20,83	2	13,33	1	8,33	0	0,00	40	61,11	50	21,59
<i>B. cordemoyi</i>	7	25,00	2	13,33	1	8,33	55	42,11	6	22,22	71	25,00
<i>Brachymyrmex 2</i>	6	8,33	1	6,67	5	16,67	49	42,11	34	33,33	95	22,73
<i>S. invicta</i>	24	4,17	0	0,00	0	0,00	0	0,00	98	61,11	122	13,64
<i>S. clytemnestra</i>	24	33,33	7	20,00	32	50,00	34	63,16	139	88,89	236	51,14
<i>S. wasmanni</i>	4	8,33	0	0,00	5	16,67	4	15,79	94	33,33	107	14,77
<i>G. triangularis</i>	1	4,17	1	6,67	0	0,00	1	5,26	0	0,00	3	3,41
<i>N. fulva</i>	0	0,00	2	13,33	1	8,33	0	0,00	2051	94,44	2054	22,73
<i>N. steinheili</i>	2	8,33	3	20,00	0	0,00	10	15,79	12	22,22	27	13,64
<i>H. opaciceps</i>	1	4,17	0	0,00	3	8,33	0	0,00	2	11,11	6	4,55
<i>H. opacior</i>	0	0,00	0	0,00	0	0,00	3	5,26	0	0,00	3	1,14
<i>C. punctulatus</i>	0	0,00	1	6,67	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	1,14
<i>Crematogaster sp.</i>	0	0,00	1	6,67	0	0,00	0	0,00	1	5,56	2	2,27
<i>P. termitarius</i>	0	0,00	1	6,67	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	1,14
<i>S. louisianae</i>	0	0,00	1	6,67	2	16,67	0	0,00	2	11,11	5	5,68
<i>T. pillosus</i>	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	5,26	0	0,00	1	1,14
<i>Neivamyrmex sp.</i>	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	2	5,56	2	1,14
Total	1866		590		367		1192		2675		6690	

A nivel global, las especies que tuvieron mayor incidencia en las trampas de caída fueron: *P. cordiceps* (54,55%), *S. clytemnestra* (51,14%) y *W. auropunctata* (50%) (Fig. 24A). Las más frecuentes fueron: *N. fulva* (30,70%), *A. lundii* (14,62%), *L. humile* (13,86%) y *W. auropunctata* (13,33%) (Fig. 24B). *W. auropunctata* presentó una mayor incidencia en la zona de la reserva (70,83%) y el estacionamiento (100%), *P. cordiceps* (75%) y *L. humile* (75%) en el bioterio, *L. humile* (100%) en industrias y *N. fulva* (94,44%) en el campo experimental (Tabla 4).

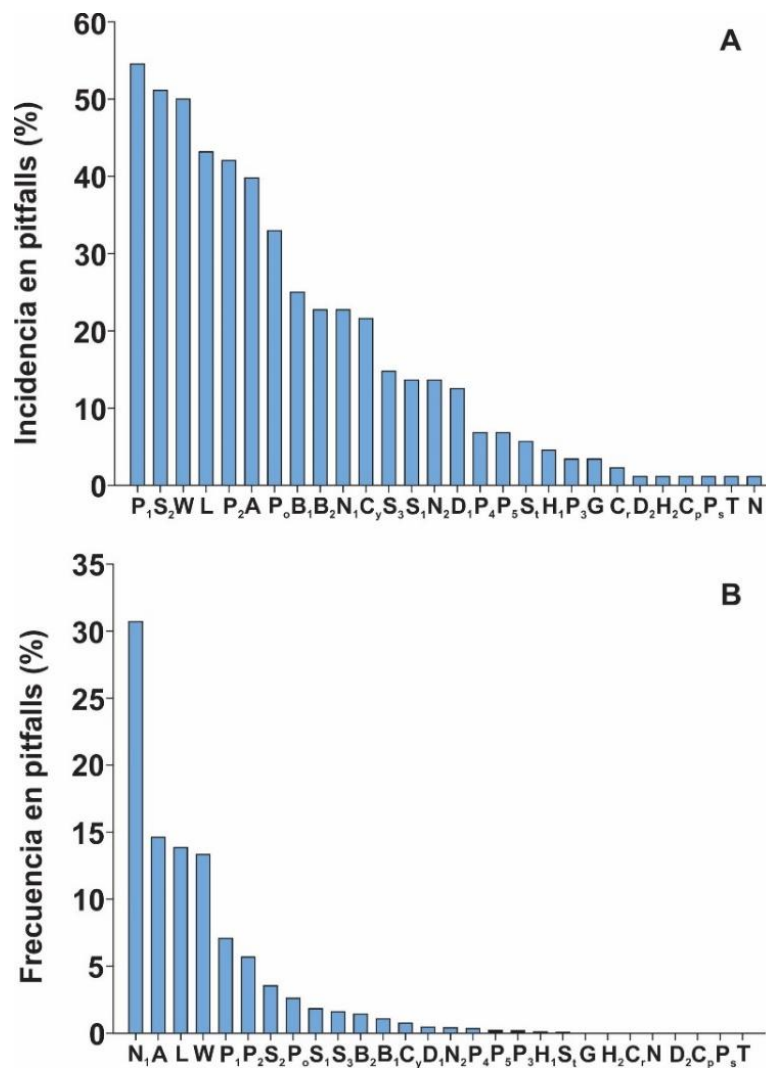


Figura 24. Abundancia de especies muestreadas. Incidencia (A) y frecuencia (B) de cada especie o morfoespecie de hormiga colectada con trampas de caída (“pitfall”) en el predio de Ciudad Universitaria: *W. auropunctata* (W), *P. naegeli* (P₀), *D. steigeri* (D₁), *D. brunneus* (D₂), *P. cordiceps* (P₁), *P. triconstricta* (P₂), *P. bergi* (P₃), *P. aberrans* (P₄), *P. flavens* (P₅), *A. lundii* (A), *L. humile* (L), *C. rimosus* (C_y), *B. cordemoyi* (B₁), *Brachymyrmex 2* (B₂), *S. invicta* (S₁), *S. clytemnestra* (S₂), *S. wasmanni* (S₃), *G. triangularis* (G), *N. fulva* (N₁), *N. steinheili* (N₂), *H. opaciceps* (H₁), *H. opacior* (H₂), *C. punctulatus* (C_p), *Crematogaster* sp. (C_r), *P. termitarius* (P₅), *S. louisianae* (S_t), *T. pillosus* (T), *Neivamyrmex* sp. (N).

La riqueza esperada en cada zona fue: 19,19 para la reserva, 23,53 para el estacionamiento, 21,25 para el bioterio, 17,40 para industrias y 19,17 para el campo experimental (Tabla 5). La riqueza esperada agrupando las cinco zonas fue de 31,46 especies. De esta manera se observó un porcentaje de captura superior al 72% en todas las zonas y del 89% para las cinco zonas juntas (Tabla 5). Por otro lado, al comparar la cantidad de especies capturadas por trampa entre las distintas zonas (Tabla 5), se observó que tanto en industrias ($5,58 \pm 0,43$ especies), como en el campo experimental ($6,11 \pm 0,44$ especies) se capturaron un número significativamente mayor de especies que en el estacionamiento ($3,47 \pm 0,48$ especies). Las zonas de la reserva ($4,63 \pm 0,38$ especies) y el bioterio ($5,08 \pm 0,54$ especies) presentaron valores intermedios ($F_{(4; 83)} = 4,87$; $p < 0,0014$; $p < 0,05$, contrastes *a posteriori*). Finalmente, se utilizaron tres índices de diversidad (Simpson (1-D), Shannon-Wiener (H) y equitatividad (J)) para comparar qué tan diversas son las distintas zonas y qué tan igualmente representadas están las distintas especies en las mismas (Tabla 5). La zona del bioterio resultó ser la más diversa (1-D = 0,83; H = 2,08), mientras que la del campo experimental la menos diversa (1-D = 0,40; H = 1,05), la diversidad total para todo el predio fue mayor que para cada zona por separado (1-D = 0,84; H = 2,16). La equitatividad alcanzó su mayor valor en el bioterio (J = 0,72), mientras que el menor valor se obtuvo en el campo experimental (J = 0,36), adquiriendo un valor marginalmente equitativo para el total del predio (J = 0,65).

Tabla 5. Indicadores de diversidad de las especies muestreadas. Cantidad de especies observadas, esperadas e índices de diversidad para las especies capturadas mediante trampas “*pitfalls*” en las cinco zonas del predio de Ciudad Universitaria.

	Zona muestreada					Total
	Reserva	Estacionamiento	Bioterio	Industrias	Campo Experimental	
Spp. observadas	18	17	18	16	19	28
Spp. esperadas	19,09	23,53	21,25	17,40	19,17	31,46
% Spp. esperadas capturadas	94,27	72,25	84,71	91,97	99,10	89
Promedio de spp. por pitfall	$4,63 \pm 0,38$ (AB)	$3,47 \pm 0,48$ (A)	$5,08 \pm 0,54$ (AB)	$5,58 \pm 0,43$ (B)	$6,11 \pm 0,44$ (B)	$4,89 \pm 0,23$
Simpson_1-D	0,71	0,44	0,83	0,58	0,40	0,84
Shannon_H	1,62	1,07	2,08	1,40	1,05	2,16
Equitatividad_J	0,56	0,38	0,72	0,50	0,36	0,65

La composición de hormigas difirió significativamente entre varias de las zonas muestreadas con “*pitfalls*” (ANOSIM, $R=0,45$; $p < 0,0001$; Fig. 25). La reserva se diferenció significativamente de las zonas de industrias ($p < 0,001$) y el campo experimental ($p < 0,0001$). Por su lado, la zona del estacionamiento difirió significativamente del bioterio, industrias y el campo experimental ($p < 0,001$). La zona del bioterio difirió significativamente con respecto a industrias ($p = 0,04$) y al campo

experimental ($p < 0,001$). Finalmente, la zona de industrias difirió significativamente del campo experimental ($p < 0,001$). No se observaron diferencias en la composición de especies entre la reserva y el estacionamiento ($p = 0,57$), ni entre la reserva y el bioterio ($p = 0,28$).

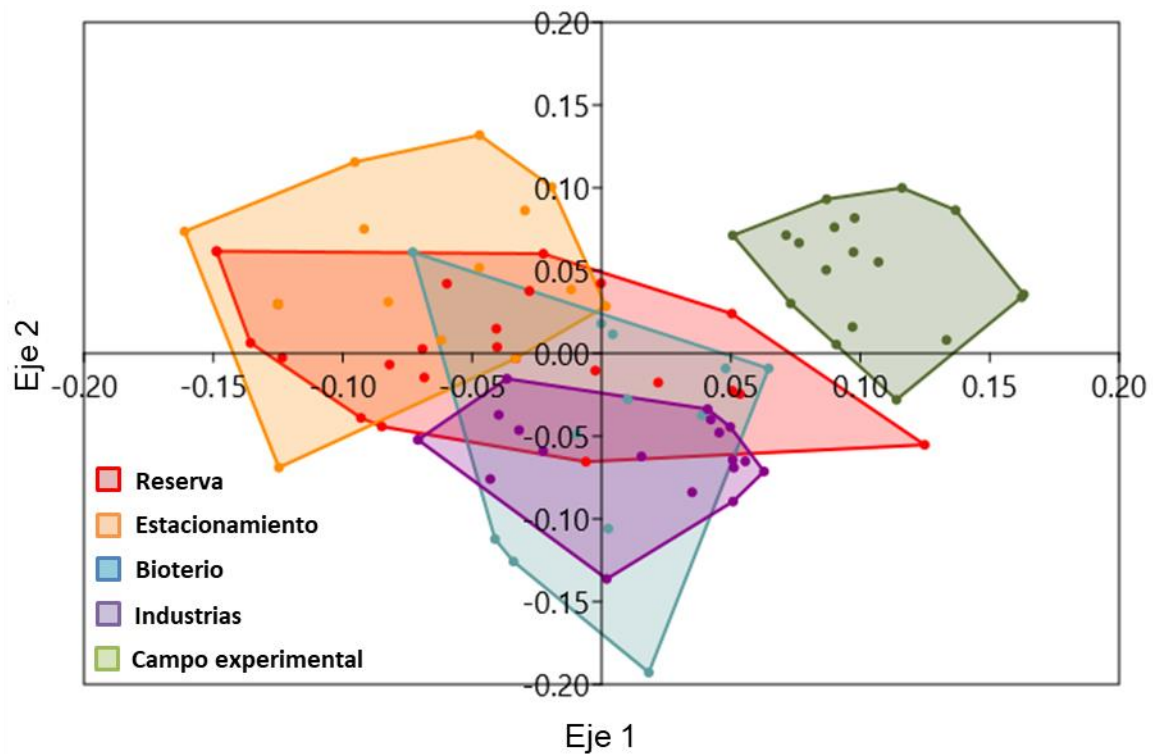


Figura 25. Composición de especies muestreadas con “pitfalls”. Análisis escalado multidimensional no métrico (EMD) en las cinco zonas muestreadas con “pitfalls” en el predio de Ciudad Universitaria. Cada nube representa a una zona diferente: en rojo la reserva, en naranja el estacionamiento, en azul el bioterio, en violeta industrias y en verde el campo experimental ($R^2 = 0,45$; Stress = 0,3).

El análisis de la predominancia en “pitfalls” arrojó que la especie que sumó mayor cantidad de trampas con el mayor número de hormigas fue *W. auropunctata* con el 21,60%, seguida por *N. fulva* (19,32%), *L. humile* (18,18%), *P. cordiceps* (17,05%), *P. triconstricta* (11,36%), *A. lundii* (5,68%), *P. naegeli* (3,41%), *B. cordemoyi* (1,14%), *Brachymyrmex 2* (1,14%) y *D. steigeri* (1,14%) (Fig. 26).

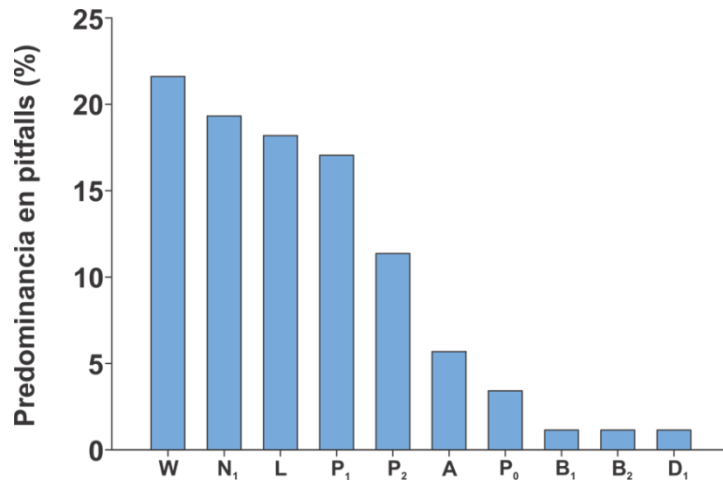


Figura 26. Predominancia en “pitfalls”. Porcentaje de trampas con la mayor cantidad de individuos por especie durante el relevamiento realizado con “pitfalls” en el predio de Ciudad Universitaria: *W. auropunctata* (W), *N. fulva* (N₁), *L. humile* (L), *P. cordiceps* (P₁), *P. triconstricta* (P₂), *A. lundii* (A), *P. naegeli* (P₀), *B. cordemoyi* (B₁), *Brachymyrmex 2* (B₂) y *D. steigeri* (D₁).

Muestreo usando cebos atrayentes

P. cordiceps fue la especie con la mayor incidencia en los cebos (43,33%), seguida de *L. humile* (34,44%), *N. fulva* (22,22%), *A. lundii* (21,11%), *S. clytemnestra* (21,11%), *W. auropunctata* (20,00%), *B. cordemoyi* (17,78%), *S. invicta* (8,89%) y *P. triconstricta* (7,78%) (Fig. 27).

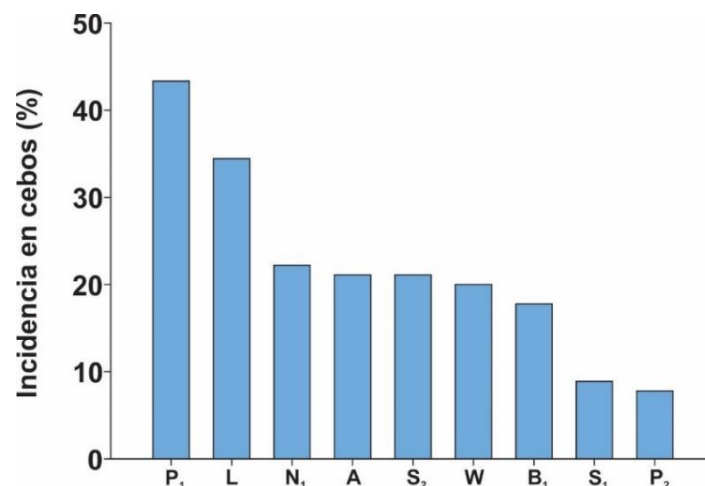


Figura 27. Incidencia en cebos. Porcentaje de cebos en los que las especies de hormigas estuvieron presentes en el muestreo realizado en el predio de Ciudad Universitaria. *P. cordiceps* (P₁), *L. humile* (L), *N. fulva* (N₁), *A. lundii* (A), *S. clytemnestra* (S₂), *W. auropunctata* (W), *B. cordemoyi* (B₁), *S. invicta* (S₁), *P. triconstricta* (P₂).

El análisis de los cebos reveló diferencias en la dinámica de colonización de los mismos (Tabla 6). Las especies más descubridoras fueron *N. fulva* (0,64) y *P. cordiceps* (0,45), mientras que las peores descubridoras fueron *P. triconstricta* (0,03) y *S. clytemnestra* (0,02). A su vez, las especies que descubrieron más cebos de los esperados por su abundancia fueron *P. cordiceps* (8,88) y *N. fulva* (7,53). En contraste, las que descubrieron menos cebos de los esperados por su abundancia fueron *P. triconstricta* (-9,11) y *S. clytemnestra* (-11,30). En cuanto al reclutamiento masivo de obreras en los cebos dominados, *L. humile* fue la especie que más obreras reclutó al final del ensayo, con un promedio de 232,29 obreras por cebo, mientras que *B. cordemoyi* y *S. invicta* no reclutaron ninguna obrera al final del ensayo. Las especies que poseen una mayor dominancia espacial fueron *P. cordiceps* (54,55%) y *S. clytemnestra* (51,14%), mientras que *N. fulva* (22,73%) y *S. invicta* (13,64%) presentaron el menor valor. En cuanto a la dominancia numérica, las especies que alcanzaron un mayor valor fueron *N. fulva* (30,70%) y *A. lundii* (14,62%), mientras que *S. invicta* (1,82%) y *B. cordemoyi* (1,06%) alcanzaron los valores más bajos. Finalmente, *N. fulva* (0,39) y *L. humile* (0,33) fueron las especies con la mayor dominancia ecológica, mientras que *B. cordemoyi* (0,00) y *S. invicta* (0,00) las menos dominantes.

Tabla 6. Dinámica de colonización de los cebos. Habilidades de descubrimiento, reclutamiento y dominancia en los cebos colocados en las cinco zonas del predio de Ciudad Universitaria, en función de su presencia y abundancia en los *pitfalls*, para las nueve especies de hormigas más relevantes, de acuerdo a seis índices: descubrimiento de alimento (DA) y descubrimiento residual (DR); reclutamiento masivo (RM); dominancia espacial (DE), dominancia numérica (DN) y dominancia ecológica (DEC). Cada valor está acompañado entre paréntesis por el orden relativo (jerarquía) que obtuvo esa especie.

Especie	Descubrimiento		RM	Dominancia		
	DA	DR		DE	DN	DEC
<i>P. cordiceps</i>	0,45 (2)	8,88 (1)	94,29 (6)	54,55 (1)	7,07 (5)	0,29 (3)
<i>L. humile</i>	0,33 (5)	2,61 (3)	232,29 (1)	43,18(4)	13,86 (3)	0,33 (2)
<i>N. fulva</i>	0,64 (1)	7,53 (2)	151,25 (4)	22,73 (8)	30,70 (1)	0,39 (1)
<i>A. lundii</i>	0,28 (6)	0,43 (6)	30,80 (7)	39,77 (6)	14,62 (2)	0,11 (5)
<i>W. auropunctata</i>	0,20 (7)	-2,75 (7)	190,84 (2)	48,86 (3)	13,33 (4)	0,27 (4)
<i>B. cordemoyi</i>	0,36 (4)	1,99 (4)	0 (8)	25,00 (7)	1,06 (9)	0,00 (8)
<i>S. invicta</i>	0,41 (3)	1,72 (5)	0 (8)	13,64 (9)	1,82 (8)	0,00 (8)
<i>S. clytemnestra</i>	0,02 (9)	-11,3 (9)	149,93 (5)	51,14 (2)	3,53 (7)	0,07 (6)
<i>P. triconstricta</i>	0,03 (8)	-9,11 (8)	185,51 (3)	42,05 (5)	5,68 (6)	0,05 (7)

Los datos recolectados a partir de los cebos permitieron detectar diferencias significativas en cuanto a la habilidad de descubrir fuentes de alimentos ($X^2_8 = 38,93$; $p < 0,001$). *P. cordiceps* ($0,31 \pm 0,05$) descubrió significativamente más cebos que *P. triconstricta* ($0,02 \pm 0,02$), *S. invicta* ($0,06 \pm 0,02$) y *S. clytemnestra* ($0,03 \pm 0,02$). Las demás especies presentaron valores intermedios que no difirieron significativamente del resto (contrastes *a posteriori*, $p < 0,05$). Por otro lado, solo se observaron diferencias marginalmente significativas en la habilidad para dominar los cebos entre las nueve especies que fueron atraídas ($X^2_8 = 15,52$; $p = 0,0498$). No obstante, los contrastes *a posteriori* no detectaron diferencias significativas entre las especies ($p > 0,05$; Fig. 28).

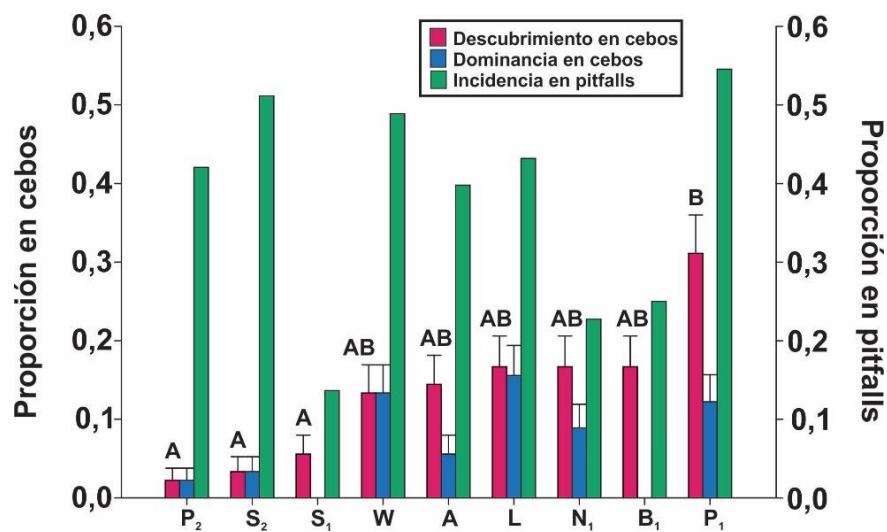


Figura 28. Cebos descubiertos y dominados. Proporción de cebos descubiertos (en rojo) y dominados (en azul) por las distintas especies para el muestreo realizado con cebos en las cinco zonas del predio de Ciudad Universitaria: *P. triconstricta* (P₂), *S. clytemnestra* (S₂), *S. invicta* (S₁), *W. auropunctata* (W), *A. lundii* (A), *L. humile* (L), *N. fulva* (N₁), *B. cordemoyi* (B₁), *P. cordiceps* (P₁). Se grafican las proporciones con sus respectivos errores estándar. Además, se acompaña a modo de comparación la incidencia de cada especie en “pitfalls” (en verde). Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Se analizó el comportamiento de reclutamiento de las hormigas en los cebos, solo tomando en cuenta aquellos en los cuales no hubo interacciones con otras especies durante los 90 min. De esta manera el análisis fue hecho solo con cuatro especies. Se encontraron diferencias en los patrones de reclutamiento de las diferentes especies de hormigas ($X^2_3 = 12,40$; $p = 0,0061$; Fig. 29), sin embargo solo *L. humile* reclutó significativamente más obreras en los cebos que *N. fulva* durante los 90 minutos (contrastes *a posteriori*, $p < 0,05$).

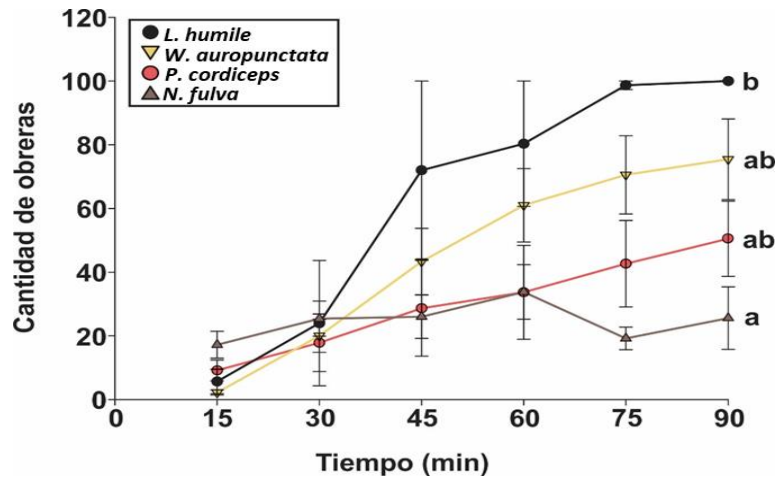


Figura 29. Reclutamiento de obreras en cebos. Cantidad de obreras de cuatro especies de hormigas reclutadas en los cebos a lo largo de los 90 minutos que duró el ensayo: *L. humile* (n=5, negro), *W. auropunctata* (n=9, amarillo), *P. cordiceps* (n=6, rojo) y *N. fulva* (n=3, marrón). Se grafican las medias en los seis períodos de observación con sus respectivos errores estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Finalmente, se observó una relación positiva entre el número de cebos descubiertos y dominados ($r_s = 0,89$; $p = 0,0135$; Fig. 30). *A. lundii*, *P. cordiceps*, y *N. fulva* fueron mejores descubriendo que dominando los cebos, mientras que *W. auropunctata* fue mejor dominando que descubriendo los cebos. *S. clytemnestra* y *P. triconstricta* poseen un muy bajo desempeño para ambas variables. Finalmente, *L. humile* presenta valores similares para ambas variables, mientras que *B. cordemoyi* y *S. invicta* fueron excluidas del análisis debido a que no dominaron ningún cebo.

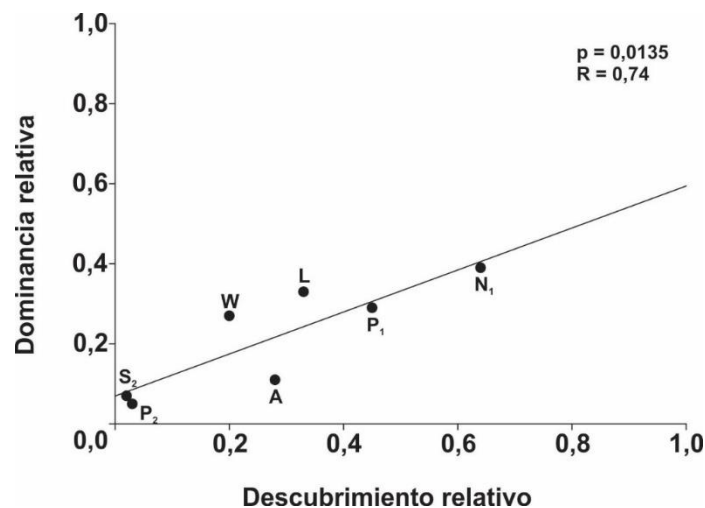


Figura 30. Habilidades relativas para descubrir y dominar cebos. Correlación entre las habilidades para descubrir y dominar cebos colocados en el predio de Ciudad Universitaria para las siete especies más atraídas: *P. triconstricta* (P₂), *S. clytemnestra* (S₂), *W. auropunctata* (W), *A. lundii* (A), *L. humile* (L), *N. fulva* (N₁), *P. cordiceps* (P₁).

Discusión

Muestreo usando trampas de caída

Se logró estudiar con éxito las habilidades competitivas de *W. auropunctata* en el predio de Ciudad Universitaria, el cual se encuentra en su límite austral de distribución. Se registraron 28 especies de hormigas en las cinco zonas muestreadas, lo que representa el 89% de todas las especies esperadas para el predio; más del 70% de las especies esperadas en cada una de las cinco zonas. Por otro lado, la equitatividad total y de cada zona muestra que algunas especies están más representadas que otras, lo que podría dar algún indicio de superioridad en abundancia o dominancia por parte de alguna de las especies.

W. auropunctata fue la tercera especie con más incidencia en trampas de caída (50%), la cuarta más frecuente en las mismas (13,33%) y la sexta especie con más incidencia en los cebos (20%), siendo una de las más abundantes tanto en la zona de la reserva, como en la del estacionamiento. Un muestreo previo realizado en el mismo predio con trampas de caída en el año 2015, reveló que *W. auropunctata* era la especie de hormiga más frecuente (23%) y la novena con más incidencia en trampas de caída (entre el 40 y 45%)(Solá, 2015). Si bien se puede observar que en este estudio su presencia en “pitfalls” es mayor, su frecuencia fue un 10% menor. Esta diferencia podría atribuirse al aumento en la abundancia de otras especies, como ser la de *N. fulva*, la cual aumentó drásticamente del 1% registrado por Solá (2015) al 30,70% registrado en este estudio. El mismo patrón fue observado en los EE.UU., donde *N. fulva* incrementó considerablemente su abundancia. Esto le habría permitido ser dominante en varios ecosistemas, desplazando a las hormigas nativas e incluso a otras hormigas invasoras introducidas previamente, como *S. invicta* (LeBrun et al., 2013; LeBrun et al., 2014; Meyers & Gold, 2008). En nuestro trabajo, este incremento drástico en la abundancia por parte de *N. fulva*, podría ser parcialmente explicado por las perturbaciones que generó la construcción de dos grandes edificios en el predio de Ciudad Universitaria, el 0 + infinito y el IFIBYNE, que pueden haber influido sustancialmente en la abundancia y diversidad de especies de hormigas. Por otro lado, *W. auropunctata* presentó la mayor predominancia en trampas de caída (21,60%), valor similar al obtenido por Solá en 2015 (18%). Este valor está principalmente atribuido a su presencia en dos zonas contiguas (reserva y el estacionamiento), donde fue muy abundante. Esta mayor abundancia podría ser explicada por variables ambientales, ya que son los dos sitios más soleados, con mayor porcentaje de arbustos, menor perturbación y una buena cantidad de hojarasca en el suelo. En dos estudios realizados en reservas en Brasil y Argentina, esta especie se asoció con matorrales, un ambiente que presenta un gran porcentaje de arbustos y hojarasca, así como buena calidad de luz (Brandão et al., 2011; Calcaterra et al., 2010). Todos estos resultados muestran que *W.*

auropunctata alcanza una gran presencia en el predio de Ciudad Universitaria, siendo una de las especies de hormiga más abundantes.

La abundancia de *W. auropunctata* varió mucho en otros estudios realizados en Argentina. En dos zonas boscosas del noroeste de Corrientes presentó una baja frecuencia (0,30%) e incidencia (4%), mientras que en el Parque Nacional Ciervo de los Pantanos, Buenos Aires, presentó una baja frecuencia (1,38%), pero alta incidencia (25%) (Calcaterra et al., 2008; Calcaterra et al., 2016). Por el contrario, su frecuencia e incidencia en “*pitfalls*” fue mucho mayor en un estudio realizado en Loreto, Santiago del Estero, fuera de su principal área de ocurrencia, con un 14% y 54,5%, respectivamente; mientras que su incidencia en cebos fue del 29,5% (Chifflet, 2016). En muestreos realizados con “*pitfalls*” en ambientes naturales en zonas invadidas por esta especie (Gabón, Nueva Caledonia y Galápagos) o en terrenos rurales y aldeas (Camerún), *W. auropunctata* presentó una alta abundancia de entre 24,5 y 95% (Le Breton et al., 2003; Mbenoun Masse et al., 2017; Ndoutoume-Ndong & Mikissa, 2007; Roque Albelo et al., 2000). Estos resultados sugieren que *W. auropunctata* es más abundante en áreas marginales, como ser el límite sur de distribución donde se encuentra nuestro sitio de estudio, o áreas fuera de su principal área de distribución nativa, la Cuenca del Plata, como ser Santiago del Estero u otros países, posiblemente a causa de un ambiente competitivo distinto.

Muestreo usando cebos atrayentes

Si bien *W. auropunctata* presentó una alta abundancia en algunos sectores del predio de Ciudad Universitaria, para conocer cómo se relaciona con el resto de las especies de la comunidad de hormigas a la hora de competir por un recurso alimenticio fue necesario estudiar sus habilidades competitivas por explotación e interferencia mediante índices de descubrimiento, reclutamiento y dominancia.

Aunque *W. auropunctata* no difirió significativamente en el número de cebos descubiertos con la especie que alcanzó el máximo valor (*P. cordiceps*), su habilidad para descubrirlos fue menor de lo esperado por su abundancia. Por lo tanto, su abundancia en el predio y puntualmente en las dos zonas donde estuvo más presente, no es suficiente para lograr una buena explotación de las fuentes de alimento. Estos resultados difieren parcialmente con otros estudios de campo, donde el número de cebos descubiertos fue el esperado de acuerdo a su abundancia (Chifflet, 2016), mientras que concuerda con estudios realizados en laboratorio, donde fue la especie que más demoró en encontrar las fuente de alimento (Vonshak et al., 2010; Vonshak et al., 2012). Esto podría deberse a

que *W. auropunctata* es una especie que se desplaza lentamente con respecto a las otras especies presentes en este ensamble, a esta característica se suma su pequeño tamaño que hace que le cueste más arribar a los cebos. Otros trabajos en cambio postulan que la competencia por explotación es una de las principales fortalezas de *W. auropunctata* (Achury et al., 2008; Le Breton et al., 2003; Le Breton et al., 2005). Sin embargo, a pesar de la discrepancia en la bibliografía, este estudio difiere del resto en muestrear una zona altamente urbanizada, en la que además coexiste con otras especies de hormigas invasoras, como *L. humile*, *S. invicta* y *N. fulva*. Además, hay que tener en cuenta que Buenos Aires está en el extremo sur de su distribución actual, por lo cual las bajas temperaturas durante algunas épocas del año podrían jugar un rol importante afectando las habilidades competitivas del ensamble de hormigas, en especial de las otras especies de hormigas invasoras con las que coexiste localmente.

Si bien *W. auropunctata* no es la especie que encuentra primero los cebos, si es una de las que más recluta una vez que lo hace, llegando a alcanzar en los cebos dominados un promedio de 190,84 hormigas por cebo hacia el final del ensayo (minuto 90). Incluso no difiere significativamente en la curva de reclutamiento durante los 90 minutos de *L. humile*, que es la especie que alcanzó el valor máximo de obreras reclutadas en cebos en los que no interactuó con otras especies. Esto es consistente con los resultados obtenidos en la mayoría de los trabajos que usan cebos en un ensamble de hormigas, donde esta especie se encuentra presente (Achury et al., 2008; Clark et al., 1982; Le Breton et al., 2005; Meier, 2021; Tennant, 2021; Vonshak et al., 2010). Esta gran capacidad de reclutamiento en masa podría ser explicada por su capacidad de formar supercolonias con muchos nidos interconectados próximos entre sí, además de que suelen forrajear en sitios cercanos a sus nidos, lo que le permite concentrar una gran cantidad de obreras rápidamente.

Sabiendo que *W. auropunctata* recluta una alta cantidad de obreras en los cebos es necesario analizar si esta característica es suficiente para dominarlos. En primer lugar, su dominancia espacial es elevada ya que es la tercera especie más incidente en las “*pitfalls*”, sin embargo su dominancia numérica es intermedia, ya que es la cuarta especie más frecuente en “*pitfalls*”, como fue mencionado anteriormente. No obstante, al calcular la dominancia ecológica, la cual es independiente de su abundancia, es la cuarta especie más dominante. Este valor intermedio indica que no es ni la mejor ni la peor a la hora de monopolizar las fuentes de alimento. Por lo general, se clasifica a *W. auropunctata* como una especie extirpadora, es decir que logra desplazar a las demás de las fuentes de alimento. Numerosos son los trabajos realizados en el rango introducido donde la presión competitiva parece ser distinta, en los cuales esta hormiga no solo desplaza a otras, sino que domina los cebos (Clark et al., 1982; Delsinne et al., 2007; Le Breton et al., 2005; Meier, 2021;

Tennant, 2021; Vonshak et al., 2010). El hecho de que en el presente estudio no se haya encontrado una dominancia tan marcada debería ser en gran medida explicado por el hecho de que en el predio de Ciudad Universitaria convive con otras hormigas que son buenas competidoras, como ser *P. cordiceps*, *N. fulva* y *L. humile*, que monopolizaron sus propios territorios. Es probable que, si bien *W. auropunctata* puede reclutar una gran cantidad de obreras, no siempre llega a hacerlo antes de ser desplazada por una de estas especies, o al encontrarlas en el cebo no llega a ser suficientemente agresiva como para desplazarlas. Se debe tener en cuenta que dos de estas tres especies son invasivas y si bien están dentro de su rango nativo, comparten las mismas características que le ayudan a *W. auropunctata* a colonizar rápidamente una zona.

Conclusión

Si tomamos en cuenta todos los índices usados para caracterizar las relaciones competitivas en el ensamble de hormigas estudiado, podríamos decir que, *W. auropunctata* es una especie con un bajo desempeño a la hora de descubrir fuentes de alimento, a pesar de lograr una alta abundancia en zonas de alimentación cercanas a su nido. Esta característica le ayuda a lograr una buena dominancia espacial y numérica, en algunos ambientes más favorables en su límite sur de distribución, como ser lugares soleados, con mayor porcentaje de arbustos, buena cantidad de hojarasca y poca antropización. No obstante, su alta capacidad para reclutar un gran número de obreras, le ayuda a dominar las fuentes de alimento en mayor o menor medida. En esta región, parece ser mejor dominando que descubriendo recursos alimenticios. En base a esto, se concluye que *W. auropunctata* no es una buena competidora, ya que no escapa al compromiso entre descubrir y dominar fuentes de alimento en su límite sur de distribución. Es decir, no es una buena descubridora y dominadora de fuentes de alimento. De esta manera, queda rechazada la hipótesis propuesta en este capítulo. Se podría decir que la competencia interespecífica es un factor clave que limita su abundancia en su área de distribución nativa. El diferente ambiente competitivo en su rango introducido le permite aumentar su abundancia, la cual le permite una mayor capacidad de reclutamiento en los nuevos territorios invadidos, pero no le es suficiente para alcanzar un buen desempeño al descubrir y dominar fuentes de alimento, en ambientes antrópicos. En base a todo esto, la competencia interespecífica parecería limitar la distribución austral de *W. auropunctata*. No obstante, sería importante conocer cómo las habilidades competitivas son influenciadas por factores abióticos, como la temperatura, en especial en dicho límite de distribución.

CAPITULO V

Efecto de la temperatura sobre la jerarquía de dominancia entre *Wasmannia auropunctata* y otras tres especies de hormigas invasoras simpátricas en su límite austral de distribución



Introducción

En los capítulos anteriores se analizó cómo factores abióticos, como la temperatura y la humedad, o bióticos, como la competencia interespecífica, pueden limitar la distribución de *W. auropunctata*. En el presente capítulo, se analizará el efecto combinado de dos aspectos de estos factores, la temperatura y la competencia interespecífica por interferencia.

Como se ha mencionado en el capítulo anterior, las distintas especies de hormigas conviven en un ensamble, el cual está organizado jerárquicamente en base a su dominancia competitiva, entre otros factores, donde las especies dominantes superan a las subordinadas (Fellers, 1987; Savolainen & Vepsäläinen, 1989). Las especies comportamentalmente dominantes excluyen a sus potenciales competidores de sus territorios y de esta manera reducen el éxito de forrajeo de las especies subordinadas (Andersen & Patel, 1994; Perfecto, 1994; Savolainen, 1990; Savolainen, 1991; Vepsäläinen & Savolainen, 1990). De esta manera, las especies que mediante sucesivos ataques, combates y persecuciones monopolizan un recurso, desencadenando un comportamiento evasivo en sus rivales, se las denomina como comportamentalmente dominantes (Morse, 1974).

No obstante, estas jerarquías no son fijas, ya que no están solamente gobernadas por las habilidades competitivas comportamentales de las especies. Cuando se encuentran presentes fluctuaciones de temperatura en el ambiente, tanto estacionales como diarias, las distintas tolerancias térmicas juegan también un rol importante pudiendo afectar la jerarquía de dominancia. Las especies dominantes de los ensambles suelen presentar menor amplitud en su tolerancia térmica, que las especies subordinadas, y esta característica es la que modifica las jerarquías de dominancia dentro del ensamble. Las especies subordinadas pueden permanecer forrajeando por más tiempo, ya que toleran temperaturas mínimas y máximas mayores, lo que les permite permanecer en los sitios de forrajeo en las horas climáticamente más desfavorables, a pesar de no contar con grandes habilidades para el combate (Heatwole & Muir, 1989; Vepsäläinen & Savolainen, 1990; Cerda et al., 1997). De esta manera, las especies subordinadas reducen la probabilidad de cruzarse con las especies dominantes forrajeando en un tiempo restringido, donde las condiciones climáticas son más adversas. Numerosos estudios muestran que la actividad de forrajeo en hormigas está relacionada a la temperatura a nivel del suelo (Andersen, 1992; Marsh, 1988; Porter & Tschinkel, 1987; Roeder et al., 2022; Wehner et al., 1992). Incluso las altas temperaturas pueden llegar a afectar el reclutamiento de algunas especies debido a la evaporación de las feromonas de camino (Van Oudenhove et al., 2012). Se puede observar entonces que, así como existe un compromiso en las especies que conforman un ensamble de hormigas entre la habilidad para descubrir un recurso y la habilidad para dominarlo, existe otro entre ser comportamentalmente dominante o tener un

amplio rango de tolerancia térmica (Bestelmeyer, 2000). Son justamente este tipo de compromisos los que permiten la coexistencia de un gran número de especies dentro del ensamble.

En los últimos años se realizaron numerosos estudios utilizando modelos de distribución de especies, los cuales indican que muchas especies de hormigas invasoras todavía no alcanzaron a cubrir toda su área de distribución geográfica potencial (Bertelsmeier et al., 2013a; Bertelsmeier et al., 2013b; Fitzpatrick et al., 2007; Roura-Pascual et al., 2009). No solo eso, sino que las distribuciones potenciales de las especies invasoras se solaparían en un porcentaje bastante alto (Bertelsmeier et al., 2015a). Conociendo este escenario, y teniendo en cuenta que *W. auropunctata* ya se encuentra coexistiendo localmente con otras tres especies de hormigas invasoras de importancia mundial (*S. invicta*, *L. humile* y *N. fulva*) en su límite austral de distribución en C.A.B.A. (Argentina), es de sumo interés estudiar cómo la temperatura ambiente puede estar afectando las relaciones de dominancia entre estas especies. Esto es especialmente importante para predecir el resultado de sus interacciones competitivas de acuerdo a las temperaturas que se dan naturalmente a lo largo del día y en las distintas estaciones del año y también para predecir qué pasaría si *W. auropunctata* extiende su distribución hacia regiones más australes en un futuro cercano. En dichas regiones las temperaturas son menores y en la actualidad solo *S. invicta* y *L. humile* están presentes. Además, cómo serían las jerarquías de dominancia si estas cuatro especies coexistieran en regiones australes al rango de distribución actual de *W. auropunctata* o en otras regiones del mundo a donde podrían ser introducidas.

Por lo tanto, la hipótesis de este capítulo es que cambios en la temperatura producen modificaciones en la jerarquía de dominancia entre *W. auropunctata* y otras tres especies invasoras simpátricas: *N. fulva*, *L. humile* y *S. invicta*. En base a la información obtenida para *W. auropunctata* en el capítulo II acerca de sus tolerancias térmicas y en el capítulo IV sobre su dominancia ecológica en el ensambles de hormigas en su límite austral de distribución, sumado al conocimiento de la distribución actual de las cuatro especies, se espera que *W. auropunctata* tenga una menor dominancia comportamental a temperaturas bajas que a temperaturas más altas.

Materiales y Métodos

Recolección y mantenimiento de las colonias

Se recolectaron dos colonias de las siguientes cuatro especies: *W. auropunctata*, *L. humile*, *N. fulva* y *S. invicta*. Todas fueron recogidas dentro de las inmediaciones del complejo de Ciudad Universitaria en C.A.B.A., con la excepción de una colonia de *N. fulva* que fue obtenida en las inmediaciones de la Fundación para el Estudio de Especies Invasivas (FuEDEI), en Hurlingham, provincia de Buenos Aires. Cada una de ellas se colocó en un contenedor de plástico, junto con una porción importante del sustrato donde fueron descubiertas, con las paredes recubiertas con Fluón, para evitar escapes. Además, los contenedores poseían agujeros en su tapa para obtener una buena aireación. Los contenedores estaban además cubiertos con tules para evitar posibles escapes de las castas aladas. Las colonias se mantuvieron dentro de una cámara de cría a una temperatura de $25 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, con un ciclo lumínico de 12:12 hs, luz:oscuridad. La alimentación consistió en porciones de pechuga de pollo y cucarachas dos veces por semana. Además, cada recipiente contenía agua y solución azucarada *ad libitum*.

Temperaturas críticas (TC)

Se determinó el rango de tolerancias térmicas de las cuatro especies de hormigas con el fin de conocer el rango de temperaturas en el cual todas ellas están activas. En base a este rango, se establecieron tres temperaturas ambiente (mínima, media y máxima) a las cuales se realizaron los ensayos de dominancia para calcular los diferentes índices. Para ello se midió la temperatura crítica mínima y máxima de todas las especies, como fue descrito en el capítulo II. En total, se usaron 30 obreras de cada especie para medir la TC_{max} y otras 30 obreras diferentes para medir la TC_{min}.

Índice de Dominancia

Se realizaron confrontaciones en grupos pareados de 10 vs 10 obreras entre las cuatro especies de hormigas invasoras en placas de Petri de 5,5 cm de diámetro, con sus paredes recubiertas con Fluón para evitar escapes. Las confrontaciones se llevaron a cabo dentro de una cámara de temperatura (PTC-1; SSI) configurada a las tres temperaturas que abarcan todo el rango de actividad de las cuatro especies, con un controlador de temperatura (SSI, PELT-5). Previo al inicio de la confrontación, se colocaron las 10 obreras de cada especie bajo dos tubos dentro de la placa de Petri para realizar una aclimatación de 5 minutos. Luego se levantaron los tubos para dar inicio a la confrontación por un lapso de 30 minutos. Finalizado ese período de tiempo, se contabilizó la cantidad de obreras vivas

(V), heridas (H) y muertas (M) de cada especie. Con esos datos, y en combinación con las fórmulas planteadas en Bertelsmeier y colaboradores (2015b), se confeccionaron tres índices diferentes: índice de supervivencia (IS), índice de muertes provocadas (IM) e índice de dominancia (ID). Por cada par de especies (seis combinaciones en total), se realizaron cinco confrontaciones a cada temperatura para cada colonia, eso significa que cada especie participó en 30 confrontaciones en total teniendo en cuenta ambas colonias (N), en cada una de las temperaturas usadas.

$$IS = (V + 0,5H)/N$$

$$IM = (M + 0,5H)/N$$

$$ID = (IS + IM)/2$$

Como control, para comprobar que las temperaturas utilizadas *per se* no provocan ninguna mortalidad, se introdujeron cuatro grupos de diez hormigas de una misma especie en la cámara a cada una de las temperaturas seleccionadas durante 40 minutos. Este procedimiento se repitió para cada una de las especies utilizadas.

Cuantificación del comportamiento

Con el fin de estudiar las interacciones competitivas entre obreras individuales de diferentes especies y cuantificar los comportamientos que ocurren durante esas interacciones, se realizaron confrontaciones pareadas de 1 vs 1 obrera. Las confrontaciones se llevaron a cabo en placas de Petri de 2,5 cm de diámetro, con sus paredes cubiertas con Fluón para evitar escapes. Dos obreras de diferentes especies fueron colocadas dentro de una cámara de temperatura (PTC-1; SSI) calibrada a $25 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ (temperatura de cría) mediante un controlador de temperatura (PELT-5; SSI). En una primera instancia de aclimatación, como en el ensayo anterior, fueron separadas bajo un tubo de plástico durante 2 minutos, para luego ser liberadas para dar inicio a la confrontación que se mantuvo por un lapso de 5 minutos. Cada confrontación fue grabada mediante una cámara digital que se colocó dentro de la cámara de temperatura de manera de poder analizar los videos obtenidos (Fig. 31). En cada video, los siguientes comportamientos fueron cuantificados (Tabla 7): mandibuleo, mordida, recibir una mordida, flexión del gáster, agujoneo (solo para *S. invicta* y *W. auropunctata* que poseen aguijón), rocío (solo para *N. fulva*), anteneo, indiferencia, fingir la muerte y escape. Cabe aclarar que si bien *L. humile* secreta una sustancia irritante sobre sus oponentes, no lo hace en

forma de rocío, sino que la topica flexionando el gáster. Por lo tanto, este comportamiento queda comprendido dentro de la variable “flexión del gáster”, teniendo en cuenta que dicha secreción no es muy abundante y ha probado tener poco efecto en otras hormigas (Welzel et al., 2018). Por otro lado, se cuantificó en cada confrontación, el número de combates (cada vez que peleaban dentro de una confrontación), la duración de cada uno de ellos, quién realizó el primer contacto y la especie ganadora. En este ensayo se utilizaron cinco obreras para cada par de confrontaciones para cada colonia.

Tabla 7. Despliegues de comportamiento. Se muestran los 10 comportamientos desplegados por las cuatro especies de hormigas (*W. auropunctata*, *S. invicta*, *L. humile* y *N. fulva*) al confrontar, de a pares, 1 vs 1 obreras en las arenas de combate, junto con la descripción de cada comportamiento.

Comportamiento	Explicación
Mandibuleo	Una obrera queda inmóvil y abre sus mandíbulas en dirección al oponente
Mordida	Una obrera cierra sus mandíbulas sobre cualquier parte del cuerpo de su oponente
Recibir una mordida	Una obrera recibe una mordida de su oponente
Flexión del gáster	Una obrera queda inmóvil e inclina su gáster en dirección de su oponente
Agujoneo	Una obrera intenta alcanzar con su aguijón a su oponente
Rocío	Una obrera intenta rociar a su rival con ácido
Anteneo	Una obrera palpa cualquier parte del cuerpo de su oponente con sus antenas
Indiferencia	Una obrera no muestra ningún tipo de despliegue frente a su oponente
Fingir la muerte	Una obrera se voltea sobre su dorso o lateral y contrae sus extremidades quedándose totalmente inmóvil
Escape	Una obrera contacta con su oponente y huye cambiando rotundamente su dirección

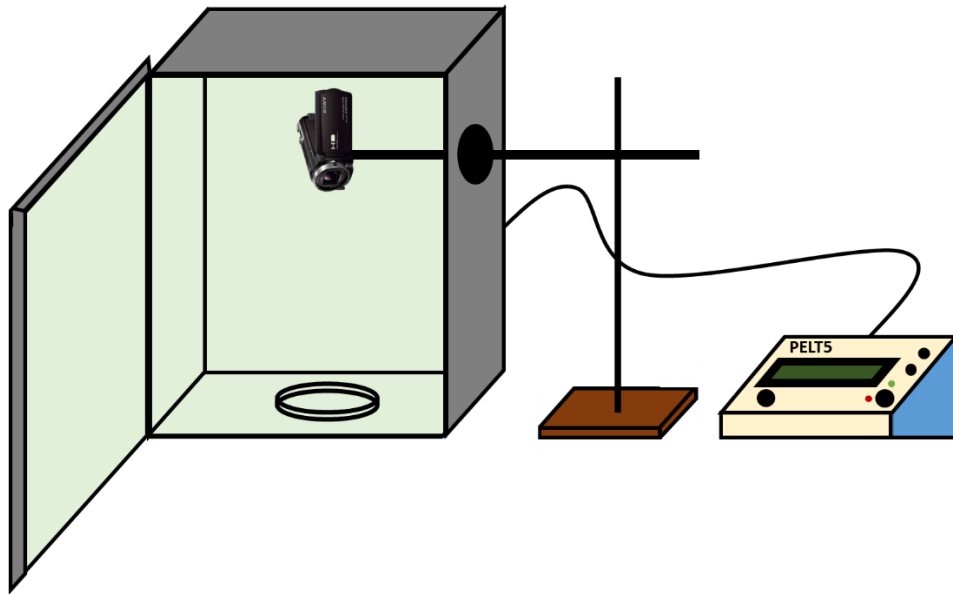


Figura 31. Dispositivo empleado en las confrontaciones 1 vs 1. Este dispositivo consta de una cámara de temperatura (PTC-1; SSI) en la cual se colocó la arena donde ocurrieron las confrontaciones. La cámara de temperatura está conectada a un controlador de temperatura que fue configurado para mantener una temperatura constante de $25 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$. A su vez, la cámara que fue usada para grabar las confrontaciones se fijó a un soporte que ingresa al recinto donde se colocó la arena por un orificio sellado.

Análisis estadístico

Se utilizó un ANOVA para comparar las medias de las temperaturas críticas, tanto para la TCmax, como para la TCmin, usando la especie como factor fijo.

Se utilizó un ANOVA para comparar las medias de los índices de supervivencia, muertes provocadas y dominancia. En este caso, se tomó a la temperatura y la especie como factor fijo, mientras que la colonia se tomó como factor aleatorio.

Tanto para analizar los primeros contactos, como para las confrontaciones ganadas, se utilizó un modelo lineal generalizado (GLM) con distribución binomial. Se asignó el valor de 1 a las hormigas que realizaban el primer contacto y a las que ganaban las confrontaciones, mientras que se les asignó el valor de 0 a las hormigas que no ganaban la confrontación o cuando la misma no se resolvía y cuando las hormigas no realizaban el primer contacto.

Para analizar los distintos comportamientos utilizados durante las confrontaciones en la cuantificación del comportamiento, se utilizó un análisis de componentes principales (ACP) utilizando matrices de varianza-covarianza. Para dicho análisis se usaron como variables los 10 comportamientos que se indican en la Tabla 7, más el primer contacto, el número de combates y la

duración de los combates. Con estos datos, se confeccionaron ejes teóricos, cuya importancia biológica se determinó mediante correlaciones de Spearman de cada variable con cada uno de los ejes del ACP. Al observar un cambio en los comportamientos mayormente dados en el componente principal 2 (CP2), se procedió a realizar análisis univariados, con las variables que correlacionaron significativamente con dicho componente. Se analizó con un modelo lineal generalizado (GLM) con distribución binomial a la variable indiferencia, mientras que las variables anteneo, mandibuleo, escape y flexión del gáster, se analizaron también con un modelo lineal generalizado (GLM), pero con distribución Poisson. Para ambos casos la variable especie se trató como fija.

En todos los casos que se encontraron diferencias significativas, se realizó la prueba de Tukey para los contrastes *a posteriori*. Para todos los análisis estadísticos, se utilizó se utilizaron InfoStat (Di Rienzo et al., 2019) y R versión 3.6.3 (R Development Core Team (2021)).

Resultados

Temperaturas críticas

Tanto la TCmin ($F_{(3,116)} = 870,24$; $p < 0,0001$), como la TCmax ($F_{(3,116)} = 198,78$; $p < 0,0001$), mostraron diferencias significativas para las cuatro especies (Fig. 32). *L. humile* alcanzó la TCmin significativamente más baja (3,18°C), seguida por *S. invicta* (3,71°C), *N. fulva* (6,38°C) y finalmente *W. auropunctata* que presentó la TCmin significativamente más alta (8,50°C) (contrastes *a posteriori*, $p < 0,05$). Por otro lado, *S. invicta* alcanzó la TCmax significativamente más alta (47,40°C), seguida por *W. auropunctata* (45,45°C) y finalmente por *L. humile* (45,04°C) y *N. fulva* (44,78°C), que no difirieron significativamente entre sí (contrastes *a posteriori*, $p < 0,05$).

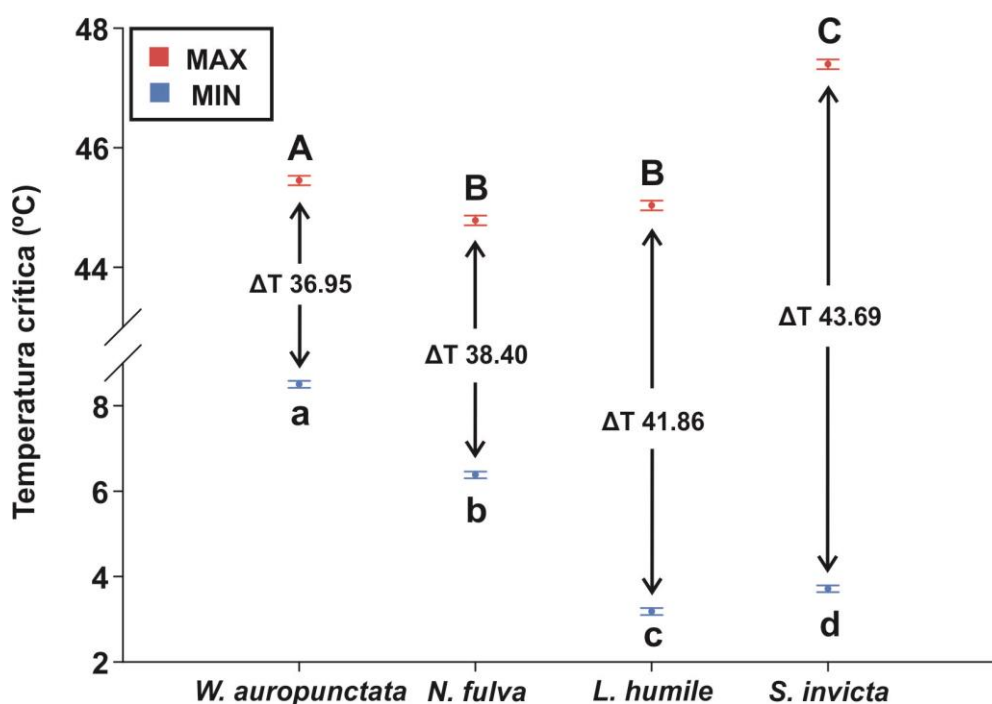


Figura 32. Temperaturas críticas. Temperaturas críticas mínimas (en azul) y temperaturas críticas máximas (rojo) de las cuatro especies de hormigas invasoras simpátricas (*W. auropunctata*, *N. fulva*, *L. humile* y *S. invicta*) y sus respectivos rangos de tolerancias térmicas ($\Delta T = TC_{max} - TC_{min}$). Todas las temperaturas críticas están expresadas como su media \pm EE. Se usaron 30 obreras de cada especie para cada temperatura crítica. Letras minúsculas representan diferencias significativas para la TCmin ($p < 0,05$) y letras mayúsculas representan diferencias significativas para la TCmax ($p < 0,05$, contrastes *a posteriori*).

Las cuatro especies presentaron un amplio rango de tolerancia térmica, especialmente *S. invicta* (ΔT 43,69°C) y *L. humile* (ΔT 41,86°C). Es entonces que las temperaturas extremas para realizar las mediciones de dominancia fueron elegidas en base a la mayor de las TCmin (*W. auropunctata* = 8,50°C) y la menor de las TCmax (*N. fulva* = 44,78°C), con la intención de abarcar todo el rango de temperaturas en donde las cuatro especies de hormigas están activas. A su vez, se eligió la temperatura de 25°C, equidistante entre la mínima y máxima seleccionadas, por ser además la temperatura a la cual todas las colonias son mantenidas óptimamente en el laboratorio. De este modo, las tres temperaturas seleccionadas para realizar las mediciones de dominancias fueron 10, 25 y 40°C.

Índice de Dominancia

Lo primero a mencionar es que ninguna de las tres temperaturas usadas para calcular los índices (10, 25, 40°C) provocaron mortalidad por sí mismas en los ensayos realizados como control en ninguna de las cuatro especies utilizadas (100% de supervivencia). Por lo tanto, las muertes observadas fueron el resultado de las confrontaciones entre las distintas especies dentro de la arena de combate.

El índice de supervivencia reveló diferencias significativas entre las distintas especies de hormigas ($F_{(23;336)} = 6,38$; $p < 0,0001$). Como las colonias no aportaban variabilidad al modelo ($F_{(1; 336)} = 0,65$; $p = 0,4214$), los datos de ambas colonias fueron agrupados (Fig. 33). Se encontraron diferencias significativas entre especies a 10°C ($F_{(3; 116)} = 6,22$; $p = 0,0006$; Fig. 33A). *S. invicta* ($0,87 \pm 0,04$) y *W. auropunctata* ($0,89 \pm 0,04$) no difirieron significativamente entre sí y presentaron un índice significativamente mayor que *N. fulva* ($0,68 \pm 0,04$) y *L. humile* ($0,71 \pm 0,04$), las cuales tampoco difirieron entre sí (contrastos *a posteriori*, $p < 0,05$). También se encontraron diferencias significativas a 25°C ($F_{(3; 116)} = 10,62$; $p < 0,0001$; Fig. 33B). *L. humile* ($0,60 \pm 0,04$) presentó un índice de supervivencia significativamente menor que las otras tres especies *N. fulva* ($0,78 \pm 0,04$), *S. invicta* ($0,79 \pm 0,04$) y *W. auropunctata* ($0,91 \pm 0,04$), las cuales no difirieron significativamente entre sí (contrastos *a posteriori*, $p < 0,05$). Finalmente también se detectaron diferencias significativas entre especies a 40°C ($F_{(3; 116)} = 23,55$; $p < 0,0001$; Fig. 33C). *N. fulva* ($0,40 \pm 0,05$) presentó un índice de supervivencia significativamente menor que *S. invicta* ($0,66 \pm 0,05$) y *L. humile* ($0,72 \pm 0,05$), las cuales no difieren entre sí. A su vez estas dos especies difirieron significativamente de *W. auropunctata* ($0,96 \pm 0,05$), que presentó el mayor de los índices de supervivencia (contrastos *a posteriori*, $p < 0,05$).

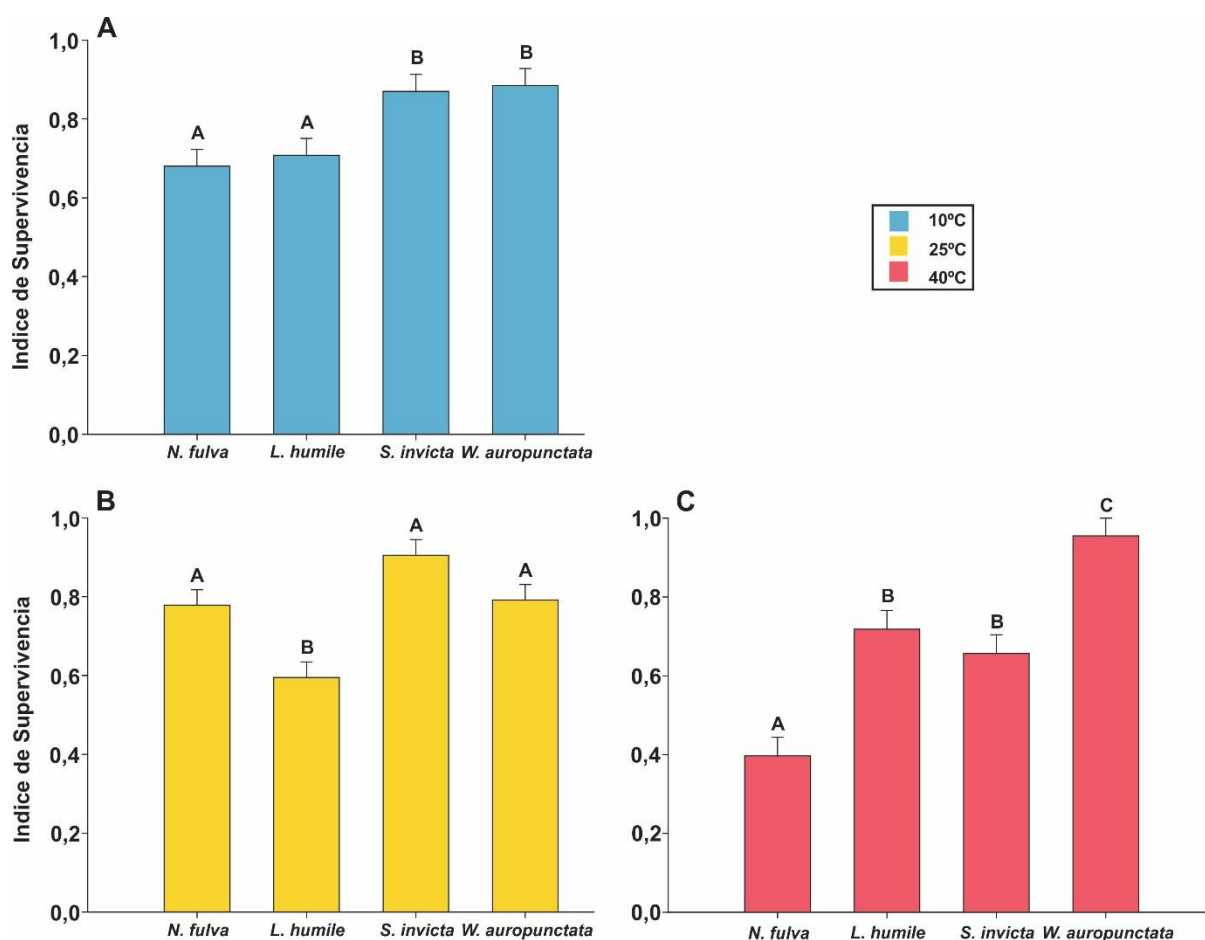


Figura 33. Índice de supervivencia. Índice de supervivencia calculado a tres temperaturas ambientes (10°C en azul (A), 25°C en amarillo (B) y 40°C en rojo (C)) para las cuatro especies de hormigas invasoras simpátricas: *N. fulva*, *L. humile*, *S. invicta* y *W. auropunctata*. Todos los índices están expresados como su media \pm EE. Distintas letras representan diferencias significativas ($p < 0,05$, contrastes *a posteriori*).

El índice de muertes provocadas reveló diferencias significativas entre las especies ($F_{(23;336)} = 6,56$; $p < 0,0001$). Debido a que las colonias no aportaron variabilidad al modelo ($F_{(1; 336)} = 0,04$; $p = 0,8386$), se los datos de las dos colonias fueron agrupados (Fig. 34). Se detectaron diferencias significativas entre especies a 10°C ($F_{(3; 116)} = 16,71$; $p < 0,0001$; Fig. 34A). *W. auropunctata* presentó el índice significativamente menor de muertes provocadas ($0,08 \pm 0,04$), seguida de *S. invicta* ($0,25 \pm 0,04$) que presenta un índice significativamente mayor, pero significativamente menor al de *L. humile* ($0,43 \pm 0,04$). Finalmente, *N. fulva* ($0,11 \pm 0,04$) presentó un valor intermedio que no difirió significativamente de *W. auropunctata*, ni de *S. invicta* (contrastos *a posteriori*, $p < 0,05$). No se encontraron diferencias significativas para ninguna de las especies a 25°C ($F_{(3; 116)} = 2,56$; $p = 0,0586$;

Fig. 34B). Finalmente, este índice reveló diferencias significativas entre especies a 40°C ($F_{(3; 116)} = 5,80$; $p = 0,0010$; Fig. 34C). *N. fulva* ($0,15 \pm 0,06$) presentó el índice de muertes provocadas significativamente menor y *L. humile* ($0,48 \pm 0,06$) el índice significativamente mayor. *W. auropunctata* ($0,32 \pm 0,06$) y *S. invicta* ($0,33 \pm 0,06$) presentaron valores intermedios similares que no difirieron significativamente entre sí y tampoco con las otras dos especies (contrastos *a posteriori*, $p < 0,05$).

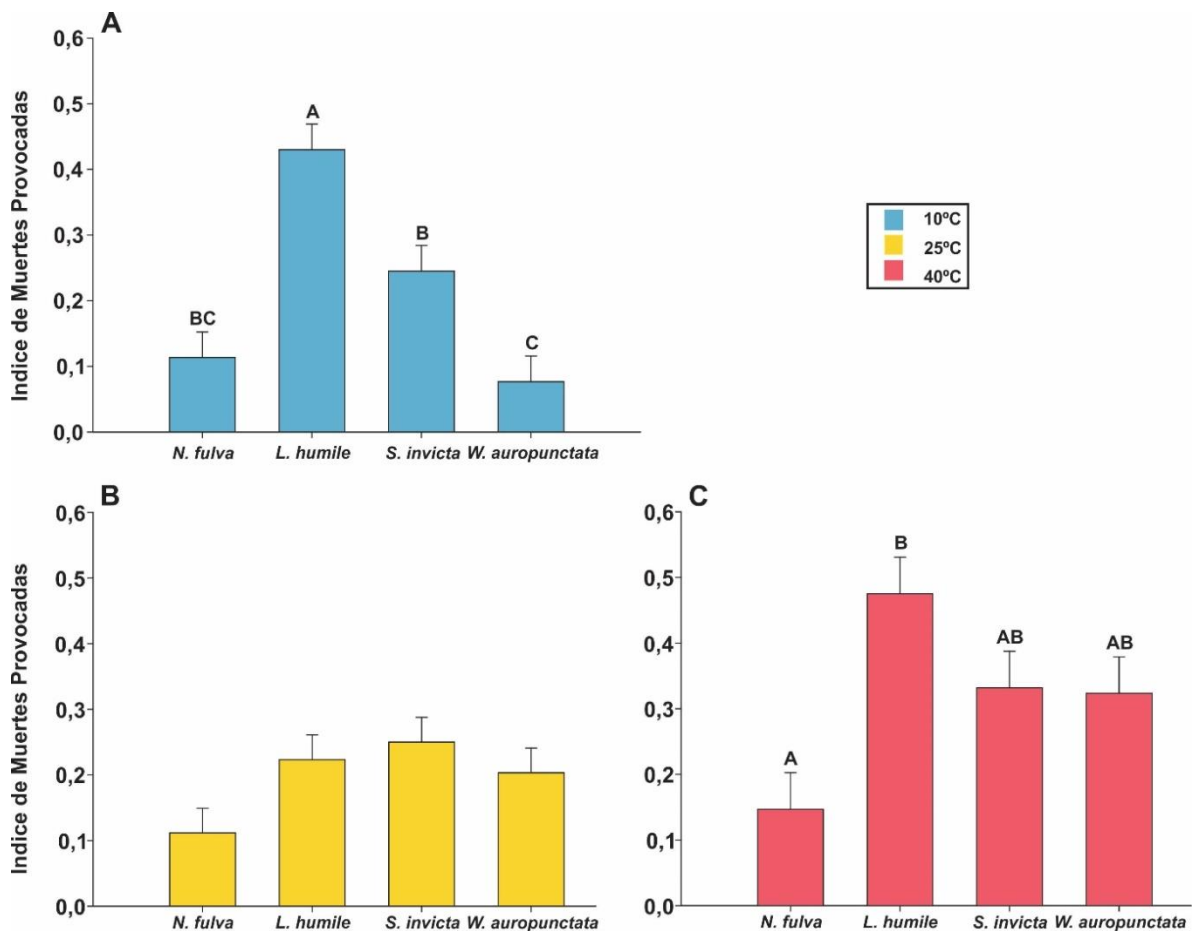


Figura 34. Índice de muertes provocadas. Índice de muertes provocadas calculado a tres temperaturas distintas (10°C en azul (A), 25°C en amarillo (B) y 40°C en rojo (C)) para cuatro especies de hormigas invasoras simpátricas: *N. fulva*, *L. humile*, *S. invicta* y *W. auropunctata*. Todos los índices están expresados como su media \pm EE. Distintas letras representan diferencias significativas ($p < 0,05$, contrastes *a posteriori*).

El índice de dominancia reveló diferencias significativas entre las especies ($F_{(23;336)} = 8,15$; $p < 0,0001$). Dado que las colonias nuevamente no aportaron variabilidad al modelo ($F_{(1; 336)} = 0,62$; $p = 0,4322$), los datos fueron agrupados (Fig. 35). Se encontraron diferencias significativas entre especies a 10°C ($F_{(3; 116)} = 10,00$; $p < 0,0001$; Fig. 35A). *N. fulva* presentó un índice de dominancia significativamente

menor ($0,40 \pm 0,03$) al de *S. invicta* ($0,56 \pm 0,03$) y *L. humile* ($0,57 \pm 0,03$), mientras que *W. auropunctata* ($0,48 \pm 0,03$) mostró un índice intermedio que no difirió significativamente del resto de las especies (contrastes *a posteriori*, $p < 0,05$). También se detectaron diferencias significativas entre especies a 25°C ($F_{(3; 116)} = 7,60$; $p < 0,0001$; Fig. 35B). *L. humile* ($0,41 \pm 0,03$) y *N. fulva* ($0,45 \pm 0,03$) presentaron un índice significativamente menor al de *S. invicta* ($0,58 \pm 0,03$). Por otro lado, *W. auropunctata* ($0,50 \pm 0,03$) presentó un índice intermedio que no difirió significativamente del de las otras especies (contrastes *a posteriori*, $p < 0,05$). Finalmente, también se encontraron diferencias significativas entre especies a 40°C ($F_{(3; 116)} = 23,38$; $p < 0,0001$; Fig. 35C). *N. fulva* ($0,27 \pm 0,03$) presentó un índice significativamente menor al de *S. invicta* ($0,49 \pm 0,03$) y *W. auropunctata* ($0,64 \pm 0,03$), *S. invicta* presentó un índice significativamente menor al de *W. auropunctata*. Por otro lado, *L. humile* ($0,60 \pm 0,03$) presentó un índice significativamente mayor a *N. fulva* e intermedio entre *S. invicta* y *W. auropunctata* (contrastes *a posteriori*, $p < 0,05$).

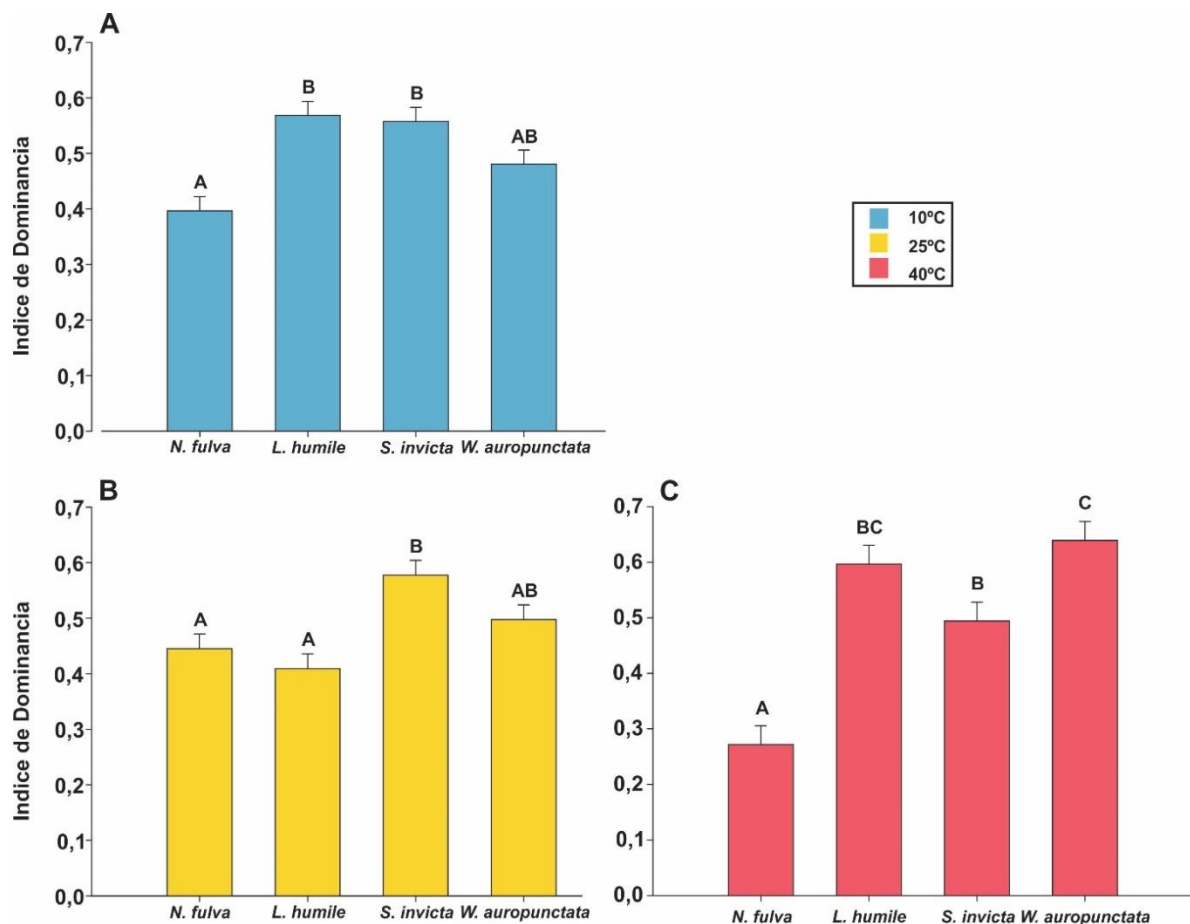


Figura 35. Índice de dominancia. Índice de dominancia calculado a tres temperaturas distintas (10°C en azul (A), 25°C en amarillo (B) y 40°C en rojo (C)) para cuatro especies de hormigas invasoras simpátricas: *N. fulva*, *L. humile*, *S. invicta* y *W. auropunctata*. Todos los índices están expresados como su media \pm EE. Distintas letras representan diferencias significativas ($p < 0,05$, contrastes *a posteriori*).

Cuantificación del comportamiento

El número de confrontaciones ganadas por cada especie difirió significativamente ($\chi^2_{(3; 114)} = 15,48$; $p < 0,05$; Fig. 36A). *S. invicta* ($0,50 \pm 0,09$) y *N. fulva* ($0,41 \pm 0,09$) ganaron significativamente más confrontaciones que *L. humile* ($0,10 \pm 0,09$), mientras que por otro lado *W. auropunctata* ($0,37 \pm 0,09$) presentó un valor intermedio, que no difirió significativamente del resto de las especies (contrastes *a posteriori*, $p < 0,05$).

En cuanto a los primeros contactos durante las confrontaciones, el análisis mostró diferencias significativas entre especies ($\chi^2_{(3; 114)} = 20,18$; $p < 0,05$; Fig. 36B). *N. fulva* ($0,81 \pm 0,08$) realizó significativamente más primeros contactos que *S. invicta* ($0,39 \pm 0,08$) y *W. auropunctata* ($0,30 \pm 0,08$). *L. humile* ($0,51 \pm 0,08$) presentó valores intermedios, que no difirieron significativamente de las demás especies (contrastes *a posteriori*, $p < 0,05$).

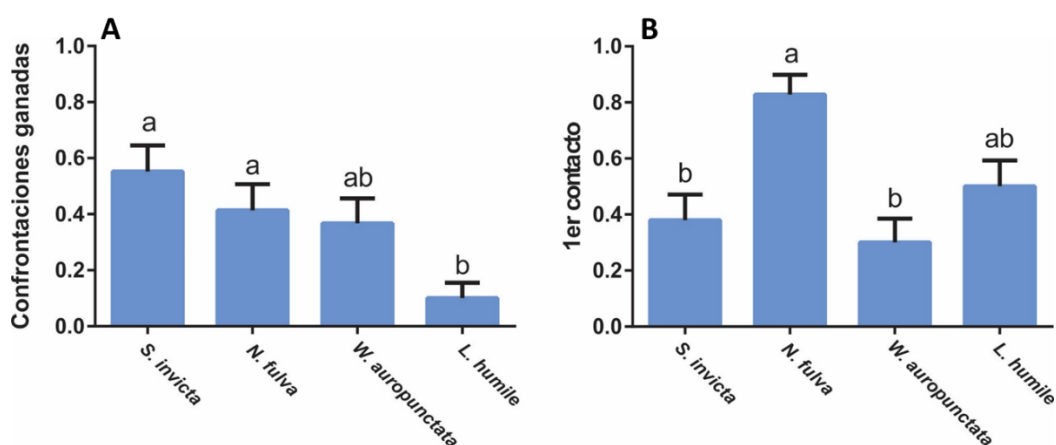


Figura 36. Confrontaciones 1 vs 1 resultados globales. Cantidad de confrontaciones ganadas (A) y 1^{er} contacto (B) en confrontaciones 1 vs 1 obreras para las cuatro especies de hormigas invasoras simpátricas: *N. fulva*, *L. humile*, *S. invicta* y *W. auropunctata*. Ambos valores están expresados como su media \pm EE. Distintas letras representan diferencias significativas ($p < 0,05$, contrastes *a posteriori*).

Observando el análisis de componentes principales para las confrontaciones en las cuales *S. invicta* participa, lo primero a destacar es que sus dos primeros componentes explican el 59,60% de la variabilidad (Fig. 37). De estos dos, la mayor diferencia de despliegues comportamentales entre especies se da en el CP2 que correlacionó significativamente con cinco comportamientos: anteneo (0,65), mandibuleo (0,73), escape (0,38), flexión del gáster (0,70) e indiferencia (-0,72). No obstante, solo dos de ellos presentaron diferencias significativas en el análisis univariado (Fig. 38): anteneo

($\chi^2_{(2; 26)} = 29,12$; $p < 0,001$; Fig. 38A) y mandibuleo ($\chi^2_{(2; 26)} = 47,46$; $p < 0,001$; Fig. 38B). *S. invicta* realizó significativamente más antenios y mandibuleos frente a *L. humile* y *N. fulva*, que frente a *W. auropunctata*.

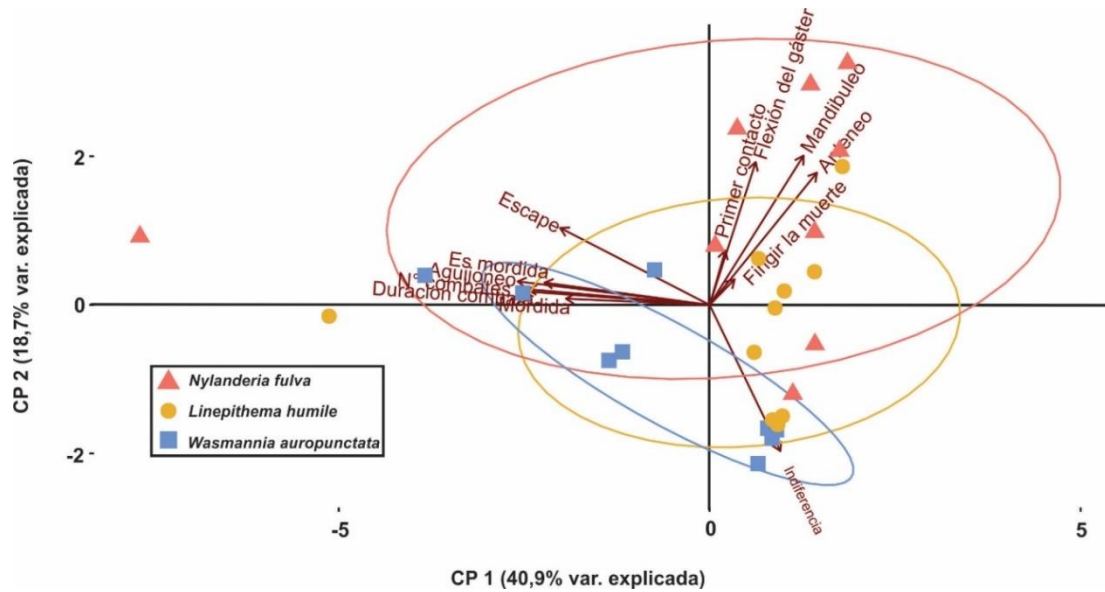


Figura 37. Confrontaciones 1 vs 1 entre *S. invicta* y el resto de las especies. Análisis de componentes principales para los enfrentamientos de *S. invicta* 1 vs 1 contra tres especies de hormigas invasoras simpátricas: *N. fulva*, *L. humile* y *W. auropunctata*. Se muestran los primeros dos componentes los cuales explican en total el 59,60% de la variación, asociando los comportamientos observados con las especies confrontadas. Las elipses representan el intervalo de confianza del 68%.

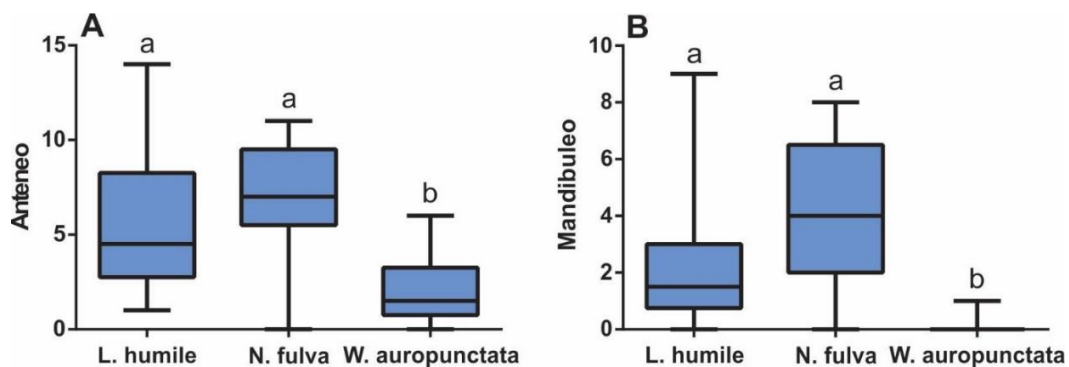


Figura 38. Despliegue comportamental de *S. invicta* en confrontaciones 1 vs 1. Análisis univariados para los comportamientos de anteneo (A) y mandibuleo (B) que realiza *S. invicta* en confrontaciones 1 vs 1 con tres especies de hormigas invasoras simpátricas: *N. fulva*, *L. humile* y *W. auropunctata*. Ambos valores están expresados como su mediana \pm EE, letras distintas representan diferencias significativas ($p < 0,05$, contrastes *a posteriori*)

En el mismo análisis aplicado a las confrontaciones en las cuales *L. humile* participa, se puede observar que los dos primeros componentes principales explican el 53,80% de la variabilidad (Fig. 39). El CP2 es el que muestra mayor diferencia de despliegues comportamentales entre especies, con cuatro comportamientos que correlacionan significativamente con dicho componente: anteneo (0,77), escape (0,61), flexión del gáster (0,44) e indiferencia (-0,69). Solo tres de ellos presentaron diferencias significativas en el análisis univariado (Fig. 40): anteneo ($\chi^2_{(2; 27)} = 5,96$; $p = 0,049$; Fig. 40A), escape ($\chi^2_{(2; 27)} = 45,95$; $p < 0,001$; Fig. 40B) y flexión del gáster ($\chi^2_{(2; 27)} = 22,19$; $p < 0,001$; Fig. 40C). *L. humile* realizó significativamente más anteneos y flexiones del gáster frente a *N. fulva* que frente a *W. auropunctata*. Por otro lado, *L. humile* escapó significativamente más frente a *S. invicta* que frente a *N. fulva*, y a su vez escapó significativamente más frente a esta última que frente a *W. auropunctata*.

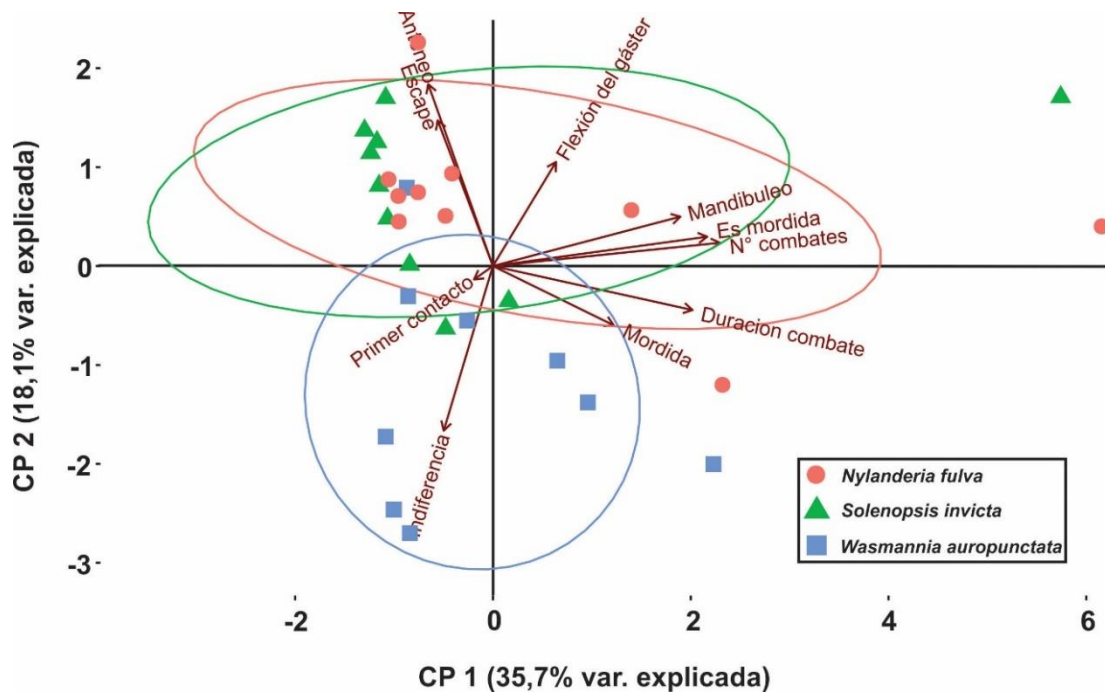


Figura 39. Confrontaciones 1 vs 1 entre *L. humile* y el resto de las especies. Análisis de componentes principales para los enfrentamientos de *L. humile* 1 vs 1 contra tres especies de hormigas invasoras simpátricas: *N. fulva*, *S. invicta* y *W. auropunctata*. Se muestran los primeros dos componentes los cuales explican en total el 53,80% de la variación, asociando los comportamientos observados con las especies confrontadas. Las elipses representan el intervalo de confianza del 68%.

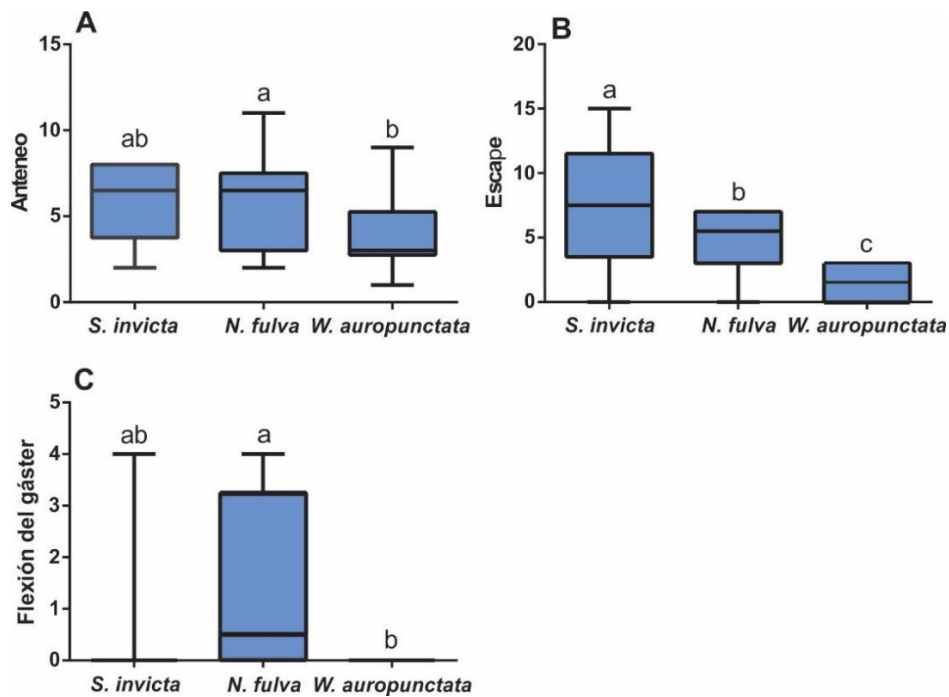


Figura 40. Despliegue comportamental de *L. humile* en confrontaciones 1 vs 1. Análisis univariados para los comportamientos de anteneo (A), escape (B) y flexión del gáster (C) que realiza *L. humile* en confrontaciones 1vs1 con tres especies de hormigas invasoras simpátricas: *N. fulva*, *S. invicta* y *W. auropunctata*. Los valores están expresados como su mediana \pm EE, letras distintas representan diferencias significativas ($p < 0,05$, contrastes *a posteriori*).

Al analizar las peleas en las cuales *N. fulva* participa, se puede observar que sus dos primeros componentes principales explican el 57,80% de la variabilidad (Fig. 41). Nuevamente el CP2 muestra un mayor despliegue comportamental, con cuatro de los cuales correlacionó significativamente: anteneo (-0,53), mandibuleo (-0,38), escape (-0,64) e indiferencia (0,81). Aunque solo tres de ellos mostraron diferencias significativas para el análisis univariado (Fig. 42): anteneo ($\chi^2_{(2; 26)} = 22,80$; $p < 0,001$; Fig. 42A), mandibuleo ($\chi^2_{(2; 26)} = 26,39$; $p < 0,001$; Fig. 42B) y escape ($\chi^2_{(2; 26)} = 69,58$; $p < 0,001$; Fig. 42C). *N. fulva* anteneó y escapó significativamente más frente a *S. invicta* que frente al resto de las especies, a su vez mandibuleó significativamente más frente a *S. invicta* y *L. humile*, que frente a *W. auropunctata*.

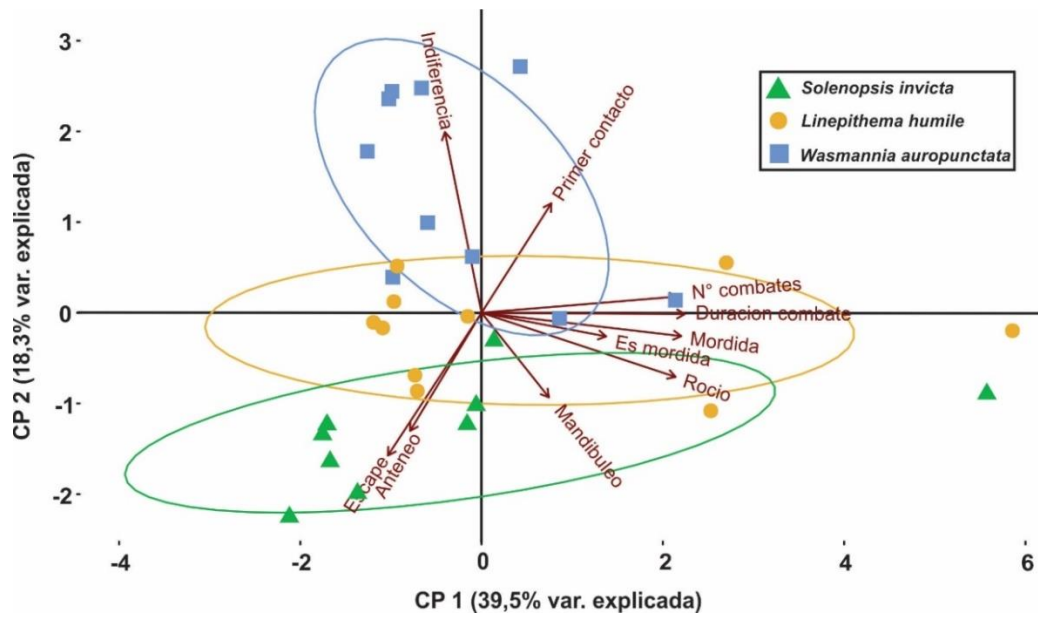


Figura 41. Confrontaciones 1 vs 1 entre *N. fulva* y el resto de las especies. Análisis de componentes principales para los enfrentamientos de *N. fulva* 1 vs 1 contra tres especies de hormigas invasoras simpátricas: *L. humile*, *S. invicta* y *W. auropunctata*. Se muestran los primeros dos componentes los cuales explican en total el 57,80% de la variación, asociando los comportamientos observados con las especies confrontadas. Las elipses representan el intervalo de confianza del 68%.

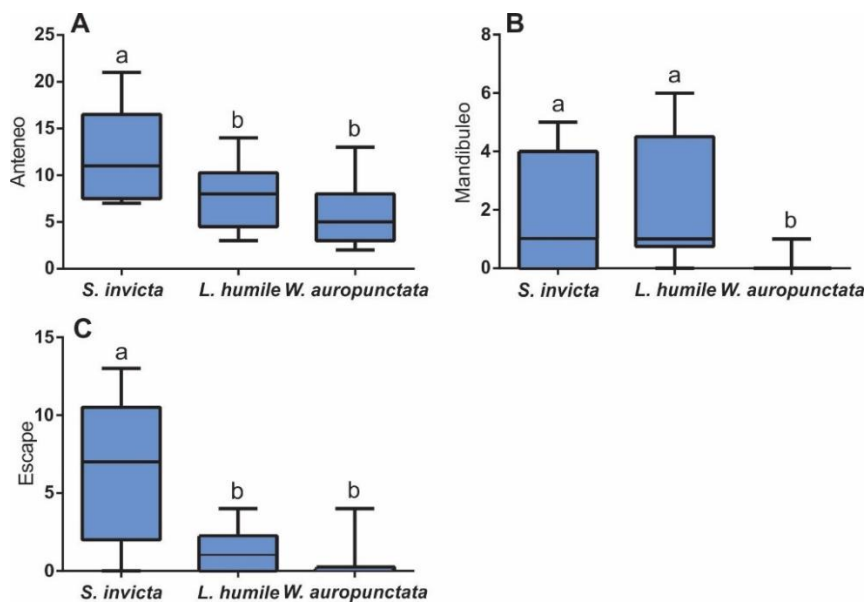


Figura 42. Despliegue comportamental de *N. fulva* en confrontaciones 1 vs 1. Análisis univariados para los comportamientos de anteneo (A), mandibuleo (B) y escape (C) que realiza *N. fulva* en confrontaciones 1 vs 1 con tres especies de hormigas invasoras simpátricas: *L. humile*, *S. invicta* y *W. auropunctata*. Los valores están expresados como su mediana \pm EE, letras distintas representan diferencias significativas ($p < 0,05$, contrastes *a posteriori*).

Finalmente, se observa que los dos primeros componentes principales de *W. auropunctata* explicaron el 45,30% de la variabilidad (Fig. 43). Sin embargo, en ninguno de los dos componentes se observó un despliegue diferencial de comportamientos frente a las otras especies.

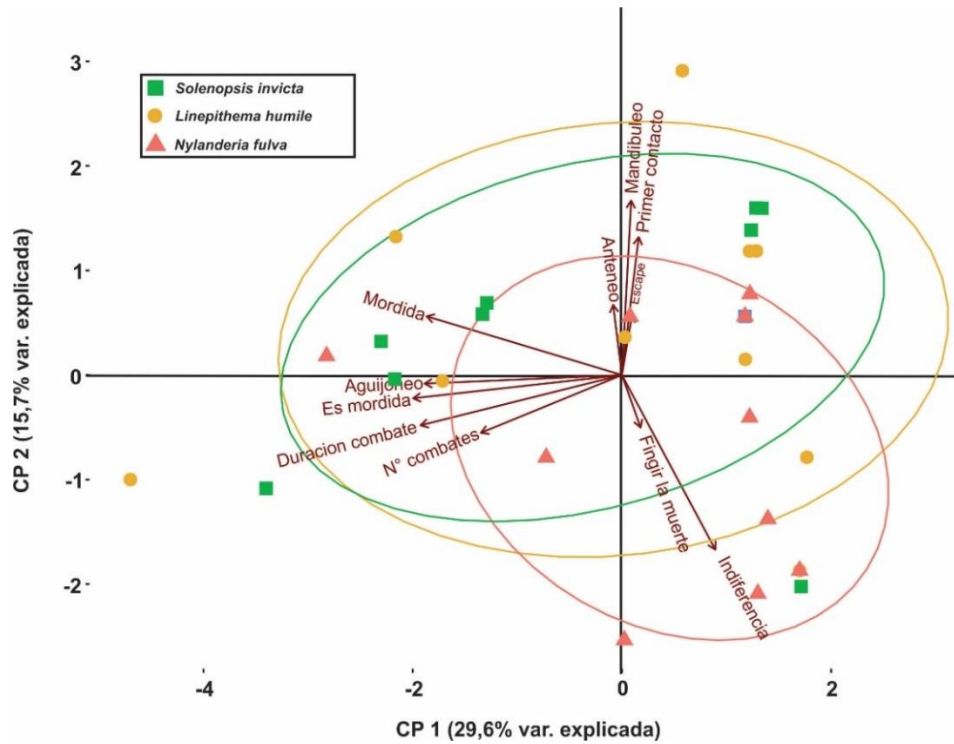


Figura 43. Despliegue comportamental de *W. auropunctata* en confrontaciones 1 vs 1. Análisis de componentes principales para los enfrentamientos de *W. auropunctata* 1 vs 1 contra tres especies de hormigas invasoras simpátricas: *L. humile*, *S. invicta* y *N. fulva*. Se muestran los primeros dos componentes los cuales explican en total el 45,30% de la variación, asociando los comportamientos observados con las especies confrontadas. Las elipses representan el intervalo de confianza del 68%.

Discusión

En este capítulo, se logró estudiar con éxito en laboratorio la jerarquía de dominancia comportamental de *W. auropunctata* y otras tres especies de hormigas invasoras con las que coexiste en su límite austral de distribución, a tres temperaturas que representan la variación de la temperatura ambiente que son capaces de tolerar a lo largo del día y el año.

Temperaturas críticas

W. auropunctata fue la especie que desplegó el menor rango de tolerancia térmica (ΔT 36,95°C), alcanzando una temperatura crítica mínima significativamente mayor (8,50°C) que las otras tres especies estudiadas, pero con una temperatura crítica máxima significativamente mayor (45,45°C) que la de *N. fulva* y *L. humile*, pero significativamente menor a la de *S. invicta*. En cuanto a las TCmin, los resultados obtenidos reflejan un poco la distribución geográfica actual de cada una de las especies. *L. humile* y *S. invicta* son las especies que alcanzan distribuciones más australes, lo cual se corresponde con el hecho de que posean TCmin menores. Es decir, una mayor tolerancia a las temperaturas ambientes más bajas que se experimentan hacia el sur del país. Por otro lado, estas dos especies además tienen obreras de mayor tamaño que las del resto de las especies estudiadas, lo cual les permite caminar a una mayor distancia del suelo y esto podría ayudarlas a soportar las bajas temperatura del mismo, como fue observado en distintas especies de hormigas para suelos a alta temperatura (Andersen, 1992; Marsh, 1988; Porter & Tschinkel, 1987; Wehner et al., 1992). En cuanto a las TCmax, si bien todas tienen una distribución que incluye la región tropical, las tolerancias a temperaturas altas no correlacionan bien con la latitud (Addo-Bediako et al., 2000; Araújo et al., 2013; Sunday et al., 2014). *S. invicta* logra la TCmax significativamente mayor posiblemente porque es la especie que habita ambientes más abiertos y por ende que recibe una mayor radiación solar. Su mayor tamaño también le conferiría una mayor tolerancia a las altas temperaturas y consecuentemente también a la desecación por su menor relación superficie/volumen. No obstante, el tamaño no explica los resultados observados en el resto de las especies, ya que *W. auropunctata* es la especie de menor tamaño y no alcanza la menor TCmax. Podría decirse que, para estas cuatro especies de hormigas, las altas temperaturas no son una limitante para su distribución. El hecho de que posean una TCmax por encima de las temperaturas medias de los meses más cálidos, podría deberse a que posibilita el forrajeo en momentos del día donde el sustrato a pleno sol alcanza temperaturas extremas (Kaspari et al., 2015).

Los resultados obtenidos de las temperaturas críticas para las cuatro especies, a pesar de las diferencias metodológicas y poblaciones de cada especie usadas en los ensayos, coinciden en mayor o en menor medida con trabajos previos (Tabla 8). Para *S. invicta* y *N. fulva*, las diferencias

observadas para ambas temperaturas críticas son menores a 1°C, incluso teniendo en cuenta que la tasa de variación de la rampa en el presente trabajo puede proyectarse dentro de las usadas en el estudio de Bentley y colaboradores (2016). Sin embargo, las diferencias son mayores con otros trabajos en el caso de *L. humile* y *W. auropunctata*. En general las metodologías varían en cuanto a las temperaturas a la que fueron mantenidas las colonias (temperatura de cría), la temperatura inicial de la rampa y a la tasa de variación de la rampa. Estas características modifican los resultados obtenidos, ya sea por plasticidad en las tolerancias o por la cantidad de tiempo que las hormigas experimentan las temperaturas de la rampa. Este último efecto podría producir el endurecimiento a corto plazo, que les permite a las hormigas alcanzar temperaturas críticas más extremas (Chown et al., 2009).

Tabla 8. Tolerancias térmicas para cuatro especies de hormigas invasoras. Metodología usada en otros trabajos previos para medir tolerancias térmicas en cuatro especies de hormigas invasoras simpátricas en el límite sur de distribución de *W. auropunctata*. Se muestra: la temperatura a la cual se criaron las colonias, la temperatura inicial de la rampa, la tasa de variación de la rampa y la temperatura crítica máxima y mínima.

Especie	Trabajo	T cría (°C)	T ₀ rampa (°C)	Tasa rampa (°C/min)	TCmax (°C)	TCmin (°C)
<i>S. invicta</i>	Wendt & Verble-Pearson, 2016	22	28	1	46,46	-
	Bentley et al., 2016	27	26	0,06	41,85	4,48
				0,12	43,50	3,99
				1	50,61	3,71
Datos tesis	25	25	0,25	47,40	3,71	
<i>L. humile</i>	Jumbam et al., 2008	25	25	0,05	≈40,00	≈0,4
	Chown et al., 2009	25	25	0,25	≈45,00	≈0,00
	Datos tesis	25	25	0,25	45,05	3,18
<i>N. fulva</i>	Bentley et al., 2016	27	26	0,06	38,01	7,13
				0,12	39,95	7,49
				1	45,88	6,98
	Datos tesis	25	25	0,25	44,78	6,38
<i>W. auropunctata</i>	Coulin et al., 2019	25	30 (TCmax)	0,25	41,62	7,73
			25 (TCmin)			
	Datos tesis	25	25	0,25	45,45	8,50

Índice de Dominancia

Una vez establecido el rango de temperaturas a los cuales estudiar las distintas dominancias, se procedió a realizar los combates de 10 vs 10 obreras entre especies. *W. auropunctata* fue la especie más dominante a 40°C, sin embargo, no difirió significativamente de las otras especies que alcanzaron su mayor valor de dominancia tanto a 10°C, como a 25°C. Se podría pensar que esta especie evade el compromiso entre su habilidad para dominar comportamentalmente y tolerar temperaturas extremas, ya que es comportamentalmente dominante independientemente de la temperatura a la que ocurren las confrontaciones. Al observar los otros dos índices se puede notar que su dominancia comportamental se debe en gran medida a su gran capacidad para sobrevivir las confrontaciones, sin importar a qué temperaturas se llevan a cabo. No ocurre lo mismo con la cantidad de muertes que provoca, ya que *W. auropunctata* alcanza solo valores bajos o intermedios en las distintas temperaturas. Estos resultados de supervivencia concuerdan con varios estudios en los que se observa que *W. auropunctata* tiene una gran capacidad para sobrevivir a las interacciones agresivas cuando se encuentra formando grupos de obreras contra otras especies invasoras (Bertelsmeier et al., 2015b; Kirschenbaum & Grace, 2008; Le Breton et al., 2007). Es posible que al poseer un tamaño mucho más pequeño que sus rivales, *W. auropunctata* logre escapar de las agresiones recibidas. Uno de los acontecimientos más observados fue que las otras especies no podían manipularlas con sus mandíbulas, hasta el punto de no poder cerrarlas por completo sobre ellas debido a su pequeño tamaño. Por otro lado, las discrepancias observadas en la capacidad para provocar muertes entre los estudios citados y este trabajo podrían radicar en el empleo de distintas especies con diferentes capacidades de combate. En cuanto a la dominancia obtenida en este estudio, coincide a grandes rasgos con la observada por Bertelsmeier y colaboradores (2015b), donde *W. auropunctata* alcanza un valor significativamente más alto que el resto las especies. En dicho trabajo, también se usó a la especie *L. humile* en las confrontaciones, presentando índices muy similares a los observados en esta tesis al enfrentar a *W. auropunctata*. No obstante, no se aclara en ningún momento a qué temperaturas ocurren las confrontaciones o si fueron controladas a lo largo del ensayo.

En el caso de *L. humile*, se puede observar que alcanza sus mayores índices de dominancia en los dos extremos de temperatura usados, y el menor a 25°C. Su alta dominancia se debe principalmente a las muertes que provocó a 10 y 40°C, ya que no es una especie que se haya destacado por sobrevivir las confrontaciones. Evidentemente su mayor tolerancia a bajas y altas temperaturas le permite tener un mejor desempeño competitivo que las otras especies (excepto *S. invicta*), en las confrontaciones que se dan en las horas del día en que las temperaturas son extremas. Este es un claro ejemplo del compromiso entre dominancia comportamental y tolerancias térmicas, en el cual

especies con una mayor tolerancia térmica, logran monopolizar recursos en momentos donde las condiciones ambientales no son las óptimas para el resto de las especies, las cuales tienen un menor desarrollo de dichas tolerancias. Otros trabajos hallaron resultados similares en cuanto a su mayor habilidad para provocar muertes que para sobrevivir combates contra otras especies de hormigas invasoras (Bertelsmeier et al., 2015b; Kirschenbaum & Grace, 2008). En el caso de *Lasius neglectus* y *Pachycondyla chinensis*, la primera domina comportamentalmente a *L. humile*, mientras que la segunda es desplazada cuando confronta con esta (Rice & Silverman, 2013; Trigos-Peral et al., 2021). Incluso en el estudio realizado por Bertelsmeier y colaboradores (2015b) logra una dominancia intermedia, como la observada en este trabajo, en confrontaciones contra otras hormigas invasoras como: *Anoplolepis gracilipes*, *L. neglectus*, *Myrmica rubra*, *Paratrechina longicornis*, *Pheidole megacephala* y *W. auropunctata*. Si bien *L. humile* suele ser una especie dominante en su rango invasivo, parecería ser que las otras hormigas invasoras con las que coexiste en su distribución nativa representan un ambiente mucho más competitivo en el que le es más costoso imponerse, al menos en las horas de mayor actividad en las comunidades de hormigas. De hecho en trabajos donde se la confronta con *S. invicta*, se observa que esta última presenta una dominancia comportamental similar o levemente superior (Calcaterra et al., 2008; Kabashima et al., 2007; LeBrun et al., 2007). En el caso del presente estudio esto se asemeja, ya que en las confrontaciones a 10 y 40°C, sus índices de dominancia no difieren significativamente, y a 25°C el índice de dominancia de *S. invicta* es significativamente superior.

En el caso de *S. invicta*, se puede observar que su índice de dominancia es de los significativamente más altos a 10 y 25°C, mientras que solo es superada por *W. auropunctata* a 40°C, la cual tiene una distribución mucho más amplia en la región tropical donde las temperaturas son más altas. Esta dominancia es lograda principalmente por su capacidad de sobrevivir a las confrontaciones la cual es solo superada por *W. auropunctata* a 40°C y por su gran capacidad de provocar muertes en sus rivales que solo es superada por *L. humile* a 10°C. Podría decirse que al igual que *W. auropunctata* evita el compromiso entre dominancia comportamental y tolerancias térmicas, ya que domina independientemente de la temperatura a la que ocurren las confrontaciones. El índice de dominancia de *S. invicta* es consistente con el observado en otros trabajos de campo en los que se midió la dominancia comportamental en cebos, donde solo es superada por una o dos especies no invasoras menos comunes de un tamaño mucho mayor (Calcaterra et al., 2008; Feener Jr et al., 2008; LeBrun et al., 2007; Morrison et al., 2000). *S. invicta* domina comportamentalmente a *N. fulva* tanto en cebos (Feener Jr et al., 2008), como en combates individuales (Horn, 2010). Esto concuerda con los resultados obtenidos en nuestro trabajo, donde en todas las temperaturas la dominancia de *S. invicta* siempre es mayor que la de *N. fulva*.

Los índices de dominancia obtenidos para *N. fulva*, la posicionan como la especie con la dominancia comportamental más baja en cualquiera de las temperaturas en las cuales se realizaron las confrontaciones. Estos valores se deben principalmente a que tiene un muy pobre desempeño a la hora de provocar muertes a sus rivales y solo presenta un índice de supervivencia alto en confrontaciones a 25°C. Este escenario es absolutamente contrario al de *W. auropunctata* y *S. invicta*, es decir que *N. fulva* no logra ser comportamentalmente dominante a ninguna temperatura. Incluso tampoco logra, como es el caso de *L. humile*, un compromiso entre esa dominancia y sus tolerancias térmicas. Muy poco se sabe acerca de la dominancia comportamental de *N. fulva*. En uno de los pocos trabajos donde se evaluó su desempeño comportamental se observó que alcanza uno de los peores valores en comparación con otras especies nativas, incluida *S. invicta* (Feener Jr et al., 2008), lo que concuerda con lo observado en este trabajo.

Cuantificación del comportamiento

Luego de las confrontaciones 10 vs 10 obreras se realizaron confrontaciones 1 vs 1 a 25°C para ver en detalle y cuantificar los comportamientos desplegados por las distintas especies en las confrontaciones. Si bien el número de combates y su duración dentro de cada confrontación no difirió significativamente, se observó que *S. invicta* y *N. fulva* ganan significativamente más confrontaciones que *L. humile*. Este resultado cambia un poco el panorama de lo observado en las confrontaciones 10 vs 10 a 25°C. Lo primero a tener en cuenta es que en estos ensayos las distintas especies no pueden depender del reclutamiento y esto se ve muy bien reflejado en *L. humile*, la cual solo puede defenderse con sus mandíbulas y topicando sustancias irritantes en muy baja cantidad. El agujoneo y el rocío no fue significativo para ninguna especie en particular por lo cual estos mecanismos de ataque/defensa son usados indistintamente contra la especie adversaria y es la razón por la cual *S. invicta* y *N. fulva* logran una cantidad de victorias significativamente mayor. Por otro lado, *W. auropunctata* es una hormiga mucho más pequeña que sus adversarias por lo que puede pasar desapercibida, lo que evita que otras hormigas de mayor tamaño la dañen. Gracias a esta cualidad logra un valor que no difiere significativamente del resto. Los resultados obtenidos son muy difíciles de contrastar debido a la escasa bibliografía que hay de enfrentamientos individuales en hormigas. No obstante Bertelsmeier y colaboradores (2015b) analizaron la supervivencia de varias especies invasoras en este tipo de confrontaciones, encontrando que *W. auropunctata* sobrevive aproximadamente en un 88% contra otras especies invasoras, incluida *L. humile*, contra la cual sobrevive en un 97%. Esta última sobrevive aproximadamente en un 51% de sus confrontaciones, pero solo sobrevive en un 4% contra *W. auropunctata*. Si bien las variables medidas

no son las mismas, se puede observar que los resultados obtenidos no difieren demasiado. A pesar de que ambas especies no difieren significativamente en la cantidad de confrontaciones ganadas, *W. auropunctata* alcanza un valor bastante más alto que *L. humile*, ya que sobrevive más.

N. fulva realizó significativamente más primeros contactos en las confrontaciones que *S. invicta* y *W. auropunctata*, característica que podría atribuirse a su gran velocidad para desplazarse. Al ser liberada en la arena al inicio de las confrontaciones suele trasladarse a lo largo de la misma a gran velocidad, dando varias vueltas en la misma en pocos segundos. Esto hace que termine siempre encontrando a su rival rápidamente. El caso es completamente inverso para *W. auropunctata*, la cual se traslada lentamente y no reacciona de manera instantánea. Es por ello que alcanza el mínimo valor para esta variable. Nuevamente se hace evidente la capacidad de esta especie para pasar desapercibida en los combates, logrando una alta supervivencia. En el trabajo de Bertelsmeier y colaboradores (2015b), se analizó una variable similar (hormiga iniciadora del ataque) entre siete especies de hormigas invasoras entre las cuales se encontraban *L. humile* y *W. auropunctata*, las cuales alcanzaron el segundo y tercer puesto respectivamente. Si bien en nuestro trabajo *L. humile* no difirió significativamente de *W. auropunctata* en cuanto a sus primeros contactos, el valor alcanzado por *L. humile* fue superior.

De la cantidad de comportamientos medidos en las confrontaciones 1 vs 1, solo unos pocos fueron significativamente mayores hacia alguna de las especies. *W. auropunctata* es el caso más llamativo, ya que no realiza en una mayor proporción ninguno de los comportamientos cuantificados hacia ninguna de las otras especies. Esto quiere decir que a la hora de combatir contra cualquiera de ellas adopta la misma estrategia. En otros trabajos donde se la confronta individualmente (1 vs 1) con otras hormigas invasoras, se la ha asociado a comportamientos como fingir la muerte (Bertelsmeier et al., 2015b) o indiferencia y exploración mutua (Kirschenbaum & Grace, 2008). Incluso en este último trabajo, se la clasificó como la especie que más comportamientos desplegó del tipo “sin respuesta”. Estos comportamientos podrían cuadrar en los resultados del presente trabajo, es decir que *W. auropunctata* no adopta una estrategia agresiva frente a ninguna de las especies durante las confrontaciones, sino que trata de pasar desapercibida.

L. humile presentó tres comportamientos diferenciales al enfrentar a las otras tres especies: anteneo, flexión del gáster y escape. Esta especie anteneó y flexionó el gáster significativamente más al enfrentar a *N. fulva* que al enfrentar *W. auropunctata*. Es decir, estos comportamientos de exploración y advertencia se dieron en mayor frecuencia frente a especies con las cuales puede confrontar, a diferencia de *S. invicta* la cual parecería superarla. Esto se evidencia al observar que *L. humile* escapa significativamente más al enfrentar a *S. invicta* que a *N. fulva* y a su vez

significativamente más a esta última que a *W. auropunctata*. Este resultado indica que podría evaluar el potencial peligro de sus rivales, siendo la más riesgosa de enfrentar *S. invicta* y la menos riesgosa *W. auropunctata*, adoptando un comportamiento sumiso para preservar su integridad. Este comportamiento coincide a grandes rasgos con los valores obtenidos de confrontaciones ganadas, ya que a pesar de no diferir significativamente, el valor alcanzado por *S. invicta* es mayor que el alcanzado por *N. fulva*, lo que podría indicar una mayor agresividad o capacidad de combate, y por lo tanto representar un mayor peligro. En el trabajo de Bertelsmeier y colaboradores (2015b), se la clasificó bajo los comportamientos de morder y ser mordida en el mismo tipo de confrontaciones con otras hormigas invasoras, mientras que para Kirschenbaum y Grace (2008) el comportamiento significativamente superior, en el mismo tipo de confrontaciones contra hormigas invasoras, fue investigación mutua y mandibuleo. Estos trabajos, si bien no realizan una caracterización focal del comportamiento frente a cada especie contrincante, abarcan la totalidad de tipos de comportamiento diferenciales observados en nuestro trabajo: agresivos (flexión del gáster), neutros (anteneo) y sumisos (escape).

S. invicta por su lado realizó solo dos comportamientos de manera diferencial en las confrontaciones contra las tres especies. Puntualmente realizó significativamente más anteneos y mandibuleos frente a *L. humile* y *N. fulva* que frente a *W. auropunctata*. Esta conducta puede encontrar su explicación en un tema mencionado anteriormente, que radica en la capacidad de *W. auropunctata* para pasar desapercibida durante los combates, a menos que no le quede otra opción, característica que se ve reflejada sobre todo en su gran capacidad supervivencia en las confrontaciones 10 vs 10. Dichos comportamientos diferenciales coinciden en mayor medida con lo observado por Rao y Vinson (2009), donde los comportamientos mayormente realizados por *S. invicta* en confrontaciones contra otras hormigas invasoras fueron aguijoneo e intentos de morder al contrincante. Este último está caracterizado en el trabajo bajo una descripción muy similar a la que en este trabajo se trató como mandibuleo. Vale la pena recalcar nuevamente que la metodología difiere en que sus análisis del comportamiento no son focales para cada especie.

Finalmente, tres comportamientos sobresalieron en las confrontaciones de *N. fulva* con las otras tres especies: anteneo, mandibuleo y escape. Esta es la primera vez que se caracterizan comportamientos en confrontaciones 1 vs 1 para esta especie. *N. fulva* antenea y escapa significativamente más frente a *S. invicta*, que frente al resto de las especies. El comportamiento de anteneo es un comportamiento de inspección neutro, mientras que el de escape es un comportamiento sumiso. Ambos denotan la capacidad que tiene *N. fulva* de percibir como un rival superior a *S. invicta*, a pesar de que no difieren significativamente en la cantidad de confrontaciones

ganadas. Por otro lado, *N. fulva* mandibulea menos frente a *W. auropunctata* que frente a las otras especies. Nuevamente este comportamiento puede encontrar su explicación en su capacidad para pasar desapercibida en las confrontaciones, como fue explicado anteriormente. Lamentablemente, los trabajos en los que esta especie es confrontada son escasos, por lo que es difícil lograr algún tipo de comparación.

Numerosos estudios han postulado que dentro de un ensamble de hormigas se produce una segregación en los patrones de actividad de forrajeo en función a la temperatura ambiente. Por lo general, las hormigas dominantes aumentan su actividad en horas del día donde las temperaturas son moderadas, mientras que las subordinadas lo hacen cuando las temperaturas son más adversas (Bestelmeyer, 2000; Cerdá et al., 1997; Cerdá et al., 1998; Lessard et al., 2009; Roeder et al., 2018; Stuble et al., 2013). Esta dinámica permite la convivencia de las distintas especies mediante un compromiso entre las dominancias y las tolerancias térmicas. Si bien estos estudios postulan que la temperatura podría ser un factor importante que regula la jerarquía de la comunidad, al ser trabajos realizados a campo, no controlan las variables del ambiente, por lo que el compromiso ("*trade-off*") entre dominancia y tolerancias térmicas no ha sido comprobado como una relación causal, sino que resulta ser una correlación. El presente estudio puso a prueba por primera vez la relación causal del compromiso entre la dominancia y las tolerancias térmicas, realizando ensayos de laboratorio usando un amplio rango de temperaturas controladas que representan las condiciones que se dan naturalmente a lo largo del día y del año. Este rango de temperaturas incluye el amplio espectro del rango de actividad de las especies de hormigas invasoras estudiadas. Por estos motivos el compromiso entre dominancia y tolerancias térmicas observado en *L. humile* y al que escaparon *S. invicta* y *W. auropunctata* cobra una mayor trascendencia en este estudio. Por otro lado, también queda evidenciado que existen jerarquías entre especies invasoras que normalmente son consideradas individualmente dominantes en los ensambles de hormigas nativas.

Conclusión

En base a los resultados obtenidos se puede establecer que *W. auropunctata* es una especie invasora que, en su límite austral de distribución, presenta un alto índice de dominancia a distintas temperaturas ambiente en confrontaciones 10 vs 10 obreras contra otras tres especies de hormigas también invasoras: *S. invicta*, *L. humile* y *N. fulva*. Los altos índices observados para esta especie son principalmente el resultado de sobrevivir a dichas confrontaciones, posiblemente por su capacidad de pasar desapercibida debido a su lenta movilidad y pequeño tamaño, más que a su comportamiento agresivo. En cuanto a la caracterización de su comportamiento durante las confrontaciones de 1 vs 1 obrera, se observó que no utilizó de manera diferencial ningún comportamiento, sea cual fuera su oponente. Teniendo en cuenta estos resultados se concluye que los cambios en la temperatura no producen modificaciones en la jerarquía de dominancia entre *W. auropunctata* y las otras tres especies invasoras simpátricas: *N. fulva*, *L. humile* y *S. invicta*. Por lo tanto, la hipótesis propuesta para este capítulo queda rechazada.

CAPITULO VI

Conclusiones generales



A lo largo de este trabajo se ha estudiado cómo algunos factores bióticos y abióticos afectan el límite austral de distribución de la pequeña hormiga de fuego *Wasmannia auropunctata*. Por un lado, se investigó cómo dos variables climáticas, como la temperatura y la humedad, afectan su rango de tolerancia a lo largo de un gradiente latitudinal de temperatura y longitudinal de precipitaciones, respectivamente. Por el otro, se evaluó cómo la competencia interespecífica afecta su desempeño para descubrir y dominar una fuente de alimento en un ensamble de hormigas ubicado en su límite austral de distribución. Incluso cómo la combinación de dos de estos factores, la temperatura y la competencia interespecífica por interferencia, pueden modular la jerarquía de dominancia comportamental entre esta especie y otras tres especies de hormigas invasoras del ensamble estudiado con las que coexiste localmente: la hormiga argentina, *Linepithema humile*, la hormiga de fuego, *Solenopsis invicta* y la hormiga loca, *Nylanderia fulva*.

En el capítulo II se pudo estudiar cómo la temperatura ambiente modela las tolerancias térmicas de distintas colonias de *W. auropunctata* a lo largo de un gradiente latitudinal de temperaturas. La tolerancia a las temperaturas más altas, medidas como TCmax, se relacionó positivamente con el promedio de la temperatura máxima del mes más cálido del año que soportaron las colonias de cada lugar. De este modo, las colonias que estuvieron expuestas a las mayores temperaturas en verano son las que tuvieron valores más altos de TCmax. A su vez, la tolerancia a las temperaturas altas aumentó cuando las colonias sufrieron un proceso previo de endurecimiento al ser expuestas por un corto período de tiempo a temperaturas altas. No ocurrió lo mismo con las tolerancias al frío medidas como TCmin, las cuales no se relacionaron con el promedio de la temperatura mínima del mes más frío para las distintas colonias aclimatadas a 25°C y se relacionaron negativamente, contrariamente a lo esperado, al aclimatarlas a 15°C.

Por otro lado, la tolerancia a temperaturas bajas, medidas como el tiempo de recuperación luego de un coma inducido por el frío o CCRT (del inglés "*chill coma recovery time*"), se vio afectada por el promedio de la temperatura mínima del mes más frío del año que soportaron las colonias de cada lugar. Es decir, que las colonias que estuvieron expuestas a las menores temperaturas en invierno son las que se recuperaron más rápido de un coma producido por el frío, cuando fueron aclimatadas a 25°C. Este fenómeno tiene un correlato a nivel poblacional, ya que las colonias de las variantes genéticas (haplotipos del gen mitocondrial COI) que fueron las que soportaron climas más fríos durante el año fueron las que se recuperaron antes del coma cuando fueron aclimatadas a 25°C.

A su vez, se detectó un efecto de la aclimatación en las tolerancias al frío, medidas como TCmin y CCRT, las cuales aumentan (disminuyen las TCmin y los CCRT) al reducir la temperatura de aclimatación. Este aumento en la capacidad de tolerar temperaturas más bajas se vio reflejado a

nivel poblacional, ya que todos los haplogrupos y haplotipos disminuyeron su TCmin y CCRT al disminuir las temperaturas de aclimatación. Además, se vio que este aumento de la tolerancia al frío y al calor no es aditivo, ya que, al someter las colonias a ciclos fluctuantes de temperaturas bajas y altas de cría, tanto la TCmax como la TCmin alcanzaron valores más altos, lo que se traduce en un aumento y corrimiento del rango de tolerancias unos grados hacia temperaturas más altas.

El análisis de los resultados de este capítulo evidencia que *W. auropunctata* posee una clara plasticidad en su tolerancia térmica, pudiendo desarrollarse en climas más fríos como los que se dan en su límite austral de distribución en Argentina. Este fenómeno hace que la temperatura sea un factor limitante en la distribución, ya que para habitar climas cada vez más cálidos o más fríos debe desarrollar plásticamente sus termotolerancias. Es entonces que su actual límite austral de distribución (C.A.B.A. - Argentina) no parece representar una barrera frente a una futura expansión, ya que las colonias presentes en esa región tienen la capacidad de tolerar temperaturas aún más bajas. Además, a medida que avance la frontera agrícola, que el tamaño de las ciudades que actúan como islas de calor incrementa, aumente el comercio y el turismo, se espera que *W. auropunctata* siga extendiendo su distribución hacia regiones más australes de Argentina. Esto debido a que dichas condiciones favorecen su adaptación a climas más fríos, sobre todo si se piensa en un escenario de cambio climático en donde la temperatura global promedio aumentaría de 2 a 3°C en los próximos 60-100 años (IPCC, 2007; Jaworski & Hilszczański, 2013). En dicho escenario las especies de hormigas con alto rango de tolerancia térmica, las que habitan climas templados y las que pueden evitar comportamentalmente las altas temperaturas, se podrían ver favorecidas (Parr & Bishop, 2022). Suponiendo que dicho escenario se cumpla, esto impulsaría a que ciertas colonias/genotipos de *W. auropunctata*, las cuales cumplen con muchas de las características anteriormente mencionadas, tengan una mayor posibilidad de alcanzar distribuciones más australes que las ya mencionadas por plasticidad.

En el capítulo III se pudo estudiar la tolerancia a la desecación de distintas colonias a lo largo de un gradiente longitudinal de precipitaciones a tres temperaturas ambiente distintas (15, 25 y 35°C). La tasa de pérdida de agua (TPA) y la permeabilidad cuticular medidas a 15°C en las distintas colonias de *W. auropunctata* variaron con el déficit de presión de vapor (DPV) máximo del mes más seco del lugar donde fue colectada cada colonia. Sin embargo, contrariamente a lo que esperábamos, las colonias que soportaron climas más secos fueron las que mayor TPA y permeabilidad cuticular presentaron a dicha temperatura. Estos resultados pueden ser atribuidos a que los sitios de colecta de las colonias no representan un gradiente longitudinal de precipitaciones tan marcado, diferencias comportamentales entre colonias que pueden depender de las características del ambiente para

soportar la desecación e incluso a una mayor tolerancia a la pérdida de agua, en relación a otras especies de hormigas de ambientes xéricos, que le permita evitar sufrir síntomas de deshidratación.

Por otro lado, se observó que a medida que la temperatura ambiente aumenta todas las colonias pierden una mayor cantidad de agua total y por cutícula, patrón también observado a nivel poblacional para los diferentes haplotipos y haplogrupos. Este fenómeno se debe principalmente a un aumento en el déficit de presión de vapor provocado por el aumento de la temperatura. Además, ocurre un aumento de la tasa metabólica que induce la apertura por periodos prolongados de los espiráculos, lo cual desemboca en una mayor pérdida de agua.

Los resultados obtenidos en este capítulo revelan que las poblaciones estudiadas de esta especie no muestran diferentes tolerancias a la desecación a temperaturas medias y altas, pero sí a temperaturas bajas, siendo que en este último caso que dichas tolerancias son menores en climas más secos. Estos resultados muestran que, a diferencia de lo que sucede con otra hormiga invasora *L. humile* (Holway et al., 2002b; Schilman et al., 2015; Schilman et al., 2017), la humedad podría no ser un factor que limita la distribución de *W. auropunctata*. Esto se debe a que las colonias que experimentan climas más secos no reducen la cantidad de agua perdida o son menos permeables, con respecto a las que experimentan climas más húmedos. A este hecho se le suma que incluso hay colonias que soportan climas mucho más secos que los observados en su límite de distribución austral. Esto iría en concordancia con el escenario de cambio climático, donde las temperaturas aumentarían en el próximo siglo. La escasez de agua aumentaría en los climas templados debido a una mayor evaporación de agua, dando como consecuencia suelos más secos a causa de un menor tiempo de retención de la nieve, alta saturación de la capa superficial del suelo al final del invierno y un drenaje acelerado de aguas superficiales (Chmura et al., 2010; Sadowski, 1996). Como resultado los climas en general se volverían más secos, lo que no supondría un problema para que esta especie mantenga o amplíe su distribución.

No se puede dejar de mencionar que las regresiones usadas para analizar algunos de los datos de tolerancias térmicas y a la desecación (en el capítulo II y III), logran explicar poca de la variabilidad observada (bajo R^2). Una causa posible para explicar esto es la cantidad insuficiente de colonias colectadas por sitio y dentro del gradiente. Al sumar colonias de ambientes más extremos dentro del gradiente e incluso aumentar la extensión del mismo, estos valores quizás podrían llegar a mejorar.

A lo largo del capítulo IV se estudiaron las habilidades competitivas de *W. auropunctata* en un ensamble de hormigas ubicado en su límite austral de distribución (C.A.B.A. - Argentina). Particularmente se trató de determinar si esta especie, que es considerada invasora en esa región,

es una de las hormigas más dominantes del ensamble, y de ser así, si lo logra escapando al compromiso entre descubrir y dominar una fuente de alimento, una característica que aparentemente suele darse en hormigas invasoras. Se realizó un muestreo que incluyó distintas zonas del predio de Ciudad Universitaria, en las que se registró en su conjunto 28 especies de hormigas, el 89% de todas las especies esperadas para el predio. *W. auropunctata* fue la tercera especie con más incidencia y la cuarta más frecuente en trampas de caída, mientras que fue la sexta especie con más incidencia en los cebos. Además, presentó una excelente predominancia en las trampas de caída, siendo la que más obreras acumuló por trampa. De esta manera, logra ser relativamente abundante, lo que la lleva a alcanzar en general una relativamente buena dominancia espacial y numérica local. No obstante, esta abundancia no le alcanzó para descubrir primero las fuentes de alimento, lo que es respaldado por el hecho de que descubre menos cebos de lo esperado por su abundancia, según el modelo nulo. Sin embargo, una vez descubiertos, es una de las especies que logra el mayor número de obreras reclutadas en promedio hacia el final del muestreo (90 min), valor que le permite alcanzar una dominancia ecológica intermedia, lo cual indica que no es ni la mejor ni la peor monopolizando las fuentes de alimento.

Al analizar los resultados obtenidos en este capítulo se puede observar que *W. auropunctata* demostró poseer ciertas habilidades competitivas en un ensamble de hormigas ubicado en el extremo austral de su distribución. No obstante, a pesar de ser considerada una hormiga invasora en esta región, no cumple con los requisitos para escapar del compromiso entre descubrir y dominar las fuentes de alimento. *W. auropunctata* fue mucho mejor dominando que descubriendo fuentes de alimentos. Esto se debe tanto a que no posee las habilidades necesarias para ser una buena descubridora, como también al hecho de que coexiste con otras especies que sí lo son, como *P. cordiceps* o *N. fulva*. A su vez, podría no necesitarlo ya que las otras especies de hormigas no explotan de manera eficiente todas las fuentes de alimento disponibles, proporcionando nichos vacantes que *W. auropunctata* aprovecha (Le Breton et al., 2005). Teniendo en cuenta todo lo anteriormente mencionado, es evidente que la competencia interespecífica es uno de los factores que limitan la distribución de *W. auropunctata*. Su potencial expansión del área de distribución dependerá de las capacidades de descubrimiento, reclutamiento y dominancia que tengan las demás especies de hormigas con las que interactúe en los ensambles de hormigas de dichas distribuciones. Sobre todo teniendo en cuenta que se seguirá encontrando con otras especies de hormigas invasoras nativas de la Cuenca del Plata, como es el caso de *S. invicta* y *L. humile* que también se distribuyen al sur de la actual área de distribución de *W. auropunctata*.

En el capítulo V se estudió cómo la combinación de un factor abiótico como la temperatura, y un factor biótico, como la competencia interespecífica por interferencia, afectan la jerarquía de dominancia de *W. auropunctata* al enfrentar otras tres especies de hormigas invasoras: *S. invicta*, *L. humile* y *N. fulva*. De las cuatro especies, *W. auropunctata* fue la que menor rango de temperaturas toleró, teniendo una TC_{min} significativamente más alta que el resto de las especies y una TC_{max} significativamente mayor que *L. humile* y *N. fulva*, pero significativamente menor que *S. invicta*. El estudio de estas tolerancias permitió definir las temperaturas a las cuales realizar las confrontaciones entre las distintas especies invasoras de 10 vs 10 obreras. El índice de dominancia de *W. auropunctata* no difirió significativamente de los más altos a 10 y 25°C y fue significativamente mayor a 40°C. Estos resultados demostraron que esta especie es comportamentalmente dominante independientemente de la temperatura ambiente. Este resultado se alcanza principalmente por la capacidad de esta especie para sobrevivir en las confrontaciones, posiblemente gracias a su pequeño tamaño, que le ayuda a pasar desapercibida o librarse fácilmente de sus atacantes. En confrontaciones de obreras 1 vs 1, se observó que *W. auropunctata* no despliega de manera diferencial ningún comportamiento hacia las otras tres especies invasoras, lo que concuerda con su capacidad para pasar desapercibida, adoptando conductas como “evasión” o “fingir la muerte” frente a cualquier adversario para evitar los combates.

Los resultados obtenidos en este capítulo son ideales para ilustrar la combinación de dos de los factores más relevantes que limitan la distribución de *W. auropunctata*, la temperatura y la competencia interespecífica. Sobre todo, contrastando sus habilidades a distintas temperaturas ambiente con otras tres de las especies más exitosas de hormigas invasoras, con las que coexiste en su distribución nativa. Si bien *W. auropunctata* fue la especie con la mayor TC_{min}, su dominancia comportamental a 10°C no difirió del de las especies que poseen una mayor tolerancia al frío. De esta manera, el principal problema en una futura expansión de territorio hacia distribuciones más australes, serían las bajas temperaturas más que la competencia interespecífica por interferencia con otras especies invasoras. Teniendo en cuenta los distintos escenarios de cambio climático, donde las temperaturas ambiente aumentarían globalmente (IPCC, 2007; Jaworski & Hilszczański, 2013) y sabiendo que la dominancia de *W. auropunctata* es mayor en temperaturas altas, se esperarían resultados similares a los observados en este trabajo en distribuciones australes cercanas a su actual límite de distribución.

A lo largo de este trabajo se pudo observar como los factores bióticos y abióticos tienen un efecto concreto sobre la tolerancia térmica, la tolerancia a la desecación y la dominancia ecológica de *W. auropunctata*. En base a los resultados obtenidos se postula que, las bajas temperaturas son una de

las principales barreras para alcanzar distribuciones más australes. Esta barrera podría ser superada eventualmente al modificar sus termotolerancias mediante plasticidad, característica que ya demostró poseer. En la medida en la que alcance nuevos territorios dependerá de las habilidades competitivas en su interacción con otras especies de hormigas, para poder lograr una buena dominancia ecológica y/o comportamental, ya que no se destaca por sus habilidades para descubrir fuentes de alimento. No obstante, su capacidad para sobrevivir las confrontaciones y reclutar obreras podría ser un factor importante para establecerse con éxito en los nuevos territorios invadidos. Finalmente, cabe destacar que el impacto de los humanos en la expansión de esta especie, ya sea directamente mediante el transporte de colonias, avance de la frontera agrícola y las urbanizaciones, o indirectamente mediante el cambio climático, es un factor altamente determinante para el transporte y posterior establecimiento de esta especie. Es entonces menester proporcionar la atención y recursos necesarios a este asunto de manera de prevenir futuras invasiones por parte de esta especie, la cual podría causar serios daños a nivel ecológico, sanitario y económico.

Bibliografía

- Achury, R., Ulloa-Chacón, P. and Arcila, Á. (2008). Composición de hormigas e interacciones competitivas con *Wasmannia auropunctata* en fragmentos de bosque seco tropical. *Revista Colombiana de Entomología* **34**, 209–215.
- Adams, C. T. (2019). Agricultural and medical impact of the imported fire ants. In Clifford S.L. (Ed.), *Fire Ants and Leaf-Cutting Ants*, pp. 48–57. CRC Press.
- Addo-Bediako, A., Chown, S. L. and Gaston, K. J. (2000). Thermal tolerance, climatic variability and latitude. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* **267**, 739–745.
- Addo-Bediako, A., Chown, S. L. and Gaston, K. J. (2001). Revisiting water loss in insects: a large scale view. *Journal of Insect Physiology* **47**, 1377–1388.
- Allen, C. R., Epperson, D. M. and Garmestani, A. S. (2004). Red imported fire ant impacts on wildlife: a decade of research. *American Midland Naturalist* **152**, 88–103.
- Alvarez, S. and Solís, D. (2018). Rapid response lowers eradication costs of invasive species. *Choices* **33**, 1–9.
- Andersen, A. N. (1992). Regulation of "momentary" diversity by dominant species in exceptionally rich ant communities of the Australian seasonal tropics. *American Naturalist* **140**, 401–420.
- Andersen, A. N. and Patel, A. D. (1994). Meat ants as dominant members of Australian ant communities: an experimental test of their influence on the foraging success and forager abundance of other species. *Oecologia* **98**, 15–24.
- Andersen, A. N., Blum, M. S. and Jones, T. H. (1991). Venom alkaloids in *Monomorium "rothsteini"* Forel repel other ants: is this the secret to success by *Monomorium* in Australian ant communities? *Oecologia* **88**, 157–160.
- Angilletta Jr, M. J. and Angilletta, M. J. (2009). Thermal adaptation: a theoretical and empirical synthesis. *Oxford University Press*.
- Appel, A. G., Miller, M. K. and Mack, T. P. (1991). Cutaneous water loss of several stages of the red imported fire ant, *Solenopsis invicta* (Buren). *Comparative Biochemistry and Physiology: A: Comparative Physiology*.
- Araújo, M. B., Ferri-Yáñez, F., Bozinovic, F., Marquet, P. A., Valladares, F. and Chown, S. L. (2013). Heat freezes niche evolution. *Ecology letters* **16**, 1206–1219.
- Arcila, A. M., Gómez, L. A. and Ulloa-Chacón, P. (2002). Immature development and colony growth of crazy ant *Paratrechina fulva* under laboratory conditions (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology* **39**, 307–322.

- Arlian, L. G. and Veselica, M. M.** (1979). Water balance in insects and mites. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* **64**, 191–200.
- Armbrecht, I. and Ulloa-Chacón, P.** (2003). The little fire ant *Wasmannia auropunctata* (Roger)(Hymenoptera: Formicidae) as a diversity indicator of ants in tropical dry forest fragments of Colombia. *Environmental Entomology* **32**, 542–547.
- Arnan, X. and Blüthgen, N.** (2015). Using ecophysiological traits to predict climatic and activity niches: lethal temperature and water loss in Mediterranean ants. *Global Ecology and Biogeography* **24**, 1454–1464.
- Arnan, X., Gaucherel, C. and Andersen, A. N.** (2011). Dominance and species co-occurrence in highly diverse ant communities: a test of the interstitial hypothesis and discovery of a three-tiered competition cascade. *Oecologia* **166**, 783–794.
- Arrighi, J. M., Lencer, E. S., Jukar, A., Park, D., Phillips, P. C. and Kaplan, R. H.** (2013). Daily temperature fluctuations unpredictably influence developmental rate and morphology at a critical early larval stage in a frog. *BMC Ecology* **13**, 1–11.
- Ascunce, M. S., Yang, C.-C., Oakey, J., Calcaterra, L., Wu, W.-J., Shih, C.-J., Goudet, J., Ross, K. G. and Shoemaker, D.** (2011). Global invasion history of the fire ant *Solenopsis invicta*. *Science* **331**, 1066–1068.
- Baudier, K. M. and O'Donnell, S.** (2020). Rain shadow effects predict population differences in thermal tolerance of leaf-cutting ant workers (*Atta cephalotes*). *Biotropica* **52**, 113–119.
- Baudier, K. M., D'Amelio, C. L., Malhotra, R., O'Connor, M. P. and O'Donnell, S.** (2018). Extreme insolation: climatic variation shapes the evolution of thermal tolerance at multiple scales. *American Naturalist* **192**, 347–359.
- Beattie, A. J.** (1985). The evolutionary ecology of ant-plant mutualisms. Cambridge University Press.
- Begon, M. and Townsend, C. R.** (2020). Ecology: from individuals to ecosystems. John Wiley & Sons.
- Belliard, S. A., De la Vega, G. J. and Schilman, P. E.** (2019). Thermal tolerance plasticity in Chagas disease vectors *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: reduviidae) and *Triatoma infestans*. *Journal of Medical Entomology* **56**, 997–1003.
- Bentley, M. T., Hahn, D. A. and Oi, F. M.** (2016). The thermal breadth of *Nylanderia fulva* (Hymenoptera: Formicidae) is narrower than that of *Solenopsis invicta* at three thermal ramping rates: 1.0, 0.12, and 0.06° C min⁻¹. *Environmental Entomology* **45**, 1058–1062.
- Berman, M., Andersen, A. N., Hély, C. and Gaucherel, C.** (2013). Overview of the distribution, habitat association and impact of exotic ants on native ant communities in New Caledonia. *PLoS One* **8**, e67245.

- Bertelsmeier, C., Luque, G. M. and Courchamp, F.** (2013a). Increase in quantity and quality of suitable areas for invasive species as climate changes. *Conservation Biology* **27**, 1458–1467.
- Bertelsmeier, C., Luque, G. M. and Courchamp, F.** (2013b). Global warming may freeze the invasion of big-headed ants. *Biological Invasions* **15**, 1561–1572.
- Bertelsmeier, C., Luque, G. M., Hoffmann, B. D. and Courchamp, F.** (2015a). Worldwide ant invasions under climate change. *Biodiversity and Conservation* **24**, 117–128.
- Bertelsmeier, C., Avril, A., Blight, O., Confais, A., Diez, L., Jourdan, H., Orivel, J., Saint Germès, N. and Courchamp, F.** (2015b). Different behavioural strategies among seven highly invasive ant species. *Biological Invasions* **17**, 2491–2503.
- Bertelsmeier, C., Blight, O. and Courchamp, F.** (2016). Invasions of ants (Hymenoptera: Formicidae) in light of global climate change. *Myrmecological News* **22**, 25–42.
- Bestelmeyer, B. T.** (2000). The trade-off between thermal tolerance and behavioural dominance in a subtropical South American ant community. *Journal of Animal Ecology* **69**, 998–1009.
- Bezděčková, K., Bezděčka, P. and Machar, I.** (2015). A checklist of the ants (Hymenoptera: Formicidae) of Peru. *Zootaxa* **4020**, 101–133.
- Bishop, T. R., Robertson, M. P., Van Rensburg, B. J. and Parr, C. L.** (2017). Coping with the cold: minimum temperatures and thermal tolerances dominate the ecology of mountain ants. *Ecological Entomology* **42**, 105–114.
- Blackburn, T. M. and Gaston, K. J.** (1996a). Spatial patterns in the geographic range sizes of bird species in the New World. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* **351**, 897–912.
- Blackburn, T. M. and Gaston, K. J.** (1996b). A sideways look at patterns in species richness, or why there are so few species outside the tropics. *Biodiversity Letters* **3**, 44–53.
- Blancafort, X. and Gómez, C.** (2005). Consequences of the Argentine ant, *Linepithema humile* (Mayr), invasion on pollination of *Euphorbia characias* (L.)(Euphorbiaceae). *Acta Oecologica* **28**, 49–55.
- Blatrix, R., Colin, T., Wegnez, P., Galkowski, C. and Geniez, P.** (2018). Introduced ants (Hymenoptera: Formicidae) of mainland France and Belgium, with a focus on greenhouses. In Mantilleri A. and Frérto B. (Eds.), *Annales de la Société entomologique de France (NS)*, pp. 293–308. Taylor & Francis.
- Boer, P. and Vierbergen, B.** (2008). Exotic ants in The Netherlands (Hymenoptera: Formicidae). *Entomologische Berichten* **68**, 121–129.
- Bond, W. J. and Slingsby, P.** (1984). Collapse of an Ant-Plant Mutualism: The Argentine Ant (*Iridomyrmex humilis*) and myrmecochorous Proteaceae. *Ecology* **65**, 1031–1037.

- Bossdorf, O., Lipowsky, A. and Prati, D.** (2008). Selection of preadapted populations allowed *Senecio inaequidens* to invade Central Europe. *Diversity and Distributions* **14**, 676–685.
- Bousseynroux, A., Blanvillain, C., Darius, T., Vanderwoude, C. and Beaune, D.** (2018). Ecological impacts of the little fire ant (*Wasmannia auropunctata*) in Tahiti. *Pacific Conservation Biology* **25**, 299–307.
- Boyle, M. J., Bishop, T. R., Luke, S. H., Van Breugel, M., Evans, T. A., Pfeifer, M., Fayle, T. M., Hardwick, S. R., Lane-Shaw, R. I. and Yusah, K. M.** (2021). Localised climate change defines ant communities in human-modified tropical landscapes. *Functional Ecology* **35**, 1094–1108.
- Bozinovic, F., Bastías, D. A., Boher, F., Clavijo-Baquet, S., Estay, S. A. and Angilletta Jr, M. J.** (2011). The mean and variance of environmental temperature interact to determine physiological tolerance and fitness. *Physiological and Biochemical Zoology* **84**, 543–552.
- Bradshaw, C. J., Leroy, B., Bellard, C., Roiz, D., Albert, C., Fournier, A., Barbet-Massin, M., Salles, J.-M., Simard, F. and Courchamp, F.** (2016). Massive yet grossly underestimated global costs of invasive insects. *Nature Communications* **7**, 1–8.
- Brandão, C. R. F. and Paiva, R. V.** (2021). The Galapagos ant fauna and the attributes of colonizing ant species. In Willams D.F. (Ed.) *Exotic Ants*, pp. 1–10. CRC Press.
- Brandão, C. R. F., Silva, R. R. and Feitosa, R. M.** (2011). Cerrado ground-dwelling ants (Hymenoptera: Formicidae) as indicators of edge effects. *Zoologia (Curitiba)* **28**, 379–387.
- Brown, J. H.** (1995). *Macroecology*. University of Chicago Press.
- Brown, J. H.** (1999). The legacy of Robert MacArthur: from geographical ecology to macroecology. *Journal of Mammalogy* **80**, 333–344.
- Brown, J. H. and Heske, E. J.** (1990). Temporal changes in a Chihuahuan Desert rodent community. *Oikos* **59**, 290–302.
- Brown, J. H. and Munger, J. C.** (1985). Experimental manipulation of a desert rodent community: food addition and species removal. *Ecology* **66**, 1545–1563.
- Brown, R. E., Nickerson, J. C. and Gaddis Jr, C. H.** (1980). Circular method of sampling and mapping open-field plots [to determine population levels of the imported fire ant, *Solenopsis invicta*, Florida]. *Florida Entomologist (USA)* **63**, 257–258.
- Bujan, J., Yanoviak, S. P. and Kaspari, M.** (2016). Desiccation resistance in tropical insects: causes and mechanisms underlying variability in a Panama ant community. *Ecology and Evolution* **6**, 6282–6291.

- Bujan, J., Roeder, K. A., de Beurs, K., Weiser, M. D. and Kaspari, M.** (2020a). Thermal diversity of North American ant communities: Cold tolerance but not heat tolerance tracks ecosystem temperature. *Global Ecology and Biogeography* **29**, 1486–1494.
- Bujan, J., Roeder, K. A., Yanoviak, S. P. and Kaspari, M.** (2020b). Seasonal plasticity of thermal tolerance in ants. Wiley Online Library.
- Byrne, M. J., Coetzee, J., McConnachie, A. J., Parasram, W. and Hill, M. P.** (2004). Predicting climate compatibility of biological control agents in their region of introduction. In *XI International Symposium on Biological Control of Weeds*, p. 28. CSIRO Canberra (Australia).
- Calcaterra, L. A., Livore, Juan. P., Delgado, A. and Briano, J. A.** (2008). Ecological dominance of the red imported fire ant, *Solenopsis invicta*, in its native range. *Oecologia* **156**, 411–421.
- Calcaterra, L. A., Cuzzo, F., Cabrera, S. M. and Briano, J. A.** (2010). Ground ant diversity (Hymenoptera: Formicidae) in the Iberá Nature Reserve, the largest wetland of Argentina. *Annals of the Entomological Society of America* **103**, 71–83.
- Calcaterra, L., Cabrera, S. and Briano, J.** (2016). Local co-occurrence of several highly invasive ants in their native range: are they all ecologically dominant species? *Insectes Sociaux* **63**, 407–419.
- Callcott, A. M. A.** (2002). Range expansion of the imported fire ant—1918–2001. In *2002 Annual Imported Fire Ant Research Conference, Athens, Georgia, USA*, .
- Canepuccia, A. D., Hidalgo, F., Farina, J. L., Cuzzo, F. and Iribarne, O. O.** (2016). Environmental harshness decreases ant β -Diversity between salt marsh and neighboring upland environments. *Wetlands* **36**, 667–680.
- Carpintero, S. and Reyes-López, J.** (2008). The role of competitive dominance in the invasive ability of the Argentine ant (*Linepithema humile*). *Biological Invasions* **10**, 25–35.
- Case, T. J. and Taper, M. L.** (2000). Interspecific competition, environmental gradients, gene flow, and the coevolution of species' borders. *American Naturalist* **155**, 583–605.
- Cerdá, X., Retana, J. and Cros, S.** (1997). Thermal disruption of transitive hierarchies in Mediterranean ant communities. *Journal of animal ecology* 363–374.
- Cerdá, X., Retana, J. and Cros, S.** (1998). Critical thermal limits in Mediterranean ant species: trade-off between mortality risk and foraging performance. *Functional Ecology* **12**, 45–55.
- Cerdá, X., Arnan, X. and Retana, J.** (2013). Is competition a significant hallmark of ant (Hymenoptera: Formicidae) ecology. *Myrmecological News* **18**, 131–147.
- Chang, V. and Ota, A. K.** (2019). Ant control in Hawaiian drip irrigation systems. In Vander Meer R.K. (Ed.), *Applied Myrmecology*, pp. 708–715. CRC Press.
- Chapman, R. F.** (1998). *The insects: structure and function*. Cambridge University Press.

- Chen, Y.-F., Chang, H.-C. and Chao, C.-M.** (2005). Fire ant, a new hazard to military camps in Taiwan. *Journal of Medical Sciences* **25**, 161–165.
- Chen, S., Yi, Z., Lu, Y., Hao, R. A. N. and Xu, Y.** (2022). First record of the little fire ant, *Wasmannia auropunctata* (Hymenoptera: Formicidae), in Chinese mainland. *Journal of Integrative Agriculture* **21**, 1825–1829.
- Chick, L. D., Lessard, J.-P., Dunn, R. R. and Sanders, N. J.** (2020). The coupled influence of thermal physiology and biotic interactions on the distribution and density of ant species along an elevational gradient. *Diversity* **12**, 456.
- Chifflet, L.** (2016). Estudios ecológicos y genéticos de la hormiga invasora *Wasmannia auropunctata* en Argentina, el límite sur de su distribución nativa [Tesis de doctorado no publicada]. Universidad de Buenos Aires.
- Chifflet, L., Rodriguero, M. S., Calcaterra, L. A., Rey, O., Dinghi, P. A., Baccaro, F. B., Souza, J. L. P., Follett, P. and Confalonieri, V. A.** (2016). Evolutionary history of the little fire ant *Wasmannia auropunctata* before global invasion: inferring dispersal patterns, niche requirements and past and present distribution within its native range. *Journal of Evolutionary Biology* **29**, 790–809.
- Chifflet, L., Guzmán, N. V., Rey, O., Confalonieri, V. A. and Calcaterra, L. A.** (2018). Southern expansion of the invasive ant *Wasmannia auropunctata* within its native range and its relation with clonality and human activity. *PLoS One* **13**, e0206602.
- Chmura, D. J., Howe, G. T., Anderson, P. D. and St Clair, J. B.** (2010). Przystosowanie drzew, lasow i lesnictwa do zmian klimatycznych. *Sylwan* **154**, 587–602.
- Chown, S. L. and Terblanche, J. S.** (2006). Physiological diversity in insects: ecological and evolutionary contexts. *Advances in Insect Physiology* **33**, 50–152.
- Chown, S. L., Addo-Bediako, A. and Gaston, K. J.** (2002). Physiological variation in insects: large-scale patterns and their implications. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* **131**, 587–602.
- Chown, S. L., Chown, S. and Nicolson, S.** (2004). Insect physiological ecology: mechanisms and patterns. Oxford University Press.
- Chown, S. L., Jumbam, K. R., Sørensen, J. G. and Terblanche, J. S.** (2009). Phenotypic variance, plasticity and heritability estimates of critical thermal limits depend on methodological context. *Functional Ecology* **23**, 133–140.
- Clark, D. B., Guayasamin, C., Pazmino, O., Donoso, C. and de Villacis, Y. P.** (1982). The tramp ant *Wasmannia auropunctata*: autecology and effects on ant diversity and distribution on Santa Cruz Island, Galapagos. *Biotropica* 196–207.
- Clarke, A.** (2003). Costs and consequences of evolutionary temperature adaptation. *Trends in Ecology & Evolution* **18**, 573–581.

- Clavero, M. and García-Berthou, E.** (2005). Invasive species are a leading cause of animal extinctions. *Trends in Ecology & Evolution* **20**, 110.
- Clusella-Trullas, S., Blackburn, T. M. and Chown, S. L.** (2011). Climatic predictors of temperature performance curve parameters in ectotherms imply complex responses to climate change. *American Naturalist* **177**, 738–751.
- Colautti, R. I. and MacIsaac, H. J.** (2004). A neutral terminology to define ‘invasive’ species. *Diversity and Distributions* **10**, 135–141.
- Colinet, H., Sinclair, B. J., Vernon, P. and Renault, D.** (2015). Insects in fluctuating thermal environments. *Annual Review of Entomology* **60**, 123.
- Contreras, H. L. and Bradley, T. J.** (2010). Transitions in insect respiratory patterns are controlled by changes in metabolic rate. *Journal Insect Physiol.* **56**, 522–528
- Coulin, C., de la Vega, G. J., Chifflet, L., Calcaterra, L. A. and Schilman, P. E.** (2019). Linking thermo-tolerances of the highly invasive ant, *Wasmannia auropunctata*, to its current and potential distribution. *Biological Invasions* **21**, 3491–3504.
- Crandall, M. C. D. P. K., Clement, M. and Posada, D.** (2000). TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology* **9**, 1657–1660.
- Cuezzo, F., Calcaterra, L., Chifflet, L. and Follet, P.** (2015). *Wasmannia* Forel (Hymenoptera: Formicidae: Myrmicinae) in Argentina: systematics and distribution. *Sociobiology* **62**, 246–265.
- Darriba, D., Taboada, G. L., Doallo, R. and Posada, D.** (2012). jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* **9**, 772.
- Davidson, D. W.** (1998). Resource discovery versus resource domination in ants: a functional mechanism for breaking the trade-off. *Ecological Entomology* **23**, 484–490.
- Davidson, N. A. and Stone, N. D.** (1989). Imported fire ants. In Dahlsten D.L., Garcia R. and Lorraine H. (Eds.), *Eradication of Exotic Pests* pp. 196–217. Yale University Press.
- Davis, A. J., Jenkinson, L. S., Lawton, J. H., Shorrocks, B. and Wood, S.** (1998). Making mistakes when predicting shifts in species range in response to global warming. *Nature* **391**, 783–786.
- Davis Jr, L. R., Van der Meer, R. K. and Porter, S. D.** (2001). Red imported fire ants expand their range across the West Indies. *Florida Entomologist* **84**, 735–736.
- de la Vega, G. J. and Schilman, P. E.** (2018). Ecological and physiological thermal niches to understand distribution of Chagas disease vectors in Latin America. *Medical and Veterinary Entomology* **32**, 1–13.
- De Souza, A. L. B., Delabie, J. H. C. and Fowler, H. G.** (1998). *Wasmannia* spp. (Hym., Formicidae) and insect damages to cocoa in Brazilian farms. *Journal of Applied Entomology* **122**, 339–341.

- Debout, G., Schatz, B., Elias, M. and Mckey, D.** (2007). Polydomy in ants: what we know, what we think we know, and what remains to be done. *Biological Journal of the Linnean Society* **90**, 319–348.
- DeHeer, C. J.** (2002). A comparison of the colony-founding potential of queens from single- and multiple-queen colonies of the fire ant *Solenopsis invicta*. *Animal Behaviour* **64**, 655–661.
- Delsinne, T., Jourdan, H. and Chazeau, J.** (2001). Premières données sur la monopolisation de ressources par l’envahisseur *Wasmannia auropunctata* (Roger) au sein d’une myrmécophage de forêt sèche néo-calédonienne. *Actes des Colloques Insectes Sociaux* **14**, 1–5.
- Delsinne, T., Roisin, Y. and Leponce, M.** (2007). Spatial and temporal foraging overlaps in a Chacoan ground-foraging ant assemblage. *Journal of Arid Environments* **71**, 29–44.
- Deyrup, M., Davis, L. and Cover, S.** (2000). Exotic ants in Florida. *Transactions of the American Entomological Society* **126**, 293–326.
- Di Rienzo, J. A.** (2009). InfoStat versión 2009. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. <http://www.infostat.com.ar>.
- Diagne, C., Leroy, B., Gozlan, R. E., Vaissière, A.-C., Assailly, C., Nuninger, L., Roiz, D., Jourdain, F., Jarić, I. and Courchamp, F.** (2020). InvaCost, a public database of the economic costs of biological invasions worldwide. *Scientific Data* **7**, 1–12.
- Diamond, S. E. and Chick, L. D.** (2018). The Janus of macrophysiology: stronger effects of evolutionary history, but weaker effects of climate on upper thermal limits are reversed for lower thermal limits in ants. *Current Zoology* **64**, 223–230.
- Diamond, S. E., Chick, L., Perez, A. B. E., Strickler, S. A. and Martin, R. A.** (2017). Rapid evolution of ant thermal tolerance across an urban-rural temperature cline. *Biological Journal of the Linnean Society* **121**, 248–257.
- Diamond, S. E., Chick, L. D., Perez, A., Strickler, S. A. and Martin, R. A.** (2018). Evolution of thermal tolerance and its fitness consequences: parallel and non-parallel responses to urban heat islands across three cities. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **285**, 20180036.
- Drummond, A. J. and Rambaut, A.** (2007). BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology* **7**, 1–8.
- Edney, E. B.** (2012). Water balance in land arthropods. Springer Science & Business Media.
- Emerson, B. C. and Kolm, N.** (2005). Species diversity can drive speciation. *Nature* **434**, 1015–1017.
- Esch, C., Jimenez, J. P., Peretz, C., Uno, H. and O’Donnell, S.** (2017). Thermal tolerances differ between diurnal and nocturnal foragers in the ant *Ectatomma ruidum*. *Insectes Sociaux* **64**, 439–444.

- Espadaler, X., Pradera, C. and Santana, J. A.** (2018). The first outdoor-nesting population of *Wasmannia auropunctata* in continental Europe (Hymenoptera, Formicidae). *Iberomyrmex* **10**, 1–8.
- Eyer, P.-A., McDowell, B., Johnson, L. N., Calcaterra, L. A., Fernandez, M. B., Shoemaker, D., Puckett, R. T. and Vargo, E. L.** (2018). Supercolonial structure of invasive populations of the tawny crazy ant *Nylanderia fulva* in the US. *BMC Evolutionary Biology* **18**, 1–14.
- Fasi, J., Brodie, G. and Markwell, T.** (2009). Quantifying the dominance of little fire ant (*Wasmannia auropunctata*) and its effect on crops in the Solomon Islands. *Masters of Science in Biology thesis, The University of the South Pacific*, ix.
- Feener Jr, D. H., Orr, M. R., Wackford, K. M., Longo, J. M., Benson, W. W. and Gilbert, L. E.** (2008). Geographic variation in resource dominance–discovery in Brazilian ant communities. *Ecology* **89**, 1824–1836.
- Fellers, J. H.** (1987). Interference and exploitation in a guild of woodland ants. *Ecology* **68**, 1466–1478.
- Fick, S. E. and Hijmans, R. J.** (2017). WorldClim 2: new 1-km spatial resolution climate surfaces for global land areas. *Int. J. Climatol* **37**, 4302–4315.
- Fischer, K., Kölzow, N., Höltje, H. and Karl, I.** (2011). Assay conditions in laboratory experiments: is the use of constant rather than fluctuating temperatures justified when investigating temperature-induced plasticity? *Oecologia* **166**, 23–33.
- Fitzpatrick, M. C., Weltzin, J. F., Sanders, N. J. and Dunn, R. R.** (2007). The biogeography of prediction error: why does the introduced range of the fire ant over-predict its native range? *Global Ecology and Biogeography* **16**, 24–33.
- Folgarait, P. J.** (1998). Ant biodiversity and its relationship to ecosystem functioning: a review. *Biodiversity & Conservation* **7**, 1221–1244.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. and Vrijenhoek, R.** (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol Mar Biol Biotechnol.* 1994; 3: 294–9. PMID.
- Foucaud, J., Fournier, D., Orivel, J., Delabie, J. H., Loiseau, A., Le Breton, J., Kergoat, G. J. and Estoup, A.** (2007). Sex and clonality in the little fire ant. *Molecular Biology and Evolution* **24**, 2465–2473.
- Foucaud, J., Orivel, J., Fournier, D., Delabie, J. H., Loiseau, A., Le Breton, J., Cerdan, P. and Estoup, A.** (2009). Reproductive system, social organization, human disturbance and ecological dominance in native populations of the little fire ant, *Wasmannia auropunctata*. *Molecular Ecology* **18**, 5059–5073.
- Fournier, D., Estoup, A., Orivel, J., Foucaud, J., Jourdan, H., Breton, J. L. and Keller, L.** (2005). Clonal reproduction by males and females in the little fire ant. *Nature* **435**, 1230–1234.

- Frisque, K.** (1935). La Fourmi d'Argentine *Iridomyrmex humilis* MAYR dans les serres en Belgique. *Annales de la Société Entomologique de Belgique* **75**, 148–153.
- Garcia-Robledo, C., Chuquillanqui, H., Kuprewicz, E. K. and Escobar-Sarria, F.** (2018). Lower thermal tolerance in nocturnal than in diurnal ants: a challenge for nocturnal ectotherms facing global warming. *Ecological Entomology* **43**, 162–167.
- Garcia-Robledo, C., Kuprewicz, E. K., Dierick, D., Hurley, S. and Langevin, A.** (2020). The affordable laboratory of climate change: devices to estimate ectotherm vital rates under projected global warming. *Ecosphere* **11**, e03083.
- Gaston, K. J.** (2003). The structure and dynamics of geographic ranges. Oxford University Press on Demand.
- Gaston, K. J. and Blackburn, T. M.** (2000). Pattern and process in macroecology. Wiley Online Library.
- Gaston, K. J. and Chown, S. L.** (1999). Elevation and climatic tolerance: a test using dung beetles. *Oikos* **86**, 584–590.
- Gibbs, A. G. and Johnson, R. A.** (2004). The role of discontinuous gas exchange in insects: the chthonic hypothesis does not hold water. *Journal of Experimental Biology* **207**, 3477–3482.
- Gibbs, A. G. and Rajpurohit, S.** (2010). Cuticular lipids and water balance. In Blomquist G.J. and Bagnères A.G. (Eds.), *Insect hydrocarbons: biology, biochemistry, and chemical ecology* pp. 100–120. Cambridge University Press.
- Gibert, P. and Huey, R. B.** (2001). Chill-coma temperature in *Drosophila*: effects of developmental temperature, latitude, and phylogeny. *Physiological and Biochemical Zoology* **74**, 429–434.
- Goloboff, P. A., Farris, J. S. and Nixon, K. C.** (2008). TNT, a free program for phylogenetic analysis. *Cladistics* **24**, 774–786.
- Gómez, C. and Oliveras, J.** (2003). Can the Argentine ant (*Linepithema humile* Mayr) replace native ants in myrmecochory? *Acta Oecologica* **24**, 47–53.
- González-Tokman, D., Córdoba-Aguilar, A., Dáttilo, W., Lira-Noriega, A., Sánchez-Guillén, R. A. and Villalobos, F.** (2020). Insect responses to heat: physiological mechanisms, evolution and ecological implications in a warming world. *Biological Reviews* **95**, 802–821.
- Gotzek, D., Brady, S. G., Kallal, R. J. and LaPolla, J. S.** (2012). The importance of using multiple approaches for identifying emerging invasive species: the case of the Raspberry crazy ant in the United States. *PLoS One* **7**, e45314
- Gray, E. M.** (2013). Thermal acclimation in a complex life cycle: the effects of larval and adult thermal conditions on metabolic rate and heat resistance in *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *Journal of Insect Physiology* **59**, 1001–1007.

- Hadley, N. F.** (1994). Water relations of terrestrial arthropods. CUP Archive.
- Hahn, D. A. and Denlinger, D. L.** (2011). Energetics of insect diapause. *Annual Review of Entomology* **56**, 103–121.
- Haines, I. H. and Haines, J. B.** (1978). Colony structure, seasonality and food requirements of the crazy ant, *Anoplolepis longipes* (Jerd.), in the Seychelles. *Ecological Entomology* **3**, 109–118.
- Hallas, R., Schiffer, M. and Hoffmann, A. A.** (2002). Clinal variation in *Drosophila serrata* for stress resistance and body size. *Genetics Research* **79**, 141–148.
- Harrison, J. F., Woods, H. A. and Roberts, S. P.** (2012). Ecological and environmental physiology of insects. Oxford University Press.
- Heatwole, H. and Muir, R.** (1989). Seasonal and daily activity of ants in the pre-Saharan steppe of Tunisia. *Journal of Arid Environments* **16**, 49–67.
- Heinze, J., Cremer, S., Eckl, N. and Schrempf, A.** (2006). Stealthy invaders: the biology of *Cardiocondyla tramp* ants. *Insectes Sociaux* **53**, 1–7.
- Heled, J. and Drummond, A. J.** (2009). Bayesian inference of species trees from multilocus data. *Molecular Biology and Evolution* **27**, 570–580.
- Hellmann, J. J., Byers, J. E., Bierwagen, B. G. and Dukes, J. S.** (2008). Five potential consequences of climate change for invasive species. *Conservation Biology* **22**, 534–543.
- Heske, E. J., Brown, J. H. and Mistry, S.** (1994). Long-term experimental study of a Chihuahuan Desert rodent community: 13 years of competition. *Ecology* **75**, 438–445.
- Hickman, C. P., Roberts, L. S., Keen, S. L., Larson, A., I'anson, H. and Eisenhour, D. J.** (2001). Integrated Principles of Zoology. McGraw-Hill.
- Hochberg, M. E. and Ives, A. R.** (1999). Can natural enemies enforce geographical range limits? *Ecography* **22**, 268–276.
- Hoffmann, B. D. and Broadhurst, L. M.** (2016). The economic cost of managing invasive species in Australia. *NeoBiota* **31**, 1–18.
- Hoffmann, A. A. and Hewa-Kapuge, S.** (2000). Acclimation for heat resistance in *Trichogramma nr. brassicae*: can it occur without costs? *Functional Ecology* **14**, 55–60.
- Hoffmann, A. A., Anderson, A. and Hallas, R.** (2002). Opposing clines for high and low temperature resistance in *Drosophila melanogaster*. *Ecology Letters* **5**, 614–618.
- Hoffmann, A. A., Sørensen, J. G. and Loeschcke, V.** (2003). Adaptation of *Drosophila* to temperature extremes: bringing together quantitative and molecular approaches. *Journal of Thermal Biology* **28**, 175–216.
- Hölldobler, B. and Wilson, E. O.** (1990). The ants. Harvard University Press.

- Holway, D. A.** (1998). Effect of Argentine ant invasions on ground-dwelling arthropods in northern California riparian woodlands. *Oecologia* **116**, 252–258.
- Holway, D. A.** (1999). Competitive mechanisms underlying the displacement of native ants by the invasive Argentine ant. *Ecology* **80**, 238–251.
- Holway, D. A., Lach, L., Suarez, A. V., Tsutsui, N. D. and Case, T. J.** (2002a). The causes and consequences of ant invasions. *Annual Review of Ecology and Systematics* **33**, 181–233.
- Holway, D. A., Suarez, A. V. and Case, T. J.** (2002b). Role of abiotic factors in governing susceptibility to invasion: a test with Argentine ants. *Ecology* **83**, 1610–1619.
- Horn, K.** (2010). Examining competitive interaction between raspberry crazy ants (*Paratrechina sp. nr. pubens*) and red imported fire ants (*Solenopsis invicta*) using laboratory and field studies. Rice University.
- Horvath, V., Guirao-Rico, S., Salces-Ortiz, J., Rech, G. E., Green, L., Aprea, E., Rodeghiero, M., Anfora, G. and Gonzalez, J.** (2022). Basal and stress-induced expression changes consistent with water loss reduction explain desiccation tolerance of natural *Drosophila melanogaster* populations. *bioRxiv*, doi: [10.1186/s12915-023-01530-4](https://doi.org/10.1186/s12915-023-01530-4)
- Huey, R. B. and Berrigan, D.** (2001). Temperature, demography, and ectotherm fitness. *American Naturalist* **158**, 204–210.
- Huey, R. B., Berrigan, D., Gilchrist, G. W. and Herron, J. C.** (1999). Testing the adaptive significance of acclimation: a strong inference approach. *American Zoologist* **39**, 323–336.
- Huey, R. B., Deutsch, C. A., Tewksbury, J. J., Vitt, L. J., Hertz, P. E., Álvarez Pérez, H. J. and Garland Jr, T.** (2009). Why tropical forest lizards are vulnerable to climate warming. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **276**, 1939–1948.
- Huey, R. B., Kearney, M. R., Krockenberger, A., Holtum, J. A., Jess, M. and Williams, S. E.** (2012). Predicting organismal vulnerability to climate warming: roles of behaviour, physiology and adaptation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **367**, 1665–1679.
- Hufbauer, R. A., Facon, B., Ravigné, V., Turgeon, J., Foucaud, J., Lee, C. E., Rey, O. and Estoup, A.** (2012). Anthropogenically induced adaptation to invade (AIAI): contemporary adaptation to human-altered habitats within the native range can promote invasions. *Evolutionary Applications* **5**, 89–101.
- Human, K. G. and Gordon, D. M.** (1996). Exploitation and interference competition between the invasive Argentine ant, *Linepithema humile*, and native ant species. *Oecologia* **105**, 405–412.
- Human, K. G. and Gordon, D. M.** (1997). Effects of Argentine ants on invertebrate biodiversity in northern California. *Conservation Biology* **11**, 1242–1248.

- Huxley, C. R. and Cutler, D. F. (1991). *Ant-plant interactions*. Oxford University Press.
- IPCC (2007). *Climate change 2007: The physical science basis*. Cambridge University Press.
- Jaworski, T. and Hilszczański, J. (2013). The effect of temperature and humidity changes on insects development their impact on forest ecosystems in the context of expected climate change. *Forest Research Papers* **74**, 345–355
- Jayatilaka, P., Narendra, A., Reid, S. F., Cooper, P. and Zeil, J. (2011). Different effects of temperature on foraging activity schedules in sympatric *Myrmecia* ants. *Journal of Experimental Biology* **214**, 2730–2738.
- Jourdan, H., Sadler, R. A. and Bauer, A. M. (2001). Little fire ant invasion (*Wasmannia auropunctata*) as a threat to New Caledonian lizards: evidences from a sclerophyll forest (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology* **38**, 283–302.
- Jucker, C., Rigato, F. and Regalin, R. (2008). Exotic ant records from Italy (Hymenoptera, Formicidae). *Bollettino di Zoologia Agraria e di Bachicoltura* **40**, 99–107.
- Jumbam, K. R., Jackson, S., Terblanche, J. S., McGeoch, M. A. and Chown, S. L. (2008). Acclimation effects on critical and lethal thermal limits of workers of the Argentine ant, *Linepithema humile*. *Journal of Insect Physiology* **54**, 1008–1014.
- Kabashima, J. N., Greenberg, L., Rust, M. K. and Paine, T. D. (2007). Aggressive interactions between *Solenopsis invicta* and *Linepithema humile* (Hymenoptera: Formicidae) under laboratory conditions. *Journal of Economic Entomology* **100**, 148–154.
- Kalra, B., Tamang, A. M. and Parkash, R. (2017). Cross-tolerance effects due to adult heat hardening, desiccation and starvation acclimation of tropical drosophilid *Zaprionus indianus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* **209**, 65–73.
- Kaspari, M., Clay, N. A., Lucas, J., Yanoviak, S. P. and Kay, A. (2015). Thermal adaptation generates a diversity of thermal limits in a rainforest ant community. *Global Change Biology* **21**, 1092–1102.
- Keane, R. M. and Crawley, M. J. (2002). Exotic plant invasions and the enemy release hypothesis. *Trends in Ecology & Evolution* **17**, 164–170.
- Kirschenbaum, R. and Grace, J. K. (2008). Agonistic responses of the tramp ants *Anoplolepis gracilipes*, *Pheidole megacephala*, *Linepithema humile*, and *Wasmannia auropunctata* (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology* **51**, 673–684.
- Klotz, J. H., Mangold, J. R., Vail, K. M., Davis Jr, L. R. and Patterson, R. S. (1995). A survey of the urban pest ants (Hymenoptera: Formicidae) of peninsular Florida. *Florida Entomologist* **78**, 109–118.

- Kostal, V., Vambera, J. and Bastl, J.** (2004). On the nature of pre-freeze mortality in insects: water balance, ion homeostasis and energy charge in the adults of *Pyrrhocoris apterus*. *Journal of Experimental Biology* **207**, 1509–1521.
- Kumar, S., LeBrun, E. G., Stohlgren, T. J., Stabach, J. A., McDonald, D. L., Oi, D. H. and LaPolla, J. S.** (2015). Evidence of niche shift and global invasion potential of the Tawny Crazy ant, *Nylanderia fulva*. *Ecology and Evolution* **5**, 4628–4641.
- Kupferberg, S. J.** (1997). Bullfrog (*Rana catesbeiana*) invasion of a California river: the role of larval competition. *Ecology* **78**, 1736–1751.
- Lach, L. and Hooper-Bui, L. M.** (2010). Consequences of ant invasions. In Lach L., Parr C.L. and Abbott K.L. (Eds.), *Ant Ecology* pp. 261–286. Oxford Univ Press.
- Lahondère, C. and Lazzari, C. R.** (2012). Mosquitoes cool down during blood feeding to avoid overheating. *Current Biology* **22**, 40–45.
- Le Breton, J., Chazeau, J. and Jourdan, H.** (2003). Immediate impacts of invasion by *Wasmannia auropunctata* (Hymenoptera: Formicidae) on native litter ant fauna in a New Caledonian rainforest. *Austral Ecology* **28**, 204–209.
- Le Breton, J., Jourdan, H., Chazeau, J., Orivel, J. and Dejean, A.** (2005). Niche opportunity and ant invasion: the case of *Wasmannia auropunctata* in a New Caledonian rain forest. *Journal of Tropical Ecology* **21**, 93–98.
- Le Breton, J., Orivel, J., Chazeau, J. and Dejean, A.** (2007). Unadapted behaviour of native, dominant ant species during the colonization of an aggressive, invasive ant. *Ecological Research* **22**, 107–114.
- Lebrun, E. G. and Feener Jr, D. H.** (2007). When trade-offs interact: balance of terror enforces dominance discovery trade-off in a local ant assemblage. *Journal of Animal Ecology* **76**, 58–64.
- LeBrun, E. G., Tillberg, C. V., Suarez, A. V., Folgarait, P. J., Smith, C. R. and Holway, D. A.** (2007). An experimental study of competition between fire ants and Argentine ants in their native range. *Ecology* **88**, 63–75.
- LeBrun, E. G., Abbott, J. and Gilbert, L. E.** (2013). Imported crazy ant displaces imported fire ant, reduces and homogenizes grassland ant and arthropod assemblages. *Biological Invasions* **15**, 2429–2442.
- LeBrun, E. G., Jones, N. T. and Gilbert, L. E.** (2014). Chemical warfare among invaders: a detoxification interaction facilitates an ant invasion. *Science* **343**, 1014–1017.
- Lee, C. E.** (2002). Evolutionary genetics of invasive species. *Trends in Ecology & Evolution* **17**, 386–391.

- Lee, C. C., Weng, Y. M., Lai, L. C., Suarez, A. V., Wu, W. J., Lin, C. C. and Yang, C. C. S.** (2020). Analysis of recent interception records reveals frequent transport of arboreal ants and potential predictors for ant invasion in Taiwan. *Insects* **11**, 356.
- Leong, C. M., Shiao, S. F. and Guenard, B. S.** (2017). Ants in the city, a preliminary checklist of Formicidae (Hymenoptera) in Macau, one of the most heavily urbanized regions of the world. *Asian Myrmecology* **9**, e009014
- Lessard, J. P., Dunn, R. R. and Sanders, N. J.** (2009). Temperature-mediated coexistence in temperate forest ant communities. *Insectes Sociaux* **56**, 149–156.
- Librado, P. and Rozas, J.** (2009). DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* **25**, 1451–1452.
- Lighton, J. R. B.** (2018). *Measuring Metabolic Rates: A Manual for Scientists*. 2nd ed. Oxford University Press.
- Lighton, J. R. B. and Feener, D. H.** (1989). Water-Loss Rate and Cuticular Permeability in Foragers of the Desert Ant *Pogonomyrmex rugosus*. *Physiological Zoology* **62**, 1232–1256.
- Lighton, J. R., Schilman, P. E. and Holway, D. A.** (2004). The hyperoxic switch: assessing respiratory water loss rates in tracheate arthropods with continuous gas exchange. *Journal of Experimental Biology* **207**, 4463–4471.
- Lodge, D. M.** (1993). Biological invasions: lessons for ecology. *Trends in Ecology & Evolution* **8**, 133–137.
- Lofgren, C. S. and Adams, C. T.** (2019). Economic aspects of the imported fire ant in the United States. In Breed M. D., Michener C. D. and Evans H. E. (Eds.), *The Biology of Social Insects* pp. 124-128. CRC Press.
- Lombaert, E., Guillemaud, T., Cornuet, J. M., Malausa, T., Facon, B. and Estoup, A.** (2010). Bridgehead effect in the worldwide invasion of the biocontrol harlequin ladybird. *PLoS one* **5**, e9743.
- Longino, J. T. and Fernández, F.** (2007). Taxonomic review of the genus *Wasmannia*. *Memoirs of the American Entomological Institute* **80**, 271–289.
- Lowe, S., Browne, M., Boudjelas, S. and De Poorter, M.** (2000). 100 of the world's worst invasive alien species: a selection from the global invasive species database. Invasive Species Specialist Group Auckland.
- Lubin, Y. D.** (1984). Changes in the native fauna of the Galápagos Islands following invasion by the little red fire ant, *Wasmannia auropunctata*. *Biological Journal of the Linnean Society* **21**, 229–242.
- Lyons, S. K. and Willig, M. R.** (1997). Latitudinal patterns of range size: methodological concerns and empirical evaluations for New World bats and marsupials. *Oikos* **79**, 568–580.

- Lytle, A. J., Costa, J. T. and Warren, R. J.** (2020). Invasion and high-elevation acclimation of the red imported fire ant, *Solenopsis invicta*, in the southern Blue Ridge Escarpment region of North America. *PLoS One* **15**, e0232264.
- MacArthur, R. H.** (1984). *Geographical ecology: patterns in the distribution of species*. Princeton University Press.
- MacGown, J. and Layton, B.** (2010). The invasive Raspberry crazy ant, *Nylanderia sp. near pubens* (Hymenoptera: Formicidae), reported from Mississippi. *Midsouth Entomol* **3**, 44–47.
- MacMahon, J. A., Mull, J. F. and Crist, T. O.** (2000). Harvester ants (*Pogonomyrmex spp.*): their community and ecosystem influences. *Annual Review of Ecology and Systematics* **31**, 265–291.
- Macom, T. E. and Porter, S. D.** (1996). Comparison of polygyne and monogyne red imported fire ant (Hymenoptera: Formicidae) population densities. *Annals of the Entomological Society of America* **89**, 535–543.
- Majer, J. D., Delabie, J. H. and Smith, M. R.** (1994). Arboreal ant community patterns in Brazilian cocoa farms. *Biotropica* **26**, 73–83.
- Marsh, A. C.** (1988). Activity patterns of some Namib desert ants. *Journal of Arid Environments* **14**, 61–73.
- Martin-Roy, R., Nygård, E., Nouhaud, P. and Kulmuni, J.** (2021). Differences in thermal tolerance between parental species could fuel thermal adaptation in hybrid wood ants. *American Naturalist* **198**, 278–294.
- Maysov, A.** (2014). Chill coma temperatures appear similar along a latitudinal gradient, in contrast to divergent chill coma recovery times, in two widespread ant species. *Journal of Experimental Biology* **217**, 2650–2658.
- Maysov, A. and Kipyatkov, V. E.** (2011). Contrasting dynamics of cold resistance traits in field-fresh *Myrmica* ants during the active season. *Journal of Thermal Biology* **36**, 64–70.
- Mbenoun Masse, P. S., Tindo, M., Kenne, M., Tadu, Z., Mony, R. and Djiéto-Lordon, C.** (2017). Impact of the invasive ant *Wasmannia auropunctata* (Formicidae: Myrmicinae) on local ant diversity in southern Cameroon. *African Journal of Ecology* **55**, 423–432.
- McDonald, D. L.** (2012). Investigation of an invasive ant species: *Nylanderia fulva* colony extraction, management, diet preference, fecundity, and mechanical vector potential. Texas A&M University.
- McGlynn, T. P.** (1999). The worldwide transfer of ants: geographical distribution and ecological invasions. *Journal of Biogeography* **26**, 535–548.
- Meier, R. E.** (2021). Coexisting patterns and foraging behavior of introduced and native ants (Hymenoptera Formicidae) in the Galapagos Islands (Ecuador). In Williams D.F. (Ed.), *Exotic Ants*, pp. 44–62. CRC Press.

- Meyers, J. M. and Gold, R. E.** (2008). Identification of an exotic pest ant, *Paratrechina sp. nr. pubens* (Hymenoptera: Formicidae), in Texas. *Sociobiology* **52**, 589–604.
- Mikheyev, A. S. and Mueller, U. G.** (2007). Genetic relationships between native and introduced populations of the little fire ant *Wasmannia auropunctata*. *Diversity and Distributions* **13**, 573–579.
- Mitchell, T. D., Carter, T. R., Jones, P. D., Hulme, M. and New, M.** A comprehensive set of high-resolution grids of monthly climate for Europe and the globe: the observed record (1901-2000) and 16 scenarios (2001-2100). Tyndall Centre Working Paper 55, Tyndall Centre for Climate Change Research.
- Modlmeier, A. P., Pamminer, T., Foitzik, S. and Scharf, I.** (2012). Cold resistance depends on acclimation and behavioral caste in a temperate ant. *Naturwissenschaften* **99**, 811–819.
- Morel, L., Meer, R. K. V. and Lofgren, C. S.** (1990). Comparison of nestmate recognition between monogyne and polygyne populations of *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae). *Annals of the Entomological Society of America* **83**, 642–647.
- Morris, J. R. and Steigman, K. L.** (1993). Effects of polygyne fire ant invasion on native ants of a blackland prairie in Texas. *The Southwestern Naturalist* **38**, 136–140.
- Morrison, L. W.** (1996). Community organization in a recently assembled fauna: the case of Polynesian ants. *Oecologia* **107**, 243–256.
- Morrison, L. W., Kawazoe, E. A., Guerra, R. and Gilbert, L. E.** (2000). Ecological interactions of *Pseudacteon* parasitoids and *Solenopsis* ant hosts: environmental correlates of activity and effects on competitive hierarchies. *Ecological Entomology* **25**, 433–444.
- Morse, D. H.** (1974). Niche breadth as a function of social dominance. *American Naturalist* **108**, 818–830.
- Murakami, T.** (2018). Three case studies for control of invasive alien ant species, fire ant (*Solenopsis invicta*, Formicidae) in Japan. *Ketsudan Kagaku*, **4**, 33–42.
- Mutamiswa, R., Tarusikirwa, V., Nyamukondiwa, C. and Chidawanyika, F.** (2020). Fluctuating environments impact thermal tolerance in an invasive insect species *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Applied Entomology* **144**, 885–896.
- Ndoutoume-Ndong, A. and Mikissa, B.** (2007). Influence de la presence de la fourmi *Wasmannia auropunctata* (Roger 1863)(Hymenoptera: Formicidae) sur les autres especes de fourmis dans la reserve de la Lope (centre du Gabon). *Annales de la Société Entomologique de France* **43**, 155–158.
- Ness, J. H. and Bronstein, J. L.** (2004). The effects of invasive ants on prospective ant mutualists. *Biological Invasions* **6**, 445–461.

- Nguyen, A. D., Brown, M., Zitnay, J., Cahan, S. H., Gotelli, N. J., Arnett, A. and Ellison, A. M.** (2019). Trade-offs in cold resistance at the northern range edge of the common woodland ant *Aphaenogaster picea* (Formicidae). *American Naturalist* **194**, 151–163.
- O’Dowd, D. J., Green, P. T. and Lake, P. S.** (2003). Invasional ‘meltdown’ on an oceanic island. *Ecology Letters* **6**, 812–817.
- Pagel, M. D., May, R. M. and Collie, A. R.** (1991). Ecological aspects of the geographical distribution and diversity of mammalian species. *American Naturalist* **137**, 791–815.
- Paini, D. R., Sheppard, A. W., Cook, D. C., De Barro, P. J., Worner, S. P. and Thomas, M. B.** (2016). Global threat to agriculture from invasive species. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **113**, 7575–7579.
- Papadopoulou, A., Anastasiou, I. and Vogler, A. P.** (2010). Revisiting the insect mitochondrial molecular clock: the mid-Aegean trench calibration. *Molecular Biology and Evolution* **27**, 1659–1672.
- Parkash, R., Rajpurohit, S. and Ramniwas, S.** (2008). Changes in body melanisation and desiccation resistance in highland vs. lowland populations of *Drosophila melanogaster*. *Journal of insect physiology* **54**, 1050–1056.
- Parr, C. L. and Bishop, T. R.** (2022). The response of ants to climate change. *Global Change Biology* **28**, 3188–3205.
- Passera, L.** (2021). Characteristics of tramp species. In Williams D.F. (Ed.), *Exotic ants* pp. 23–43. CRC Press.
- Perez, R., de Souza Araujo, N., Defrance, M. and Aron, S.** (2021). Molecular adaptations to heat stress in the thermophilic ant genus *Cataglyphis*. *Molecular Ecology* **30**, 5503–5516.
- Perfecto, I.** (1994). Foraging behavior as a determinant of asymmetric competitive interaction between two ant species in a tropical agroecosystem. *Oecologia* **98**, 184–192.
- Perry, A. L., Low, P. J., Ellis, J. R. and Reynolds, J. D.** (2005). Climate change and distribution shifts in marine fishes. *Science* **308**, 1912–1915.
- Pianka, E. R.** (1989). Latitudinal gradients in species diversity. *Trends in Ecology and Evolution* **4**, 223.
- Poikela, N., Tyukmaeva, V., Hoikkala, A. and Kankare, M.** (2021). Multiple paths to cold tolerance: the role of environmental cues, morphological traits and the circadian clock gene *vriille*. *BMC Ecology and Evolution* **21**, 1–20.
- Porter, S. D. and Savignano, D. A.** (1990). Invasion of polygyne fire ants decimates native ants and disrupts arthropod community. *Ecology* **71**, 2095–2106.
- Porter, S. D. and Tschinkel, W. R.** (1987). Foraging in *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae): effects of weather and season. *Environmental Entomology* **16**, 802–808.

- Porter, S. D., Van Eimeren, B. and Gilbert, L. E.** (1988). Invasion of red imported fire ants (Hymenoptera: Formicidae): microgeography of competitive replacement. *Annals of the Entomological Society of America* **81**, 913–918.
- Prahlow, J. A. and Barnard, J. J.** (1998). Fatal anaphylaxis due to fire ant stings. *The American Journal of Forensic Medicine and Pathology* **19**, 137–142.
- Prange, H. D.** (1996). Evaporative cooling in insects. *Journal of Insect Physiology* **42**, 493–499.
- Puig, C. R. and Alvear, G. R.** (2015). Diversidad en formicidos y plantas vasculares en el Parque Nacional Yasuní, Ecuador. *Boletín Técnico, Serie Zoológica* **12**, 10–11.
- Quinlan, M. C. and Lighton, J. R.** (1999). Respiratory physiology and water relations of three species of *Pogonomyrmex* harvester ants (Hymenoptera: Formicidae). *Physiological Entomology* **24**, 293–302.
- Quinn, R. M., Gaston, K. J. and Roy, D. B.** (1997). Coincidence between consumer and host occurrence: macrolepidoptera in Britain. *Ecological Entomology* **22**, 197–208.
- Rabitsch, W.** (2011). The hitchhiker's guide to alien ant invasions. *BioControl* **56**, 551–572.
- Rajpurohit, S., Nedved, O. and Gibbs, A. G.** (2013). Meta-analysis of geographical clines in desiccation tolerance of Indian drosophilids. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular and Integrative Physiology* **164**, 391–398.
- Rao, A. and Vinson, S. B.** (2009). The initial behavioral sequences and strategies of various ant species during individual interactions with *Solenopsis invicta*. *Annals of the Entomological Society of America* **102**, 702–712.
- Rapoport, E. H.** (2013). Areography: geographical strategies of species. Elsevier.
- Raymundo, M. L. and Miller, R. H.** (2012). Little fire ant, *Wasmannia auropunctata* (Roger)(Hymenoptera: Formicidae), established at several locations on Guam. *Proceedings of the Hawaiian Entomological Society* **44**, 85–87.
- Rey, O., Estoup, A., Vonshak, M., Loiseau, A., Blanchet, S., Calcaterra, L., Chifflet, L., Rossi, J.-P., Kergoat, G. J. and Foucaud, J.** (2012). Where do adaptive shifts occur during invasion? A multidisciplinary approach to unravelling cold adaptation in a tropical ant species invading the Mediterranean area. *Ecology Letters* **15**, 1266–1275.
- Ricciardi, A.** (2007). Are modern biological invasions an unprecedented form of global change? *Conservation Biology* **21**, 329–336.
- Rice, E. S. and Silverman, J.** (2013). Submissive behaviour and habituation facilitate entry into habitat occupied by an invasive ant. *Animal Behaviour* **86**, 497–506.
- Roeder, K. A., Roeder, D. V. and Kaspari, M.** (2018). The role of temperature in competition and persistence of an invaded ant assemblage. *Ecological Entomology* **43**, 774–781.

- Roeder, D. V., Paraskevopoulos, A. W. and Roeder, K. A.** (2022). Thermal tolerance regulates foraging behaviour of ants. *Ecological Entomology* **47**, 331-338.
- Rohde, K., Heap, M. and Heap, D.** (1993). Rapoport's rule does not apply to marine teleosts and cannot explain latitudinal gradients in species richness. *American Naturalist* **142**, 1–16.
- Roque Albelo, L. and Causton, C.** (1999). El Niño and introduced insects in the Galapagos Islands: different dispersal strategies, similar effects. *Noticias de Galapagos* **60**,30–36.
- Roque Albelo, L., Causton, C. E. and Mieleles, A.** (2000). The ants of Marchena Island, twelve years after the introduction of the little fire ant, *Wasmannia auropunctata*. *Noticias de Galapagos* **61**, 17-20.
- Rosas-Mejía, M., Guénard, B., Aguilar-Méndez, M. J., Ghilardi, A., Vásquez-Bolaños, M., Economo, E. P. and Janda, M.** (2021). Alien ants (Hymenoptera: Formicidae) in Mexico: the first database of records. *Biological Invasions* **23**, 1669–1680.
- Rosselli, D. and Wetterer, J. K.** (2017). Stings of the ant *Wasmannia auropunctata* (Hymenoptera: Formicidae) as cause of punctate corneal lesions in humans and other animals. *Journal of Medical Entomology* **54**, 1783–1785.
- Roura-Pascual, N., Brotons, L., Peterson, A. T. and Thuiller, W.** (2009). Consensual predictions of potential distributional areas for invasive species: a case study of Argentine ants in the Iberian Peninsula. *Biological Invasions* **11**, 1017–1031.
- Rowles, A. D. and O'Dowd, D. J.** (2007). Interference competition by Argentine ants displaces native ants: implications for biotic resistance to invasion. *Biological invasions* **9**, 73–85.
- Roy, K., Jablonski, D. and Valentine, J. W.** (1994). Eastern Pacific molluscan provinces and latitudinal diversity gradient: no evidence for "Rapoport's rule". *Proceedings of the National Academy of Sciences* **91**, 8871–8874.
- Ruggiero, A.** (1994). Latitudinal correlates of the sizes of mammalian geographical ranges in South America. *Journal of Biogeography* **21**, 545–559.
- Sadowski, M.** (1996). Przewidywane zmiany klimatu i ich przyrodnicze, społeczne i polityczne konsekwencje. *Sylwan* **140**, 83–103.
- Sakai, A. K., Allendorf, F. W., Holt, J. S., Lodge, D. M., Molofsky, J., With, K. A., Baughman, S., Cabin, R. J., Cohen, J. E. and Ellstrand, N. C.** (2001). The population biology of invasive species. *Annual review of ecology and systematics* **32**, 305–332.
- Sanders, N. J., Barton, K. E. and Gordon, D. M.** (2001). Long-term dynamics of the distribution of the invasive Argentine ant, *Linepithema humile*, and native ant taxa in northern California. *Oecologia* **127**, 123–130.
- Savolainen, R.** (1990). Colony success of the submissive ant *Formica fusca* within territories of the dominant *Formica polyctena*. *Ecological Entomology* **15**, 79–85.

- Savolainen, R.** (1991). Interference by wood ant influences size selection and retrieval rate of prey by *Formica fusca*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **28**, 1–7.
- Savolainen, R. and Vepsäläinen, K.** (1989). Niche differentiation of ant species within territories of the wood ant *Formica polyctena*. *Oikos* **56**, 3–16.
- Savolainen, R., Vepsäläinen, K. and Wuorenrinne, H.** (1989). Ant assemblages in the taiga biome: testing the role of territorial wood ants. *Oecologia* **81**, 481–486.
- Sax, D. F. and Gaines, S. D.** (2008). Species invasions and extinction: the future of native biodiversity on islands. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **105**, 11490–11497.
- Schilman, P. E., Lighton, J. R. and Holway, D. A.** (2005). Respiratory and cuticular water loss in insects with continuous gas exchange: comparison across five ant species. *Journal of Insect Physiology* **51**, 1295–1305.
- Schilman, P. E., Lighton, J. R. and Holway, D. A.** (2007). Water balance in the Argentine ant (*Linepithema humile*) compared with five common native ant species from southern California. *Physiological Entomology* **32**, 1–7.
- Scott, M., Berrigan, D. and Hoffmann, A. A.** (1997). Costs and benefits of acclimation to elevated temperature in *Trichogramma carverae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **85**, 211–219.
- Sharma, S., Oi, D. H. and Buss, E. A.** (2013). Honeydew-producing hemipterans in Florida associated with *Nylanderia fulva* (Hymenoptera: Formicidae), an invasive crazy ant. *Florida Entomologist* **96**, 538–547.
- Sisodia, S. and Singh, B. N.** (2010). Influence of developmental temperature on cold shock and chill coma recovery in *Drosophila ananassae*: Acclimation and latitudinal variations among Indian populations. *Journal of Thermal Biology* **35**, 117–124.
- Solá, F. J.** (2015). Recolección de cebos en hormigas urbanas: comportamiento de la hormiga *Linepithema humile* [Tesis de doctorado no publicada]. Universidad de Buenos Aires.
- Somero, G. N.** (1995). Proteins and temperature. *Annual Review of Physiology* **57**, 43–68.
- Sørensen, M. H., Kristensen, T. N., Lauritzen, J. M. S., Noer, N. K., Høye, T. T. and Bahrndorff, S.** (2019). Rapid induction of the heat hardening response in an Arctic insect. *Biology Letters* **15**, 2019061320190613.
- Spicer, J. and Gaston, K.** (2009). *Physiological diversity: ecological implications*. John Wiley & Sons.
- Stevens, G. C.** (1989). The latitudinal gradient in geographical range: how so many species coexist in the tropics. *American Naturalist* **133**, 240–256.
- Stevens, G.** (1996). Extending Rapoport's rule to Pacific marine fishes. *Journal of Biogeography* **23**, 149–154.

- Stevens, G. C. and Enquist, B. J.** (1998). Macroecological limits to the abundance and distribution of *Pinus*. In Richardson D. M. (Ed.), *Ecology and biogeography of Pinus* pp. 183–190. Cambridge University Press
- Stillman, J. H.** (2003). Acclimation capacity underlies susceptibility to climate change. *Science* **301**, 65–65.
- Stuble, K. L., Rodriguez-Cabal, M. A., McCormick, G. L., Jurić, I., Dunn, R. R. and Sanders, N. J.** (2013). Tradeoffs, competition, and coexistence in eastern deciduous forest ant communities. *Oecologia* **171**, 981–992.
- Suarez, A. V. and Tsutsui, N. D.** (2008). The evolutionary consequences of biological invasions. *Molecular Ecology* **17**, 351–360.
- Suarez, A. V., Bolger, D. T. and Case, T. J.** (1998). Effects of fragmentation and invasion on native ant communities in coastal southern California. *Ecology* **79**, 2041–2056.
- Suarez, A. V., Richmond, J. Q. and Case, T. J.** (2000). Prey selection in horned lizards following the invasion of Argentine ants in southern California. *Ecological Applications* **10**, 711–725.
- Suarez, A. V., Holway, D. A. and Ward, P. S.** (2005). The role of opportunity in the unintentional introduction of nonnative ants. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **102**, 17032–17035.
- Sunday, J. M., Bates, A. E., Kearney, M. R., Colwell, R. K., Dulvy, N. K., Longino, J. T. and Huey, R. B.** (2014). Thermal-safety margins and the necessity of thermoregulatory behavior across latitude and elevation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **111**, 5610–5615.
- Taber, S. W.** (2000). Fire ants. Texas A&M University Press.
- Tamura, K. and Nei, M.** (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution* **10**, 512–526.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., FilipSKI, A. and Kumar, S.** (2013). MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* **30**, 2725–2729.
- Taylor, P. H. and Gaines, S. D.** (1999). Can Rapoport's rule be rescued? Modeling causes of the latitudinal gradient in species richness. *Ecology* **80**, 2474–2482.
- Tennant, L. E.** (2021). The ecology of *Wasmannia auropunctata* in primary tropical rainforest in Costa Rica and Panama. In Williams D. F. (Ed.), *Exotic ants* pp. 80–90. CRC Press.
- Terblanche, J. S., Deere, J. A., Clusella-Trullas, S., Janion, C. and Chown, S. L.** (2007). Critical thermal limits depend on methodological context. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **274**, 2935–2943.

- Terblanche, J. S., Nyamukondiwa, C. and Kleynhans, E.** (2010). Thermal variability alters climatic stress resistance and plastic responses in a globally invasive pest, the Mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata*). *Entomologia Experimentalis et Applicata* **137**, 304–315.
- Thomas, C. D. and Lennon, J. J.** (1999). Birds extend their ranges northwards. *Nature* **399**, 213–213.
- Thompson, J. D., Higgins, D. G. and Gibson, T. J.** (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* **22**, 4673–4680.
- Titus, E. S. G.** (1905). *Report on the "New Orleans" Ant (Iridomyrmex Humilis Mayr)*. US Department of agriculture. *U.S. Department of Agriculture, Bureau of Entomology, Bulletin* **52**, 79–84.
- Tonione, M. A., Cho, S. M., Richmond, G., Irian, C. and Tsutsui, N. D.** (2020). Intraspecific variation in thermal acclimation and tolerance between populations of the winter ant, *Prenolepis imparis*. *Ecology and Evolution* **10**, 4749–4761.
- Trager, J. C.** (1984). A revision of the genus *Paratrechina* (Hymenoptera: Formicidae) of the continental United States. *Sociobiology* **9**, 49–162.
- Trigos-Peral, G., Abril, S. and Angulo, E.** (2021). Behavioral responses to numerical differences when two invasive ants meet: the case of *Lasius neglectus* and *Linepithema humile*. *Biological Invasions* **23**, 935–953.
- Tschinkel, W. R.** (2013). *The fire ants*. Belknap Press.
- van Heerwaarden, B., Kellermann, V. and Sgrò, C. M.** (2016). Limited scope for plasticity to increase upper thermal limits. *Functional Ecology* **30**, 1947–1956.
- Van Oudenhove, L., Boulay, R., Lenoir, A., Bernstein, C. and Cerda, X.** (2012). Substrate temperature constrains recruitment and trail following behavior in ants. *Journal of Chemical Ecology* **38**, 802–809.
- Vander Meer, R. K., Obin, M. S. and Morel, L.** (2019). Nestmate recognition in fire ants: monogyne and polygyne populations. In Vander Meer R. K. (Ed.), *Applied Myrmecology* pp. 322–328. CRC Press.
- Vega, S. J.** (2001). The Argentine ant a significant invasive species in agricultural, urban and natural environment. *Sociobiology* **37**, 3–25.
- Vega, G. J.** (2017). Using eco-physiological traits to understand the realized niche: the role of desiccation tolerance in Chagas disease vectors. *Oecologia* **185**, 607–618.
- Vepsäläinen, K. and Pisarski, B.** (1982). Assembly of island ant communities. *Annales Zoologica Fennici* **19**, 327–335.
- Vepsäläinen, K. and Savolainen, R.** (1990). The effect of interference by formicine ants on the foraging of *Myrmica*. *The Journal of Animal Ecology* **59**, 643–654.

- Vermeij, G. J.** (1991). When biotas meet: understanding biotic interchange. *Science* **253**, 1099–1104.
- Vinson, S. B.** (1997). Invasion of the red imported fire ant (Hymenoptera: Formicidae): spread, biology, and impact. *American Entomologist* **43**, 23–39.
- Visser, D.** (1996). The effect of the Argentine ant, *Linepithema humile* (Mayr)(Hymenoptera: Formicidae), on flower-visiting insects of *Protea nitida* Mill.(Proteaceae). *African Entomology* **4**, 285–287.
- Vitousek, P. M., D'Antonio, C. M., Loope, L. L. and Westbrooks, R.** (1996). Biological invasions as global environmental change. *American Scientist* **84**,468–478.
- Vitousek, P. M., D'antonio, C. M., Loope, L. L., Rejmanek, M. and Westbrooks, R.** (1997). Introduced species: a significant component of human-caused global change. *New Zealand Journal of Ecology* **21**, 1–16.
- Vonshak, M., Dayan, T., Ionescu-Hirsh, A., Freidberg, A. and Hefetz, A.** (2010). The little fire ant *Wasmannia auropunctata*: a new invasive species in the Middle East and its impact on the local arthropod fauna. *Biological Invasions* **12**, 1825–1837.
- Vonshak, M., Dayan, T. and Hefetz, A.** (2012). Interspecific displacement mechanisms by the invasive little fire ant *Wasmannia auropunctata*. *Biological Invasions* **14**, 851–861.
- Vorburger, C., Lancaster, M. and Sunnucks, P.** (2003). Environmentally related patterns of reproductive modes in the aphid *Myzus persicae* and the predominance of two 'superclones' in Victoria, Australia. *Molecular Ecology* **12**, 3493–3504.
- Walker, K. L.** (2006). Impact of the Little Fire Ant, *Wasmannia auropunctata*, on Native Forest Ants in Gabon 1. *Biotropica* **38**, 666–673.
- Wallace, A. R.** (1878). Tropical nature and other essays. Macmillan and Company.
- Walsh, P. D., Henschel, P., Abernethy, K. A., Tutin, C. E., Telfer, P. and Lahm, S. A.** (2004). Logging speeds little red fire ant invasion of Africa. *Biotropica* **36**, 637–641.
- Walsh, J. R., Carpenter, S. R. and Vander Zanden, M. J.** (2016). Invasive species triggers a massive loss of ecosystem services through a trophic cascade. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **113**, 4081–4085.
- Wang, Z., Moshman, L., Kraus, E. C., Wilson, B. E., Acharya, N. and Diaz, R.** (2016). A review of the tawny crazy ant, *Nylanderia fulva*, an emergent ant invader in the southern United States: is biological control a feasible management option? *Insects* **7**, 77.
- Ward, D. F., Beggs, J. R., Clout, M. N., Harris, R. J. and O'Connor, S.** (2006). The diversity and origin of exotic ants arriving in New Zealand via human-mediated dispersal. *Diversity and Distributions* **12**, 601–609.
- Warren, R. J. and Chick, L.** (2013). Upward ant distribution shift corresponds with minimum, not maximum, temperature tolerance. *Global Change Biology* **19**, 2082–2088.

- Warren, R. J., Candeias, M., Lafferty, A. and Chick, L. D.** (2020). Regional-scale environmental resistance to non-native ant invasion. *Biological Invasions* **22**, 813–825.
- Way, M. J. and Bolton, B.** (1997). Competition between ants for coconut palm nesting sites. *Journal of Natural History* **31**, 439–455.
- Wehner, R., Marsh, A. C. and Wehner, S.** (1992). Desert ants on a thermal tightrope. *Nature* **357**, 586–587.
- Welzel, K. F., Lee, S. H., Dossey, A. T., Chauhan, K. R. and Choe, D.H.** (2018). Verification of Argentine ant defensive compounds and their behavioral effects on heterospecific competitors and conspecific nestmates. *Scientific Reports* **8**, 1477.
- Wendt, C. F. and Verble-Pearson, R.** (2016). Critical thermal maxima and body size positively correlate in red imported fire ants, *Solenopsis invicta*. *The Southwestern Naturalist* **61**, 79–83.
- Wetterer, J.** (1999). *Wasmannia auropunctata* (Roger)(Hymenoptera: Formicidae), a destructive tramp-ant, in wildlife refuges of Gabon. *African Entomology* **7**, 292–294.
- Wetterer, J. K.** (2013a). Exotic spread of *Solenopsis invicta* Buren (Hymenoptera: Formicidae) beyond North America. *Sociobiology* **60**, 50–55.
- Wetterer, J. K.** (2013b). Worldwide spread of the little fire ant, *Wasmannia auropunctata* (Hymenoptera: Formicidae). *Terrestrial Arthropod Reviews* **6**, 173–184.
- Wetterer, J. K. and Davis Jr, L. R.** (2010). *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae) in the Lesser Antilles. *Florida Entomologist* **93**, 128–129.
- Wetterer, J. K. and Keularts, J. L.** (2008). Population explosion of the hairy crazy ant, *Paratrechina pubens* (Hymenoptera: Formicidae), on St. Croix, US Virgin Islands. *Florida Entomologist* **91**, 423–427.
- Wetterer, J. K. and Porter, S. D.** (2003). The little fire ant, *Wasmannia auropunctata*: distribution, impact and control. *Sociobiology* **41**, 1–41.
- Wetterer, J. K. and Wetterer, A. L.** (2004). Ants (Hymenoptera: Formicidae) of Bermuda. *Florida Entomologist* **87**, 212–221.
- Wetterer, J. K. and Wetterer, A. L.** (2006). A disjunct Argentine ant metacolony in Macaronesia and southwestern Europe. *Biological Invasions* **8**, 1123–1129.
- Wetterer, J. K., Espadaler, X., Wetterer, A. L., Aguin-Pombo, D. and Franquinho-Aguiar, A. M.** (2006). Long-term impact of exotic ants on the native ants of Madeira. *Ecological Entomology* **31**, 358–368.
- Wetterer, J. K., Wild, A. L., Suarez, A. V., Roura-Pascual, N. and Espadaler, X.** (2009). Worldwide spread of the Argentine ant, *Linepithema humile* (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News* **12**, 187–194.

- Wharton, G. W.** (1985). Water balance of insects. In Kerkut G.A. and Gilbert L.I. (Eds.), *Comparative Insect Biochemistry, Physiology and Pharmacology Vol. 4* pp. 565–601. Elsevier.
- Wiberg, R. A. W., Tyukmaeva, V., Hoikkala, A., Ritchie, M. G. and Kankare, M.** (2021). Cold adaptation drives population genomic divergence in the ecological specialist, *Drosophila montana*. *Molecular Ecology* **30**, 3783–3796.
- Wiescher, P. T., Pearce-Duvet, J. and Feener, D. H.** (2012). Assembling an ant community: species functional traits reflect environmental filtering. *Oecologia* **169**, 1063–1074.
- Wild, A. L.** (2004). Taxonomy and distribution of the Argentine ant, *Linepithema humile* (Hymenoptera: Formicidae). *Annals of the Entomological Society of America* **97**, 1204–1215.
- Williams, D. F.** (2021). Exotic ants: biology, impact, and control of introduced species. CRC Press.
- Williams, J. L. and Lucky, A.** (2020). Non-native and invasive *Nylanderia* crazy ants (Hymenoptera: Formicidae) of the world: integrating genomics to enhance taxonomic preparedness. *Annals of the Entomological Society of America* **113**, 318–336.
- Williams, C. M., Marshall, K. E., MacMillan, H. A., Dzurisin, J. D., Hellmann, J. J. and Sinclair, B. J.** (2012). Thermal variability increases the impact of autumnal warming and drives metabolic depression in an overwintering butterfly. *PLoS One* **7**, e34470.
- Williams, J. L., Zhang, Y. M., LaPolla, J. S., Schultz, T. R. and Lucky, A.** (2022). Phylogenomic delimitation of morphologically cryptic species in globetrotting *Nylanderia* (Hymenoptera: Formicidae) species complexes. *Insect Systematics and Diversity* **6**, 10.
- Wilson, E. O.** (1971). The insect societies. Cambridge, Massachusetts, USA, Harvard University Press.
- Wittman, S. E.** (2014). Impacts of invasive ants on native ant communities (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News* **19**, 111–123.
- Wojcik, D. P., Allen, C. R., Brenner, R. J., Forsy, E. A., Jouvenaz, D. P. and Lutz, R. S.** (2001). Red imported fire ants: impact on biodiversity. *American Entomologist* **47**, 16–23.
- Woodford, D. J., Richardson, D. M., Maclsaac, H. J., Mandrak, N. E., Van Wilgen, B. W. and Weyl, O. L.** (2016). Confronting the wicked problem of managing biological invasions. *NeoBiota* **31**, 63–86.
- Zachariassen, K. E.** (1996). The water conserving physiological compromise of desert insects. *European Journal of Entomology* **93**, 359–368.
- Zee, J. and Holway, D.** (2006). Nest raiding by the invasive Argentine ant on colonies of the harvester ant, *Pogonomyrmex subnitidus*. *Insectes Sociaux* **53**, 161–167.
- Zenner-Polania, I.** (2019). Biological aspects of the “Hormiga Loca,” *Paratrechina (Nylanderia) fulva* (Mayr), in Colombia. In Vander Meer R.K., Jaffe K. and Ceden A. (eds.), *Applied Myrmecology* pp. 290–297. CRC Press.

- Zhang, R., Li, Y., Liu, N. and Porter, S. D.** (2007). An overview of the red imported fire ant (Hymenoptera: Formicidae) in mainland China. *Florida Entomologist* **90**, 723–731.
- Zhao, L. and Jones, W. A.** (2012). Expression of heat shock protein genes in insect stress responses. *Invertebrate Survival Journal* **9**, 93–101.