



Autora: Lic. Carolina I. Paris

Mutualismo de la hormiga invasora *Lasius neglectus*  
(Hymenoptera: Formicidae) y el áfido *Lachnus roboris*  
(Homoptera: Lachnidae) en un encinar urbano



Dirección: Dr. Xavier Espadaler

Departamento de Biología Animal, Vegetal y Ecología

Universidad Autónoma de Barcelona

2005

Trabajo de investigación

## Dedicatoria

A todos los amigos y familiares que desde ambas orillas nos ayudaron. Gracias, y espero que les sigan divirtiéndose tanto como hasta ahora mis historias de hormigas.



## Agradecimientos

A Pablo por motivarme en los momentos de desesperanza.

Al Dr. Xavier Espadaler por darme la oportunidad de comenzar con mi investigación y estar siempre dispuesto a contestar mis dudas y enseñarme con su cotidiano buen humor.

A los compañeros del CREA F por soportar mis rarezas y ayudarme a sobrellevar el trabajo de campo y las dudas metodológicas y estadísticas.

## Aclaración

En la siguiente tesina han sido incorporadas algunas de las modificaciones sugeridas por el tribunal el 21/9/05, cuando se expuso este trabajo de investigación.

## Índice

Resumen	5
Abstract	8
1 Introducción	
1.1 Características del mutualismo entre hormigas y áfidos	11
1.2 Efecto de las hormigas invasoras sobre los mutualismos con áfidos.	12
2 Materiales y métodos	
2.1 Área de estudio	17
2.2 Presencia de <i>Lasius neglectus</i> en la UAB	17
2.3 Elección de los árboles	20
2.4 Estimación de la colecta de melaza	23
2.5 Cálculo de la tasa de colecta de melaza mensual y anual	25
2.6 Predación de artrópodos	25
2.7 Abundancia del áfido <i>Lachnus roboris</i>	25
2.8 Calidad y producción de bellotas	30
2.9 Análisis estadísticos	31
3 Resultados	
3.1 Tasa de colecta de melaza de <i>L. neglectus</i> y <i>L. grandis</i>	34
3.2 Predación de artrópodos	39
3.3 Abundancia de áfidos	40
3.4 Porcentaje de infestación	42
3.5 Intensidad de atención hacia <i>Lachnus roboris</i>	44
3.6 Ubicación de las colonias	46
3.7 Bellotas: pérdida, contenido lipídico y germinación	46
4 Discusión	50
5 Conclusiones	55
Anexo I	56
Anexo II	57

Anexo III	58
Anexo IV	59
Anexo V	62
Bibliografía	63
Tabla y figuras en inglés	69

## Resumen

La hormiga invasora *L. neglectus* se ha radicado en numerosas ciudades y urbanizaciones europeas. Hasta la fecha, nunca fue encontrada en áreas naturales. En Cataluña, *L. neglectus* se encuentra en una franja de distribución que abarca desde la ciudad de Barcelona hasta Taradell. Esta especie es poligínica, desarrolla supercolonias, erradicando así a las especies nativas, y se alimenta principalmente de la melaza producida por áfidos. Un áfido habitualmente atendido por las obreras de *L. neglectus* y, por las hormigas nativas, es *Lachnus roboris*. Este áfido es holocíclico en especies de *Quercus* y *Castanea* y es un mirmecófilo obligado.

Este estudio se realizó en una zona de bosque mixto del campus de la Universidad Autónoma de Barcelona invadida por *L. neglectus*. Se eligieron 6 *Quercus ilex* (encinas) (10 - 12 m) colonizados por la hormiga invasora y otras 6 encinas colonizados por hormiga nativa *L. grandis*. El objetivo general de este estudio fue comparar algunos aspectos ecológicos del mutualismo que la hormiga invasora *Lasius neglectus* y la hormiga nativa *Lasius grandis* tienen con el áfido *Lachnus roboris* en *Quercus ilex*. En particular, se estimó la cantidad de melaza colectada por cada especie de hormiga y la abundancia de *L. roboris* según la especie de hormiga que lo atendiera. Se hipotetizó que debido a la atención de la hormiga invasora, el áfido *L. roboris* incrementaría su abundancia obteniendo así *L. neglectus* una mayor cantidad de melaza en comparación con la hormiga nativa. Dado que en algunos estudios se reportó que los áfidos disminuyen la producción de semillas o el crecimiento de la planta de la cual se alimentan. Se hipotetizó entonces, que la hormiga invasora a través de su mutualismo con los áfidos afectaría negativamente la cantidad o la calidad de las bellotas. Las hormigas que colectan melaza complementan su dieta con insectos; se decidió entonces estimar el porcentaje de predación y la identidad de las presas capturadas por ambas especies de hormigas.

Entre Mayo y Octubre del 2003 y 2004 una vez al mes se estimó la cantidad de melaza colectada por árbol por las obreras de *Lasius neglectus*. En el 2004 se estimó también la melaza colectada por la hormiga nativa, *Lasius grandis*. La estima de melaza se realizó a intervalos de 6 hs durante un día. El valor de melaza colectada de cada encina se obtuvo como la diferencia de peso entre las obreras que subían vacías y las que bajaban llenas de melaza multiplicado por la actividad de obreras. Cada 20 días, se contabilizaron: todos los áfidos encontrados en las ramas medias y bajas, diferenciando entre alados y ápteros, y entre colonias atendidas y sin atender. A partir del 2004 además de las variables anteriormente mencionadas se anotó la ubicación de las

colonias y la intensidad de atención de las hormigas hacia los áfidos (biomasa de hormigas/biomasa de áfidos). En Julio del 2003 se seleccionó una rama (8 - 12 cm de diámetro) representativa de la copa de cada encina y se contabilizaron todas las bellotas que iniciaban su desarrollo. En Septiembre se volvió a contar el número de bellotas que continuaban con su desarrollo y en Noviembre se contabilizaron y recogieron las bellotas que alcanzaron la madurez. En el 2003, se analizó el contenido lipídico de las mismas (calidad de la bellota). En el 2004 se contabilizaron nuevamente las bellotas y se realizó un test de germinación. La calidad de las plantas emergidas se evaluó mediante el índice de Dickson.

En el 2003 *L. neglectus* colectó en total 1.047 kg de melaza por encina. Mientras que en el 2004 ésta hormiga colectó 2.781 kg por árbol. En este año, la colecta de *L. grandis*, la hormiga local, fue 1.055 kg de melaza por árbol, significativamente menor que la colecta de la hormiga invasora (Wilcoxon,  $Z = 2.20$ ,  $p = 0.028$ ) (Tabla 2). En ambos años y para ambas especies de hormigas, la colecta de melaza evidenció una clara estacionalidad. El porcentaje de ramas terminales con *L. roboris* evidenció que este áfido es raro en las encinas (2003: 0.01 – 0.27%, 2004: 0.7 – 14.9%) (Tabla 7 y Fig 12). La abundancia media anual de áfidos no difirió significativamente (ANOVA, 2003:  $F_{1, 46} = 0.12$ ,  $p = 0.735$ , 2004:  $F_{1, 39} = 1.85$ ,  $p = 0.182$ ) entre encinas colonizadas por la hormiga invasora (media desvío  $\pm$  estándar, 2003:  $5.21 \pm 9.03$ , 2004:  $101 \pm 173$ ) o colonizadas por hormigas nativas (2003:  $10.33 \pm 25.14$ , 2004:  $59.87 \pm 86.96$ ) (Tabla 4 y 5). La abundancia de individuos ápteros no difirió entre encinas colonizadas por la hormiga invasora (2003:  $3.79 \pm 7.74$ , 2004:  $96.14 \pm 164.56$ ) o por la nativa (2003:  $10.23 \pm 25.09$ , 2004:  $57.48 \pm 83.36$ ) (ANOVA, 2003:  $F_{1, 46} = 0.61$ ,  $p = 0.440$ , 2004:  $F_{1, 39} = 1.53$ ,  $p = 0.223$ ). Sin embargo, la abundancia de alados, en ambos años, fue significativamente mayor (ANOVA, 2003:  $F_{1, 46} = 4.18$ ,  $p = 0.047$ , 2004:  $F_{1, 39} = 4.49$ ,  $p = 0.041$ ) en encinas colonizadas por *L. neglectus* (2003:  $1.43 \pm 4.69$ , 2004:  $5.5 \pm 9.96$ ) que encinas colonizadas por *L. grandis* (2003:  $0.10 \pm 0.31$ , 2004:  $2.39 \pm 4.67$ ) (Tabla 6). La intensidad de atención de la hormiga invasora, *L. neglectus* fue significativamente mayor que el estimado para la hormiga local, *L. grandis* (ANOVA,  $F_{1, 30} = 7.121$ ,  $p = 0.012$ ) (Fig 14). En encinas colonizadas por la hormiga local hubo significativamente más colonias desatendidas ( $22.94 \pm 4.65$ ) respecto de las encinas colonizadas por *L. neglectus* ( $9.87 \pm 3.91$ ) (ANOVA,  $F_{1, 26} = 7.33$ ,  $p = 0.012$ ). Esto ocurrió a pesar que la media anual de colonias en encinas con la hormiga local tendió a ser menor ( $9.9 \pm 7.9$ ) respecto de la media anual de colonias en encinas colonizadas por *L. neglectus* ( $17.1 \pm 17.5$ ) (ANOVA,  $F_{1, 39} = 0.808$ ,

$p = 0.374$ ). A partir de Julio las colonias del áfido *L. roboris* se ubicaron mayoritariamente sobre el pecíolo o la cúpula de la bellota ([Tabla 10](#)). No se encontraron diferencias significativas en la calidad o en la producción de las bellotas provenientes de encinas colonizadas por las distintas especies de hormigas (Mann Whitney,  $p > 0.05$ ) ([Fig 15](#) y [Tabla 11](#)). La calidad de las plántulas tampoco difirió significativamente (Mann Whitney,  $p > 0.05$ ). Ambas especies predaron sobre los mismos insectos, Psocoptera y el áfido, ocasionalmente atendido, *Hoplocallis picta*, pero la hormiga local capturó significativamente más insectos que la invasora ([Tabla 3](#)).

Se concluye que la hormiga invasora *L. neglectus* comparada con la hormiga local *L. grandis* colectó por encina más melaza porque su actividad fue significativamente mayor lo cual le permitió atender más colonias del áfido *L. roboris*. Este áfido no aumentó su abundancia en encinas colonizadas por la hormiga invasora pero fue atendido con más intensidad por la misma. Se hipotetiza que debido al aumento de la intensidad de atención *L. roboris* podría incrementar su producción de melaza cuando es atendido por *L. neglectus*. Las probabilidades de dispersión de *L. roboris* aumentarían en zonas invadidas por *L. neglectus* ya que se registraron más alados en encinas colonizadas por esta hormiga invasora. Entonces, a una escala de fragmento de bosque esto implicaría más árboles infestados con áfidos produciendo melaza para sustentar la supercolonia de la hormiga invasora.

El mutualismo entre las especies de hormigas estudiadas y el áfido *L. roboris* no afectó la calidad o la cantidad de las bellotas. Probablemente el desfase entre el máximo pico de abundancia de áfidos (Junio o Julio) y el período de aumento de tamaño de las bellotas (Septiembre a Diciembre) podría ser la razón.

Finalmente, ambas especies de hormigas tienen una dieta similar pero la hormiga local fue más predatoria, probablemente por su mayor tamaño.



## Abstract

The invasive ant *Lasius neglectus* has been spread through Europe due to human activity. This ant has never been found in natural areas, only in areas from where the original vegetation has been removed or in urban areas. As the other invasive ants this one is polygynic, develops supercolonies, displaces native ants and collects the honeydew. In Catalonia, *L. neglectus* is located in a strip of distribution between the cities of Barcelona and Taradell. Workers of *L. neglectus* usually tend in holm oak the aphid *Lachnus roboris*. This aphid is holocyclic in *Quercus* and *Castanea* trees and is an obligate myrmecophile.

This study was performed in a mixed forest located in the Campus of the Autonomous University of Barcelona that was invaded by this ant. Inside of this area there are a few trees that remain colonized by native ants (*Crematogaster scutellaris*, *Lasius grandis*, *Camponotus truncatus*, *Temnothorax lichtensteini*). I choose six *Quercus ilex* colonized by *L. neglectus* and six holm oak trees colonized by *L. grandis*. The main aim of this study was to compare the mutualism that the invasive ant and the native ant, *L. grandis*, have with the aphid *Lachnus roboris* on the holm oak tree. In particular, I estimated the total quantity of honeydew collected by each ant species and *L. roboris* abundance, depending on which ant tend him. I hypothesized that *L. roboris* abundance would increase when is tended by the invasive which, in turn, will obtain more honeydew compared with the native ant *L. grandis*. It has been reported in some studies that aphids diminish seed production or plant growing from which they feed. I hypothesized that the invasive ant would exert a negative effect on acorn quantity or quality through their mutualisms with this aphid. Usually, the ants that milk aphids include insect in their diet. For this reason I estimated the percentage of preyed arthropods and identified the prey.

Once in a month, between May and October of 2003 and 2004, I estimated, during 24 h, how much honeydew per tree was collected by the invasive and the native ant (only in 2004). This value was calculated as the weight difference between a group of filled ants returning to the nest and a group of empty ants climbing the tree trunk and multiplying by the flux of workers. Every 20 days, I counted: all the *Lachnus roboris* found in the lower half crown of the selected holm oaks, differentiating adults from winged and the tended and not tended colonies. In 2004, I included in my records the exact colony location (old twigs, new twigs, leaves, acorn cup or acorn petiole) and the degree of ant attendance, defined as the relation between ant and aphid biomass. In July of both years, in each tree, I choose a branch (10 – 12 Ø cm) and counted all the

acorns beginning their development. In September, I counted the acorns that continued developing and finally in November I counted and sampled matured acorns. In 2003, due to the acorn scarcity only lipids were analysed (acorn quality). In 2004 I performed a germination test and evaluated sapling quality by the Dickson index.

In 2003 *L. neglectus* collected in total 1.047 kg of honeydew per holm oak. Meanwhile in 2004 this ant collected 2.781 kg per holm oak. In this year the local ant *L. grandis* collected a significantly smaller quantity of honeydew, 1.055 kg, as compared with the invasive ant (Wilcoxon,  $Z = 2.20$ ,  $p = 0.028$ ) (Table 2). For both years and ant species collected honeydew showed seasonality. The percentage of twigs occupied with the aphid *L. roboris* showed that this aphid is rare in holm oaks (2003: 0.01 – 0.27%, 2004: 0.7 – 14.9%) (Table 7 and Fig 12). Annual abundance did not differ (ANOVA, 2003:  $F_{1,46} = 0.12$ ,  $p = 0.735$ , 2004:  $F_{1,39} = 1.85$ ,  $p = 0.182$ ) between holm oaks colonized by the invasive ant *L. neglectus* (mean  $\pm$  standard deviation, 2003:  $5.21 \pm 9.03$ , 2004:  $101 \pm 173$ ) or by the local ant *L. grandis* (2003:  $10.33 \pm 25.14$ , 2004:  $59.87 \pm 86.96$ ) (Table 4 and 5). Apterous individuals did not differ between holm oaks with the invasive ant (2003:  $3.79 \pm 7.74$ , 2004:  $96.14 \pm 164.56$ ) or the local ant (2003:  $10.23 \pm 25.09$ , 2004:  $57.48 \pm 83.36$ ) (ANOVA, 2003:  $F_{1,46} = 0.61$ ,  $p = 0.440$ , 2004:  $F_{1,39} = 1.53$ ,  $p = 0.223$ ). However, in the both surveyed years, winged individuals were significantly more abundant (ANOVA, 2003:  $F_{1,46} = 4.18$ ,  $p = 0.047$ , 2004:  $F_{1,39} = 4.49$ ,  $p = 0.041$ ) in holm oaks colonized by *L. neglectus* (2003:  $1.43 \pm 4.69$ , 2004:  $5.5 \pm 9.96$ ) than in those trees colonized by the local ant (2003:  $0.10 \pm 0.31$ , 2004:  $2.39 \pm 4.67$ ) (Table 6). The invasive ant tended the aphid *L. roboris* more intensively than the local ant (ANOVA,  $F_{1,30} = 7.121$ ,  $p = 0.012$ ) (Fig 14). The percentage of unattended colonies was significantly higher in holm oaks colonized by the local ant *L. grandis* ( $22.94 \pm 4.65$  %) compared to trees with the invasive ant *L. neglectus* ( $9.87 \pm 3.91$  %) (ANOVA,  $F_{1,26} = 7.33$ ,  $p = 0.012$ ). This happened in spite of the number of colonies tended to be lower in holm oaks with the local ant ( $9.9 \pm 7.9$ ) than in trees with the invasive ant ( $17.1 \pm 17.5$ ) (ANOVA,  $F_{1,39} = 0.81$ ,  $p = 0.374$ ). From July onward, the aphid *L. roboris* fed mainly from acorns (Table 10). However, there were not any significant effects on acorn quality or quantity (Mann Whitney,  $p > 0.05$ ). Sapling quality did not differ (Mann Whitney,  $p > 0.05$ ) (Fig 15 and Table 11). Finally, both ants preyed on the same types of insects, Psocoptera and the occasionally tended aphid *Hoplocallis picta*, but the local ant captured more insects than the invasive ant (Table 3).

I concluded that compared with the local ant, *L. grandis*, the invasive ant *L. neglectus* was able to collect more honeydew because their numeric dominance allowed workers to tend more *Lachnus roboris* colonies in the same period. The abundance of this aphid was not higher in holm oaks colonized by the invasive ant but it was tended more intensively by *L. neglectus* workers. I hypothesized the aphid *L. roboris* would increase their honeydew production when is tended by the invasive ant helping in this way to achieve a higher honeydew collection. The probabilities of dispersion from holm oaks with the invasive ant would be higher because there were more winged individuals in these trees. So, at a fragment forest scale this would imply more infested trees supplying food to the supercolony.

The mutualism of these ant species with the aphid *L. roboris* did not affect indirectly the acorn quality or acorn production. The time lag between aphid main peak (June-July) and the period of acorn fast growth (from September to December) could be the reason.

Finally, both *Lasius* species relay on the same food type but the local ant shows a higher predation level, probably because of its bigger size.

# 1 Introducción

## 1.1 Características del mutualismo entre hormigas y áfidos.

A lo largo de su evolución las hormigas desarrollaron mutualismos con algunas especies de áfidos (Way 1963) de los cuales obtienen una solución azucarada llamada melaza. Sólo el 40 % de los áfidos son mirmecófilos obligados (Kundel y Kloft 1985). Las restantes especies tienen un mutualismo facultativo e incluso algunos áfidos no son atendidos por las hormigas.

La melaza constituye el principal alimento de muchas especies de hormigas (Carroll y Janzen 1973, Skinner 1980), aunque durante la producción de sexuales la mayoría de las especies que colectan melaza complementan su dieta con las proteínas provenientes de la captura de insectos (Way 1963).

Para mantener su provisión de alimento, las hormigas les brindan a los áfidos una serie de servicios ecológicos tendientes a garantizar su persistencia en las plantas (Way 1963). Para ello las hormigas transportan a los áfidos a lugares de la planta con mejor calidad de alimento (Way 1963, Collins y Leather 2002), cuidan de los huevos de los áfidos durante el invierno, llevándolos dentro de sus nidos (Pontin 1960) y los protegen de sus predadores y parasitoides (Fritz 1983, Völk 1992). Además, al colectar la melaza impiden que esta quede adherida a los cuerpos de los áfidos evitando así posteriores infecciones por hongos (Nixon 1951).

Como consecuencia de los servicios brindados por las hormigas, los áfidos incrementan su tasa de alimentación (Banks y Nixon 1958, Takeda *et al.* 1982) y de reproducción (Stadler y Dixon 1999, Flatt y Weisser 2000), incrementándose así su abundancia.

La intensidad del mutualismo entre las hormigas y los áfidos puede verse afectado por el tamaño de la colonia de áfidos (Banks 1962, Addicott 1979), la competencia entre áfidos de distinta especie por la atención de las hormigas (Addicott 1978, Cushman y Addicott 1989), el estado nutricional y fenológico de la planta (Cushman 1991), la distribución de las hormigas (Rosengren y Sundström 1991) y sus requerimientos nutricionales (Pontin 1978, Buckley 1987). La colecta de melaza varía debido a cambios en los requerimientos energéticos de la colonia y a la disponibilidad de los insectos que producen la melaza (Cannon y Fell 2002, Sudd y Sudd 1985, Skinner 1980, Holt 1955).

Debido a su interacción, tanto las hormigas como los áfidos ejercen diversos efectos sobre otros organismos. En las plantas donde se establece el mutualismo, las hormigas pueden desplazar a los fitófagos disminuyendo así el herbivorismo (Skinner y Whittaker 1981, Mahdi y

Whittaker 1993, Suzuki *et al.* 2004), reducir el número de bellotas dañadas por Curculiónidos (Ito y Higashi 1991) incrementando así la eficacia biológica de la planta, y atacar a los predadores (Banks 1962, Katayama y Suzuki 2003) y parasitoides de los áfidos (Völk y Mackauer 1993) modificando la comunidad de insectos. Por su parte los áfidos al alimentarse pueden disminuir el crecimiento de la planta (Halldórsson *et al.* 2003), alterar la relación de biomasa aérea y subterránea (Smith y Schowalter 2001) y reducir la acumulación de madera (Straw *et al.* 2002). Para la planta, el resultado final de este conjunto de interacciones depende de cuan compensados sean los efectos negativos impuestos por los áfidos al alimentarse del floema, por los efectos positivos proporcionados por las hormigas. En algunos casos, la presencia de hormigas atendiendo a los áfidos no compensa a los efectos negativos de los homópteros (Rosengren y Sundström 1991, De Souza *et al.* 1998).

## **1.2 Efecto de las hormigas invasoras sobre los mutualismos con áfidos.**

En las últimas décadas algunas especies de hormigas han invadido zonas alejadas de su distribución debido al transporte humano (Mc Glynn 1999). Existen varias características comunes a todas las especies invasoras de hormigas (Passera 1994):

- Su afinidad por los ambientes perturbados e inestables relacionados con la actividad humana.
- La baja agresión entre colonias distintas lo cual permite desarrollar supercolonias, abarcando grandes áreas.
- Una elevada agresividad hacia otras especies de hormigas.
- La presencia de varias reinas por colonia (poligínia). Aunque esta característica no es exclusiva de las hormigas invasoras.
- No se han observado vuelos nupciales. La cópula se realiza dentro del nido.
- El establecimiento de nuevos nidos se realiza por gemación dependiente o independiente.
- Las obreras son de tamaño reducido, entre 1 – 3,5 mm, monomórficas y son estériles.
- Las reinas viven un período relativamente corto, entre 29 – 57 semanas, dependiendo de la especie.

Como consecuencia de la introducción de una hormiga invasora, las especies nativas son desplazadas, perdiéndose las funciones que éstas realizaban, por ejemplo la dispersión de semillas de plantas mirmecócoras; y se establecen nuevos mutualismos entre la especie invasora

y las locales (Holway *et al.* 2002, Ness y Bronstein 2004). Los costos y beneficios para los áfidos, las plantas, los herbívoros, parasitoides o predadores involucrados directa o indirectamente en esta interacción, se modifican al cambiar la especie de hormiga (Bristow 1984, Lach 2003). En el caso particular de zonas ocupadas por las hormigas invasoras *Linepithema humile*, *Pheidole megacephala* y *Wasmannia auropunctata* la abundancia de homópteros aumenta y el costo negativo para las plantas de las cuales se alimentan también se incrementa (Wetterer *et al.* 2001, Gonzalez *et al.* 1999, Clark *et al.* 1982). Sin embargo, en áreas invadidas por *Solenopsis invicta* su presencia puede afectar positivamente, negativamente o no tener ningún efecto sobre la abundancia de insectos productores de melaza (Ness y Bronstein 2004). Esta diferencia entre las especies de hormigas invasoras mencionadas, sobre la abundancia de homópteros, se debe a la proporción de melaza que incluye cada una en su dieta. Habitualmente, *Solenopsis invicta* percibe a los insectos productores de melaza como presas debido a su preferencia por los alimentos ricos en proteínas. También ocurre que una misma especie invasora tenga un impacto diferente según la zona donde se haya establecido. Este es el caso de la hormiga *Wasmannia auropunctata* que siempre provoca el incremento de las poblaciones de homópteros que atiende. En el este de África el costo asociado de este aumento de insectos succionadores para las plantas de cacao es sobrecompensado por la hormiga por su efectividad en expulsar a los herbívoros. En cambio en Brasil la atención de homópteros en plantas de cacao impone un alto costo para las mismas que excede los beneficios (De Souza *et al.* 1998). Estos ejemplos evidencian la necesidad de describir la biología y ecología básica que las hormigas invasoras son capaces de desarrollar en su nuevo hábitat.

A partir de la década de los setenta la hormiga *Lasius neglectus* ha sido diseminada por distintas ciudades y urbanizaciones de toda Europa (Fig 1). El área de origen más probable de esta hormiga se cree que es el oeste asiático y su único modo de dispersión es el transporte humano (Van Loon *et al.* 1990). En Cataluña, fue detectada por primera vez en la ciudad de Barcelona en 1990 y actualmente se encuentra en diversas ciudades y urbanizaciones (Fig 2).

Los lugares donde se encuentra esta hormiga han sido previamente modificados por la construcción de caminos, urbanizaciones, ajardinamiento de zonas y dado que nunca se la observó en lugares naturales parece claro que se ha adaptado a los “habitats humanos” y que es una especie oportunista (Seifert 2000). Las obreras de esta especie son de color marrón pálido y

su tamaño varía entre 2.5 – 3.5 mm; los machos tienen el mismo tamaño que las obreras pero, son marrones más oscuros. La reina alcanza los 6 mm (Van Loon *et al.* 1990).

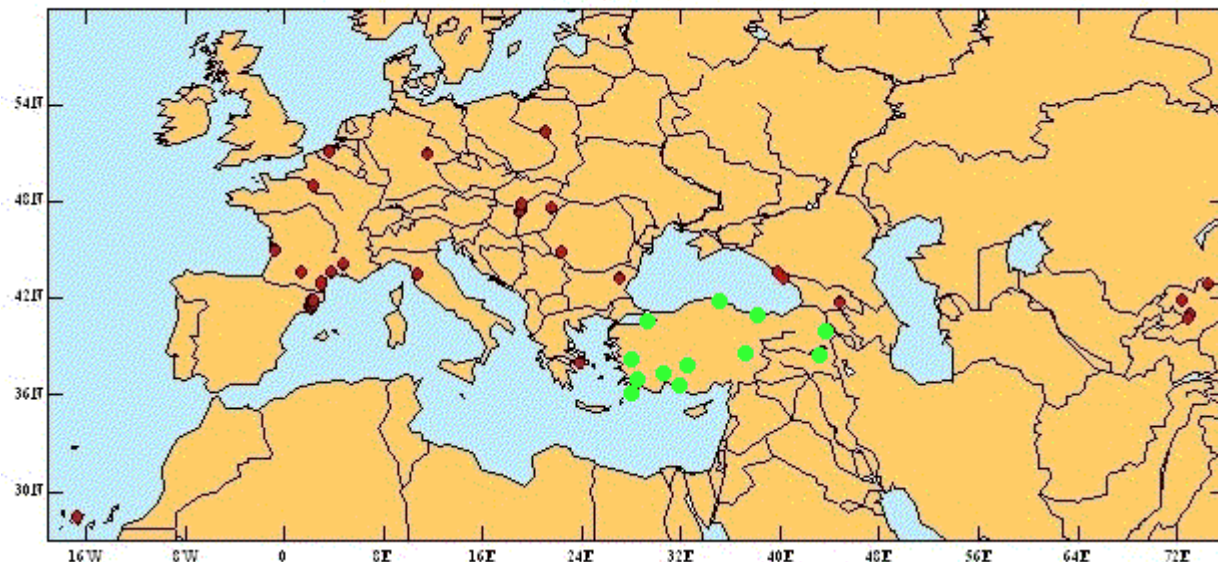


Fig 1. Los puntos rojos indican ciudades de Europa donde se encuentra la hormiga invasora *Lasius neglectus* mientras que los puntos verdes señalan zonas donde esta especie es nativa. (<http://www.creaf.uab.es/xeg/Lasius/Espanol/indice.htm>, acceso Agosto 2005)



Fig 2. Distribución de *Lasius neglectus* en Cataluña.

(<http://www.creaf.uab.es/xeg/Lasius/Espanol/indice.htm>, acceso Agosto 2005).

Al igual que las otras especies invasoras anteriormente mencionadas, esta hormiga es poligínica, una característica rara en el género *Lasius*, pudiendo encontrarse hasta 360000 reinas por colonia (Espadaler *et al.* 2004). Por otra parte la baja agresión entre los distintos nidos permite el desarrollo de las llamadas supercolonias con una densidad de 800 obreras/m<sup>2</sup> (Boomsma *et al.* 1990, Espadaler *et al.* 2004). El alimento principal de la colonia lo constituye la melaza que las obreras obtienen de los áfidos de distintas especies de árboles (Anexo I).

Esta especie ha sido propuesta por algunos autores (Tsutsui y Suarez 2002) como una candidata a convertirse en un problema similar al evidenciado hasta ahora por *Linepithema humile*. Por lo tanto, describir los aspectos básicos de su ecología es el paso previo para estimar el efecto que esta hormiga puede ejercer sobre alguno de los componentes de la comunidad. Sin embargo, esta estimación debe ser realizada teniendo en cuenta el efecto que ejerce sobre la comunidad alguna especie local que posea características ecológicas (patrón de alimentación, habitat, ciclo de actividad, etc) similares y a la cual *L. neglectus* desplace. De esta manera, se relativiza el efecto de la hormiga invasora respecto del ocasionado por alguna especie local.

Por este motivo, se eligió a *Lasius grandis*, una hormiga nativa con las mismas preferencias alimenticias y de habitat que *L. neglectus*. Las obreras de esta especie son las más grandes dentro del género *Lasius*, miden entre 2.5 – 4 mm y son de color marrón oscuro. Sus nidos poseen una única reina y suelen localizarse tanto en áreas más abiertas como en zonas boscosas pero todos los sitios deben ser húmedos o mesofílicos. Los sitios más expuestos al sol son evitados por debajo de los 2000 m (Seifert 1992). Las obreras de esta especie también colectan melaza.

El objetivo general del siguiente trabajo fue describir algunos aspectos del mutualismo de la hormiga invasora *Lasius neglectus* con el áfido *Lachnus roboris* y compararlo con el que la hormiga nativa, *Lasius grandis* tiene con el mismo áfido en la encina.

En esta descripción se incluyeron los siguientes aspectos

1. Estimar la totalidad de melaza recolectada por cada especie de hormiga al finalizar su período de actividad.
2. Evaluar si la abundancia de *L. roboris* se incrementa la estar atendido por la hormiga invasora.
3. Comparar si el porcentaje de bellotas pérdidas y su viabilidad difiere según la especie de hormiga que atiende al áfido *Lachnus roboris*.



Adicionalmente se decidió estimar el porcentaje de artrópodos predados por cada especie de hormiga con el objetivo de comparar sus preferencias alimenticias.

Se hipotetizó que en las encinas colonizadas por la hormiga invasora, *Lasius neglectus* la abundancia del áfido *L. roboris* sería mayor lo cual afectaría negativamente la calidad o cantidad de bellotas producidas.

## 2 Materiales y métodos

### 2.1 Área de estudio

El estudio se realizó en los bosques mixtos del Campus de la Universidad Autónoma de Barcelona ubicado entre las coordenadas geográficas 41° 31' - 41° 29' norte y 2° 5' - 2° 7' este. La zona era un valle de explotación agrícola no intensiva, mayormente con viñas, pastos y cultivos, pero hace unos 35 años se inició la construcción de la Universidad. Actualmente, el campus comprende 263 ha de las cuales 81 ha están ocupadas por un mosaico de bosques de encinas, en los valles, y bosques mixtos de pino blanco y roble común (*Quercus humilis*).

Los suelos del campus se desarrollaron sobre la roca madre que forma parte de la fosa tectónica del mioceno del Vallés – Penedés. Son de tipo calcáreo, de una profundidad mediana, de unos 2 m, y una textura franco agrícola. Básicamente, se pueden distinguir cuatro tipos de suelo: entisoles, inceptisoles, alfisoles y molisoles (Boada y Maneja, en prensa).

El clima es típicamente mediterráneo, con una temperatura media anual de 14.5 °C y precipitaciones anuales medias de 675 mm que ocurren principalmente en primavera y otoño ([www.icc.es](http://www.icc.es)).

### 2.2 Presencia de *Lasius neglectus* en la UAB e interacción con otras especies

En 1997 fue detectada por primera vez la hormiga invasora *Lasius neglectus* en una zona cercana a la estación de tren de Bellaterra (Fig.3) donde se hallaban escombros recientemente arrojados. Actualmente ésta hormiga se haya distribuida por distintas zonas del bosque mixto y encinares cercano a áreas antropizadas (Fig. 3). En las zonas boscosas alejadas de los edificios y jardines ocasionalmente se ha encontrado a *L. neglectus* en los bordes de los caminos de tierra pero, no se la ha observado en los árboles más alejados del camino (zonas interiores).

La actividad de esta hormiga comienza en Abril cuando se la puede ver atendiendo a ciertas especies de áfidos radicícolas de gramíneas, de la hiedra y en nectarios. Hacia finales de Abril las obreras comienzan a trepar a los árboles donde buscan áfidos, cóccidos y predan pequeños insectos. La actividad se prolonga hasta finales de Octubre o principios de Noviembre dependiendo de las temperaturas otoñales.

Dentro de la zona invadida por ésta hormiga podemos identificar zonas con distintos grados de invasión. A su vez, dentro de cada zona existen variaciones temporales de la colonización de

los árboles. Aunque algunos árboles permanecen colonizados durante todo el período de actividad de *L. neglectus*.



Fig 3. Campus de la UAB. Los puntos en rojo señalan encinas colonizadas por *Lasius neglectus* mientras que los puntos azules señalan encinas colonizadas por *L. grandis*. La línea roja limita la zona colonizada por *L. neglectus*. El punto rojo alejado de esta zona es un camino en cuyos bordes se encontraron obreras de *L. neglectus* forrajeando en el suelo. El punto lila cercano a la estación de Bellaterra señala el lugar donde se encontró a *L. neglectus* por primera vez en el campus de la UAB.

La hormiga invasora claramente desplaza a las hormigas nativas, especialmente a *Crematogaster scutellaris* y *Lasius grandis*. Estas especies atienden a los mismos áfidos que *L. neglectus*. En Mayo del 2004 se observó en los límites de una zona boscosa una pelea entre un frente de avance de exploradoras de *Lasius neglectus* y un área de forrajeo de *Lasius grandis* adyacente al tronco de una encina por la cual subían éstas últimas.

*Crematogaster scutellaris* a pesar de ser una hormiga arborícola y muy agresiva, nunca anida en encinas que sistemáticamente son colonizadas por *Lasius neglectus*. Eventualmente logra atender a los áfidos de los árboles al principio y al final del período de actividad de *Lasius neglectus* cuando su flujo de obreras no es abundante. Pero cuando el flujo de la hormiga invasora aumenta *C. scutellaris* es desplazada.

En raras ocasiones el mismo árbol es compartido durante todo el período de actividad de *Lasius neglectus* con otras especies nativas que tienen un comportamiento críptico. Por ejemplo, con *Temnothorax lichtensteini*, una especie corticícola cuyo reducido tamaño (2 mm) y desplazamiento lento favorecen su permanencia en el árbol. Otra especie, es la arborícola *Camponotus truncatus* que suele utilizar, en el mismo tronco, pistas de forrajeo alternativas a las de *L. neglectus* y tiene un flujo de obreras muy bajo. Estas características disminuyen la probabilidad de encuentro entre las dos especies. Sin embargo, se observó que en caso de encuentro, *Lasius neglectus* ataca, a pesar de la gran diferencia de tamaño, activamente y en grupo a *Camponotus truncatus*.

Dentro de la zona más densamente poblada por *L. neglectus* las hormigas nativas logran permanecer en el 15 - 43 % del total de los árboles colonizados por hormigas, dependiendo del mes.

Esta coexistencia entre una especie invasora y algunas especies nativas ya ha sido registrada para *Linepithema humile* en áreas urbanas de Japón donde ha sido introducida recientemente en los años 90. Según Touyama *et al.*, (2003), sólo las especies de reducido tamaño o arborícolas no son tan afectadas por la presencia de una hormiga invasora. También se observó el mismo patrón en el Parque Natural de Doñana donde *Linepithema humile* coexiste con *C. scutellaris* y *L. brunneus* (Carpintero *et al.* 2003).

### 2.3 Elección de los árboles

Un árbol habitualmente colonizado por *L. neglectus* es *Quercus ilex*. Existen varias especies de áfidos que se alimentan de este árbol, entre ellas: *Lachnus roboris*, *Hoplocallis picta* (Fig. 4) *Thelaxes suberi* y *Myzocallis castanicola*.



Fig. 4. *Lasius neglectus* atendiendo a *Lachnus roboris* (arriba) y larvas de *Hoplocallis picta* no atendidas (abajo, flecha roja). La flecha amarilla señala las gotas de melaza excretadas adheridas a las hojas de encina y a la “pelusa” desprendida al abrirse los frutos de los *Salix alba* aledaños a las encinas.

En Abril del 2003 se eligieron 6 encinas (*Quercus ilex*) adultas con un diámetro medio de  $32.1 \pm 9.1$  cm (DBH, media  $\pm$  desviación estándar) colonizadas por *L. neglectus* para estimar la colecta de melaza de esta especie de hormiga (Fig. 3, puntos rojos). La elección de éstos ejemplares se basó en las observaciones de años anteriores (Espadaler, sin publicar) en las cuales se comprobó que el flujo de obreras se mantenía durante todo el período de actividad.

A partir del 2004 se decidió estimar también la melaza recolectada por la hormiga nativa *Lasius grandis*. Se añadieron entonces otras 6 encinas cuyo diámetro medio fue de  $21.8 \pm 5.1$  cm (DBH, media  $\pm$  desviación estándar).

Dentro de los dos grupos de encinas, la mitad de los ejemplares elegidos se encuentran aislados del bosque, en zonas ajardinadas donde el impacto antrópico es máximo, mientras que las tres encinas restantes se encuentran en el límite externo de la zona boscosa (Fig. 5).

En el año 2003, el flujo de obreras desapareció casi por completo en algunas de las encinas seleccionadas inicialmente para el muestreo. Esto ocasionó que algunos de los árboles fuesen sustituidos por otros donde la actividad fuese mayor (Anexo II). De los 6 ejemplares seleccionados inicialmente el flujo de *L. neglectus* fue constante en una única encina.

En el año 2004, comparado con el año anterior, se realizaron menos reemplazos en el grupo de encinas colonizadas por la hormiga invasora. Mientras que en el grupo de encinas colonizadas por la hormiga nativa *Lasius grandis* sólo se sustituyó un único árbol ya que debido a la escasez de esta hormiga dentro de la zona colonizada por *L. neglectus* no fue posible encontrar otras encinas colonizadas por la hormiga nativa (Anexo II).





Fig. 5. Normalmente las encinas aisladas desarrollan una copa más uniforme y ramas más bajas (arriba) comparado con las encinas ubicadas en los límites del bosque cuyas copas son asimétricas ya que sus ramas suelen crecer en dirección a la luz.

## 2.4 Estimación de la colecta de melaza

Entre Mayo y Octubre de 2003 y 2004, en cada encina, se estimó el flujo de obreras y la colecta de melaza realizada por cada especie de hormiga. Luego se midió la temperatura a nivel del suelo.

Los muestreos se realizaron a las 6, 11, 17 y 23 horas porque las variaciones de la temperatura entre estas horas podían afectar significativamente tanto al flujo como a la colecta de la melaza. De esta manera, para cada día de muestreo se obtuvieron 4 medidas repetidas de las variables consideradas.

En el 2003 los muestreos se realizaron cada  $18 \pm 5$  días mientras que en el 2004 se realizaron cada  $30 \pm 5$  días. Se definió ésta nueva escala temporal de muestreo porque al estimar la melaza total colectada por árbol durante el 2003 incluyendo en los cálculos todos los muestreos (1.047 kg melaza total por árbol;  $0.105 \pm 0.082$  kg media  $\pm$  desvío estándar,  $n = 10$ ) o sólo un muestreo por mes (1.018 kg melaza total por árbol;  $0.170 \pm 0.077$  kg media  $\pm$  desvío estándar,  $n = 6$ ) no se obtuvieron diferencias significativas entre las medias obtenidas (Mann Whitney,  $U = 13.5$ ,  $p = 0.073$ ).

El flujo de obreras se estimó contando durante un minuto el número de obreras que subían y en el minuto siguiente el número de obreras que bajaban y luego haciendo la media de ambos grupos. Sólo en los árboles colonizados con *Lasius neglectus* se observó que generalmente existía más de una fila de obreras. Dado que se pretendía estimar el flujo total se evaluó visualmente si todas las líneas de forrajeo tenían la misma cantidad de individuos. En caso afirmativo se consideró al número de filas como un factor de corrección por el cual multiplicar el flujo de la fila medida anteriormente. Si alguna línea de forrajeo tenía menos individuos que el resto de las filas se la consideró equivalente a una fracción, estimada, de la línea principal. Se decidió emplear esta metodología para evitar detenerse demasiado tiempo en un mismo árbol, retrasando así los posteriores muestreos. Para asegurarse que la metodología empleada no inducía sub o sobre estimaciones del flujo se realizaron muestreos adicionales del flujo de todas las líneas de forrajeo presentes en 3 encinas, cada 3 hs, hasta completar las 24 hs. Los valores de flujo estimado considerando la totalidad de las líneas de forrajeo se correlacionaron con los datos de flujo estimado utilizando el factor de corrección. Se obtuvo una correlación significativa y muy cercana a 1 (Spearman,  $r^2 = 0.95$   $p = 0.00001$ ) lo que indica que el método de estimación utilizando en factor de corrección fue preciso. El valor considerado para los análisis estadísticos



es el flujo medio por minuto, corregido por el número de líneas de forrajeo presentes en la encina en ese momento del día. De ahora en adelante se denominará a este valor como el **flujo de obreras**.

Para estimar el peso de melaza colectada, en las encinas colonizadas por *Lasius neglectus* se colectaron 30 obreras que bajaban y 30 obreras que subían. Mientras que en el caso de *Lasius grandis* se decidió colectar 15 obreras dado que el flujo de ésta especie es mucho menor y debido a su mayor tamaño no es necesario muestrear tantos individuos para detectar la diferencia de peso entre ambos grupos de hormigas. El peso de cada grupo de obreras, las que subían y las que bajaban, fue dividido por el número de obreras que realmente se hubiese colectado, ya que no siempre se colectaron exactamente 30 o 15 hormigas. De esta manera, se obtuvo el peso medio de las obreras que subían y el peso medio de las obreras que bajaban. La diferencia de peso entre ambos grupos representa la **melaza colectada por obrera**.

En algunas ocasiones el peso de las hormigas que subían fue mayor que el peso de las obreras que bajaban. Por ende se obtuvieron números negativos de la carga de melaza por hormiga. Dado que biológicamente estos resultados no tienen significado, para el análisis estadístico se decidió considerar los números negativos como 0. No se pudo establecer una correlación entre la obtención de números negativos y la hora de muestreo. Por lo cual, se descartó un error de muestreo durante las horas nocturnas como posible fuente de error. Sin embargo, al graficar en un histograma los pesos de ambos grupos se observó que existe un solapamiento entre ellos (Anexo III). Dado que las obreras fueron muestreadas al azar, evidentemente en algunas ocasiones se muestrearon obreras que bajaban de menor tamaño que las obreras que subían dando origen a valores negativos.

Para estimar la carga de melaza por minuto, de aquí en adelante denominada **tasa de colecta**, se multiplicó el **flujo de obreras** estimado durante un minuto por la **melaza colectada por obrera**. Estos cálculos fueron posibles ya que ambas especies son monomórficas. Se utilizó una balanza Precisa 250 A con una precisión de 0.0001 g.

Al finalizar cada muestreo horario se midió, a la sombra, la temperatura cercana al suelo pero, evitando que el termómetro estuviera en contacto directo con el suelo. Se utilizó un termómetro modelo NO. NAW880, Oregon Scientific.

## 2.5 Cálculo de la tasa de colecta de melaza mensual y anual.

A partir de la tasa de colecta por minuto (Tcm) estimada para cada encina, en cada muestreo horario, se calculó la tasa de colecta diaria (Tcd) según el siguiente esquema:

Muestreos horarios	Tasa de colecta por hora (Tch)	Tasa de colecta por día (Tcd)
6 hs	$T_{cm} \times 60' = Tch$	$Tch \times 5 \text{ hs}$
11 hs	$T_{cm} \times 60' = Tch$	$Tch \times 6 \text{ hs}$
17 hs	$T_{cm} \times 60' = Tch$	$Tch \times 6 \text{ hs}$
23 hs	$T_{cm} \times 60' = Tch$	$Tch \times 7 \text{ hs}$
		$\Sigma Tch = Tcd$

El número de días transcurrido entre muestreos fue multiplicado por la tasa de colecta diaria obteniéndose así, para cada encina, una estima de la tasa de colecta mensual. Con estos valores de la tasa de colecta mensual de cada encina se calculó la media de la tasa de colecta para cada mes. La suma de todas las medias mensuales de la tasa de colecta representa la melaza anual colectada por árbol durante todo el período de actividad de cada especie de hormiga.

## 2.6 Predación de artrópodos

Con el objetivo de estimar la captura de artrópodos, cada 15 días durante 3 minutos se estimó el flujo de obreras y en los siguientes tres minutos se muestrearon a todas las hormigas que transportaban alguna presa o ítem entre sus mandíbulas. En el 2003 este muestreo se realizó sólo en los árboles con *L. neglectus* mientras que en el 2004 también se muestreó en encinas colonizadas por *L. grandis*. Los muestreos siempre se realizaron en el mismo rango horario.

## 2.7 Abundancia del áfido *Lachnus roboris*

Esta especie es de gran tamaño. Las hembras vivíparas ápteras miden entre 2.5 a 5.5 mm y pesan  $1.16 \pm 0.8$  mg (peso fresco) (Nieto Nafría y Mier 1998, Pólgar *et al.* 1996). Este áfido se caracteriza por sus largas patas de una coloración menos intensa que el resto del cuerpo (Fig. 6). Las hembras vivíparas aladas son semejantes a las vivíparas ápteras pero, con las patas más intensamente coloreadas (Fig. 6). Los machos son alados y más pequeños que las hembras.

Su distribución es muy amplia en toda Europa y cercano Oriente y recientemente ha sido introducido en Norteamérica (Nieto Nafría y Mier 1998). También ha sido citada en Marruecos, las Islas Canarias (Nieto Nafría y Mier 1998) y en Tekir, Turquía (Aslan 2005).

Su ciclo de vida lo desarrolla completamente sobre especies de *Castanea* y *Quercus* y comienza en Abril cuando los huevos de invierno eclosionan. A partir de entonces se suceden aproximadamente 6 generaciones partenogénicas de hembras vivíparas. Finalmente, en Octubre aparece la generación de sexuales que darán origen a los huevos de invierno (Michel 1942). El tamaño de las colonias suele ser muy variable, de 5 a 60 individuos.



Fig. 6. Larvas y aladas de *Lachnus roboris*.

La melozitosa constituye el principal componente de la melaza que produce este áfido, pudiendo alcanzar hasta el 46.3 % (Michel 1942).

Algunos autores han catalogado a esta especie como mirmecófila obligada (Sudd y Sudd 1985, Michel 1942). En la provincia de León esta especie es atendida por: *Camponotus aethiops*, *C. cruentatus*, *C. massiliensis*, *C. piceus*, *Formica dusmeti*, *F. pratensis* y *Tapinoma nigerrimum* (Nieto Nafría y Mier 1998). En el campus de la UAB este áfido es atendido por distintas especies de hormigas (Fig. 7) y se ubica en las ramitas terminales de la periferia de la copa.

Hasta ahora no hay datos que confirmen que esta especie de áfido ocasiona algún daño a los árboles de los cuales se alimenta. Aunque en Hungría se lo asoció con la proliferación de tumores en los robles (Schumetterer 1956).



C. Paris



C. Paris

Fig. 7. *Lachnus roboris* atendido por *Crematogaster scutellaris* (arriba) y *Camponotus foreli* (debajo) en encinas del campus de la UAB.

Para estimar la abundancia de *L. roboris* en el 2003 se eligieron 6 encinas colonizadas por *L. neglectus* y 6 colonizadas por hormigas nativas (4 colonizadas por *L. grandis* y 2 por *C. scutellaris*). Para poder observar una mayor proporción de la copa de cada árbol se seleccionaron encinas cuyas ramas inferiores estuviesen a una distancia, desde el suelo, no superior a los 1.30 m o bien que la pendiente de terreno y la inclinación del árbol facilitará la inspección de las ramas más altas al ubicarse uno en la zona más elevada (Fig. 8). Algunos de los árboles utilizados para estimar la abundancia de este áfido coincidieron con los utilizados para la estimación de la melaza.



Fig. 8. Con la escalera utilizada se contabilizaron los áfidos hasta una altura máxima de la copa de 3.25 m.

En el 2003 se estimó la cantidad de ramitas terminales en la copa de cada árbol. La finalidad de este procedimiento fue evaluar que los árboles elegidos no tuviesen copas con una cantidad de ramitas terminales muy diferente lo cual puede afectar el grado de colonización por

parte de los áfidos. En Mayo, en cada una de las encinas seleccionadas, se eligió una rama de 8 – 10 cm de diámetro, que fuera representativa de la copa del árbol, y se contabilizó la totalidad de las ramitas terminales que había en dicha rama. Luego se determinaron el número de ramas con un diámetro 8 a 10 cm que serían inspeccionadas en cada muestreo. De esta manera se obtuvo una estimación de la totalidad de ramitas inspeccionadas en cada árbol.

En cada muestreo se contabilizaron todos los áfidos encontrados en las ramitas terminales, diferenciándose entre alados y ápteros. Los resultados se expresaron como **abundancia total**, **abundancia de alados y ápteros** y **porcentaje de infestación**. Este último fue calculado como la proporción de ramitas terminales con colonias respecto de la totalidad de ramitas observadas. Se consideró que un grupo de individuos conformaban una colonia cuando en una misma ramita terminal había 5 o más individuos.

A partir del 2004 el grupo de encinas colonizadas por hormigas nativas estuvo conformado solamente por árboles con *Lasius grandis*. A diferencia del año anterior se decidió contabilizar en cada muestreo el número de ramitas que efectivamente fueron inspeccionadas. Esta decisión se tomó basándose en observaciones del año anterior que evidenciaron que *L. roboris* se ubicaba preferentemente en ramitas terminales exteriores y no en las ramitas terminales del interior de la copa. De esta manera se evitó una subestimación del porcentaje de infestación, como probablemente ocurrió el año anterior, al incluir en el cálculo todas las ramillas terminales. Además de evaluar los mismos parámetros del año anterior se contó el número de hormigas que atendían a cada colonia de áfidos. El cociente entre el número de hormigas que atienden a un determinado número de áfidos (**intensidad de atención**) es un indicador de la intensidad del mutualismo entre ambas especies (Fischer *et al.*, 2002). Pero en este caso las especies consideradas no son del mismo tamaño ni tienen la misma abundancia. La hormiga es más pequeña pero más abundante pero la nativa es mayor y menos abundante en las encinas. Por ende no hubiera sido correcto utilizar una relación numérica. Se decidió entonces expresar el **intensidad de atención** como un relación entre la biomasa de hormigas y la biomasa de áfidos. La biomasa de *L. neglectus* y de *L. grandis* fueron  $0.805 \pm 0.074$  mg (media  $\pm$  DS, n = 363) y  $1.447 \pm 0.494$  mg (media  $\pm$  DS, n = 88), respectivamente. Estos valores de biomasa corresponden a la media de todos los pesos de las obreras que subían a los árboles (hormigas vacías) obtenidos en los muestreos para estimar colecta de melaza. Mientras que para *L. roboris* se consideró 4.52 mg (n = 20). Por último, se anotó la ubicación exacta de las colonias, distinguiendo entre ramas del

año anterior, ramas jóvenes, hojas, pecíolo de la bellota y cápside de bellota. Luego de concluir con cada muestreo de áfidos se estimó el flujo de obreras con la misma metodología que la empleada en la estimación de la colecta de melaza y se anotó la temperatura. En ambos años los muestreos fueron mensuales.

## **2.8 Calidad y producción de las bellotas**

El desarrollo de las bellotas se inicia con la polinización de las flores femeninas entre Abril y Junio, dependiendo de la altitud. En un principio el crecimiento de las bellotas es lento pero, luego en Septiembre comienza un período de crecimiento rápido que concluye con su maduración entre Noviembre y Diciembre (Rodà *et al.* 1999).

En el 2003 y en el 2004 en las mismas encinas en las que se estimó la abundancia de áfidos se marcó una rama cuyo diámetro fuese de 8 a 12 cm y que tuviese un aspecto representativo de la copa del árbol. En Junio, Septiembre y Diciembre, en cada una de estas ramas, se contaron todas las bellotas presentes. Los meses elegidos se corresponden con las distintas etapas del desarrollo de la bellota. Con los valores obtenidos se calculó el porcentaje de bellotas perdidas en cada etapa y el porcentaje que finalmente llegaba a madurar en cada encina.

En Diciembre del 2003 en la mayoría de las encinas elegidas las bellotas no alcanzaron la madurez o cayeron prematuramente. Por este motivo, no se contaba con suficientes bellotas por árbol como para realizar un test de germinación. Se decidió entonces evaluar el contenido lipídico de las bellotas pertenecientes a árboles colonizados por *L. neglectus* y hormigas nativas que en su mayoría eran *L. grandis* (ver abundancia de áfidos).

Los lípidos junto con el almidón son las sustancias de reserva de las bellotas y su síntesis se realiza dentro de las éstas a partir de los hidratos de carbono que son translocados hacia las bellotas (Kramer y Kozlowski 1960). Dado que los áfidos para alimentarse se ubican sobre el pecíolo o la cápside de las bellotas se hipotetizó que el contenido de lípidos podía ser afectado por la presencia de los áfidos dependiendo de cual especie de hormiga lo atendiera. El contenido de lípidos fue analizado por derivatización con BF<sub>3</sub> en metanol luego de un análisis por cromatografía gaseosa (FID). Los análisis fueron realizados por el Servicio de Análisis Químicos de la Universidad Autónoma de Barcelona.

Durante el conteo de Diciembre del 2004 se colectaron entre 20 - 30 bellotas de cada encina que fueron pesadas para determinar si su tamaño difería entre los árboles colonizados por una u

otra especie de hormiga. De cada grupo de bellotas colectadas se seleccionaron de 9 a 18 bellotas por encina para realizar un test de germinación. Se eligieron bellotas que no presentaran signos externos de estar dañadas. En total se utilizaron 94 bellotas pertenecientes a encinas colonizadas por *L. neglectus* y 100 bellotas provenientes de encinas colonizadas por *L. grandis*. Las bellotas fueron inspeccionadas diariamente y se anotó el día de emergencia de la plántula.

De las plántulas que emergieron entre los 29 - 35 días se seleccionaron 10 individuos de cada tipo de encina para evaluar su calidad mediante el índice de Dickson *et al.* (1960). Este índice expresa la combinación entre la relación raíz: parte aérea-raíz (peso seco) y el índice de robustez que relaciona la altura (cm) y el diámetro del tallo (cm) de la planta y su fórmula es:

$$QI = \frac{\text{Peso total (gr)}}{\frac{\text{Long (cm)}}{\text{Diam (cm)} + \frac{\text{Peso Aéreo (gr)}}{\text{Peso Raíz (gr)}}$$

Entre más cercano sea el valor obtenido de la ecuación a la unidad, denotará mayor calidad de las plántulas producidas en el vivero.

## 2.9 Análisis estadísticos

### 2.9.1 Tasa de colecta de melaza

Las comparaciones de las medias mensuales de la tasa de colecta, el flujo de obreras, la melaza por obrera y la temperatura, se realizaron con la prueba de Kruskal - Wallis. Estas comparaciones no se realizaron con el test de Friedman, equivalente a un ANOVA de medidas repetidas, debido a los cambios en las unidades muestrales (árboles) que se debieron realizar durante el período de actividad de las hormigas (ver apartado de elección de árboles).

La totalidad de melaza que *L. neglectus* colectó por árbol en el 2003 y 2004 se comparó con el test de Wilcoxon. Mientras que para la comparación de la totalidad de melaza colectada por cada especie de hormiga se utilizó un ANOVA de dos factores (especie y muestreo) utilizando como covariable el diámetro de las encinas porque los árboles colonizados por la hormiga nativa *L. grandis* tenían un diámetro significativamente menor que los colonizados por *L. neglectus* (Mann Whitney, U = 8, p = 0.0206).



### **2.9.2 Predación de artrópodos**

Las comparaciones del porcentaje de insectos predados entre meses y entre especie de hormiga se realizaron con la prueba de Kruskal - Wallis o de Mann - Whitney, respectivamente.

### **2.9.3 Abundancia de áfidos**

La abundancia de áfidos, abundancia de cada estadio y porcentaje de infestación, de cada mes y tipo de árbol (colonizado por *L. neglectus* u hormigas nativas), fueron comparadas con un ANOVA de dos factores (tiempo y especie de hormiga). En los análisis se utilizó como covariable el número de ramitas inspeccionadas ya que esta variable afecta al número de áfidos encontrados en cada árbol. Inicialmente los muestreos fueron pensados para ser comparados con un ANOVA de medidas repetidas. No se utilizó esta prueba estadística porque en el 2003 una de las encinas colonizadas por *L. neglectus* fue descartada del conjunto de datos a partir del mes de Septiembre debido a que todos los áfidos estaban atendidos por *Crematogaster scutellaris* y no había flujo de *Lasius neglectus* en ese árbol. Dado que el objetivo de estos muestreos fue evaluar si la abundancia de *Lachnus roboris* varía según la especie de hormiga (*L. neglectus* o *L. grandis*) que lo atienda no hubiera sido correcto incluir a esta réplica. La misma situación ocurrió en el 2004 con otra encina colonizada por *L. neglectus* y por una de las encinas colonizadas por *L. grandis* que pasó a estar colonizada por *C. cruentatus*.

La intensidad de atención y la ubicación de los áfidos en la copa de los árboles sólo fueron estimadas en el 2004. Estas variables también fueron analizadas con un ANOVA de dos factores (tiempo y especie de hormiga).

### **2.9.4 Calidad y producción de las bellotas**

Los porcentajes de bellotas perdidas en cada muestreo, el porcentaje de lípidos, la emergencia y el índice de Dickson fueron comparados con el test de Mann - Whitney.

En los casos en que se utilizó estadística paramétrica se analizaron los residuos y la correlación entre las medias y la varianza para evaluar la normalidad de los datos. Todos los datos usados en la estadística paramétrica que estaban expresados como porcentajes fueron

transformados según la expresión:  $\arcsin \sqrt{x}$ . Mientras que a los datos que expresaban abundancia o una relación numérica se les aplicó la transformación:  $\sqrt{x}$  o  $\ln x + 1$ , respectivamente.

Todos los análisis se realizaron con el programa Statistica 6.0. (StatSoft, Inc. 2001).

### 3 Resultados

#### 3.1 Tasa de colecta de melaza de *L. neglectus* y *L. grandis*

El flujo de obreras de ambas especies abarcó las 24 horas. Sin embargo, el número de muestreos realizados en un mismo día ( $n = 4$ ) no permite establecer claramente el patrón de actividad de cada especie. Para ambas especies, el flujo de obreras, la colecta de melaza por obrera y la tasa de colecta variaron entre las horas de muestreo sólo en algunos meses (Anexo IV).

En el 2003 la tasa de colecta de *L. neglectus* difirió entre meses (Kruskall - Wallis,  $H_{9,232} = 54.55$ ,  $p = 0.00001$ ), siendo Mayo, Junio y Julio los meses de mayor consumo (Fig 9).

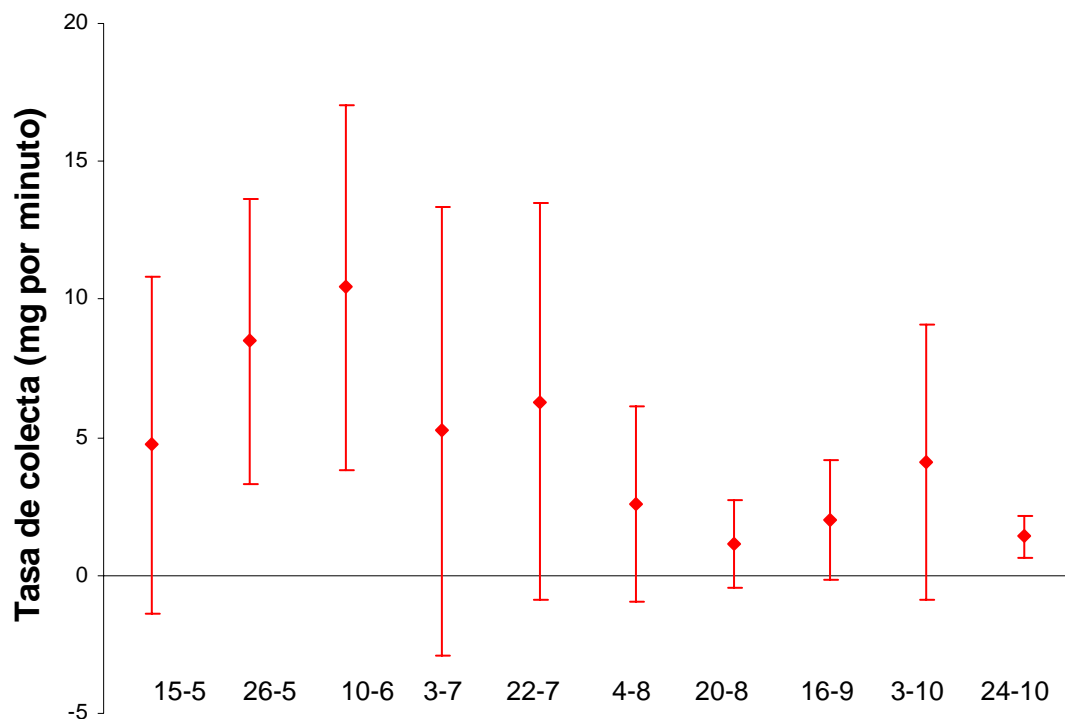


Fig 9. Media y desviación estándar de la tasa de colecta diaria de *L. neglectus* en el 2003.

Dado que la tasa de colecta es una variable compuesta por la multiplicación de la melaza colectada por hormiga y el flujo de obreras durante un minuto es posible que las diferencias significativas encontradas se debieran a cambios en las variables que componen dicha tasa. Por este motivo estas variables también fueron analizadas separadamente.

El flujo de obrera evidenció diferencias significativas entre los muestreos alcanzando su máximo en el mes de Junio ( $H_{9,232} = 92.67$ ,  $p = 0.00001$ ) (Fig 10 a). La melaza recogida por obrera si bien fue diferente entre los meses evaluados ( $H_{9,232} = 43.97$ ,  $p = 0.00008$ ) se mantuvo

entre 0.029 y 0.091 mg, excepto a finales de Mayo cuando la media se elevó al doble de su valor habitual, 0.180 mg/hormiga (Fig 10 b). La temperatura se correlacionó significativamente con el flujo ( $r = 0.36$ ,  $p < 0.0001$ ,  $n = 232$ ) (Fig 10 a).

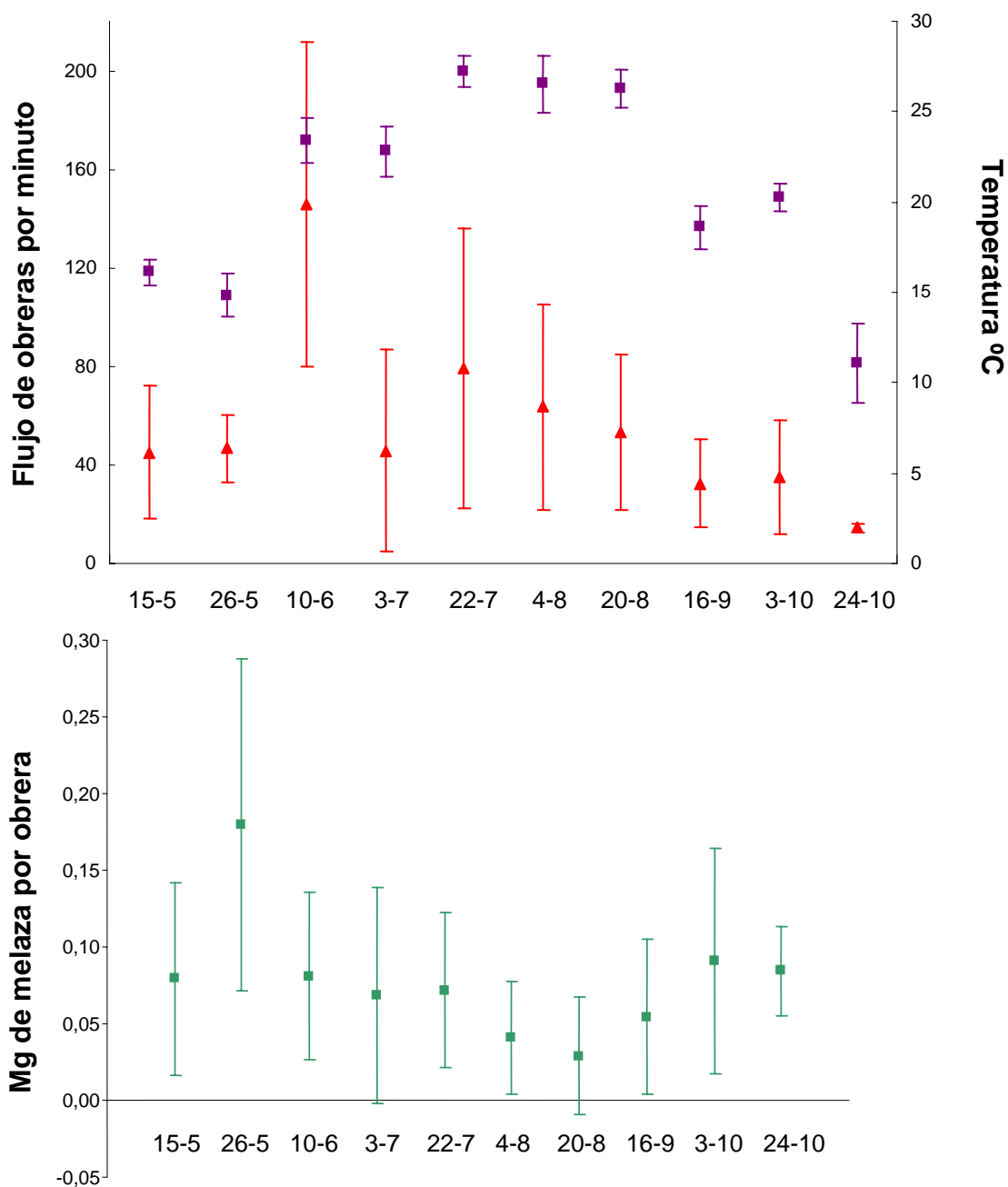


Fig 10. Media y desviación estándar del flujo de obreras de *L. neglectus* (▲) y la temperatura (■) a) y de la melaza colectada por obrera b) en los muestreos diarios de 2003.

En el 2004, la melaza recolectada por obrera de *L. neglectus* varió significativamente entre muestreos ( $H_{5, 35} = 12.89$ ,  $p = 0.024$ ) (Tabla 1). Nuevamente, durante el mes de Mayo la hormiga invasora comenzó colectando la máxima carga de melaza por hormiga, 0.129 mg. Mientras que al mes siguiente la carga de melaza por hormiga disminuyó para luego estabilizarse entre 0.057 – 0.124 mg/obrero. El flujo de obreras y la tasa de colecta también fueron significativamente diferentes entre los meses ( $H_{5, 35} = 79.75$ ,  $p = 0.00001$  y  $H_{5, 35} = 38.48$ ,  $p = 0.00001$ , respectivamente) aumentando progresivamente hasta alcanzar sus máximos en Julio para luego disminuir (Tabla 1).

El patrón de forrajeo mensual de *Lasius grandis* fue el mismo que el evidenciado por la hormiga invasora. La melaza colectada por obrera de *L. grandis* varió significativamente entre los meses ( $H_{4, 82} = 11.52$ ,  $p = 0.0212$ ) y fue máxima en Junio y Julio, 0.423 y 0.399 mg/obrero respectivamente. El valor máximo de flujo en el mes de Julio ( $H_{4, 82} = 27.79$ ,  $p = 0.00001$ ). La tasa de colecta también varió significativamente entre meses ( $H_{4, 82} = 20.02$ ,  $p = 0.005$ ) siguiendo el mismo patrón que el flujo ( $H_{4, 82} = 27.79$ ,  $p = 0.0001$ ) (Tabla 1).

La comparación entre especies evidencia que *L. grandis* debido a su mayor tamaño, colecta en Junio, Julio y Octubre significativamente más melaza por obrera que *L. neglectus* (Mann -Whitney,  $U = 93.5$ ,  $p = 0.000061$ ,  $U = 38$ ,  $p = 0.000021$  y  $U = 38.5$ ,  $p = 0.0037$ , respectivamente) (Tabla 4). Sin embargo, el flujo de la hormiga invasora fue significativamente mayor en todos los meses (Mann -Whitney,  $p < 0.05$ ). Al considerar conjuntamente la melaza colectada por hormiga y el flujo, es decir al comparar la tasa de colecta entre ambas especies para cada mes, solamente en Julio y Agosto *Lasius neglectus* logra colectar significativamente más melaza por minuto ( $U = 70$ ,  $p = 0.000075$  y  $U = 58$ ,  $p = 0.0058$ , respectivamente) (Tabla 1).

Muestreo	N	<i>Lasius neglectus</i>			<i>Lasius grandis</i>			
		Flujo	Mel / horm	Tasa de colecta	N	Flujo	Mel / horm	Tasa de colecta
20 Mayo	6	58.66 ± 43.95 *	0.132 ± 0.080	9.21 ± 12.61	4	12.38 ± 8.51	0.274 ± 0.206	3.79 ± 5.99
25 Junio	6	154.82 ± 91.17 *	0.057 ± 0.048	9.39 ± 13.63	6	20.32 ± 16.30	0.423 ± 0.281 *	7.32 ± 11.38
28 Julio	6	356.61 ± 333.94 *	0.115 ± 0.044	33.76 ± 29.84 *	4	25.91 ± 12.73	0.399 ± 0.075 *	10.18 ± 5.90
25 Agosto	6	76.27 ± 46.69 *	0.109 ± 0.016	7.33 ± 6.09 *	3	12.33 ± 6.65	0.172 ± 0.088	2.08 ± 2.32
24 Septiembre	6	48.13 ± 44.54	0.081 ± 0.026	4.22 ± 6.17	2	7.45	0.392	3.52
19 Octubre	6	25.77 ± 16.6 *	0.124 ± 0.037	4.11 ± 6.13	4	5.62 ± 2.92	0.354 ± 0.030 *	1.94 ± 1.35

Tabla 1. Media y desviación estándar de la tasa de colecta (mg por minuto), flujo de obreras por minuto y melaza recogida por hormiga (mg por hormiga) de *L. neglectus* y *L. grandis* durante el año 2004. Todas las variables difirieron significativamente entre meses (Kruskall-Wallis,  $p < 0.05$ ). Los asteriscos indican diferencias significativas entre especies. El muestreo de Septiembre de *L. grandis* no fue incluido en las comparaciones.

Al finalizar su periodo de actividad del año 2003, *Lasius neglectus* colectó por encina un total de 1.047 kg de melaza. Este valor medio fue superado por una encina en particular, que fue monitoreada en todo los muestreos (réplica 1, ver anexo II), de la cual las obreras lograron colectar 1.859 kg de melaza en total.

La cantidad de melaza que las obreras colectaron de los áfidos, estuvo correlacionada positiva y significativamente con la superficie de la copa de la encina correspondiente (Sperman,  $n = 57$ ,  $r = 0.32$ ,  $p = 0.016$ ).

En el 2004 *L. neglectus* colectó por encina significativamente más melaza que en el 2003 (Wilcoxon,  $Z = 1.99$ ,  $p = 0.046$ ) (Tabla 2). Nuevamente la cantidad total de melaza colectada varió según la réplica que se considere. Por ejemplo, de la réplica 1 las obreras lograron colectar 2.108 kg totales mientras que de la réplica 9 colectaron 3.540 kg totales. Las restantes réplicas no fueron monitoreadas todos los meses (ver anexo II) por ende no se puede establecer un rango de valores fiable.

	LN 2003	LN 2004	LG 2004
Mayo	0.267 ± 0.098	0.501 ± 0.401	0.178 ± 0.142
Junio	0.292 ± 0.115	0.408 ± 0.333	0.238 ± 0.191
Julio	0.224 ± 0.121	1.319 ± 0.891	0.412 ± 0.210
Agosto	0.099 ± 0.038	0.324 ± 0.143	0.094 ± 0.066
Septiembre	0.048 ± 0.033	0.155 ± 0.184	0.101 ± 0.021
Octubre	0.117 ± 0.098	0.073 ± 0.099	0.032 ± 0.014
<b>Total</b>	<b>1.047</b>	<b>2.781 *</b>	<b>1,055</b>

Tabla 2. Media y desvío estándar de la melaza (kg por árbol) colectada por árbol en encinas colonizadas por *L. neglectus* (LN) o por *L. grandis* (LG) durante el 2003 y 2004. El asterisco indica que en el 2004 *L. neglectus* colectó significativamente más melaza respecto de la colectada en el 2003 y respecto de la colectada por la hormiga local *L. grandis*.

En el 2004 la hormiga invasora *L. neglectus* colectó significativamente más melaza por encina que la hormiga nativa *L. grandis* (ANOVA,  $F_{1, 45} = 7.8685$ ,  $p = 0.00740$ ) (Tabla 2). En el caso de las encinas colonizadas por *L. grandis* no hubo ninguna réplica monitoreada todos los meses (ver anexo II). Sin embargo, hubo dos réplicas en las cuales durante el muestreo de Septiembre no hubo actividad, de donde las obreras lograron colectar 1.192 y 1.595 kg totales, (réplicas 2 y 3 ver anexo II).

En el 2004, para ambas especies las correlaciones entre la cantidad de melaza colecta por mes y la superficie de la copa de las encinas carecieron de significancia (Spearman,  $n = 33$ ,  $r = -0.13$ ,  $p = 0.444$  para *L. neglectus* y  $n = 21$ ,  $r = 0.35$ ,  $p = 0.112$  para *L. grandis*).

### 3.2 Predación de artrópodos

Durante el 2003 el porcentaje de predación de *L. neglectus* no varió entre muestreos (Kruskall - Wallis,  $H = 9.44$ ,  $p = 0.2221$ ). Aunque durante los meses de Mayo y Junio los valores de predación alcanzaron sus máximos,  $1.68 \pm 1.23$  % y  $1.29 \pm 0.61$  %, respectivamente. El 27 y 23 % de las presas fueron Pscópteros y áfidos respectivamente.

En el 2004 la predación de ambas especies fue significativamente distinta entre meses ( $H = 18.56$ ,  $p = 0.0023$ , *L. neglectus* y  $H = 12.26$ ,  $p = 0.015$  para *L. grandis*) (Tabla 3). La hormiga nativa, a pesar de tener un menor flujo de obreras, evidenció una porcentaje de predación de insectos significativamente mayor que el de la hormiga invasora en los meses de Mayo y Junio (Mann-Whitney  $U = 1$ ,  $p = 0.027$  y  $U = 6$ ,  $p = 0.032$ , respectivamente) (Tabla 3). Ambas especies tienen las mismas preferencias siendo los áfidos y los Pscópteros las presas más capturadas por *L. neglectus* (38 y 31 %) y *L. grandis* (23 y 21 %). A diferencia del año anterior entre los áfidos capturados se encontraron larvas de *Lachnus roboris*. Sin embargo, *Hoplocallis picta* continuó siendo el áfido más predado de las dos especies.

Muestreo	LN 2004	LG 2004
31 Mayo	$11.54 \pm 2.48$	$28.79 \pm 15.28$ *
16 Junio	$2.45 \pm 1.87$	$11.83 \pm 10.01$ *
03 Julio	$2.96 \pm 2.98$	$5.39 \pm 6.37$
22 Julio	$1.45 \pm 1.66$	$1.86 \pm 2.67$
16 Agost	$1.51 \pm 0.98$	$1.84 \pm 2.20$
13 Sep	$0.60 \pm 1.46$	0

Tabla 3. Media y desviación estándar del porcentaje de predación de artrópodos de *Lasius neglectus* (LN) y *Lasius grandis* (LG) durante 2004. El asterisco señala diferencias entre especies ( $p < 0.05$ ).





Fig 11. En algunas ocasiones al muestrear a la obrera que cargaba algún insecto esta no se deshacía del mismo. *Lasius neglectus* con un Psóptero (foto superior) y *Lasius grandis* con una *Hoplocallis picta* (foto inferior).

### 3.3 Abundancia de áfidos

En el 2003 el rango de ramitas observadas varió entre 1310 - 12060 para encinas con *L. neglectus* y 1288 – 9516 para encinas con *L. grandis* (Mann Whitney,  $U = 360$ ,  $p = 0.350$ ). Mientras que en el 2004 este rango varió entre 162 - 1841 para la hormiga invasora y 88 – 1015 para la hormiga nativa ( $U = 245$   $p = 0.05$ ). Estas diferencias del número de ramitas observadas entre años se debió a un cambio en la metodología de trabajo (ver materiales y métodos).

En el 2003 el número de áfidos por colonia varió de 5 a 43 individuos mientras que en el 2004 este rango se incrementó hasta 60 individuos.

En ambos años, la abundancia total de áfidos no difirió entre encinas colonizadas por *L. neglectus* o *L. grandis* (ANOVA,  $F_{1, 46} = 0.116$ ,  $p = 0.735$  para el 2003,  $F_{1, 39} = 1.846$ ,  $p = 0.182$  para el 2004) pero varió estacionalmente (ANOVA,  $F_{5, 46} = 3.38$ ,  $p = 0.011$  para el 2003,  $F_{5, 39} = 6.190$ ,  $p = 0.0026$  para el 2004) (Tabla 4 y 5).

Muestreo	LN	HN
29 Mayo	5.6 ± 8.7	0.2 ± 0.4
20 Junio	45.0 ± 43.8	-
10 Julio	8.2 ± 8.1	95.0 ± 143.2
13 Agosto	2.5 ± 5.0	0.7 ± 1.2
4 Septiembre	0	1.8 ± 2.2
24 Septiembre	2.2 ± 3.0	5.0 ± 5.9
21 Octubre	12.3 ± 20.5	62.8 ± 106.3
<b>Media anual</b>	<b>5.21 ± 9.03</b>	<b>10.33 ± 25.14</b>

Tabla 4. Media y desviación estándar de la abundancia de *L. roboris* por árbol durante el 2003, en encinas colonizadas por *L. neglectus* (LN) y hormigas nativas (HL), en su mayoría *L. grandis*. Debido a un error de muestreo no figuran datos del 20 de Junio de las encinas con hormigas nativas, por ende los datos de Junio, de las encinas con *L. neglectus*, no fueron incluido en los análisis estadísticos.

Muestreo	LN	LG
22 Junio	118.8 ± 10.6	84.0 ± 36.7
13 Julio	320.2 ± 291.1	157.8 ± 134.9
5 Agosto	98.0 ± 73.0	76.0 ± 86.4
6 Septiembre	6.6 ± 6.1	21.8 ± 34.3
7 Octubre	38.6 ± 34.1	31.7 ± 40.1
23 Octubre	28.7 ± 30.1	30.3 ± 35.9
<b>Media anual</b>	<b>101.61 ± 173</b>	<b>59.87 ± 86.96</b>

Tabla 5. Media y desviación estándar de la abundancia de *L. roboris* por árbol durante el 2004, en encinas colonizadas por *L. neglectus* (LN) y *L. grandis* (LG). El muestreo de Mayo no fue considerado en los análisis porque los áfidos encontrados no eran *L. roboris* y tampoco eran atendidos por las hormigas.

En ambos años, la abundancia de adultos no difirió en encinas colonizadas por la hormiga invasora ( $3.79 \pm 7.74$  para el 2003 y  $96.14 \pm 164.56$  para el 2004, media anual  $\pm$  desvío estándar) o por la nativa ( $10.23 \pm 25.09$  para el 2003 y  $57.48 \pm 83.36$  para el 2004) (ANOVA,  $F_{1, 46} = 0.606$ ,  $p = 0.440$  para el 2003,  $F_{1, 39} = 1.532$ ,  $p = 0.223$  para el 2004) y varió mensualmente (ANOVA,  $F = 3.789$ ,  $p = 0.006$  para el 2003,  $F_{5, 39} = 5.157$ ,  $p = 0.0001$  para el 2004).

La abundancia de alados, en ambos años, fue significativamente mayor en encinas colonizadas por *L. neglectus* que encinas colonizadas por *L. grandis* (ANOVA,  $F_{1,46} = 4.18$ ,  $p = 0.047$  para el 2003,  $F_{1,39} = 4.49$ ,  $p = 0.041$  para el 2004) (Tabla 6 a y b).

a

Muestreo	LN	HN
29 Mayo	6 ± 10.68	0.2 ± 0.45
20 Junio	0.83 ± 0.75	-
10 Julio	1.33 ± 0.82	0.33 ± 0.52
13 Agosto	0	0
4 Septiembre	0	0
24 Septiembre	0.2 ± 0.45	0
21 Octubre	0.33 ± 0.58	0
<b>Media anual</b>	<b>1.43 ± 4.69</b>	<b>0.10 ± 0.31</b>

b

Muestreo	LN	LG
22 Junio	1.75 ± 1.26	2.00 ± 2.00
13 Julio	21.67 ± 11.41	8.40 ± 7.60
5 Agosto	1.3 ± 1.0	0.40 ± 0.55
6 Septiembre	0	0.50 ± 0.58
7 Octubre	0.8 ± 1.0	0.67 ± 0.58
23 Octubre	2.0 ± 2.0	0.33 ± 0.58
<b>Media anual</b>	<b>5.5 ± 9.96</b>	<b>2.39 ± 4.67</b>

Tabla 6. Media y desviación estándar de la abundancia de alados de *L. roboris* por árbol durante el 2003 a) y 2004 b). LN: encinas colonizadas por *L. neglectus*, HN: encinas colonizadas por hormigas nativas, en su mayoría *L. grandis* y LG: encinas colonizadas por *L. grandis*.

El flujo de obreras se correlacionó significativamente, para *L. neglectus* (Spearman,  $r^2 = 0,60$ ,  $p < 0,05$ ) y para *L. grandis* (Spearman,  $r^2 = 0,70$ ,  $p < 0,05$ ) con la abundancia de áfidos.

### 3.4 Porcentaje de infestación

El porcentaje de infestación no difirió según la especie de hormiga que atendiera al áfido *L. roboris* (ANOVA,  $F = 0.23$ ,  $p = 0.634$  para el 2003 y  $F = 2.37$ ,  $p = 0.133$  para el 2004). Aunque entre los meses sí existió una diferencia significativa (ANOVA,  $F = 2.67$ ,  $p = 0.034$  para el 2003 y  $F = 3.395$ ,  $p = 0.014$  para el 2004) (Tabla 7 y Fig 12). No se compararon los

porcentajes de infestación entre años porque la metodología empleada en cada año para su infestación fue distinta (ver materiales y métodos).

Muestreo	LN	HN
29 Mayo	0.081 ± 0.079	0.016 ± 0.035
20 Junio	0.273 ± 0.370	-
10 Julio	0.078 ± 0.114	0.041 ± 0.044
13 Agosto	0.023 ± 0.047	0.001 ± 0.001
4 Septiembre	0.002 ± 0.004	0.003 ± 0.003
24 Septiembre	0.010 ± 0.018	0.036 ± 0.029
21 Octubre	0.001 ± 0.002	0.030 ± 0.029
<b>Media</b>	<b>0.033 ± 0.037</b>	<b>0.021 ± 0.017</b>

Tabla 7. Media y desviación estándar del porcentaje de infestación por árbol con *L. roboris* durante el 2003, en encinas colonizadas por *L. neglectus* (LN) y hormigas nativas (HN), en su mayoría *L. grandis*. Debido a un error de muestreo no figuran datos del 20 de Junio de las encinas con hormigas nativas, por ende los datos de Junio, de las encinas con *L. neglectus*, no fueron incluido en los análisis estadísticos.

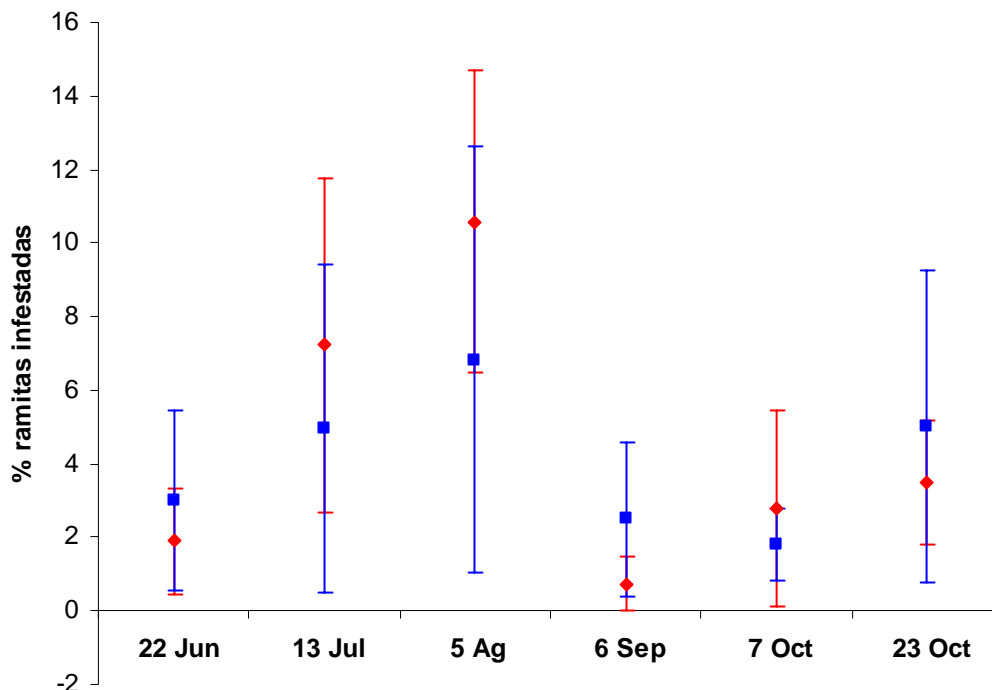


Fig 12. Media y desviación estándar del porcentaje por árbol de ramitas terminales infestadas en encinas colonizadas por *L. neglectus* (rojo) y encinas colonizadas por *L. grandis* (azul) durante el 2004.

### 3.5 Intensidad de atención hacia *L. roboris* y colonias atendidas

Los siguientes resultados pertenecen solo al año 2004 ya que en el 2003 no se estimó la intensidad de atención ni el número de colonias desatendidas.

La intensidad de atención, definido como la relación entre la biomasa de hormigas y la biomasa de áfidos, difirió significativamente entre especies de hormigas (ANOVA,  $F_{1, 30} = 7.121$ ,  $p = 0.012$ ). En Junio ambas especies de hormigas evidenciaron una misma intensidad de atención hacia el áfido pero al disminuir la abundancia de áfidos durante los meses de Agosto y Septiembre, la intensidad de atención de *L. neglectus* se incrementó significativamente (Tukey,  $p < 0.05$ ) alcanzando en esos meses sus valores máximos de atención (Fig 14).

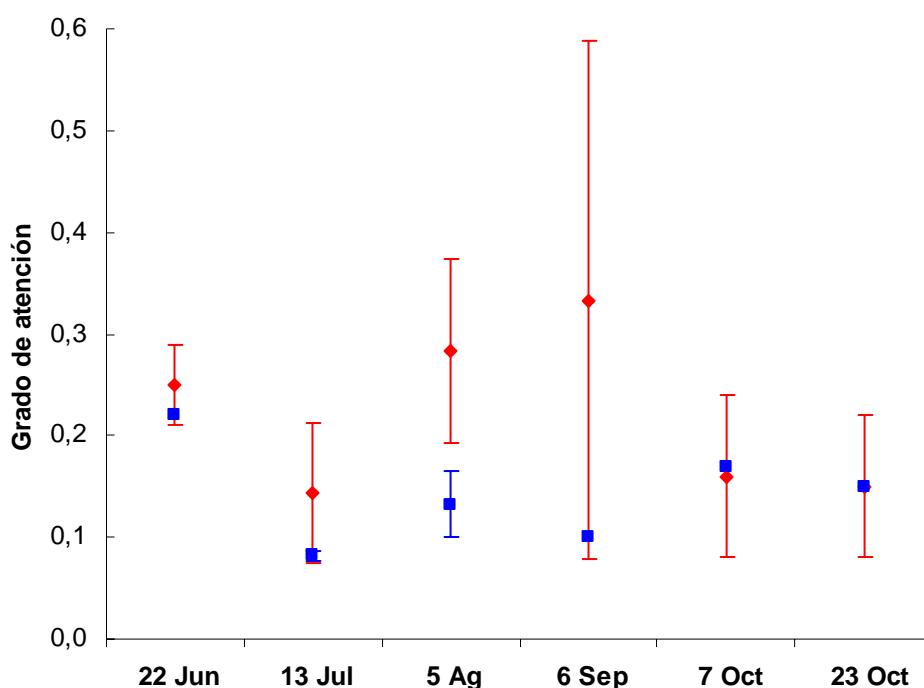


Fig 14. Media y desviación estándar de la intensidad de atención (biomasa de obreras /biomasa de áfidos en la colonia) de *Lasius neglectus*, en rojo, y de *Lasius grandis*, en azul, entre Junio y Octubre. Algunas medias de *L. grandis* no poseen su desvío estándar porque en ese muestreo no se encontraron áfidos o porque los áfidos no estaban atendidos.

El número de colonias sin atender fue significativamente mayor en el caso de las encinas colonizadas por la hormiga nativa *L. grandis* ( $22.94 \pm 4.65$ ) respecto de las encinas colonizadas por *L. neglectus* ( $9.87 \pm 3.91$ ) (ANOVA,  $F_{1, 26} = 7.33$ ,  $p = 0.012$ . Esto ocurrió a pesar que la media anual de colonias en encinas con la hormiga local tendió a ser menor (9,9

$\pm 7,9$ ) respecto de la media anual de colonias en encinas colonizadas por *L. neglectus* ( $17,1 \pm 17,5$ ) (ANOVA,  $F_{1,39} = 0,808$ ,  $p = 0,374$ ).

No se puede asegurar que las colonias no atendidas al momento de ser observadas nunca fueron atendidas. Pero, en la mayoría de los casos fue evidente que las colonias llevaban varias horas sin ser atendidas o incluso días, por la cantidad de gotas de melaza pegada en las hojas aledañas a los áfidos (Fig 13).



Fig 13. Melaza y exhubias de *L. roboris* depositadas sobre una hoja de encina donde se encontraba una colonia que no fue atendida por varios días.

### 3.6 Ubicación de las colonias

La ubicación de las colonias de áfidos durante el período de actividad de las hormigas en encinas colonizadas por una u otra especie de hormiga fue exactamente la misma (Tabla 10). En Junio las colonias se ubicaron preferentemente sobre los tallos del año anterior mientras que en Julio se distribuyeron entre los tallos del año anterior, los tallos jóvenes aparecidos en el 2004 y en mayor proporción sobre el pecíolo de las bellotas. A partir de Agosto hasta Octubre las colonias se ubicaron mayoritariamente sobre los pecíolos de las bellotas; aunque en Octubre un cierto porcentaje volvió a ubicarse en los tallos.

	%TJ		%TV		%PB		%B	
	LN	LG	LN	LG	LN	LG	LN	LG
22 Junio	13.56	0	42.33	89.33	18.95	10.7	12.66	0
13 Julio	18.73	4.38	5.24	0.95	72.36	94.7	3.68	0
5 Agosto	1.07	1.81	0.00	0	93.34	91.2	5.59	7.00
6 Septiembre	0.00	1.15	0.00	0	100.00	98.9	0.00	0
7 Octubre	29.43	17.75	0.45	0	70.11	48.5	0.00	33.8
23 Octubre	12.40	0	14.21	0	73.39	100	0.00	0

Tabla 10. Porcentaje de colonias ubicadas en los tallos del año 2004 (% TJ), en los tallos del año anterior (% TV), en los pecíolos de las bellotas (% PB) y sobre la cápside de las bellotas (% B) en encinas colonizadas por *Lasius neglectus* (LN) o por *Lasius grandis* (LG).

### 3.7 Calidad y producción de las bellotas

En Diciembre del 2003 el porcentaje de bellotas perdidas no difirió entre encinas colonizadas por distintas especies de hormigas (Mann - Whitney,  $U = 15$ ,  $p = 0.699$ ). En encinas colonizadas por *L. neglectus* se perdieron entre 85 – 100 % de las bellotas producidas mientras que en las encinas colonizadas por hormigas nativas (principalmente *L. grandis*) no llegaron a madurar entre 81 – 100 %.

El porcentaje de ácido palmítico, estéarico oleico, vaccénico y linoleico de las bellotas provenientes de encinas colonizadas por *L. neglectus* no difirió significativamente de las encinas colonizadas por hormigas nativas ( $U = 12$ ,  $p = 0.128$ ,  $U = p = 0.382$ ,  $U = 12$ ,  $p = 0.128$ ,  $U = 18.5$   $p = 0.455$ ,  $U = 15$ ,  $p = 0.259$ , respectivamente). Sin embargo, el porcentaje de ácido linolénico fue significativamente mayor en las bellotas de encinas con *L. neglectus* ( $U = 7.5$ ,  $p = 0.026$ ) (Fig 15).

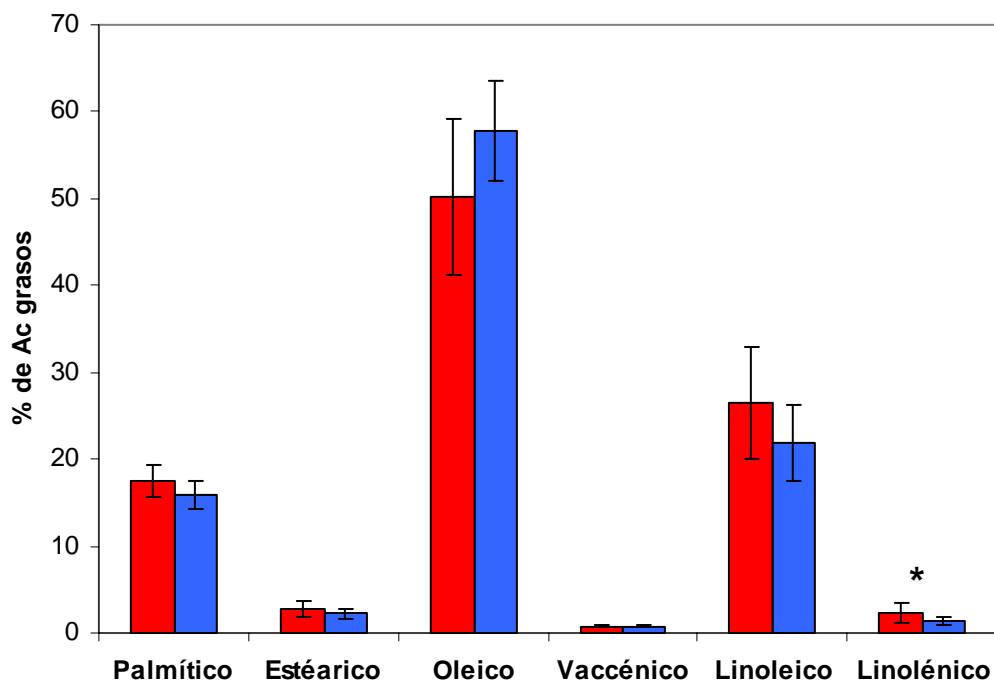


Fig 15. Media y desvío estándar del porcentaje de los distintos ácidos lipídicos encontrados en bellotas de encinas con *L. neglectus* (en rojo) y en bellotas de encinas con hormigas nativas. El asterisco indica las diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

En el 2004 (Tabla 11 a y b) tampoco existieron diferencias en el porcentaje de bellotas perdidas pertenecientes a encinas con *L. neglectus* o *L. grandis* ( $U = 20$ ,  $p = 0.565$  para Junio – Septiembre,  $U = 23$ ,  $p = 0.848$  para Septiembre – Noviembre y  $U = 24$ ,  $p = 0.949$  para Junio – Noviembre).



A

Encina	Junio	Septiembre	Noviembre	% Perd J-S	% Perd S-N	% Perd J-N
1	733	184	123	74.9	33.2	83.2
2	98	34	11	65.3	67.6	88.8
3	423	259	0	38.8	100.0	100.0
4	50	37	0	26.0	100.0	100.0
5	336	244	52	27.4	78.7	84.5
6	189	153	29	19.0	81.0	84.7
7	239	133	2	44.4	98.5	99.2
	<b>295.4 ± 232.1</b>	<b>149.1 ± 89.8</b>	<b>31.0 ± 44.9</b>	<b>42.3 ± 21.0</b>	<b>79.9 ± 24.1</b>	<b>91.5 ± 7.9</b>

B

Encina	Junio	Septiembre	Noviembre	% Perd J-S	% Perd S-N	% Perd J-N
1	301	279	5	7.3	98.2	98.3
2	224	158	68	29.5	57.0	69.6
3	266	143	16	46.2	88.8	94.0
4	532	112	8	78.9	92.9	98.5
5	338	317	152	6.2	52.1	55.0
6	132	8	0	93.9	100.0	100.0
7	37	8	0	78.4	100.0	100.0
	<b>261.4 ± 157.7</b>	<b>146.4 ± 119.9</b>	<b>35.6 ± 56.6</b>	<b>48.6 ± 35.9</b>	<b>84.1 ± 20.7</b>	<b>87.9 ± 18.1</b>

Tabla 11. Número de bellotas contadas por árbol en cada muestreo (Junio, Septiembre y Noviembre) y porcentaje de bellotas perdidas entre muestreos en encinas colonizadas por *L. neglectus* (A) y por *L. grandis* (B).

El porcentaje de emergencia fue del 89 % para las bellotas de encinas con *L. neglectus* y 87 % para las bellotas de encinas con *L. grandis*. La mayoría de las plántulas surgieron entre los 29 y 48 días siendo la media de  $47,8 \pm 13,1$  días para las bellotas de encinas con *L. neglectus* (67 % emergidas) y  $47,3 \pm 14,1$  días para las bellotas con *L. grandis* (59 % emergidas) (Fig 16).

El índice de Dickson fue de  $0,051 \pm 0,013$  para las plántulas de bellotas provenientes de encinas con *L. neglectus* y de  $0,057 \pm 0,013$  para las plántulas de bellotas provenientes de encinas con *L. grandis* y no difirió entre las encinas colonizadas por una u otra especie de hormiga (Man - Whitney,  $U = 35$ ,  $p = 0,270$ ). Para ambos casos este índice fue significativamente distinto de 1 (valor máximo que este índice puede alcanzar) (t de medias contra valor de referencia,  $p < 0,05$ ).



Fig 16. Plántulas de *Quercus ilex*.

#### 4. Discusión

Por lo general los trabajos de estimación de colecta de melaza se han centrado en la cantidad recogida por nido o por área de forrajeo (Jensen 1976, Skinner 1980). Esta metodología impide comparar los resultados obtenidos en este estudio en el cual la estimación del total de melaza colectada se realizó por árbol.

La hormiga invasora *Lasius neglectus* y la hormiga local *Lasius grandis* colectaron melaza durante todo el día. La escala temporal utilizada en este estudio no permite dilucidar claramente el patrón diario de: actividad y colecta de melaza para cada mes. Sin embargo, los resultados de un estudio sobre *Lasius neglectus*, en la localidad de Seva, donde se estimó el flujo de obreras durante 24 hs a un intervalo horario de una hora, evidenciaron que el forrajeo se mantiene durante todo el día pero que desciende marcadamente por la noche (Espadaler, Rey y Bernal en preparación). Esto hace suponer que las obreras en la localidad de Bellaterra también seguirían este patrón de actividad.

La cantidad de melaza total recolectada por la hormiga invasora, *L. neglectus*, excedió en un 164 % a la capacidad de colecta de la hormiga nativa, *L. grandis*. Esta diferencia podría ser atribuida en parte al excesivo flujo de obreras de *L. neglectus* que superó en un 669 % al flujo de *L. grandis*, sobrecompensando así la carga de melaza por obrera que, en el caso de la hormiga invasora fue un 45 % más baja respecto de la nativa. La diferencia entre la melaza colectada por *L. neglectus* y *L. grandis* no debería ser atribuida únicamente al flujo significativamente mayor de la primera, sin tener en cuenta el efecto de la atención de estas hormigas sobre la producción de melaza. Probablemente el áfido *L. roboris* al estar atendido por la hormiga invasora eleve su producción de melaza. El costo asociado a una mayor producción de melaza podría superar a los beneficios brindados por *L. neglectus* a los áfidos limitando así el incremento de la abundancia de *L. roboris*. En futuros experimentos se compararán los costos y beneficios, para *L. roboris*, asociados a la atención de cada especie de hormiga.

Los cambios mensuales de la actividad de las obreras y la carga de melaza por obrera están influenciados no sólo por las variables ambientales (Hölldober y Wilson 1990) sino también por la dinámica poblacional de los áfidos (Skinner 1980, Whittaker 1991), la existencia de fuentes alternativas de azúcares y la tasa de producción de melaza (Carroll y Janzen 1973). La correlación que existió entre el flujo de obreras, de ambas especies de hormiga, y la abundancia de áfidos junto con la variación mensual en la carga de melaza por obrera evidencian que ambas especies ajustan su actividad y carga por obrera a la producción de melaza. Estos resultados coinciden con los de Dreisig (1988), quien también obtuvo

correlaciones positivas y significativas entre el número de obreras y el número de áfidos por colonia para: *Formica pratensis*, *Myrmica rubra*, *Formica fusca*, *Lasius Níger*, *Monomorium viridum* y *Wasmannia aurupunctata*. Por otra parte, la presencia de otras especies de pulgones en los árboles aledaños a las encinas muestreadas probablemente atrajo la atención de las obreras cuando la abundancia del áfido *L. roboris* disminuyó marcadamente. De hecho, entre Abril y Octubre del 2005 se observó que *L. neglectus* varía su actividad entre las encinas, robles, pinos y olmos presentes en el campus de la Universidad. Skinner (1980) también observó que la frecuencia de obreras de *Formica rufa* varía entre los pinos, robles, fresnos y arces ubicados en la zona de forrajeo cercana a su nido.

Los resultados de estudios comparativos entre distintas especies de hormigas como mutualistas de un mismo insecto productor de melaza varía de acuerdo a la agresividad (Itioka e Inoue, 1999), el tamaño corporal (Bristow 1984), la abundancia y patrón de forrajeo de las hormigas (Katayama y Suzuki, 2003). Bristow (1984), encontró que las obreras de *Tapinoma sessile*, más pequeñas y abundantes, incrementaban significativamente la supervivencia de las colonias de *Aphis vernoniae* pero no su abundancia, en comparación con el efecto de *Myrmica* sp, más grandes y agresivas. La hormiga invasora *L. neglectus* es más pequeña y numerosa mientras que la hormiga local *L. grandis*, más grande y menos abundante. En la localidad de Bellaterra, la interacción de ambas especies de hormiga con el áfido *Lachnus roboris* no incrementó significativamente su abundancia anual, aunque tendió a ser mayor en encinas colonizadas por la hormiga invasora *L. neglectus*. Este resultado no debe ser considerado como una generalidad para *L. neglectus* porque en la localidad de Seva la presencia de esta hormiga invasora sí incrementó la abundancia anual de áfidos en las encinas colonizadas (Rey y Espadaler, sin publicar).

Al discriminar la abundancia del áfido *L. roboris* entre ápteros y alados se obtuvo que en las encinas colonizadas por *Lasius neglectus* la abundancia de alados fue mayor. De esta manera, se incrementaría la dispersión de *L. roboris* a encinas aledañas aumentando así el número de encinas colonizadas por este áfido y por ende el suministro de melaza en zonas colonizadas por la hormiga invasora. Usualmente el número de alados suele incrementarse como respuesta a la disminución de la calidad de la planta, el aumento de la densidad de individuos por colonia y como mecanismo de escape ante la presencia de predadores y parasitoides (Müller *et al.* 2001). Contrariamente la presencia de hormigas puede no inducir ningún cambio en la producción de alados (Stadler y Dixon 1998) o incluso disminuye su producción (Kleinjan and Mittler 1975, Seibert 1992). El número de individuos por colonia fue similar en encinas colonizadas por *L. neglectus* o por *L. grandis* (áfidos/colonia, LN:

$11.10 \pm 1.08$ , LG:  $10.21 \pm 1.28$ ,  $F_{1, 26} = 0.40$ ,  $p = 0.532$ ). Esto hace suponer que el aumento de alados en las encinas colonizadas por *L. neglectus* estaría relacionado con una disminución en la calidad de la planta y con una menor capacidad de defender los áfidos contra sus predadores y parasitoides.

Un cierto porcentaje de colonias permanecieron sin atender en ambos tipos de encinas. Algunos estudios reportan que las hormigas no recogen toda la melaza que se produce dejando aproximadamente un tercio depositada sobre hojas, plantas y suelo (Degen *et al.* 1986, Wellestein 1980). Esto también ocurre en el caso de los áfidos mirmecófilos obligados como ser *Symydobius oblongus* y *Metapeurum fuscoviridae* que pueden estar desatendidos en un 25 % de las ocasiones observadas durante el periodo de actividad de las hormigas (Stadler 2004 y Stadler y Dixon 1999). El número de colonias desatendidas por *L. grandis*, la hormiga local, fue significativamente más alto que el desatendido por la hormiga invasora *L. neglectus*. Evidentemente esta diferencia podría deberse al elevado número de obreras de *L. neglectus* que posibilita a las exploradoras visitar en un mismo período de tiempo más ramas terminales aumentando así la probabilidad de encontrar nuevas colonias y posteriormente reclutar obreras que atiendan esas colonias. La posibilidad de atender más colonias en un mismo lapso de tiempo evidentemente incrementara la cantidad de melaza colectada por tiempo.

Los bajos porcentajes de infestación de ramas terminales indican que *L. roboris* no es un áfido muy abundante en las encinas. A pesar de ello es ampliamente atendido por diferentes especies de hormigas (ver apartado 2.7) probablemente debido a la calidad de su melaza que contiene un alto porcentaje de melozitosa (46 %).

Las hormigas que colectan hidratos de carbono suelen incluir en su dieta un cierto porcentaje de proteínas ya que las necesidades energéticas de una colonia varían en el tiempo (Pontin 1978, Buckley 1987). La hormiga local, *L. grandis*, predó significativamente más insectos que *L. neglectus*. En algunas ocasiones se observó un rango de tamaños de insectos predados superior al de la hormiga invasora (*obs pers*). Probablemente el mayor tamaño corporal de la hormiga local incrementa sus posibilidades en el momento de capturar insectos. Los máximos porcentajes de predación observados en este estudio se encuentran dentro de los valores registrados para otras especies: *Formica pratensis* 10% (Jensen 1976), *Formica rufa* 36% (Skinner 1980) y < 1% *Camponotus pennsylvanicus* (Cannon y Fell 2002). En este estudio, el método utilizado para estimar el porcentaje de insectos capturados puede haber subestimado el resultado final ya que Cannon y Fell (2002) demostraron que algunos insectos son transportados predigeridos en el buche de las hormigas.

Ambas especies, evidenciaron la misma dinámica de predación durante su período de actividad, con valores máximos en Mayo cuando se realiza la puesta de sexuales y las demandas de proteínas son mayores. Ambas especies prefirieron a los pscópteros junto con los áfidos fueron las presas más abundantes. La especie de áfido más capturada fue *Hoplocallis picta* que ocasionalmente fue atendido por las especies de hormigas cuando la abundancia de *L. roboris* decreció hacia finales del verano. Sólo en el 2004, cuando la abundancia de *L. roboris* aumentó respecto de año anterior se encontraron dos obreras llevando *L. roboris* como presa. Este balance entre la predación y la atención depende de la especie de áfido presente y la densidad del mismo y fue observada también para *Lasius niger* cuando atiende a *Aphis fabae* (Offenberg 2001).

A pesar que el áfido *L. roboris* se alimentó preferentemente de las bellotas no existieron diferencias evidentes de la calidad o cantidad de bellotas en encinas colonizadas por una u otra especie de hormiga. La única excepción fue el contenido de ácido linolénico. Dicho compuesto fue significativamente mayor en las bellotas que provenían de encinas colonizadas por la hormiga invasora. El ácido linolénico suele incrementarse en las plantas con stress y es un precursor del ácido jasmónico que aparece como respuesta a los áfidos que se alimentan de la planta (Gatehouse 2002). Sin embargo, en una situación de campo son múltiples los factores de stress a los cuales se encuentran sometidas las plantas y no se puede vincular el incremento del ácido linolénico directamente a la presencia de los áfidos sobre las bellotas o indirectamente a la atención de la hormiga invasora sin haber manipulado previamente su densidad y corroborar luego el efecto sobre las bellotas.

La producción de bellotas es afectada por múltiples factores bióticos y abióticos (Rodà *et al.* 1999) y tiene un grado de variabilidad entre individuos y entre años tan elevado (Abrahamson y Layne 2003) que complica relacionar la variación en la pérdida de bellotas con los efectos de áfidos. Ito e Higashi (1991), demostraron que la producción de bellotas en *Quercus dentata* con o sin *Formica yessensis* fue la misma pero, cuando la hormiga estaba presente el porcentaje de bellotas infestadas con larvas de Curculiónidos descendió significativamente incrementándose así la eficacia biológica de este árbol. Este efecto de las hormigas sobre la proporción de bellotas infestadas se debió a la predación de las larvas de Curculiónido cuando éstas se mudaban a otra bellota para continuar su desarrollo. Esta mudanza no la realizan las larvas de insectos que infestan las bellotas de la encina; descartándose así un efecto similar al encontrado por Ito e Higashi (1991). Las bellotas utilizadas para el test de germinación fueron seleccionadas previamente, utilizándose solamente las bellotas que no mostraban signos de haber sido atacadas por insectos u hongos.

Por este motivo el daño provocado por los insectos en las bellotas probablemente haya sido enmascarado.

El defasaje temporal que existió en ambos años entre el pico máximo de áfidos (Junio o Julio) y el momento del año en el cual las bellotas comienzan a incrementar su tamaño (Septiembre a Diciembre) podría ser la causa por la cual los áfidos no afectaron negativamente la producción o calidad de las bellotas.

## 5 Conclusiones

Las conclusiones relacionadas con los objetivos particulares de este estudio son las siguientes:

- La hormiga invasora *L. neglectus* colecta, por encina, más del doble de melaza respecto de la colectada por la hormiga nativa *L. grandis*.
- El patrón de actividad de ambas especies abarca las 24 hs del día. *L. neglectus* tiene un flujo de obreras 7 veces superior pero la carga de melaza por obrera es la mitad comparada con *L. grandis*.
- La abundancia de *Lachnus roboris* no es incrementada por la presencia de *L. neglectus* aunque sí se observó un incremento de alados
- No se detectó una diferencia en el porcentaje de bellotas perdidas, en la emergencia o vigor de las plántulas. Solamente el contenido de ácido linolénico fue significativamente mayor en las encinas colonizadas por *L. neglectus*.
- Ambas especies tienen un máximo de predación al inicio del período de actividad siendo *L. grandis* una mayor predadora. En su mayoría los insectos capturados fueron Psocopteros y áfidos no atendidos aunque se registraron algunos *L. roboris* en el 2004



## Anexo I

<b>Especies de árbol ocupadas por <i>Lasius neglectus</i> en España</b>
<i>Abies</i> sp.
<i>Acer artropurpureum</i> L.
<i>Acer negundo</i> L.
<i>Ailanthus altissima</i> (Mill.) Swingle
<i>Catalpa</i> sp.
<i>Cedrus libani</i> A.Richard.
<i>Cedrus</i> sp.
<i>Citrus limon</i> (L.) Burm.
<i>Corylus avellana</i> L.
<i>Cupressus glabra</i> Sudw.
<i>Cupressus</i> sp.
<i>Phyllostachis</i> sp.
<i>Pinus halepensis</i> Mill.
<i>Pinus pinea</i> L.
<i>Pinus silvestris</i> L.
<i>Platanus x hispanica</i> Muenchh.
<i>Populus tremula</i> L.
<i>Populus alba</i> L.
<i>Prunus</i> sp.
<i>Pyracantha</i> sp.
<i>Quercus ilex</i> L.
<i>Quercus pubescens</i> Willd.
<i>Quercus suber</i> L.
<i>Salix alba</i> L.
<i>Salix babylonica</i> Rehd.
<i>Ulmus</i> sp.

## Anexo II

Reemplazos de encinas colonizadas por *L. neglectus* realizados en el 2003 para estimar la colecta de melaza

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	13	14	17
may-05	X	X	X		X	X	X					
may-26	X	X	X		X		X			X		
jun-10	X	X	X				X			X	X	
jul-07	X	X	X				X			X	X	
jul-22	X							X	X	X	X	X
ago-04	X				X				X	X	X	
ago-20	X				X			X	X	X	X	
sep-16	X			X	X				X	X	X	
oct-10	X				X		X		X	X	X	
oct-24	X				X		X		X	X	X	

La X simboliza cuales réplicas fueron incluidas en cada muestreo. Sólo la encina 1 fue incluida en todos los muestreos.

Reemplazos de encinas colonizadas por (a) *L. neglectus* y (b) *L. grandis* realizados en el 2004 para estimar la colecta de melaza

a

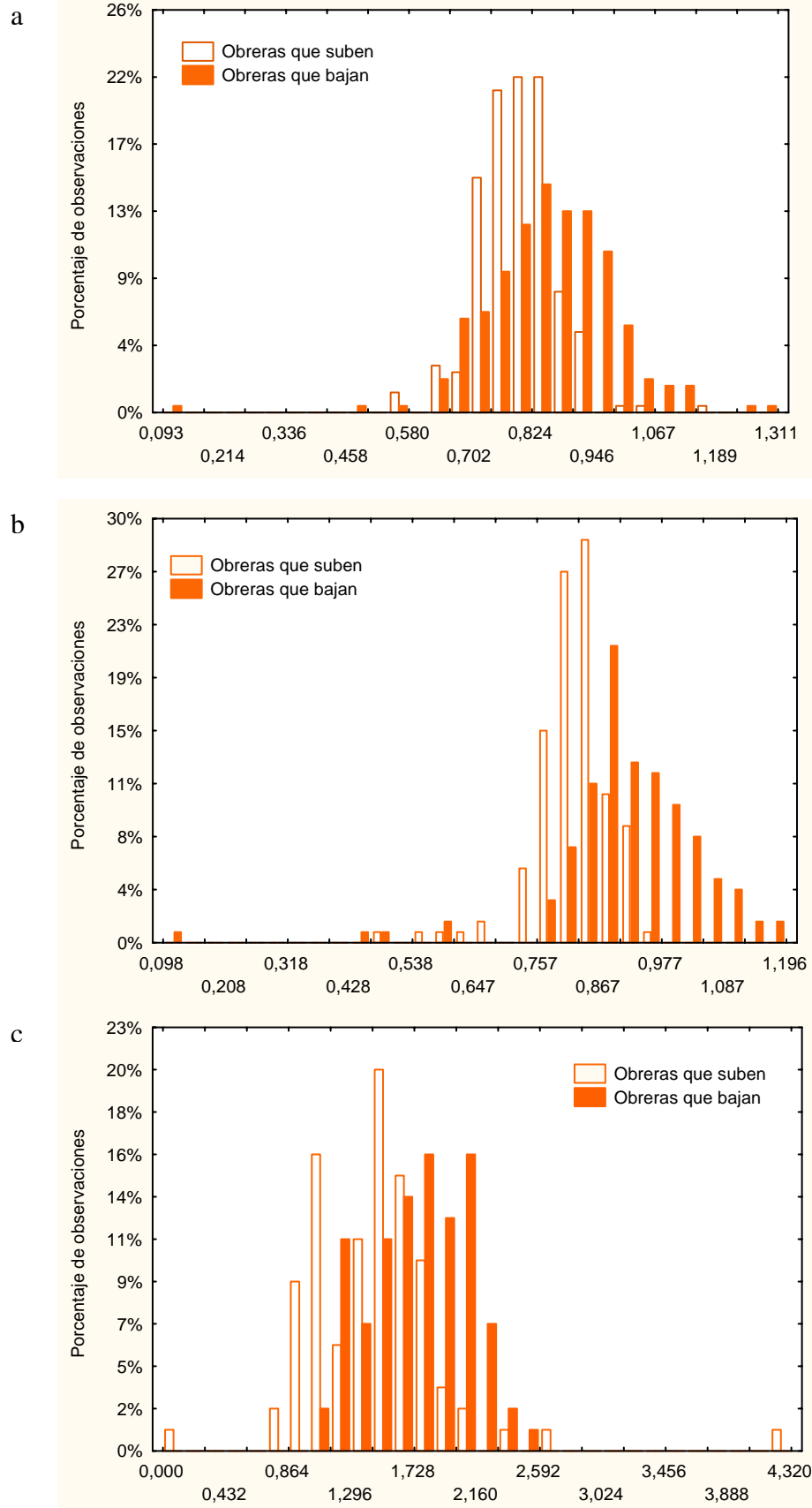
	1	2	3	5	8	9	13	14
20-may	X		X	X	X	X		X
25-jun	X		X	X	X	X	X	
28-jul	X		X	X	X	X	X	
25-ago	X	X			X	X	X	X
24-sep	X	X		X	X	X		X
19-oct	X	X				X		X

b

	2	3	4	8	18	19	15
20-may	X	X			X	X	
25-jun	X	X	X	X	X	X	
28-jul	X	X		X		X	
25-ago	X	X				X	
24-sep	X	X					
19-oct	X	X		X			X

La X simboliza cuales réplicas fueron incluidas en cada muestreo.

### Anexo III



Distribución de los pesos de las obreras de a) *L. neglectus* del 2003, b) *L. neglectus* 2004 y c) *L. grandis* 2004 que suben y bajan de las encinas durante 24 hs.

## Anexo IV

Media y desviación estándar de a) la tasa de colecta, b) la melaza colectada por obrera y c) el flujo de obreras por minuto de *L. neglectus* en los muestreos de 2003. Los asteriscos indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) según el test de Friedman.

a

Hora	14 Mayo	26 Mayo *	10 Junio	3 Julio	22 Julio *	4 Agosto	20 Agosto	16 Septiembre	3 Octubre	24 Octubre
6	2.20 ± 1.06	4.74 ± 4.86	18.76 ± 8.82	4.53 ± 4.13	15.19 ± 13.99	4.09 ± 4.52	0.81 ± 1.05	2.74 ± 1.40	4.30 ± 2.33	1.69 ± 1.45
11	11.48 ± 18.93	10.87 ± 8.09	3.98 ± 3.17	4.79 ± 10.42	2.05 ± 3.74	1.66 ± 2.28	1.89 ± 2.71	1.96 ± 1.96	3.45 ± 5.92	0.83 ± 0.69
17	4.27 ± 2.81	10.52 ± 3.72	11.04 ± 8.15	4.09 ± 5.69	7.95 ± 10.90	1.80 ± 3.20	1.06 ± 1.01	2.45 ± 3.78	2.08 ± 2.26	0.64 ± 0.60
23	1.01 ± 1.65	7.85 ± 3.97	7.97 ± 6.34	7.54 ± 12.21	0.01 ± 0.01	2.86 ± 4.14	0.72 ± 1.54	0.86 ± 1.48	6.51 ± 9.46	2.53 ± 2.42

b

Hora	14 Mayo	26 Mayo	10 Junio	3 Julio	22 Julio *	4 Agosto	20 Agosto	16 Septiembre	3 Octubre	24 Octubre
6	0.064 ± 0.034	0.138 ± 0.123	0.138 ± 0.062	0.090 ± 0.037	0.170 ± 0.075	0.061 ± 0.037	0.034 ± 0.047	0.088 ± 0.054	0.129 ± 0.054	0.114 ± 0.073
11	0.121 ± 0.127	0.198 ± 0.143	0.048 ± 0.031	0.044 ± 0.070	0.034 ± 0.045	0.027 ± 0.034	0.039 ± 0.040	0.054 ± 0.041	0.079 ± 0.086	0.076 ± 0.071
17	0.107 ± 0.052	0.184 ± 0.076	0.083 ± 0.089	0.068 ± 0.095	0.083 ± 0.081	0.018 ± 0.026	0.031 ± 0.043	0.041 ± 0.044	0.053 ± 0.049	0.041 ± 0.031
23	0.023 ± 0.038	0.198 ± 0.088	0.055 ± 0.035	0.072 ± 0.077	0	0.055 ± 0.050	0.011 ± 0.024	0.036 ± 0.062	0.102 ± 0.105	0.108 ± 0.053

c

Hora	14 Mayo	26 Mayo *	10 Junio	3 Julio	22 Julio	4 Agosto *	20 Agosto *	16 Septiembre	3 Octubre	24 Octubre
6	36.78 ± 18.62	32.92 ± 12.88	140.81 ± 64.85	47.7 ± 36.33	100.1 ± 77.25	68.84 ± 26.68	41.5 ± 21.34	33.7 ± 13.4	33.5 ± 19.5	13.7 ± 9.7
11	64.58 ± 47.08	54.67 ± 15.60	141.25 ± 92.79	50.77 ± 45.83	66.7 ± 44.45	41.9 ± 65.67	51.4 ± 32.18	33.3 ± 19.1	38.5 ± 24.6	12.0 ± 7.8
17	43.02 ± 28.48	60.48 ± 14.30	158.58 ± 68.72	46.2 ± 34.36	103.42 ± 81.19	89.96 ± 30.31	79.9 ± 52.34	38.2 ± 26.2	36.6 ± 22.6	15.2 ± 4.1
23	36.36 ± 14.16	39.24 ± 12.03	142.63 ± 37.94	38.2 ± 47.50	46.6 ± 23.86	53.55 ± 43.34	40.2 ± 21.65	24.4 ± 12.9	31.9 ± 25.1	17.1 ± 9.2

Media y desviación estándar de a) la tasa de colecta, b) la melaza colectada por obrera y c) el flujo de obreras por minuto de *L. neglectus* en los muestreos de 2004. Los asteriscos indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) según el test de Friedman.

a

Hora	Mayo *	Junio *	Julio *	Ag	Sep	Oct
6	12.94 ± 2.83	18.50 ± 20.35	45.16 ± 27.40	4.126 ± 4.774	1.935 ± 1.917	2.106 ± 2.395
11	1.58 ± 1.34	0	49.35 ± 40.46	9.403 ± 4.821	5.338 ± 10.830	2.647 ± 3.845
17	8.83 ± 19.37	13.19 ± 10.36	20.41 ± 25.92	7.220 ± 5.820	5.634 ± 5.552	7.045 ± 10.526
23	15.63 ± 14.05	5.86 ± 9.74	20.14 ± 12.37	8.533 ± 8.449	3.960 ± 3.644	4.658 ± 6.043

b

Hora	Mayo *	Junio *	Julio *	Ag	Sep	Oct
6	0.05 ± 0.06	0.10 ± 0.07	0.15 ± 0.06	0.087 ± 0.080	0.081 ± 0.050	0.013 ± 0.141
11	0.07 ± 0.12	0	0.16 ± 0.08	0.113 ± 0.058	0.060 ± 0.083	0.087 ± 0.083
17	0.21 ± 0.11	0.10 ± 0.05	0.07 ± 0.06	0.110 ± 0.088	0.117 ± 0.073	0.172 ± 0.135
23	0.19 ± 0.11	0.03 ± 0.05	0.09 ± 0.03	0.126 ± 0.068	0.066 ± 0.041	0.104 ± 0.100

c

Hora	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Sep	Oct
6	79.05 ± 32.42	164.36 ± 80.45	373.53 ± 373.05	61.21 ± 36.26	25.73 ± 15.22	21.53 ± 9.04
11	41.07 ± 34.09	181.45 ± 142.40	384.08 ± 359.30	99.30 ± 47.75	49.54 ± 47.85	22.30 ± 13.70
17	55.32 ± 56.89	145.17 ± 75.87	435.42 ± 453.51	78.68 ± 55.63	39.28 ± 24.61	29.00 ± 23.28
23	72.37 ± 43.94	128.30 ± 61.71	233.40 ± 110.15	58.88 ± 47.47	77.97 ± 65.04	30.24 ± 22.02

Media y desviación estándar de a) la tasa de colecta, b) la melaza colectada por obrera y c) el flujo de obreras por minuto de *L. grandis* en los muestreos de 2004. Los asteriscos indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) según el test de Friedman.

a

Hora	Mayo	Junio	Julio	Ag	Sep	Oct
6	5.44 ± 8.11	3.04 ± 3.18	11.20 ± 4.82	1.163 ± 2.014	0.00	1.385 ± 0.761
11	6.16 ± 8.47	2.19 ± 1.49	7.36 ± 5.51	1.501 ± 0.992	3.643	1.822 ± 0.527
17	1.97 ± 2.28	6.70 ± 7.93	10.17 ± 8.37	2.170 ± 1.123	3.088	2.173 ± 1.559
23	0.85 ± 1.03	17.35 ± 18.60	11.97 ± 5.85	3.502 ± 4.036	3.832	2.238 ± 2.216

b

Hora	Mayo	Junio	Julio	Ag	Sep	Oct
6	0.37 ± 0.30	0.25 ± 0.17	0.36 ± 0.28	0.054 ± 0.094	0	0.376 ± 0.243
11	0.14 ± 0.20	0.37 ± 0.18	0.32 ± 0.16	0.154 ± 0.150	0.47	0.358 ± 0.050
17	0.07 ± 0.06	0.83 ± 0.83	0.44 ± 0.09	0.232 ± 0.117	0.57	0.371 ± 0.345
23	0.52 ± 0.59	0.24 ± 0.23	0.48 ± 0.04	0.245 ± 0.215	0.53	0.309 ± 0.256

c

Hora	Mayo *	Junio *	Julio	Ag	Sep	Oct
6	7.75 ± 3.66	22.67 ± 20.59	22.88 ± 8.83	13.50 ± 8.5	0.00	4.67 ± 2.57
11	14.31 ± 10.77	15.75 ± 13.83	22.88 ± 10.70	11.67 ± 5.20	9.50	5.25 ± 2.18
17	15.25 ± 10.51	19.02 ± 16.32	31.13 ± 21.28	10.17 ± 5.03	6.50	6.63 ± 4.33
23	12.17 ± 8.95	23.83 ± 17.08	26.75 ± 10.14	14.00 ± 10.21	7.50	5.69 ± 3.08

## Anexo V

Año 2003. Temperatura media de cada muestreo horario y media diaria durante los muestreos de melaza

Fecha/Hora	14-may	26-may	10-jun	03-jul	22-jul	04-ago	20-ago	16-sep	03-oct	24-oct
6	14.1 ± 0.6	11.1 ± 1.1	17.4 ± 1.6	19.0 ± 1.1	24.2 ± 0.5	20 ± 1.0	21.5 ± 0.6	13.0 ± 1.6	17.7 ± 0.9	8.7 ± 0.6
11	18.2 ± 0.5	16.8 ± 0.9	26.2 ± 1.3	25.7 ± 1.0	31.0 ± 1.0	31.8 ± 1.9	30.8 ± 1.7	22.9 ± 1.6	21.2 ± 0.4	13.2 ± 0.8
17	16.7 ± 0.8	17.8 ± 1.3	27.5 ± 1.7	24.3 ± 1.5	29.6 ± 0.5	32.1 ± 1.4	28.5 ± 1.1	22.4 ± 0.5	23.5 ± 0.6	13.4 ± 1.2
23	15.5 ± 0.8	13.7 ± 1.4	22.5 ± 0.5	22.2 ± 1.9	24.3 ± 1.6	22.2 ± 2.1	24.4 ± 1.0	16.1 ± 1.1	18.5 ± 1.0	9.2 ± 2.1
<b>Media</b>	<b>16.1 ± 1.5</b>	<b>14.8 ± 2.6</b>	<b>23.4 ± 3.9</b>	<b>22.8 ± 2.5</b>	<b>27.2 ± 3.1</b>	<b>26.5 ± 5.5</b>	<b>26.3 ± 3.6</b>	<b>18.6 ± 4.2</b>	<b>20.2 ± 2.3</b>	<b>11.1 ± 2.2</b>

Año 2004. Temperatura media de cada muestreo horario y media diaria durante los muestreos de melaza

### *Lasius neglectus*

Fecha/Hora	20-may	26-jun	28-jul	25-ago	24-sep	19-oct
6	10.8 ± 1.8	21.5 ± 1.8	22.8 ± 0.5	19.0 ± 2.1	16.1 ± 0.8	20.5 ± 1.4
11	24.0 ± 1.5	30.8 ± 0.5	28.5 ± 0.9	27.2 ± 1.0	24.6 ± 0.7	25.4 ± 0.5
17	22.9 ± 1.6	27.8 ± 0.6	29.6 ± 1.2	25.9 ± 0.7	22.2 ± 1.5	22.2 ± 1.8
23	11.8 ± 2.6	18.1 ± 1.1	22.4 ± 2.0	23.1 ± 0.8	20.2 ± 1.5	19.4 ± 0.7
<b>Media</b>	<b>17.4 ± 7.0</b>	<b>24.6 ± 5.8</b>	<b>25.8 ± 3.7</b>	<b>23.8 ± 3.6</b>	<b>20.8 ± 3.6</b>	<b>21.9 ± 2.6</b>

### *Lasius grandis*

Fecha/Hora	20-may	26-jun	28-jul	25-ago	24-sep	19-oct
6	11.8 ± 1.7	22.4 ± 0.7	23.2 ± 0.6	18.9 ± 0.3	16.1 ± 1.3	20.2 ± 1.6
11	25.4 ± 0.7	31.2 ± 1.1	30.2 ± 0.5	30.1 ± 1.7	25.0 ± 2.2	25.4 ± 0.5
17	21.0 ± 1.0	27.2 ± 0.9	29.9 ± 1.3	25.5 ± 0.7	22.7 ± 0.9	22.8 ± 2.1
23	11.3 ± 1.5	19.6 ± 1.4	22.2 ± 0.9	22.6 ± 0.1	20.5 ± 0.6	20.0 ± 0.4
<b>Media</b>	<b>17.4 ± 7.0</b>	<b>25.1 ± 5.1</b>	<b>26.3 ± 4.3</b>	<b>24.3 ± 4.7</b>	<b>21.0 ± 3.8</b>	<b>22.1 ± 2.5</b>

## Bibliografía

- Abrahamson W, Layne J, 2003. Long – term patterns of acorn production for five oak species in xeric Florida uplands. *Ecology* 84 (9): 2476 – 2492.
- Addicott J H, 1978. Competition for mutualists: aphids and ants. *Canadian Journal of Zoology*, 57: 558 – 569.
- Addicott J H, 1979. A multispecies aphid-ant association: density dependence and species-specific effects. *Canadian Journal of Zoology* 57: 558-569.
- Aslan M, Uygun N, 2005. The Aphidophagus Coccinellid (Coleoptera: Coccinellidae) Species in Kahramanmaraş, Turkey. *Turkey Journal of Zoology* 29, 1-8.
- Banks C J, 1962. Effects of ant, *Lasius niger*, on insects preying on small populations of *Aphis fabae* on bean plants. *Annals of Applied Biology* 50: 669-679.
- Banks C J, Nixon H L, 1958. Effects of ant *Lasius niger* on the feeding and excretion of the bean aphid, *Aphis fabae* Scop. *Journal of Experimental Biology* 35: 703-711.
- Boada M y Maneja R, en prensa. El patrimoni socioambiental del campus de l'Autonoma. 145 -233 pp
- Boosma J J, Brouwer A H, Van Loon A J, 1990. A new polygynous *Lasius* species (Hymenoptera: Formicidae) from central Europe. Allozymatic confirmation of species status and social structure. *Insectes Sociaux* 37: 363-375.
- Bristow C, 1984. Differential benefits from ant attendance to two species of homoptera on New York ironweed. *Journal of Animal Ecology* 53: 715-726.
- Buckley R, 1987. Ant-plant-homopteran interactions. *Advances in Ecological Research* 16: 53 – 85.
- Cannon C A, Fell R D, 2002. Patterns of macronutrient collection in the black carpenter ant, *Camponotus pennsylvanicus* (De geer) (Hymenoptera : Formicidae). *Environmental Entomology* 31: 977 – 981.
- Carpintero S, Reyes López J, Reyna L A, 2003. Impact of Argentine ants (*Linepithema humile*) on an arboreal ant community in Doñana National Park, Spain. *Biodiversity and Conservation* 14 (1): 151-163.
- Carroll C R, Janzen D H, 1973. The ecology of foraging ants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 4: 231 – 257.
- Clark D B, Guayasamin C, Pazmino O, Donoso C, Paez de Villacis Y, 1982. The trampa ant *Tasmania auropunctata*: autoecology and effects on ant diversity and distribution on Santa Cruz island, Galapagos. *Biotropica* 14: 196 – 207.



- Collins M y Leather S, 2002. Ant-mediated dispersal by the black willow aphid *Pterocomma salicis* L.; Does the ant *Lasius niger* L. judge aphid-host quality?. *Ecological entomology* 27: 238 – 241.
- Cushman J H, 1991. Host – plant mediation of insect mutualism: variable outcomes in herbivore-ant interactions. *Oikos* 61: 138 – 144.
- Cushman J H, Addicott J F, 1989. Intra- and interspecific competition for mutualism: ant as a limited and limiting resource for aphids. *Oecologia* 79: 315 – 321.
- Del Claro C, Oliveira P, 2001. Ant-Homoptera interaction: do alternative sugar sources distract tending ants? *Oikos* 68: 202 – 206.
- Degen A A, Gersani M, Avivi Y, Weisbrot N, 1986. Honeydew intake of the weaver ant *Polyrhachis simplex* (Hymenoptera: Formicidae) attending the aphid *Chaitophorus populialbae* (Homoptera: Aphididae). *Insectes Sociaux* 33 (2): 211 – 215.
- De Souza A L B, Delabie J H C, Fowler H G, 1998. *Wasmannia* spp (Hym Formicidae) and insect damages to cocoa in Brazilian farms. *Journal Applied Entomology* 122, 6, 339 – 341.
- Dreisig H, 1988. Foraging rate of ants collecting honeydew or extrafloral nectar, and some possible constrains. *Ecological Entomology* 13: 143 – 154.
- Dickson A, Leaf A L, Hosner, J F, 1960. Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. *Forestry Chronicle* 36: 10–13.
- Dungan R, Kelly D, 2003. Effect of host – tree and environmental variables on honeydew production by scale insects (*Ultracoelostoma* sp) in a high elevation *Nothofagus solandri* forest. *New Zealand Journal of Ecology* 27 (2): 169 – 177.
- Engel V, Melanie F, Wäckers F, Völkl W. Interactions between extrafloral nectaries, aphids and ants: are there competition effects between plant and homopteran sugar sources? *Oecologia* 129: 577 – 584.
- Espadaler X, Rey S, Bernal V, 2004. Queen number in a supercolony of the invasive garden ant, *Lasius neglectus*. *Insect Sociaux* 51: 232 – 238.
- Espadaler X, 1999. *Lasius neglectus* Van Loon, Boomsma & Andrésflavy, 1990 (Hymenoptera, Formicidae) a potential pest ant in Spain. *Orsis* 14: 43-46.
- Flatt T, Weisser W, 2000. The effects of mutualistic ants on aphid life history traits. *Ecology* 81: 3522-3529.
- Fischer M K, Völkl W, Schopf R, Hoffmann K H, 2002. Age-specific patterns in honeydew production and honeydew composition in the aphid *Metopeurum fuscoviride*: implications for ant-attendance. *Journal of Insect Physiology* 48: 319–326.
- Fritz R S, 1983. Ant protection of a host plant's defoliator: consequence of an ant-membracid mutualim. *Ecology* 64: 789 – 797.

- Gatehouse J, 2002. Plant resistance towards insect herbivores: a dynamic interaction. *New Phytologist* 156: 145 – 169.
- Gonzalez-Hernández H, Johnson M W, Reimer N J, 1999. Impact of *Pheidole megacephala* (F) (Hymenoptera: Formicidae) on the biological control of *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell) (Homoptera: Pseudococcidae). *Biological control* 15: 145 – 152.
- Hale B K, Bale J S, Pritchard J, G J Masters, V K Brown, 2003. Effects of host plant drought stress on the performance of the bird cherry oat aphid, *Rhopalosiphum padi* (L.): a mechanistic analysis. *Ecological Entomology* 28: 666 – 677.
- Halldórsson G, Benedikz T, Eggertsson O, Oddsdóttir E S, Óskarsson H, 2003. The impact of green spruce aphid *Elatobium abietinum* on long term growth of Sitka spruce in Iceland. *Forest Ecology and Management* 181: 281 – 287.
- Henneberry T J, Forlow Jech L, de la Torre T, Hendrix D. Cotton aphid (Homoptera : Aphididae) biology, honeydew production, sugar quality and quantity and relationships to sticky cotton. *Southwestern Entomology* 25 (3): 161 – 174.
- Holway D, Lach L, Suarez A, Tsutsui N, Case T, 2002. The causes and consequences of ant invasions. *Annual Review of Ecology and Systematics* 33: 181 – 233.
- Holt S J, 1955. On the foraging activity of the wood ant. *Animal Ecology* 24 (1): 1 -34.
- Itioka T, Inoue T, 1999. The alternation of mutualistic ant species affects the population growth of their trophobiont mealybug. *Ecography* 22, 169 – 177.
- Ito F, Higashi S, 1991. An indirect mutualism between oaks and wood ants via aphids. *Journal of Animal Ecology* 60: 463 – 470.
- Jensen T F, 1976. An energy budget for a field population of *Formica pratensis* Retz (Hymenoptera: Formicidae). *Natura Jutlandica* 20: 203 – 226.
- Katayama N, Suzuki N, 2003. Bodyguard effects for aphids of *Aphis craccivora* Koch (Homoptera: Aphididae) as related to the activity of two ant species, *Tetramorium caespitum* Linnaeus (Hymenoptera: Formicidae) and *Lasius niger* L. (Hymenoptera: Formicidae). *Applied Entomology and Zoology* 38: 427–433.
- Kleinjan J E, Mittler T E, 1975. A chemical influence of ants on wing development in aphids. *Entomologia Experientia et Applicata* 18, 384 – 388.
- Kramer P, Kozlowski T, 1960. *Physiology of trees* pp 148 - 153, 166. Mc Graw – Hill Book Company.
- Kundel H, Kloft W J, 1985. Die Honigtau – Erzeuger des Waldes. *Waldtracht und Waldhonig in der Imkerei* (eds W J Kloft and H Kunkel) pp 48 – 265. Eherenwirth, Munich.
- Lach L, 2003. Invasive ants: unwanted partners in ant-plant interactions? *Annals of the Missouri Botanical Garden* 90: 91 – 108.

- Mahdi T y Whittaker J B, 1993. Do birch trees (*Betula pendula*) grow better if foraged by wood ants?. *Journal of Animal Ecology* 62: 101 – 116.
- Mc Glynn T P, 1999. The worldwide transfer of ants: geographical distribution and ecological invasions. *Journal of Biogeography* 26: 535 – 548.
- Mc Vean R I K, Dixon A F G, 2001. The effect of plant drought-stress on populations of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*. *Ecological Entomology* 26: 440 – 443.
- Müller C, Williams I, Hardie J, 2001. The role nutrition, crowding and interspecific interactions in the development of winged aphids. *Ecological Entomology* 26, 330 – 340.
- Ness J H, Bronstein J L, 2004. The effects of invasive ants on prospective ant mutualists. *Biological Invasions* 6: 445 – 461.
- Nieto Nafría, J M, Mier Durante M P, 1998. *Hemiptera, Aphididae* I En: Fauna Ibérica vol 11 Ramos, M A *et al.* (Eds), pp 23 -43. Museo Nacional de Ciencias Naturales. CSIC. Madrid. 424 pp.
- Nixon G E J, 1951. The association of ants with aphids and coccids. Commonwealth Institute of Entomology, London, pp 1 – 36.
- Nkem J N, Lobry de Bruyn L A, Grant C D, Hulugalle N R, 2000. The impact of ant bioturbation and foraging activities on surrounding soil properties. *Pedobiología* 44, 609 – 621.
- Offenberg J. Balancing between mutualism and exploitation: the symbiotic interaction between *Lasius* ants and aphids. *Behav Ecol Sociobiol* 49: 304 – 310.
- Passera L, 1994. Characteristics of tramp species. En: Exotic ants. Biology, impact and control of introduced species, Williams D (Eds). Westiew Press, Inc.
- Pólgar L A, Darvas B, Völk W, Porcheron P, Székacs A, Szelinger S, 1996. Comparison of ecdysteroid concentration in different morphs of aphids. *Comparative Biochemistry and Physiology* 115, 2 : 179 – 183.
- Pontin A J, 1960. Observations on the keeping of aphid eggs by ants of the genus *Lasius*. *Entomologist's Monthly Magazine* 96: 198 – 199.
- Rodá F, Retana J, Gracia C A, Bellot J, 1999. Ecology of Mediterranean Evergreen Oak Forest, *Ecological Studies* 37. Springer.
- Rosengren R, Sundström L, 1991. The interactions between wood ants, *Cinara* aphids, and pines. A ghost of mutualisms past? En: Huxley C R, Cutler D F (eds), *Ant - plant interactions*, pp 80 – 91. Oxford University Press.
- Schumutterer H, 1956. Saugschaden an Eichen durch Lachniden in Abhängigkeit. *Zeitschrift für Angewandte Entomologie* 39: 178 – 185.
- Seibert T F, 1992. Mutualistic interactions of the aphid *Lachnus allegheniensis* (Homoptera: phididae) and its tending and *Formica obscuripes* (Hymenoptera: Formicidae). *Annals of the Entomological Society of America* 85, 173 – 178.

- Seifert B, 1992. A taxonomic revision of the Palaearctic members of the ant subgenus *Lasius* s.str. (Hymenoptera, Formicidae) – Abh. Ber. Naturkundemus. Görlitz 66: 1 – 67.
- Seifert B, 2000. Rapid range expansion in *Lasius neglectus* (Hymenoptera, Formicidae) an Asian invader swamps Europe. *Mitteilungen Museum Naturkunde Berlin Deutschen Entomologischen* 47: 173-179.
- Skinner J G, 1980. The feeding habits of the wood ant *Formica rufa* in limestone woodland I North-West England. *Journal of Animal Ecology* 49: 417 – 433.
- Skinner J G y Whittaker J B, 1981. Interactions between wood ants and tree herbivores. *Journal of Animal Ecology* 50: 313 – 326.
- Smith J P, Schowalter T D, 2001. Aphid-induced reduction of shoot and root growth in Douglas-fir seedlings. *Ecological Entomology* 26: 411 – 416.
- Stadler B, Dixon A F G, 1998. Cost of ant attendance for aphids. *Journal of Animal Ecology* 67: 454 – 459.
- Stadler B, Dixon A F G, 1999. Ant attendance in aphid: why different degrees of myrmecology?. *Ecological Entomology* 24: 363 – 369.
- Stadler B, Fiedler K, Kawecki T, Weisser W, 2001. Cost and benefits for phytophagous myrmecophiles: when ants are not always available. *Oikos* 92: 467 – 478.
- Stadler B, 2004. Wedged between bottom-up and top-down processes: aphid on tansy. *Ecol Entomol* 29: 106 – 116.
- Stadler B, Dixon A F G, 2005 Ecology and evolution of aphid ant interactions. *Annual Review of Entomology and Systematics* 36: 345 – 372.
- Straw N A, Fielding N J, Green G, Price J, 2002. Impact of green spruce aphid, *Elatobium abietinum* (Walker), on the growth of young Sitka spruce in Hafren forest, Wales: delayed effects on needle size limit wood production. *Forest Ecology and Management* 157: 267 – 283.
- Sudd J H, Sudd M E, 1985. Seasonal changes in the responses of wood ants (*Formica lugubris*) to sucrose baits. *Ecological Entomology* 10: 89 – 97.
- Suzuki N, Ogura K, Katayama N, 2004. Efficiency of herbivore exclusion by ants attracted to aphid on the vetch *Vicia angustifolia*. *Ecological Research* 19: 275 – 282.
- Takeda S, Kinomura K, Sakurai H, 1982. Effects of ant attendance on the honeydew excretion and larviposition of the cowpea aphid *Aphis craccivora* Koch. *Applied Entomol. Zool.* 17: 133-135.
- Tjallingii, W F, 1995. Regulation of phloem sap feeding by aphids. En: Chapman, R F: de Boer, G (Eds), *Regulatory mechanisms in insect feeding*, pp 190 – 209. Chapman y Hall, New York, USA.

- Tobin J, 1993. Ants as primary consumers: Diet and abundance in Formicidae, pp 279 – 307. J H Hunt y C A Nalepa (eds), In: Nourishment and evolution in insect societies, Westview Press, Boulder, CO.
- Touyama Y, Ogata K, Sugiyama T, 2003. The Argentine ant, *Linepithema humile*, in Japan: Assessment of impact on species diversity of ant communities in urban environments. *Entomological Science* 6: 57 – 62.
- Tsutsui N, Suarez A, 2002. The colony structure and population biology of invasive ants. *Conservation Biology* 17: 48 -58.
- Van Loon A J, Boosma J J, Andrasfalvy A, 1990. A new polygynous *Lasius* species (Hymenoptera: Formicidae) from central Europe. Description and general biology. *Insectes Sociaux* 37: 348-362.
- Völk W, Mackauer M, 1993. Interactions between ants attending *Aphis fabae* ssp. *cirsiiacanthoidis* on thistles and foraging parasitoid wasps. *Journal of Insect Behaviour* vol 6, 3: 301 – 312.
- Völk W, 1992. Aphids or their parasitoids: who actually benefits from ant-attendance? *Journal of Animal Ecology* 61: 273-281.
- Wagner D, Jones J, Gordon D, 2003. Development of harvester ant colonies alters soil chemistry. *Soil Biology and Biochemistry* 36, 797 – 804.
- Way M J, 1963. Mutualisms between ants and honeydew producing homoptera. *Annual Review of Entomology* 8: 307-344.
- Wellenstein G, 1980. Auswirkung hügelbauender Waldameisen der *Formica rufa* Gruppe auf forstschädliche Raupen und das Wachstum der Waldbäume. *Zeitschrift für angewandte Entomologie* 89: 144 – 157.
- Wetterer J K, Wetterer A L, Hebard E, 2001. Impact of the Argentine ant, *Linepithema humilis*, on the native ants of Santa Cruz Island, California. *Sociobiology* 38: 709 – 721.
- Whittaker J B, 1991. Effects of ants on temperate woodlands trees. En: *Ant – plant interactions*, Huxley C, Cutler D (Eds), pp 69 - 79 Oxford Science Publications.
- Yao I, Akimoto S, 2001. Ant attendance changes the sugar composition of honeydew of the drepanosiphid aphid *Tuberculatus quercicola*. *Oecologia* 128: 36 - 43.
- Yao I, Akimoto S, 2002. Flexibility in the composition and concentration of aminoacids in honeydew of the drepanosiphid aphids *Tuberculatus quercicola*. *Ecological Entomology* 27: 745-752.

## Tables

	LN 2003	LN 2004	LG 2004
May	0.267 ± 0.098	0.501 ± 0.401	0.178 ± 0.142
June	0.292 ± 0.115	0.408 ± 0.333	0.238 ± 0.191
July	0.224 ± 0.121	1.319 ± 0.891	0.412 ± 0.210
August	0.099 ± 0.038	0.324 ± 0.143	0.094 ± 0.066
September	0.048 ± 0.033	0.155 ± 0.184	0.101 ± 0.021
October	0.117 ± 0.098	0.073 ± 0.099	0.032 ± 0.014
<b>Total</b>	<b>1.047</b>	<b>2.781 *</b>	<b>1,055</b>

Table 2. Mean and standard deviation of collected honeydew (kg per tree) from holm oak colonized by *L. neglectus* (LN) on 2003 and 2004 or *L. grandis* (LG) on 2004. On 2004, the invasive ant *L. neglectus* collected significantly more honeydew compared with the collection of the previous year and compared with the local ant at the same year ( $p < 0.05$ ). [Return to abstract.](#)

Sampling	LN 2004	LG 2004
31 May	11.54 ± 2.48	28.79 ± 15.28 *
16 June	2.45 ± 1.87	11.83 ± 10.01 *
03 July	2.96 ± 2.98	5.39 ± 6.37
22 July	1.45 ± 1.66	1.86 ± 2.67
16 August	1.51 ± 0.98	1.84 ± 2.20
13 September	0.60 ± 1.46	0

Table 3. Mean and standard deviation of arthropods preyed by *Lasius neglectus* (LN) and *Lasius grandis* (LG) on 2004. Asterisk shows statistical differences ( $p < 0.05$ ). [Return to abstract.](#)

Sampling	LN	HN
29 May	5.6 ± 8.7	0.2 ± 0.4
20 June	45.0 ± 43.8	-
10 July	8.2 ± 8.1	95.0 ± 143.2
13 August	2.5 ± 5.0	0.7 ± 1.2
4 September	0	1.8 ± 2.2
24 September	2.2 ± 3.0	5.0 ± 5.9
21 October	12.3 ± 20.5	62.8 ± 106.3
<b>Annual mean</b>	<b>5.21 ± 9.03</b>	<b>10.33 ± 25.14</b>

Table 4. Mean and standard deviation of *L. roboris* abundance per tree on 2003, from holm oak colonized by *L. neglectus* (LN) or local ants (HL), mainly *L. grandis*. Due to a sampling error data from June 20 from trees colonized by local ants are not available. So, data from trees colonized by LN on June were not included in statistical comparisons. [Return to abstract.](#)

Sampling	LN	LG
22 June	118.8 ± 10.6	84.0 ± 36.7
13 July	320.2 ± 291.1	157.8 ± 134.9
5 August	98.0 ± 73.0	76.0 ± 86.4
6 September	6.6 ± 6.1	21.8 ± 34.3
7 October	38.6 ± 34.1	31.7 ± 40.1
23 October	28.7 ± 30.1	30.3 ± 35.9
<b>Annual mean</b>	<b>101.61 ± 173</b>	<b>59.87 ± 86.96</b>

Table 5. Mean and standard deviation of *L. roboris* abundance per tree on 2004, from holm oak colonized by *L. neglectus* (LN) or *L. grandis* (LG). In May *L. roboris* was not found in lower crown.

a

Sampling	LN	HN
29 May	6 ± 10.68	0.2 ± 0.45
20 June	0.83 ± 0.75	-
10 July	1.33 ± 0.82	0.33 ± 0.52
13 August	0	0
4 September	0	0
24 September	0.2 ± 0.45	0
21 October	0.33 ± 0.58	0
<b>Annual mean</b>	<b>1.43 ± 4.69</b>	<b>0.10 ± 0.31</b>

b

Sampling	LN	LG
22 June	1.75 ± 1.26	2.00 ± 2.00
13 July	21.67 ± 11.41	8.40 ± 7.60
5 August	1.3 ± 1.0	0.40 ± 0.55
6 September	0	0.50 ± 0.58
7 October	0.8 ± 1.0	0.67 ± 0.58
23 October	2.0 ± 2.0	0.33 ± 0.58
<b>Annual mean</b>	<b>5.5 ± 9.96</b>	<b>2.39 ± 4.67</b>

Table 6. Mean and standard deviation of winged *L. roboris* per tree a) from holm oaks from holm oak colonized by *L. neglectus* (LN) or local ants (HL), mainly *L. grandis* on 2003 and b) from holm oaks from holm oak colonized by *L. neglectus* (LN) or *L. grandis* (LG) on 2004.

[Return to abstract.](#)



Sampling	LN	HN
29 May	0.081 ± 0.079	0.016 ± 0.035
20 June	0.273 ± 0.370	-
10 July	0.078 ± 0.114	0.041 ± 0.044
13 August	0.023 ± 0.047	0.001 ± 0.001
4 September	0.002 ± 0.004	0.003 ± 0.003
24 September	0.010 ± 0.018	0.036 ± 0.029
21 October	0.001 ± 0.002	0.030 ± 0.029
<b>Annual mean</b>	<b>0.033 ± 0.037</b>	<b>0.021 ± 0.017</b>

Tabla 7. Mean and standard deviation of twigs percentage per tree occupied by *L. roboris*, on 2003, from holm oaks colonized by *L. neglectus* (LN) or local ants (HL), mainly *L. grandis*. Due to a sampling error data from June 20 from trees colonized by local ants are not available. So, data from trees colonized by LN on June were not included in statistical comparisons. [Return to abstract.](#)

	%YT		%OT		%AP		%AC	
	LN	LG	LN	LG	LN	LG	LN	LG
22 June	13.56	0	42.33	89.33	18.95	10.7	12.66	0
13 July	18.73	4.38	5.24	0.95	72.36	94.7	3.68	0
5 August	1.07	1.81	0.00	0	93.34	91.2	5.59	7.00
6 September	0.00	1.15	0.00	0	100.00	98.9	0.00	0
7 October	29.43	17.75	0.45	0	70.11	48.5	0.00	33.8
23 October	12.40	0	14.21	0	73.39	100	0.00	0

Table 10. Percentage of colonies located on: young twigs (%YT), one year old twigs (%OT), acorn petiole (%AP), and acorn cap (%AC) from holm oaks colonized by *L. neglectus* (LN) or by *L. grandis* (LG) on 2004. [Return to abstract.](#)

A

Tree	June	September	November	% J-S	% S-N	% J-N
1	733	184	123	74.9	33.2	83.2
2	98	34	11	65.3	67.6	88.8
3	423	259	0	38.8	100.0	100.0
4	50	37	0	26.0	100.0	100.0
5	336	244	52	27.4	78.7	84.5
6	189	153	29	19.0	81.0	84.7
7	239	133	2	44.4	98.5	99.2
	<b>295.4 ± 232.1</b>	<b>149.1 ± 89.8</b>	<b>31.0 ± 44.9</b>	<b>42.3 ± 21.0</b>	<b>79.9 ± 24.1</b>	<b>91.5 ± 7.9</b>

B

Tree	June	September	November	% J-S	% S-N	% J-N
1	301	279	5	7.3	98.2	98.3
2	224	158	68	29.5	57.0	69.6
3	266	143	16	46.2	88.8	94.0
4	532	112	8	78.9	92.9	98.5
5	338	317	152	6.2	52.1	55.0
6	132	8	0	93.9	100.0	100.0
7	37	8	0	78.4	100.0	100.0
	<b>261.4 ± 157.7</b>	<b>146.4 ± 119.9</b>	<b>35.6 ± 56.6</b>	<b>48.6 ± 35.9</b>	<b>84.1 ± 20.7</b>	<b>87.9 ± 18.1</b>

Table 11. Holm oaks acorn abundance of trees colonized by: a) *L. neglectus* (LN) or b) by *L. grandis* (LG) on 2004 and the percentage of acorn lost from June to September (% J-S), September to November (% S-N) and between June to November (% J-N). [Return to abstract.](#)

## Figures

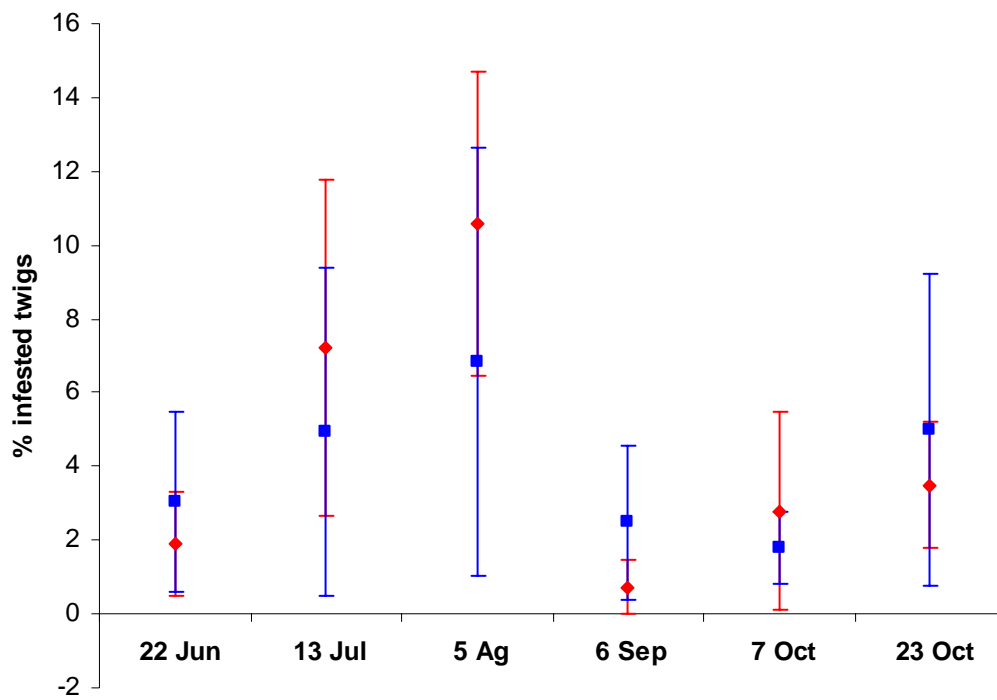


Fig 12. Mean and standard deviation of twigs percentage per tree occupied by *L. roboris*, on 2004, from holm oaks colonized by *L. neglectus* (in red) or *L. grandis* (in blue). [Return to abstract.](#)

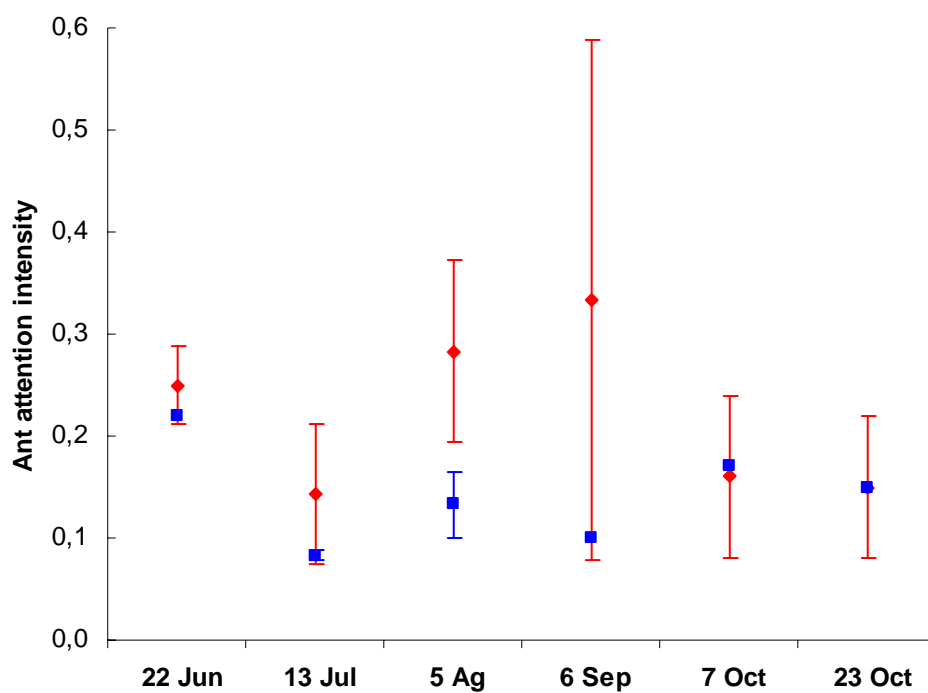


Fig 14. Mean and standard deviation of ant attendance intensity (ant workers biomass/aphid colony biomass) of *Lasius neglectus* (in red) and *Lasius grandis* (in blue). There is not SD in some *Lasius grandis* means because I did not find aphids or the colonies were not tended.

[Return to abstract.](#)

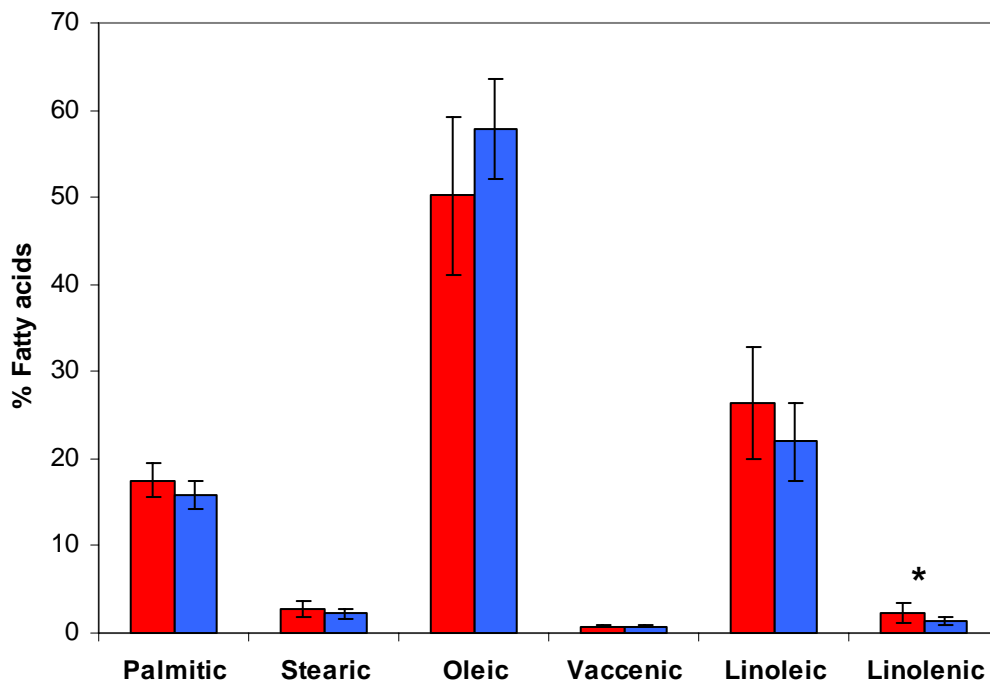


Fig 15. Mean and standard deviation of the fatty acids found in acorns colonized by *L. neglectus* (in red) or by local ants (in blue) on 2003. Asterisk shows statistical differences ( $p < 0.05$ ). [Return to abstract.](#)