

## Convocatoria AEET-SIBECOL de ayudas a proyectos de investigación ERC en ecología (11ª ed., 2021)

### 1. Datos de identificación.

<b>Título de la propuesta</b>	Respuestas comportamentales y ecológico-evolutivas en la distribución de tamaños de hormigas polimórficas al incremento de la temperatura.
<b>Categoría</b>	Ganando la independencia
<b>Nombre y apellidos del Beneficiario</b>	Alba Lázaro-González
<b>Datos de contacto: e-mail y teléfono</b>	<a href="mailto:albalazaro@ugr.es">albalazaro@ugr.es</a> , 696822309
<b>Departamento/Instituto/Grupo de Investigación/Otros</b>	Departamento de Ecología, Universidad de Granada
<b>Dirección, código postal, provincia</b>	Av. Fuentenueva s/n, 18071, Granada

### 2. Memoria Técnica. Actividades y resultados de investigación

#### 2.1. Introducción (Planteamiento, objetivos y justificación)

La fisiología y concretamente la tolerancia térmica pueden determinar la distribución espacial (Bozinovic et al., 2011) y temporal de las especies, desde escalas regionales hasta locales (Arnan y Blüthgen, 2015; Gaston et al., 2015). En especies sociales y polimórficas, como algunas especies de hormigas de gran relevancia ecológica (Elizalde et al., 2020), la tolerancia térmica máxima se correlaciona positivamente con el tamaño de las obreras de la colonia (Baudier et al., 2015). Las hormigas granívoras polimórficas del género *Messor* registran un patrón similar (Arnan et al., 2022; O'Donnell et al., 2020), indicando que las obreras de mayor tamaño son más tolerantes a las temperaturas elevadas que las pequeñas.

La temperatura ambiental y del suelo también es capaz de modular el comportamiento de estas obreras, p.e. modificando su ritmo de actividad diaria (Lázaro-González et al., 2013), velocidad (Roeder et al., 2022), eficiencia de recolección (Ślipiński y Cerdá, 2022), e incluso la arquitectura de los nidos (Sankovitz y Purcell, 2021). Dadas las condiciones naturales de mosaico térmico espaciotemporal, las colonias de especies sociales y polimórficas podrían optimizar la distribución de tamaños de sus obreras en respuesta a las variaciones temporales (respuesta comportamental) y espaciales (respuesta ecológico-evolutiva) de la temperatura (Shik et al., 2019). Estas respuestas podrían ser claves para la persistencia y adaptación de estas especies frente a escenarios de cambio climático que prevén un aumento de la temperatura media global (Field et al., 2012). Por ello, este estudio analiza si especies sociales y polimórficas optimizan la distribución de tamaños de obreras en función de variaciones temporales (diarias y estacionales) y espaciales (rango altitudinal) de las condiciones térmicas.

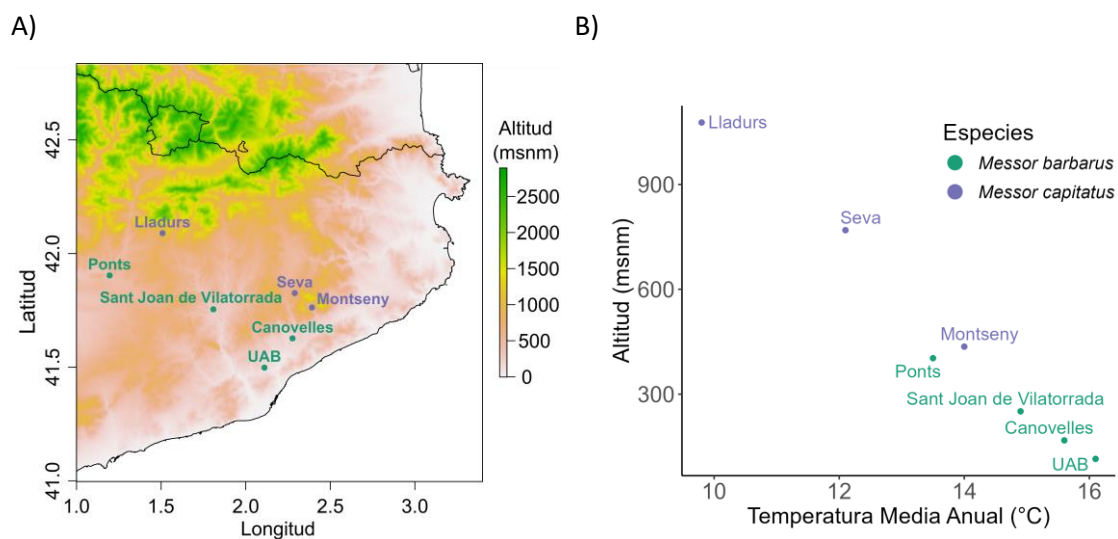
El estudio se focalizó en dos especies de hormigas granívoras altamente polimórficas (0,7-3,8 mm en el tamaño de la cabeza) y frecuentes en Cataluña, *Messor barbarus* y *M. capitatus*, cuyos rangos de distribución en conjunto cubren desde la costa hasta los 1100 msnm y se encuentran activas durante todo el año, con una actividad mínima durante los meses más fríos (Cerdà y Retana, 1994). Por todo ello, hipotetizamos que a) las colonias en áreas de menor altitud y más cálidas tendrán una distribución de tamaños de las obreras forrajeras sesgada hacia los tamaños mayores por ser más tolerantes a las altas temperaturas, b) las colonias modificarán la distribución de tamaños de las obreras forrajeras siguiendo las variaciones temporales (estacionales y diarias) de la temperatura, y c) de cumplirse ambas hipótesis, la respuesta comportamental será menos marcada en colonias situadas en áreas cálidas que en áreas más frías, debido al sesgo hacia los tamaños mayores de las obreras.

## 2.2. Descripción de la ejecución- Metodología

### Zona de estudio

El estudio se realizó en 7 puntos geográficos de Cataluña (NE de la Península Ibérica, Figura 1A), cubriendo la máxima amplitud del gradiente altitudinal de la distribución de *Messor barbarus* y *M. capitatus* (Figura 1B). *Messor barbarus* se encontró desde la costa hasta 400 msnm, mientras que *M. capitatus* fue localizada desde los 400 hasta los 1100 msnm. Se monitorearon 4 localidades para *M. barbarus* (Universitat Autònoma de Barcelona-UAB, 115 msnm; Canovelles, 168 msnm; Sant Joan de Vilatorrada, 251 msnm; y Ponts, 403 msnm) y 3 para *M. capitatus* (Montseny, 436 msnm; Seva, 769 msnm; y Lladurs, 1077 msnm), seleccionando entre 4-9 colonias activas por especie y localidad. Las colonias seleccionadas en cada localidad estuvieron separadas en >2 metros de distancia para garantizar la independencia de las colonias.

**Figura 1.** A) Distribución geográfica de los puntos de muestreo en Cataluña y B) rango de altitud y temperatura abarcados por los sitios de muestreo para *Messor barbarus* (verde) y *M. capitatus* (lila).



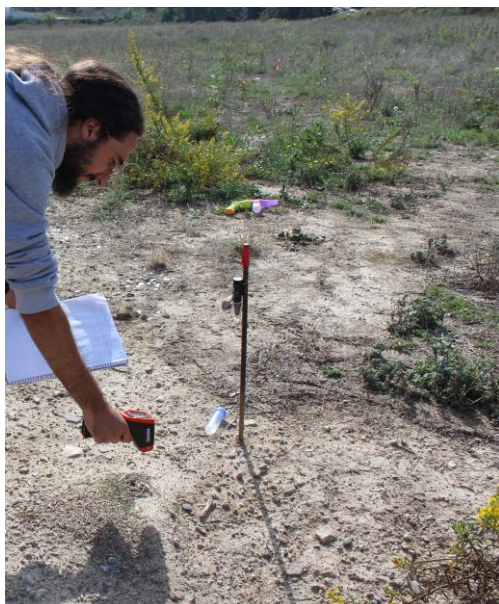
### Distribución de tamaños de obreras forrajeras

En cada colonia, se recolectaron aleatoriamente un mínimo de 30 obreras forrajeras de *M. capitatus* y 50 de *M. barbarus* con un aspirador entomológico, sin perturbar a la colonia, en dos momentos del día en los que estas hormigas forrajeen: con temperaturas baja-media (inicio de la actividad forrajera) y con temperaturas altas (alta actividad forrajera). Estos muestreos se realizaron en los 7 puntos geográficos, en días no lluviosos y condiciones climatológicas similares, y en dos estaciones del año con temperaturas contrastadas: temperaturas extremas (verano) y temperaturas místicas (otoño). Al final de los muestreos, todas las muestras se limpiaron, almacenaron en viales etiquetados y conservados en alcohol (96%) hasta su posterior procesado en el laboratorio, donde se midió la anchura máxima de la cabeza de cada individuo con un estereomicroscopio de medición milimetrada. Este es un procedimiento estándar muy utilizado como estima del tamaño de las obreras en diferentes especies de hormigas, en particular las del género *Messor* (Arnan et al., 2011).

Actualmente, solo se han podido procesar las muestras de verano, por tanto, los análisis y gráficas posteriores harán referencia exclusivamente a estos datos. Las muestras recolectadas durante el otoño, se encuentran conservadas en alcohol y almacenadas en la Universidad de Granada, cuyo procesado está previsto próximamente.

### Temperatura ambiental y del suelo

Para caracterizar las condiciones térmicas alrededor de cada colonia se registraron datos de dos variables complementarias: la temperatura ambiental y del suelo. En cada una de las colonias se colocaron registradores de temperatura ambiental (EasyLog EL-USB-2 LASCAR, Wiltshire, Reino Unido) en una varilla metálica insertada a ~30cm de la entrada del nido. Las varillas se colocaron en sentido opuesto a las pistas de forrajeo para evitar perturbar la actividad de la colonia. Así pues, simultáneamente a la recolección de obreras, se registraron datos de temperatura ambiental cada 10 minutos desde el inicio hasta el final de la actividad de la colonia (Imagen 1). Además, también se registró la temperatura del suelo con el uso de un termómetro infrarrojo, realizando 3 lecturas en puntos distintos alrededor de cada nido (<5cm de la entrada, Imagen 1), una vez en cada nido y momento del día.



**Imagen 1.** Medición de temperatura ambiental mediante registrador Easylog sujeto en una varilla y temperatura del suelo mediante termómetro infrarrojo manual. Foto: Alba Lázaro-González.

### Análisis estadísticos

Debido a que la temperatura ambiental y la del suelo estaban altamente correlacionadas (Correlación de Pearson:  $r = 0.85$ ,  $p < 0.001$ ) solo se testó el efecto de la temperatura del suelo sobre el tamaño medio de las obreras de cada especie. Para ello se implementó un modelo lineal mixto por especie (Pinheiro et al., 2020). La temperatura, la localización y su interacción fueron factores fijos, mientras que las colonias fueron factores aleatorios del modelo. Todos los análisis, manejo de datos y gráficas se han realizado con la versión de R 4.2.2. (R Core Team, 2022)

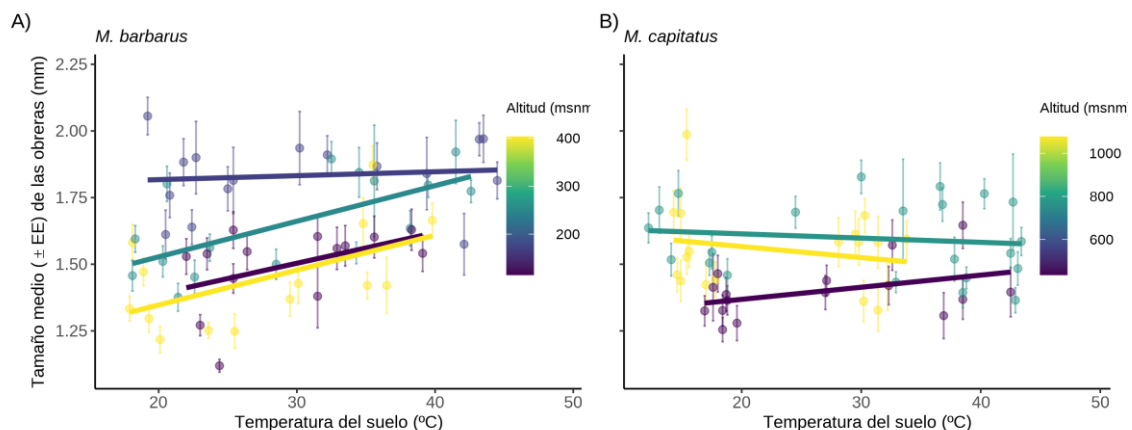
### 2.3. Resultados obtenidos (cumplimiento de objetivos)

Se recolectaron y midieron un total de 5835 obreras forrajeadoras durante el verano (obreras de otoño aun por procesar), distribuidas en las 7 zonas de muestreo (Fig. 1). Los resultados muestran que la temperatura del suelo afectó positivamente al tamaño medio de las hormigas forrajeadoras de *Messor barbarus* y que, al mismo tiempo, difiere significativamente entre localidades (Tabla 1a). Sin embargo, para *M. capitatus* encontramos una interacción significativa en los efectos de las localidades y la temperatura (Tabla 1b, Figura 2B).

**Tabla 1.** Efectos de la temperatura del suelo y la localidad (UAB, Canovelles, Sant Joan y Ponts) en el tamaño de las obreras de a) *M. barbarus* y b) *M. capitatus*. Los valores de  $\chi^2$ , niveles de significación (P-valor) y grados de libertad (gl) provienen de la tabla ANOVA a partir de los modelos lineales mixtos.

	a) <i>M. barbarus</i>			b) <i>M. capitatus</i>		
	$\chi^2$	gl	P-valor	$\chi^2$	gl	P-valor
Temperatura del suelo	72,41	1	<0,001	0,47	1	0,494
Localidad	39,36	3	<0,001	15,29	2	<0,001
Interacción	6,61	3	0,086	9,78	2	0,008

**Figura 2.** Distribución de tamaños de hormigas obreras de A) *M. barbarus* y B) *M. capitatus* en función de la temperatura del suelo en las distintas localidades muestreadas. Los colores indican el gradiente de altitud y cada punto representa los datos de una misma colonia y momento de muestreo. Las líneas indican las predicciones del modelo aplicado para cada una de las localidades.



## 2.4. Conclusiones y valoración de la ejecución

El estudio nos muestra como las variaciones diarias de temperatura del suelo y su distribución altitudinal afecta a la distribución de tamaños de las obreras forrajeadoras de dos especies de hormigas granívoras.

Los resultados muestran como las localidades más bajas y cálidas presentan obreras con un tamaño medio mayor (media $\pm$ EE; 1.85 $\pm$ 0.02 mm a  $\sim$ 150 msnm) que en zonas más templadas (1.44 $\pm$ 0.02 mm a  $\sim$ 400 msnm) para *M. barbarus* (Figura 2A), pero no en las zonas más elevadas donde encontramos *M. capitatus* (Figura 2B). Por tanto, podemos afirmar que nuestra primera hipótesis se cumple únicamente para *M. barbarus*. Sin embargo, ambas especies son capaces de responder al incremento de temperatura diaria modificando su comportamiento y seleccionando obreras más grandes para su actividad fuera del nido, cumpliendo así la segunda hipótesis del estudio. *Messor barbarus*, la especie distribuida en zonas más bajas, presenta este patrón a lo largo de todo el gradiente altitudinal, mientras que *M. capitatus*, solo lo hace en su cota más baja (Figura 2). Esto nos indica que las colonias situadas en las cotas altitudinales más bajas (<500 m) responden de la misma manera. Sin embargo, en las cotas más elevadas (>500 m) mantienen el mismo tamaño medio de obreras independientemente de la temperatura del suelo. Al contrario de lo que esperábamos en la tercera hipótesis, esto sugiere que la respuesta comportamental es menos marcada en áreas frías. Quizá es debido a que el contraste de temperatura ambiental y del suelo es menor históricamente, lo que explicaría la falta de una respuesta comportamental como se muestra en las colonias de cotas altitudinales bajas.

Acorde a las hipótesis, encontramos un patrón de optimización de la distribución de tamaños en las obreras de las colonias de especies de hormiga granívoras tanto comportamental (respuesta temporal a escala local) como ecológica-evolutiva (respuesta espacial a escala regional) en respuesta a las variaciones térmicas. Este descubrimiento podría constituir uno de los mecanismos de persistencia en especies sociales y polimórficas frente al cambio climático. Además, estos resultados dan lugar a futuras investigaciones analizando estos patrones en zonas climáticamente distintas (p.e. sur de la península ibérica) y sobre las consecuencias ecosistémicas sobre la comunidad vegetal, dada la fuerte relación entre el tamaño de las obreras y el rango de semillas consumidas o dispersadas (Retana y Cerdà, 1994).

Como valoración de la ejecución, considero que se han cumplido todos los objetivos propuestos en la memoria del proyecto, ajustándose al presupuesto inicial y consiguiendo además unos resultados muy alentadores que garantizan el éxito de este trabajo. Además, estos resultados generan nuevas preguntas que abren la puerta a futuras investigaciones.

### Agradecimientos

Quiero dar las gracias en primer lugar a los tres investigadores que han colaborado en la creación de este proyecto desde el primer borrador: Xavi Arnan, Rodrigo Pol y Anselm Rodrigo. También agradecer enormemente la ayuda en campo del técnico “veraniago” Pol Soler y el “otoñal” Antonio Burguillos. Finalmente, agradecer a la AEET por la financiación recibida y su compromiso con los jóvenes investigadores.



## 2.5. Publicaciones resultantes

Parte de las muestreas de la campaña de otoño estar aun por procesar, y por este motivo todavía no contamos con una publicación de este trabajo. Sin embargo, los resultados de la campaña de verano son muy alentadores y seguro dará lugar a una publicación en una revista de alto impacto cuya referencia tentativa sería: *Lázaro-González A, Pol R, Rodrigo A, Arnan X (in prep.). Behavioral and ecological-evolutionary response in ant worker size to soil temperature variability.*

El mismo trabajo se presentará en el XVI Congreso Ibérico de la AEET 2023 en Almería (España) y/o en el Congreso Taxomara 2023 en Beja (Portugal), lo que sin duda ayudará a la difusión de los resultados.

## 2.6. Bibliografía

- Arnan, X., Blüthgen, N., 2015. Using ecophysiological traits to predict climatic and activity niches: Lethal temperature and water loss in Mediterranean ants. *Glob. Ecol. Biogeogr.* 24, 1454-1464. <https://doi.org/10.1111/GEB.12363>
- Arnan, X., Ferrandiz-Rovira, M., Pladevall, C., Rodrigo, A., 2011. Worker size-related task partitioning in the foraging strategy of a seed-harvesting ant species. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 65, 1881-1890. <https://doi.org/10.1007/S00265-011-1197-Z>
- Arnan, X., Lázaro-González, A., Beltran, N., Rodrigo, A., Pol, R., 2022. Thermal physiology, foraging pattern, and worker body size interact to influence coexistence in sympatric polymorphic harvester ants (*Messor spp.*). *Behav. Ecol. Sociobiol.* 76, 1-12. <https://doi.org/10.1007/s00265-022-03186-6>
- Baudier, K.M., Mudd, A.E., Erickson, S.C., O'Donnell, S., 2015. Microhabitat and body size effects on heat tolerance: Implications for responses to climate change (army ants: Formicidae, Ecitoninae). *J. Anim. Ecol.* 84, 1322-1330. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.12388>
- Bozinovic, F., Calosi, P., Spicer, J.I., 2011. Physiological correlates of geographic range in animals. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 42, 155-179. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-ECOLSYS-102710-145055>
- Cerdà, X., Retana, J., 1994. Food exploitation patterns of two sympatric seed-harvesting ants *Messor bouvieri* (Bond.) and *Messor capitatus* (Latr.) (Hym., Formicidae) from Spain. *J. Appl. Entomol.* 117, 268-277.
- Elizalde, L., Arbetman, M., Arnan, X., Eggleton, P., Leal, I.R., Lescano, M.N., Saez, A., Werenkraut, V., Pirk, G.I., 2020. The ecosystem services provided by social insects: traits, management tools and knowledge gaps. *Biol. Rev.* 95, 1418-1441. <https://doi.org/10.1111/BRV.12616>
- Field, C., Barros, V., Stocker, T., Dahe, Q., 2012. Managing the risks of extreme events and disasters to advance climate change adaptation: special report of the intergovernmental panel on climate change. Cambridge University Press.
- Gaston, K.J., Chown, S.L., Calosi, P., Bernardo, J., Bilton, D.T., Clarke, A., Clusella-Trullas, S., Ghalambor, C.K., Konarzewski, M., Peck, L.S., Porter, W.P., Pörtner, H.O., Rezende, E.L., Schulte, P.M., Spicer, J.I., Stillman, J.H., Terblanche, J.S., van Kleunen, M., 2015. Macrophysiology: A Conceptual Reunification. *Am. Nat.* 174, 595-612. <https://doi.org/10.1086/605982>
- Lázaro-González, A., Arnan, X., Boulay, R., Cerdà, X., Rodrigo, A., 2013. Short-term ecological and behavioural responses of Mediterranean ant species *Aphaenogaster gibbosa* (Latr. 1798) to wildfire. *Insect Conserv. Divers.* 6, 627-638. <https://doi.org/10.1111/icad.12018>
- O'Donnell, S., Bulova, S., Caponera, V., Oxman, K., Giladi, I., 2020. Species differ in worker body size effects on critical thermal limits in seed-harvesting desert ants (*Messor ebeninus* and *M. arenarius*). *Insectes Soc.* 67, 473-479. <https://doi.org/10.1007/s00040-020-00782-5>
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D., R Core Team, 2020. nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models.
- R Core Team, 2022. R: A Language and Environment for Statistical Computing.
- Retana, J., Cerdà, X., 1994. Worker Size Polymorphism Conditioning Size Matching in Two Sympatric Seed-Harvesting Ants. *Oikos* 71, 261-266.



- Roeder, D. V., Paraskevopoulos, A.W., Roeder, K.A., 2022. Thermal tolerance regulates foraging behaviour of ants. *Ecol. Entomol.* 47, 331-338. <https://doi.org/10.1111/een.13118>
- Sankovitz, M., Purcell, J., 2021. Ant nest architecture is shaped by local adaptation and plastic response to temperature. *Sci. Rep.* 11, 1-11. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-02491-w>
- Shik, J., Arnan, X., Oms, C., Cerdá, X., Boulay, R., 2019. Evidence for locally adaptive metabolic rates among ant populations along an elevational gradient. *Wiley Online Libr.* 88, 1240-1249. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.13007>
- Ślipiński, P., Cerdá, X., 2022. Higher soil temperatures cause faster running and more efficient homing in the temperate thermophilous ant *Formica cinerea* (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecol. News* 32, 149-158. [https://doi.org/10.25849/myrmecol.news\\_032:149](https://doi.org/10.25849/myrmecol.news_032:149)

**3. Informe de gastos del proyecto.** Relación de partidas de gastos y sus importes. Se deberán aportar justificantes originales de los pagos realizados (tickets, recibos o facturas).

Para la realización de este proyecto se contó con las instalaciones del *Centre de Recerca Ecològica i Aplicacions Forestals (CREAF)*, situado en la Universidad Autónoma de Barcelona (UAB), así como con material procedente de otros proyectos, que fue reutilizado reduciendo así los costes totales. Se contó por tanto con: un estereomicroscopio, pinzas, termómetros infrarrojos, recipientes de almacenamiento de muestras, y vehículo para desplazamientos a los lugares de muestreo durante la campaña de verano. Dicho vehículo no pudo ser utilizado durante la campaña de campo de otoño y, por tanto, se procedió al alquiler de uno.

En la siguiente tabla se detallan los gastos asociados al proyecto. El número de referencia indica el PDF donde se encuentra cada una de las facturas, tickets o recibos. En caso de múltiples justificantes para un mismo concepto (ref. 8, 9 y 11), se generó un solo documento PDF con todos ellos. Los 150€ restantes se reservan para cubrir los gastos de desplazamiento al congreso de la AEET y/o Taxomara previstos para este año 2023, donde se expondrán los resultados de este proyecto.

Ref.	CONCEPTO	GASTO (€)
	<b>MATERIAL DE CAMPO</b>	
1	Aspiradores entomológicos	137,60
2	Lascar EL-USB-2	731,50
3	Gastos de aduana	161,29
4	Viales Eppendorf 50ml	44,67
5	Rotuladores	6,24
6	Cinta para marcar	10,99
7	Pilas 9V recargables	28,99
	<b>GASTOS DERIVADOS DE LOS MUESTREOS</b>	
8	Dietas	268,43
9	Combustible coche a las áreas de estudio	424,72
10	Alquiler vehículo	162,96
11	Alojamientos	373,05
	<b>TRANSFERENCIA DE CONOCIMIENTO</b>	
	Congreso AEET/Taxomara 2023	150,00
	<b>TOTAL</b>	<b>2500,44</b>

Fdo: Alba Lázaro-González



en Granada a 31 de enero de 2023.