



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

Programa de doctorado: Recursos Naturales y Gestión Sostenible.

TESIS DOCTORAL

**LAS HORMIGAS COMO BIOINDICADORES DE CALIDAD AMBIENTAL
EN EL MARCO DE LA GESTIÓN DE LOS RECURSOS NATURALES EN
EL SUR DE LA PENÍNSULA IBÉRICA.**

**[Ants as bioindicators of environmental quality in the framework
of the management of natural resources in the South of the Iberian
Peninsula]**

Director: Joaquín Luis Reyes López
Codirectora: Soledad Carpintero Ortega

Autor: Francisco Jiménez Carmona

TITULO: *Las hormigas como bioindicadores de calidad ambiental en el marco de la gestión de los recursos naturales en el Sur de la Península Ibérica*

AUTOR: *Francisco Jiménez Carmona*

© Edita: UCOPress. 2021
Campus de Rabanales
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A
14071 Córdoba

<https://www.uco.es/ucopress/index.php/es/ucopress@uco.es>

*“Rastro, huella de los pasos errantes,
del buscador de señales,
nunca el tiempo es perdido
es sólo un recodo más en nuestra ilusión ávida de olvido.
Nunca el tiempo es perdido,
nunca el tiempo es perdido
es sólo un recodo más en nuestra ilusión ávida de cariño [...]”*

Manolo García

Nunca el tiempo es perdido, 2001

En ciertos momentos, sin aviso, comienzas a entender esa letra que escuchabas mientras mirabas a través de la lupa. Nuestra vida es una sucesión de personas, hechos y anhelos que, al cruzarlos, consiguen arañar tu corteza, igual que si fueras un árbol que aguanta erguido al paso de la corriente del tiempo, y todos te marcan para siempre. Unas marcas a veces escuecen, desde luego; y otras quieres mantenerlas por siempre. Todas juntas determinan en quien has ido convirtiéndote.

Así, cuando llegas a un final, sea el que sea, comprenderás que nunca perdiste el tiempo, que sólo creciste y aprendiste mientras caminabas y, sobre todo, que no llegastes solo.

Por esto, quiero dedicar este trabajo a todas las personas que estuvieron a mi lado compartiendo el camino y ayudando a hacerlo más fácil y ameno.



TÍTULO DE LA TESIS: Las hormigas como bioindicadores de calidad ambiental en el marco de la gestión de los recursos naturales en el sur de la península ibérica.

DOCTORANDO/A: Francisco Jiménez Carmona

INFORME RAZONADO DEL/DE LOS DIRECTOR/ES DE LA TESIS

(se hará mención a la evolución y desarrollo de la tesis, así como a trabajos y publicaciones derivados de la misma).

El origen y el desarrollo de la presente Tesis ha estado condicionado en todo momento por una dedicación a tiempo parcial de Francisco Jiménez a la misma, ya que no ha contado con financiación suficiente en la última etapa. Al principio sí estuvo contratado dentro del LIFE “Ecosistemas de Dehesa: desarrollo de políticas y herramientas para la conservación y gestión de la biodiversidad. LIFE11 BIO/ES/726”, en concreto, en los años 2016, 2017 y parte de 2018. A partir de aquí, consiguió un contrato Programa Operativo de Empleo Juvenil 2014-2020 (POEJ), que abarcó desde enero de 2018 a julio de 2019.

Esto debe de considerarse como un valor añadido al presente trabajo, ya que se han alcanzado todos los objetivos previstos en la fase de planificación de este.

Además, se ha conseguido publicar gran parte de los resultados en revistas de impacto Science Citation Index (SCI), tal como queda reflejado en el Informe de Indicios de Calidad, incluido en este manuscrito.

Simultáneamente, desde el inicio de su Plan de Formación y Plan de Investigación, en 2017, el doctorando ha colaborado en otras investigaciones realizadas en el Área de Ecología de esta Universidad. Este hecho le ha permitido complementar su formación en el mismo.

Por todo ello, se autoriza la presentación de la tesis doctoral.

Córdoba, 1 de noviembre de 2020

Firma de los directores

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Reyes', with a large flourish underneath.

Fdo.: Joaquín L. Reyes López

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'S. Carpintero', with a long horizontal flourish underneath.

Fdo.: Soledad Carpintero Ortega

ÍNDICE

RESUMEN GENERAL	15
GENERAL ABSTRACT	21
INTRODUCCIÓN GENERAL	27
Bloque 1	29
Bloque 2	37
Bibliografía	50
OBJETIVOS	61
BLOQUE 1	
<i>Las hormigas (Hymenoptera: Formicidae) como bioindicadores.</i>	63
CAPÍTULO 1	
<i>Las hormigas (Hymenoptera: Formicidae) como grupo subrogado de los artrópodos epigeos en las dehesas del norte de Andalucía (España)</i>	65
Resumen	67
Ants (Hymenoptera: Formicidae as surrogates for epigeic arthropods in Northern Andalusian ‘dehesas’ (Spain)	69
CAPÍTULO 2	
<i>Variabilidad de los ensamblajes de hormigas en la dehesa mediterránea: efecto de las variables ambientales, geográficas y de gestión.</i>	81
Introducción	83
Material y métodos	87
Resultados	97
Discusión	106
Bibliografía	113
CAPÍTULO 3	
<i>Las hormigas (Hymenoptera: Formicidae) como un grupo indicador de impacto ambiental humano en los bosques de ribera del río Guadalquivir (Andalucía, España).</i>	123



Resumen 125

Ants (Hymenoptera: Formicidae) as an indicator group of human environmental impact in the riparian forest of the Guadalquivir river (Andalusia, Spain)..... 127

BLOQUE 2

Factores de sesgo en muestreos de hormigas con trampas de caída. .135

CAPÍTULO 4

*El efecto **digging-in** en estudios de hormigas con trampas de caída: influencia del tipo de hábitat y del tiempo de muestreo.* 137

Resumen 139

The digging-in effect on ant studies whith pitfall traps: influence of type of habitat and sampling time 141

Fe de erratas 150

CAPÍTULO 5

Efecto de la abertura y la profundidad de las trampas de caída como factor de sesgo en muestreos de hormigas (Hymenoptera: Formicidae). 151

5.1 Efecto del tamaño de la trampa de caída sobre la captura de hormigas: riqueza y abundancia de especies y relación con el tamaño de los individuos..... 153

Resumen 153

Abstract..... 155

Introduction 156

Materials and methods..... 158

Results 161

Discussion..... 165

Acknowledgements 167

References 168

5.2 Importancia de la profundidad de las trampas de caída en muestreos de hormigas..... 171

Resumen 171

Ant sampling: the importance of pitfall trap depth as a bias factor	173
CAPÍTULO 6	
<i>Efecto de la distancia entre trampas de caída en los estudios de hormigas (Hymenoptera: Formicidae).....</i>	<i>181</i>
Introducción.....	183
Material y Métodos.....	185
Resultados.....	190
Discusión	191
Agradecimientos.....	193
Bibliografía.....	193
DISCUSIÓN GENERAL	197
Las dehesas del norte de Andalucía.....	199
Bosques de ribera.....	202
Factores de sesgo en muestreos de hormigas con trampas de caída.....	203
Bibliografía.....	208
CONCLUSIONES	217
AGRADECIMIENTOS	223
INFORME DE INDICIOS DE CALIDAD	225

RESUMEN GENERAL

La estimación de la diversidad ecológica de un ecosistema y la realización de inventarios de fauna son de las primeras tareas que se han de realizar a la hora de ejecutar proyectos de conservación y restauración de biodiversidad. En la actualidad, se buscan medios que simplifiquen este trabajo, como es el caso del uso de organismos bioindicadores y/o grupos subrogados. Los organismos bioindicadores son grupos o especies que, por su biología (fidelidad ecológica, importancia funcional en los ecosistemas) y su respuesta rápida, predecible y lineal a las perturbaciones, independientemente de su origen (humano o natural), reflejan el estado general de un ecosistema. En ocasiones, estos organismos pueden ser considerados como subrogados; es decir, son grupos cuya diversidad es indicativa de la de otros (tanto grupos equivalentes, ej. familia vs. familia, como grupos superiores, ej. familia vs. clase). En esta tesis, se plantea el estudio de las hormigas (Hymenoptera: Formicidae) como grupo subrogado de otros artrópodos y, como organismos bioindicadores en algunos ecosistemas de relevancia comprobada del sur de la península ibérica, como son las dehesas y los bosques de ribera.

Las dehesas son ecosistemas sabanoides que consisten en pastizales arbolados, generalmente con pies del género *Quercus* y, especialmente, de la especie *Quercus ilex subsp. ballota*. Estos ecosistemas son de vital importancia ya que, por un lado, sustentan la economía de muchas zonas de Andalucía, y por otro, porque se consideran zonas de especial interés ambiental al ser refugios de biodiversidad. En la actualidad estos ecosistemas vienen atravesando una profunda crisis debido a la intensificación de la gestión en las fincas, al cambio climático y a la crisis sanitaria producida por distintas enfermedades que afectan al arbolado. En esta tesis realizamos muestreos de los ensamblajes de hormigas y otros artrópodos mediante trampas de caída a lo largo de toda Sierra Morena, diferenciando entre



zonas de adhesada y otras zonas de las fincas con especies vegetales y con características microclimáticas distintas. Estos son los llamados *small natural features* (SNFs) y en este estudio estaban compuestos por pequeños bosques de ribera o zonas arboladas junto a charcas, zonas de matorral y muros de piedra. Pudimos comprobar que la diversidad de hormigas estaba directamente relacionada con la diversidad de otros grupos de artrópodos epigeos, por lo que constituyen un excelente grupo subrogado. Y, además, comprobamos que los ensamblajes de hormigas se veían afectados de manera significativa por las temperaturas medias anuales, en contraste con otros factores como la altitud, la pluviometría o la carga ganadera, que no mostraban efectos claros de manera general. Se estudió también la influencia del entorno inmediato, o microentorno, de las trampas sobre la composición local de las muestras de hormigas, encontrando en la dehesa 3 entornos distintos en función de los grupos de especies: las zonas arboladas, pastizales y de matorral. En este contexto, los SNFs que tienen microhábitats particulares y diferenciados al resto de la dehesa actuaban como refugios de especies de hormigas que no se encontraban en las zonas de dehesa. Por este motivo, tanto la conservación como la creación de nuevas áreas similares puede ser uno de los objetivos principales, junto con la regeneración del arbolado, para conservar y recuperar la diversidad ecológica de hormigas y del resto de grupos en la dehesas.

Por otro lado, se estudiaron bosques de ribera del río Guadalquivir. En general, los bosques de ribera son ecosistemas lineales de vital importancia, que no sólo constituyen ecotonos entre los ecosistemas fluviales y terrestres, sino que, además son hábitats que, con frecuencia, poseen una diversa comunidad de plantas y fauna, y a su vez, sirven de refugio y medio de dispersión de especies a otras zonas de estructura similar o zonas más humanizadas. Existen en la actualidad algunos índices que evalúan la estructura de los cauces, entorno, estructura vegetal y grado de presencia humana para estimar el nivel de conservación de estos hábitats. Por ello, quisimos comparar índices como el de calidad de bosques de ribera (QBR) u otros como la distancia a zonas humanizadas, con un grupo de organismos bioindicadores reconocidos como son las hormigas. Para ello se muestrearon distintos sotos del río Guadalquivir, desde su nacimiento en Cazorla (Jaén) hasta Almodóvar del Río (Córdoba). Se encontró que la diversidad y estructura de las hormigas (número de especies, Shannon y

Equitatividad) estaba muy correlacionada con el índice QBR y las distancias a núcleos humanos. Además se encontraron especies como *Temnothorax pardoii*, *Temnothorax recedens* y *Camponotus lateralis* que se encontraban en aquellos sotos con índices QBR altos y que podrían indicar buen estado de conservación. En el lado contrario, *Tetramorium semilaeve* se encuentra presente en aquellos sotos en los que el índice QBR es bajo.

Por último, se estudiaron diferentes variables de las trampas de caída, que pueden afectar a los resultados de los trabajos con hormigas. Se planteó dicho estudio ya que uno de los sistemas de muestreo más usados en la realización de investigaciones con artrópodos epigeos es mediante este tipo de trampas. Este es un sistema versátil, extendido por su simpleza y bajo coste y eficaz a la hora de capturar especies activas, de manera independiente de los ritmos de actividad diarios. En general son unos recipientes, con forma de vaso, que se entierran a ras de suelo con algún conservante o sustancia que impida el escape de los individuos capturados. Se pueden utilizar recipientes con características muy distintas (diámetro, material, forma), y diferentes metodologías: uso de cebos, de sustancias para disminuir el escape, distintas formas de disposición, accesorios como tapas o embudos, o la manera de disponerlas en el espacio (transectos, cuadrículas...). Todo esto provoca distintos efectos o sesgos que alteran la tasa de captura de las especies presentes, lo que hace difícil la comparación entre trabajos realizados con distintas trampas y/o metodología. En esta tesis, realizamos una revisión de algunas variables que ya están estudiadas, pero de las que se encontraron contradicciones en la bibliografía. Y, por último, profundizamos en el conocimiento de aquellas que no están claras para el caso de las hormigas.

A la hora de disponer la trampa en el suelo, en general, se excava para colocarla a ras de suelo y posteriormente se rellena el hueco y se nivela. Esta manipulación genera una alteración de la estructura del suelo que en grupos como colémbolos, arañas y escarabajos se ha demostrado que produce un aumento temporal de la tasa de captura. A esto se le denomina efecto *digging-in*. En esta tesis estudiamos cómo afecta el tipo de hábitat de la zona de muestreo y cuánto tiempo perdura. En cuanto al hábitat, se estudiaron las diferencias entre zonas abiertas o pastizal y zonas cerradas (cobertura de árboles). Aunque existieron diferencias entre los ensamblajes y riqueza de especies debido al tipo de hábitats, no se vio una



alteración general de la tasa de captura de especies ni de la composición de las muestras que pudiera deberse al efecto *digging-in*. Por otro lado, con respecto al tiempo de prevalencia de este efecto, se observó que en las primeras 24 horas tras la abertura de la trampa se producía un incremento de la tasa de captura general. Aunque al analizarlo por especies, les afectaba de manera distinta. Por otra parte, tras 48 horas no se observaban diferencias en la tasa de captura de especies ni en la composición de las muestras. Por tanto, en un principio, en estos ecosistemas con un tiempo de muestreo (tiempo en que las trampas de caída se mantienen abiertas capturando) de 48 horas o superiores, el efecto *digging-in* no supondría un sesgo para nuestros muestreos.

En cuanto a factores de sesgo debidos a características de las trampas, uno de los más estudiados es el tamaño de la abertura de la boca de la trampa. Existen numerosos estudios que concluyen que, al incrementar el tamaño de la boca de la trampa de caída, se incrementa el número de especies capturadas. Sin embargo, existe un problema: estos estudios no usan trampas comparables (de iguales características) o, si lo hacen, no lo especifican en su metodología. Por otro lado, otro factor es la profundidad de la trampa de caída. Existen pocos estudios a este respecto, y los que hay descartan que haya afectación de este factor al número total de especies capturadas. En esta tesis planteamos dos estudios distintos, uno que contempla el tamaño de la boca y la profundidad a la vez, comparando 4 tipos de trampas, que por otro lado tienen igual forma, material y fabricante. Se concluyó que un mayor tamaño de la embocadura (perímetro) supone un incremento de la captura de especies. Además, este sesgo se incrementa, en cuanto a número de obreras capturadas, en aquellas especies de tamaños corporales grandes (longitud corporal superior a 4.5 mm), estableciéndose una relación directamente proporcional entre el volumen de la trampa y el número de obreras capturadas. Registramos también un cambio en la composición de las muestras de hormigas. De esta forma, trampas de distinto tamaño pueden capturar especies en diferentes proporciones. Sin embargo, en este primer estudio, a pesar de que se detectan ligeras diferencias respecto a la profundidad de las trampas, estas no llegan a ser significativas. Por ello, se planteó un segundo estudio en el que se comparaban dos trampas de igual modelo y fabricante, con el mismo tamaño de embocadura, en las que variaba la profundidad (7.3 frente a

11.6 cm). En este caso, aun confirmando lo encontrado en bibliografía de que capturan un número total de especies semejante, el número medio de especies y obreras capturadas es mayor para las trampas más profundas. En nuestro trabajo comprobamos que el incremento de las capturas (número de obreras) no es igual para todas las especies. Por ello, descartando que el tamaño de la hormiga juegue algún tipo de papel, planteamos la hipótesis de que puede deberse a diferencias en la tasa de escape como consecuencia a la capacidad de trepar de cada especie.

Finalmente, planteamos un estudio que trata de averiguar cómo afecta la distancia de colocación entre dos trampas de caída a las similitudes entre la composición de hormigas capturadas de ambas muestras. Es decir, averiguar cuál es la distancia mínima entre trampas de caída para evitar la autocorrelación espacial significativa, con el fin de evitar la pseudoreplicación. Este estudio se realizó en dos pastizales mediterráneos compuestos de plantas nitrófilas, donde colocamos trampas de caída a distintas distancias. Concluimos que, a partir de una distancia de separación entre pares de trampas de 5 m, desaparece la autocorrelación entre las trampas.

GENERAL ABSTRACT

Estimating the ecological diversity of an ecosystem and conducting fauna inventories are among the first tasks that should be undertaken when implementing biodiversity conservation and restoration projects. At the present time, it is important to be provided with tools to simplify this type of works, such as the use of bioindicator organisms and/or surrogate groups. Bioindicator organisms are groups or species that, due to their ecological fidelity, functional importance in the ecosystems and their quick, linear and predictable response to disturbances, regardless of their origin (human or natural), reflect the general state of an ecosystem. Sometimes these organisms can be considered as surrogates; that is, they are groups which diversity is indicative of other groups' diversity, whether for equivalent taxa (for example family vs. family), or for superior groups (like family vs. class). In this dissertation, ants (Hymenoptera: Formicidae) are proposed as surrogates for other arthropods as well as bioindicator organisms in two ecosystems of recognized relevance in the south of the Iberian Peninsula: the 'dehesas' and the riparian forests.

The 'dehesas' are sabanoid ecosystems, meaning vast extensions of pastures with scattered trees, usually belonging to the genus *Quercus*, mainly of the species *Quercus ilex subsp. ballota*. Not only do these ecosystems fulfill important roles in the Andalusian economy, but also they are considered areas of special environmental interest, as they act as biodiversity refuges. These ecosystems are currently undergoing a severe crisis due to the problems of the intensification of farm management, the climate change and the multiple diseases that are affecting the trees.

In our study, we sampled with pitfall traps the ant assemblages and other arthropods of fifteen farms throughout the entire Sierra Morena range (Andalusia, Spain), differentiating between the 'dehesas' and other areas



of the farms with different plant species and microclimatic characteristics; these are the so-called *small natural features* (SNFs), and in this study they comprised small riparian forests or wooded areas next to ponds, shrublands and stone walls.

We were able to verify that the diversity of ants was directly related to the diversity of other groups of epigeal arthropods, what confirms their role as an excellent surrogate group. In other respects, we found that the ant assemblages were significantly affected by the average annual temperature in contrast to other factors such as the altitude, rainfall, or livestock rearing, which did not show clear general effects.

The influence of the immediate environment, or microhabitat where the traps are set, on the local composition of the ant samples was also studied, finding 3 different habitats in the ‘dehesas’ depending on the species groupings: wooded areas, grasslands and shrublands. In this context, the SNFs –that provide different microhabitats- acted as refuges for ant species that were not found in the ‘dehesa’ areas. For this reason, together with tree regeneration, the conservation and the creation of new SNFs should be one of the main objectives to preserve and recover the ecological diversity of ants and other taxa in the dehesas.

The riparian forests of the Guadalquivir River were also studied. In general, riparian forests are linear ecosystems of vital importance, that not only constitute ecotones between the river and the terrestrial ecosystems, but also they are habitats that frequently host a diverse community of plants and fauna. Furthermore, they serve as refuge and means of dispersal for species to other areas.

Currently, there are some indexes that evaluate the structure of the riverbed, the environment, the plant structure and the degree of human disturbance to determine the level of conservation of these habitats. Our aim was to compare different indexes such as the quality of the riverside forests (Qualitat del Bosc de Ribera, QBR) or others like the distance to human disturbed areas, with a group of recognized bioindicator organisms, the ants. For this purpose, different groves of the Guadalquivir River were sampled, from the source in Cazorla (Jaén) to Almodóvar del Río (Córdoba). The diversity and structure of the ants (number of species, Shannon diversity index and Equitability index) were found to be highly correlated with the QBR index and distances to human built-up areas. In

addition, species such as *Temnothorax pardoi*, *Temnothorax recedens* and *Camponotus lateralis* were found in those groves with a high QBR index, meaning a good state of conservation. By contrast, *Tetramorium semilaeve* is present in those groves where the QBR index is low.

Finally, different variables of the pitfall traps that may affect the results of ant sampling were studied. This study was proposed since one of the most widely used sampling systems in carrying out research on epigeal arthropods is by means of this type of traps. This is because it is a simple and versatile system, low cost, and efficient for capturing active species, regardless of their activity rhythms. In general, the traps are containers, usually in the form of a glass, which are buried at ground level with some preservative or substance that prevents the escape of the individuals. It is possible to use containers with different characteristics regarding their diameter, material or form, and different possible methodologies, including the use of baits, or of substances to reduce individuals escaping, different spatial arrangement of traps, such as in transects or squares, or the use of accessories such as lids or funnels.

Due to the variety of traps characteristics and sampling methodologies, different effects or biases may be derived which might affect the species capture rate. This hinders the comparison of works carried out with pitfall traps. In this dissertation, it is carried out a review of different possible variables. Some of them have been already studied, but we have found contradictions in the results, while others have not been studied in the context of ants' research.

To place the traps on the ground, we dug to bury them with their tops flush to the soil surface; afterwards we filled the gaps and levelled them. This manipulation generates an alteration in the soil structure that in groups like collembola, spiders and beetles produces a temporary increase in the capture rate. This is called the *digging-in* effect. In this work, it was studied how the type of habitat affects the capture rate and how long this effect persists for ants.

Regarding the habitat, the differences between open or closed areas (with tree cover) and grasslands were studied. Although there were differences between the assemblages and species richness due to the type of habitat, there was no general alteration in the species capture rate or in the composition of the samples that could be attributed to the *digging-in*



effect. Concerning the prevalence time of this effect, it was observed that in the first 24 hours after opening the traps there was an increase in the overall capture rate, although when each individual species was analysed, the *digging-in* effect affected them differently. Nevertheless, after 48 hours, no differences were observed either in the species capture rate, or in the composition of the samples. Therefore, at least for these ecosystems, with a sampling time (time in which the pitfall traps are active, meaning open and capturing individuals) of 48 hours or more, the *digging-in* effect will not bias the results of our samples.

Regarding the possible bias factors due to the trap characteristics, one of the most studied is the size of the trap aperture. There are numerous studies that conclude that by increasing the size of the mouth of the pitfall trap, the number of the captured species increases. The problem is that these studies do not use comparable traps (with the same characteristics) or, if they do, they do not specify it in their methodology. Another factor to take into consideration is trap depth. The few studies that evaluate this variable dismiss its influence on the total number of species caught.

Therefore, in this dissertation the following studies were posed. The first one considers the size of the trap aperture and depth at the same time, comparing 4 types of traps, which have the same form, material, and manufacturer. This study concluded that a larger size of the aperture (perimeter) led to an increase in the capture of species. It was also related to greater catches of workers for those species with larger body sizes (body length greater than 4.5 mm), determining a directly proportional relationship between the volume of the trap and the number of workers captured. It was also recorded a tendency for a change in the composition of the ant samples. In this way, traps of different sizes captured the species in different proportions. However, although these slightly differences were detected, regarding the depth of the traps, these were not significant.

Hence, the second study was proposed. In this one, two traps of the same model and manufacturer were compared, with the same aperture size, but different depth (7.3 versus 11.6 cm). In this case, even though what is described in the bibliography is confirmed (the traps captured similar total number of species), the average number of species and workers were higher for deeper traps. In our work we verified that the increase in captures (number of workers) is not the same for all the species, so, dismissing that

the size of the ant played some kind of role, we hypothesize that this could be due to differences in the escape rate related to the climbing ability of each species.

Finally, we present a study that analyse how the similarities between the composition of captured ants are affected by the distance at which two consecutive pitfall traps are set. The aim was to find out what is the minimum distance between pitfall traps to avoid significant spatial autocorrelation, consequently to avoid pseudo-replication. This study was carried out in two Mediterranean grasslands composed of nitrophilic plants, where we placed pitfall traps at different distances. We concluded that, from a distance between pairs of traps of 5 m, the autocorrelation between the traps disappeared.

INTRODUCCIÓN GENERAL



*“Si hay hombres que han consagrado toda su vida
a hacer cometas y verlas volar.
Contéstame, ¿para qué sirve una hormiga?
y luego dime si es santo el caimán.”*

El último de la fila
¿Para qué sirve una hormiga?. *Enemigos de lo ajeno*, 1986.

En esta tesis doctoral se pretende realizar un estudio de las hormigas como organismos bioindicadores, centrándonos en ciertos ecosistemas del sur de la península ibérica. Se han seleccionado, por su importancia, dos tipos de medios: los ecosistemas de dehesa del norte de Andalucía y los bosques de ribera del río Guadalquivir. Así mismo, dado que en su totalidad el sistema de muestreo utilizado para este trabajo ha sido mediante trampas de caída, se ha realizado un estudio de algunos factores de sesgo que, al realizar una revisión de la bibliografía, hemos considerado poco estudiados. Este segundo bloque creemos que puede contribuir al establecimiento de un protocolo básico y estandarizado para los muestreos de trampas de caída en hormigas.

Bloque 1

Las hormigas como bioindicadores.

Para realizar planes de gestión de recursos naturales en algún área concreta, se requiere la realización de unos pasos previos que lleven a la determinación de cuál es el estado de partida en el que se encuentra el ecosistema. De esta manera, podemos tener las claves para elegir qué tipo de intervención es la idónea para su conservación y/o restauración. La presente tesis plantea, para este fin, el uso de las hormigas como organismos bioindicadores.

Un indicador biológico, se puede definir como la especie o el conjunto de especies, con rangos de amplitud estrechos respecto a uno o más factores ambientales y que con su presencia y sus cambios poblacionales, puede reflejar el estado de un lugar en cuanto al grado de intervención y biodiversidad general (Caro, 2010). Las comunidades de hormigas



reúnen dicho requisito, y además se consideran entre los organismos más importantes de los ecosistemas terrestres, ya que constituyen una alta proporción de la biomasa animal total (Hölldobler y Wilson, 1990) y participan en muchas de las funciones de los ecosistemas, por ejemplo como dispersoras de semillas (Handel y Beattie, 1990), forman parte de la dieta de numerosos anfibios, reptiles y aves, como ingenieras del suelo afectando a su estructura y composición (Hölldobler y Wilson, 1990; Jouquet *et al.*, 2006; Dauber *et al.*, 2008), o como principales depredadoras de otros invertebrados. Por todo ello, se han empleado con éxito en diferentes estudios como bioindicadoras (Andersen, 1997; Nakamura *et al.*, 2007; Crist, 2009; Verdinelli *et al.*, 2017).

Así, se planteó este trabajo en el que estudiamos las hormigas de dehesas andaluzas y de bosques de ribera, para analizar en qué estado se encuentran, así como proponer maneras de potenciar.

Las dehesas y su estado actual en la península ibérica.

Las dehesas son ecosistemas de origen antrópico, propios de climas mediterráneos y que, según la definición de Díaz Esteban y Pulido Díaz (2009) son: “[...] pastizales arbolados con un dosel de densidad variable compuesto por bosques esclerófilos, sobre todo de *Quercus ilex* spp. *ballota* (Desf.) y, en mucha menor medida, *Q. suber* L., *Q. ilex* spp. *ilex* L. y *Q. coccifera* L., en los que se intercalan pequeñas parcelas de cultivo de secano y manchas de matorral bajo o arborescente. La configuración sabanoide de arbolado y pasto herbáceo con manchas cultivadas e invadidas por matorral se mantiene mediante prácticas de gestión, cuyo objetivo es el aprovechamiento de la vegetación por ganado [...]” (Figura 1). Las manchas de matorral por lo general están compuestas de plantas de los géneros *Cistus*, *Genista*, *Cytisus*, *Retama*, *Lavandula*, *Daphne*, *Erica* o *Halimium*, entre otras (Díaz Esteban y Pulido Díaz, 2009). Los pastos son bastante diversos, y compuestos, generalmente, de especies anuales cuya diversidad y composición varía en función de distintos factores: los propios de la zona, como el tipo de suelo y la humedad; y otros derivados de la acción antrópica, como la intensidad del pastoreo (herbivoría, pisoteo...) o el manejo agrícola y forestal (Díaz Esteban y Pulido Díaz, 2009).

Según Klein (1922) el término dehesa, proviene de “defesa”, palabra del castellano antiguo que significa defensa. Este término alude a

la defensa que el gremio ganadero de “la Mesta” ejerció para mantener grandes extensiones de pastizales durante la Edad Media con el fin de pastorear con rebaños de ovejas. Desde esta época, se transformaron bosques mediterráneos de quercinias en dehesas, aunque probablemente, la mayoría de dehesas arboladas hayan sido abiertas entre mediados del XIX y del XX (Díaz Esteban y Pulido Díaz, 2009). La transformación de estas consistía en el aclarado de los árboles y la eliminación total o parcial de matorral. Esto dio origen a ecosistemas con una distribución sabanoide, más o menos uniforme, que favorecía la producción de pastos y bellotas y que era particularmente adecuada para la cría de ganado en extensivo (San Miguel, 1994; Martín, 1996; Díaz Esteban y Pulido Díaz, 2009).



Figura 1. Fotografía de una dehesa.

Fuente: www.turismotrujillo.es/actividades/agroturismo-en-la-dehesa/

Tradicionalmente, las especies de animales domésticas como vacas, ovejas, cabras y cerdos, convivían con especies salvajes, como el ciervo, gamo, corzo, jabalí, conejo y liebre (Martín, 1996; Díaz Esteban y Pulido Díaz, 2009). Estas últimas, además, son sometidas a aprovechamiento cinegético. En principio, el aprovechamiento agrícola de la dehesa se hacía mediante la rotación de cultivos con periodos muy



amplios (4-20 años), fundamentalmente, debido a la mala calidad de los suelos, y con rotaciones más cortas en zonas limitadas (Díaz, M., Campos, P. y Pulido 1997, Díaz Esteban y Pulido Díaz 2009). En estas parcelas, que normalmente ocupaban en torno a un 10% de las fincas, se plantaban forrajeras de secano o cereales para el mantenimiento del ganado (Díaz Esteban y Pulido Díaz, 2009). Además de la ganadería y la agricultura, la dehesa se ha usado como fuente de otros subproductos como carbón vegetal, leña y corcho (San Miguel, 1994).

Los ecosistemas de dehesa se extienden por gran parte del suroeste español, contando con unos 5.3 millones de hectáreas. Esto supone alrededor del 38,4% del territorio, encontrándose en las provincias de Zamora, Salamanca y Ávila en Castilla y León, Toledo y Ciudad Real en Castilla-La Mancha, Cáceres y Badajoz en Extremadura, y Córdoba, Sevilla, Huelva, Jaén y Cádiz en Andalucía (Figura 2) (Martin, 1996). En Portugal existe un ecosistema similar denominado *montado* e igualmente se pueden encontrar ecosistemas sabanoides de características similares en Cerdeña, Sicilia, Córcega, Mallorca, Marruecos, Túnez y Argelia (Bugalho *et al.*, 2009).

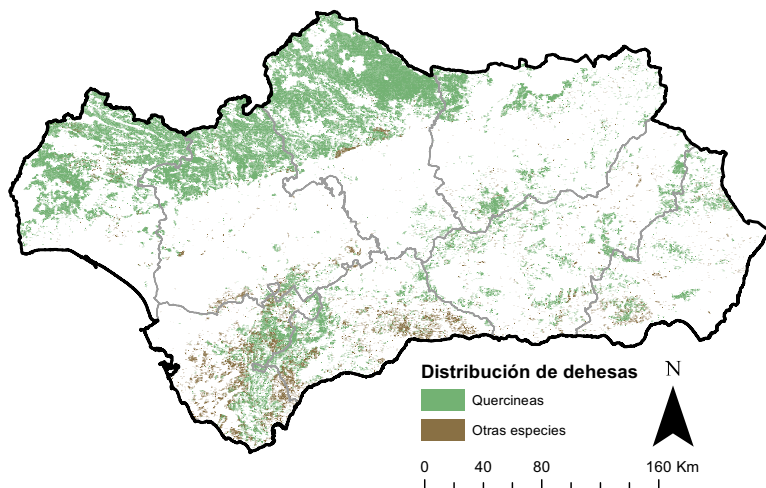


Figura 2. Mapa de distribución de las dehesas en Andalucía. Fuente de datos: Rediam (Red de información ambiental de Andalucía), Junta de Andalucía. <http://www.juntadeandalucia.es/medioambiente/site/rediam>

Desde hace tiempo la dehesa se ha venido considerando como un ecosistema con una elevada riqueza de especies, por eso, en la legislación europea, se recogen como espacios con un alto valor de conservación (Directiva 92/43 del Consejo, de 21 de mayo de 1992 relativa a la conservación de los hábitats naturales y de la fauna y flora silvestres). Las dehesas pueden considerarse como una mezcla de varios tipos de hábitats. En primer lugar el forestal, donde los árboles aislados juegan un importante papel como refugio de especies arbóreas y provisión de hojarasca, o son usados por algunas especies, para completar sus ciclos vitales (Tews *et al.*, 2004; Manning *et al.*, 2006). En segundo lugar, el pastizal con monte bajo (Díaz, M. , Campos, P. y Pulido, 1997), que aporta especies serófilas y de ecosistemas abiertos. Por último, algunos humedales ya sean estacionales o permanentes, a menudo habitados por peces, anfibios y otros organismos. Esto permite que puedan vivir organismos propios de ecosistemas forestales y otros más serófilos (Díaz *et al.*, 2003). Por ejemplo, Díaz Esteban y Pulido Díaz (2009) reúnen de distintos documentos entre directivas europeas y otros estudios un total de 33 especies de plantas citadas en la dehesa, 8 de peces, 53 especies de aves, 16 de reptiles y anfibios, 17 de mamíferos. O estudios concretos como el de Pérez-Mellado (1992) para reptiles y anfibios de las dehesas de Salamanca, que cita 13 especies de anfibios y 19 de reptiles. De esta manera, no sólo podemos afirmar que la dehesa es un ecosistema con una elevada biodiversidad (Ramírez Hernández *et al.*, 2015), sino que además hay que considerar que algunas de las especies propias de la dehesa tienen alguna figura de protección (Gómez-Gutiérrez, 1992; Díaz Esteban y Pulido Díaz, 2009; Sánchez Martínez *et al.*, 2012; Campos *et al.*, 2013; Ramírez Hernández *et al.*, 2015).

En la actualidad, las dehesas españolas vienen atravesando una crisis debido, por un lado, a su baja rentabilidad económica y por otro a la degradación ambiental (Pulido y Picardo, 2010). El abandono de las prácticas de manejo tradicionales ha promovido la reducción de tierras de pastoreo, que junto con la mecanización de la agricultura y la subvención para el corte de encinas, que se produjo en la década de los 70, ha devenido la eliminación de parte del estrato arbóreo e intensificación de la agricultura y la ganadería. Al perder gran parte de la masa forestal, arbustiva y pastizales, consecuentemente se ha perdido gran parte de la diversidad ecológica asociada (Martin, 1996; Díaz Esteban y Pulido Díaz,



2009; Pulido y Picardo, 2010).

A esto hay que añadirle los problemas propios de la dehesa, como es el decaimiento de las quercíneas, conocido como “la seca” (Figura 3). Este se debe a numerosos factores como son las enfermedades producidas por hongos (como *Phytophthora cinnamomi*), bacterias (*Biscogniauxia mediterranea* y *Botryosphaeria* spp.), perforaciones de *Cerambyx* spp., sequías, podas excesivas, descorches inadecuados, laboreo profundo, etc. (Díaz Esteban y Pulido Díaz, 2009; Pulido y Picardo, 2010), que provocan la muerte de los árboles. Añadido a esto, está el envejecimiento de la población de encinas que se debe principalmente a la baja capacidad de reclutamiento, o recuperación del bosque. Esto es debido por un lado a la herbivoría debida al pastoreo, a la baja presencia de animales dispersores de bellotas y a la ausencia de manchas matorral nodriza por los desbroces continuos.



Figura 3. Foto de encinas (*Quercus ilex* subsp. *rotundifolia*) infectadas por “la seca”.
Fuente: www.hoy.es

Se han propuesto múltiples alternativas a los problemas de la dehesa, pero probablemente la solución sea compleja y haya que abordarla desde distintos enfoques, como el cultural, económico, medioambiental y legislativo, que a veces se solapan. En distintos documentos de trabajo como es el caso de Pulido and Picardo (2010) y en Junta de Andalucía

(2019) se han propuesto distintas acciones o listados de buenas prácticas, por ejemplo: la recuperación de técnicas tradicionales del manejo de la ganadería, como redileo, control de la intensidad y exclusión; optimización de las características del arbolado mediante el manejo del ganado; emprender acciones concretas para mejorar el estado sanitario de la masa forestal, mediante una disminución del manejo, aplicación de fitosanitarios y fertilizantes o con la selección de fenotipos resistentes. Se han propuesto asimismo distintos enfoques para el problema de la baja capacidad de reclutamiento de la masa forestal. Al respecto Leiva y Vera (2015) propone la construcción de refugios artificiales de ramas muertas para fomentar la protección de la depredación de bellotas por parte de los ungulados domésticos. Otros, como Ramírez y Díaz (2008), proponen para este mismo efecto construir cercados de exclusión en distintas zonas de la dehesa que serán abandonados por largos periodos de tiempo (entre 20 y 30 años). De esta manera, no sólo se incrementará el reclutamiento en estas zonas, sino que aumentarán la heterogeneidad del hábitat y promoverán la diversidad de plantas herbáceas e invertebrados de manera local (Bugalho *et al.*, 2011). Todo esto, junto con la mejora de los pastos (mediante plantación y abonado) y la reducción del desbrozado del matorral, promoverán una disminución de la erosión del suelo y la mejora de este.

Otras propuestas giran en torno a la economía de la dehesa, como es la revalorización de los productos de la dehesa mediante la puesta en valor y creación de etiquetas medioambientales con certificados de buenas prácticas; la combinación de la explotación tradicional de la dehesa con otros enfoques recreativos o educativos; o la vigilancia e implantación de nuevos sistemas de gestión cinegética sostenible. Pero todo esto, debe ir de la mano de un incremento de la inversión pública, no sólo en la creación de líneas de subvenciones específicas, sino también en formación a los propietarios y gestores.

Los bosques de ribera y diversidad de hormigas.

Los sotos o bosques de ribera son ecosistemas lineales que constituyen ecotonos entre los ecosistemas fluviales y los hábitats que los rodean (Figura 4). Además, son hábitats que, debido a la disponibilidad de agua y a la de nutrientes, contienen comunidades de plantas muy diversas (Larue *et al.*, 1995). Estos ecosistemas desempeñan distintas



funciones importantes para la conservación del entorno como son, entre otras, la prevención de la erosión de los bancos arena, filtración y retención de nutrientes (Rios y Bailey, 2006; Lorion y Kennedy, 2009). Por otro lado, también juegan un papel importante en la conservación de la biodiversidad de la zona en la que se encuentran (Nessimian *et al.*, 2008). Así, al ser zonas, en general, con vegetación más diversa a la de las áreas circundantes, pueden actuar como refugio de numerosas especies animales desde mamíferos a insectos, de esta manera, intervienen en el incremento de la diversidad ecológica del área. Además, dependiendo de su tamaño, pueden adquirir el papel de corredor ecológico (Marczak *et al.*, 2010). Así participan en el movimiento de especies autóctonas por el territorio, tanto del bosque de ribera a las áreas próximas, como conectando distintas zonas en buen estado. Aunque, ciertamente, en ocasiones también facilitan la dispersión de especies invasoras (Holway *et al.*, 2002).

Debido a la importancia de estos ecosistemas, se han planteado distintos mecanismos para estimar su grado de conservación. Se puede destacar la estimación mediante índices para evaluar el grado de conservación calificando distintos ítems (presión antrópica, estructura de la vegetación, tipo de cuenca...). Por ejemplo, algunos de estos son: el índice de calidad del bosque de ribera (QBR, siglas de su nombre en catalán “Qualitat del Bosc de Ribera), muy extendido en cursos de la cuenca mediterránea (Freshwater Ecology and Management Research Group); el índice multimétrico del estado ecológico para ríos altoandinos (IMEERA), usado en América del Sur (Villamarín *et al.*, 2013); o mediante la estimación de la diversidad funcional de las zonas (Lozanovska *et al.*, 2018).

En la actualidad existen algunos estudios que se centran en la diversidad de hormigas de los bosque de ribera del sur de la península ibérica, como por ejemplo Ordóñez-Urbano *et al.* (2007) o Carpintero *et al.* (2008). En el primero de estos, Ordóñez-Urbano *et al.* (2007) encuentran del orden de 56 especies de hormigas, que representan en torno al 20% del total de la fauna de formícidos de la península ibérica. Por ello, teniendo en cuenta la diversidad de formícidos en estos ecosistemas y su eficacia probada como organismos bioindicadores, nos planteamos la idoneidad del grupo para la evaluación del estado de conservación de los ecosistemas de ribera.



Figura 4. Foto del monumento natural de los Sotos de la Albolafia (Córdoba) como ejemplo de bosque de ribera. Fuente: <http://www.cordobahoy.es>

Bloque 2

Características, usos y efectividad del muestreo de artrópodos epigeos con trampas de caída.

El estudio de las hormigas se puede llevar a cabo con muy distintos métodos, como son el muestreo directo, embudos Berlese o el manguero (Southwood *et al.*, 2000). En esta tesis los muestreos de hormigas se han realizado exclusivamente mediante trampas de caída, lo cual nos llevó a realizar una revisión del sistema para identificar posibles sesgos en los muestreos.

El uso de trampas de caída (Figura 5) es uno de los sistemas de muestreo de artrópodos más antiguos (Hertz, 1927; Barber, 1931) y que se emplea con gran frecuencia (Brown y Matthews, 2016). Estas consisten en un recipiente de paredes lisas, enterrado a ras de suelo y que en ocasiones contiene algún líquido (*Killing-Agent*) que impide que las capturas puedan



escapar y a su vez que puede actuar como atrayente y/o conservante (Melbourne, 1999).

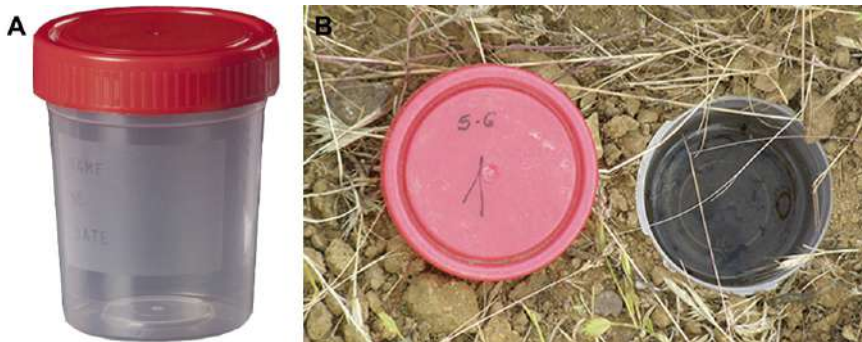


Figura 5. Ejemplo de trampa de caída. **A.** Foto detalle del recipiente de análisis de orina (ref. 409702, Deltalab, Rubí, Spain). **B.** Trampa dispuesta en el campo.

Las trampas de caída constituyen un sistema pasivo de muestreo de comunidades de artrópodos epigeos, especialmente dirigido a aquellos grupos activos y con áreas de forrajeo amplias (Halsall y Wratten, 1988). Este método nos aporta información sobre la abundancia de cada especie en función de la actividad, del periodo de muestreo y del hábitat muestreado (Brown y Matthews, 2016). Es un sistema de captura sencillo y simple que implica un bajo coste económico y relativamente poco esfuerzo para el muestreo de las áreas seleccionadas (Southwood *et al.*, 2000). Esto es así puesto que, al dejar instaladas las trampas estarán capturando todo el tiempo hasta que se retiren, de esta manera, el tiempo invertido en el muestreo es el de su colocación y recogida. Además, constituye un sistema de muestreo versátil, que permite la captura de los organismos independientemente de sus ciclos de actividad (nocturno vs. diurno) (Engel *et al.*, 2017) y se ha usado de manera eficiente en la captura de numerosos grupos animales, como:

Invertebrados:

- Colémbolos (Joosse, 1965; Greenslade y Greenslade, 1971).
- Coleópteros (Niemela *et al.*, 1992; Spence y Niemelä, 1994; Lafage *et al.*, 2014).
- Arañas (Lafage *et al.*, 2014; Gonçalves *et al.*, 2017).

- Hormigas (Luque García *et al.*, 2004; Silva *et al.*, 2017; Catarineu *et al.*, 2018).

Vertebrados:

- Herpetofauna (Gibbs, 1998; Spurgeon, 2019).
- Pequeños mamíferos (Williamson y Evans, 1972; Mengak y Guynn, 1987; Umetsu *et al.*, 2006).

A pesar de tener muchas ventajas, como veremos en este bloque, en ocasiones es un sistema marginado por la comunidad científica. Esto se debe, por poner un par de ejemplos, a que sólo capturan un cierto grupo de especies de hormigas, las epigeas, dejando de lado a las arborícolas o a las subterráneas. Además, hay autores que afirman que la abundancia de las especies capturadas no es representativa respecto a la del área de muestreo (Romero y Jaffe, 1989) ya que aquellas especies que se mueven más y a mayor distancia de sus colonias van a ser capturadas más fácilmente que las lo hacen menos (Tretzel, 1954; Heydemann, 1957; Hummel, 1980). En el caso particular de hormigas, al ser insectos sociales, entra otra variable en juego: el tamaño medio de la colonia. Es decir, aquellas especies cuyo tamaño medio de colonia (individuos por nido) sea mayor pueden resultar sobrecapturadas respecto a otras con tamaños de colonia menor, aunque la densidad de colonias sea similar. También algunas especies pueden sentir atracción por las trampas, mientras que otras las evitan; o incluso, que sean capaces de escapar de las trampas (Luff, 1975; Knapp *et al.*, 2016; Ruiz-Lupión *et al.*, 2019). Por eso, se han desarrollado distintos métodos estadísticos para ponderar tanto el número y las especies capturadas, como el número de obreras capturadas de cada especie (Gotelli *et al.*, 2011).

Existen muchos tipos de trampas de caída, así como de formas de colocarlas y disponerlas en el área de muestreo. Llevar a cabo una metodología u otra dependerá de múltiples factores, principalmente cuál va a ser el grupo taxonómico estudiado y las características del área de muestreo, que se conjugarán con los hábitos de los distintos grupos de investigación.



Características de las trampas de caída.

Las cualidades físicas de la trampa afectarán a su efectividad, estas diferencias pueden aparecer de manera general, por grupo o especie.

Material.

Desde el comienzo de uso de las trampas de caída, los investigadores se han servido de trampas construidas con distintos materiales. Estos han variado en función de la disponibilidad, efectividad, comodidad y de las características del muestreo. Existen numerosos estudios donde se compara cómo esta variable puede o no afectar a la tasa de captura, analizando los pros y los contras de cada material (Luff, 1975; Abensperg-Traun y Steven, 1995; Koivula *et al.*, 2003). Fundamentalmente se resumen en tres: cristal, metal y plástico (Woodcock, 2005):

El plástico es ligero, fácil de manejar, resistente y duradero. Tiene una tasa de captura alta, aunque a veces es inferior a la de trampas de cristal (Luff, 1975).

El cristal, a pesar de tener una elevada tasa de captura debido a que los insectos resbalan más por su superficie (Greenslade, 1964; Luff, 1975), presenta problemas como la dificultad de transporte, fragilidad o la baja resistencia a la presión.

El metal, a pesar de su resistencia, dependiendo del tipo, puede ser poco perdurable en lugares húmedos, es pesado, difícil de transportar y con menor eficacia de captura (Luff, 1975).

De esta manera el plástico es el material más usado en la actualidad por su manejabilidad, precio y demás cualidades, pese a que su tasa de captura es ligeramente inferior a la del cristal. Algunos trabajos han estudiado si el uso de agentes antiadherentes, como por ejemplo el teflón o el talco (Ning *et al.*, 2019), puede beneficiar las carencias que presenta el plástico frente al cristal (Rieske y Raffa, 1993; Woodcock, 2005). A priori, el teflón es un compuesto que disminuye la adherencia de los artrópodos en las paredes de las trampas, por lo que afectaría notablemente a la tasa de escape (N. escapes/N. capturas). Sin embargo, se ha visto que en la práctica esta sustancia no incrementa significativamente la tasa de captura (Stanley *et al.*, 2008). Este hecho aún no está explicado y podría deberse a múltiples motivos, como que los disolventes usados o el propio compuesto tengan un carácter repelente.

Forma, diámetro y profundidad.

La forma de la trampa parece jugar un papel secundario en la eficacia de captura, aunque ciertos artículos sugieren que puede haber una diferencia significativa (Luff, 1975). Baars (1979) encuentra que la forma y el número de las trampas de caída no influye a las capturas, siempre que se cuente con la misma superficie de trapeo. En general se viene usando la trampa con forma circular casi por norma. Autores como Luff (1975) afirman que el uso de trampas circulares presenta beneficios frente a las rectangulares, por ejemplo, tienen las mismas probabilidades de capturar individuos que circulan en todas las direcciones. Por su parte, las rectangulares tendrán más probabilidad de capturar más individuos por los lados mayores que por los menores. De esta forma, las características que más pueden afectar a las capturas son el diámetro de la boca y la profundidad de la trampa, y por ello hay que tenerlas en cuenta.

En cuanto al **diámetro**, existen distintos tamaños usados para artrópodos, en general desde 2 a 25 cm. Sería lógico pensar que a mayores diámetros de la boca, se incrementará el número de capturas al aumentar el área o perímetro efectivo de muestreo. Generalmente el tamaño más usado por la comunidad científica oscila entre 6-8 cm de diámetro (Woodcock, 2005) pero, para hormigas, se ha demostrado que las trampas de diámetro superior a 4.2 cm no son más efectivas en cuanto a número de capturas (Romero y Jaffe, 1989). Esto se debe a que las hormigas se distribuyen de manera agregada (colonias monoespecíficas) como consecuencia de su condición social. Por tanto, las especies capturadas por una trampa de caída dependerán de los nidos de las distintas especies que se encuentren alrededor, así como del tamaño y capacidad locomotora de la especie. De esta manera, a partir de cierto tamaño de trampa es más conveniente incrementar el número de trampas colocadas, siempre y cuando estén convenientemente separadas (ver más adelante), que incrementar el tamaño de la trampa (Romero y Jaffe, 1989).

En cuanto a la **profundidad**, se encuentran trampas de entre 2 cm (Azcárate y Peco, 2012) y 15 cm (Pendola y New, 2007). Se entiende que cuanto mayor es la profundidad, menor será la probabilidad de que las capturas puedan escapar, y de esta manera, las capturas efectivas (Capturadas – Escapadas) serán mayores. Pero hay estudios que reconocen que a partir de cierta profundidad (más o menos 8 cm) la probabilidad de escape ya



es suficientemente pequeña y que el aumentar más la profundidad, sólo dificultará la colocación de la trampa (Pendola y New, 2007; Hammond *et al.*, 2018), pudiéndose incrementar la captura accidental de organismos no diana (New, 1999).

Tapa.

En ocasiones se coloca una cubierta a la trampa (ver Figura 6), de manera que permita la caída de los taxones estudiados, pero evite la captura de animales no deseados, como micromamíferos, anfibios o pequeños reptiles, si se están estudiando artrópodos, por ejemplo. Asimismo, se trata de un accesorio que tiene cierta utilidad en climas húmedos y también en los muy secos. En los primeros, evita que el agua de lluvia entre en la trampa, aunque no pone remedio al agua de escorrentía. Y en los segundos, evita que el sol incida directamente en la trampa, de manera que si contiene algún líquido no se evapore tan rápidamente.

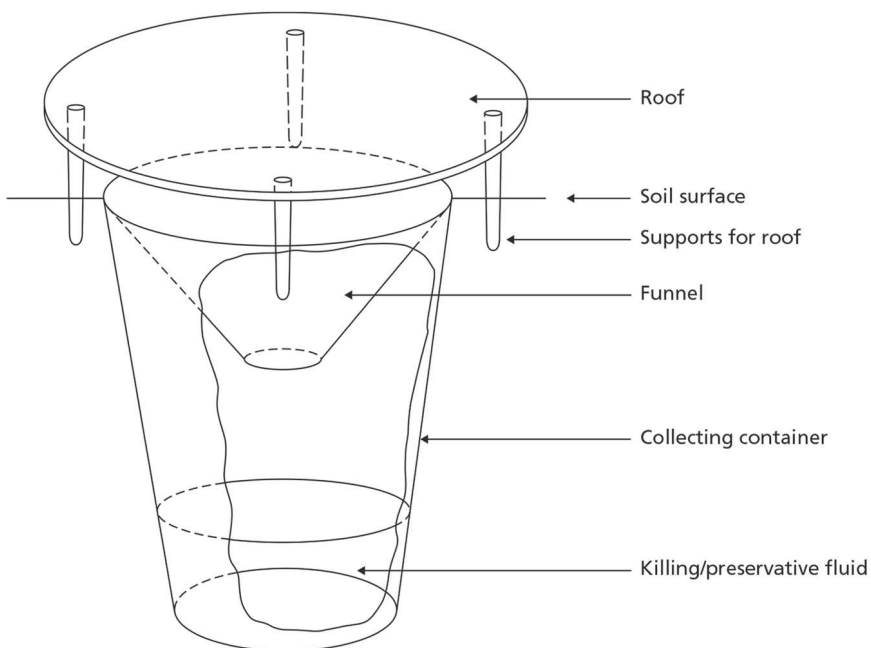


Figura 6. Esquema de una trampa de caída con sus diferentes partes. Extraída de Woodcock (2005).

Además de estos beneficios, ha quedado demostrado en la literatura científica que si la tapa es transparente, los invertebrados no se ven afectados por su presencia, por lo que no influye a la tasa de captura de estas especies (Baars, 1979; Phillips y Cobb, 2005).

Disposición espacial y estrategia de muestreo.

Las trampas de caída se disponen en el área de muestreo en un número, distancia y disposición específicos. En este apartado analizaremos tanto estos aspectos como las características generales de los muestreos en cuanto a tiempo de captura y momento de abertura de las trampas.

Distancia entre las trampas.

La distancia a la que se colocan las trampas de caída puede ser un factor de sesgo importante a la hora de describir los ensamblajes de especies de nuestra área de muestreo. Trampas muy cercanas entre sí pueden traer fenómenos de pseudoreplicación (Da Silva *et al.*, 2015), dando una idea de que nuestra área de muestreo es más homogénea de lo que realmente es. Sin embargo, otros estudios llegan a resultados contradictorios. Por ejemplo, Baker and Barmuta (2006) realizan comparaciones entre los ensamblajes de especies de cada una de las trampas y no encuentran correlación entre la distancia y las especies capturadas (en un rango de 1 a 100 m).

Para el caso de escarabajos, se ha estudiado bien la relación entre la distancia y el número de especies capturadas y en líneas generales se proponen distancias de 100 m en el caso de trampas cebadas (Da Silva *et al.*, 2015) y de 25 m el caso de trampas no cebadas (Ward *et al.*, 2001).

Para el caso particular de hormigas, hay muy pocos estudios que determinen la distancia mínima a la que se pueden colocar dos trampas de caída sin que exista autocorrelación espacial (Digweed *et al.*, 1995; Ward *et al.*, 2001; King y Porter, 2005). E incluso Ward, New and Yen (2001) proponen que la distancia entre trampas no afecta a la tasa de captura. Y otros como Gotelli *et al.* (2011) afirman que esta distancia variará en función de la composición de especies del ecosistema. Aun así, el bajo número, la variabilidad de distancias y el posible sesgo que podría causar este efecto en los distintos estudios dedicados a esta cuestión para el caso de hormigas. Todo esto hace que la distancia de colocación de trampas sea un factor interesante para su estudio, por ello, nos planteamos profundizar en este tema.



Disposición espacial.

La distribución espacial de las trampas en el área de muestreo es otro punto importante para la optimización de las capturas. Esta distribución cambiará dependiendo del tipo de muestreo y ha de ser la misma para que nuestros muestreos sean comparables. Existen 4 formas fundamentalmente:

Disposición aleatoria: Consiste en la distribución de trampas por toda el área de muestreo de manera aleatoria (Cerdá *et al.*, 1997). Puede ser efectiva para muestreos de hábitat homogéneos con poca variabilidad espacial. Presenta problemas para la posterior localización de las trampas que se puede evitar, en parte, con el georreferenciado.

Transectos: Es uno de los métodos más usados (Honek, 1988; Good *et al.*, 1991; Carpintero *et al.*, 2004; Reyes-López y Carpintero, 2014). Consiste en disponer las trampas en línea con una separación constante. Es un sistema que se usa especialmente para detectar gradientes en comunidades de invertebrados. Por ejemplo, para detectar variaciones en las especies en función de la humedad por cercanía a un curso de agua.

Rejilla: Las trampas se disponen formando una malla con una distancia similar entre cada una de ellas (Andersen, 1991; Abensperg-Traun y Steven, 1995; Weeks y McIntyre, 1997). Este método proporciona una buena cobertura de muestreo para áreas grandes y permite fácilmente localizar las zonas por donde se mueven los insectos.

Otras formas geométricas: Otros estudios requieren formas geométricas complejas, por ejemplo poligonales o circulares (Lasmar *et al.*, 2017).

Número de trampas.

El número de trampas colocadas deberá variar en función de la superficie del área de muestreo y su complejidad. Para ecosistemas más simples será necesario un menor número de trampas; sin embargo, en ecosistemas complejos habrá que incrementar el esfuerzo de muestreo (Delabie *et al.*, 2000). Esto es porque una estructura de vegetación compleja aporta diversidad al hábitat, lo que afecta directamente a la riqueza de especies (Siemann *et al.*, 1998).

Tiempo de captura.

El tiempo de captura es una de las variables más discutidas (Borgelt y New, 2006; Stanley *et al.*, 2008; Schirmel *et al.*, 2010), dependiendo en gran medida de ciertos factores, unos propios de nuestro muestreo y otros del tipo de hábitat. Por ejemplo, en el caso de que usemos trampas con agua, el tiempo de captura no puede ser muy largo para evitar la descomposición de las capturas y evaporación del líquido. En otros estudios en los que se usan agentes conservantes como el glicerol, el alcohol o el formaldehído, los tiempos pueden alargarse. Aun así, numerosos estudios demuestran que el tiempo de captura óptimo para hormigas ronda entre las 48 h y los 7 días (Borgelt y New, 2006; Schirmel *et al.*, 2010).

Borde de la trampa.

La distancia del borde de la trampa (ver Figura 6) con respecto al nivel del suelo (enrase) es otra de las variables críticas que puede modificar nuestra tasa de captura. Cuando el borde superior de la trampa sobresale del suelo, se producirá un descenso general en la tasa de captura más pronunciado en las especies de menor tamaño (Good *et al.*, 1991).

Por otro lado, si el borde está por debajo del nivel del suelo, habrá más posibilidad de que caigan detritus en la trampa, ya sea por gravedad, escorrentía o la acción del viento (Hammond, 1990). Esto dificulta las labores de identificación de los especímenes y su posterior conservación, además de facilitar su escape. De esta manera, lo óptimo es colocar las trampas enrasadas con la superficie del suelo. Pese a ello, es cierto que aun así pueden caer restos vegetales o tierra en las trampas. Sin embargo, es con este último método con el obtendremos mejores resultados y más cercanos a la realidad.

Digging– in.

Este es un efecto producido por la perturbación debido a la excavación realizada durante la colocación de trampas de caída y que provoca un incremento temporal de capturas de artrópodos (Greenslade, 1973). Dicho efecto está bien descrito en un buen número de taxones como colémbolos (Entognatha: Collembola), hormigas (Hymenoptera: Formicidae), carábidos (Coleoptera: Carabidae) y otros coleópteros, arañas (Arachnida: Araneae) o isópodos (Malacostraca: Isopoda), entre otros.



Se barajan distintas razones que pueden provocar este fenómeno, como una disminución del número de individuos en la zona de estudio debido a las primeras capturas realizadas por las trampas de caída (Greenslade, 1973), o un incremento de las posibles presas debido a la perturbación del suelo lo que atraería a los sujetos de estudio (Skvarla *et al.*, 2014). Se ha registrado también un aumento de la concentración de CO₂ debido a la alteración de la estructura del suelo, lo que en algunas especies provoca un incremento de la actividad que puede continuar durante los dos primeros días tras la activación de la trampa (Joosse y Kapteijn, 1968). Y finalmente, otra posible razón que puede inducir este fenómeno es la disminución de barreras físicas, lo que facilita el movimiento de los individuos por las zonas excavadas (Greenslade, 1964).

Pero hay que considerar que de la misma manera que existen estudios que apoyan la existencia del efecto *digging-in*, también los hay que demuestran que tanto en hábitats forestales (Lasmar *et al.*, 2017) como en pastizales (Schirmel *et al.*, 2010) no se produce este fenómeno, o si se produce, en el caso particular de hormigas, no tiene ningún efecto significativo.

Debido a que existen tantas opiniones y resultados contradictorios encontrados a este respecto, se planteó determinar si en ecosistemas mediterráneos, se produce o no, y cuál sería la prevalencia de este efecto a lo largo del tiempo, desde la abertura de la trampa hasta su cierre.

Contenido de las trampas.

Las trampas puedan llevar, o no, algún agente en su interior que provoque algún efecto en las capturas (ver Figura 6) como, por ejemplo, atracción, repulsión, disminuir la tasa de escape, etc. Por tanto, atendiendo a la presencia o ausencia de contenido y a la naturaleza de este podemos clasificar las trampas de caída en secas y húmedas:

Trampas secas.

Son un tipo de trampas de caída que carecen de líquido alguno. Se colocan para la captura de ejemplares vivos, ya sea porque sólo se necesita contabilizar su presencia o para muestreos tipo captura-recaptura (Thomas *et al.*, 1998). Han de ser revisadas con mucha asiduidad, pues al contener animales vivos, pueden producirse luchas que acaben con la muerte o mutilación de los ejemplares (Woodcock, 2005). También, debido a la

capacidad de algunos artrópodos para escalar por superficies lisas y planas, es común que algunos escapen, por lo que se suelen usar embudos u otros sistemas (Figura 6) que dificulten la huida de los individuos capturados (Weeks y McIntyre, 1997).

Trampas húmedas.

Son aquellas trampas de caída que contienen algún producto, para evitar que las capturas escapen y/o impedir su descomposición. Para lo primero, generalmente se emplea una solución de base acuosa que produce la muerte de las capturas y evita que estas escapen (*killing-agent*). Es habitual que se añada a la solución una pequeña cantidad de detergente (entre un 0.5 y 1%). Dicha solución rompe la tensión superficial del líquido y permite que las capturas se hundan más fácilmente. De esta manera, se incrementa la eficacia de la trampa, sea del tipo que sea, debido a que se disminuye la probabilidad de que los especímenes escapen (Woodcock, 2005).

Si el tiempo de permanencia en el campo es tal que los individuos capturados pueden descomponerse, se ha emplear algún tipo de conservante. En la Tabla 1 aparecen diferentes productos que se usan con este fin.

Tabla 1. Tabla de clasificación de algunos conservantes usados con trampas de caída, ventajas y desventajas. Tabla extraída de Woodcock (2005) y ampliada.

Conservantes	Ventajas y Desventajas	Citas
Etolanol	Barato y de fácil disponibilidad. Buen conservante. Atrayente. Volátil.	(Greenslade y Greenslade, 1971; Andersen, 1991; Lindsey y Skinner, 2001; Borgelt y New, 2006; Pendola y New, 2007; Szinwelski <i>et al.</i> , 2012)
Glicerol o glicerina	Barato, de fácil disponibilidad. Buen conservante, en ocasiones se usa junto con el alcohol. Atrayente. Presenta problemas para la posterior conservación en seco de los especímenes.	(Greenslade y Greenslade, 1971; Andersen, 1991; Lindsey y Skinner, 2001; Szinwelski <i>et al.</i> , 2012)
Etilenglicol	Barato y de fácil disponibilidad, al emplearse como anticongelante de coches. Tóxico para pájaros y mamíferos. Atrayente para algunos invertebrados.	(Marsh, 1984; Olson y Jun, 1991; Weeks y McIntyre, 1997; Melbourne, 1999; Koivula <i>et al.</i> , 2003; Pendola y New, 2007)
Formaldehído	Barato y de disponibilidad relativamente fácil. Buen conservante. Problemas de seguridad y salud. Tóxico. ¿Atrayente?	(Romero y Jaffe, 1989; Szinwelski <i>et al.</i> , 2012)
Propilenglicol	Más caro que el Etilenglicol, pero menos tóxico. ¿Atrayente?	(Weeks y McIntyre, 1997; Wang <i>et al.</i> , 2001)
Parafina	Barato y fácil de conseguir. Se ha observado una disminución de las capturas al usar este conservante.	(Koivula <i>et al.</i> , 2003)
Sal	Barato y de fácil disponibilidad. Cierta valor conservante, puede producir daños en algunos especímenes. ¿Posible atrayente?	(Koivula <i>et al.</i> , 2003)



A veces los agentes conservantes juegan un doble papel, el ya citado y el de evitar o reducir la evaporación del líquido (normalmente agua) que incluye la trampa. En general, los agentes conservantes no deberían traer diferencias en la tasa de captura (Greenslade y Greenslade, 1971). Aun así existe actualmente cierto reparo al uso de algunos conservantes de fuerte olor, como el formaldehído, además de por su toxicidad por su posible efecto repelente.

Cebos.

Son sustancias que incrementan las probabilidades de captura y además, pueden aplicarse a distintos usos:

- Aumentar la tasa de captura en hábitat pobres y poco diversos o la captura de especies raras (Greenslade y Greenslade, 1971).
- Incrementar la tasa de captura en un grupo concreto.(Wang *et al.*, 2001).
- Son adecuados para la realización de inventarios biológicos que no tengan en cuenta el número de individuos capturados, como por ejemplo listados de especies(Gotelli *et al.*, 2011).

De cualquier manera, el uso de cebos produce distintos efectos que han de ser tenidos en cuenta:

- Los cebos no atraen de forma similar a todas las especies (Greenslade y Greenslade, 1971). Por tanto, debemos seleccionar nuestro tipo de cebo en función del objetivo o la especie o grupo diana (ver Tabla 2).
- No introducen mucha más información que las trampas convencionales, pero sí un incremento considerable de las capturas de especies dominantes (Greenslade y Greenslade, 1971). Así que, salvo que los objetivos del estudio lo requieran, se debe evitar en medios diversos, en los que sus posibles beneficios son marginales (Greenslade y Greenslade, 1971; Romero y Jaffe, 1989).
- Su eficacia puede diferir en función de la climatología y la hora del día, ya que pueden cambiar sus características y alcance (Greenslade y Greenslade, 1971; Romero y Jaffe, 1989).

Tabla 2. Clasificación de algunos de los cebos más usados en muestreos con trampas de caída.

Cebos	Citas
<i>Proteicos y aminoácidos</i>	
Carne	(Romero y Jaffe, 1989)
Pescado y derivados	(Romero y Jaffe, 1989; Lopes y Vasconcelos, 2008; Stanley <i>et al.</i> , 2008)
Glutamina	(Tiede <i>et al.</i> , 2017)
<i>Glucídicos</i>	
Miel	(Romero y Jaffe, 1989; Wang <i>et al.</i> , 2001)
Azúcar y siropes	(Greenslade y Greenslade, 1971; Tiede <i>et al.</i> , 2017)
<i>Fermentados</i>	
Cerveza	(Greenslade y Greenslade, 1971)
<i>Lipídicos</i>	
Aceite de oliva	(Tiede <i>et al.</i> , 2017)
Mantequilla de cacahuete	(Wang <i>et al.</i> , 2001)
<i>Otros</i>	
Sal común	(Tiede <i>et al.</i> , 2017)

Características del medio.

Estructura de la vegetación alrededor de la trampa.

La exclusión de la vegetación herbácea alrededor de la trampa es otra de las características importantes que pueden modificar de una manera notable su efectividad. En general, todos los autores convienen en que, aquellas trampas colocadas en un área de exclusión de la vegetación herbácea, presentan una mayor tasa de captura. En el lado contrario, las trampas rodeadas de vegetación herbácea presentarían una mejor tasa de captura que las anteriores (Honek, 1988; Melbourne, 1999; Phillips y Cobb, 2005). Esto puede deberse a cambios microclimáticos (incremento de la temperatura y el consecuente incremento de la actividad de los artrópodos) (Honek, 1988), o a los propios cambios físicos en la superficie al eliminar barreras, que pueden alterar el curso de la rutas o la velocidad del movimiento de los artrópodos (Greenslade, 1964).



Bibliografía

- Abensperg-Traun M y Steven D (1995) The effects of pitfall trap diameter on ant species richness (Hymenoptera: Formicidae) and species composition of the catch in a semi-arid eucalypt woodland. *Australian Journal of Ecology* 20:282-287.
- Andersen AN (1991) Sampling communities of ground-foraging ants: pitfall catches compared with quadrat counts in an Australian tropical savanna. *Australian Journal of Ecology* 16:273-279.
- Andersen AN (1997) Using ants as bioindicators: multiscale issues in ant community ecology. *Conservation Ecology* 1.
- Azcárate FM y Peco B (2012) Abandonment of grazing in a mediterranean grassland area: Consequences for ant assemblages. *Insect Conservation and Diversity* 5:279-288.
- Baars MA (1979) Catches in pitfall traps in relation to mean densities of carabid beetles. *Oecologia* 41:25-46.
- Baker SC y Barmuta LA (2006) Evaluating spatial autocorrelation and depletion in pitfall-trap studies of environmental gradients. *Journal of Insect Conservation* 10:269-276.
- Barber HS (1931) Traps for cave-inhabiting insects. *Journal of the Mitchell Society* 46:259-266.
- Borgelt A y New TR (2006) Pitfall trapping for ants (Hymenoptera, Formicidae) in mesic Australia: What is the best trapping period? *Journal of Insect Conservation* 10:75-77.
- Brown GR y Matthews IM (2016) A review of extensive variation in the design of pitfall traps and a proposal for a standard pitfall trap design for monitoring ground-active arthropod biodiversity. *Ecology and Evolution* 6:3953-3964.
- Bugalho MN, Lecomte X, Gonçalves M, Caldeira MC y Branco M (2011) Establishing grazing and grazing-excluded patches increases plant and invertebrate diversity in a Mediterranean oak woodland. *Forest Ecology and Management* 261:2133-2139.

- Bugalho MN, Plieninger T, Aronson J, Ellatifi M y Crespo DG (2009) Open woodlands: a diversity of uses (and overuses). Cork oak woodlands on the edge: ecology, biogeography, and restoration of an ancient Mediterranean ecosystem. (Ed. Aronson J, Pereira JS y Pausas J) Island Press, Washington, pp 33-48.
- Campos P, Huntsinger L, Oviedo Pro JL, Starrs PF, Diaz M, Standiford RB y Montero G (Eds) (2013) Mediterranean oak woodland working landscapes. Springer Netherlands, Dordrecht.
- Caro T (2010) Conservation by proxy: indicator, umbrella, keystone, flagship and other surrogate species. Island Press, Washington.
- Carpintero S, Reyes-López J y Ordóñez-Urbano C (2008) Papel de las áreas protegidas pequeñas en la conservación de la biodiversidad. Mirmecofauna (Hymenoptera: Formicidae) asociada al monumento natural de los «Sotos de la Albolafia» (Córdoba, España). Boletín Sociedad Entomológica Aragonesa 43:283-290.
- Carpintero S, Reyes-López J y De Reyna LA (2004) Impact of human dwellings on the distribution of the exotic Argentine ant: A case study in the Doñana National Park, Spain. *Biological Conservation* 115:279-289.
- Catarineu C, Barberá GG y Reyes-López JL (2018) Zoogeography of the Ants (Hymenoptera: Formicidae) of Southeastern Iberian Peninsula. *Sociobiology* 65:383.
- Cerdá X, Retana J, Cros S, Journal S, May N, Cerda XIM, Retana J y Cros S (1997) Thermal disruption of transitive hierarchies in Mediterranean ant communities. *Journal of Animal Ecology* 66:363-374.
- Crist TO (2009) Biodiversity, species interactions, and functional roles of ants (Hymenoptera: Formicidae) in fragmented landscapes: a review. *Myrmecological News* 12:3-13.
- Dauber J, Niechoj R, Baltruschat H y Wolters V (2008) Soil engineering ants increase grass root arbuscular mycorrhizal colonization. *Biology and Fertility of Soils* 44:791-796.
- Delabie JHC, Fisher BL, Majer JD y Wright IW (2000) Sampling Effort and Choice Methods. *Ants: Standard Methods for Measuring and*



- Monitoring Biodiversity. (edsD Agosti, JD Majer, LE Alonso y TR Schultz) Smithsonian Institution Press, Washington, pp 144-154.
- Díaz, M. , Campos, P. y Pulido FJ (1997) The Spanish dehesas: a diversity of land use and wildlife. Farming and birds in Europe: The Common Agricultural Policy and its implicatins for bird conservation. London, pp 178-209.
- Díaz Esteban M y Pulido Díaz FJ (2009) Dehesas perennifolias de *Quercus* spp. Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino., Madrid.
- Díaz M, Pulido FJ y Marañón T (2003) Diversidad biológica y sostenibilidad ecológica y económica de los sistemas adehesados. Ecosistemas 12:1-10.
- Digweed SC, Currie CR, Carcamo HA y Spence JR (1995) Digging out the «digging-in effect» of pitfall traps: influences depletion and disturbance on catches of ground beetles (Coleoptera: Carabidae). Pedobiologia 39:561-576.
- Engel J, Hertzog L, Tiede J, Wagg C, Ebeling A, Briesen H y Weisser WW (2017) Pitfall trap sampling bias depends on body mass, temperature, and trap number: Insights from an individual-based model. Ecosphere 8.
- European Council (1992) Council Directive 92/43/EEC of 21 May 1992 on the conservation of natural habitats and of wild fauna and flora. Official Journal of the European Union 206:7-50.
- Freshwater Ecology and Management Research Group Index of riparian quality : QBR. Universitat de Barcelona.
- Gibbs JP (1998) Amphibian movements in response to forest edges, roads, and streambeds in Southern New England. The Journal of Wildlife Management 62:584.
- Gómez-Gutiérrez JM (1992) El libro de las dehesas salmantinas. Consejería de Medio Ambiente y Organización Territorial, Junta de Castilla y León, Salamanca.
- Gonçalves F, Zina V, Carlos C, Crespo L, Oliveira I y Torres L (2017) Ants (Hymenoptera: Formicidae) and spiders (Araneae) Co-occurring in

- the ground of vineyards from Douro demarcated region. *Sociobiology* 64:404-416.
- Good JA, Giller PS, Journal T y Dec N (1991) The effect of cereal and grass management on Staphylinid (Coleoptera) assemblages in South-West Ireland. *Journal of Applied Ecology* 28:810-826.
- Gotelli NJ, Ellison AM, Dunn RR y Sanders NJ (2011) Counting ants (Hymenoptera: Formicidae): biodiversity sampling and statistical analysis for myrmecologists. *Myrmecological News* 15:13-19.
- Greenslade PJM (1964) Pitfall trapping as a method for studying populations of Carabidae (Coleoptera). *The Journal of Animal Ecology* 33:301-310.
- Greenslade PJM (1973) Sampling ants with pitfall traps: digging-in effects. *Insectes Sociaux* 20:343-353.
- Greenslade P y Greenslade PJM (1971) The use of baits and preservatives in pitfall traps. *Australian Journal of Entomology* 10:253-260.
- Halsall NB y Wratten SD (1988) The efficiency of pitfall trapping for polyphagous predatory Carabidae. *Ecological Entomology* 13:293-299.
- Hammond PM (1990) Insect abundance and diversity in the Dumoga-Bone National Park, N.Sulawesi, with special reference to the beetle fauna of lowland rain forest in the Toraut region. *Insects and the rain forests of Southeast Asia (Wallacea)*. (eds WJ Knight y JD Holloway) The Royal Entomological Society, London, pp 197-254.
- Hammond HEJ, Langor DW y Hartley DJ (2018) Effect of pitfall trap depth on epigaeic beetle sampling (Coleoptera: Carabidae and Staphylinidae) in wet forested ecosites in Alberta, Canada. *Canadian Entomologist* 150:813-820.
- Handel SN y Beattie AJ (1990) Seed dispersal by ants. *Scientific American* 263:76-84.
- Hertz M (1927) Huomioita petokuoiraisten olinpaikoista. *Luonnon Ystävää* 31:218-222.
- Heydemann B (1957) Die biotopstruktur als raumwiderstand und



raumfülle für die tierwelt. Verhandlungen der Deutschen Zoologischen Gesellschaft 20:332-347.

Hölldobler B y Wilson EO (1990) The ants. Belknap Press, Cambridge.

Holway DA, Lach L, Suarez A V., Tsutsui ND y Case TJ (2002) The causes and consequences of ant invasions. Annual Review of Ecology and Systematics 33:181-233.

Honek A (1988) The effect of crop density and microclimate on pitfall trap catches of Carabidae, Staphylinidae (Coleoptera), and Lycosidae (Araneae) in cereal fields. Pedobiologia 32:233-242.

Hummel HE (1980) Carabid beetles in their environments: a study on habitat selection by adaptations in physiology and behavior. Physiological Zoology 53:242-243.

Joose E (1965) Pitfall-trapping as a method for studying surface dwelling Collembola. Zeitschrift für Morphologie und Ökologie der Tiere 55:587-596.

Joose ENG y Kapteijn JM (1968) Activity-stimulating phenomena caused by field-disturbance in the use of pitfall-traps. Oecologia 1:385-392.

Jouquet P, Dauber J, Lagerlöf J, Lavelle P y Lepage M (2006) Soil invertebrates as ecosystem engineers: Intended and accidental effects on soil and feedback loops. Applied Soil Ecology 32:153-164.

Junta de Andalucía (2019) Ecosistemas de dehesa: Desarrollo de políticas y herramientas para la gestión y conservación de la biodiversidad.

King JR y Porter SD (2005) Evaluation of sampling methods and species richness estimators for ants in upland ecosystems in Florida. Environmental Entomology 34:1566-1578.

Klein J (1920) The Mesta: a study in Spanish economic history, 1273-1836. The Hispanic American Historical Review 5:255.

Knapp M, Baranovská E y Jakubec P (2016) Effects of bait presence and type of preservative fluid on ground and carrion beetle samples collected by pitfall trapping. Environmental Entomology 45:1022-1028.

- Koivula M, Kotze DJ, Hiisivuori L y Rita H (2003) Pitfall trap efficiency: do trap size, collecting fluid and vegetation structure matter? *Entomologica Fennica* 14:1-14.
- Lafage D, Secondi J, Georges A, Bouzillé JB y Pétilion J (2014) Satellite-derived vegetation indices as surrogate of species richness and abundance of ground beetles in temperate floodplains. *Insect Conservation and Diversity* 7:327-333.
- Larue P, Bélanger L y Huot J (1995) Riparian edge effects on boreal balsam fir bird communities. *Canadian Journal of Forest Research* 25:555-566.
- Lasmar CJ, Queiroz ACMM, Rabello AM, Feitosa RM, Canedo-Júnior EO, Schmidt FA, Cuissi RG y Ribas CR (2017) Testing the effect of pitfall-trap installation on ant sampling. *Insectes Sociaux* 64:445-451.
- Leiva MJ y Vera M (2015) Effect of artificial shelters of dead branches on acorn survival and dispersal in shrub-lacking Mediterranean dehesas. *New Forests* 46:965-978.
- Lindsey PA y Skinner JD (2001) Ant composition and activity patterns as determined by pitfall trapping and other methods in three habitats in the semi-arid Karoo. *Journal of Arid Environments* 48:551-568.
- Lopes CT y Vasconcelos HL (2008) Evaluation of three methods for sampling ground-dwelling ants in the Brazilian cerrado. *Neotropical entomology* 37:399-405.
- Lorion CM y Kennedy BP (2009) Relationships between deforestation, riparian forest buffers and benthic macroinvertebrates in neotropical headwater streams. *Freshwater Biology* 54:165-180.
- Lozanovska I, Ferreira MT y Aguiar FC (2018) Functional diversity assessment in riparian forests – multiple approaches and trends: A review. *Ecological Indicators* 95:781-793.
- Luff ML (1975) Some features influencing the efficiency of pitfall traps. *Oecologia* 19:345-357.
- Luque García G, Reyes López J y Fernández Haeger J (2004) Experimental test of effects of habitat heterogeneity and plant diversity on ant



- community. Proceedings 10th MEDECOS. Rhodes, Greece, pp 1-7.
- Manning AD, Fischer J y Lindenmayer DB (2006) Scattered trees are keystone structures – Implications for conservation. *Biological Conservation* 132:311-321.
- Marczak LB, Sakamaki T, Turvey SL, Deguise I, Wood SLR y Richardson JS (2010) Are forested buffers an effective conservation strategy for riparian fauna? An assessment using meta-analysis. *Ecological Applications* 20:126-134.
- Marsh A (1984) The efficacy of pitfall traps for determining the structure of a desert ant community. *Journal of the Entomological Society of Southern Africa* 47:115-120.
- Martin M (1996) La dehesa. *Agricultura* 762:44-49.
- Melbourne BA (1999) Bias in the effect of habitat structure on pitfall traps: an experimental evaluation. *Austral Ecology* 24:228-239.
- Mengak MT y Guynn DC (1987) Pitfalls and snap traps for sampling small mammals and herpetofauna. *American Midland Naturalist* 118:284.
- Nakamura A, Catterall CP, House APNN, Kitching RL y Burwell CJ (2007) The use of ants and other soil and litter arthropods as bio-indicators of the impacts of rainforest clearing and subsequent land use. *Journal of Insect Conservation* 11:177-186.
- Nessimian JL, Venticinque EM, Zuanon J, De Marco P, Gordo M, Fidelis L, D'arc Batista J y Juen L (2008) Land use, habitat integrity, and aquatic insect assemblages in Central Amazonian streams. *Hydrobiologia* 614:117-131.
- New TR (1999) By-catch, ethics, and pitfall traps. *Journal of Insect Conservation* 3:1-3.
- Niemela J, Haila Y, Halme E, Pajunen T y Punttila P (1992) Small-scale heterogeneity in the spatial distribution of Carabid beetles in the Southern Finnish Taiga. *Journal of Biogeography* 19:173.
- Ning D, Yang F, Xiao Q, Ran H y Xu Y (2019) A simple and efficient method for preventing ant escape (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News* 29:57-65.

- Olson DM y Jun N (1991) A Comparison of the efficacy of litter sifting and pitfall traps for sampling leaf litter ants (Hymenoptera , Formicidae) in a Tropical Wet Forest , Costa Rica a comparison of the efficacy of litter sifting and pitfall traps for sampling leaf litter ant. 23:166-172.
- Ordóñez-Urbano C, Reyes-López J y Carpintero S (2007) Estudio faunístico de los formicidos (Hymenoptera: Formicidae) asociados a los bosques de ribera en la provincia de Córdoba (España). Primeras aportaciones. Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa (S.E.A) 40:367-375.
- Pendola A y New TR (2007) Depth of pitfall traps—does it affect interpretation of ant (Hymenoptera: Formicidae) assemblages? Journal of Insect Conservation 11:199-201.
- Pérez-Mellado V (1992) Los anfibios y reptiles de la dehesa. El libro de las dehesas salamantinas. (Ed. Gómez-Gutiérrez JM) Junta de Castilla y León, Salamanca, pp 337-362.
- Pulido F y Picardo Á (2010) Libro verde de la dehesa. Documento para el debate hacia una estrategia ibérica de gestión.
- Ramírez JA y Díaz M (2008) The role of temporal shrub encroachment for the maintenance of Spanish holm oak *Quercus ilex* dehesas. Forest Ecology and Management 255:1976-1983.
- Ramírez Hernández A, Micó Balaguer E y Galante Patiño E (2015) El ecosistema de dehesa como reservorio de diversidad de insectos saproxílicos (Coleoptera y Diptera: Syrphidae) y factores que determinan sus ensamblajes.
- Reyes-López J y Carpintero S (2014) Comparison of the exotic and native ant communities (Hymenoptera: Formicidae) in urban green areas at inland, Coastal and insular sites in Spain. European Journal of Entomology 111:421-428.
- Rieske LK y Raffa KF (1993) Potential use of baited pitfall traps in monitoring pine root weevil, *Hylobius pales*, *Pachylobius picivorus*, and *Hylobius radicis* (Coleoptera: Curculionidae) populations and infestation levels. Journal of Economic Entomology 86:475-485.
- Rios SL y Bailey RC (2006) Relationship between riparian vegetation and stream benthic communities at three spatial scales.



- Romero H y Jaffe K (1989) A Comparison of methods for sampling ants (Hymenoptera, Formicidae) in Savannas. *Biotropica* 21:348.
- Ruiz-Lupi3n D, Pascual J, Melguizo-Ruiz N, Verdeny-Vilalta O y Moya-Lara3n J (2019) New litter trap devices outperform pitfall traps for studying arthropod activity. *Insects* 10:147.
- San Miguel A (1994) La dehesa espa3ola. Origen, tipolog3a, caracter3sticas y gesti3n. (Fundaci3n Conde del Valle de Salazar, Ed.). Madrid.
- S3nchez Mart3nez C, Benito Pe3il D, Garc3a de Enterr3a S, Barajas Castro I, Mart3n Herrero N, P3rez Ruiz C, S3nchez S3nchez J, S3nchez Agudo J3, Rodr3guez de la Cruz D, Galante Pati3o E, Marcos Garc3a M3 y Mic3 Balaguer E (2012) Manual de gesti3n sostenible de bosques abiertos mediterr3neos. Castilla Tradicional, Salamanca.
- Schirmel J, Lenze S, Katzmann D y Buchholz S (2010) Capture efficiency of pitfall traps is highly affected by sampling interval. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 136:206-210.
- Siemann E, Tilman D, Haarstad J y Ritchie M (1998) Experimental tests of the dependence of arthropod diversity on plant diversity. *The American naturalist* 152:738-750.
- Da Silva PG, Hern3ndez MIM, Silva PG da y Hern3ndez MIM (2015) spatial patterns of movement of dung beetle species in a tropical forest suggest a new trap spacing for dung beetle biodiversity studies (Ed. C3rdoba-Aguilar A). *PLOS ONE* 10:e0126112.
- Silva TH, Karunarathna NB y Karunaratne WA (2017) Competence of litter ants for rapid biodiversity assessments. *International Journal of Biodiversity* 2017:1-10.
- Skvarla MJ, Larson JL y Dowling APG (2014) Pitfalls and preservatives: a review. *Journal of the Entomological Society of Ontario* 145:15-43.
- Southwood TRE, Henderson PA, Southwood R y Henderson PA (2000) *Ecological methods*. Blackwell Science.
- Spence JR y Niemel3 JK (1994) Sampling carabid assemblages with pitfall traps: The madness and the method. *The Canadian Entomologist* 126:881-894.

- Spurgeon DW (2019) Common statistical mistakes in entomology: pseudoreplication. *American Entomologist* 65:16-18.
- Stanley M, Ward D, Harris R, Arnold G, Toft R y Rees J (2008) Optimizing pitfall sampling for the detection of Argentine ants, *Linepithema humile* (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology* 51:461-472.
- Szinwelski N, Fialho VS, Yotoko KSC, Seleme LR y Sperber CF (2012) Ethanol fuel improves arthropod capture in pitfall traps and preserves DNA. *ZooKeys* 196:11-22.
- Tews J, Brose U, Grimm V, Tielbörger K, Wichmann MC, Schwager M y Jeltsch F (2004) Animal species diversity driven by habitat heterogeneity/diversity: the importance of keystone structures. *Journal of Biogeography* 31:79-92.
- Thomas CFG, Parkinson L y Marshall EJP (1998) Isolating the components of activity-density for the carabid beetle *Pterostichus melanarius* in farmland. *Oecologia* 116:103-112.
- Tiede Y, Schlautmann J, Donoso DA, Wallis CIB, Bendix J, Brandl R y Farwig N (2017) Ants as indicators of environmental change and ecosystem processes. *Ecological Indicators* 83:527-537.
- Tretzel E (1954) Reife- und fortpflanzungszeit bei spinnen. *Zeitschrift für Morphologie und Ökologie der Tiere* 42:634-691.
- Umetsu F, Naxara L y Pardini R (2006) Evaluating the efficiency of pitfall traps for sampling small mammals in the neotropics. *Journal of Mammalogy* 87:757-765.
- Verdinelli M, Yakhlef S, Cossu C, Pilia O y Mannu R (2017) Variability of ant community composition in cork oak woodlands across the Mediterranean region: implications for forest management. *iForest - Biogeosciences and Forestry* 10:707-714.
- Villamarín C, Rieradevall M, Paul MJ, Barbour MT y Prat N (2013) A tool to assess the ecological condition of tropical high Andean streams in Ecuador and Perú: The IMEERA index. *Ecological Indicators* 29:79-92.
- Wang C, Strazanac J y Butler L (2001) A comparison of pitfall traps with



bait traps for studying leaf litter ant communities. *Journal of Economic Entomology* 94:761-765.

Ward DF, New TR y Yen AL (2001) Effects of pitfall trap spacing on the abundance, richness and composition of invertebrate catches. *Journal of Insect Conservation* 5:47-53.

Weeks RD y McIntyre NE (1997) A comparison of live versus kill pitfall trapping techniques using various killing agents. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 82:267-273.

Williamson P y Evans PR (1972) Lead: levels in roadside invertebrates and small mammals. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 8:280-288.

Woodcock BA (2005) Pitfall trapping in ecological studies. *Insect Sampling in Forest Ecosystems*. (Ed. Leather SR) 1.^a edn. Blackwell Science Ltd, Oxford, UK, pp 37-57.

OBJETIVOS

Dada la necesidad de dar con herramientas efectivas para determinar el estado de conservación de los ecosistemas naturales y antrópicos, se planteó la presente tesis doctoral con los objetivos generales de analizar el papel de las hormigas como bioindicadoras en dos tipos de hábitats de interés probado en el sur de la península ibérica, como son los ecosistemas de dehesa y los bosques de ribera. Asimismo, se pretendió establecer un sistema eficiente para el muestreo de dichas especies.

Así, los objetivos específicos de cada capítulo, fueron:

Bloque 1 – Las hormigas (Hymenoptera: Formicidae) como bioindicadoras.

Capítulo 1: Las hormigas (Hymenoptera: Formicidae) como grupo subrogado de los artrópodos epigeos en las dehesas del norte de Andalucía (España).

- Estudiar el papel de las hormigas como grupo subrogado de los artrópodos epigeos en dehesas andaluzas.
- Comprobar el papel que juegan en la biodiversidad de la dehesa las pequeñas áreas naturalizadas o small natural features (SNFs)

Capítulo 2: Variabilidad de los ensamblajes de hormigas en la dehesa mediterránea: efectos de las variables ambientales, geográficas y de gestión.

- Identificar las especies de hormigas en dehesas a lo largo de Sierra Morena (Andalucía).
- Analizar de qué manera afectan a su composición y diversidad la localización, los factores ambientales y el uso de las diferentes fincas, así como la presencia de pequeñas áreas naturalizadas.



Capítulo 3: Las hormigas como un grupo indicador de impacto ambiental humano en los bosques de ribera del río Guadalquivir (Andalucía, España).

- Completar el inventario de especies de hormigas típicas de bosques de ribera de este río.
- Determinar el posible uso de estas especies como grupo indicador de impacto ambiental humano en dichos ecosistemas.

Bloque 2 – Factores de sesgo en muestreos de hormigas con trampas de caída

Capítulo 4: El efecto “digging-in” en estudios de hormigas con trampas de caída: influencia del tipo de hábitat y tiempo de muestreo.

- Examinar las consecuencias sobre las capturas del proceso de colocación de las trampas de caída en el terreno (efecto *digging-in*).

Capítulo 5: Efecto de la abertura y la profundidad a de las trampas de caída como factor de sesgo en muestreos de hormigas (Hymenoptera: Formicidae).

- Comprobar el efecto de la profundidad y el tamaño de abertura de las trampas de caída como factor de sesgo en los muestreos de hormigas.

Capítulo 6: Efecto de la distancia entre trampas de caída en los estudios de hormigas (Hymenoptera: Formicidae).

- Examinar de qué manera afecta la distancia entre trampas de caída en las muestras de hormigas.



BLOQUE 1

**Las hormigas (Hymenoptera:
Formicidae) como bioindicadores.**

CAPÍTULO 1

Las hormigas (Hymenoptera: Formicidae) como grupo subrogado de los artrópodos epigeos en las dehesas del norte de Andalucía (España)



*“Las ovejas me pisan cuando pasan,
y comen en mis dedos los gorriones;
se creen que soy tierra las hormigas
y los hombres se creen que no soy nada.”*

Gloria Fuertes

Los pájaros anidan. *Antología y poemas del suburbio*, 1954.

Resumen

Las dehesas son ecosistemas agro-silvo-pastorales importantes y extensos en la península ibérica que, en la actualidad, sufren una profunda crisis debida a su baja rentabilidad económica y a la degradación ambiental. Por lo tanto, es necesario la identificación de herramientas efectivas que proporcionen una idea confiable del estado de estos ecosistemas como punto de partida para establecer medidas para su conservación. En este trabajo analizamos el posible papel de las hormigas como grupos subrogados de los artrópodos epigeos, un grupo común de indicadores de biodiversidad. Se tomaron muestras de un total de 15 explotaciones de dehesa a lo largo de Sierra Morena (Andalucía, España) mediante la colocación de trampas de caída tanto en las zonas de dehesa como en los diferentes microhábitats dentro de cada zona de estudio.

Logramos un listado completo de las especies de hormiga de cada zona de muestreo. Los resultados indicaron que los hábitats de dehesa fueron muy homogéneos para todas las fincas, mientras que los microhábitats mostraron diferencias en la riqueza de especies y la composición de las comunidades de hormigas en comparación con las dehesas. Para evaluar el papel de las hormigas como grupos subrogados, se comparó el número de trampas ocupadas por cada orden de artrópodos con cada especie de hormiga. Encontramos una alta correlación entre ellos que confirma el carácter de las hormigas como grupo subrogado del resto de artrópodos epigeos en este tipo de ecosistemas.



RESEARCH ARTICLE - ANTS

Ants (Hymenoptera: Formicidae) as surrogates for epigeic arthropods in Northern Andalusian 'dehesas' (Spain)

F JIMÉNEZ-CARMONA, S CARPINTERO, JL REYES-LÓPEZ

University of Córdoba, Department of Botany, Ecology and Plant Physiology. Campus de Rabanales, Córdoba, Spain

Article History

Edited by

Wesley Dáttilo, Instituto de Ecología A.C., Mexico
 Received 28 November 2019
 Initial acceptance 12 January 2020
 Final acceptance 18 February 2020
 Publication date 30 June 2020

Keywords

Bioindicators; formicidae; pastureland; holm oak; pitfall traps.

Corresponding author

Francisco Jiménez-Carmona
 University of Córdoba, Department of Botany,
 Ecology and Plant Physiology,
 Edificio Celestino Mutis, 1ª Planta Campus de
 Rabanales, 14071 - Córdoba, Spain.
 E-Mail: francisco.jimenez@uco.es

Abstract

The 'dehesas' are important and vast agro-silvo-pastoral systems typical of the Iberian Peninsula that are undergoing a crisis due to their low economic profitability and environmental degradation. Thus, it is necessary to identify effective tools that provide a reliable idea of the status of these ecosystems as a starting point for future measures of conservation. In this study we analyse the possible role of ants as surrogates for epigeic arthropods, a common biodiversity indicator group. A total of 15 farms were sampled throughout Sierra Morena (Andalusia, Spain) with pitfall traps, both for the 'dehesa' habitats themselves and for different microhabitats within the study sites. First, we achieve a complete list of the species of ants of the area. The results indicate that the 'dehesa' habitats were very homogenous for all farms, while microhabitats showed differences in species richness and ant communities' composition compared to the 'dehesas'. To evaluate the role of ants as surrogates, the number of traps occupied by each order of arthropod and by each ant species was compared. We found a high correlation between them what confirm the surrogate character of ants for the rest of arthropods in these ecosystems.

Introduction

The 'dehesas' are agro-silvo-pastoral systems typical of central-western and south-western Iberian Peninsula. They consist of vast extensions of pastures with scattered adult acorn-producing trees that provide shade, shelter and food to livestock (Duque-Lazo & Navarro-Cerrillo, 2017). In general, the ecosystems of 'dehesas' are similar to savannas, due to the low level of soil moisture, little or none litter cover under trees and shrubs, which are usually evergreen, and the high temperatures reached (Leiva & Fernández-Alés, 2003). The 'dehesas' have an anthropogenic origin, deriving from the pre-existing Mediterranean forest through the elimination of the scrub and part of the tree cover, and thus promoting the growth of grass for livestock use (San Miguel, 1994). Although these landscapes come from earlier times,

there is evidence of the use of the word 'dehesa' from the early Middle Ages (Álvarez-Guzmán, 2016). Thenceforth, traditionally they have been dedicated to different activities, mainly extensive livestock rearing (cattle, sheep, goats and/or pigs), but also pasture and grain production, usually for livestock, or hunting use (Klein, 1920; San Miguel, 1994; Martín, 1996). In Spain the 'dehesas' comprise a total of 2,360,700 has (Martín, 1996), principally in the communities of, Extremadura, Castilla La Mancha, Castilla y León and the largest extension in Andalusia with 1,263,143 ha (Costa Pérez et al., 2006). Not only do the 'dehesas' fulfill important roles in the Spanish agriculture but also in the environmental protection. In this respect, they are included in the Natura 2000 network as Ecosystems of Community Interest (Díaz Esteban & Pulido Díaz, 2009; European Directive 92/43/ECC; Marañón et al., 2012), because they are emblematic examples





of Mediterranean managed landscapes with high biodiversity, including threatened species such as the Spanish lynx (*Lynx pardinus* (Temminck, 1827)) (Díaz Esteban & Pulido Díaz, 2009; Álvarez-Guzmán, 2016). They are also considered key cultural landscapes for their aesthetic, historic and ecotourism roles (Marañón et al., 2012; Maldonado et al., 2019). Despite all their values, nowadays the 'dehesas' are undergoing a crisis as result of their low economic profitability and of the environmental degradation derived from the loss of traditional management and from other multiple factors, such as the decay of tree canopy or the fragmentation of habitat (Díaz et al., 1997; Plieninger et al., 2004; Escribano et al., 2018). This forces the competent institutions to adopt the necessary measures to keep or restore their status of conservation (Pulido & Picardo, 2010).

As a starting point to set future plans of protection, it is very important to consider what are the best measures to evaluate the current status of the ecosystems. One of the first tasks required when designing conservation strategies is to estimate the biodiversity (Caro, 2010; Laurila-Pant et al., 2015). This knowledge is essential for a proper environmental management. When facing a biodiversity inventory, one of the most outstanding group are the arthropods, because they represent a high percentage in terms of biomass (Bar-On et al., 2018) and they participate in essential functions of the ecosystems (Yang & Gratton, 2014; Schowalter, 2017). But the main problem for the knowledge of this phylum is their megadiversity (Smith et al., 2005). The experts are usually specialized in specific groups, such as orders, and even families or genders; this implies that to study all the arthropod taxa would be an extensive work and the need to involve numerous researchers.

The estimation of species richness is one of the most common ways to measure the biodiversity of an ecosystem (Noss, 1990), but many times this is a complex duty. In recent times, efforts have been made to simplify this task by searching for shortcuts (Moreno et al., 2007). One of the possible methods is the search for groups whose diversity represents other taxa of the community whose study is more complex for any reason, these are the surrogate groups (Moreno et al., 2007; Lewandowski et al., 2010; Lindenmayer & Likens, 2011). The use of surrogates is an important option to mitigate the shortage of biodiversity data and by sampling only one group, instead of the entire community, time and money are saved (Heino et al., 2005). There is no standard agreement to estimate the suitability of a taxon as a surrogate indicator, but efforts have been made for searching certain taxa as surrogates according to their representativeness of the diversity of other groups (see for example Leal et al. (2010)).

Ants (Hymenoptera: Formicidae) display a series of characteristics that make them suitable as a good group of bioindicators (Andersen, 1997; Crist, 2009; Nakamura et al., 2007; Ribas et al., 2012; Underwood & Fisher, 2006; Verdine et al., 2017). They present high ecological fidelity

and are functionally important in the ecosystems, participating in multiple relevant functions, such as: the decomposition of organic matter, soil turning, pollination, zoochory, predation of other arthropods or being prey for many other groups of animals (Folgarait, 1998; Philpott & Armbricht, 2006; Crist, 2009; Diamé et al., 2017). Moreover, they respond to disturbances in their habitats, regardless of their origin, in a predictable, quick and generally in a linear way (Philpott et al., 2009). They are abundant and well distributed throughout the planet, being in all continents and ecosystems except in Antarctica (Hölldobler & Wilson, 1990). Finally, there is a good knowledge of their taxonomy and they are easily found in the field and sampled (Agosti et al., 2000).

All these factors may lead to conclude that ants are a group susceptible of being surrogate for other taxa. At this respect, some studies have shown that ants, either by their own or together with other groups of fauna or flora, can be considered as surrogates for plants (Gadagkar et al., 1993; Pfeiffer et al., 2003) or for a set of taxa, either just of invertebrates (Sauberer et al., 2004; Nakamura et al., 2007), or also including vertebrates and/or plants (Sauberer et al., 2004; Majer et al., 2007; Leal et al., 2010). However, other studies reported negative results (Osborn et al., 1999; Allen et al., 2001; Dauber et al., 2003; Sackmann et al., 2006; Bennett et al., 2009; Uys et al., 2010; Landeiro et al., 2012; Pérez-Fuertes et al., 2016; Gibb et al., 2017; Hanford et al., 2017; Barton et al., 2019). These contradictory results are not rare. The accuracy of these shortcuts depend on different factors, which are: the studied the studied taxa, the scale of the study and, being the case, the environmental information used (Moreno et al., 2007). Indeed, everything indicates that ants may act as surrogates or not, depending on the group with which they are being related, as well as on the type of habitat. For example, tropical zones are megadiverse, which probably make difficult the task of describing completely their communities. Therefore, individualized studies for every zone and taxon are required if we propose the search of a shortcut for assessing species diversity (Moreno et al., 2007).

Within this context, given the importance of the 'dehesas' in the Iberian Peninsula and the scarcity of information on their conservation status, we wished to test the hypothesis of whether ants could be a good subrogated group for arthropods in these ecosystems. For this purpose, we developed this work with the following specific objectives: first, to carry out an exhaustive work for the knowledge of the 'dehesa' ants communities, then to evaluate the role of ants as a subrogated group for the rest of arthropods.

Material and Methods

Study site

This study was carried out in 15 'dehesas' along Andalusia (Southern Spain), in the years 2016 and 2017 (Table 1). The distances between more remote farms is 300

km (Figure 1A and Table 1). The study 'dehesa' ecosystems are dedicated to livestock, hunting and agriculture. The predominant arboreal species is *Quercus ilex* L. subsp. *ballota* (Desf.) Samp. In some 'dehesas' *Olea europaea* var. *sylvestris* Brot. and *Quercus suber* L. may appear occasionally, and with less frequency and scattered distribution: *Ceratonia siliqua* L., *Pyrus bourgaeana* Decne., *Pinus pinea* L., *Prunus dulcis* (Mill.) D.A. Webb, *Quercus faginea* Lam. and *Quercus pyrenaica* Willd. Depending on the 'dehesa', the herbaceous

layer may include either natural or improved pastures, or monospecific crops (such as wheat, oats, barley, vetch or pea). Regarding the livestock species, swines and bovines predominate. Ovines, caprines, equines and even beehives are also present. The shrub layer, when present, forms patches in steep zones and low exploitation value areas, either for livestock or agriculture. The main species are *Cistus* sp., *Quercus coccifera* L., *Thymus* spp. *Nerium oleander* L., *Pistacia lentiscus* L., *Retama sphaerocarpa* (L.) Boiss.

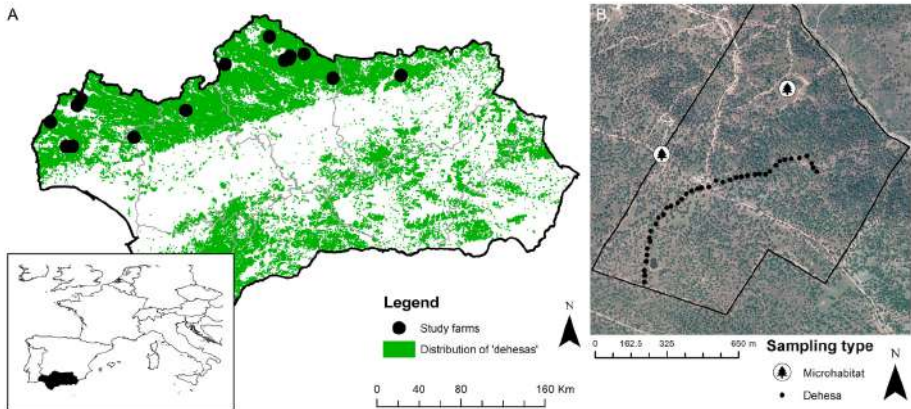


Fig 1. A) Location map of the study 'dehesas' (layer of distribution of 'dehesas' from REDIAM: Andalusian Environmental Information Network). B) Pitfall traps position according to both sampling types ('dehesas' and microhabitats) for the farm AS05, as an example.

Most of the surface of the study farms shows the typical 'dehesa' landscape, but there are also small unmanaged areas (microhabitats) with different characteristics. They include: the dense scrub patches describe above; ponds; streams' riparian forests; and vegetation zones adjacent to traditional stone walls (Table 1). Moreno et al. (2007) found that despite occupying a low proportion of the farm area, these microhabitats (called by them marginal habitats) contribute largely to the biodiversity of these ecosystems. Therefore, for the study we differentiated two types of sampling areas: the landscape of the 'dehesa' itself (DE) and the microhabitats (MH).

Climatology

The predominant climate is the Mediterranean, specifically Mediterranean mountain climate (Junta de Andalucía, 2019), with hot summers and cold winters (annual average range between 11 and 18 °C). The accumulated rains range between 600 and 1,200 mm, with maximums in autumn and winter and minimums in summer (Gómez-Zotano et al., 2015).

Experimental design

Sampling was performed with pitfall traps. These constitute an easy and effective sampling system for

communities of epigeic arthropods and they are recommended as part of a standard protocol for measuring biodiversity (Agosti et al., 2000; Gotelli & Colwell, 2001; Prasifka et al., 2007; Sheikh et al., 2018). Traps consisted of 150-ml translucent plastic cups (upper ϕ 5.7 cm, base ϕ 5 cm, depth 7.3 cm. REF 409702, DELTALAB SL). They were set at ground level, flushed with the soil surface, and placed in the field for 48 h. Traps were filled with a killing agent consisting of 30-35 ml of water with 1% of detergent, to break the surface tension of water and prevent the escape of little individuals. We did not employ any bait so the traps were suitable to calculate both presence of species and their relative abundance (Wang et al., 2001).

Collected specimens were separated into two groups: Formicidae and other arthropods. Ants were identified to species level. Their abundance was quantified by counting the number of workers per each trap, as well as by the number of traps occupied by each species (Gotelli et al., 2011). In the case of the rest of the arthropods, they were identified to order level (except for subclass Acari) and the number of traps occupied by each one was recorded. Numerous studies have shown that the estimation of the diversity of arthropods at the taxonomic level of order can be a very useful tool for the



Table 1. Codes for the study farms, their location, surface and years of sampling. Five farms were full sampled in 2017 ('dehesas' and microhabitats). In the rest of the farms the 'dehesas' were sampled in 2016 and the microhabitats in 2017. Means of annual temperatures (MEAN T.) and means of accumulated rainfall (MEAN ACU. RAIN.) are included. Microhabitats column shows the different types of microhabitats sampled per farm: zones adjacent to traditional stone walls (SW); scrub patches (SP); vegetation of temporary water courses (VW); ponds (P); riparian forest (RF).

CODE	FARM	LOCATION	PROVINCE	COORDINATES	SURFACE (Ha)	YEARS	MEAN T. (°C)	MEAN ACU. RAIN. (mm)	MICRO-HÁBITATS
AP05	La Juanita	Alosno	Huelva	37.555913°, -7.082250°	191.14	17	17.81	639.01	SP, RF
AP06	Paymoguillo	Paymogo	Huelva	37.751957°, -7.330534°	109.4	16-17	17.00	671.00	VW, SP
AS02	El Palomar de la Morra	Pozoblanco	Córdoba	38.348277°, -4.819241°	96.69	17	15.70	544.00	SW, VW
AS05	Lote de los Pérez	Cazalla de la Sierra	Sevilla	37.896797°, -5.875586°	107.7	16-17	16.27	661.59	SW, SP
AS06	Las Morrillas	Pozoblanco	Córdoba	38.360550°, -4.771079°	157.42	17	15.62	538.96	SW, P
CO01	Las Ánimas	Aroche	Huelva	37.962325°, -7.012390°	77.62	16-17	15.96	779.81	SW, VW
CO05	Monterrey y Carretero	Aroche	Huelva	37.905465°, -7.049219°	119.59	17	16.34	773.34	SW, VW
CO08	Quebradahonda	Castillo de las Guardas	Sevilla	37.653961°, -6.421098°	114.14	16-17	17.08	782.91	SW, VW
CO12	Majada del Indio	El Viso	Córdoba	38.545339°, -4.986985°	123.94	16-17	16.05	527.79	VW, SP
EN04	Encinarejo	Alosno	Huelva	37.551441°, -7.148217°	281.33	16-17	17.65	617.79	SW, VW
FA01	Las Hazas	Villanueva de Córdoba	Córdoba	38.403720°, -4.603515°	459.09	16-17	15.35	594.48	SW, VW
FA05	La Panadera	Pozoblanco	Córdoba	38.381964°, -4.758971°	83.6	17	15.70	553.00	SW, SW
FA11	Santa Clotilde	Cardeña	Córdoba	38.202356°, -4.286978°	292	16-17	15.48	887.26	VW, SP
UP23	Oropesa	Fuente Ovejuna	Córdoba	38.299421°, -5.463488°	110.69	16-17	15.73	564.71	SW, VW
UP24	Las Caras	Vilches	Jaén	38.229856°, -3.544986°	592.61	16-17	16.76	574.51	SW, SP

evaluation of the conservation status of different ecosystems (Wettstein & Schmid, 1999; Cecil et al., 2019; Holmquist & Schmidt-Gengenbach, 2019).

According to Crist and Wiens (1996), ants may display different distribution patterns even at small scales. To avoid this possible effect and to cover the largest possible area of the study sites, we placed a single linear transect of 1600 m that crossed the larger axis of every farm (Figure 1B). These transects consisted of 40 pitfall traps, separated one trap from the next by 40 m. If there were fences with pigs (*Sus scrofa domestica* L.) they were avoided, since they often unearth and destroy the traps.

As regards microhabitats (MH), we sampled two of them per farm. Depending on the study site the MH type could vary (see in Table 1). As the area of the MH is much smaller than the one of the DE, the method to set the pitfall traps necessarily had to be different. Accordingly, we set one transect per MH, with 10 pitfall traps separated each trap from the next 2 m. This methodology has been used by our research group in numerous occasions with proven effectiveness. Therefore, in total per farm and for both sampling modalities, 60 pitfall traps were placed (40 in DE and 10+10 in MH).

The sampling was conducted during the springs and summers (May-June) of 2016 and 2017, being this the peak period of activity for most ant species of these latitudes (Cros et al., 1997; Carpintero et al., 2007). In Table 1 it is specified the timing of sampling for every farm.

Statistical analysis

Adequation of the sampling systems - Ants

The adequation of sampling effort and methodology was tested with ants' rarefaction curves (Mao's tau) based on abundance of workers per species and trap. The sample coverage was calculated for each sampling area (Chao & Chiu, 2016; function "Diversity"; package "SpadeR"), this index measures "[...] the proportion of the total individuals in a community that belong to the species represented in the sample", this is a measure of sample completeness (Chao & Jost, 2012).

Comparison of the fauna of DE and MH and evaluation of farms homogeneity - Ants

In order to compare the richness and composition of species (relative abundance of each species) of ants of the 'dehesas' versus microhabitats, the traps were divided into three categories: first comprised the twenty traps of the

microhabitats (MH); for the second and third categories we selected the first and second twenty traps of the 'dehesas' (D1 and D2 respectively), this is to have a balance design (20 traps per category). Besides, comparing the first and second twenty traps of DE it was also possible to test the homogeneity of these ecosystems. With these groups of traps (D1, D2 and MH) we performed two statistical analyzes: a factorial One-way ANOVA analysis was performed with the number of ant species per trap to compare the richness between sampling categories (D1, D2 and MH); to compare the structure of ant assemblages (relative abundance of the species) per sampling category (D1, D2 and MH), a One-way PERMANOVA analysis was performed with the matrix of the number of traps occupied by each species. Bray-Curtis distances were applied, with 9999 permutations for the calculation of the similarity matrix.

Surrogacy study

The role of ants as surrogates for arthropods was analysed by means of a PLSR (Partial Least Squares Regression) analysis. This allows to establish a linear regression between two matrices of variables (predicted vs. observed variables) of unequal size (ants vs. arthropods), which are projected to a new space (Abdi, 2010). The analysis was performed with the number of traps occupied by each species of ants versus number of traps occupied by

the different groups of arthropods. The use of the covariance matrix and of the correlation matrix were evaluated to perform this analysis, using the system that explained more variance.

Spatial autocorrelation

In order to account for spatial autocorrelation we carried out a Mantel test (Mantel, 1967), which calculated the conditional correlation of two matrices of the same rank (diversity of ants and of arthropods) eliminating the effect of a third one (geographical location of the study sites) (Smouse et al., 1986).

These analyses were performed with the statistical packages PAST 3.20 (Hammer et al., 2001), R v 3.6.2 (R Core Team, 2019) and STATISTICA v 8.0 (StatSoft Inc., 2001).

Results

Formicidae study

Ants species

The species rarefaction curves (Figure 2) for each site reached or approached their asymptote. These results are reinforced by the sample coverage analysis (Table 3), that shows values close to 1, what confirms that all or most of the species of the sampling areas have been recorded.

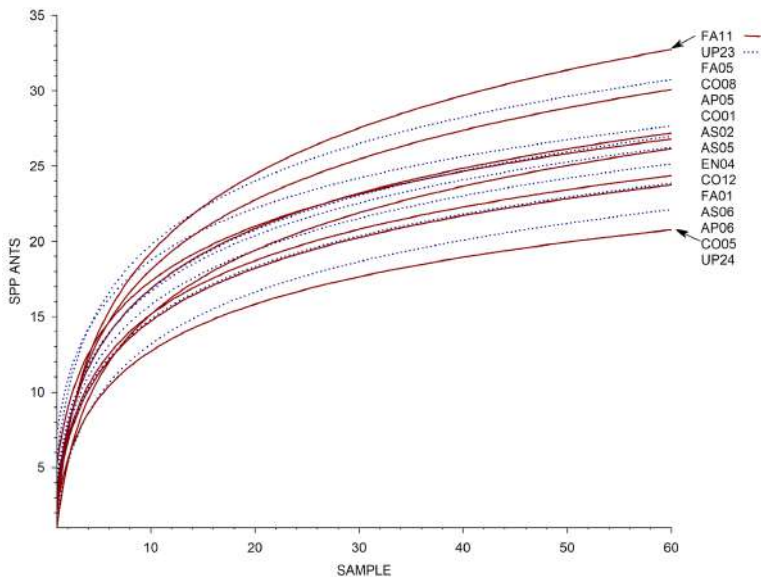


Fig. 2. Rarefaction curves of ants for each farm, with the abundance of workers per species and trap. The curves are alternatively drawn in solid and dotted lines for a better differentiation.

**Table 2.** List of the species of ants and their abbreviations. Number of farms where each species was located (NF); total number of traps occupied by each species (NT); total abundance of workers-individuals (NW).

SPECIES	AUTHOR, YEAR	ABBREV	NF	NT	NW
<i>Aphaenogaster dulcinea</i>	Emery, 1924	APHDUL	11	45	79
<i>Aphaenogaster gibbosa</i>	(Latreille, 1798)	APHGIB	15	139	322
<i>Aphaenogaster iberica</i>	Emery, 1908	APHIBE	14	288	1246
<i>Aphaenogaster senilis</i>	Mayr, 1853	APHSEN	9	170	865
<i>Camponotus cruentatus</i>	(Latreille, 1802)	CAMCRU	11	186	1119
<i>Camponotus fallax</i>	(Nylander, 1856)	CAMFAL	4	7	7
<i>Camponotus figaro</i>	Collingwood & Yarrow, 1969	CAMFIG	1	2	2
<i>Camponotus foreli</i>	Emery, 1881	CAMFOR	8	16	76
<i>Camponotus lateralis</i>	(Olivier, 1792)	CAMLAT	5	10	37
<i>Camponotus micans</i>	(Nylander, 1856)	CAMMIC	4	8	9
<i>Camponotus pilicornis</i>	(Roger, 1859)	CAMPIL	14	50	94
<i>Camponotus sylvaticus</i>	(Olivier, 1792)	CAMSYL	7	12	22
<i>Cataglyphis hispanica</i>	(Emery, 1906)	CATHIS	15	612	2704
<i>Cataglyphis iberica</i>	(Emery, 1906)	CATIBE	9	60	234
<i>Cataglyphis rosenhaueri</i>	Santschi, 1925	CATROS	7	34	107
<i>Colobopsis truncata</i>	(Spinola, 1808)	COLTRU	2	4	4
<i>Crematogaster auberti</i>	Emery, 1869	CREAUB	11	49	191
<i>Crematogaster scutellaris</i>	(Olivier, 1792)	CRESCU	14	77	511
<i>Crematogaster sordidula</i>	(Nylander, 1849)	CRESOR	3	4	44
<i>Formica cunicularia</i>	Latreille, 1798	FORCUN	3	5	15
<i>Formica gerardi</i>	(Bondroit, 1917)	FORGER	2	2	5
<i>Goniomma baeticum</i>	Reyes & Rodríguez, 1987	GONBAE	8	18	34
<i>Goniomma hispanicum</i>	(André, 1883)	GONHIS	13	46	139
<i>Goniomma kugleri</i>	Espadaler, 1986	GONKUG	3	5	5
<i>Iberoformica subrufa</i>	(Roger, 1859)	IBESUB	15	448	6858
<i>Lasius grandis</i>	Forel, 1909	LASGRA	4	20	478
<i>Lasius lasioides</i>	(Emery, 1869)	LASLAS	13	45	97
<i>Messor barbarus</i>	(Linnaeus, 1767)	MESBAR	15	484	6010
<i>Messor bouvieri</i>	Bondroit, 1918	MESBOU	5	20	120
<i>Messor celiae</i>	Reyes, 1985	MESCEL	3	7	19
<i>Messor hispanicus</i>	Santschi, 1919	MESHIS	8	23	65
<i>Messor lusitanicus</i>	Tinaut, 1985	MESLUS	1	2	2
<i>Myrmica aloba</i>	Forel, 1909	MYRALO	1	2	8
<i>Oxyopomyrmex saulcyi</i>	Emery, 1889	OXYSAU	13	36	181
<i>Pheidole pallidula</i>	(Nylander, 1849)	PHEPAL	9	38	627
<i>Plagiolepis pygmaea</i>	(Latreille, 1798)	PLAPYG	15	192	667
<i>Plagiolepis schimtzii</i>	(Latreille, 1798)	PLASCH	11	56	135
<i>Proformica ferreri</i>	Bondroit, 1918	PROFER	1	5	25
<i>Solenopsis spp.</i>		SOLSPP	14	56	105
<i>Tapinoma madeirense</i>	Forel, 1895	TAPMAD	1	1	2
<i>Tapinoma nigerrimum cf.</i>	(Nylander, 1856)	TAPNIG	15	340	5227
<i>Temnothorax alfacarensis</i>	Tinaut, <i>in littere</i> .	TEMALF	1	2	4
<i>Temnothorax angustulus</i>	(Nylander, 1856)	TEMANG	2	3	3
<i>Temnothorax racovitzai</i>	(Bondroit, 1918)	TEMRAC	11	39	141
<i>Temnothorax recedens</i>	(Nylander, 1856)	TEMREC	3	8	12
<i>Temnothorax tyndalei</i>	(Nylander, 1856)	TEMTYN	2	5	8
<i>Tetramorium caespitum cf.</i>	(Linnaeus, 1758)	TETCAE	5	11	34
<i>Tetramorium forte</i>	Forel, 1904	TETFOR	15	262	2364
<i>Tetramorium semilaeve</i>	André, 1883	TETSEM	15	310	1904

A total of 32,820 workers from 49 different species, belonging to 19 genera, were captured. There was an average of 26 species per farm (21-33 species) (SM1). The following species were in every farm and with high abundance: *Aphaenogaster gibbosa* (Latreille, 1798), *Cataglyphis hispanica*

(Emery, 1906), *Iberoformica subrufa* (Roger, 1859), *Messor barbarus* (Linnaeus, 1767), *Plagiolepis pygmaea* (Latreille, 1798), *Tapinoma nigerrimum* cf. (Nylander, 1856), *Tetramorium forte* Forel, 1904 and *Tetramorium semilaeve* André, 1883 (Table 2 and 3, and SM1).

Table 3. Species of ants per farm: Total number of species (SPP.TO); Sample coverage (SC); species in 'dehesas' (SPP.DE); species in microhabitats (SPP.MH); common species in both types of habitats (SPP.CO); species exclusive to microhabitats (SPP.EX.MH).

FARM	SPP.TO	SC	SPP.DE	SPP.MH	SPP.CO	SPP.EX.MH	% SPP.CO	% SPP.EX.MH
AP05	27	0.996	26	18	17	1	62.96	3.70
AP06	23	0.998	20	18	15	3	65.22	13.04
AS02	27	1	23	20	16	4	59.26	14.81
AS05	26	0.999	22	16	12	4	46.15	15.38
AS06	24	0.999	23	12	11	1	45.83	4.17
CO01	27	0.999	26	20	19	1	70.37	3.70
CO05	22	0.999	18	16	12	4	54.55	18.18
CO08	26	0.999	24	16	14	2	53.85	7.69
CO12	25	0.998	22	21	18	3	72.00	12.00
EN04	25	0.997	25	14	14	0	53.85	0.00
FA01	24	0.998	22	14	12	2	50.00	8.33
FA05	31	0.999	28	18	15	3	48.39	9.68
FA11	33	0.997	26	24	17	7	51.52	21.21
UP23	30	0.999	27	22	19	3	63.33	10.00
UP24	21	0.998	21	11	11	0	52.38	0.00
MINIMUM	21	0.996	18	11	11	0	45.83	0.00
AVERRAGE	26.1	100	23.5	17.3	14.8	2.5	56.79	9.46
MAXIMUM	33	1.000	28	24	19	7	72.00	21.21

Comparison of the fauna of DE and MH and evaluation of farms homogeneity - Ants

The results of the ANOVA showed that there were significant differences in the number of ant species per trap according to the different category of traps: first or second twenty traps of the 'dehesas' transects (D1 and D2), and twenty traps of microhabitats transects (MH) ($F=8.990$, $p<0.0001$). The post-hoc Tukey test HSD group to group delved into these results and revealed that D1 and D2 did not show significant differences ($p=0.2978$), while MH registered a significant higher capture rate than the other groups (D1 vs. MH $p=0.0188$ y D2 vs. MH $p<0.0001$). The sampling in microhabitats added 0-7 more species of ants to the list per farm, which accounted for 9.46 % of the species (Table 3). Moreover, there are three species that were only found in microhabitats: *Messor lusitanicus* Tinaut, 1985, *Myrmica aloba* Forel, 1909 and *Tapinoma madeirense* Forel, 1895.

A one-way PERMANOVA showed that there were significant differences between D1, D2 and MH ant assemblages' structure, according to the matrices of the number of traps occupied by each species (PERMANOVA one-way $F = 5.1230$, $p = 0.0001$). Again, a comparison by pairs revealed that the differences were due to MH (D1 vs. D2 $p = 0.5803$, D1 vs. MH $p = 0.0001$, D2 vs. MH $p = 0.0001$)

Other arthropods

Non-formicid arthropods comprised 34 groups, with an average of 21 per farm (17-25 groups). All the groups and the abbreviations used in the figures are shown in SM2. The most abundant groups, and found in every farm, were: Acari, Araneae, Coleoptera, Diptera, Entomobriomorpha, Hemiptera, Hymenoptera, Orthoptera and Symphyleona.

Comparison ants vs. other arthropods Surrogacy study

A PLSR analysis performed with the matrix of covariance (first axis explained 66.38% of the variance) showed that the diversity of ants vs. other arthropods was highly and significantly correlated ($r^2=0.8134$; $P < 0.0001$) (Figure 3).

Study of the spatial autocorrelation: Mantel Test.

The results of the test with the matrices of the number of traps occupied by ant species and by the arthropod groups was of $r=0.45$ ($p=0.0012$; for 9999 permutations). Then, the test analysed their correlation eliminating the possible effect of farms distance, with similar results ($r = 0.44$ $p=0.0011$, for 9999 permutations). Therefore, the location of farms did not have any effect on ants and arthropods correlation.

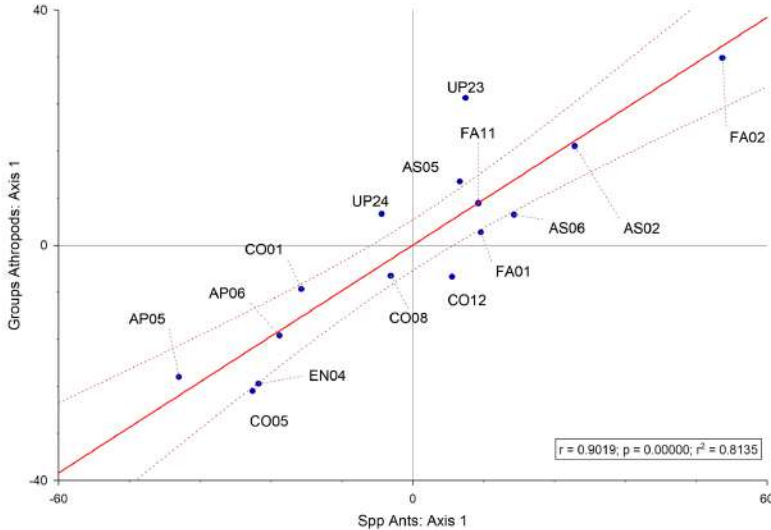


Fig 3. Correlation PLS of scores for axis 1 for the block of arthropod groups versus ants.

Discussion

The present study supports the hypothesis that ants can act as a surrogate group for general epigeic arthropods diversity in 'dehesa' ecosystems.

According to the ant fauna, the studied 'dehesas' constitutes a homogeneous habitat, with a group of common and very abundant species in all the sites sampled throughout Sierra Morena. These are mainly species adapted to open and warm ecosystems, such as *M. barbarus* and *C. hispanica*, or to open areas with the presence of a dispersed tree stratum (*I. subrufa*). Some species are adapted to live in the litter layer, for example *P. pygmaea*. Finally, there are a large group of generalist species, such as *A. gibbosa*, *T. nigerrimum* cf., *T. forte* and *T. semilaeve* (Roig & Espadaler, 2010).

The fact that not only did we study the typical 'dehesa' habitat, but also the different microhabitats of the farms completed the information about the sites. These samplings increased the number of species, even with the appearance of species exclusively found in microhabitats. Actually, the composition of ant assemblages in microhabitats showed significant differences with those of the typical habitat of 'dehesas'. These results confirm what has already been said by numerous authors that small variations in the structure of habitats will bring modifications in the composition of ant species (Menke & Vachter, 2014; Vasconcelos et al., 2014). Thus, in the microhabitats there were found some species typical of shaded and/or humid areas, such as *M. aloba* or *M. lusitanicus*.

Regarding the use of ants as a surrogate group for epigeic arthropods in 'dehesas' of northern Andalusia, in our work we have verified how both groups have a high correlation. At this respect, Leal et al. (2010) proposed a benchmark for assessing if a surrogate group provides a reliable prediction of other groups. They consider a surrogate "reasonable" if it explains > 60% of total species richness, "good" if it explains > 70% and "excellent" if it explains > 80%. In our case, the value of correlation of ants' diversity and arthropods is of $r^2 = 0.8134$, therefore we may consider that the ants of the 'dehesas' of Andalusia reflects to a large extent the community of epigeic arthropods. We found similar results in Nakamura et al. (2007), where a strong relationship between ant species and orders of insects from forests and subtropical grasslands of eastern Australia is found. Other authors also obtain positive values of surrogacy using different taxa. For example, Biaggini et al. (2007) studied in an area of similar climate to ours the possible role of the diversity of species of the family Carabidae (Coleoptera) as surrogate for other insect orders obtaining a significant correlation of more than 90% ($p \ll 0.05$). Guan et al. (2018), analysed the status of the species of gastropods as surrogates for the invertebrate orders of the lakes of China and obtained also a high correspondence ($r = 0.66$, $p \ll 0.05$).

These studies contribute to highlight the use of surrogate groups, at least in particular circumstances; we already established in the introduction the need to be wary and consider that there are multiple factors that may influence the validity of the surrogate groups (Moreno et al., 2007). And

also, it would depend on one's objectives, considering always the balance between the level of accuracy desired and the need to reduce the burden of addressing the study. In other words, as Wiens et al. (2008) suggest, we need to take into account how good is good enough. In the case of studies related to conservation and management of ecosystems or species, many times we need to achieve results in an effective, quick way. The use of surrogate groups may be especially helpful in this context. With our study we conclude that just with the study of ants, a single group with a good taxonomic resolution in the Iberian Peninsula, the situation of the epigeic arthropod community can be extrapolated, and therefore they could be used as a tool that help to evaluate the state of conservation of the 'dehesa' ecosystem.

Acknowledgements

This work has been financed by Life BioDehesa project (LIFE11 / BIO / ES / 000726) 'Dehesa ecosystems: Development of policies and tools for the management and conservation of biodiversity', European Union. We are very grateful to Jose Emilio Guerrero-Ginel (University of Cordoba) for the coordination of this project. Thank you to Sergio Andicoberry de los Reyes (University of Cordoba) and Alma M^a García Moreno, Belen Caño Vergara, Pedro J. Gómez Giráldez (IFAPA Córdoba, Junta de Andalucía) for their participation in the field work. The revision of the manuscript by Alba Jiménez-Guirval is gratefully acknowledged.

References

Abdi, H. (2010). Partial least squares regression and projection on latent structure regression (PLS Regression). Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics 2: 97–106. doi: 10.1002/wics.51

Agosti, D., Majer, J.D., Alonso, L.E., & Schultz, T.R. (2000). Ants: standard methods for measuring and monitoring biodiversity. Smithsonian Institution Press: Washington, 280 p.

Allen, C.R., Pearlstine, L.G., Wojcik, D.P., & Kitchens, W.M. (2001). The spatial distribution of diversity between disparate taxa: Spatial correspondence between mammals and ants across South Florida, USA. Landscape Ecology 16: 453–464. doi: 10.1023/A:1017998124698

Álvarez-Guzmán, J.R. (2016). The image of a tamed landscape: *dehesa* through History in Spain. Culture and History Digital Journal 5: 1–17. doi: 10.3989/chdj.2016.003

Andersen, A. (1997). Using ants as bioindicators: multiscale issues in ant community ecology. Conservation Ecology 1: doi: 10.5751/ES-00014-010108

Bar-On, Y.M., Phillips, R., & Milo, R. (2018). The biomass distribution on Earth. Proceedings of the National Academy of Sciences 115: 6506–6511. doi: 10.1073/pnas.1711842115

Barton, P.S., Evans, M.J., Sato, C.F., O'Loughlin, L.S., Foster, C.N., Florance, D., & Lindenmayer, D.B. (2019). Higher-taxon and functional group responses of ant and bird assemblages to livestock grazing: a test of an explicit surrogate concept. Ecological Indicators 96: 458–465. doi: 10.1016/j.ecolind.2018.09.026

Bennett, J.M., Kutt, A.S., Johnson, C.N., & Robson, S.K.A. (2009). Ants as indicators for vertebrate fauna at a local scale: an assessment of cross-taxa surrogacy in a disturbed matrix. Biodiversity and Conservation 18: 3407–3419. doi: 10.1007/s10531-009-9650-2

Biaggini, M., Consorti, R., Dapporto, L., Dellacasa, M., Paggetti, E., & Corti, C. (2007). The taxonomic level order as a possible tool for rapid assessment of arthropod diversity in agricultural landscapes. Agriculture, Ecosystems & Environment 122: 183–191. doi: 10.1016/j.agee.2006.12.032

Caro, T. (2010). Conservation by proxy: indicator, umbrella, keystone, flagship and other surrogate species, 1st edn. Island Press: Washington, 374 p.

Carpintero, S., Retana, J., Cerdá, X., Reyes-López, J.L., & Arias de Reyna, L. (2007). Exploitative strategies of the invasive Argentine ant (*Linepithema humile*) and native ant species in a southern Spanish pine forest. Environmental entomology 36: 1100–11. doi: http://dx.doi.org/10.1603/0046-225X(2007)36[1100:ESOTIA]2.0.CO;2

Cecil, E.M., Spasojevic, M.J., & Cushman, J.H. (2019). Cascading effects of mammalian herbivores on ground-dwelling arthropods: variable responses across arthropod groups, habitats and years. Journal of Animal Ecology 88: 1319–1331. doi: 10.1111/1365-2656.13033

Chao, A. & Chiu, C.-H. (2016). Species richness: estimation and comparison. Wiley StatsRef: Statistics Reference Online 1–26. doi: 10.1002/9781118445112.stat03432.pub2

Chao, A. & Jost, L. (2012). Coverage-based rarefaction and extrapolation: standardizing samples by completeness rather than size. Ecology 93: 2533–2547. doi: 10.1890/11-1952.1

Costa Pérez, J.C., Martín Vicente, Á., Fernández Alés, R., & Estrado Oliet, M. (2006). Dehesas de Andalucía : caracterización ambiental, 1st edn. Consejería de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio. Junta de Andalucía: Sevilla, 294 p.

Crist, T.O. (2009). Biodiversity, species interactions, and functional roles of ants (Hymenoptera: Formicidae) in fragmented landscapes: a review. Myrmecological News 12: 3–13

Crist, T.O. & Wiens, J.A. (1996). The distribution of ant colonies in a semiarid landscape: implications for community and ecosystem processes. Oikos 76: 301. doi: 10.2307/3546202

Cros, S., Cerdá, X., & Retana, J. (1997). Spatial and temporal variations in the activity patterns of Mediterranean ant communities. Ecoscience 4: 269–278. doi: 10.1080/11956860.1997.11682405



- Dauber, J., Hirsch, M., Simmering, D., Waldhardt, R., Otte, A., & Wolters, V. (2003). Landscape structure as an indicator of biodiversity: matrix effects on species richness. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 98: 321–329. doi: 10.1016/S0167-8809(03)00092-6
- Diamé, L., Rey, J.-Y., Vayssières, J.-F., Grechi, I., Chailleux, A., & Diarra, K. (2017). Ants: major functional elements in fruit agro-ecosystems and biological control agents. *Sustainability*, 10: 23. doi: 10.3390/su10010023
- Díaz Esteban, M. & Pulido Díaz, F.J. (2009). *Dehesas perennifolias de Quercus spp.*, 1st edn. Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino.: Madrid, 169 p.
- Díaz, M., Campos, P., & Pulido, F.J. (1997). The Spanish *dehesas*: a diversity in land-use and wildlife. In: Pain D, Pienkowski M (eds) *Farming and birds in Europe: The Common Agricultural Policy and its implications for bird conservation*. Academic Press: London, pp 178–209
- Duque-Lazo, J. & Navarro-Cerrillo, R.M. (2017). What to save, the host or the pest? The spatial distribution of xylophage insects within the Mediterranean oak woodlands of Southwestern Spain. *Forest Ecology and Management* 392: 90–104. doi: 10.1016/j.foreco.2017.02.047
- Escribano, M., Díaz-Caro, C., & Mesias, F.J. (2018). A participative approach to develop sustainability indicators for dehesa agroforestry farms. *Science of The Total Environment* 640–641: 89–97. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.05.297
- European Council (1992). Council Directive 92/43/EEC of 21 May 1992 on the conservation of natural habitats and of wild fauna and flora. *Official Journal of the European Union* 206: 7–50
- Folgarait, P. (1998). Ant biodiversity to ecosystem functioning: a review. *Biodiversity And Conservation* 7: 1121–1244. doi: 10.1023/A:1008891901953
- Gadagkar, R., Nair, P., Chandrashekara, K., & Bhat, D.M. (1993). Ant species richness and diversity in some selected localities of Western Ghats. *Hexapoda* 5: 79–94
- Gibb, H., Dunn, R.R., Sanders, N.J., et al. (2017). A global database of ant species abundances. *Ecology* 98: 883–884. doi: 10.1002/ecy.1682
- Gómez-Zotano, J., Alcántara-Manzanares, J., Olmedo-Cobo, J.A., & Martínez-Ibarra, E. (2015). La sistematización del clima mediterráneo: identificación, clasificación y caracterización climática de Andalucía (España). *Revista de geografía Norte Grande* 61: 161–180. doi: 10.4067/S0718-34022015000200009
- Gotelli, N.J. & Colwell, R.K. (2001). Quantifying biodiversity: procedures and pitfalls in the measurement and comparison of species richness. *Ecology Letters* 4: 379–391. doi: 10.1046/j.1461-0248.2001.00230.x
- Gotelli, N.J., Ellison, A.M., Dunn, R.R. & Sanders, N.J. (2011). Counting ants (Hymenoptera: Formicidae): biodiversity sampling and statistical analysis for myrmecologists. *Myrmecological News* 15: 13–19
- Guan, Q., Liu, J., Batzer, D.P., Lu, X., & Wu, H. (2018). Snails (Mollusca: Gastropoda) as potential surrogates of overall aquatic invertebrate assemblage in wetlands of Northeastern China. *Ecological Indicators* 90: 193–200. doi: 10.1016/j.ecolind.2018.01.069
- Hammer, Ø., Harper, D.A.T., & Ryan, P.D. (2001). PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4: 1–9. doi: 10.1016/j.bep.2008.05.025
- Hanford, J.K., Crowther, M.S., & Hochuli, D.F. (2017). Effectiveness of vegetation-based biodiversity offset metrics as surrogates for ants. *Conservation Biology* 31: 161–171. doi: 10.1111/cobi.12794
- Heino, J., Paavola, R., Virtanen, R., & Muotka, T. (2005). Searching for biodiversity indicators in running waters: do bryophytes, macroinvertebrates, and fish show congruent diversity patterns? *Biodiversity and Conservation* 14: 415–428. doi: 10.1007/s10531-004-6064-z
- Hölldobler, B. & Wilson, E.O. (1990). *The Ants*. Belknap Press: Cambridge, 746 p.
- Holmquist, J.G. & Schmidt-Gengenbach, J. (2019). Arthropod assemblages in a montane wetland complex: influences of adjoining lotic and lentic habitat and temporal variability. *Wetlands* 1–13. doi: 10.1007/s13157-019-01175-6
- Junta de Andalucía (2019). Rediam (Red de información ambiental de Andalucía). <http://www.juntadeandalucia.es/medioambiente/site/portaleweb/menuitem.7e1cf46ddf59bb227a9ebe205510e1ca/>. Accessed 10 Sep 2019
- Klein, J. (1920). The Mesta: a study in Spanish economic history, 1273-1836. *The Hispanic American Historical Review* 5: 255. doi: 10.2307/2506028
- Landeiro, V.L., Bini, L.M., Costa, F.R.C., Franklin, E., Nogueira, A., de Souza, J.L.P., Moraes, J., & Magnusson, W.E. (2012). How far can we go in simplifying biomonitoring assessments? An integrated analysis of taxonomic surrogacy, taxonomic sufficiency and numerical resolution in a megadiverse region. *Ecological Indicators* 23: 366–373. doi: 10.1016/j.ecolind.2012.04.023
- Laurila-Pant, M., Lehtikoinen, A., Uusitalo, L., & Venesjärvi, R. (2015). How to value biodiversity in environmental management? *Ecological Indicators* 55: 1–11. doi: 10.1016/j.ecolind.2015.02.034
- Leal, I.R., Bieber, A.G.D., Tabarelli, M., & Andersen, A.N. (2010). Biodiversity surrogacy: indicator taxa as predictors of total species richness in Brazilian Atlantic forest and

- Caatinga. *Biodiversity and Conservation* 19: 3347–3360. doi: 10.1007/s10531-010-9896-8
- Leiva, M.J. & Fernández-Alés, R. (2003). Post-dispersive losses of acorns from Mediterranean savannah-like forests and shrublands. *Forest Ecology and Management* 176: 265–271. doi: 10.1016/S0378-1127(02)00294-3
- Lewandowski, A.S., Noss, R.F., & Parsons, D.R. (2010). The effectiveness of surrogate taxa for the representation of biodiversity. *Conservation Biology* 24: 1367–1377. doi: 10.1111/j.1523-1739.2010.01513.x
- Lindenmayer, D.B. & Likens, G.E. (2011). Direct measurement versus surrogate indicator species for evaluating environmental change and biodiversity loss. *Ecosystems* 14: 47–59. doi: 10.1007/s10021-010-9394-6
- Majer, J.D., Orabi, G., Boisevac, L., Bisevac, L., & Byievac, L. (2007). Ants (Hymenoptera: Formicidae) pass the bioindicator scorecard. *Myrmecological News* 10: 69–76
- Maldonado, A.D., Ramos-López, D., & Aguilera, P.A. (2019). The role of cultural landscapes in the delivery of provisioning ecosystem services in protected areas. *Sustainability (Switzerland)* 11: 1–18. doi: 10.3390/su11092471
- Mantel, N. (1967). The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research* 27: 209–220
- Marañón, T., Ibáñez, B., Anaya-Romero, M., Muñoz-Rojas, M., & Pérez-Ramos, I.M. (2012). Oak trees and woodlands providing ecosystem services in Southern Spain. In: *Trees beyond the wood*. Sheffield, pp 369–378
- Martin, M. (1996). La dehesa. *Agricultura* 762: 44–49
- Menke, S.B. & Vachter, N. (2014). A Comparison of the effectiveness of pitfall traps and winkler litter samples for characterization of terrestrial ant (Formicidae) communities in temperate savannas. *The Great Lakes Entomologist* 47: 149–165
- Moreno, C.E., Rojas, G.S., Pineda, E., & Escobar, F. (2007). Shortcuts for biodiversity evaluation: a review of terminology and recommendations for the use of target groups, bioindicators and surrogates. *International Journal of Environment and Health* 1: 71. doi: 10.1504/IJENVH.2007.012225
- Nakamura, A., Catterall, C.P., House, A.P.N.N., Kitching, R.L., & Burwell, C.J. (2007). The use of ants and other soil and litter arthropods as bio-indicators of the impacts of rainforest clearing and subsequent land use. *Journal of Insect Conservation* 11: 177–186. doi: 10.1007/s10841-006-9034-9
- Noss, R.F. (1990). Indicators for monitoring biodiversity: a hierarchical approach. *Conservation Biology* 4: 355–364. doi: 10.1111/j.1523-1739.1990.tb00309.x
- Osborn, F., Goitia, W., Cabrera, M., & Jaffé, K. (1999). Ants, plants and butterflies as diversity indicators: comparisons between strata at six forest sites in Venezuela. *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 34: 59–64. doi: 10.1076/snfe.34.3.59.8900
- Pérez-Fuertes, O., García-Tejero, S., Pérez Hidalgo, N., Mateo-Tomás, P., Cuesta-Segura, A.D., & P. Olea, P. (2016). Testing the effectiveness of surrogates for assessing biological diversity of arthropods in cereal agricultural landscapes. *Ecological Indicators* 67: 297–305. doi: 10.1016/j.ecolind.2016.02.041
- Pfeiffer, M., Chimedregzen, L., & Ulykpan, K. (2003). Community organization and species richness of ants (Hymenoptera/Formicidae) in Mongolia along an ecological gradient from steppe to Gobi desert. *Journal of Biogeography* 30: 1921–1935. doi: 10.1046/j.0305-0270.2003.00977.x
- Philpott, S.M. & Armbrecht, I. (2006). Biodiversity in tropical agroforests and the ecological role of ants and ant diversity in predatory function. *Ecological Entomology* 31: 369–377. doi: 10.1111/j.1365-2311.2006.00793.x
- Philpott, S.M., Perfecto, I., Armbrecht, I., & Parr, C.L. (2009). Ant diversity and function in disturbed and changing habitats. In: Lach L, Parr CL, Abbott KL (eds) *Ant Ecology*. Oxford University Press: Oxford, pp 137–156
- Plieninger, T., Pulido, F.J., & Schaich, H. (2004). Effects of land-use and landscape structure on holm oak recruitment and regeneration at farm level in *Quercus ilex* L. dehesas. *Journal of Arid Environments* 57: 345–364. doi: 10.1016/S0140-1963(03)00103-4
- Prasifka, J.R., Lopez, M.D., Hellmich, R.L., Lewis, L.C., & Dively, G.P. (2007). Comparison of pitfall traps and litter bags for sampling ground-dwelling arthropods. *Journal of Applied Entomology* 131: 115–120. doi: 10.1111/j.1439-0418.2006.01141.x
- Pulido, F. & Picardo, Á. (2010). Libro verde de la dehesa. Documento para el debate hacia una estrategia ibérica de gestión.
- R Core Team (2019). R: a language and environment for statistical computing. *R Found. Stat. Comput.* 1:1–2630
- Ribas, C.R., Campos, R.B.F., Schmidt, F.A., & Solar, R.R.C. (2012). Ants as indicators in Brazil: a review with suggestions to improve the use of ants in environmental monitoring programs. *Psyche: A Journal of Entomology* 2012: 1–23. doi: 10.1155/2012/636749
- Roig, X. & Espadaler, X. (2010). Propuesta de grupos funcionales de hormigas para la Península Ibérica y Baleares, y su uso como bioindicadores [Proposal of functional groups of ants for the Iberian Peninsula and Balearic Islands, and their use as bioindicators]. *Iberomyrmex* 2: 28–29
- Sackmann, P., Ruggiero, A., Kun, M., & Farji-Brener, A.G. (2006). Efficiency of a rapid assessment of the diversity of ground beetles and ants, in natural and disturbed habitats of the Nahuel Huapi region (NW Patagonia, Argentina).

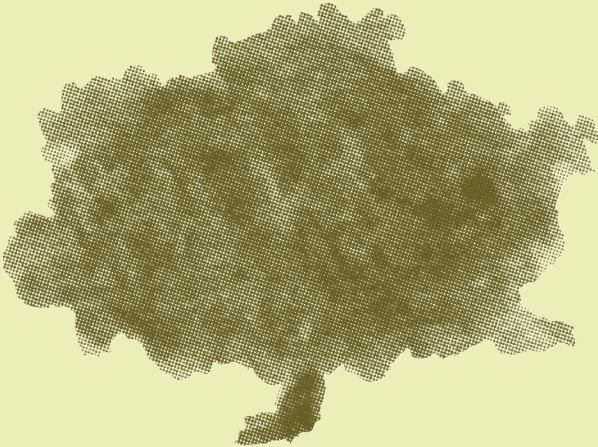


- Biodiversity & Conservation 15: 2061–2084. doi: 10.1007/s10531-005-2931-5
- San Miguel, A. (1994). La dehesa española. Origen, tipología, características y gestión., 1st edn. Madrid,
- Sauberer, N., Zulka, K.P., Abensperg-Traun, M., Berg, H.M., Bieringer, G., Milasowszky, N., Moser, D., Plutzar, C., Pollheimer, M., Storch, C., Tröstl, R., Zechmeister, H., & Grabherr, G. (2004). Surrogate taxa for biodiversity in agricultural landscapes of eastern Austria. *Biological Conservation* 117: 181–190. doi: 10.1016/S0006-3207(03)00291-X
- Schowalter, T. (2017). Arthropod diversity and functional importance in old-growth forests of north america. *Forests* 8: 97. doi: 10.3390/f8040097
- Sheikh, A.H., Ganaie, G.A., Thomas, M., Bhandari, R., & Rather, Y.A. (2018). Ant pitfall trap sampling: an overview. *Journal of Entomological Research* 42: 421–436. doi: 10.5958/0974-4576.2018.00072.5
- Smith, M.A., Fisher, B.L., & Hebert, P.D.N. (2005). DNA barcoding for effective biodiversity assessment of a hyperdiverse arthropod group: the ants of Madagascar. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 360: 1825–1834. doi: 10.1098/rstb.2005.1714
- Smouse, P.E., Long, J.C., & Sokal, R.R. (1986). Multiple regression and correlation Mantel test of matrix correspondence. *Systematic Zoology* 35: 627–632
- StatSoft Inc. (2001). *Statistica*
- Uys, C., Hamer, M., & Slotow, R. (2010). Step process for selecting and testing surrogates and indicators of afrotemperate forest invertebrate diversity. *PLoS ONE* 5: e9100. doi: 10.1371/journal.pone.0009100
- Vasconcelos, H.L., Frizzo, T.L.M., Pacheco, R., Maravalhas, J.B., Camacho, G.P., Carvalho, K.S., Koch, E.B.A., & Pujol-Luz, J.R. (2014). Evaluating sampling sufficiency and the use of surrogates for assessing ant diversity in a Neotropical biodiversity hotspot. *Ecological Indicators* 46: 286–292. doi: 10.1016/j.ecolind.2014.06.036
- Verdinelli, M., Yakhlef, S., Cossu, C., Pilia, O., & Mannu, R. (2017). Variability of ant community composition in cork oak woodlands across the Mediterranean region: implications for forest management. *iForest - Biogeosciences and Forestry*, 10: 707–714. doi: 10.3832/ifor2321-010
- Wang, C., Strazanac, J., & Butler, L. (2001). A comparison of pitfall traps with bait traps for studying leaf litter ant communities. *Journal of Economic Entomology* 94: 761–765. doi: 10.1603/0022-0493-94.3.761
- Wettstein, W. & Schmid, B. (1999). Conservation of arthropod diversity in montane wetlands: effect of altitude, habitat quality and habitat fragmentation on butterflies and grasshoppers. *Journal of Applied Ecology* 36: 363–373. doi: 10.1046/j.1365-2664.1999.00404.x
- Wiens, J.A., Hayward, G.D., Holthausen, R.S., & Wisdom, M.J. (2008). Using surrogate species and groups for conservation planning and management. *BioScience* 58: 241–252. doi: 10.1641/B580310
- Yang, L.H. & Gratton, C. (2014). Insects as drivers of ecosystem processes. *Current Opinion in Insect Science* 2: 26–32. doi: 10.1016/j.cois.2014.06.004



CAPÍTULO 2

Variabilidad de los ensamblajes de hormigas en la dehesa mediterránea: efecto de las variables ambientales, geográficas y de gestión.



*“Bajo tu casta sombra, encina vieja,
quiero sondear la fuente de mi vida
y sacar de los fangos de mi sombra
las esmeraldas líricas.”*

Federico García Lorca
Encina. *Libro de poemas*, 1921.

Introducción

Los ecosistemas de dehesa son pastizales arbolados con un dosel variable compuesto por quercíneas y, a veces, con manchas dispersas de estrato arbustivo. Estos ecosistemas antrópicos se formaron como consecuencia del manejo del monte mediterráneo, fundamentalmente mediante el aclarado y poda del estrato arbóreo y la eliminación total o parcial del matorral (San Miguel, 1994; Díaz Esteban y Pulido Díaz, 2009). Su estructura y condiciones ambientales (baja humedad, alta insolación y arbolado disperso) recuerdan a la de las sabanas tropicales y subtropicales (Costa Pérez *et al.*, 2006). Su función principal es la del aprovechamiento ganadero en extensivo, mayoritariamente de cerdos, ovejas, vacas y, en ocasiones, cabras (Díaz Esteban y Pulido Díaz, 2009). Las fincas de dehesa también sufren manejo agrícola, sobre todo con la plantación de especies forrajeras de secano para el alimento del ganado en las épocas en las que no hay pasto natural, utilizando rotaciones de los cultivos más o menos largas (Díaz Esteban y Pulido Díaz, 2009). Es común también el aprovechamiento cinegético, sobre todo para caza mayor (básicamente ciervo y jabalí), y además, la actividad de estas explotaciones se complementa con la extracción de productos forestales, como es el caso del corcho o del carbono de la leña.

En Andalucía las dehesas se distribuyen por las provincias de Córdoba, Huelva, y Sevilla fundamentalmente, seguidas de Jaén, Cádiz y Málaga (Costa Pérez *et al.*, 2006), siendo la cordillera de Sierra Morena su área de distribución más extensa, al norte de la comunidad autónoma (ver Figura 1).

La especie arbórea predominante en las dehesas es *Quercus ilex* L. subsp. *ballota* (Desf.) aunque, dependiendo de la zona, puede haber una mayor o menor presencia de *Quercus suber* L. (Costa Pérez *et al.*, 2006). Estos árboles del género *Quercus* se consideran “especies clave” (Reyes-López *et al.*, 2003; Manning *et al.*, 2006; Moreno *et al.*, 2016), pues realizan un papel esencial en la modificación de parámetros microclimáticos (como



la reducción de la radiación o la evapotranspiración); en la propia estructura del suelo (aportando hojarasca y otros restos orgánicos y modificando el pH); y además, actúan como retardantes de la erosión y la desertificación (Thornes, 2000). Por todo ello, las encinas mejoran la diversidad vegetativa y estructural de estas áreas y proporcionan refugio y otros recursos a numerosas especies, comportándose, así, como islas de diversidad (Cros *et al.*, 1997; Pulido, 1999).

Los ecosistemas de dehesa se han considerado lugares con una elevada riqueza específica y un alto valor de conservación (Díaz Esteban y Pulido Díaz, 2009). Pero, en la actualidad, vienen atravesando una grave crisis como consecuencia de distintos factores, entre los que destacan los de índole económica y ambiental. Por esto, la rentabilidad de las dehesas ha disminuido notablemente en las últimas décadas, lo que ha supuesto que se tienda al cambio de las prácticas de gestión tradicional por las intensivas, propiciando una degradación ambiental y el subsiguiente declive de la diversidad ecológica (Pulido y Picardo, 2010).

Cuando se van a emprender estudios destinados a evaluar de manera efectiva el grado de degradación de las dehesas, u otros ecosistemas, uno de los métodos que está sobresaliendo a la hora de evaluar perturbaciones ambientales, debido a su eficacia, rapidez y bajo coste, es el uso de organismos bioindicadores (McGeogh y McGeoch, 1998). Son muchos los grupos que han demostrado su eficacia como bioindicadores a lo largo de los últimos años y, de entre ellos destacan los artrópodos. Además, estos participan en procesos ecológicos fundamentales, como son: los ciclos de los nutrientes, la dispersión de polen y semillas o el mantenimiento de la fertilidad del suelo y su estructura (Prather *et al.*, 2013). Por este motivo son considerados grupos clave o ingenieros (Whitford, 2000; Caro, 2010).

Dentro de los artrópodos, uno de los taxones más destacados es el de las hormigas (Hymenoptera: Formicidae) (Andersen, 1997; Crist, 2009; Ribas *et al.*, 2012; Schmidt *et al.*, 2013; Verdinelli *et al.*, 2017), ya que no sólo son buenos bioindicadores, sino que además son un grupo subrogado del resto de artrópodos epigeos en las dehesas (Jiménez-Carmona *et al.*, 2020). Por esto, conocer su estado puede darnos además de darnos una idea del estado ambiental del ecosistema, también nos la da del resto de grupos de artrópodos.

Es importante en este tipo de estudios tener un buen conocimiento

de las condiciones en las que se encuentra la fauna en las diferentes fincas de dehesas y de qué manera afecta a la biodiversidad su localización y su uso. En cuanto a la localización de las fincas, distintas variables geográficas han mostrado tener una fuerte relación con las especies de hormigas presentes, como la latitud, longitud y altitud (Gaston, 2000; Kaspari *et al.*, 2004; Economo *et al.*, 2018), así como los cambios asociados de temperatura y pluviometría (Dunn *et al.*, 2009; Vasconcelos *et al.*, 2018).

Del mismo modo, el uso de la finca va a determinar qué estructura y tipo de vegetación, natural o cultivada, va a aparecer, lo que tiene una fuerte influencia sobre las hormigas. Con respecto al estrato herbáceo, Bugalho *et al.* (2011) explica que los ensamblajes de hormigas se ven afectados por la composición específica y las características de las especies que componen el pasto en áreas similares a las estudiadas. De la misma forma, la presión por herbivoría y pisoteo de la cabaña ganadera afecta a la comunidad vegetal y posiblemente a la comunidad de hormigas, tanto directa como indirectamente (Seligman y Perevolotsky, 1994). En cuanto al arbolado, las encinas en las dehesas ejercen una fuerte influencia en el patrón de distribución de los nidos de las distintas especies de hormigas; aquellas que no toleran las zonas abiertas tendrán la mayoría de sus nidos en las zonas cubiertas por dosel. A este respecto, Reyes-López *et al.* (2003) afirma que la influencia de estos árboles puede llegar a ser dos veces el área del dosel, lo que vendría a reforzar la teoría de su importancia en dehesas.

La dehesa guarda un papel de vital importancia en las comarcas de las provincias del norte de Andalucía (Martín, 1996). Su valor reside en su aportación a la economía local, y además, al mantenimiento de la biodiversidad de la zona (Díaz *et al.*, 2003; Pulido y Picardo, 2010; Ramírez Hernández *et al.*, 2015). De esta manera, el manejo tradicional de las fincas (Díaz Esteban y Pulido Díaz, 2009) facilitará el mantenimiento de la heterogeneidad local, ayudando a conservar e incluso incrementar la diversidad de la zona (Jiménez-Carmona *et al.*, 2020).

Por todo ello, en este capítulo se realizará un estudio exhaustivo de las hormigas de dehesas de Andalucía y se analizará de qué manera les afectan diferentes variables abióticas y bióticas del medio, relacionadas con la situación de las fincas y su uso, como son: su latitud, longitud y altitud, temperaturas y pluviometría, características de la vegetación y carga ganadera.



Tabla 1. Tabla de lugares de muestreo. Se muestra el código de cada una de las fincas, nombre y provincia en la que están situadas. La columna SNF (*Small natural features*) muestra las zonas de hábitats diferentes a la dehesa muestreadas en cada finca, siendo: ZM, zona de matorral; BR, bosque de ribera; VA, vegetación de arroyo o cauce temporal; MP, muro de piedra tradicional (sin mortero) y CH, charca. La columna “Año dehesa” indica el año en el que se muestreó la dehesa. Los SNFs, se muestrearon en 2017 en todas las fincas.

COD_FINCA	Finca	Provincia	SNFs	Año dehesa
AP05	La Juanita	Huelva	ZM, BR	2017
AP06	Paymoguillo	Huelva	VA, ZM	2016
AS02	El Palomar de la Morra	Córdoba	MP, VA	2017
AS05	Lote de los Pérez	Sevilla	MP, ZM	2016
AS06	Las Morrillas	Córdoba	MP, CH	2017
CO01	Las Ánimas	Huelva	MP, VA	2016
CO05	Monterrey y Carretero	Huelva	MP, VA	2017
CO08	Quebradahonda	Sevilla	MP, VA	2016
CO12	Majada del Indio	Córdoba	VA, ZM	2016
EN04	Encinarejo	Huelva	MP, VA	2016
FA01	Las Hazas	Córdoba	MP, VA	2016
FA05	La Panadera	Córdoba	MP, MP	2017
FA11	Santa Clotilde	Córdoba	VA, ZM	2016
UP23	Oropesa	Córdoba	MP, VA	2016
UP24	Las Caras	Jaén	MP, ZM	2016

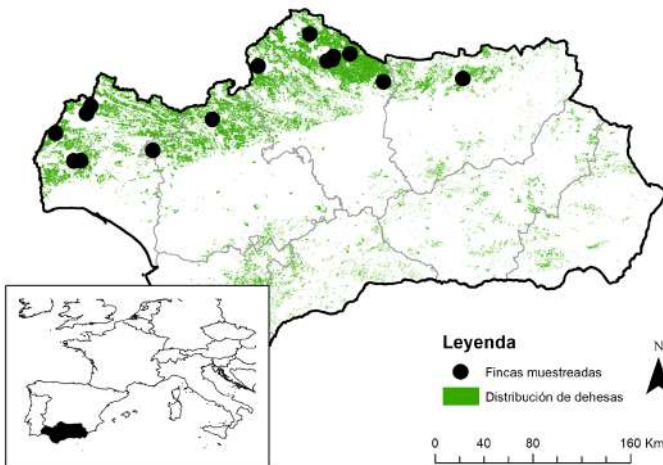


Figura 1. Mapa de localización de las fincas de dehesa estudiadas en Andalucía.

Material y métodos

Área de muestreo.

El área de muestreo comprendió 15 fincas de dehesa, dentro del proyecto Life Biodehesa (LIFE11/BIO/ES/000726), situadas todas ellas a lo largo de Sierra Morena (desde Huelva a Jaén), y con una distancia este-oeste entre las fincas más separadas de unos 340 km (AP06 y UP24, ver Figura 1). Dentro de cada finca se diferenciaron dos subzonas: la primera es la dehesa propiamente dicha (zonas de pastizal con arbolado disperso). Y la segunda está constituida por otros lugares que son de interés por tener una gran importancia ecológica pero desproporcionada a su pequeño tamaño. Estas áreas ofrecen distintos recursos respecto a la dehesa, por lo que sirven de refugio a otras especies o, siendo las mismas que en la dehesa, presenten distinta frecuencia. Estos lugares son conocidos como *small natural features* (SNFs, Deák *et al.*, 2020; Hunter, 2017; Poschlod and Braun-Reichert, 2017) y en nuestro estudio están constituidos por muros de piedra, zonas de matorral y vegetación de ribera de cursos permanentes, temporales o de charcas. Se muestrearon dos SNFs por finca (Tabla 1).

El clima de las áreas de muestreo es el mediterráneo de montaña. Los detalles de la climatología de cada una de las zonas se encuentran reflejados en la Tabla 2.

Diseño de muestreo.

Muestreo de formícidos.

Los muestreos se realizaron durante los meses de mayo y junio de 2016 y 2017 (Tabla 1), mediante la colocación de trampas de caída, que consistían en vasos de plástico translúcido para muestras de orina, de 5.7 cm de diámetro de boca, 5 cm de base, 7.3 cm de profundidad y 150 ml de capacidad (REF 409702, DELTALAB SL). Las trampas se enterraron a ras de suelo, llenándose de 30 - 35 ml de agua jabonosa al 1% y manteniéndose activas durante un periodo de 48 horas (Figura 2A).



Tabla 2. Tabla de variables ambientales por finca. Geográficas: XM valor medio de las coordenadas X de todas las trampas; YM valor medio de las coordenadas Y de todas las trampas; ALT_M, media de los valores de altitud de todas las trampas; Variables climáticas (se calcularon para los dos años de muestreo 2016 y 2017): PRE_T, precipitaciones acumuladas medias; PRE_VER, precipitaciones acumuladas medias de los meses de verano; TM, temperatura anual media; TMAX_M, media de las temperaturas máximas mensuales; TMIN_M, media de las temperaturas mínimas mensuales. Variables del arbolado incluye solo encinas: CAP_M, valores medios del circunferencia a la altura del pecho; DcM, valores medios de los diámetros de la copa; HM altura media de los árboles; COB_ARB., cobertura del arbolado. Carga ganadera, QPAS_TOT, carga ganadera total por hectárea, QPAS_BOB, carga ganadera del ganado bobino, QPAS_OVI, igual para el ganado ovino, QPAS_CAP igual para el caprino; QPAS_POR igual para el porcino; QPAS_EQU, igual para el equino.

FINCA	XM (°)	YM (°)	ALT_M (m)	PRE_T (mm)	PRE_VER (mm)	TM (°C)	TMAX_M (°C)	TMIN_M (°C)	CAP_M (cm)	DcM (m)	HM (m)	COB ARB (%)	QPAS_TOT		QPAS_BOB		QPAS_OVI		QPAS_CAP		QPAS_POR		QPAS_EQU			
													UGM	UGM/ha	UGM	UGM	UGM	UGM	UGM	UGM	UGM	UGM	UGM	UGM	UGM	UGM
AP05	-7,0876	37,5540	138,7	526,2	26,9	18,4	24,5	12,8	107,1	7,7	6,6	12,8	0,3	0,0	18,0	0,0	11,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
AP06	-7,3332	37,7525	182,3	496,5	26,1	18,0	25,0	11,7	104,4	7,9	7,3	28,6	0,6	0,0	34,9	0,0	14,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
AS02	-4,8170	38,3475	681,9	417,6	25,9	17,3	22,5	12,1	118,6	7,4	6,9	18,1	0,9	31,5	41,4	0,0	9,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
AS05	-5,8781	37,8959	443,2	608,3	21,3	16,4	23,5	9,7	135,0	11,3	10,5	52,1	0,4	0,0	32,2	0,0	14,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
AS06	-4,7784	38,3622	674,9	423,9	29,8	17,1	22,7	11,6	153,0	9,6	8,4	22,9	0,7	0,0	55,4	0,0	36,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
CO01	-7,0119	37,9603	301,7	539,2	46,2	16,4	24,4	8,4	172,1	10,7	9,0	25,1	0,7	27,0	0,0	5,5	20,5	4,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
CO05	-7,0416	37,9148	271,4	575,7	38,6	17,0	24,3	9,6	162,1	10,7	10,6	34,4	0,2	17,0	0,0	0,0	3,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
CO08	-6,4201	37,6529	426,6	620,9	11,7	17,6	23,7	11,4	89,7	7,2	7,2	18,8	0,8	0,0	36,0	0,0	0,0	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
CO12	-4,9850	38,5454	509,5	372,3	34,2	17,5	23,9	10,8	114,4	6,8	5,2	17,5	1,1	0,0	137,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
EN04	-7,1510	37,5532	172,4	523,3	27,3	18,3	24,3	12,6	128,2	9,0	6,9	12,2	0,2	0,0	0,0	0,0	30,0	6,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
FA01	-4,6073	38,4096	653,9	482,2	47,7	16,9	23,2	11,0	113,4	7,0	6,7	22,5	0,5	110,0	62,3	0,0	75,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
FA05	-4,7602	38,3832	668,1	427,8	32,5	16,9	22,7	11,3	159,3	13,9	6,7	15,8	0,6	10,0	34,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
FA11	-4,2903	38,2069	721,6	753,6	26,4	16,1	22,9	10,5	113,1	8,0	6,9	31,7	0,4	0,4	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
UP23	-5,4661	38,2991	561,3	404,9	11,4	16,6	23,3	10,1	129,1	9,9	7,4	31,3	0,3	23,0	0,0	0,0	1,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
UP24	-3,5464	38,2325	486,6	428,8	12,6	17,9	24,1	12,0	68,3	5,0	5,8	11,0	0,5	30,0	210,0	15,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

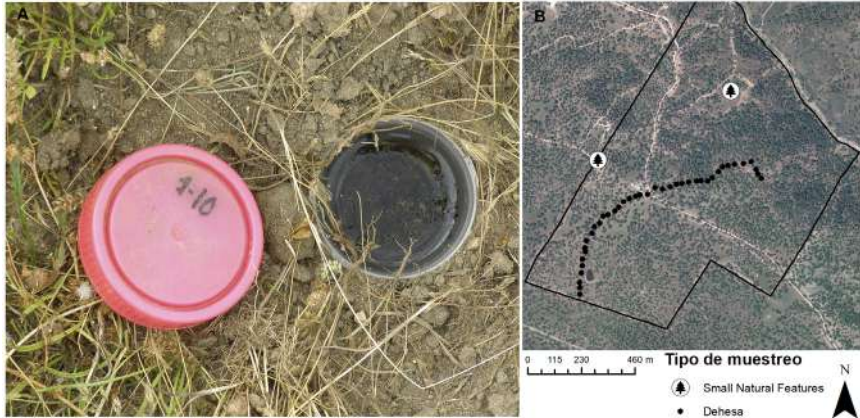


Figura 2. A. Fotografía *in situ* de las trampas de caída usadas en este capítulo. B. Esquema ejemplo del sistema de muestreo, se muestra las trampas individuales del transecto y los *small natural features* seleccionados para esta finca.

Se usaron dos diseños de muestreo distintos para cada uno de los tipos de medios señalados. Las zonas de dehesa se muestrearon mediante un transecto de 1600 m a lo largo del eje mayor de la finca, con una trampa cada 40 m. Los transectos no eran totalmente rectos, sino que se desviaban cuando se encontraban cercados de cerdos (*Sus scrofa domestica* L.), pues suelen romper las trampas (Figura 2B). Para las SNFs se empleó otro diseño de colocación de las trampas, ya que al ser espacios mucho más reducidos, no admitían los transectos largos de las dehesas. Así, se colocó en cada uno de los dos medios muestreados por finca un transecto de 10 trampas de caída, separadas entre sí por 2 m. En la Tabla 1 se especifican los dos SNFs muestreados por finca (Figura 2B). Por lo tanto, en cada finca se colocaron un total de 60 trampas; 40 en la dehesa y 20 en los SNFs.

Tras la recogida de la trampas se extrajeron los formícidos y se guardaron en alcohol para su identificación a nivel de especie y registro de su abundancia, excepto para el género *Solenopsis*, el cual no determinamos a nivel de especie, dada la dificultad para la identificación de sus obreras y su complejidad en la península ibérica (Ordóñez-Urbano *et al.*, 2007).



Tabla 3. Adaptación de los grupos funcionales de Roig and Espadaler (2010) al caso particular de algunas especies de hormigas en dehesas andaluzas. C especies crípicas; HCS/OH especialistas de calor y/o ecosistemas abiertos; GO generalistas oportunistas; CCS/SH especialistas de frío y/o sombra; CWS indicadoras de madera.

Especie	Roig y Espadaler	Dehesas	Motivo	Referencias
<i>Aphaenogaster gibbosa</i> (Latreille, 1798)	C	GO	Especie común en península ibérica y propia del encinar.	(Acosta <i>et al.</i> , 1983; De Haro and Collingwood, 1991)
<i>Camponotus cruentatus</i> (Latreille, 1802)	HCS/OH	CWS	Forestal, indicadoras de madurez y con estrecha relación con los árboles. Pastorea áfidos y se alimenta de larvas en los árboles.	(Alsina <i>et al.</i> , 1988; Cerdá <i>et al.</i> , 1997; Díaz Esteban and Pulido Díaz, 2009; Gómez and Abril, 2011)
<i>Camponotus pilicornis</i> (Roger, 1859)	HCS/OH	GO	Especie nativa común.	(Carpintero and Reyes, 2020; Reyes-López and Carpintero, 2014)
<i>Camponotus sylvaticus</i> (Olivier, 1971)	HCS/OH	CCS/SH	Asociada a zonas arboladas, pinares y encinares.	(Acosta <i>et al.</i> , 1983; Rodríguez González, 1982)
<i>Crematogaster scutellaris</i> (Olivier, 1792)	GO	CWS	Arbórea, en la dehesa muy común en alcornoques y encinas.	(Casevitz-Weulersse, 1991; Suñer and Abós, 1992)
<i>Crematogaster sordidula</i> (Nylander, 1849)	GO	CCS/SH	Forestal, a veces ligada al encinar.	(Carpintero and Reyes, 2020; Jiménez Rojas and Tinaut, 1992; Ordóñez-Urbano <i>et al.</i> , 2007) Guadaíoz y Genil
<i>Formica cunicularia</i> Latreille, 1798	HCS/OH	CCS/SH	Sur de la península ibérica se encuentra en zonas húmedas y con sombra.	(Ortiz and Tinaut, 1988)
<i>Myrmica aloba</i> Forel, 1909	GO	CCS/SH	Sur de la península ibérica es considerada una especie hidrófila y montana.	(Acosta <i>et al.</i> , 1983; Carpintero <i>et al.</i> , 2001; Ordóñez-Urbano <i>et al.</i> , 2007)
<i>Plagiolepis pygmaea</i> (Latreille, 1798)	GO	CCS/SH	Abundante en zonas umbrías de encinares y bien representada en zonas húmedas.	(Acosta <i>et al.</i> , 1983; Cerdá and Retana, 1988; Ordóñez-Urbano <i>et al.</i> , 2007)
<i>Tennothorax angustulus</i> (Nylander, 1856)	C	CWS	Vive bajo la corteza o en agallas preferentemente de <i>Quercus</i> spp.	(Ortiz and Tinaut, 1988)

Grupos funcionales.

En este capítulo usamos la clasificación propuesta por Roig and Espadaler, (2010). De entre todos los grupos descritos por estos autores, aquí se encuentran presentes los grupos de especies generalistas oportunistas (GO) como indicadoras de medios perturbados, y especies indicadoras de medios maduros de los siguientes grupos: especialistas de madera (CWS), especialistas de frío y/o sombra (CCS/SH), especialistas de calor y/o ecosistemas abiertos (HCS/OH) y especies crípticas (C). La asignación de las especies a un tipo de grupo funcional puede variar según la localización de las áreas de estudio, el tipo de ecosistema que se trate y su clima (Andersen, 1997), por lo que algunas de las especies del presente trabajo se han reasignado a grupos diferentes a los propuestos por Roig y Espadaler (2010) (ver Tabla 3). El grupo de especialista de madera muerta (CWDS) se renombra como grupo de indicadores de madera (CWS), según lo publicado por Trigos-Peral and Reyes-López (2016).

Con esta clasificación se calculó un índice, diseñado a tal efecto, que indica la proporción de especies indicadoras de medios maduros vs. indicadoras de medios perturbados (Ecuación 1).

Ecuación 1. Índice $rMad$ para diferenciación de ecosistemas maduros/perturbados en función de los grupos funcionales.

$$rMad = \frac{M - P}{S}$$

Siendo M el número de especies indicadoras de medios maduros; P el número de especies indicadoras de perturbación y S el número total de especies. Este índice oscila entre valores de -1 a 1, y su interpretación es la siguiente: los valores inferiores a 0 indican un mayor número de especies indicadoras de perturbación; y, por contrario, los valores de $rMad$ superiores a 0, muestran un mayor número de especies indicadoras de medios maduros.

Variables ambientales y de gestión por finca.

Para este estudio se calcularon distintas variables ambientales y de gestión (geográficas, climáticas, estrato vegetal y uso ganadero) que podían afectar a la diversidad de las fincas.



Muestreo de arbolado y cobertura de la dehesa.

Se midieron distintas variables del arbolado entre la primavera y otoño de los años 2014 y 2015. En cada finca se trazaron dos transectos de unos 120 m de largo y 20 m de ancho, que incluyeran 20 árboles. En aquellas fincas donde la densidad de arbolado era muy baja se amplió el transecto hasta marcar los 20 árboles o hasta llegar a los 300 m de largo. Los árboles se marcaron con un crotal numerado y se registró la especie de cada uno de ellos. De cada árbol se obtuvieron una serie de medidas dasométricas, como la circunferencia del tronco a la altura del pecho, altura y diámetro de la copa. Todas las medidas de alturas y diámetro de copa se calcularon mediante una regla de *Christen*, mientras que para la circunferencia del tronco se usó una cinta métrica. De estas variables se obtuvo un valor medio por finca (Tabla 2).

A continuación, mediante la utilización de las capas de usos del suelo del sistema de información de ocupación del suelo de España (Ministerio de Transportes Movilidad y Agenda Urbana, 2020), corregidas por los técnicos del Life BIODEHESA, se calculó el porcentaje global de cobertura de cada finca (Tabla 2), así como la cobertura arbórea en un área circular de 10 m alrededor de cada trampa. Para ello, utilizando las ortofotos del plan nacional de ortofotografías aéreas (PNOA), de máxima actualidad (Instituto Geográfico Nacional, 2020) se realizó una clasificación con Semi-Automatic Classification Plugin (Congedo, 2016) en QGIS (QGIS Development Team, 2020) y una posterior revisión manual para delimitar las copas de los árboles del resto de las estructuras. Y a continuación a partir de la posición GPS de cada trampa se calculó el área de cobertura de arbolado en un área circular de 10 m de radio.

Variables geográficas, climáticas y de ocupación ganadera.

Las variables geográficas estudiadas se muestran en la Tabla 2. Estas variables se extrajeron a partir de los valores medios de las coordenadas X e Y de todas las trampas del transecto de 1600 m localizado en la dehesa. La elevación se calculó mediante el modelo digital de elevaciones (MDT 05) del PNOA (Instituto Geográfico Nacional, 2020). Las variables climáticas se extrajeron de las capas de información climática mensual de la red de información ambiental de Andalucía (Junta de Andalucía, 2019). Así se registraron: los valores medios de las precipitaciones mensuales

acumuladas; los valores medios de las precipitaciones en los meses de verano (julio, agosto y septiembre); las temperaturas medias anuales; los valores medios de las temperaturas máximas mensuales y, por último, los valores medios de las temperaturas mínimas mensuales.

Las variables de ocupación ganadera fueron extraídas de los datos facilitados por los dueños de cada finca al equipo del Life Biodehesa mediante los Plan General Integral para la dehesa (PGI). Estas variables fueron calculadas según lo dispuesto en el Real Decreto 1131/2010, de 10 de septiembre, *por el que se establecen los criterios para el establecimiento de las zonas remotas a efectos de eliminación de ciertos subproductos animales no destinados a consumo humano generados en las explotaciones ganaderas* (Ministerio de Medio Ambiente y Medios Rural y Marino, 2010). Así, se usaron las variables de: carga ganadera total por hectárea, carga ganadera del ganado bobino, ovino, caprino, porcino y equino (Tabla 2).

Medida de las variables del microentorno que rodea cada trampa.

Tabla 4. Variables de microentorno estimadas para cada trampa de caída.

Variable	Código	Categoría	Descripción
Cobertura de arbolado	0	Descubierto	Zona descubierta, sin árboles.
	1	Bajo dosel	Bajo el dosel de un árbol.
	2	Pie de árbol	A menos de 10cm del pie de un árbol.
Cobertura de matorral	0	Descubierto	Zona descubierta, sin matorral.
	1	Matorral	A menos de 1.5 m de matorral.
Cubierta herbácea 5 m ²	0	Descubierto	Alrededor de la trampa no hay ningún tipo vegetación herbácea.
	1	Parcial	Máximo de 50% de suelo cubierto.
	2	Porte bajo	Más del 50% cubierto con pasto de porte bajo (menos de 5 cm de altura).
	3	Porte alto	Más del 50% cubierto con pasto de porte alto (más de 5 cm de altura).
Hojarasca 5 m ²	0	Ausente	Suelo sin hojarasca.
	1	Parcial	Menos de un 50% del suelo cubierto por hojarasca.
	2	Cubierto	Más de un 50% cubierto por hojarasca.

Cada trampa se geolocalizó y se fotografió con un testigo (vara con escala métrica visible) y se hicieron dos fotos, una en vista cenital de la trampa a la altura de la cabeza y otra de su entorno a una distancia de unos 5m de la trampa. Del entorno inmediato de cada trampa (unos 5 m²) se registraron algunas variables que se han destacado como importantes para



las hormigas en otros tipos de hábitats como la cobertura de arbolado y la cobertura de matorral (Greenslade y Greenslade, 1977; Bos *et al.*, 2007; Neves *et al.*, 2013), la cubierta herbácea (Bugalho *et al.*, 2011) y la cubierta de hojarasca (Groc *et al.*, 2017), para detectar diferentes microentornos que pudieran estar afectando a los ensamblajes de hormigas. Algunas de estas variables se registraron in situ y otras a través del análisis de las fotos (Tabla 4).

Análisis estadísticos.

Todos los análisis se realizaron mediante R v.3.6.3 (R Core Team, 2020). Para la creación de los gráficos de este trabajo se empleó el paquete “ggplot2” (Wickham, 2016).

Análisis de variables ambientales y de gestión con la diversidad de hormigas en las zonas de dehesa.

Las variables ambientales de cada finca (geográficas y climáticas) y de gestión (ocupación ganadera y arbolado), se extrajeron del hábitat de dehesa. Se excluyen así los valores de las zonas SNFs. Esto se debe a que se está buscando de qué manera afectan dichas variables a las especies de hormigas típicas de dehesas y, aunque los SNFs son zonas que se encuentran en las fincas, no pueden considerarse como hábitats de dehesas, sino que tienen características propias, con especies vegetales y parámetros microclimáticos distintos a los del hábitat de dehesa propiamente dicho. Además, el muestreo para el caso de los SNFs fue distinto al transecto de dehesa, habiendo trampas más próximas en áreas más pequeñas, lo que supondría dar un peso específico a zonas de menor tamaño (40 trampas en 1600 m lineales, frente a 20 trampas en 40 m). Por ello, calculamos la matriz general de trampas ocupadas por especie y finca para las zonas de dehesa (MGTO dehesa), con un total 40 trampas por finca.

A continuación, se realizó un análisis con la función “bioenv” (R package “vegan”, Oksanen *et al.*, 2019). Esta prueba identifica el conjunto de variables ambientales (Tabla 2) que presenta una mayor correlación con la diversidad de especies de hormigas. Para ello se calculó la correlación de Spearman entre la matriz de disimilitud Bray-Curtis de MGTO dehesa y la matriz de distancias euclídeas de las variables ambientales (Tabla 2). Tras ello, se corroboró la relación entre el subconjunto de variables ambientales extraídas por “bioenv” y MGTO dehesa mediante una Regresión de

Mínimos Cuadrados Parciales (PLSr), que realizamos mediante la función `plsreg2` (R package “`plsdepot`”, Sánchez, 2012). Debido a la importancia reconocida de los factores climáticos, como la variación térmica, sobre las hormigas (Retana y Cerdá, 2000) decidimos realizar además un nuevo análisis sólo con las variables climáticas (SC) que se muestran en la Tabla 2 frente a la matriz MGTO dehesa y así comprobar su relación por separado con la diversidad de hormigas.

Seguidamente, se comprobó la influencia sobre el ensamblaje de hormigas de cada finca (MGTO dehesa), por un lado de las variables climáticas (SC), y por otro del subconjunto de variables ambientales seleccionadas por el “`bioenv`”, mediante sendos análisis de Escalamiento Multidimensional no métrico (nMDS). Con este análisis se produce una ordenación del conjunto de las fincas en función de los ensamblajes de hormigas y se relaciona con la posible influencia de las variables. De esta forma podemos valorar cuales de las variables afectan de manera significativa a la ensamblajes de hormigas. Estos análisis se llevaron a cabo con las funciones “`metaMDS`” y “`envfit`” (R package “`vegan`”, Oksanen *et al.* (2019)) usando la matriz Bray-Curtis con 9999 permutaciones.

Para finalizar, se comprobó como afectaban las variables climáticas a cada una de las especies de hormigas registradas en las zonas de dehesa. Para ello calculamos la matriz general de obreras capturadas por especie y finca para las zonas de dehesa y comparamos la abundancia de obreras en cada finca con las distintas variables mediante una prueba de correlación de Spearman (r_s).

Análisis de la relación del microentorno que rodea cada trampa con la diversidad y composición de las muestras hormigas.

En este apartado se pretende verificar si el entorno inmediato de la trampa puede modificar la diversidad de hormigas, tanto el número como la composición de especies y su abundancia relativa. Para ello, en primer lugar, comprobamos la posible relación de las características del entorno de las trampas y la riqueza de especies de hormigas mediante un análisis ANOVA para cada una de las variables registradas (Tabla 4). En estos análisis se incluyeron el factor “finca” para la eliminar la varianza que se pudiera deber a las diferencias entre las distintas fincas o lugares de muestreo. Este se realizó mediante la función “`aov`” (R Core Team, 2020)



y se llevó a cabo con las 60 trampas de cada finca, incluyéndose tanto las trampas de las subzonas dehesa como las de los SNFs.

A continuación, para detectar las posibles diferencias en la composición de especies de hormigas capturadas por cada trampa según el entorno de las trampas, realizamos un análisis PERMANOVA con la misma forma de proceder de los ANOVAS, usando como matriz de variables respuestas la presencia/ausencia de cada una de las especies por trampa. Para la realización de este análisis se usó la función “adonis” (R package “vegan”, Oksanen *et al.*, 2019) usando índice de Jaccard y 999 permutaciones.

Posteriormente, se realizó un análisis de ordenación para comprobar la relación de las especies con las diferentes variables medidas en el entorno de las trampas. Para esto se generó una matriz de trampas ocupadas por especie y las variables del entorno estudiadas con la que se ejecutó un análisis de correspondencias. Para establecer las agrupaciones entre las especies se realizó un clúster con el método completo usando la matriz de distancias euclídeas de las dos primeras dimensiones (Dim 1 y Dim 2) del análisis de correspondencias. A continuación, se comprobó la significación de los grupos formados mediante una prueba PERMANOVA (999 permutaciones) usando como matriz respuesta las distancias euclídeas entre Dim 1 y Dim 2 y como variable factorial los grupos señalados por el análisis clúster. Para comprobar las diferencias entre los pares de grupos se realizó un test de comparación multinivel para PERMANOVA con 999 permutaciones con un ajuste de Bonferroni para el valor de significación. Para el análisis de correspondencias se usó la función “CA” del paquete de R “FactoMineR” (Lê *et al.*, 2008).

Para el análisis clúster que identifica los grupos de especies, se calculó la matriz de distancias Bray-Curtis mediante la función “vegdist” del paquete de R “vegan” (Oksanen *et al.*, 2019). El clúster se realizó con la función “hclust” y se determinaron los grupos mediante la función “cutree” del paquete de R “stats” (R Core Team, 2020). El PERMANOVA que permite la evaluación posterior de estos grupos se realizó mediante la función “adonis” del paquete de R “vegan” (Oksanen *et al.*, 2019) y la posterior comparación por pares mediante la función “pairwise.adonis” del paquete de R “pairwiseAdonis” (Martinez Arbizu, 2017).

En último lugar, se analizó la relación entre los metros cuadrados con cobertura arbórea, en una circunferencia de 10 m de radio con la trampa en el centro (COBTRA) con el número de especies capturadas y el índice de perturbación $rMad$. Para ello, se realizaron dos modelos lineales mixtos (MLGM), usando como variable respuesta la riqueza de especies y $rMad$ y como covariable $\ln(COBTRA + 1)$; y empleando como factor fijo la variable finca. Con ello se consiguió extraer la varianza que se debía a las diferencias de cobertura entre fincas. Posteriormente, se realizó una factorización de la variable finca en 4 categorías, que se correspondían con cada uno de los cuartiles de COBTRA. De esta forma, el recuento de casos de cada categoría sería igual y por tanto estarían bien balanceadas. Subsiguientemente, se realizaron dos pruebas ANOVA usando como variable respuesta la riqueza de especies y $rMad$, y como variables factoriales la finca y los cuartiles de COBTRA. Además, a estos análisis se le realizaron sendos *post-hoc* Tukey HSD para detectar las diferencias entre las medias entre pares de grupos. Y finalmente, para comprobar la posible relación entre el área de cobertura del arbolado y las hormigas capturadas, se calculó la matriz de presencia de especies por trampa. Esta posteriormente se usó para realizar un PERMANOVA (999 perm.) mediante la matriz de similitud de Jaccard, usando como variables factoriales la finca y los cuartiles de COBTRA.

Para los modelos lineales mixtos, se usó la función “lmer” del paquete de R “lme4” (Bates *et al.*, 2015); para el ANOVA, se empleó la función “aov” del paquete “stats” (R Core Team, 2020); para el Tukey HSD, se ejecutó la función “TukeyHSD” del paquete de R “broom” (Robinson y Hayes, 2019); y para el test PERMANOVA, se llevó a cabo la función “adonis” del paquete de R “vegan” (Oksanen *et al.*, 2019).

Resultados

Hormigas y grupos funcionales.

Se capturaron un total de 47 taxones de hormigas (46 especies más el género *Solenopsis*) en el conjunto de todas las fincas (Tabla 5), con una media de 23.5 taxones por finca. El área de muestreo con mayor número de especies capturadas fue FA11 “Santa Clotilde” en La Venta del Charco



Tabla 5. Especies capturadas (ordenadas por presencia en fincas). GF grupos funcionales; GD categorías según porcentaje de las fincas en las que están presentes las especies: Muy común $\geq 75\%$; Común, entre 75 y 50%; Rara, 50 y 25%; Muy rara $< 25\%$; nPF número de fincas en las que se han encontrado las especies. nTO número de trampas ocupadas por especie en zonas de DEHESA, SNFs (*small natural features*) y en Total (suma de ambas). Provincias presencia (+) de las especies en las provincias H Huelva, S Sevilla, C Córdoba y J Jaén.

ABREV	SPP	GF	Presencia fincas				nTO		Provincias			
			GD	nPF	DH	SNFs	Total	H	S	C	J	
APHGIB	<i>Aphaenogaster gibbosa</i> (Latreille, 1798)	GO	Muy común	15	60	79	139	+	+	+	+	
CATHIS	<i>Cataglyphis hispanica</i> (Emery, 1906)	HCS/OH	Muy común	15	424	188	612	+	+	+	+	
IBESUB	<i>Iberoformica subrufa</i> (Roger, 1859)	HCS/OH	Muy común	15	301	147	448	+	+	+	+	
MESBAR	<i>Messor barbarus</i> (Linnaeus, 1767)	HCS/OH	Muy común	15	319	165	484	+	+	+	+	
PLAPYG	<i>Plagiolepus pygmaea</i> (Latreille, 1798)	CCS/SH	Muy común	15	104	88	192	+	+	+	+	
TAPNIG	<i>Tapinoma nigerrimum</i> (Nylander, 1856)	GO	Muy común	15	239	101	340	+	+	+	+	
TETFOR	<i>Tetramorium forte</i> Forel, 1904	GO	Muy común	15	168	94	262	+	+	+	+	
TETSEM	<i>Tetramorium semilaeve</i> André, 1883	GO	Muy común	15	173	137	310	+	+	+	+	
APHIBE	<i>Aphaenogaster iberica</i> Emery, 1908	GO	Muy común	14	186	102	288	+	+	+	+	
CAMPIL	<i>Camponotus pilicornis</i> (Roger, 1859)	GO	Muy común	14	24	26	50	+	+	+	+	
CRESCU	<i>Crematogaster scutellaris</i> (Olivier, 1792)	CWS	Muy común	14	62	15	77	+	+	+	+	
SOLSPP	<i>Solenopsis spp.</i>	C	Muy común	14	36	20	56	+	+	+	+	
GONHIS	<i>Goniomma hispanicum</i> (André, 1883)	HCS/OH	Muy común	13	30	16	46	+	+	+	+	
LASLAS	<i>Lasius lasioides</i> (Emery, 1869)	CCS/SH	Muy común	13	37	8	45	+	+	+	+	
OXYSAU	<i>Oxyopomyrmex saulcyi</i> Emery, 1889	HCS/OH	Muy común	13	21	15	36	+	+	+	+	
APHDUL	<i>Aphaenogaster dulcinea</i> Emery, 1924	C	Común	11	24	21	45	+	+	+	+	
CAMCRU	<i>Camponotus cruentatus</i> (Latreille, 1802)	CWS	Común	11	116	70	186	+	+	+	+	
CREAUB	<i>Crematogaster auberi</i> Emery, 1869	GO	Común	11	27	22	49	+	+	+	+	
PLASCH	<i>Plagiolepus schmitzi</i> Forel, 1895	GO	Común	11	41	15	56	+	+	+	+	
TEMRAC	<i>Temnothorax racovitzai</i> (Bondroit, 1918)	C	Común	11	18	21	39	+	+	+	+	
APHSEN	<i>Aphaenogaster senilis</i> Mayr, 1853	GO	Común	9	113	57	170	+	+	+	+	
CATIBE	<i>Cataglyphis iberica</i> (Emery, 1906)	HCS/OH	Común	9	37	23	60	+	+	+	+	
PHEPAL	<i>Pheidole pallidula</i> (Nylander, 1849)	GO	Común	9	27	11	38	+	+	+	+	
CAMFOR	<i>Camponotus foreli</i> Emery, 1881	HCS/OH	Común	8	13	3	16	+	+	+	+	
GONBAE	<i>Goniomma baeticum</i> Reyes y Rodríguez, 1987	HCS/OH	Común	8	11	7	18	+	+	+	+	
MESHIS	<i>Messor hispanicus</i> Santschi, 1919	HCS/OH	Común	8	17	6	23	+	+	+	+	
CAMSYL	<i>Camponotus sylvaticus</i> (Olivier, 1792)	CCS/SH	Rara	7	9	3	12	+	+	+	+	
CATROS	<i>Cataglyphis rosenhaueri</i> Santschi, 1925	HCS/OH	Rara	7	29	5	34	+	+	+	+	
CAMLAT	<i>Camponotus lateralis</i> (Olivier, 1792)	CCS/SH	Rara	5	4	6	10	+	+	+	+	
MESBOU	<i>Messor bouvieri</i> Bondroit, 1918	HCS/OH	Rara	5	13	7	20	+	+	+	+	
TETCAE	<i>Tetramorium caespitum</i> (Linnaeus, 1758)	GO	Rara	5	8	3	11	+	+	+	+	
CAMFAL	<i>Camponotus fallax</i> (Nylander, 1856)	CCS/SH	Rara	4	6	1	7	+	+	+	+	
CAMMIC	<i>Camponotus micans</i> (Nylander, 1856)	HCS/OH	Rara	4	5	3	8	+	+	+	+	
LASGRA	<i>Lasius grandis</i> Forel, 1909	CCS/SH	Rara	4	3	17	20	+	+	+	+	
CRESOR	<i>Crematogaster sordidula</i> (Nylander, 1849)	CCS/SH	Muy rara	3	2	2	4	+	+	+	+	
FORCUN	<i>Formica cucicularia</i> Latreille, 1798	CCS/SH	Muy rara	3	1	4	5	+	+	+	+	
GONKUG	<i>Goniomma kugleri</i> Espadaler, 1986	HCS/OH	Muy rara	3	5	0	5	+	+	+	+	
MESCEL	<i>Messor celiae</i> Reyes, 1985	HCS/OH	Muy rara	3	3	4	7	+	+	+	+	
TEMREC	<i>Temnothorax recedens</i> (Nylander, 1856)	C	Muy rara	3	2	6	8	+	+	+	+	
COLTRU	<i>Colobopsis truncata</i> (Spinola, 1808)	CCS/SH	Muy rara	2	4	0	4	+	+	+	+	
FORGER	<i>Formica gerardi</i> Bondroit, 1917	HCS/OH	Muy rara	2	2	0	2	+	+	+	+	
TEMANG	<i>Temnothorax angustulus</i> (Nylander, 1856)	CCS/SH	Muy rara	2	3	0	3	+	+	+	+	
TEMTYN	<i>Temnothorax tyndalei</i> (Forel, 1909)	C	Muy rara	2	1	4	5	+	+	+	+	
CAMPIC	<i>Camponotus piceus</i> (Leach, 1825)	HCS/OH	Muy rara	1	2	0	2	+	+	+	+	
MESLUS	<i>Messor lusitanicus</i> Tinaut, 1985	HCS/OH	Muy rara	1	0	2	2	+	+	+	+	
MYRALO	<i>Myrmica aloba</i> Forel, 1909	CCS/SH	Muy rara	1	0	2	2	+	+	+	+	
PROFER	<i>Proformica ferreri</i> Bondroit, 1918	HCS/OH	Muy rara	1	5	0	5	+	+	+	+	
TAPMAD	<i>Tapinoma madeirense</i> Forel, 1895	GO	Muy rara	1	0	1	1	+	+	+	+	
TEMALF	<i>Temnothorax alfacarensis</i> Tinaut y Reyes-López, 2020	C	Muy rara	1	2	0	2	+	+	+	+	

(Cardena, Córdoba), con un total de 33 especies. Por otro lado, la que registró un número menor de especies fue UP24 “Las Caras” de Vilches (Jaén) con 20 especies.

A continuación las especies fueron clasificadas (Tabla 5) según los grupos funcionales de Roig y Espadaler (2010) y con las modificaciones propuestas en la Tabla 3. Se registró un grupo 14 especies de hormigas ampliamente distribuidas en las fincas de dehesa, encontrándose en el 75 - 100 % de las fincas (Tabla 5), perteneciendo la mayoría de estas especies a las categorías de grupos funcionales GO y HCS/OH (6 y 5 especies respectivamente). Posteriormente se observó un grupo de 11 especies comunes, encontradas en el 50 - 75 % de las fincas, perteneciendo la mayoría de ellas igualmente a los grupos GO y HCS/OH (4 especies de cada grupo).

Analizando el índice rMad de cada finca, se puede observar que la dehesa con mayor índice, y por tanto con mayor proporción de especies indicadoras de un ambiente maduro, fue FA11, coincidiendo con el mayor número de especies (Tabla 6). La finca con menor índice rMad es CO05 “Monterrey y Carretero” de Aroche (Huelva) (Tabla 6).

Análisis de la relación de las variables ambientales y de gestión frente a las hormigas.

En primer lugar, buscamos el conjunto de variables ambientales con mayor correlación respecto a la matriz de similitud de hormigas (análisis bioenv). Estas variables fueron: XM, YM, ALT_M, TMAX_M, TMIN_M, CAP_M, QPAS_TOT, QPAS_OVI (ver Tabla 2), que registraron una buena correlación con MGTO dehesa (bioenv $r_s=0.671$).

A continuación, realizamos el análisis PLSr entre este conjunto de variables y MGTO dehesa, obteniendo una correlación significativa y muy alta (PLSr_{bioenv}: $r=0.943$, $p<0.001$). Repetimos de nuevo el análisis PLSr únicamente para la matriz de variables climáticas, obteniendo de nuevo una correlación muy alta, aunque levemente inferior al caso anterior, y también significativa (PLSr_{climáticas}: $r=0.928$, $p<0.001$). Esto implica que existía una gran relación entre las hormigas y las variables seleccionadas.

También realizamos dos análisis nMDS, de nuevo uno usando el conjunto de variables ambientales anteriores (según bioenv) y otro únicamente con las variables climáticas, con el fin de agrupar las fincas



según sus ensamblajes de hormigas, en relación con la influencia de las diferentes variables. Ambos análisis arrojaron un stress de alrededor del 0.17, y mostraron separación entre las fincas de las distintas provincias, salvo para el caso de Córdoba y Sevilla, que se muestran agrupadas (Figura 3). Concretamente, para el caso del nMDS del mejor subconjunto de variables ambientales (Figura 3A), las variables que muestran correlación significativa con los ensamblajes de hormigas son: XM ($r^2 = 0.634$, $p = 0.003$), XY ($r^2 = 0.494$, $p = 0.020$), ALT_M ($r^2 = 0.748$, $p < 0.001$) y TMAX_M ($r^2 = 0.727$, $p < 0.001$). De esta manera, se observa como la TMAX_M se correlaciona de manera positiva con los puntos de muestreo de la provincia de Huelva y que la altitud y coordenadas X e Y lo hacen con las fincas de Córdoba. El resto de las variables no presentan correlaciones significativas.

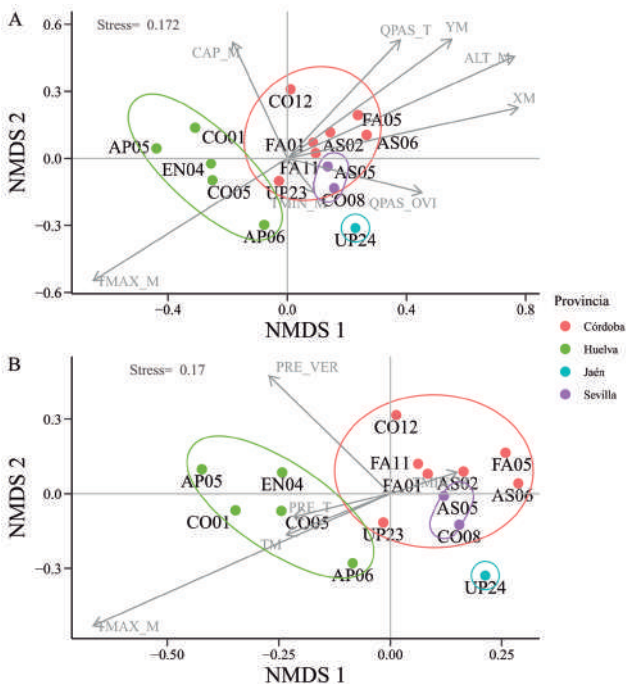


Figura 3. Graficas de resultados de los análisis *non metrical* MDS entre las variables ambientales y la abundancia de las diferentes especies de hormigas (según presencia en trampas) vs. **A.** variables ambientales seleccionadas por el análisis “bioenv” y **B.** variables climáticas. Las elipses agrupan a las fincas por provincia.

En el nMDS de las variables climáticas (Figura 3B) sólo obtenemos una variable con correlación alta y significativa, que de nuevo es TMAX_M ($r^2 = 0.727$, $p < 0.001$) y que muestra que las temperaturas medias máximas son mayores en las fincas de Huelva. El resto de las variables tienen correlaciones bajas y no significativas.

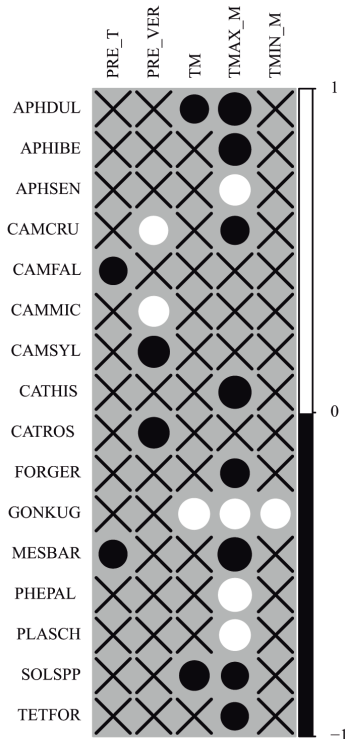


Figura 4. Gráfica de correlaciones para el test de correlación de Spearman entre el número de obreras capturadas por especie y finca y las variables climáticas. Las casillas con X muestran valores de correlación no significativos ($p > 0.05$). El área de los círculos es proporcional al valor absoluto de r_s , en negro se muestran las correlaciones negativas y en blanco las positivas. En el gráfico aparecen aquellas especies que presentan correlación significativa para una o más de las variables climáticas.

Finalmente, analizamos la posible influencia de las variables climáticas en el número de obreras capturadas por especie en la subzona de dehesa mediante un test de correlación de Spearman (Figura 4). La variable con mayor número de correlaciones significativas ($p < 0.05$) fue TMAX_M. Mediante esta variable y junto con TM, podemos distinguir entre aquellas especies que presentaban correlación (r_s) positiva, como son como son *A. senilis*, *P. pallidula* y *P. schmitzii*; es decir, presentan más abundancia de obreras en zonas más cálidas. Frente al otro grupo formado por *A. dulciniae*, *A. iberica*, *C. cruentatus*, *C. hispanica*, *M. barbarus*, *Solenopsis* spp., y *T. forte*, que presentan correlación negativa y por tanto su abundancia disminuye con las temperaturas más altas.

En cuanto a las variables de precipitaciones (PRE_T y PRE_VER), observamos una correlación significativa ($p > 0.05$) y positiva para el caso de las especies *C. cruentatus* y *C. micans*, por lo que a medida que aumentan las precipitaciones se incrementa la abundancia de obreras. Y por otro lado, *C. fallax*, *C. sylvaticus*, *C. rosenhaueri* y *M. barbarus*,



presentan correlación significativa y negativa, por lo que estas especies presentan menos abundancia de obreras en aquellas zonas en las que las precipitaciones son más bajas.

Análisis de la relación del microentorno que rodea las trampas con la diversidad y composición de las muestras de hormigas.

Los resultados de los ANOVAs para las variables de microentorno se pueden observar en la Tabla 7, donde se puede ver que para todas ellas se observaron diferencias significativas en el número de especies capturadas para todos los efectos (fincas, variables de microentornos e interacción).

Tabla 7. Tabla de resultados de ANOVAs y PERMANOVAs. Se muestran las p para cada uno de los efectos (Finca * Cobertura) frente a S (número de especies) en los ANOVAs y PERMANOVAs frente a la matriz de similitud de Jaccard calculada a partir de la presencia de cada especie en la trampa (Perm= 999). Se realizó un análisis para cada categoría de microentorno de la trampa. Spp P/A Número de trampas ocupadas por especie.

Microentorno	ANOVA con S			PERMANOVA con Spp P/A		
	Finca	Cobertura	Interacción	Finca	Cobertura	Interacción
Cobertura de arbolado	<0.001	<0.001	0.001	0.001	0.001	0.001
Cobertura de matorral	<0.001	0.003	<0.001	0.001	0.001	0.001
Cobertura de herbáceas	<0.001	0.006	<0.001	0.001	0.001	0.001
Hojarasca	<0.001	0.006	<0.001	0.001	0.001	0.001

De la misma manera, realizamos las pruebas PERMANOVA (Tabla 7), y en consonancia con el resultado anterior, se observa que las especies y su abundancia varían en función de las fincas, de las variables de microentorno y con efecto de interacción entre ambos tipos de variables.

Además, realizamos gráficos de medias \pm SE para todas las variables y categorías. Como se puede observar para el caso de la cubierta arbórea (Figura 5A), cubierta herbácea (Figura 5C) y hojarasca (Figura 5D), hay un menor número de especies capturadas en aquellas categorías sin cubierta arbórea, y un mayor número en aquellas con cubierta. Sin embargo, en el caso de la cubierta de matorral (Figura 5B) se observa el efecto contrario, hay más especies fuera de las zonas con cobertura de matorral que dentro.

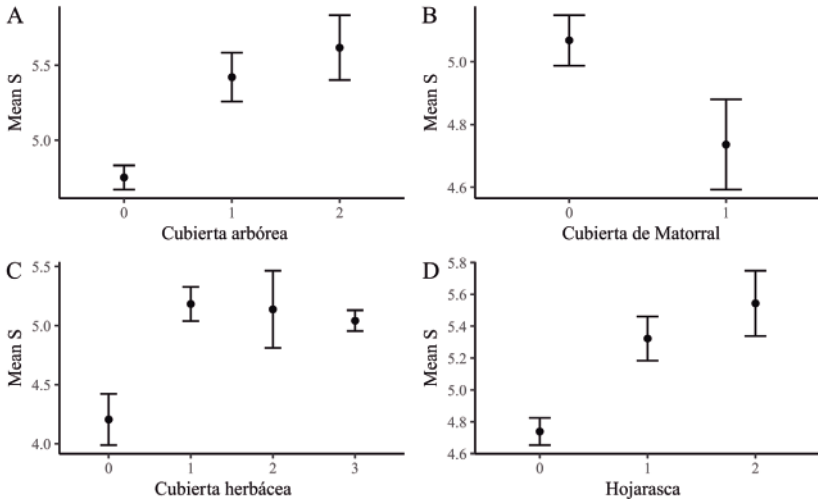


Figura 5. Gráfica de medias del número de especies capturadas \pm SE según variable microclimática. **A.** Cubierta arbórea: siendo 0, sin cubierta; 1, bajo el dosel; 2, a pie de tronco. **B.** Cubierta de matorral: 0, sin cubierta; 1, bajo el matorral. **C.** Cubierta herbácea: 0, descubierta; 1, cubierta por pasto menos de un 50%; 2, cubierta con pasto de porte bajo (menos de 5 cm) más de un 50%; 3, igual con pasto de porte alto (más de 5 cm). **D.** Cubierta de hojarasca: 0, sin hojarasca; 1, menos de un 50% cubierta por hojarasca; 2, más de un 50% cubierta por hojarasca.

Para identificar posibles relaciones entre los grupos de especies y el microentorno que rodea la trampa se realizó un análisis de correspondencias (CA) con los datos de la presencia de cada especie en trampas y tipo de microentorno (Figura 6) permite diferenciar tres 3 grupos de especies: A, relacionado con zonas abiertas; B con arboladas y C con zonas de matorral. Estos grupos presentan diferencias significativas entre ellos según el análisis PERMANOVA ($p = 0.001$), observándose, además, diferencias significativas entre todos los pares de grupos ($p_{AB} = 0.003$, $p_{AC} = 0.003$, $p_{BC} = 0.003$).

Por último, se estudió la relación entre la cobertura del arbolado en un radio de 10 m² alrededor de la trampa y las hormigas. En primer lugar, se realizaron los análisis MLGM para establecer la relación entre dicha cobertura y la riqueza. Observamos que, tanto el número de especies (S) como el índice rMad guardaban una relación directa y significativa, con el área de cobertura (MLGM S: Estimate = 0.238 $p < 0.001$; rMad: Estimate = 0.087, $p < 0.001$). Es decir, conforme se incrementa el área de

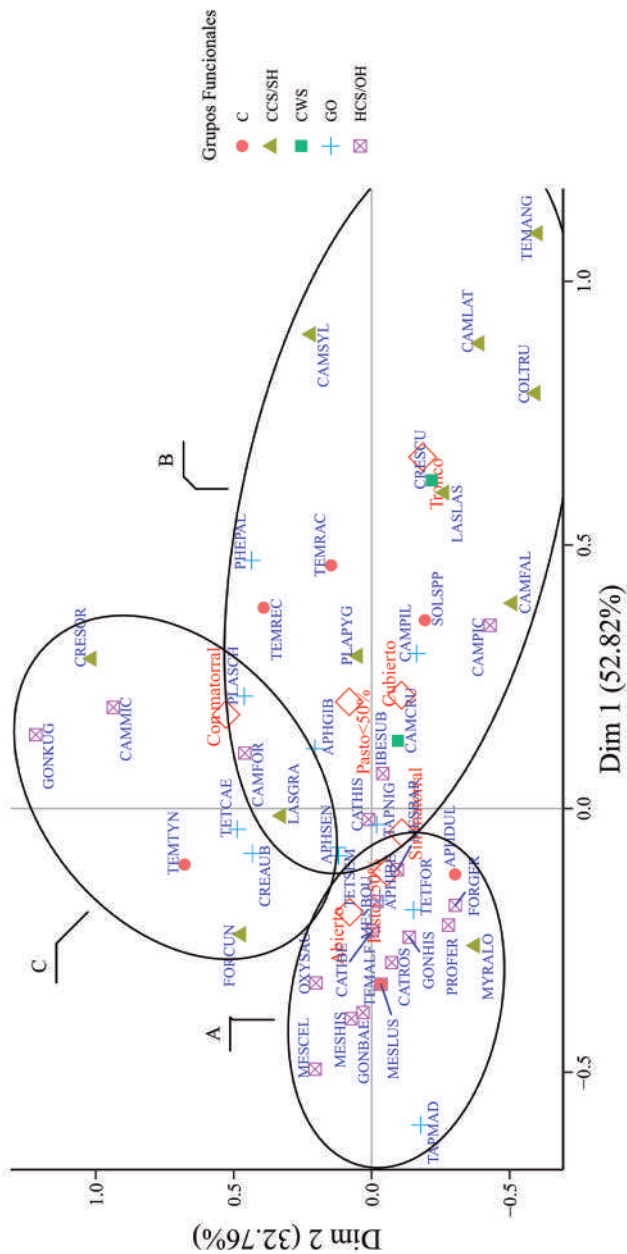


Figura 6. Gráfica para el análisis de correspondencias entre trampas ocupadas por especie y las variables microclimáticas. Las elipses (A, B, C) muestran cada uno de los grupos de especies por microentorno, este agrupación se realizó mediante un cluster (matriz Bray-Curtis, método completo). A corresponde con las especies presentes en zonas de pastizal, B de matorral y C bajo arbolado.

cobertura, aumentan tanto el número de especies como el índice rMad, lo que indica que el incremento de la cobertura propicia la aparición de grupos funcionales indicadores de medios maduros.

Tabla 8. Tabla de resultados de ANOVAS (S y rMad) y PERMANOVA (Jaccard sobre la matriz de Presencia/Ausencia de especies por trampa) frente al factor finca y cuartil de área (m²) cubiertos por árboles en una circunferencia de 10 m alrededor de cada trampa.

MODELO	EFECTOS		
	Finca	Cuartil área	Interacción
ANOVA S	< 0.001	< 0.001	< 0.001
ANOVA rMad	< 0.001	< 0.001	0.268
PERMANOVA	< 0.001	< 0.001	< 0.001

A continuación se realizaron dos ANOVAS usando como variables respuesta S y rMad, frente a las variables factoriales finca y cuartiles de la variable de cobertura (COBTRA) y se encuentra que, en ambos casos, el número de especies varía en función de la finca y del cuartil de área, así como que la interacción es significativa para el caso del modelo de riqueza de especies, pero no para rMad (Tabla 8). Al representar estos datos en una gráfica se puede observar que para el caso del número de especies (Figura 7A) en el primer cuartil (0 - 46.09 m²) se registra una media menor de especies que en el resto de los cuartiles. Sin embargo, al hacer el *post-hoc* Tukey HSD se observan que el cuartil 1 y 2 no presentan diferencias significativas respecto a sus medias, ni entre los cuartiles 2, 3 y 4. De forma parecida, con rMad (Figura 7B) se observa menor media en el primer cuartil que en el resto y, en este caso, en base al mismo análisis *post-hoc*, se puede ver que el primer cuartil tiene medias significativamente distintas al resto. Esto indica que un incremento de la cobertura de arbolado hasta cierto punto (superior a 46.09 m²) va a propiciar un incremento del número de especies en general y del número de especies indicadoras de medios maduros. Por último, al analizar las especies de hormigas capturadas y su abundancia de cada cuartil de área mediante el PERMANOVA (Tabla 8), se pueden observar efectos significativos tanto para la finca, como para el cuartil de área y la interacción. Esto nos indica que existen diferencias en los ensamblajes de hormigas por fincas, algo que ya se mostraba en anteriores análisis, y COBTRA es una de las variables que influye en este hecho.

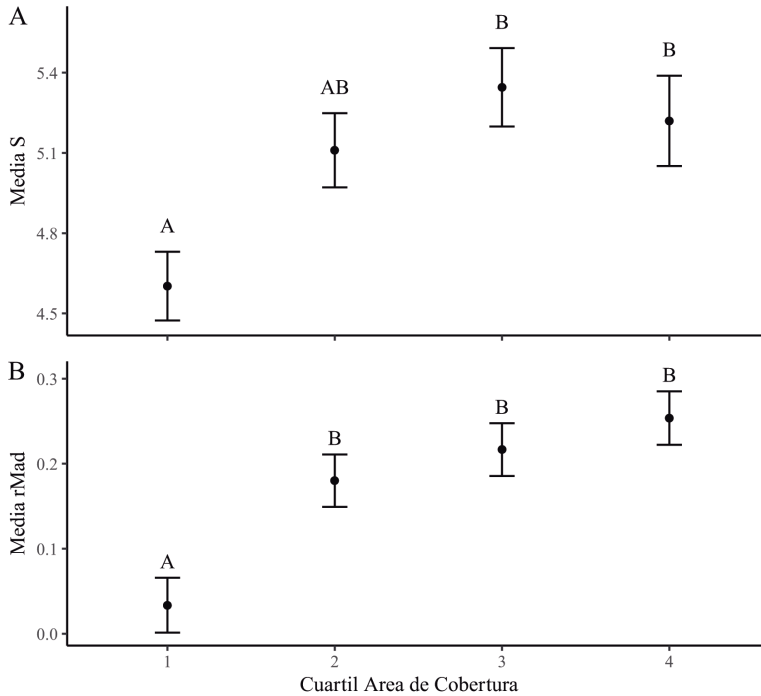


Figura 7. Gráfica de medias \pm SE para cada cuartil de la variable: número de m² cubiertos por arbolado en una circunferencia de 10 m de diámetro alrededor de cada trampa (COBTRA). **A.** Media de número de especies capturadas por trampa (S) para cada cuartil de COBTRA. **B.** Media del índice rMad por trampa para cada cuartil de COBTRA. Las letras (A y B) indican los resultados del post-hoc Tukey HSD, en los grupos con la misma letra no existen diferencias significativas entre sus medias ($p > 0.05$).

Discusión

En el presente trabajo encontramos que los ensamblajes de hormigas de dehesas se ven afectados por distintas variables ambientales, tanto abióticas como bióticas, que dependen del uso y de la localización de la finca. Asimismo, el entorno inmediato de cada unidad de muestreo (trampa de caída) afecta a las especies y su abundancia relativa, habiéndose detectado tres grupos de hormigas localizadas en tres tipos de zonas: pastizal, zonas arboladas y de matorral.

Entre las especies de hormigas más ampliamente distribuidas y más abundantes en las fincas estudiadas dominan las de los grupos funcionales generalistas oportunistas y a continuación las especialistas del calor y/o ecosistemas abiertos, como era de esperar en el tipo de medio abierto que constituyen las dehesas. De cualquier manera, también se encuentran algunas especies de los grupos especialistas de frío y/o sombra, crípticas y especialistas de la madera, aunque en mucho menor proporción y cuya presencia dependerá de las características de los lugares de muestreo y de los propios requerimientos de la especie (Kaspari *et al.*, 2000; Staab *et al.*, 2014; Nowrouzi *et al.*, 2016; Lutinski *et al.*, 2017).

Variables ambientales y de gestión.

Constatamos también que ciertas variables geográficas, como son la latitud, longitud y altitud, así como algunas variables climáticas, como las temperaturas medias máximas, se relacionan con la diversidad de hormigas que se encuentran en las fincas. De cualquier manera, se observa un gradiente en altitud norte-sur, este-oeste, estando las fincas situadas más al noreste a mayor altitud sobre el nivel del mar. Es así posible que la diferencias de latitud entre las fincas (que es de casi 1° entre fincas más distantes) no sea un factor determinante para los cambios en los ensamblajes de hormigas, y que más bien pueda deberse a cambios en otras variables. Nowrouzi *et al.* (2016) no encuentran un efecto claro de la latitud sobre los ensamblajes de hormigas, hecho que achacan a la poca variación latitudinal entre los puntos de muestreo (5 grados), que en este estudio es incluso mayor a la nuestra. Este mismo patrón lo describe también Andersen *et al.* (2015) para las sabanas australianas, donde destaca que no se observan cambios de la biodiversidad por la latitud.

En el caso de la altitud, observamos que produce un efecto significativo sobre los ensamblajes de hormigas, aunque lo cierto es que los otros estudios con resultados similares compararan puntos de una misma montaña o cordillera (por ejemplo: el Himalaya), como es el caso de Fisher (1999), Lessard *et al.* (2011), Nowrouzi *et al.* (2016) u Olson (1994). De esta manera, se establece una relación entre los puntos de un mismo macizo montañoso; por ejemplo, Nowrouzi *et al.* (2016), estudian hasta un total de 6 localidades en distintas formaciones montañosas al noroeste de Australia, y en cada una de estas localidades puede tener de 3 a 6 puntos



de muestreo a diferentes cotas. En nuestro caso, estamos comparando una zona basta que cubre unos 340 km (este-oeste), y aunque todas las fincas estudiadas forman parte de Sierra Morena, no hemos comparado varias réplicas dentro de una misma área de estudio a distintas altitudes. Por tanto, los resultados significativos de la altitud pueden deberse a otras variables correlacionadas, por ejemplo la temperatura.

Así, las fincas situadas más al sureste presentan temperaturas medias más altas, que a su vez corresponden con las fincas localizadas a menores altitudes. Esta correlación negativa entre temperatura y altitud es un hecho probado en áreas cercanas de climatología similar (Lessard *et al.*, 2011; Flores *et al.*, 2018); y aunque el rango de variación no es muy elevado (unos 2.3 °C) queda demostrado que la temperatura es uno de los factores que afecta a los ensamblajes de hormigas de dehesas. Otros autores han encontrado asimismo la importancia de la temperatura ambiente para la diversidad de hormigas, ya que les afecta tanto directa como indirectamente (Retana y Cerdá, 2000; Sanders *et al.*, 2007).

De esta manera podemos afirmar, como defiende Gaston (2000) en su análisis sobre los patrones globales de la biodiversidad, que la variación de los ensamblajes de hormigas a lo largo de las fincas no se puede explicar por una variable concreta, sino por la interacción de todas ellas. De esta manera, debido a la poca variación de la latitud, y a la alta correlación entre las variables geográficas, la mayor parte del cambio en la diversidad de hormigas podría deberse a la variación en la altitud y los consecuentes cambios climáticos y a las condiciones ambientales, que modulan, en su conjunto, la diversidad de hormigas de las fincas. Eso sí, no hay que descartar que, como destaca también Gaston (2000), estos gradientes se pueden ver interrumpidos por patrones locales.

Es posible que esta interacción entre las variables y/o los cambios en los patrones locales estén enmascarando el hecho de que la carga ganadera no aparezca correlacionada con las hormigas. También puede suceder que el método de muestreo empleado no haya permitido encontrar posibles relaciones. De cualquier manera, tampoco descartamos que el efecto directo o indirecto del ganado sobre las hormigas no sea significativo. Otros autores han encontrado resultados contradictorios, ya que algunos indican su relación (Nash *et al.*, 2004; Calcaterra *et al.*, 2010; Arcoverde *et al.*, 2017) y otros, aunque quizá han encontrado algún cambio en las

especies, no señalan esta variable como modeladora de los ensamblajes de hormigas (Heuss *et al.*, 2019).

Microentorno.

Pudimos comprobar que la complejidad de los microentorno (medido mediante distintas variables estructurales: cubierta de arbolado, pastizal y hojarasca) inducía un incremento de riqueza de especies. Este fenómeno ha sido comprobado en distintos lugares (cuenca mediterránea, Sudamérica y Australia), donde diferentes autores proponen que la complejidad a escala local, incluso a escalas muy pequeñas, va a provocar un incremento de la diversidad y la rotación de especies (Luque y Reyes López, 2007; Gibb y Parr, 2013; Queiroz *et al.*, 2013). Este hecho se puede deber a numerosas razones, desde cambios microclimáticos, por ejemplo en la temperatura (Luque y Reyes López, 2007), hasta cambios en la disponibilidad de recursos (Luque y Reyes López, 2007; Queiroz *et al.*, 2013).

De esta manera, encontramos un incremento en la diversidad de hormigas en zonas con cubierta arbórea frente a zonas abiertas, así como la presencia de diferentes tipos de especies. Sin embargo, en las zonas de matorral se encuentra el caso opuesto, un menor número de especies en áreas cubiertas por matorral frente a áreas abiertas. Algunos autores han observado anteriormente este fenómeno: Staab *et al.* (2014), observa en zonas de matorral que la diversidad de especies es más baja que respecto a otras zonas. Este hecho puede explicarse por una disminución de las disponibilidad de luz. En este sentido, McGlynn *et al.* (2013) dice que el sombreado que se produce en las zonas de arbustos provoca una disminución local de la temperatura que puede actuar en detrimento de la diversidad de las especies que permanecen y anidan debajo y, de la misma forma, Staab *et al.* (2014) apunta a que esta diferencia es mayor en zonas de matorral debido a que la disponibilidad de luz parece estar más restringida por el estrato de cobertura más bajo. Por otro lado, Kaspari and Weiser (2000) señalan que puede ser debido a la humedad, ya que debajo de las zonas de matorral, en la estación seca, la disminución de la humedad es más abrupta que en otras zonas como por ejemplo las de arbolado. Sin embargo, creemos que es poco probable que en ecosistemas de dehesa los cambios en los ensamblajes de hormigas dependan de su cubierta vegetal (matorral



o árboles), pues no son ecosistemas de bosque denso como describen los anteriores autores. En nuestro caso, este hecho más bien podría deberse a que las zonas de matorral (normalmente cistáceas) suelen sufrir en las fincas un manejo agresivo cada pocos años, con desbroce de la vegetación arbustiva (Díaz Esteban y Pulido Díaz, 2009).

Además de encontrarse que la presencia de arbolado afecta a la diversidad y grupos funcionales de especies, el área total de cubierta de arbolado se relaciona de forma directa con la riqueza de especies y con la aparición de especies indicadoras de madurez. Esta relación también la observan Bos *et al.* (2007) entre el sombreado y la diversidad de especies en sistemas agroforestales, u otros autores como Neves *et al.* (2013), que no sólo lo relacionan con la diversidad, sino con los grupos de especies.

De esta manera pudimos clasificar las especies en distintos grupos en función de los microentorno en los que aparecían. En primer lugar podemos distinguir un conjunto de especies “A” de pastizales abiertos, que incluye sobre todo especies del grupo funcional de especialistas del calor y/o zona abiertas, como *C. iberica*, *C. rosenhaueri*, *F. gerardi*, *G. baeticum*, *G. hispanicum*, *M. barbarus*, *M. bouvieri*, *M. celiae*, *M. hispanicus*, *M. lusitanicus*, *O. sauleyi* y *P. ferreri*. Asimismo, aparecen especies del grupo funcional generalistas/oportunistas, entre las que destacan *T. forte* y *T. madeirense*, propias de zonas abiertas con pastizal (Fernández Haeger y Rodríguez González, 1983; González Martín y Espadaler, 2011), y *A. iberica*, una especie ubicua (Ortiz y Tinaut, 1988). Por otro lado, es posible encontrar algunas especies del grupo funcional crípticas, como es el caso de *A. dulcineae*, que es propia de zonas abiertas con vegetación mediterránea (González Martín y Espadaler, 2011), al igual que *T. alfacarensis* (CAPÍTULO 6). Por último, debemos señalar en este grupo “A” la presencia inesperada de *M. aloba*, una especie claramente forestal (Acosta *et al.*, 1983; Ordóñez-Urbano *et al.*, 2007), aunque hay que considerar que esta especie es muy rara en nuestros muestreos, únicamente se ha encontrado en dos trampas (Tabla 5). Su singular aparición podría explicarse a la influencia de alguna variable no considerada en el presente trabajo.

El grupo “B” integra sobre todo especies forestales, incluyéndose la mayoría de las especies del grupo de especialistas de frío y/o sombra como *C. fallax*, *C. lateralis*, *C. sylvaticus*, *C. truncata*, *L. lasioides*, *P. pygmaea* y *T. angustulus*. También aparecen especialistas de la madera

como *C. cruentatus* y *C. scutellaris*, y algunas especies crípticas, como: *T. rescedens*, especie propia de sistemas forestales abiertos (Ortiz y Tinaut, 1988); *T. racovitzaei*, especie umbrófila (Acosta *et al.*, 1983); y el género *Solenopsis*, que en la península ibérica está compuesto por especies umbrófilas e hipogeas (Ordóñez-Urbano *et al.*, 2007), a veces citadas como con preferencia por zonas cubiertas de hojarasca (Haro-Bailón *et al.*, 1980; Ohyama *et al.*, 2018). Encontramos también especies del grupo de especies generalistas y/u oportunistas, como son *T. semilaeve*, *T. nigerrimum* cf. y *A. senilis*, todas ellas generalistas capaces de ocupar multitud de tipos de medios (Haro-Bailón *et al.*, 1980; Tinaut, 1981; Acosta *et al.*, 1983; Carpintero *et al.*, 2000; Ordóñez-Urbano *et al.*, 2007). Otras especies dentro del grupo funcional generalistas/oportunistas, integradas en el grupo B, son: *A. gibbosa* y *C. pilicornis* (Roger, 1859), ambas especies boscófilas (Acosta *et al.*, 1983; Ordóñez-Urbano *et al.*, 2007); y *P. pallidula*, una especie muy adaptable y que tolera muy bien la presión antrópica (Acosta *et al.*, 1983), y que en zonas de dehesa prefiere vivir en lugares con cobertura. Por otro lado, se encuentran algunas especies del grupo funcional de especialistas de calor y/o zonas abiertas, como son: *C. hispanicus*, que ocupa un lugar central dentro del gráfico y que, a pesar de ser termófila, suele preferir zonas más boscosas que otras especies de su género (Tinaut, 1990); *I. subrufa*, especie predominantemente forestal, aunque puede estar presente en zonas abiertas con matorral (Acosta *et al.*, 1983) y *C. piceus*, que suele estar presente en zonas con cierta cobertura o en claros de bosques (Cerdá *et al.*, 1991).

Por último, el grupo “C” integra especies que en este capítulo han sido relacionadas con zonas de matorral. De nuevo se pueden ver algunas que corresponden al grupo de especialistas del frío y/o sombra, como *C. sordidula*, *F. cunicularia* y *L. grandis*; otras que se integran en el grupo funcional C, como es el caso de *T. tyndalei*, una especie rara en nuestros muestreos, propia de zonas forestales (Tinaut, 1991; Carpintero *et al.*, 2001); y tres especies del grupo funcional de especies generalistas y/u oportunistas, como son *T. caespitum*, propia de pastizales secos que a veces también está presente en zonas forestales abiertas (Wagner *et al.*, 2017); *C. auberti*, propia de zonas con fuerte cobertura vegetal (Ordóñez-Urbano *et al.*, 2007); y *P. schmitzii* que aunque suele estar en zonas con cobertura, suele ser menos boscófila y más termófila que *P. pygmaea* (de



Haro y Collingwood, 1977). Finalmente, del grupo de especialistas de calor y/o zonas abiertas también podemos encontrar especies, a destacar: *G. kugleri* y *C. micans*, que parecen habitar en zonas de matorral (Espadaler, 1985; Carpintero *et al.*, 2001) y bosques aclarados de encinas con mucha insolación (Tinaut y Martínez Ibañez, 1998) respectivamente.

En conclusión, podemos afirmar que existe un grupo de especies comunes a la mayoría de las fincas de dehesa muestreadas y que, dada amplitud geográfica muestreada, puedan ser comunes o muy comunes en las dehesas de Andalucía. Encontramos que los factores climáticos como la temperatura máxima y medias anuales, las precipitaciones anuales acumuladas, así como la de los meses de verano, son las variables que mejor describen la comunidad de hormigas de las fincas de dehesa. Por último, se han encontrado tres grupos fundamentales de especies de hormigas en función de los microentornos: las de zonas de pastizal, donde abundan especies termófilas y con tendencia a ocupar hábitats abiertos; las de zonas arboladas o bajo dosel, donde abundan especies propias de zonas de umbría y especialista de la madera; y las de zonas arbustivas donde se encuentran fundamentalmente especies propias de zonas de umbría y hojarasca. Así pues, si se busca favorecer la biodiversidad en los hábitats de dehesa, se debe proteger y potenciar una heterogeneidad en el hábitat, que permita la presencia de diferentes grupos de especies.

Bibliografía

- Acosta FJ, Martínez Ibáñez MD y Morales M (1983) Contribución al conocimiento de la mirmecofauna del encinar peninsular (1). (Hym. Formicidae). Boletín de la Asociación Española de Entomología 6:379-391.
- Andersen AN (1997) Using ants as bioindicators: multiscale issues in ant community ecology. *Conservation Ecology* 1.
- Andersen AN, del Toro I y Parr CL (2015) Savanna ant species richness is maintained along a bioclimatic gradient of increasing latitude and decreasing rainfall in northern Australia. *Journal of Biogeography* 42:2313-2322.
- Arcoverde GB, Andersen AN y Setterfield SA (2017) Is livestock grazing compatible with biodiversity conservation? Impacts on savanna ant communities in the Australian seasonal tropics. *Biodiversity and Conservation* 26:883-897.
- Bates D, Mächler M, Bolker B y Walker S (2015) Fitting linear mixed-effects models using lme4. *Journal of Statistical Software* 67.
- Bos MM, Höhn P, Saleh S, Büche B, Buchori D, Steffan-Dewenter I y Tschardt T (2007) Insect diversity responses to forest conversion and agroforestry management. *Stability of Tropical Rainforest Margins*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp 277-294.
- Bugalho MN, Lecomte X, Gonçalves M, Caldeira MC y Branco M (2011) Establishing grazing and grazing-excluded patches increases plant and invertebrate diversity in a Mediterranean oak woodland. *Forest Ecology and Management* 261:2133-2139.
- Calcaterra LA, Cabrera SM, Cuezco F, Pérez IJ y Briano JA (2010) Habitat and grazing influence on terrestrial ants in subtropical grasslands and savannas of Argentina. *Annals of the Entomological Society of America* 103:635-646.
- Caro T (2010) *Conservation by proxy: indicator, umbrella, keystone, flagship and other surrogate species*. Island Press, Washington.



- Carpintero S, Tinaut A, Herrera Grao A y Ferreras Romero M (2000) Estudio faunístico y ecológico de las hormigas (Hymenoptera: Formicidae) de la cuenca superior del río Hozgarganta (Parque Natural Los Alcornocales, Cádiz). Boletín de la Asociación Española de Entomología 24:124-138.
- Carpintero S, Tinaut A, Reyes-López JL y Arias de Reyna L (2001) Estudio faunístico de los formícidos del Parque Nacional de Doñana. Boletín de la Asociación Española de Entomología 25:133-152.
- Cerda X, Retana J y Bosch YJ (1991) Hormigas de Port-Bou (Gerona): una aproximación a su estudio ecológico.
- Congedo L (2016) Semi-automatic classification plugin.
- Costa Pérez JC, Martín Vicente Á, Fernández Alés R y Estirado Oliet M (2006) Dehesas de Andalucía : caracterización ambiental. Consejería de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio. Junta de Andalucía, Sevilla.
- Crist TO (2009) Biodiversity, species interactions, and functional roles of ants (Hymenoptera: Formicidae) in fragmented landscapes: a review. Myrmecological News 12:3-13.
- Cros S, Cerdá X y Retana J (1997) Spatial and temporal variations in the activity patterns of Mediterranean ant communities. Ecoscience 4:269-278.
- Deák B, Valkó O, Nagy DD, Török P, Torma A, Lőrinczi G, Kelemen A, Nagy A, Bede Á, Mizser S, Csathó AI y Tóthmérész B (2020) Habitat islands outside nature reserves – Threatened biodiversity hotspots of grassland specialist plant and arthropod species. Biological Conservation 241.
- Díaz Esteban M y Pulido Díaz FJ (2009) Dehesas perennifolias de *Quercus* spp. Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino., Madrid.
- Díaz M, Pulido FJ y Marañón T (2003) Diversidad biológica y sostenibilidad ecológica y económica de los sistemas adehesados. Ecosistemas 12:1-10.
- Dunn RR, Agosti D, Andersen AN, Arnan X, Bruhl CA, Cerdá X, Ellison

- AM, Fisher BL, Fitzpatrick MC, Gibb H, Gotelli NJ, Gove AD, Guenard B, Janda M, Kaspari M, Laurent EJ, Lessard J-PP, Longino JT, Majer JD, Menke SB, McGlynn TP, Parr CL, Philpott SM, Pfeiffer M, Retana J, Suarez A V., Vasconcelos HL, Weiser MD y Sanders NJ (2009) Climatic drivers of hemispheric asymmetry in global patterns of ant species richness. *Ecology Letters* 12:324-333.
- Economio EP, Narula N, Friedman NR, Weiser MD y Guénard B (2018) Macroecology and macroevolution of the latitudinal diversity gradient in ants. *Nature Communications* 9:1778.
- Espadaler X (1985) *Goniomma kugleri*, a new granivorous ant from the Iberian Peninsula (Hymenoptera: Formicidae). *Israel Journal Entomology* 19:61-66.
- Fernández Haeger J y Rodríguez González A (1983) Empleo del análisis de clasificación para la detección de grupos de especies afines en una comunidad de hormigas. *Studia oecologica*:115-124.
- Fisher BL (1999) Ant diversity patterns along an elevational gradient in the Réserve Naturelle Intégrale d'Andohahela. *Fieldiana: Zoology* 94:129-147.
- Flores O, Seoane J, Hevia V y Azcárate FM (2018) Spatial patterns of species richness and nestedness in ant assemblages along an elevational gradient in a Mediterranean mountain range (M Morganti, Ed.). *PLoS ONE* 13:e0204787.
- Gaston KJ (2000) Global patterns in biodiversity. *Nature* 405:220-227.
- Gibb H y Parr CL (2013) Does structural complexity determine the morphology of assemblages? An experimental test on three continents (Ed. Fenton B). *PLoS ONE* 8:e64005.
- González Martín JD y Espadaler X (2011) Formícidos del País Vasco (Hymenoptera: Formicidae): nuevas aportaciones. *Heteropterus Revista de Entomología* 11:109-122.
- Greenslade PJMM y Greenslade PJMM (1977) Some effects of vegetation cover and disturbance on a tropical ant fauna. *Insectes Sociaux* 24:163-182.



- Groc S, Delabie JHC, Fernandez F, Petitclerc F, Corbara B, Leponce M, Céréghino R y Dejean A (2017) Litter-dwelling ants as bioindicators to gauge the sustainability of small arboreal monocultures embedded in the Amazonian rainforest. *Ecological Indicators* 82:43-49.
- Haro-Bailón A, Comin P, Comín del Río P y De Haro Vera A (1980) Datos iniciales para un estudio ecológico de las hormigas de Menorca (Hymenoptera: Formicidae). *Bolletí de la Societat d'Història Natural de les Balears* 24:23-48.
- de Haro A y Collingwood CA (1977) Prospección mirmecológica por Andalucía. *Boletín de la Estación Central de Ecología* 6:85-90.
- Heuss L, Grevé ME, Schäfer D, Busch V y Feldhaar H (2019) Direct and indirect effects of land-use intensification on ant communities in temperate grasslands. *Ecology and Evolution* 9:4013-4024.
- Hunter ML (2017) Conserving small natural features with large ecological roles: an introduction and definition. *Biological Conservation* 211:1-2.
- Instituto Geográfico Nacional (2020) Plan Nacional de Ortofotografía Aérea.
- Jiménez-Carmona F, Carpintero S y Reyes-López JL (2020) Ants (Hymenoptera: Formicidae) as surrogates for epigeic arthropods in Northern Andalusian 'dehesas' (Spain). *Sociobiology* 67:201-212.
- Junta de Andalucía (2019) Rediam (Red de información ambiental de Andalucía).
- Kaspari M, O'Donnell S y Kercher JR (2000) Energy, density, and constraints to species richness: ant assemblages along a productivity gradient. *The American Naturalist* 155:280-293.
- Kaspari M, Ward PS y Yuan M (2004) Energy gradients and the geographic distribution of local ant diversity. *Oecologia* 140:407-413.
- Kaspari M y Weiser MD (2000) Ant Activity along Moisture Gradients in a Neotropical Forest. *Biotropica* 32:703.
- Lê S, Josse J y Husson F (2008) FactoMineR: An R package for multivariate analysis. *Journal of Statistical Software* 25:1-18.
- Lessard J-P, Sackett TE, Reynolds WN, Fowler DA y Sanders NJ (2011)

- Determinants of the detrital arthropod community structure: the effects of temperature and resources along an environmental gradient. *Oikos* 120:333-343.
- Luque GM y Reyes López J (2007) Effect of experimental small-scale spatial heterogeneity on resource use of a Mediterranean ground-ant community. *Acta Oecologica* 32:42-49.
- Lutinski JA, Lutinski CJ, Guarda C, Busato MA y Garcia FRM (2017) Richness and structure of ant assemblages (Hymenoptera: Formicidae) in Atlantic forest in southern Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias* 89:2719-2729.
- M. de Medio Ambiente y Medios Rural y Marino (2010) Real Decreto 1131/2010, de 10 de septiembre. Boletín Oficial del Estado.
- Manning AD, Fischer J y Lindenmayer DB (2006) Scattered trees are keystone structures - Implications for conservation. *Biological Conservation* 132:311-321.
- Martin M (1996) La dehesa. *Agricultura* 762:44-49.
- Martinez Arbizu P (2017) pairwiseAdonis: pairwise multilevel comparison using adonis.
- McGeogh MA y McGeoch M a (1998) The selection, testing and application of terrestrial insects as bioindicators. *Biological Reviews* 73:181-201.
- McGlynn TP, Alonso-Rodríguez AM y Weaver M (2013) A test of species-energy theory: patch occupancy and colony size in tropical rainforest litter-nesting ants. *Oikos* 122:1357-1361.
- Ministerio de Transportes Movilidad y Agenda Urbana (2020) SIOSE (Sistema de Información de Ocupación del Suelo de España).
- Moreno G, Gonzalez-Bornay G, Pulido F, Lopez-Diaz ML, Bertomeu M, Juárez E y Diaz M (2016) Exploring the causes of high biodiversity of Iberian dehesas: the importance of wood pastures and marginal habitats. *Agroforestry Systems* 90:87-105.
- Nash MS, Bradford DF, Franson SE, Neale AC, Whitford WG y Heggem DT (2004) Livestock grazing effects on ant communities in the eastern Mojave Desert, USA. *Ecological Indicators* 4:199-213.



- Neves FS, Queiroz-Dantas KS, da Rocha WD y Delabie JHC (2013) Ants of three adjacent habitats of a transition region between the cerrado and caatinga biomes: the effects of heterogeneity and variation in canopy cover. *Neotropical Entomology* 42:258-268.
- Nowrouzi S, Andersen AN, Macfadyen S, Staunton KM, Vanderwal J y Robson SKA (2016) Ant diversity and distribution along elevation gradients in the Australian Wet tropics: The importance of seasonal moisture stability (Ed. Pratt SC). *PLoS ONE* 11:e0153420.
- Ohyama L, King JR y Jenkins DG (2018) Diversity and distribution of *Solenopsis* (Hymenoptera: Formicidae) thief ants belowground. *Myrmecological News* 27:47-57.
- Oksanen J, Blanchet FG, Friendly M, Kindt R, Legendre P, McGlenn D, Minchin PR, O'Hara RB, Simpson GL, Solymos P, Stevens MHH, Szoecs E y Wagner H (2019) *vegan*: Community Ecology Package.
- Olson DM (1994) The distribution of leaf litter invertebrates along a Neotropical altitudinal gradient. *Journal of Tropical Ecology* 10:129-150.
- Ordóñez-Urbano C, Reyes-López J y Carpintero S (2007) Estudio faunístico de los formicidos (Hymenoptera: Formicidae) asociados a los bosques de ribera en la provincia de Córdoba (España). Primeras aportaciones. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa (S.E.A)* 40:367-375.
- Ortiz FJ y Tinaut JA (1988) Formicidos del litoral granadino. *Orsis: organismes i sistemes* 163:145-163.
- Poschlod P y Braun-Reichert R (2017) Small natural features with large ecological roles in ancient agricultural landscapes of Central Europe - history, value, status, and conservation. *Biological Conservation* 211:60-68.
- Prather CM, Pelini SL, Laws A, Rivest E, Woltz M, Bloch CP, del Toro I, Ho CK, Kominoski J, Newbold TAS, Parsons S y Joern A (2013) Invertebrates, ecosystem services and climate change. *Biological Reviews* 88:327-348.
- Pulido FJ (1999) Herbivorismo y regeneración de la encina (*Quercus ilex* L.) en bosques y dehesas.

- Pulido FJ y Picardo Á (2010) Libro verde de la dehesa. Documento para el debate hacia una estrategia ibérica de gestión.
- QGIS Development Team (2020) QGIS Geographic Information System.
- Queiroz ACM de, Ribas CR y França FM (2013) Microhabitat characteristics that regulate ant richness patterns: the importance of leaf litter for epigeic ants. *Sociobiology* 60:367-373.
- R Core Team (2020) R: a language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing* 1:1-2630.
- Ramírez Hernández A, Micó Balaguer E & Galante Patiño E (2015) El ecosistema de dehesa como reservorio de diversidad de insectos saproxílicos (Coleoptera y Diptera: Syrphidae) y factores que determinan sus ensambles. *Cuadernos de Biodiversidad* 47:13–24.
- Retana J y Cerdá X (2000) Patterns of diversity and composition of Mediterranean ground ant communities tracking spatial and temporal variability in the thermal environment. *Oecologia* 123:436-444.
- Reyes-López J, Ruiz N y Fernández-Haeger J (2003) Community structure of ground-ants: the role of single trees in a Mediterranean pastureland. *Acta Oecologica* 24:195-202.
- Ribas CR, Campos RBF, Schmidt FA y Solar RRC (2012) Ants as indicators in Brazil: a review with suggestions to improve the use of ants in environmental monitoring programs. *Psyche: A Journal of Entomology* 2012:1-23.
- Robinson D y Hayes A (2019) broom: Convert Statistical Analysis Objects into Tidy Tibbles.
- Roig X y Espadaler X (2010) Propuesta de grupos funcionales de hormigas para la Península Ibérica y Baleares, y su uso como bioindicadores [Proposal of functional groups of ants for the Iberian Peninsula and Balearic Islands, and their use as bioindicators]. *Iberomyrmex* 2:28-29.
- San Miguel A (1994) La dehesa española. Origen, tipología, características y gestión. (Fundación Conde del Valle de Salazar, Ed.). Madrid.
- Sanchez G, Sánchez G y Sanchez G (2012) plsdepot: Partial Least Squares



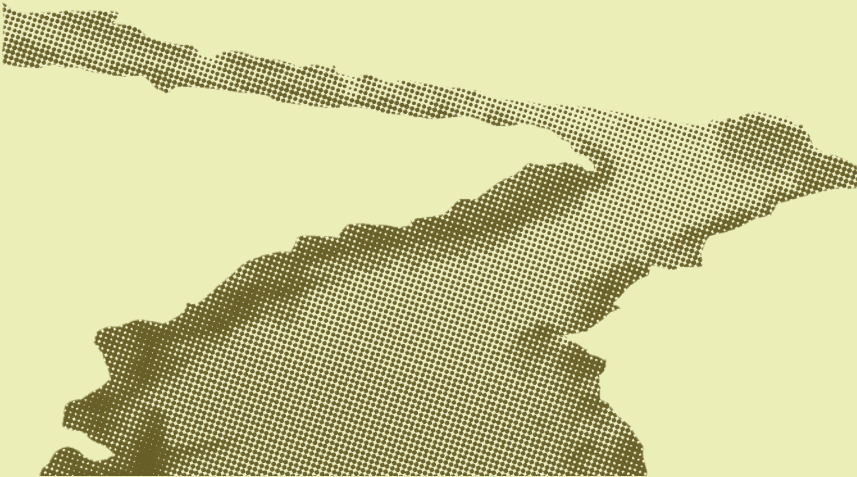
(PLS) Data Analysis Methods.

- Sanders NJ, Lessard J-P, Fitzpatrick MC y Dunn RR (2007) Temperature, but not productivity or geometry, predicts elevational diversity gradients in ants across spatial grains. *Global Ecology and Biogeography* 16:640-649.
- Schmidt FA, Ribas CR y Schoereder JH (2013) How predictable is the response of ant assemblages to natural forest recovery? Implications for their use as bioindicators. *Ecological Indicators* 24:158-166.
- Seligman NG y Perevolotsky A (1994) Has intensive grazing by domestic livestock degraded Mediterranean Basin rangelands? Plant-animal interactions in Mediterranean-type ecosystems. (Eds. Arianoutsou y Groves RH) Springer, Dordrecht, Dordrecht, pp 93-103.
- Staab M, Schuldt A, Assmann T, Bruelheide H y Klein AM (2014) Ant community structure during forest succession in a subtropical forest in South-East China. *Acta Oecologica* 61:32-40.
- Thornes J (2000) Environmental crises in the Mediterranean. *Geography, environment and development in the Mediterranean*. (Eds. King R, De Mas P y Mansvelt Beck J) Sussex University Press, Brighton, UK, pp 291-281.
- Tinaut A (1981) Estudio de los formícidos de Sierra Nevada.
- Tinaut A (1990) Situación taxonómica del género *Cataglyphis* Förster, 1850 en la Península Ibérica. III. El grupo de *C. velox* Santschi, 1929 y descripción de *Cataglyphis humeya* sp. n. (Hymenoptera, Formicidae). *EOS Rev. Esp. Entomol.* 66:215-227.
- Tinaut A (1991) Contribución al conocimiento de los formícidos del Parque Nacional de Doñana (Hymenoptera, Formicidae). *Bol. Asoc. Esp. Entomol.* 15:57-63.
- Tinaut A y Martínez Ibañez D (1998) Nuevos datos para la fauna Ibérica de hormigas I. Ponerinae y Formicinae (Hym. Formicidae). *Bol. Asoc. Esp. Entomol.* 22:237-240.
- Vasconcelos HL, Maravalhas JB, Feitosa RM, Pacheco R, Neves KC y Andersen AN (2018) Neotropical savanna ants show a reversed

- latitudinal gradient of species richness, with climatic drivers reflecting the forest origin of the fauna. *Journal of Biogeography* 45:248-258.
- Verdinelli M, Yakhlef S, Cossu C, Pilia O y Mannu R (2017) Variability of ant community composition in cork oak woodlands across the Mediterranean region: implications for forest management. *iForest - Biogeosciences and Forestry* 10:707-714.
- Wagner HC, Arthofer W, Seifert B, Muster C, Steiner FM y Schlick-Steiner BC (2017) Light at the end of the tunnel: Integrative taxonomy delimits cryptic species in the *Tetramorium caespitum* complex (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News* 25:95-129.
- Whitford WG (2000) Keystone arthropods as webmasters in desert ecosystems. *Invertebrates as webmasters in ecosystems*. CABI, Wallingford, pp 25-41.
- Wickham H (2016) *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag, New York.

CAPÍTULO 3

Las hormigas (Hymenoptera: Formicidae) como un grupo indicador de impacto ambiental humano en los bosques de ribera del río Guadalquivir (Andalucía, España).



*“A lo lejos el río, preciosa cinta,
que custodia sus olmos de plata en hebras.”*

Manolo García
A lo lejos el río. Saldremos a la lluvia, 2008.

Resumen

Los bosques de ribera (sotos) juegan una multitud de papeles fundamentales en la conservación del ecosistema. Para evaluar su estado de conservación, se pueden utilizar distintas herramientas, como el índice QBR (“Qualitat del bosc de ribera”). En este capítulo, se pretende demostrar que las hormigas pueden ser un excelente grupo bioindicador de la calidad de los sotos. Para ello se muestrearon las comunidades de hormigas de 14 bosques de ribera del río Guadalquivir. El muestreo de las hormigas fué realizado mediante la colocación de trampas de caída. También se determinaron distintas variables de perturbación (QBR, distancia al centro del municipio más cercano, distancia al centro del municipio más cercano con más de 20 000 habitantes) para cada zona. Se encontraron un total de 41 especies en el total de las áreas, y se obtuvo una alta correlación entre el índice QBR y el índice de Shannon, la equitatividad y el número de especies. Usando análisis multivariantes (PLS y Non-Metric MDS), se encontró una alta correlación entre el resto de variables de perturbación y la abundancia de las especies en cada soto, así como una gran correlación entre las propias variables de perturbación.

Por lo tanto, se puede afirmar que las hormigas son un buen indicador para estimar el estado de conservación de los bosques de ribera, ya que están altamente correlacionadas con diferentes índices que estiman asimismo el estado de conservación de estos ecosistemas. Un valor alto del índice QBR está vinculado a ecosistemas diversos. También se detectó que la cercanía a núcleos de población, que son fuente de perturbación antrópica, estará vinculada a ecosistemas menos diversos. Se ha detectado que ciertas especies de hormigas están relacionadas con un índice QBR



alto como *Temnothorax pardoii*, *Temnothorax recedens* y *Camponotus lateralis*. Análogamente, encontramos que *Tetramorium semilaeve* es una especie común en sotos con menor índice QBR.



Contents lists available at ScienceDirect

Ecological Indicators

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ecolind



Ants (Hymenoptera: Formicidae) as an indicator group of human environmental impact in the riparian forests of the Guadalquivir river (Andalusia, Spain)

Francisco Jiménez-Carmona^{*}, Alba M. Heredia-Arévalo, Joaquín L. Reyes-López

University of Córdoba, Campus of Rabanales, Department of Botany, Ecology and Plant Physiology, Celestino Mutis, C-4 Building, 14014 Córdoba, Spain



ARTICLE INFO

Keywords:
Ants
Bioindicator
QBR index
Riparian forest
Distance urban centres
Human disturbance
Riverbank ecosystem

ABSTRACT

Riparian forests play multitude of fundamental roles in the preservation of the environment. In order to assess its conservation state, different indexes can be used, such as the QBR ('Qualitat del bosc de ribera') that estimates conservation status of the riparian forest. Another widely used way of estimating the state of an ecosystem can be based on bioindicator groups, such as ants (Hymenoptera: Formicidae). In this work we intend to demonstrate that ants are an excellent bioindicator group of the riparian forests quality, comparing them with a widely used and extend index (QBR) in the Mediterranean basin. In this study we sampled the ant communities using pitfall traps in 14 riparian forest of the Guadalquivir River. The captured ants were identified and the abundance in number of workers of each species was determined. Also, we determined the perturbation variables (QBR index, nearest urban centres and nearest urban centres > 20,000 inhabitants) for each area. A total of 41 species were found in the sampled areas and high correlations were obtained between the QBR index and the Shannon index, Equitability and number of species. Using multivariate analysis (PLS and Non-Metric MDS), a strong correlation was found between perturbation variables and abundance per species in each grove, as well as a strong correlation between perturbation variables themselves.

Therefore, we can affirm that ants are a good indicator to estimate the state of conservation of riparian forest, since they are highly correlated with different variables that estimate the state of conservation. In a certain way, a high QBR index will be linked to diverse ecosystems. In addition, greater distances to urban centres, which are sources of anthropic disturbance, will be linked to less diverse ecosystems. It has also been detected in the sampled groves that there is a certain amount of species that are related to a good state of conservation (QBR), such as *Temnothorax pardoii*, *Temnothorax recedens* and *Camponotus lateralis*. Analogously, it has been detected that *Hypoponera eduardi* is a common species in groves with worse state of conservation.

1. Introduction

Riparian forests are key elements in the maintenance of the integrity of aquatic ecosystems (Rios and Bailey, 2006). They are considered ecotones between fluvial and terrestrial ecosystems (Risser, 1990) and perform varied crucial roles for the conservation of the environment such as minimization of the sand bank erosion, percolation and retention of the nutrient loading, refuge of multitude of species (Lorion and Kennedy, 2009; Rios and Bailey, 2006), or even, they constitute ecological corridors (Marczak et al., 2010).

In spite of the fact that this type of forests provides fundamental ecosystem services not only for the habitat itself but also for the immediate surroundings, lately they are suffering a serious degradation threat. This is due to a decrease in species richness and changes in the

community level (at functional groups level) which, in turn, is the result of several changes in the vegetation composition (Iñiguez-Armijos et al., 2014; Lorion and Kennedy, 2009; Mc Conigley et al., 2017) that are mostly caused by anthropic activities (Tockner and Stanford, 2002).

To evaluate the disturbance level suffered by the ecosystem, it is common to use some type of index. One of the most widely used, particularly for riparian forests, is the QBR index ('Qualitat del Bosc de Ribera') (Munné et al., 2003, 1998; Suárez et al., 2002). This index takes into account four fundamental blocks: the vegetation cover, the structure of the vegetation, the wildness and complexity of the riparian forest and the alteration of the riverbed. The index can take values between 0 and 100. The QBR index was developed to evaluate the impact of the forest of lotic ecosystems in Spain, where it has been applied in different basins (Alba-Tercedor et al., 2002; Munné et al.,

^{*} Corresponding author.

E-mail address: francisco.jimenez@uco.es (F. Jiménez-Carmona).

<https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106762>

Received 9 March 2020; Received in revised form 17 July 2020; Accepted 23 July 2020
1470-160X/ © 2020 Elsevier Ltd. All rights reserved.



2003; Ocampo-Duque et al., 2007; Valero, 2012; Valero et al., 2015, Valero et al., 2014). Other authors have broadened its use to places outside this framework such as: Portugal (Oliveira and Cortes, 2005), Turkey (Tüzün and Albayrak, 2005) and South America: Argentina (Sirombra and Mesa, 2012), Chile (Carrasco et al., 2014), Ecuador and Perú (Villamarín et al., 2014) or México (Rodríguez-Téllez et al., 2016).

Other variables that are also commonly used to estimate human disturbance are the distances to farming areas or urban centres. The distance to areas, in which the strong anthropic pressure increases the chances of non-native species invasion (Alston and Richardson, 2006; Fornwalt et al., 2003), as well as the abundance of these species have been shown to be both a symptom and a source of disturbance (Dukes and Mooney, 1999).

Another choice is the use of bioindicator organisms which, according to (Andersen et al., 2002), are: "[...] a species or group of species that readily reflects: the abiotic or biotic state of an environment; represents the impact of environmental change on a habitat, community or ecosystem; or is indicative of the diversity of a subset of taxa, or of wholesale diversity, within an area". Nowadays, many studies focus on macroinvertebrates as a good bioindicator group (Andersen et al., 2004, Andersen et al., 2002). On the other hand, ants (Hymenoptera: Formicidae) are a specially important group since they participate in a multitude of ecosystem processes (Ribas et al., 2012; Verdinielli et al., 2017). Moreover, these organisms respond to disturbances in a predictable and generally linear way (Philpott et al., 2009). Altogether, these characteristics make of ants an excellent bioindicator group (Andersen, 2018; Groc et al., 2017; Verdinielli et al., 2017).

The aim of this study is to test the level of correspondence between two well described habitat assessments systems, such as the QBR index and the distance to the sources of perturbation (named "disturbance variables"), versus the richness and diversity of ants as bioindicator.

2. Material and methods

2.1. Study area

To carry out this study 14 riparian forests were selected along the Guadalquivir River (Table 1 and Fig. 1A). The selection criteria followed for the study areas were: the vegetation cover was found on different stages of preservation, they were distributed along the river

Table 1

Summary of the information of sampling areas. The altitude data has been extracted from the terrain elevation models MDT05, from the National Plan of Aerial Orthophotography (Ministry of Transport, Mobility and Urban Agenda, Government of Spain).

Code	Name	Province	Latitude	Longitude	Altitude (m)
ALB	Sotos de la Albolafia	Córdoba	37.874427°	-4.782081°	178
ALM	Almódovar	Córdoba	37.802960°	-5.001008°	72
BAL1	Balneario	Jaén	38.052514°	-4.195678°	121
BAL2	Balneario ampliación	Jaén	38.052572°	-4.195400°	91
CHO	Chopos	Jaén	38.032647°	-4.039511°	90
DES	Desembocadura	Jaén	38.056963°	-4.109881°	90
IFA1	Ribera junto al IFAPA	Córdoba	37.857197°	-4.797938°	197
IFA2	Ribera cerca del IFAPA	Córdoba	37.856080°	-4.799277°	197
OVE	Ovejas	Jaén	38.036953°	-4.064833°	196
PHA	Puente del Hacha	Jaén	37.968378°	-2.916318°	193
PHE	Puente de las Herrerías	Jaén	37.900806°	-2.938833°	176
PRO	Puente Romano	Jaén	38.031333°	-4.061475°	745
ROP	La Ropera	Jaén	38.054372°	-4.109106°	989
VFR	Villafranca de Córdoba	Córdoba	37.951064°	-4.544350°	193

course and, to facilitate the sampling, they were selected around 3 points or macrozones: Cazorla, Andújar and Córdoba. The characteristics of each grove are described below, grouped by macrozone:

2.1.1. Groves of the natural Park of 'Sierras de Cazorla, Segura y las Villas' (mountain areas)

PUNTE DE LAS HERRERIAS (PHE): Located within the Park, 8 km from the source of the Guadalquivir River. It is a narrow grove about 30 m wide with a high slope on the banks. It presents a dense riparian forest with species like *Populus alba* L., *Ulmus* sp., *Quercus ilex ballota* (Desf.) Samp., *Pinus* sp. and *Acer monspessulanum* L.

PUNTE DEL HACHA (PHA): Located within the Park, 18 km from the source of the Guadalquivir River. It is a narrow grove 23 m wide with a high slope. In terms of tree species, it is similar to PHE.

2.1.2. Groves near Andújar

CHOPOS (CHO): Close to the city of Andújar, 60 m wide, flanked in the north by a road which gives access to the area and a *P. alba* plantation and in the south by the river. The arboreal stratum is formed by *Salix alba* L., *Salix fragilis* L., *Populus nigra* L., *Populus alba* and *Ulmus minor* Mill., in abundance order. The shrub layer is principally composed of *Tamarix* sp. Near the city, it suffers from strong anthropic perturbances due to the near cultivation of *Populus* and for its use for recreational activities.

PUNTE ROMANO (PRO): Close to Andújar and next to the roman bridge that gives access to the town. It is a high slope area 51 m wide. There is a zone with total cover of grass. There is also a shrub layer composed mainly of *Tamarix* sp. lastly, the tree stratum is formed by *P. alba*, *P. nigra* and some *Eucalyptus*. It is a difficult access area due to its slope and usually has a low presence of people, although sometimes has a moderate grazing activity.

OVEJAS (OVE): Although far from the urban area of Andújar it suffers a strong overgrazing. It is about 116 m wide. The herbaceous layer is composed exclusively of some thistles of the *Onopurum* genus, the shrubs of *Tamarix* sp. and the arboreal of *P. alba* and *P. nigra*.

ROPERA (ROP): Close to la Ropera district, belonging to Andújar, about 44 m wide. It is situated next to an area repopulated with *P. alba*. There is no bushy layer and the arboreal stratum is composed of *S. fragilis* and *P. alba*. It is an area very close to the settlement, so it is normally used for recreational and grazing uses.

DESEMBOCADURA (DES): This area is located in the triangle between the Guadalquivir River and the mouth of the Jándula River, with a maximum width of 217 m. The area suffers temporal flooding by the river and it is also of difficult access due to the thick vegetation, which make unusual the human presence. The herbaceous stratum, high and diverse in size, is mainly composed of thistles, legumes and grasses. The bushy layer is composed of *Tamarix* sp. and the main trees that can be found are *P. alba*, *P. nigra*, *S. alba* and *S. fragilis*.

BALNEARIO (BAL1): Near Marmolejo, placed closely to a picnic area and an old health resort. This zone is 24 m wide. The soil is covered by a large quantity of annual species (legumes, grasses, and brassicas) and other perennials such as *Arum italicum* Mill., *Asparagus officinalis* L. and *Mentha* sp. The shrubs layer is mainly composed of *Tamarix* sp. and *Nerium oleander* L. In addition, the tree stratum is really dense, and it is habitual to find *S. alba*, *S. fragilis*, *P. alba*, *P. nigra* and some *Eucalyptus* sp.

BALNEARIO AMPLIACIÓN (BAL2): It is an area 24 m wide located close to BAL1, in which differs in the abundance of trees. It is a pasture area with a shrub layer composed by *N. oleander*. There are also some individuals of *S. alba*, *S. fragilis*, *P. alba* and *Fraxinus* sp. sparsely present in the pasture.

2.1.3. Groves near Córdoba

VILLAFRANCA (VFR): This is a small disturbed area sometimes used for grazing sheep, which is about 116 m wide. Predominantly it is occupied by *P. alba*, *S. alba* and *Fraxinus* sp. that compose the tree stratum

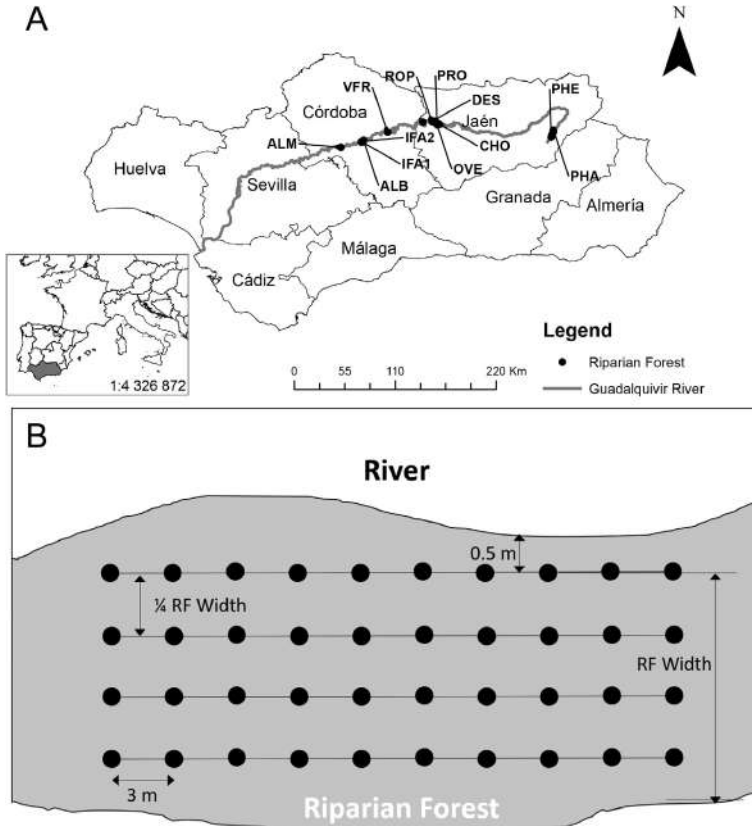


Fig. 1. A. Location map of the riparian forests sampled along the Guadalquivir River. B. Scheme of the layout of the pitfall traps in the sampling areas (except ALB).

and the scrubs are mainly dominated by *Tamarix* sp. It is also an area of difficult access.

SOTOS DE LA ALBOLAFIA (ALB): This zone is a Natural Monument called 'Sotos de la Albolafia'. It is an area of 22 ha of the Guadalquivir riverbank as it passes through the city of Córdoba. It is about 88 m wide. In the arboreal stratum, the predominant species are *P. alba*, *Celtis australis* L. and *S. alba*. As for the shrubs, species like *Tamarix* sp., *Juncus* sp., *Typha* sp. and *N. oleander* can be found. It is a busy area (at its edges) easily accessible and with a special interest for being a nesting area for birds.

IFAPA 1 & IFAPA 2 (IFA1 & IFA2): They are about 28 and 25 m wide respectively. Both are areas with medium disturbance, with an easy access because there is a path in parallel to the river which is usually used for recreational activities. It is eventually used as a grazing area for sheep and it should be outlined that they are the most recently naturalized areas studied (they are repopulated zones since 2004). The predominant bushy vegetation is the *Rubus* sp. and *N. oleander*, and the most abundant trees are *P. alba*, *S. alba* and *U. nigra*.

ALMODÓVAR (ALM): This grove is near the Cordovan village of Almodóvar del Río, 105 m wide. It is under a high anthropic pressure

due to the proximity to a sand river quarry. Trees like *P. alba*, *P. nigra* and *Eucalyptus* sp. are predominant.

2.2. Experimental design

In each sampling area we placed 4 transects of 30 m length each, located parallel to the river. Each transect contained 10 pitfall traps separated 3 m from each other. We placed the first transect at 0.5 m from the riverbed. To calculate the location of the next transects, we measured the width from the first transect to the end of the vegetation layer in opposite direction to the river (riparian vegetation width, in meters). The other three transects were placed at a distance of 1/4 riparian vegetation width from each other (Fig. 1B). In the ALB sampling area, due to the vegetation density, all transects were placed on a single line parallel to the river at 0.5 m from the riverbed. These transects were separated by a distance of 5 m from each other.

The pitfall traps consisted of a plastic translucent cup (upper diameter = 5.7 cm, base diameter = 5 cm, deep = 7.3 cm and vol = 150 ml, REF. 409702, DELTALAB SL., Rubí, Spain). The traps were placed in the ground deep enough to leave their apertures at the

**Table 2**

Diversity of sampling areas and perturbation variables. Different diversity values (S: Species Richness.; Nw: No. Workers.) and perturbation variables (QBR: Index of Riparian Quality, DNS: Distance nearest settlement in km, and DNC: Distance nearest city population > 20,000 in km) of the sampling zones are shown. The value of each one and the factored group are shown in each variable. The groups were assigned according to: QBR: Group 1 [0,60], Group 2 (60, 85], Group 3 (85, 100]. DNC: Group 1 [0, 0.33], Group 2 (0.33, 1.22], Group 3 (1.22, 2.57]. DNS: Group 1 [0, 0.16], Group 2 (0.33, 1.23], Group 3 (1.56, 7.86].

Riparian F.	S	Nw	Shannon I.	Equitability I.	QBR		DNS		DNC	
					Value	Group	Value	Group	Value	Group
ALB	20	2316	0.836	0.727	75	2	0.01	1	0.01	1
ALM	9	304	0.369	0.376	10	1	1.56	3	1.56	3
BAL1	16	344	0.813	0.707	40	1	1.22	2	1.22	2
BAL2	19	613	0.777	0.677	60	1	1.23	2	1.23	2
CHO	11	848	0.363	0.337	10	1	0.33	2	0.33	2
DES	10	429	0.794	0.745	90	3	0.54	3	4.36	3
IFA1	15	1493	0.783	0.722	80	2	0.02	2	0.02	2
IFA2	17	1356	0.681	0.598	80	2	0.33	1	0.33	1
OVE	14	1099	0.364	0.318	40	1	0.16	1	0.16	1
PHA	18	592	0.681	0.546	95	3	2.39	3	7.86	3
PHE	21	301	0.848	0.739	100	3	2.57	3	5.87	3
PRO	16	767	0.756	0.607	85	2	0.04	1	0.04	1
ROP	11	574	0.792	0.734	60	1	0.38	3	4.2	3
VFR	20	694	0.876	0.777	90	3	0.46	2	0.46	2

ground level. They were active during 48 h. All the cups were filled with 45 ml of a 1% (aprox.) solution of detergent and water, in order to break the surface tension and prevent, in this way, smaller arthropods from escaping (Wang et al., 2001).

After 48 h, the traps were collected and the ants were extracted, keeping them preserved in 96° alcohol for their later identification. Each sample was identified at species level, registering the workers number per trap. The abundance was obtained by riparian forest and Shannon and Evenness indexes were calculated, as well as the species number per zone (S).

For each sampling the next perturbation variables were calculated:

- QBR Index (index of riparian quality). All values, except those near Andújar, were calculated as Fornells et al. (1998) described. We used the protocol proposed by F.E.M. (Freshwater Ecology and Management Research Group). In the case of the groves located in the town of Andújar the data were extracted from a previous report made by the Environmental association for the conservation of animals and plants (AMECO, 2020), data which were verified in field.
- DNS (distance nearest settlement) the distance to the closest population centres, regardless of the size, measured in kilometres. Calculated by GIS.
- DNC (distance nearest city) the distance to the population centres with > 20,000 inhabitants. Measure in km. Calculated by GIS.

2.3. Climatic information

The weather of these zones corresponds to the continental Mediterranean. It has mild temperatures in winter, commonly reaching temperatures above 40 °C during the day. Supplementary Material 1 shows specific data for each of the zones.

2.4. Statistical analysis

In order to verify the relation between the zones diversity and the disturbance, a Pearson correlation among the diversity indexes (Shannon and Evenness), the species number and the perturbation variables were calculated. The Pearson correlation coefficient measures the strength of the linear relationship between normally distributed variables; but when the variables are not normally distributed or the relationship between the variables is not linear, as in the case of the number of occupied pitfall traps, it is more appropriate to use the Spearman rank correlation method (Hauke and Kossowski, 2011). We calculated the Spearman rank correlation between the number of

occupied traps (OT) per species in each zone (value between 0 and 40) and the value of the QBR index, to detect the species whose abundance could be related to the disturbance measured through the QBR index. With the same aim, the matrix of presence/absence of species was obtained by zone in order to compare the average of the QBR index in those areas in which each species was present or absent. This comparison of means was made using a Kruskal-Wallis analysis.

As next step, we perform a multivariate analysis PLSr (Partial Least Squares regression) which was applied on the perturbation variables as predictor variables in the model and number of traps occupied by species and area as response variables, based on the correlation matrix and with 9999 permutations to calculate the significance. To confirm the correlation of each disturbance variable as predictor variables in the model with the number of occupied traps for the species in each grove as response variables, we performed a non-metric MDS test (Non-Metric Multidimensional Scaling). The test was carried out by using the same variables as in the previous test and using the Raup-Crick similarity index (Raup and Crick, 1979) as distance.

Finally, to confirm the existence of a linear relationship between species assemblages (matrix of traps occupied by species and sampling area) and the perturbation variables, we performed a PERMANOVA test. Previously, we factorized the disturbance variables in order to balance the distribution of the cases by groups (Anderson et al., 2017; Anderson and Walsh, 2013). The group were distributed as shown in Table 2. Before the analysis, the multivariate homogeneity of the dispersion of the groups was verified using a permutation analysis (999 permutations) in each of the variables (separately). Once the pre-requisites were verified, a PERMANOVA test was performed for each of de perturbation variables with 999 permutations in separate models.

The Pearson correlation and the Kruskal-Wallis were performed with Statistica v8.0 software (StatSoft Inc., 2001). The Multivariate analyses were carried out by using R v3.6.2 (R Core Team, 2020). The PLSr was performed with de function 'plsreg2' of the package 'plsdepot' (Sanchez, 2012). The non-metric MDS was performed with the functions 'metaMDS' and 'envfit' of the package 'vegan' (Oksanen et al., 2019). The multivariate homogeneity permutation test of group dispersions was calculated by using the 'betadisper' and 'permutest' functions of the 'vegan' package (Oksanen et al., 2019). The PERMANOVA test using the 'adonis' function of the 'vegan' package (Oksanen et al., 2019). All graphics were performed with the function 'ggplot' of the package 'ggplot2' (Wickham, 2016).

Table 3

Spp. vs Disturbance. The results of the Spearman correlation test are shown for QBR vs Occupied Traps, means of the values of the QBR index for the areas in which the species are present and absent, Kruskal-Wallis for the comparison of the means by species. Values of $p < 0.05$ are underlined.

SPP	Spearman		Mean QBR		Kruskal-Wallis	
	r_s	p	Absence	Presence	H (1,14)	p
<i>Camponotus lateralis</i> (Olivier, 1792)	0.602	<u>0.023</u>	56.250	77.500	3.792	0.052
<i>Formica gerardi</i> Bondroit, 1917	0.606	<u>0.022</u>	60.000	97.500	4.853	<u>0.028</u>
<i>Lasius grandis</i> Forel, 1909	0.628	<u>0.016</u>	0.000	65.357		
<i>Myrmica aloba</i> Forel, 1909	0.698	<u>0.005</u>	95.000	95.000	6.275	<u>0.012</u>
<i>Temnothorax mediterraneus</i> Ward et al., 2015	0.613	<u>0.020</u>	57.273	95.000	4.853	<u>0.028</u>
<i>Temnothorax luteus</i> (Forel, 1874)	0.611	<u>0.020</u>	60.000	97.500	4.853	<u>0.028</u>
<i>Temnothorax pardoi</i> (Tinaut, 1987)	0.854	<u>< 0.001</u>	43.570	87.140	7.631	<u>0.006</u>
<i>Temnothorax recedens</i> (Nylander, 1856)	0.590	<u>0.026</u>	52.778	88.000	4.894	<u>0.027</u>
<i>Temnothorax semilaeve</i> André, 1883	-0.549	<u>0.042</u>	95.000	63.077	1.882	0.170

3. Results

In this work, we have found a total of 41 species for the set of all the sampling areas, belonging to 18 genera and 4 subfamilies. The most diverse riverbank forest was 'Puente de las Herrerías' (PHE) with 21, followed by 'Sotos de la Albolafia' (ALB) and 'Villafranca de Córdoba' with 20 species. Despite the fact that not always a legal protection figure is related with high levels of diversity (Angulo et al., 2016), the most diverse areas of our study were those provided with some legal protection figure. The most abundant species (as for the number of workers) were *Pheidole pallidula* (Nylander, 1849), *Tetramorium semilaeve* André, 1883, *Lasius grandis* Forel, 1909 and *Plagiolepis pygmaea* (Latreille, 1798) in that order (Supplementary Material 2).

Significant correlations were obtained between the QBR index and the Shannon diversity index ($r = 0.748$, $p = 0.002$), Evenness ($r = 0.711$, $p = 0.004$) and species richness ($r = 0.609$, $p = 0.021$).

The Spearman correlations between the QBR index and the occupied traps (OT) for each species (Table 3) were positively significant ($p \leq 0.05$) for species as *Formica gerardi* Bondroit, 1917, *L. grandis*, *Myrmica aloba* Forel, 1909, *Temnothorax mediterraneus* Ward et al., 2015, *Temnothorax luteus* (Forel, 1874), *Temnothorax recedens* (Nylander, 1856) and *Camponotus lateralis* (Olivier, 1792). Finally, in the case of *Temnothorax pardoi* (Tinaut, 1987), the Spearman correlation was considerably higher than those of the other species. Our results show that these species were present in those areas with a QBR index, on average, significantly higher (Kruskal-Wallis tests: $p > 0.05$, Table 3). On the other hand, *C. lateralis*, did not show any significant difference (Kruskal-Wallis tests: $p > 0.05$, Table 3); and *T. semilaeve* showed to be significantly negatively correlated with areas with higher QBR index (Spearman: $p < 0.05$, Table 3), but no significant differences were observed in the means of the QBR index of areas with presence vs. absence (Kruskal-Wallis test, Table 3).

The correlation between the disturbance variables and the occupied traps for species and sampling area was also analysed using a PLS test. A correlation was obtained between the coordinates proposed by the PLS test for the Axis 1, very high ($r = 0.956$, $p < 0.001$). This test showed that the two zones of Cazorra (PHE and PHA), were noticeably different from the rest and could cause a spurious increase in the correlation. Therefore, this analysis was repeated eliminating these two riverbank forests, obtaining between the coordinates of both groups for Axis 1 also a high correlation ($r = 0.871$, $p < 0.001$).

The non-metric MDS test (stress = 0.114) was performed. As Fig. 2 shows, both distance variables (DNS and DNC) were highly correlated; but there was no correlation between the distance variables and the QBR index. Moreover, the disturbance variables showed to be strongly correlated with the ant community of each grove (summarized in axis 1 and 2 of the analysis; Table 4). According to these results, the studied groves can be divided in four main groups (Fig. 2): the first group is composed by the groves of 'Sierra de Cazorra' (PHA and PHE), both sites with a high QBR index and distant from the urban centres. The second

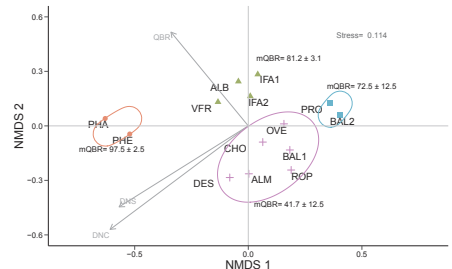


Fig. 2. Non-metric MDS for the set of sampling areas (similarity matrix based on the Raup-Crick Coefficients calculated from the number of traps occupied) and the perturbation variables. The points have been grouped by proximity in the graph; mQBR of each group shows the mean \pm SE of the QBR index of the points included in the circle.

Table 4

Correlation of the perturbation variables (axis 1 and 2) in both NMDS tests performed in all groves.

Name	Corr. Axis 1	Corr. Axis 2
QBR	-0.551	0.832
DNS	0.787	-0.617
DNC	-0.730	-0.684

group, located above the previous one, is composed by ALB, IFA1, IFA2 and VFR. All these groves were areas with high QBR index, and they were located near populated areas. The third and the fourth groups, composed by DES, CHO, OVE, ALM, BAL1 and ROP, then PRO and BAL2 respectively were characterized by medium-low QBR rates and located at different distances from urban centres.

Finally, the results of PERMANOVA tests did not show any significant differences ($p > 0.05$) between the variance of each of the groups formed from the factorization of perturbation variables (Table 2, $pQBR = 0.003$, $pDNC = 0.006$ and $pDNS = 0.004$). However, it showed that the species assemblages differs significantly ($p < 0.05$) in function of the values of each perturbation variables ($pQBR = 0.231$, $pDNC = 0.527$ and $pDNS = 0.527$).

4. Discussion

The relationship between the conservation status of the riverbank forests, measured through the QBR index, and the diversity of ants is confirmed in this study. Moreover, our study also reaffirms the key role of the ants as indicators of human disturbance in this habitat type, as



well as in other different ecosystems (Andersen et al., 2002; Andersen and Majer, 2004; Fisher et al., 2014; Trigos-Peral et al., 2020; Verdinelli et al., 2017). Though most of the studied groves (with the exception of those which are in the mountains, PHA and PHE) are surrounded by cultivable areas, industrial or habitable river zones, we have found a high species richness (Table 2). This result confirms the concept of riverbank forests as refuge of biodiversity. Other authors found similar results in fragmented fluvial forest established between farming areas (García-Martínez et al., 2015; Gray et al., 2015; Ordóñez-Urbano et al., 2007).

The most common species found in our study, *P. pallidula* and *T. semilaeve*, are both categorized as generalist-opportunist (Roig and Espadaler, 2010). The second most abundant species, *L. grandis* and *P. pygmaea*, show preferences by forest areas (Ordóñez-Urbano et al., 2007). Additionally, at a same degree of disturbance, the different studied groves showed differences in ant community composition, which is linked to different environmental features. Thus, in the naturalized groves ('Sierra de Cazorla' zones: PHA and PHE) we found species linked to areas at high altitude (i.e. *T. mediterraneus* and *T. luteus*), as well as species indicators of mature forests (i.e. *Stenamma debile* (Foerster, 1850) and *Lasius myops* Forel, 1894). As an exception, 'los Sotos de la Abolafia' (ALB), an area with an historical anthropic influence showed a moderately good QBR index despite its location within the city itself, near the Guadalquivir River (see Table 1). This area encompasses diversity values (Species richness, Shannon I, and Equitability I) that place it together to the groves of natural sites of 'Sierra de Cazorla' (PHA and PHE) (Table 2). Despite some authors showed that a legal protection figure does not guarantee a high diversity of the protected area diversity (Angulo et al., 2016), the relatively high values in 'Sotos de la Abolafia' might be correlated with the limitation of its management (Carpintero et al., 2008; Ordóñez-Urbano et al., 2007) after in 2001 the site was declared a Natural Monument, which fits with other authors findings (Gray et al., 2016). For this reason, we consider that the area could be an individual object of study.

Regarding the distance to the urban centre, the results differ depending of the methodology used in the study. For instance, the ant community showed to be strongly linked to the distance to the urban centre (by multivariate test). Moreover, the diversity indexes did not show to be connected with this index. These findings are in concordance with previous publications, in which it is pointed out that traditional measures of diversity (Species richness, Shannon indexes...) are not optimal for detecting the effect of the disturbance of the environment on wildlife. Our results also suit with previous studies (Cuautle et al., 2016; Miranda et al., 2017) which suggest that the use of the relative abundance, as well as the presence/absence of either individual species or groups of species, as a better alternative for the evaluation of the disturbance level of an area.

Most of the works that measure distances to cores of anthropic disturbance, consider urban ecosystem as sources of the propagation of invasive/allochthonous species (Alston and Richardson, 2006; Fornwalt et al., 2003; Timmins and Williams, 1991). In our study, *Cardiocondyla mauritanica* Forel, 1890 (Wetterer, 2012) was the only allochthonous species found in the sampled areas. Nevertheless, previous studies found the invasive species *Linepithema humile* (Mayr, 1868) (McGlynn, 1999) in low density (Carpintero et al., 2008; Ordóñez-Urbano et al., 2007) in some of our study areas (specifically ALB).

Our results also show that some species are correlated with the QBR index (OT SPP vs QBR) and are usually present only on those forests with high QBR index (QBR > 80). These are species such as *T. pardoii*, *T. recedens*, *T. luteus* and *T. mediterraneus* (categorized within the functional group of cryptic species; Roig & Espadaler 2010) and *M. aloba* (categorized within the specialist of cold and shade habitats; Trigos-Peral and Reyes-López, 2016). These species have particular environmental requirements and are included within specialist groups, which makes them indicators of environmental health and well conserved habitats (Groc et al., 2017; Leal et al., 2012; Menke and Vachter,

2014; Roig and Espadaler, 2010). Additionally, *T. luteus* and *T. mediterraneus* were only found in the sampling zones located in the natural park of 'Sierras de Cazorla, Segura and Las Villas', all of them groves with high values of QBR index. Notwithstanding, to determine whether these species are really environmental health indicators, future studies with a higher number of sampling areas in this placement and different levels of disturbance according QBR index are needed.

Finally, *T. semilaeve* showed an opposite trend and its presence in traps decreased while increasing the QBR index value. However, at the time of the comparison of the means no significant correlations were found. The presence of this species in all the zones with the exception of 'Puente del Hacha' (PHA) is the most probable cause of an unbalance data pool and undetected variation of its abundance by Kruskal-Wallis test. Therefore, our results highlight the generalist nature of this species and minimize the role of these species as a disturbance indicator.

It can be noticed areas which QBR index (QBR ≤ 20) indicates that they are in a poor conservation status due to the human activities. For example, the increasing of the disturbance of 'Chopos' is connected with the overgrazing and the closeness to a crop of poplars. Moreover, the increasing of the disturbance of 'Almodovar' is connected with the removal of the woody layer and the presence of a sand and loose stone quarry. Notwithstanding, our results show how despite the proximity to the city and easy access, the natural monument of 'Sotos de la Abolafia' in the centre of the city of Córdoba has an acceptable value in terms of its QBR index and an ant diversity value at the level of natural areas. These findings suggest that the two previously mentioned areas ('Balneario 1' and 'Ovejas', QBR between 21 and 40), among others with a low QBR index, are required of protection measures (as for example, the limitation or management of recreational use and livestock management) to enhance their role as reservoirs of diversity.

Summarizing, this work prove the reliability of the QBR index for the evaluation of the disturbance of natural areas by showing a strong relationship between the ant diversity and this environmental state index in the studied riverbank forests. It has been also found that for these specific forests there is a group of ant species (*T. pardoii*, *T. recedens* and *M. aloba*) which presence is linked to a high QBR index. Likewise, the distance to the urban areas should be another factor to consider for the estimation of the disturbance of these habitats type. Moreover, our study also shows that, generally, the riparian forest status depends on their state of management, use and grazing. Finally, we want to emphasize that those areas of difficult access, low interest or under legal protection have a greater conservation status.

CRedit authorship contribution statement

Francisco Jiménez-Carmona: Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Investigation, Writing - original draft. **Alba M. Heredia-Arévalo:** Data curation, Investigation, Writing - original draft. **Joaquín L. Reyes-López:** Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Methodology, Writing - review & editing, Supervision.

Declaration of Competing Interest

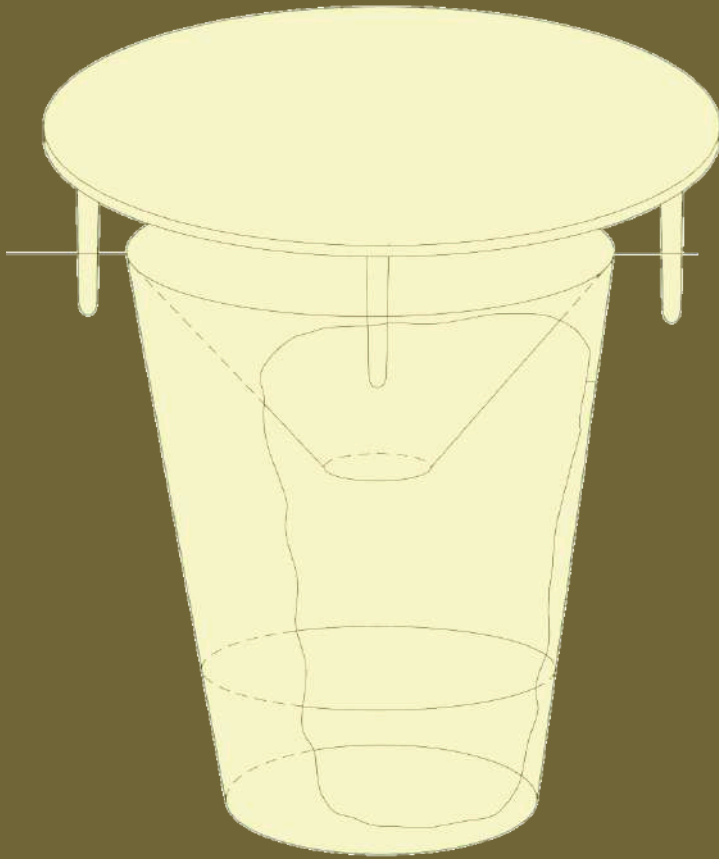
The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgements

The revision of the manuscript by Soledad Carpintero and María Agustina Martín Caño is gratefully acknowledged. We thank all the students of the ecology area of University of Córdoba who participated during the sampling of this work.



- Timmins, S.M., Williams, P.A., 1991. Weed numbers in New Zealand's forest and scrub reserves. *N. Z. J. Ecol.* 15, 153–162.
- Tockner, K., Stanford, J.A., 2002. Riverine flood plains: present state and future trends. *Environ. Conserv.* 29, 308–330. <https://doi.org/10.1017/S037689290200022X>.
- Trigos-Peral, G., Reyes-López, J.L., 2016. Las hormigas como bioindicadores para la gestión de zonas verdes urbanas en el sur de la Península Ibérica. *Propuesta de grupos funcionales. Iberomyrmex* 8, 37–38.
- Trigos-Peral, G., Rutkowski, T., Witek, M., Ślipiński, P., Babik, H., Czechowski, W., 2020. Three categories of urban green areas and the effect of their different management on the communities of ants, spiders and harvestmen. *Urban Ecosyst.* 23, 803–818. <https://doi.org/10.1007/s11252-020-00949-9>.
- Tüzün, I., Albayrak, I., 2005. The effect of disturbances to habitat quality on Otter (*Lutra lutra*) activity in the River Kızılırmak (Turkey): a case study. *Turkish J. Zool.* 29, 327–335. <https://doi.org/10.1002/j.2168-0159.2013.tb06355.x>.
- Valero, E., 2012. Characterization of the water quality status on a stretch of river Lérez around a small hydroelectric power station. *Water (Switzerland)* 4, 815–834. <https://doi.org/10.3390/w4040815>.
- Valero, E., Álvarez, X., Picos, J., 2015. An assessment of river habitat quality as an indicator of conservation status. A case study in the Northwest of Spain. *Ecol. Indic.* 57, 131–138. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2015.04.032>.
- Valero, E., Picos, J., Álvarez, X., 2014. Characterization of riparian forest quality of the Umia River for a proposed restoration. *Ecol. Eng.* 67, 216–222. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2014.03.084>.
- Verdinelli, M., Yakhlief, S., Cossu, C., Pilla, O., Mannu, R., 2017. Variability of ant community composition in cork oak woodlands across the Mediterranean region: Implications for forest management. *iForest - Biogeosciences For.* 10, 707–714. <https://doi.org/10.3832/ifor2321-010>.
- Villamarin, C., Prat, N., Rieradevall, M., 2014. Caracterización física, química e hidromorfológica de los ríos altoandinos tropicales de Ecuador y Perú. *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 42, 1072–1086. <https://doi.org/10.3856/vol42-issue5-fulltext-12>.
- Wang, C., Strazanac, J., Butler, L., 2001. A comparison of pitfall traps with bait traps for studying leaf litter ant communities. *J. Econ. Entomol.* 94, 761–765. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-94.3.761>.
- J.K. Wetterer Worldwide spread of the moorish sneaking ant, cardiocondylamauritanica (hymenoptera: Formicidae) *Sociobiology* 59 2012 985 997 <https://doi.org/www.saschico.edu/biol/Sociobiology/sociobiologyindex.html>.
- Wickham, H., 2016. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag, New York.

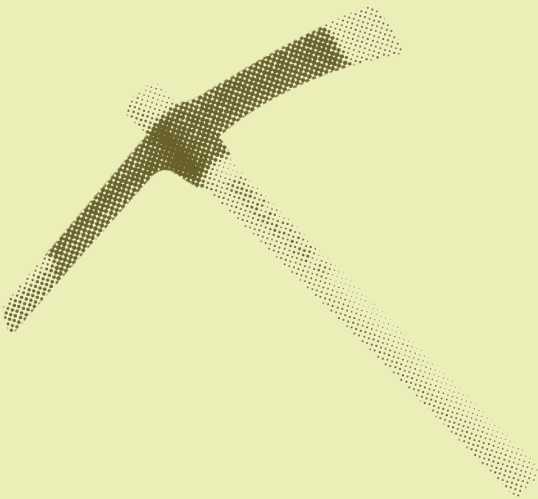


BLOQUE 2

Factores de sesgo en muestreos de hormigas con trampas de caída.

CAPÍTULO 4

El efecto *digging-in* en estudios de hormigas con trampas de caída: influencia del tipo de hábitat y del tiempo de muestreo.



*“Cavar, cavar, cavar, cavar
en la mina quiero yo.
Cavar, cavar, cavar, cavar
No acabas nunca, no.”*

Resumen


Las trampas de caída son uno de los sistemas de muestreo más usados para el estudio de las hormigas. Existen muchos tipos de trampas de caída y muchas maneras de usarlas. Las diferentes metodologías que pueden emplearse pueden introducir sesgos en los muestreos. Una de las posibles causas de sesgo puede ser el efecto *digging-in*, que produce un incremento transitorio de las capturas a causa de la colocación de la trampa, que termina remitiendo.

En este estudio realizamos dos experimentos para comprobar las consecuencias del efecto *digging-in* en las hormigas de ecosistemas mediterráneos. El primer experimento se realizó en dos tipos distintos de hábitat: uno abierto (pastizal) y otro cerrado (con cobertura vegetal de matorral y árboles). El segundo experimento se realizó en un pastizal homogéneo donde se estudió el tiempo de prevalencia del efecto *digging-in*, es decir el tiempo de duración del efecto desde la colocación de la trampa.

Los resultados indican un incremento de las especies capturadas y diferencias en la composición (especies/abundancia) en las primeras 24 horas, que a las 48 horas desaparecen. Esto no descarta que ciertas especies a título individual se vean afectadas, incrementando sus capturas o disminuyendo. En cuanto a los tipos de hábitats, se encontró que afectaban a la composición de especies de hormigas, pero no que influyeran sobre el efecto *digging-in*, excepto para la especie *Solenopsis latro*.



The digging-in effect on ant studies with pitfall traps: influence of type of habitat and sampling time

Francisco Jiménez-Carmona* , Soledad Carpintero & Joaquín Luis Reyes-López

Department of Botany, Ecology and Plant Physiology, University of Córdoba, Campus of Rabanales, Celestino Mutis C-4 building, Córdoba 14014, Spain

Accepted: 6 May 2019

Key words: arthropod communities, Formicidae, habitat effect, sampling bias, species composition

Abstract

Pitfall traps are among the most common sampling methods used for the study of ants. There are many types of traps and many possible ways of using them. The various methodologies may introduce biases in sampling. One possible bias may be caused by the digging-in effect (DE), resulting in higher catches of ants immediately after traps are set in the ground which subsequently decline. In this study, we performed two experiments to verify the consequences of the DE for ants in a Mediterranean ecosystem. In the first experiment we distinguished between two types of habitats: closed and open (i.e., with or without shrub or tree cover). The second experiment was carried out in a homogeneous pasture where the time of prevalence of the DE was verified, investigating the duration of the effect. The results indicate differences between communities in the first 24 h after setting of the traps, which had disappeared after 48 h. This does not dismiss the possibility of certain species being affected either positively (increase in captures) or negatively (decrease). Changes in species composition, determining whether the DE was manifested or not, differed among habitat types.

Introduction

Pitfall traps are containers with smooth walls, buried at ground level, that usually contain a liquid that attracts and/or preserves the individuals and prevents them from escaping (Sheikh et al., 2018). Pitfall trapping is a method of passive sampling for epigeous arthropod communities, aimed at active taxa with large foraging areas (Halsall & Wratten, 1988). It allows estimation of the activity and relative abundance of species in an easy and effective way (Gotelli & Colwell, 2001; Prasilka et al., 2007; Sheikh et al., 2018).

This sampling system is widely used for ants, but some variables should be considered. The capture of different species and the relative abundance of individuals may change according to the characteristics of the pitfall traps or to the sampling designs. For example, the use of baits or preservatives, the matter, colour, and size of the containers, or the sampling period may attract or repel certain species (Bestelmeyer et al., 2000).

In this work, we measure one element of bias, the so-called digging-in effect (DE) (Joosse, 1965; Greenslade,

1973). This effect results from the disturbance caused when placing the trap in the ground, due to the excavation and consequent mixing of surrounding substrate, and it seems to induce a temporary increase in the catches (Greenslade, 1973). This effect has been described for a number of taxa, such as Collembola (Querner & Bruckner, 2010), ants (Hymenoptera: Formicidae) (Greenslade, 1973), carabids and other Coleoptera (Digweed et al., 1995; Schirmel et al., 2010) and spiders (Schirmel et al., 2010).

Various hypotheses have been formulated to explain the DE, such as a decrease in the number of subsequent captures due to the depletion of populations (Greenslade, 1973; Digweed et al., 1995), an increase in prey availability deriving from stirring of the soil, which would attract individuals (Skvarla et al., 2014), the emission of CO₂ resulting from digging of the soil that may attract some invertebrates (Joosse & Kapteijn, 1968; Schirmel et al., 2010), or a reduction of physical barriers, favouring the movement of individuals through the excavated areas (Greenslade, 1973). Other studies suggest that the type of habitat or the specific composition of the community under study may influence the appearance of the DE (Joosse, 1965; Digweed et al., 1995).

*Correspondence: E-mail: Francisco.jimenez@uco.es



Figure 1 Location of the study areas.

To avoid or minimize this phenomenon, different measures have been recommended. They include, for example, the use of drilling machines for digging a clean hole in the soil with minimum perturbation, or to leave the traps closed for a certain period of time before being opened to allow soil settlement (Greenslade, 1973; Majer, 1978; Morrison & Porter, 2003). Regarding the time needed to avoid this effect, there is currently no consensus, with periods ranging from 24 h to 7 weeks having been proposed (Ballingier et al., 2007; Underwood & Christian, 2009).

Despite being a well-studied phenomenon, recent studies have cast doubt on the existence of a generalized effect in the particular case of ants (Schirmel et al., 2010; Lasmar et al., 2017). This is probably because high ecological and behavioural variability of this group causes that various species respond in different ways. Some authors have even found an increment in captures over time for the DE (Alder & Silverman, 2005), an outcome opposite to the one described by Greenslade (1973). It has also been proposed that the DE is strongly influenced by the time that the trap remains open: when traps are kept open for long periods the DE may be diluted (Schirmel et al., 2010).

Given the sometimes contradictory results, we undertook the present study with the goal of determining how the DE influenced in general the capture of ants, in relation with the exposure time of the traps (24 vs. 48 h) and the type of habitat. We also studied how the DE affected the most abundant ant species.

Materials and methods

Study areas

The study zones are located in Rabanales Campus (University of Cordoba, Spain) (Figure 1), and cover an area of 60 ha. The climate is Continental Mediterranean with Atlantic influences (source: State Meteorological Agency, Aemet.es). Meteorological data for the study period: temperature average 29°C, average maximum 37°C, average minimum 20°C; 0 mm of rainfall during sampling days (weather station of Central Research Support Service, Rabanales Campus).

Experimental designs

Traps consisted of 150-ml translucent plastic cups (5.7 cm upper diameter, 5 cm base diameter, 7.3 cm deep; ref. 409702, Deltalab, Rubi, Spain). They were set at ground level and flush with the soil surface. According to the experiment, some of the traps were installed directly in the hole of the ground and others were placed inside buried hollow PVC tubes (Figure 2A). These tubes prevented the collapse of the holes with soil when the traps were removed, so the DE was avoided when they were replaced by other traps. To activate the traps, they were opened and filled with a killing agent (30–35 ml of a 1% detergent solution in water). The time that elapsed between the setting of the traps in the field and their activation, as well as

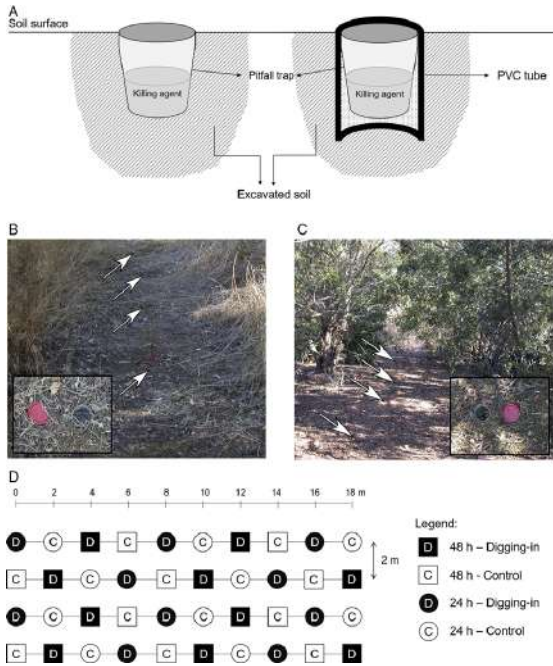


Figure 2 (A) Cutaway diagram of the pitfall traps. The one on the left is placed directly in a hole in the ground, the one on the right inside a buried PVC tube. (B, C) Habitat type in experiment 1, with a transect of five pitfall traps in (B) open and (C) closed areas. The arrows point to the first traps. The detailed photographs show a buried trap and its lid. (D) Scheme of trap placement in experiment 2. The 24 h traps were set inside PVC tubes buried in the soil. Control traps were set 4 days before they were activated (opened and filled with 30 ml of a 1% detergent solution). The traps to analyse the digging-in effect were activated immediately after setting them in the field. [Colour figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com].

the time that they remained active, varied according to the experiment.

In both experimental designs there were two types of trap: traps subjected to possible DE (D) and control traps (C). D traps were activated immediately after placing them in the ground. C traps were placed in the ground a certain time before their activation so that the ants were not influenced by the DE. After collecting the traps, all ants were extracted and stored in 96° alcohol. All specimens were identified to the species level and counted.

Experiment 1

This experiment was carried out in a field research area of Rabanales Campus (37.917742°N, 4.714060°W; see the detailed description in Luque & Reyes López, 2007). It was intended to determine whether there were differences between the ants captured in pitfall traps due to a DE, and at the same time to assess whether the type of habitat interacted in any way with this effect.

Treatment habitat type. Two types of habitat were analysed: closed and open. The open habitats had just an herbaceous cover (Figure 2B). The closed habitats had woody vegetation cover of various Mediterranean species of shrubs and trees of >4 m high that provided both shade and a layer of litter (Figure 2C). For both types of habitat two linear transects of pitfall traps were set. Each transect consisted of five traps, with 1.5-m distance between two neighbouring traps. Three repetitions of this experiment were carried out, in May, June, and September of 2018, making a total of 60 traps.

Treatment digging-in effect. Each trap transect consisted of two groups of traps. The D traps (subjected to the DE) were set in the field and immediately activated, whereas control traps (C) were set 6 months before they were activated. These last traps were placed inside PVC tubes (Figure 2A). Traps C and D were alternately arranged in both types of habitat, as DCDCD for the first transect and



Table 1 GLM analysis of experiment 1: number of workers per ant species, treatment [C, control traps; D, digging-in effect (DE) traps], and type of habitat (open or closed) (except for *Tetramorium forte* because they were captured in just three traps)

Species	Habitat				All total	GLM (P)		
	Open		Closed			DE	Habitat	Interaction
	C	D	C	D				
<i>Aphaenogaster gibbosa</i>	82	86	21	58	247	0.32	0.21	0.57
<i>Pheidole pallidula</i>	0	0	76	207	283	0.18	<0.0001	0.37
<i>Plagiolepis pygmaea</i>	5	7	75	153	240	0.85	0.0001	0.89
<i>Tetramorium forte</i>	200	0	0	0	200	-	-	-
<i>Plagiolepis schmitzii</i>	68	76	23	30	197	0.76	0.099	0.90
<i>Cataglyphis velox</i>	55	47	4	0	106	0.68	<0.0001	0.84
<i>Tapinoma nigerrimum</i>	19	26	39	21	105	0.93	0.27	0.94
<i>Temnothorax racovitzai</i>	0	0	35	37	72	0.89	0.0002	0.78
<i>Solenopsis latro</i>	0	0	9	61	70	0.0006	<0.0001	0.0032
<i>Aphaenogaster senilis</i>	24	35	0	3	62	-	-	-
<i>Crematogaster auberti</i>	13	19	8	5	45	-	-	-
<i>Camponotus barbaricus</i>	12	1	17	10	40	-	-	-
<i>Messor barbarus</i>	8	27	2	1	38	-	-	-
<i>Cataglyphis rosenhaueri</i>	21	12	0	0	33	-	-	-
<i>Camponotus micans</i>	25	0	0	0	25	-	-	-
<i>Tetramorium semilaeve</i>	2	1	2	13	18	-	-	-
<i>Temnothorax alfacarensis</i>	0	1	4	5	10	-	-	-
<i>Temnothorax tyndalei</i>	1	2	0	0	3	-	-	-
Total	535	340	315	604	1794	0.59	0.82	0.78

Based on ln(nw + 1) transformed worker numbers.

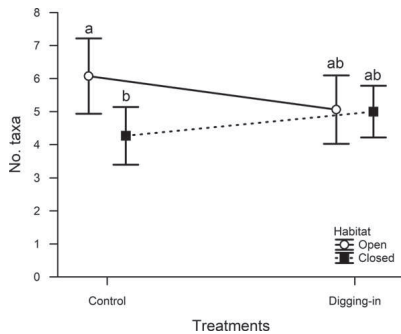


Figure 3 Experiment 1. Mean (± SD) number of species per trap for each of the digging-in effect (DE) treatments (digging-in vs. control) and both types of habitats [open (white dots) and closed (black squares)]. Means capped with different letters are significantly different (HSD test with unequal sample sizes: $P < 0.05$).

CDCDC for the second. C and D traps were activated at the same time and remained 48 h in the field before being collected.

Experiment 2

The aim of experiment 2 was to assess not only the influence of the DE on ants but also to investigate if this effect changed over time. It was carried out in a pasture close to the previous research area (37.915587°N, 4.715358°W). Four parallel transects were set, each with 10 pitfall traps, and with consecutive traps 2 m apart (Figure 2D). These traps had two combined and balanced treatments (for each treatment there was an equivalent number of traps).

Treatment day effect. To evaluate whether there were changes in the DE as time passed, three sets of traps were used: 48 h traps that were directly placed in a hole in the ground and were active for 48 continuous hours in the field; 1st day 24 h traps that were set at the same moment as the previous ones and that were replaced for other traps 24 h later (2nd day 24 h traps, third set of traps), making a total of 60 traps. The 24 h traps were placed inside a PVC tube (Figure 2A).

Treatment digging-in effect. As for the first experiment, half of the traps were C and the other half D for each of the previous set of traps. C traps were placed in the field 4 days before their activation (for 48 h and 1st day 24 h

Table 2 Experiment 2: number of workers per ant species, treatment (C, control traps; D, digging-in effect traps) and trap replacement effect [1st vs. 2nd day traps, pooled data (24 + 24), or without replacement (48 h)]

Species	Day 1 (24 h)		Day 2 (24 h)		Total (24 + 24)		Without replacement (48 h)	
	D	C	D	C	D	C	D	C
<i>Aphaenogaster gibbosa</i>	341	51	45	26	386	77	476	100
<i>Aphaenogaster senilis</i>	81	30	22	10	103	40	47	18
<i>Camponotus barbaricus</i>	6	12	8	9	14	21	39	15
<i>Camponotu</i> ssp.	1	16	0	1	1	17	0	1
<i>Cataglyphis velox</i>	0	0	1	2	1	2	3	0
<i>Crematogaster auberti</i>	0	2	0	1	0	3	0	3
<i>Messor barbarus</i>	134	1	0	1	134	2	31	2
<i>Pheidole pallidula</i>	136	4	1	2	137	6	3	140
<i>Plagiolepis pygmaea</i>	22	15	7	13	29	28	70	63
<i>Plagiolepis schmitzii</i>	18	2	11	2	29	4	41	28
<i>Solenopsis latro</i>	1	0	0	0	1	0	2	1
<i>Tapinoma nigerrimum</i>	2	0	0	0	2	0	0	0
<i>Temnothorax alfacarensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	12
<i>Temnothorax racovitzai</i>	29	4	9	1	38	5	48	51
<i>Temnothorax tyndalei</i>	1	0	0	0	1	0	0	0
<i>Tetramorium semilaeve</i>	3	0	0	1	3	1	2	0
Total no. workers	775	137	104	69	879	206	762	434
Total no. taxa	13	10	8	12	15	13	11	12

traps) and D traps, as always, were activated just after their placement. Both C and D traps were simultaneously activated for 48 h and 1st day 24 h traps.

Data analysis

For both experiments, we performed ANCOVA tests (GLM with covariant) to compare the number of species per trap (nTaxa) and treatments. In order to standardize the data, they were $\ln(x)$ or $\ln(x + 1)$ transformed before the analysis. To eliminate the sample effect – that is, the increase in the number of species with the increment in the number of captured individuals – the data were weighted by the covariate number of workers (nw). Previously, the suitability of the covariate nw was checked, calculating its correlation with the variable nTaxa. The results of these correlations and the significance of the covariates for every case are provided in Table S1. In the models for which they were required, we performed post-hoc analyses – honestly significant difference (HSD) test with unequal sample sizes and Duncan analysis – to detect differences between groups.

The DE was evaluated for each of the most abundant species, with GLM tests. The number of workers of each species were normalized with the natural logarithm [$\ln(nw)$ or $\ln(nw + 1)$, depending on the data]. Species that appeared only in one or two traps were excluded, because

their abundance was probably biased due to the proximity of a trap to nests.

Finally, we compared the composition of the community using presence/absence of species per pitfall trap, by means of multivariate two-way PERMANOVA analysis. The Bray Curtis distance matrix and 9999 permutations were calculated, with the statistical package PAST v.3.20 (Hammer et al., 2001). All graphs and analyses except the PERMANOVA were performed with STATISTICA v.8.0 (StatSoft, Tulsa, OK, USA).

Results

A total of 5 160 workers of 18 species were collected with 1 794 workers and 18 species in experiment 1 and 3 366 workers and 16 species in experiment 2.

Experiment 1

Closed habitats had a smaller number of species than the open ones (ANCOVA, habitat effect: $F_{1,55} = 9.0294$, $P = 0.0040$) (Table 1). No significant differences considering all the species were found regarding the DE ($P = 0.029$) or the interaction between factors ($P = 0.87$). However, the DE reduced the differences between habitats (D vs. C) (Figure 3).

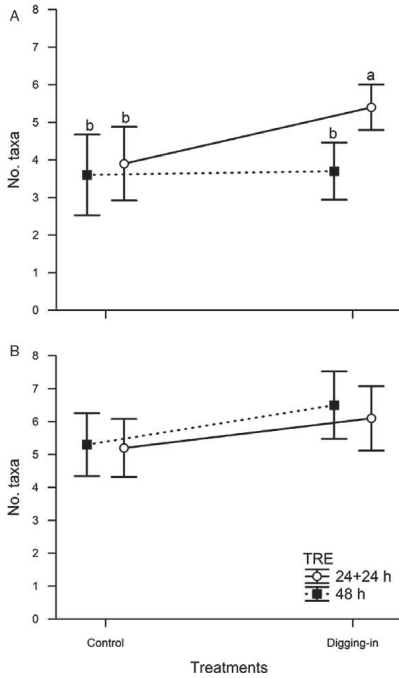


Figure 4 Experiment 2. Mean (\pm SD) number of species per trap for each of the digging-in effect (DE) treatments (digging-in vs. control) and (A) day [1st (white dots) vs. 2nd (black squares) day traps] or (B) trap replacement effect (TRE) [24 + 24 h (white dots) vs. 48 h (black squares) traps]. Means capped with different letters are significantly different (Duncan analysis: $P < 0.05$).

Delving into how the DE and habitat type affected each individual taxon (Table 1), the only one displaying significant differences was *Solenopsis latro* Forel (DE: $F_{1,58} = 6.9921$, $P = 0.011$). This species was only found in closed habitats (Table 1).

Comparing the composition of the community (i.e., the number of pitfall traps occupied by each species) by means of a two-way PERMANOVA, a marginally significant difference due to the DE ($P = 0.055$) was found, and a clear effect of habitat ($F_{1,58} = 36.2560$, $P = 0.0001$). The interaction effect was also marginally significant ($P = 0.057$), which suggests that the DE may vary depending on the type of habitat.

Table 3 Experiment 2: results of GLM analysis (P values) per species in 24 h traps with regard to the day (1st vs. 2nd day), digging-in effect (DE), and their interaction (day*DE), and in 48 h traps with regard to the DE

Species	24 h			48 h
	Day	DE	Day*DE	DE
<i>Aphaenogaster gibbosa</i>	0.044	0.13	0.17	0.35
<i>Pheidole pallidula</i>	0.39	0.60	0.50	0.39
<i>Aphaenogaster senilis</i>	0.043	0.15	0.42	0.22
<i>Plagiolepis pygmaea</i>	0.35	0.94	0.48	0.89
<i>Messor barbarus</i>	0.27	0.41	0.27	0.33
<i>Temnothorax racovitzai</i>	0.20	0.036	0.58	0.96
<i>Plagiolepis schmitzii</i>	0.79	0.031	0.69	0.46
<i>Camponotus barbaricus</i>	0.79	0.46	0.57	0.47
Total species	0.14	0.26	0.42	0.70

Based on $\ln(nw + 1)$ transformed worker numbers.

When the PERMANOVA was repeated without considering *S. latro*, the only species significantly affected by the DE, the differences between open and closed habitats for DE and the interaction (DE*habitat) disappeared ($P = 0.56$ and 0.89 , respectively).

Experiment 2

Differences in the DE between the first and second days. The number of species captured (Table 2) as time elapsed after the setting of the trap (day: first vs. second 24 h) was influenced by the DE (ANCOVA: $F_{1,36} = 4.3828$, $P = 0.043$) and the day effect ($F_{1,36} = 8.2782$, $P = 0.0067$), but not by their interaction ($P = 0.24$). In addition, the number of species captured in the first day by the D traps was significantly higher than by the other groups of traps (Figure 4A).

A GLM analysis shows the differences in abundance of workers for each type of trap according to 'day' and 'DE' for the most abundant species ($nw > 80$) (Table 3). Two species were clearly affected by the DE, *Temnothorax racovitzai* (Bondroit) and *Plagiolepis schmitzii* Forel (first or second days). Only the *Aphaenogaster* species were affected by 'day'; there was an increment in catches in traps D for the first day (Figure 5).

A two-way PERMANOVA test comparing the composition of ant communities indicated differences due to the DE ($F_{1,39} = 1.8355$, $P = 0.043$), but not by day ($P = 0.28$) nor by their interaction ($P = 0.74$). To assess whether the DE detected in the PERMANOVA was due to the composition of the community in general or just by *P. schmitzii* and *T. racovitzai*, we repeated the PERMANOVA excluding these species, with the consequence that the DE disappeared ($P = 0.97$).

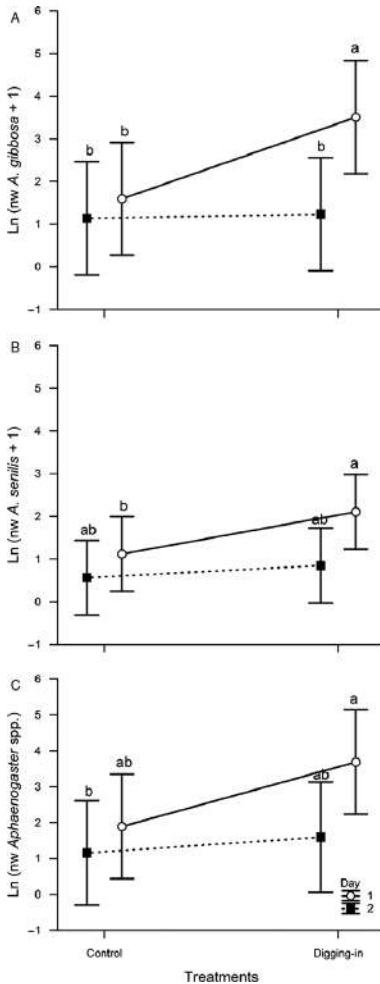


Figure 5 Experiment 2. Mean (\pm SD) number [$\ln(nw + 1)$ or $\ln(nw)$] of (A) *Aphaenogaster gibbosa*, (B) *Aphaenogaster senilis*, and (C) *Aphaenogaster* spp. workers (nw = no. workers) for each of the digging-in effect treatments (digging-in vs. control) and day (1st vs. 2nd day traps). Means within a panel capped with different letters are significantly different (Duncan analysis: $P < 0.05$).

The digging-in effect in 48 h traps. In the 48 h traps without replacement no influence of DE on nTaxa was found (ANCOVA: $P = 0.76$) [Figure 4B, variable TRE (trap replacement effect) 48 h]. The GLM analysis of the most abundant species ($nw > 80$) also found no significant influence of the DE on the abundance of workers per trap (C or D traps), nor were there differences in the composition of the community due to the DE (one-way PERMANOVA: $P = 0.24$).

Differences in the digging-in effect in 48 h traps vs. traps with replacement at 24 h: trap replacement effect (TRE). An ANCOVA to compare the nTaxa for pooled data of 1st day 24 h traps + 2nd day 24 h traps vs. 48 h traps (so, sampling period in both cases 48 h) indicated neither an effect of the DE ($P = 0.15$) nor of TRE (24 + 24 h vs. 48 h) ($P = 0.76$), or their interaction ($P = 0.072$) (Figure 4B). A GLM showed how the TRE and the DE influenced the abundance of workers per trap for those species with more than 80 workers (Table 3); the TRE and the DE did not significantly affect any species.

As in previous cases, with a two-way PERMANOVA we checked how the TRE and the DE affected the community composition (presence/absence of species per pitfall traps). There were no significant differences due to the DE ($P = 0.33$), the TRE (1st day 24 h traps + 2nd day 24 h traps vs. 48 h traps; $P = 0.066$), or their interaction ($P = 0.16$).

Discussion

When an experimental design is planned we need to be aware that the sampling methodology (what to measure and in what way) may affect the results to a great extent (Krebs, 1999; Agosti et al., 2000; Sheikh et al., 2018). The present study demonstrates that, when investigating ant communities, it is necessary to consider the DE.

In Experiment 1, we tested how the DE influenced the catches of ants, depending on the type of habitat. Greenslade (1973) found – in three types of habitat in southern Australia (open forest, sand dunes and open grassy woodlands) – that in general the DE induced high catches immediately after the traps were established, and subsequently the effect declined. In our case, we found no global response to the DE in the number of captured species; however, we found marginal differences when we analysed the community composition, which disappeared after elimination of the species (i.e., *S. latro*) whose capture was affected by the DE. Thus, the community as a whole seemed to display some sensitivity to the DE, but this was largely determined by the presence of particular species.



Type of habitat, open vs. closed, had a significant effect on the ant communities in control traps, as expected – the influence of vegetative cover on ant fauna is well established (Greenslade & Greenslade, 1977; Andersen, 2018). However, the effect of habitat type disappeared when the DE was considered. For open habitats we found that the influence of the DE was different from the results of Greenslade (1973), as it induced fewer captures immediately after setting the traps. Similar results were found by Lasmar et al. (2017) for arboreal ants, with an increase in abundance of workers and number of species sometime after had the pitfall traps were installed. The authors commented that this may be caused by familiarization with the traps after the ants had initially avoided the foreign objects.

Although globally the community displayed a decrease in the number of captured species in open habitats, there were differences in the way habitat affected individual species. Two groups could be established, one mainly with species typical of warm and/or open habitats, such as *C. velox* or *P. schmitzii*, and the other with species typical of closed habitats (species that prefer the shade or a litter layer, and/or that require a relatively high degree of humidity), such as *Solenopsis* spp. or *T. racovitzai*. In general, the species found in this study are common in Mediterranean environments and various reports describe their preferred habitats based on variables, such as thermal tolerance, certain food resources or the presence of dominant species (Ordóñez-Urbano et al., 2007; Luque & Reyes López, 2007; Arnan et al., 2012). The only species significantly affected by the DE in experiment 1 was *S. latro*. These ants were not found in open habitats; besides, they move and forage primarily underground or in leaf litter, so they are hardly found on the soil surface (Ohyama et al., 2018). This behaviour may also explain that 10× more workers of *S. latro* were found in traps subjected to the DE than in control traps – when the traps are set the soil and litter are stirred up and galleries of the nests may get broken, forcing these usually subterranean ants towards the surface, disoriented, where they may fall more easily into pitfall traps.

Does the DE change as time elapses after the setting of the trap? Higher numbers of species and/or workers immediately after the trap is set, could be caused by, for instance, destruction of nest galleries, exploration of a new feature of the habitat, coincidence of the position of the traps with recruitment trails, depletion of populations with time (Greenslade, 1973), or attraction to carbon dioxide release resulting from soil disturbances, as has been noticed for other taxa of insects (Joosse & Kapteijn, 1968). On the other hand, higher diversity of species and/or abundance of ants sometime after the setting of the traps

may be due to familiarization, as previously mentioned (Lasmar et al., 2017). In our experiment 2, on average two more species were captured per trap in the first day. But this DE disappeared after this first day: when comparing the traps that remained active for 48 consecutive hours with the sum of the ones that remained active for day and were then replaced with others for another 24 h, there were no significant differences between control and treatment traps, neither in the number of species nor in the general composition of the community. Hence, to avoid the possible bias of the DE it would suffice to keep the traps active in the field for longer than 24 h or to set the traps sometime before activating them, as Greenslade (1973) also suggested.

As found before, the community as a whole was sensitive to the DE, but this community effect was related to the presence of a few particular species, that is, *T. racovitzai*, *P. schmitzii* and *Aphaenogaster* spp. Although the responses of these species differ somewhat, *T. racovitzai* and *P. schmitzii* were sensitive to the DE on the first and second days, whereas the *Aphaenogaster* spp. had a quick response on day on the first day that disappeared on the second day. *Aphaenogaster senilis* Mayr is an opportunistic species that is able to adjust its diet according to the resources of the area (Caut et al., 2013). This characteristic may help exploit dynamic resources and may explain the higher number of captures in the first few hours after setting the traps when environmental disturbances are most fresh.

In conclusion, there is no evidence that the DE influences ant communities in a general way. Depending on the type of habitat, there will be a particular species composition that will determine whether the DE occurs or not, and whether it affects the whole community or just some species. In addition, the DE, in most of the species analysed, appeared during the first 24 h of sampling and then disappeared. To avoid this bias a sampling time greater than or equal to 48 h should be considered.

Acknowledgements

This research was partially funded by the University of Cordoba, 'Consejería de Economía y Conocimiento, Junta de Andalucía' and the European Union 'European Social Fund', in the framework of the 'Programa operativo de empleo juvenil 2014-2020' and 'Ministerio de Agricultura, Pesca, Alimentación y Medio Ambiente' in the framework of the Rural Development Programme 2014-2020 for Operational Groups (OBEPAS-PC). Revision of the manuscript by Alba Heredia-Arévalo, Alba Jiménez-Guirval, and Sergio Romero-Mora is gratefully acknowledged.

References

- Agosti D, Majer JD, Alonso LE & Schultz TR (2000) *Ants: Standard Methods for Measuring and Monitoring Biodiversity*. Smithsonian Institution Press, Washington, DC, USA.
- Alder P & Silverman J (2005) A comparison of monitoring methods used to detect changes in Argentine ant (Hymenoptera: Formicidae) populations. *Journal of Agricultural and Urban Entomology* 21: 142–149.
- Andersen AN (2018) Responses of ant communities to disturbance: five principles for understanding the disturbance dynamics of a globally dominant faunal group. *Journal of Animal Ecology* 88: 350–362.
- Aman X, Cerdá X & Retana J (2012) Distinctive life traits and distribution along environmental gradients of dominant and subordinate Mediterranean ant species. *Oecologia* 170: 489–500.
- Ballinger A, Lake PS & Mac Nally R (2007) Do terrestrial invertebrates experience floodplains as landscape mosaics? Immediate and longer-term effects of flooding on ant assemblages in a floodplain forest. *Oecologia* 152: 227–238.
- Bestelmeyer BT, Agosti D, Leeanne F, Alonso T, Brandão CRF et al. (2000) Field techniques for the study of ground-dwelling ants: an overview, description, and evaluation. *Ants: Standard Methods for Measuring and Monitoring Biodiversity* (ed. by D Agosti, JD Majer, LE Alonso & TR Schultz), pp. 122–144. Smithsonian Institution Press, Washington, DC, USA.
- Caut S, Barroso Á, Cerdá X, Amor F & Boulay R (2013) A year in an ant's life: opportunism and seasonal variation in the foraging ecology of *Aphaenogaster senilis*. *Ecoscience* 20: 19–27.
- Digweed SC, Currie CR, Carcamo HA & Spence JR (1995) Digging out the 'digging-in effect' of pitfall traps: influences depletion and disturbance on catches of ground beetles (Coleoptera: Carabidae). *Pedobiologia* 39: 561–576.
- Gotelli NJ & Colwell RK (2001) Quantifying biodiversity: procedures and pitfalls in the measurement and comparison of species richness. *Ecology Letters* 4: 379–391.
- Greenslade PJM (1973) Sampling ants with pitfall traps: digging in effects. *Insectes Sociaux* 20: 343–353.
- Greenslade PJM & Greenslade P (1977) Some effects of vegetation cover and disturbance on a tropical ant fauna. *Insectes Sociaux* 24: 163–182.
- Halsall NB & Wratten SD (1988) The efficiency of pitfall trapping for polyphagous predatory Carabidae. *Ecological Entomology* 13: 293–299.
- Hammer Ø, Harper DAT & Ryan PD (2001) PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4: 1–9.
- Joose E (1965) Pitfall-trapping as a method for studying surface dwelling Collembola. *Zeitschrift für Morphologie und Ökologie der Tiere* 55: 587–596.
- Joose ENG & Kapteijn JM (1968) Activity-stimulating phenomena caused by field-disturbance in the use of pitfall-traps. *Oecologia* 1: 385–392.
- Krebs CJ (1999) *Ecological Methodology*. Addison Wesley Longman, New York, NY, USA.
- Lasmar CJ, Queiroz ACM, Rabello AM, Feitosa RM, Canedo Júnior EO et al. (2017) Testing the effect of pitfall-trap installation on ant sampling. *Insectes Sociaux* 64: 445–451.
- Luque G & Reyes López J (2007) Effect of experimental small-scale spatial heterogeneity on resource use of a Mediterranean ground-ant community. *Acta Oecologica* 32: 42–49.
- Majer JD (1978) An improved pitfall trap for sampling ants and other epigeic invertebrates. *Journal of the Australian Entomological Society* 17: 261–262.
- Morrison LW & Porter SD (2003) Positive association between densities of the red imported fire ant, *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae), and generalized ant and arthropod diversity. *Environmental Entomology* 32: 548–554.
- Ohyama L, King JR & Jenkins DG (2018) Diversity and distribution of *Solenopsis* (Hymenoptera: Formicidae) thief ants belowground. *Myrmecological News* 27: 47–57.
- Ordóñez-Urbano C, Reyes-López J & Carpintero S (2007) Estudio faunístico de los formicidos (Hymenoptera: Formicidae) asociados a los bosques de ribera en la provincia de Córdoba (España). Primeras aportaciones. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa* 40: 367–375.
- Prasifka JR, Lopez MD, Hellmich RL, Lewis LC & Dively GP (2007) Comparison of pitfall traps and litter bags for sampling ground-dwelling arthropods. *Journal of Applied Entomology* 131: 115–120.
- Querner P & Bruckner A (2010) Combining pitfall traps and soil samples to collect Collembola for site scale biodiversity assessments. *Applied Soil Ecology* 45: 293–297.
- Schirmel J, Lenze S, Katzmann D & Buchholz S (2010) Capture efficiency of pitfall traps is highly affected by sampling interval. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 136: 206–210.
- Sheikh AH, Ganaie GA, Thomas M, Bhandari R & Rather YA (2018) Ant pitfall trap sampling: an overview. *Journal of Entomological Research* 42: 421–436.
- Skvarla MJ, Larson JL & Dowling APG (2014) Pitfalls and preservatives: a review. *Journal of the Entomological Society of Ontario* 145: 15–43.
- Underwood EC & Christian CE (2009) Consequences of prescribed fire and grazing on grassland ant communities. *Environmental Entomology* 38: 325–332.

Supporting Information

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article:

Table S1. Correlations between the variable nTaxa and the covariate $[\ln(nw)]$ for the ANCOVA tests and results of the effects of the covariates in these models.

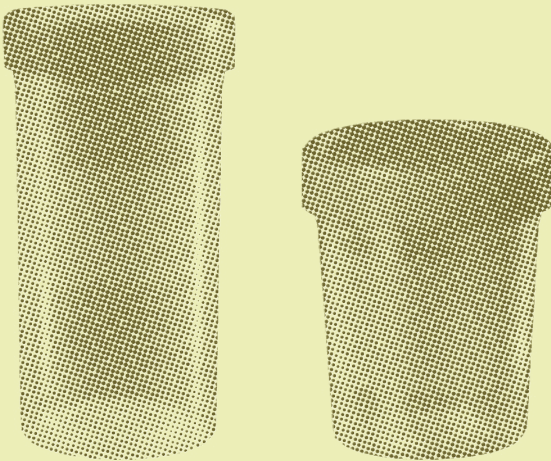


Fe de erratas

En la línea 5, párrafo 2, del apartado de Resultados, página 145 de la tesis (910 del artículo). donde dice “(P = 0.029)” debería decir “(P = 0.29)”. Se ha enviado una carta al editor de la revista para subsanar el error.

CAPÍTULO 5

Efecto de la abertura y la profundidad de las trampas de caída como factor de sesgo en muestreos de hormigas (Hymenoptera: Formicidae).



*“Cuando alcanzamos los profundos fosos,
que cierran esta tierra desolada,
creí de fierro sus muros poderosos.”*

Dante Alighieri
La divina comedia, 1321.

5.1 Efecto del tamaño de la trampa de caída sobre la captura de hormigas: riqueza y abundancia de especies y relación con el tamaño de los individuos.

Este apartado fue enviado el día 29 de enero del 2021 a la revista “Acta Oecologica” para su publicación como artículo científico.

Resumen

Las trampas de caída son uno de los sistemas de muestreo más comúnmente usados para los estudios de hormigas. Esto conlleva que se apliquen numerosas modificaciones respecto al material, la forma, el tamaño, cebos, *killing agent*, entre otros. Estas modificaciones pueden constituir posibles factores de sesgo en la captura de las diferentes especies, de forma que los resultados de distintos estudios pueden no ser comparables. En este trabajo estudiamos la relación entre el tamaño de la boca de la trampa y su profundidad, con el número de especies, el número de obreras capturadas y la composición de las muestras de hormigas.

Nuestros resultados confirman una relación entre el número de obreras y especies capturadas con boca de la trampa. Por otro lado, no encontramos relación aparente con la profundidad, aunque este resultado podría estar enmascarado por el tamaño de la boca de la trampa, por lo que creemos que este factor ha de ser estudiado desde otro enfoque. Además, encontramos que el efecto del tipo de trampa puede afectar a los ensamblajes de especies capturadas. Esto sugiere que los experimentos realizados en la misma área de muestreo, pero con distintos tipos de trampa, pueden arrojar como resultado diferencias de composición de las muestras de hormigas capturadas. Finalmente, clasificando las especies según su tamaño, pudimos verificar que el número de obreras de especies con individuos más grandes (> 4.5 mm) fue superior en trampas de mayor tamaño/volumen.

Abstract

Pitfall traps are among the most common sampling methods used for the study of ants, but their extensive use co-exists with widespread modifications regarding the material, shape, size, baits and killing agent, among others. Such modifications can lead to a possible bias in the capture of different species, making the comparison of samples unviable. In this work we study the relation between of the aperture size and depth of trap with the number of species, number of workers captured and composition of the ant samples using traps with the same characteristics.

The results of the study confirm a relationship between the number of captured workers and species, and the perimeter of the traps, but not their depth, though certain findings indicate that this latter bias factor should be studied further. Besides the effect of the type of trap on the number of workers and species, we also found that it can affect the assemblages of captured species, suggesting that experiments carried out in the same area but with different types of traps might yield different results. Finally, classifying the different species by size, we were able to verify that the number of larger sizes workers captured (body size > 4.50 mm), was proportional to the aperture size and volume of the trap.

Keywords: sampling methodology, depth, aperture, bias factors, ants, pitfall trap



Introduction

Pitfall traps are widely used as a sampling method for the study of epigeal arthropods (Brown and Matthews, 2016), and their effectiveness has been proven for groups with good locomotor capacity, regardless of their activity rhythms (Woodcock, 2005). They are considered an effective sampling system for ant communities (Hymenoptera: Formicidae) in different habitats (Greenslade and Greenslade, 1977; Borgelt and New, 2006; Gotelli *et al.*, 2011; Luque *et al.*, 2015). In general, these devices consist of a container, usually made of plastic, in the shape of a cup that is buried at ground level to make it easier for workers to fall into them while foraging (Skvarla *et al.*, 2014).

Due to their widespread use, numerous modifications have been implemented in features such as the material, shape, size, baits and killing agent (Woodcock, 2005; Skvarla *et al.*, 2014; Brown and Matthews, 2016). Such modifications can cause biases in the capture of species and workers. This means that when comparing samples obtained with different types of trap, the results may differ due to the different characteristics of the traps used and not due to real differences between the communities sampled. Authors such as Hohbein and Conway (2018) have recommended the standardisation of capture methods, to make it easier to compare the results of distinct studies. To do this, the possible bias factors that may or may not cause a deviation in the catch of species and individuals should be taken into consideration.

Among the different bias factors studied, the one that varies the most throughout the literature is the aperture size of the trap (Luff, 1975; Abensperg-Traun and Steven, 1995; Work *et al.*, 2002; Koivula *et al.*, 2003; Borgelt and New, 2005). Usually, this is defined as the diameter of the aperture of the trap, although authors such as Luff (1975) have proposed the use of the perimeter, because even though most traps used are circular there may be researchers who use other shapes, making comparisons more difficult. Thus, it might be more convenient to use the perimeter of the trap instead of the diameter.

In the published literature, there is a certain consensus regarding the effects that the trap aperture may provoke; for instance, as the diameter increases more species and individuals are caught (Luff, 1975; Abensperg-

Traun and Steven, 1995; Koivula *et al.*, 2003; Borgelt and New, 2005). Beside the number of species and individuals, numerous studies have registered a difference in the body size of the captured species according to the diameter of the trap. Luff (1975) postulated, in the case of beetles, that traps with a smaller diameter capture a greater number of individuals of smaller species than those with larger diameters. By contrast, traps with a larger diameter capture more individuals of species with a greater size. In the same way, Abensperg-Traun and Steven (1995) found that most larger ants (>10 mm) are only captured by larger traps. Thus, it seems that the trap size can condition the frequency of captures based on the size of the species.

In general, almost all studies are in favour of the use of small traps (4-6 cm in diameter). In support of this, numerous authors have stated that, by standardising the catches (catches/perimeter), smaller traps show a more efficient capture of individuals per unit of perimeter (Work *et al.*, 2002; Borgelt and New, 2005). Furthermore, with smaller traps the disturbance caused when placing the trap in the ground, due to the excavation, is reduced (Greenslade, 1973; Majer, 1978). Some studies have indicated that, above a certain trap size, the probability of capturing non-target species increases (Brennan *et al.*, 1999; Work *et al.*, 2002) and the trap itself becomes less manageable: more difficult to transport, to place, to clean, etc.

Another less studied factor is the depth of the trap (Brown and Matthews, 2016), with only three studies addressing it. Pendola and New (2007) determined that depth is not a factor that causes a variation in the number of captured species; nevertheless, deeper traps, like those with larger diameters, can increase the probability of capturing non-target species. Furthermore, for the particular case of spiders, Santos, Cabanas, and Pereira (2007), in a study with dry traps, affirmed that shallower traps might lead to the escape of some individuals; hence, in more-superficial pitfall traps, fewer individuals are captured. In the same vein, Jiménez-Carmona *et al.* (2020) defended that even though the total number of species captured is not affected by depth, an increase with depth in the mean number of captured species per trap is noticeable, as well as differences in the composition of ant samples. In general, most of these previous studies tended to analyse numerous factors, using several different types of containers in which not only quantitative variables (depth or diameter)



but also other variables - such as the shape, material and colour of the trap - varied. All of this can lead to interactions between the bias factors, so that the weight of each factor cannot be determined.

Therefore, we designed the following study, where, in traps with common characteristics (material, colour, shape, manufacturer), only the diameter and depth differed. In this way, we intended to confirm the hypotheses already described regarding the effects of the diameter and depth of pitfall traps.

Materials and methods

Study site

This study was carried out in seven different areas within the Rabanales University Campus (Cordoba, Spain) (Figure 1) that differed in their vegetation and land use (Table 1). The climate of the study sites is Continental Mediterranean (Source: Aemet.es, State Meteorological Agency of Spain). The sampling was conducted in two different periods (Table 1); in both of them, no rainfall was registered during the sampling or on the previous days. During the first period (23-26/07/2018) the mean temperature was 27.2 °C (range: 16.4 - 36.6 °C). In the second period (15-18/04/2019) it was 16.5 °C (range: 9.2 - 26.6 °C) (source: Meteorological Station of the Olive Germplasm Bank of the Rabanales Campus, UCO and IAS-CSIC).

Table 1. General information of the sampling areas.

Sampling Period	Code	Place	Type	Coordinates	Transects	Traps
23-25/07/18	A	Colony of San José (Houses)	Abandoned garden	37.917044° N, 4.714299° W	2	16
23-25/07/18	B	Colony of San José (Experimental area)	Grassland	37.917728° N, 4.713962° W	2	16
23-25/07/18	C	Colony of San José (Abandoned pool)	Eucalyptus copse	37.917868° N, 4.714523° W	2	16
23-25/07/18	D	Grassland (in front of C. San José)	Grassland	37.915449° N, 4.715010° W	2	16
23-25/07/18	E	Athletics tracks	Eucalyptus copse	37.913222° N, 4.724975° W	2	16
16-18/04/19	F	Lucano University Residence	Eucalyptus copse	37.914216° N, 4.723621° W	5	40
15-17/04/19	G	University Forest	Plantation of native trees	37.915634° N, 4.723868° W	3	24

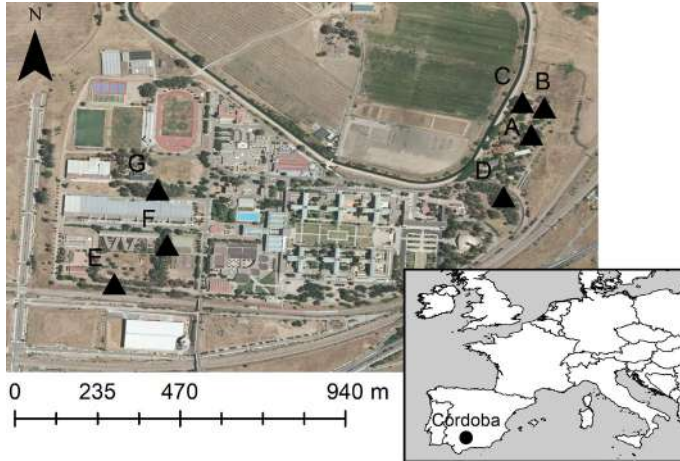


Figure 1. Location map of the study areas.

Experimental design

Sampling was performed with pitfall traps that were placed using a small mattock. The traps were buried with their tops flush to the soil surface and formed transects. Four different types of trap were used, which differed in size (aperture, depth and volume), but the type of container remained the same (shape, colour and material) (Table 2). The different traps were placed in order of decreasing volume: Big (B), Medium-Tall (MT), Medium-Short (MS) and Small (S). This trap series was set up twice in each transect (BT, MTT, MST, ST, BT, MTT, MST, ST). Therefore, each transect consisted of 8 pitfall traps, with 4 m between each one. Each sampling area had a minimum of 2 transects and a maximum of 5 (Table 1).

Table 2. Dimensions and names of the containers used as pitfall traps. All were the same in terms of material and composition, and all were manufactured by Deltalab S.L.

Trap type	Code	Aperture diameter (mm)	Aperture perimeter (mm)	Height (mm)	Volumen (ml)	Ref.
Big	BT	86	270	93	500	202821
Medium-Tall	MTT	54	170	100	250	202802
Medium-Short	MST	51	160	62	90	202809
Small	ST	25	79	53	30	202811



All the traps were filled to 1/3 of their capacity with a solution of 1% (approx.) commercial dishwasher detergent and remained (open) in the field for a total of 48 hours, after which the ants were collected, labelled and separated from the rest of the capture. The ants were preserved in 96° alcohol and identified at the species level.

The relationship between the body size of each species and its tendency to be captured according to the trap type was verified. To this effect, three groups were arranged according to the body size of the workers (WS): small ($WS \leq 2.60$ mm), medium ($2.60 < WS \leq 4.50$ mm) and large ($WS > 4.50$ mm) (Table 3). The WS values were obtained from the studies of Arnan, Cerdá and Retana (2015) and Catarineu Guillén (2019).

Statistical analysis

For each recovered trap, the total number of workers was accounted by species, and a table of the number of workers captured (NW) was produced for each type of trap. To corroborate possible differences in the mean number of captured species (S), a two-way ANOVA was carried out with each type of trap, the factors used being: zone and type of trap. Subsequently, a post-hoc Newman-Keuls analysis was performed to corroborate pairwise mean differences by trap type. To analyse the capture by each type of trap of each of the species present, we performed a two-way ANOVA of the number of workers ($\log(NW)$), with zone and type of trap as the factors. This analysis was carried out only for the most abundant species overall; that is, those for which more than 100 workers were captured in total ($NW > 100$). In this case, for the NW (of all species) captured per trap, a post-hoc Newman-Keuls test was carried out to determine the significance of the differences between the types of trap.

To verify the existence of a relationship between the number of captured species and the number of workers per trap ($\log(NW)$), a Pearson correlation test was performed.

Furthermore, a three-way ANOVA was carried out for the factors zone, perimeter and depth, to check how they affect the mean value of S. The perimeter was calculated from the known diameter of the trap's aperture provided by the manufacturer (Table 2).

To corroborate the differences in the structure of the captured ant assemblages (the relative abundances of the species) according to the

type of trap, a PERMANOVA was performed with the matrix of the NW captured per trap versus the zone and type of trap. Bray-Curtis distances were applied, with 9999 permutations.

A contingency table was produced with the total number of workers captured for each trap and size class, to which a χ^2 test was applied to establish if there were significant differences between these values. Finally, a Pearson correlation was performed, with the 'cor.test' function, to relate the total number of workers of larger species captured and the trap volume.

All analyses were performed with R v3.6.0 (R Core Team 2020). The ANOVA tests were calculated with the 'aov' function, and the PERMANOVA test using the 'adonis' function of the 'vegan' package (Oksanen *et al.* 2019). All graphics were produced with the function 'ggplot' of the package 'ggplot2' (Wickham 2016).

Results

A total of 5 252 workers from 20 different species, belonging to 12 genera, were registered after the cleaning and identification of the samples. Regarding the general data on S according to the trap type (Table 3), MTT was the type that captured the most species; in addition, it also recorded a higher abundance of workers than the rest of the trap types for 8 species (40% of the species found). The number of captured species per unit of perimeter shows that the smaller traps were more efficient than the larger traps (Table 3: S/Perimeter). The results of the first ANOVA, where the number of workers per species and trap versus the zone and type of trap were compared, show significant values ($p < 0.05$) for the zone factor ($F_{(6,116)} = 15.716$, $p < 0.001$) and type of trap ($F_{(3,116)} = 17.535$, $p < 0.001$). In addition, the interaction of the two factors was significant ($F_{(18,116)} = 1.708$, $p = 0.047$). Figure 2A shows how, on average, the B traps were the ones that captured the most species, whereas the S traps captured the fewest. The MT traps captured, on average, more species than the MS traps, but a post-hoc Newman-Keuls test found no significant differences in the means ($p = 0.061$). By analysing how these same factors affected the number of captured workers for the most abundant species (NW > 100), it was observed (Table 4) that almost every species was affected by the zone effect ($p < 0.05$), except *Pheidole pallidula* (Nylander, 1849)



Table 3. Total number of captured workers per species in each trap type. In each row the trap that captured the most workers is marked in bold. The NZP column shows the number of zones where the species was present. The Body size columns correspond to the body size of each species, where WS is the average body size of the species and Group is the body size group in which it has been categorised.

Sp	NW in traps								NZP	Body size		
	BT	MTT	MST	ST	Total	WS	Group					
<i>Aphaenogaster gibosa</i>	358	41.80%	243	28.40%	135	15.80%	121	14.10%	857	7	4.9	Large
<i>Aphaenogaster senilis</i>	100	45.50%	58	26.40%	48	21.80%	14	6.40%	220	7	7	Large
<i>Camponotus barbaricus</i>	311	51.50%	122	20.20%	128	21.20%	43	7.10%	604	7	8.5	Large
<i>Camponotus sp.</i>	0	0%	16	100%	0	0%	0	0%	16	3	6	Large
<i>Cataglyphis rosenhaueri</i>	9	11.40%	53	67.10%	17	21.50%	0	0%	79	2	8.3	Large
<i>Cataglyphis velox</i>	20	29.90%	34	50.70%	12	17.90%	1	1.50%	67	4	3.4	Medium
<i>Crematogaster auberti</i>	290	31.70%	249	27.20%	147	16%	230	25.10%	916	5	4.05	Medium
<i>Crematogaster scutellaris</i>	5	14.30%	22	62.90%	1	2.90%	7	20%	35	3	3.5	Medium
<i>Lasius grandis</i>	0	0%	1	100%	0	0%	0	0%	1	1	7.9	Large
<i>Messor barbarus</i>	4	8.30%	24	50%	19	39.60%	1	2.10%	48	5	3.2	Medium
<i>Pheidole pallidula</i>	246	27.10%	64	7%	227	25%	371	40.90%	908	6	1.6	Small
<i>Plagiolepis pygmaea</i>	140	25.90%	209	38.60%	115	21.30%	77	14.20%	541	7	2.1	Small
<i>Plagiolepis schmitzii</i>	55	28.50%	53	27.50%	65	33.70%	20	10.40%	193	5	1.85	Small
<i>Solenopsis sp.</i>	15	34.10%	7	15.90%	18	40.90%	4	9.10%	44	6	4	Medium
<i>Tapinoma nigerrimum cf.</i>	67	16.70%	283	70.60%	36	9%	15	3.70%	401	6	2.6	Small
<i>Temnothorax alfacarensis</i>	2	10%	7	35%	9	45%	2	10%	20	2	2.55	Small
<i>Temnothorax racovitzai</i>	53	29.60%	34	19%	27	15.10%	65	36.30%	179	6	2.7	Medium
<i>Temnothorax recedens</i>	0	0%	1	100%	0	0%	0	0%	1	1	2.55	Small
<i>Temnothorax tyndalei</i>	0	0%	1	14.30%	6	85.70%	0	0%	7	1	3.6	Medium
<i>Tetramorium semilaeve</i>	78	67.80%	18	15.70%	10	8.70%	9	7.80%	115	5	4.9	Large
Total workers	1753	33.40%	1499	28.50%	1020	19.40%	980	18.70%	5252	-	-	-
N. sp. (S)	16		20		17		15		20	-	-	-
S/Perimeter (S/cm)	0.06		0.12		0.11		0.19		-	-	-	-

Table 4. The P values of the ANOVA for the number of workers (log (NW+1)) of the most abundant species (NW > 100) vs the zone and trap type.

SPP	PF_TRAP	ZONE	INTERAC
<i>Aphaenogaster gibbosa</i>	0.000	0.000	0.916
<i>Aphaenogaster senilis</i>	0.000	0.000	0.125
<i>Camponotus barbaricus</i>	0.000	0.000	0.143
<i>Crematogaster auberti</i>	0.860	0.000	0.990
<i>Pheidole pallidula</i>	0.790	0.110	0.234
<i>Plagiolepis pygmaea</i>	0.615	0.000	0.459
<i>Plagiolepis schmitzii</i>	0.156	0.000	0.846
<i>Tapinoma cf. nigerrimum</i>	0.257	0.007	0.797
<i>Temnothorax racovitzai</i>	0.580	0.000	0.781
<i>Tetramorium semilaeve</i>	0.076	0.057	0.659
NW total ¹	0.000	0.000	0.479

and *Tetramorium semilaeve* André, 1883. In contrast, the type of trap only produced a significant effect ($p < 0.05$) for 3 of the studied species: *Aphaenogaster gibbosa* (Latreille, 1798), *Aphaenogaster senilis* Mayr, 1853 and *Camponotus barbaricus* Emery, 1905. An ANOVA was also carried out for the total NW, but this time for all the species in the study, and this corroborated that NW was affected by the zone as well as by the type of trap ($p < 0.05$). It was also observed (Figure 2B) that the mean value of NW was higher for the B traps than for the S traps. Due to the similarities among the NW and S results of the ANOVAs, it was checked whether there was a correlation between them; this revealed a moderate and significant correlation ($r = 0.60$, $p < 0.001$).

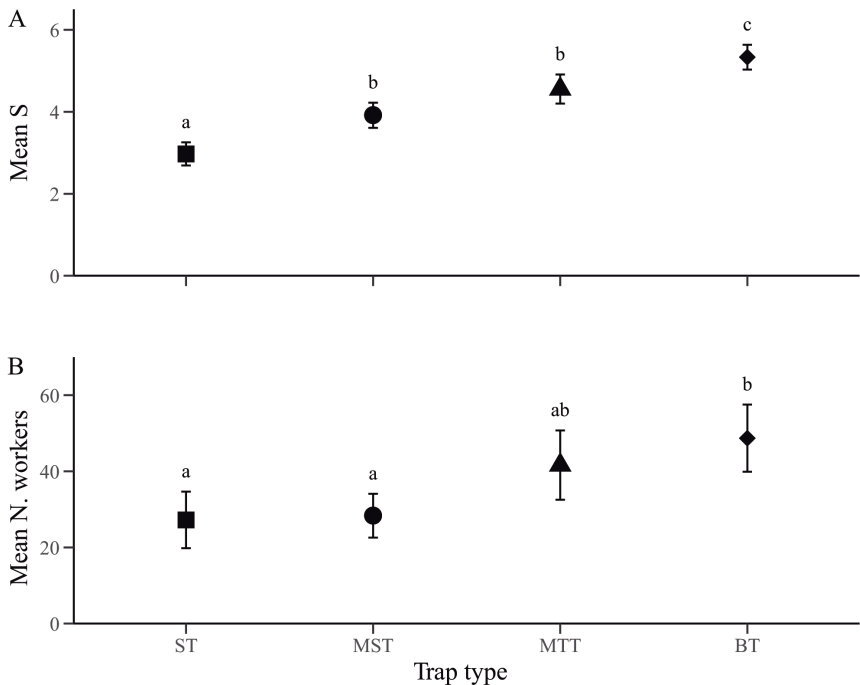


Figure 2. A. Mean number of ant species captured (S) by trap type (\pm SE). B. Mean number of captured workers (NW) by trap type (\pm SE). The letters above the points are the groups formed ($p < 0.05$) from a pairwise comparison with the Neuman-Keuls post-hoc test.



The three-way ANOVA of S versus zone, perimeter and depth revealed that the factors zone ($F_{(6,116)}=15.716$, $p < 0.001$) and perimeter ($F_{(1,116)} = 49.509$, $p < 0.001$), but not depth ($p = 0.083$), affected the number of species caught. Figure 3, where the average number of captured species is represented as a function of the perimeter of the trap aperture, illustrates that the MS and MT traps had very different average captures despite the small difference between their perimeters (160 and 170 mm, respectively).

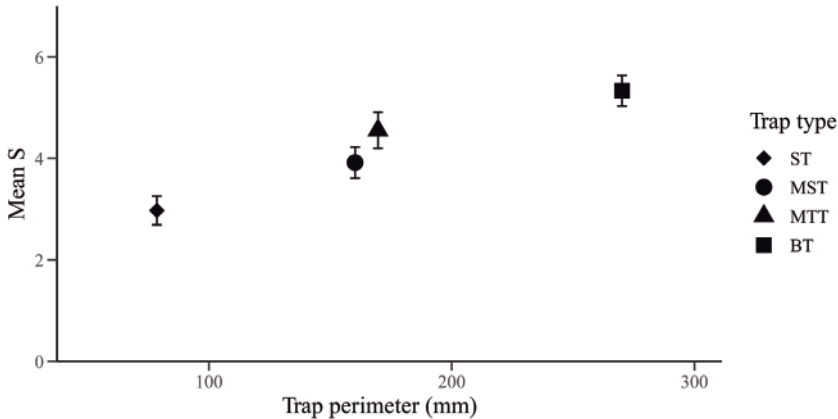


Figure 3. Mean number of ant species captured (S) as a function of the trap perimeter.

The two-way PERMANOVA of the captured ant assemblages' structure versus zone and trap type showed that both the zone ($F_{(6,143)} = 7.111$, $p = 0.001$) and the type of trap ($F_{(3,143)} = 2.066$, $p = 0.008$) influenced the type of assemblages that were caught, but the interaction of the two effects was not significant ($p = 0.459$).

Finally, a relationship was found between the frequency of capture of the workers in each trap and the ants' body size ($\chi^2 = 261.21$, $df = 6$, $p < 0.001$). As shown in Figure 4, for the group of species with large body sizes the number of captured ants declined in the order: BT > MTT > MST > ST. This pattern was confirmed by the high and significant correlation ($r = 0.985$, $p = 0.015$) of the total number of workers of larger species captured with the volume or trap capacity, a variable that is correlated with the aperture size of the traps as well as with their depth. The other groups (medium and small body sizes) did not show a clear trend.

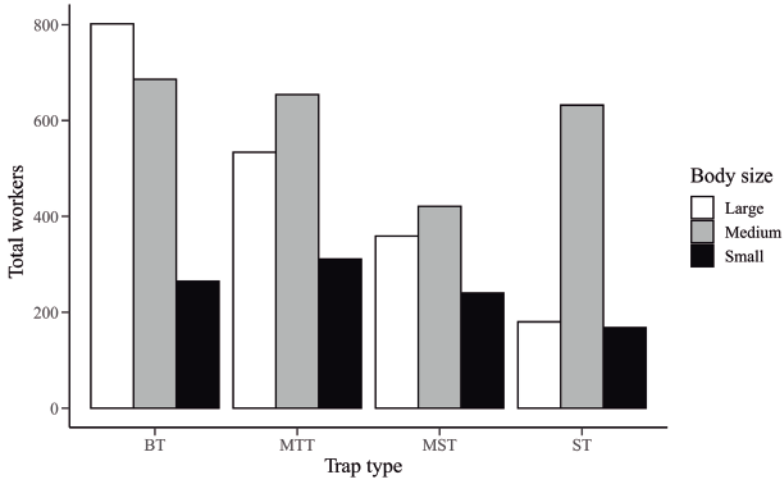


Figure 4. Total number of captured workers according to the type of trap and the average body size of the species.

Discussion

The present study was carried out with the intention of replicating the results from different studies that indicate a strong relationship between the aperture size of pitfall traps and their efficiency in the capture of individuals. This is of interest due to the fact that, in most studies, traps with different characteristics (shape, material...) are used (Luff, 1975; Abensperg-Traun and Steven, 1995; Borgelt and New, 2005), there is a lack of specification of their characteristics (Work *et al.*, 2002) or only a generic explanation of them (Koivula *et al.*, 2003). This may produce a bias that modifies or interacts with the effects of the factors under investigation in the study or hampers the comparison with results from other studies (Brown and Matthews, 2016; Sheikh *et al.*, 2018). For these reasons, in this study the experiments were carried out with standardised containers of the same material, made by the same manufacturer. This enabled the existence of a strong relationship between the size of the aperture of the pitfall traps and their efficiency to be confirmed.

In agreement with numerous authors, a relationship between the



type of trap and the number of captured workers and species was found (Luff, 1975; Abensperg-Traun and Steven, 1995; Work *et al.*, 2002; Koivula *et al.*, 2003; Borgelt and New, 2005; Lange *et al.*, 2011). When analysing the perimeter and depth of the traps separately, a relationship between the perimeter and the number of captured workers and species was found, but this was not the case with depth. Despite this, and as can be seen in Figure 4, the mean number of captured species differed between traps with similar perimeters (MST and MTT, 3 mm perimeter difference), but different depths (38 mm difference). In this respect, Jiménez-Carmona *et al.* (2020) confirmed that, in traps with similar characteristics, as the depth increases so do the average numbers of species and workers captured. This may lead to a possible masking of the depth effect by the perimeter effect.

Furthermore, we have corroborated that, besides its effect on these variables, the type of trap can also affect the assemblages of captured species. Hence, this may mean that experiments carried out in the same area but with different types of trap yield different results.

Other authors (Abensperg-Traun and Steven, 1995, Borgelt and New, 2005 and Work *et al.*, 2002) have stated that smaller traps capture more species per perimeter unit than larger traps; however, the capture of a similar number of species might imply setting up a larger number of traps in the sampling area (Abensperg-Traun and Steven, 1995). Moreover, we were able to confirm, as stated by Abensperg-Traun and Steven (1995), that distinct types of trap can capture species of different body size with differences in their effectiveness. A distinction for the larger-size species was observed, larger traps capturing more workers from this group than smaller traps. Since our traps varied in diameter and depth at the same time, it is not possible to determine which of the two variables this effect was due to. Nevertheless, when comparing deeper traps with shallower ones, the differences in the catches may be due to the ability of the ants

to escape from the traps (Luff, 1975). Although there are no proven cases in the literature relating the ability to climb with body size in ant species, there are specific adaptations in the structure of the pretarsus related to this ability (Orivel *et al.*, 2006; Billen *et al.*, 2017).

Thus, for ant samplings, we recommend the use of traps of 50 to 90 mm in diameter, to avoid a bias that leads to a smaller number of species and fewer workers of larger sizes being captured. Moreover, traps larger than 90 mm in diameter would increase the capture of non-target species (Brown and Matthews, 2016). In summary, with our study we have confirmed the results of previous works that linked, in samplings with pitfall traps, a greater capture of species/workers to the traps' aperture size. The traps' depth did not affect the number of captured species, though the results justify further study of this bias factor. Likewise, we have verified that, depending on the type of pitfall trap used, differences can be found between the captured assemblies. Finally, there seems to be a relationship between trap size and the number of workers of different body sizes captured, larger individuals being captured to a greater extent in larger traps.

Acknowledgements

We acknowledge the transfer of the meteorological data used in this work to Francisco J. Villalobos (Sustainable Agriculture Institute (IAS) of the Spanish National Research Council (CSIC) and the University of Córdoba) and Luca Testi (IAS of the CSIC). We thank all the Ecology students of the University of Córdoba who participated in the samplings of this work.



References

- Abensperg-Traun M, Steven D (1995) The effects of pitfall trap diameter on ant species richness (Hymenoptera: Formicidae) and species composition of the catch in a semi-arid eucalypt woodland. *Aust J Ecol* 20:282–287. doi: 10.1111/j.1442-9993.1995.tb00540.x
- Arnan X, Cerdá X, Retana J (2015) Partitioning the impact of environment and spatial structure on alpha and beta components of taxonomic, functional, and phylogenetic diversity in European ants. *PeerJ* 3:e1241. doi: 10.7717/peerj.1241
- Billen J, Al-Khalifa MS, Silva RR (2017) Pretarsus structure in relation to climbing ability in the ants *Brachyponera sennaarensis* and *Daceton armigerum*. *Saudi J Biol Sci* 24:830–836. doi: 10.1016/j.sjbs.2016.06.007
- Borgelt A, New TR (2006) Pitfall trapping for ants (Hymenoptera, Formicidae) in mesic Australia: What is the best trapping period? *J Insect Conserv* 10:75–77. doi: 10.1007/s10841-005-7549-0
- Borgelt A, New TR (2005) Pitfall trapping for ants (Hymenoptera: Formicidae) in mesic Australia: the influence of trap diameter. *J Insect Conserv* 9:219–221. doi: 10.1007/s10841-005-5172-8
- Brennan KEC, Majer JD, Reygaert N (1999) Determination of an Optimal Pitfall Trap Size for Sampling Spiders in a Western Australian Jarrah Forest. *J Insect Conserv* 3:297–307. doi: 10.1023/A:1009682527012
- Brown GR, Matthews IM (2016) A review of extensive variation in the design of pitfall traps and a proposal for a standard pitfall trap design for monitoring ground-active arthropod biodiversity. *Ecol Evol* 6:3953–3964. doi: 10.1002/ece3.2176
- Catarineu Guillén JM (2019) Structuring factors of the ant communities in the Segura River Basin. Universidad de Murcia
- Gotelli NJ, Ellison AM, Dunn RR, Sanders NJ (2011) Counting ants (Hymenoptera: Formicidae): biodiversity sampling and statistical analysis for myrmecologists. *Myrmecological News* 15:13–19

- Greenslade PJM (1973) Sampling ants with pitfall traps: digging-in effects. *Insectes Soc* 20:343–353
- Greenslade PJMM, Greenslade PJMM (1977) Some effects of vegetation cover and disturbance on a tropical ant fauna. *Insectes Soc* 24:163–182. doi: 10.1007/BF02227169
- Hohbein RR, Conway CJ (2018) Pitfall traps: A review of methods for estimating arthropod abundance. *Wildl Soc Bull* 42:597–606. doi: 10.1002/wsb.928
- Jiménez-Carmona F, Carpintero S, Reyes-López JL (2020) Ant sampling: the importance of pitfall trap depth as a bias factor. *Entomol Exp Appl* eea.12965. doi: 10.1111/eea.12965
- Koivula M, Kotze DJ, Hiisivuori L, Rita H (2003) Pitfall trap efficiency: do trap size, collecting fluid and vegetation structure matter? *Entomol Fenn* 14:1–14
- Lange M, Gossner MM, Weisser WW (2011) Effect of pitfall trap type and diameter on vertebrate by-catches and ground beetle (Coleoptera: Carabidae) and spider (Araneae) sampling. *Methods Ecol Evol* 2:185–190. doi: 10.1111/j.2041-210X.2010.00062.x
- Luff ML (1975) Some features influencing the efficiency of pitfall traps. *Oecologia* 19:345–357. doi: 10.1007/BF00348110
- Luque GM, Reyes-López J, Fernández-Haeger J (2015) Recovery of Ground Ant (Hymenoptera: Formicidae) Communities Six Years After a Major Environmental Disaster. *Environ Entomol* 36:337–347. doi: 10.1093/ee/36.2.337
- Majer JD (1978) An improved pitfall trap for sampling ants and other epigaeic invertebrates. *J Aust Entomol Soc* 17:261–262. doi: 10.1111/j.1440-6055.1978.tb00155.x
- Oksanen J, Blanchet FG, Friendly M, et al (2019) *vegan: Community Ecology Package*
- Orivel J, Malherbe MC, Dejean A (2006) Relationships between pretarsus morphology and arboreal life in ponerine ants of the genus *Pachycondyla* (Formicidae: Ponerinae). *Ann Entomol Soc Am* 94:449–



456. doi: 10.1603/0013-8746(2001)094[0449:rbpmaa]2.0.co;2

Pendola A, New TR (2007) Depth of pitfall traps—does it affect interpretation of ant (Hymenoptera: Formicidae) assemblages? *J Insect Conserv* 11:199–201. doi: 10.1007/s10841-006-9028-7

R Core Team (2020) R: a language and environment for statistical computing. *R Found. Stat. Comput.* 1:1–2630

Santos SAP, Cabanas JE, Pereira JA (2007) Abundance and diversity of soil arthropods in olive grove ecosystem (Portugal): effect of pitfall trap type. *Eur J Soil Biol* 43:77–83. doi: 10.1016/j.ejsobi.2006.10.001

Sheikh AH, Ganaie GA, Thomas M, et al (2018) Ant pitfall trap sampling: an overview. *J Entomol Res* 42:421–436. doi: 10.5958/0974-4576.2018.00072.5

Skvarla MJ, Larson JL, Dowling APG (2014) Pitfalls and preservatives: a review. *J Entomol Soc Ontario* 145:15–43

Wickham H (2016) *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag, New York

Woodcock BA (2005) Pitfall trapping in ecological studies. In: Leather SR (ed) *Insect Sampling in Forest Ecosystems*, 1st edn. Blackwell Science Ltd, Oxford, UK, pp 37–57

Work TT, Buddle CM, Korinus LM, Spence JR (2002) Pitfall Trap Size and Capture of Three Taxa of Litter-Dwelling Arthropods: Implications for Biodiversity Studies. *Environ Entomol* 31:438–448. doi: 10.1603/0046-225x-31.3.438

5.2 Importancia de la profundidad de las trampas de caída en muestreos de hormigas.


Resumen

Cuando se realizan muestreos con trampas de caída, se han de considerar los factores de sesgo a la hora de comparar distintos estudios. En este estudio comparamos trampas de dos profundidades distintas. Los resultados muestran que, de media, las trampas profundas capturan más especies de hormigas, un mayor número de obreras y, además, la abundancia relativa de especies capturadas por las trampas será distinta en función de la profundidad de la trampa y del tipo de hábitat.



DOI: 10.1111/eea.12965

Ant sampling: the importance of pitfall trap depth as a bias factor

Francisco Jiménez-Carmona , Soledad Carpintero  & Joaquín Luís Reyes-López 

Department of Botany, Ecology and Plant Physiology, University of Córdoba, Campus of Rabanales, Celestino Mutis C-4 Building, Córdoba 14014, Spain

Received: 5 March 2020; Revision: NaN ; Revised: 29 April 2020; Accepted: 11 May 2020

Key words: sampling methodology, trap depth, bias, ants, Hymenoptera, Formicidae, pitfall trap

Abstract

When sampling with pitfall traps, possible bias factors should be considered. In this study we compare traps of two depths. The results show that, on average, deeper traps captured more ant species (Hymenoptera: Formicidae) and higher numbers of workers, and that the relative abundances of the species were different depending on the depth of the trap, regardless of the type of habitat.

Introduction

Pitfall traps constitute a system for capturing epigeal arthropods with proven effectiveness (Knapp et al., 2016). They are commonly used in different habitats, particularly in open ones (Schlick-Steiner et al., 2006). They are also among the most employed systems for the capture of ants (Hymenoptera: Formicidae) (Woodcock, 2005). The traps consist of containers buried with the top flush with the soil surface to facilitate the fall of arthropods while walking. To hamper the escape of individuals, sometimes the traps are partially filled with a solution of water and soap (Weeks & McIntyre, 1997; Woodcock, 2005).

Various authors proposed to standardize biodiversity monitoring procedures so that the results may be compared more easily (see Brown & Matthews, 2016). Variability in results among trapping methods may be caused by various factors that affect the trappability of individuals and species, such as the digging-in effect (Joosse & Kapteijn, 1968; Greenslade, 1973; Lasmar et al., 2017; Jiménez-Carmona et al., 2019), the exclusion of vegetation (Honek, 1988; Melbourne, 1999; Phillips & Cobb, 2005), different characteristics of the pitfall traps, or in the methodology employed. Over time, many of these variables have been studied, for example: the use of lids, funnels, types of baits, preservatives, trap diameter, or material (Woodcock, 2005; Brown & Matthews, 2016; Sheikh et al., 2018). However, some factors have received little attention, such as the depth of the traps (Brown & Matthews, 2016). Pendola & New (2007) authored one of the few papers that deal with this issue and the only one that involves ants. These

authors claim that deeper traps (DT) can be as effective as shallow ones and, besides that, shallow traps can reduce the capture of non-target groups. However, the study of Pendola & New (2007) did not analyze trap depth in isolation, but in conjunction with trap diameter. Similarly, Santos et al. (2007) experimented with trap depth in olive groves, to capture different groups of arthropods. Again, they used traps with different depth and diameter, so it is difficult to separate both effects. Moreover, it has been widely demonstrated that as the trap diameter increases, the capture of species and individuals also increases (Abensperg-Traun & Steven, 1995; Borgelt & New, 2006).

Our hypothesis is that DT will capture more ant species and individuals because the greater depth of the container will hamper the escape of individuals. To test this, we analyze how the depth of the trap influences the capture of ants, without other variables possibly masking this effect.

Materials and methods

Study area

For this study, we selected two areas with different characteristics (Figure 1). The first area, 'grassland', is a homogeneous grassland without tillage or grazing. It is located at the University Campus of Rabanales (Córdoba, Spain; 37°54'55.0"N, 4°42'55.4"W). The second area, 'riparian forest', is located within the Natural Monument 'Sotos de la Albolafia' (37°52'26.6"N, 4°46'55.8"W), a riverside forest of the Guadalquivir River flowing through the city of Córdoba, with some grazing use. It has large tree cover of *Populus alba* L., *Celtis australis* L., and *Salix alba* L., and scattered shrubby vegetation of *Tamarix* spp., *Juncus* spp., *Typha* spp., and *Nerium oleander* L. The two areas are

*Correspondence: E-mail: francisco.jimenez@uco.es

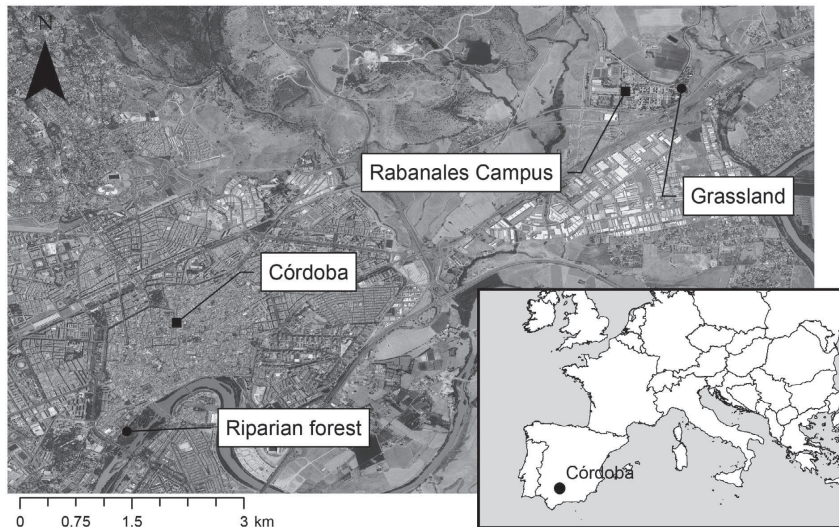


Figure 1 Location of sampling areas.

7.41 km apart and have similar climatic characteristics (both continental Mediterranean). The meteorological data at the grassland area for the study period were: mean temperature 24.4 °C (range: 12.5–32.3 °C) and no precipitation. For the riparian forest: mean temperature 27.1 °C (range: 19.0–36.9 °C) and no precipitation (source: State Meteorological Agency, Córdoba Airport Weather Station; Aemet.es).

Experimental design

Both study areas were sampled with two types of pitfall traps that only differed in depth and, consequently, in capacity. We called the shallower traps 'standard' (ST), as these are the ones that our research group usually employs. They have a volume of 150 ml, a depth of 7.3 cm, and an angle of inclination of the vessels walls of 2.7° (5.7 cm upper diameter, 5 cm base diameter; ref. 409702, Deltalab, Rubí, Spain; Figure 2). The DT have a volume of 240 ml, a depth of 11.6 cm, and an angle of inclination of 1.7° (5.7 cm upper diameter, 5 cm base diameter; ref. 409902, Deltalab). All traps were placed using a small mattock and were buried with the top flush with the soil surface. As killing-agent we used 45 ml of 1% soapy water (dishwashing liquid soap). No baits or preservatives were employed. The traps were opened after placement, they remained in the

field for 48 h, and then they were collected, closed, and labeled. All traps were set in 2019, from 2 to 4 May in the grassland, and from 15–17 July in the riparian forest.

In both study areas, 40 pitfall traps were placed in four parallel rows of 10 traps each. Traps within a row were placed 2 m apart, alternating DT and ST. Rows 1 and 3 started with DT, rows 2 and 4 with ST. In the grassland the rows were 2 m apart, whereas in the riparian forest, for reasons of accessibility, the rows were approximately 10 m apart, parallel to the river. After collection, the pitfall traps were taken to the laboratory where individual ants were separated, identified, and stored in 96% ethanol.

Data analysis

For each ant species, we recorded the total number of traps in which they were captured (nTO) and the total number of workers per trap (nW). With the latter data, a table was compiled to calculate the species accumulation curves for each habitat and trap type with the package 'vegan' (function 'specaccum', method 'random', 100 permutations; Oksanen et al., 2019).

All analyses were performed with R v.3.6.0 (R Core Team, 2020) and the 'ggplot2' package was used for graphics (Wickham, 2016). In order to test whether the number of species captured (S) differed between trap types, a two-



Figure 2 Deep and standard pitfall trap as used in the experiment.

way general linear model (GLM) was performed, using habitat and depth as factors. The short distance between consecutive traps (2 m) might result in the capture of individuals belonging to a single nest in nearby traps, especially in ant species with larger and more mobile individuals. This could lead to pseudoreplication. To avoid this problem, we employed various approaches. Modern statistical tools, such as generalized linear mixed model (GLMM) analysis (Chaves, 2010), has been used recently with ants to avoid independence problems between pitfall traps (Lasmar et al., 2017; Boetzl et al., 2018; Raine et al., 2019). The random factor in our model was transect (group of 10 pitfall traps). Another way to address the lack of independence may be the use of bootstrapping techniques (Chaves, 2010).

For our analysis, we used two-way ordinary GLM test (R, function 'aov'), linear mixed effects model (GLMM, function 'lmer', package 'lme4'; Bates et al., 2015), two-way ANOVA with robust estimation (using M-estimators; function 'pbad2way', package 'WRS2'; Huber, 1964), and residual and wild bootstrap in two-way ANOVA (function 'ANOVA.boot', package 'lmbboot'; Efron, 1979). Permutation tests were performed with 9 999 iterations. All the results were systematically consistent; therefore, we only report the two-way ordinary GLM test.

We also analyzed the differences in the composition of species per habitat and type of trap, using a PERMANOVA test with 9 999 permutations, based on a Bray–Curtis distance matrix calculated with nW per species and trap, and with habitat and depth as factors. The Bray–Curtis

dissimilarity is frequently used by ecologists to quantify differences between samples based on abundance or count data (Greenacre & Primmer, 2013). For the most abundant species (with at least 100 individuals captured in total, considering both types of traps and both areas, and found in 25 traps or more), we calculated the average number of workers per trap (nW/nTO). Subsequently, for these species and per type of trap (ST, DT), a χ^2 test was performed, with observed vs. expected nW (R, function 'chisq.test', package 'stats'), corrected by Bonferroni (R, function 'p.adjust', package 'stats').

Finally, to check whether there was a differential capture of ants according to their size in traps ST vs. DT, for the most abundant species we performed Pearson correlation tests between ant size (WS) vs. the percentage of occupied traps, and between WS vs. the number of workers captured per trap, for both ST and DT (workers sizes according to Arnan et al., 2015).

Results

In total 5 469 workers of 27 ant species were registered, 21 species in the riparian forest and 17 in the grassland. When combining the data of both habitats, similar numbers of species appear in traps ST (25 species) and DT (24 species), and the number of workers captured by DT traps was higher, both for all species combined and for most species separately (Table 1).

The species accumulation curves, indicating the adequacy of the sampling method, show that a representative sample of the ant assemblages for both habitat and trap type was obtained with only 20 pitfall traps (Figure 3). When few traps are used (<10), more species are captured with DT in both habitats.

Habitat and trap depth both affected the mean number of species per trap (GLM, habitat: $F_{1,76} = 8.368$; depth: $F_{1,76} = 8.368$, both $P = 0.005$). For both types of habitat, more species are captured on average in DT than in ST traps. No significant interaction was found between both factors (habitat*depth: $F_{1,76} = 0.277$, $P = 0.60$) (Figure 4A). The assemblages of ants differed between habitats (PERMANOVA: $F_{1,76} = 17.775$, $P < 0.001$) and trap depths ($F_{1,76} = 2.270$, $P = 0.019$), but not for their interaction ($F_{1,76} = 0.843$, $P = 0.57$).

Almost all of the most abundant species (nW \geq 100 and nTO \geq 25) were sensitive to trap depth. The total number of captured individuals differed between trap depth for *Aphaenogaster gibbosa* (Latreille), *Aphaenogaster senilis* Mayr, *Formica cunicularia* Latreille, *Plagiolepis pygmaea* (Latreille), *Plagiolepis schmitzii* Forel, *Tetramorium semilaeve* André, and *Solenopsis* spp. (Table 2). Figure 4B shows the results of the average nW captured per species.



4 Jiménez-Carmona et al.

Table 1 Total number (% in parentheses) of individuals (nW) captured per ant species for each pitfall trap type (standard vs. deep) in both habitats, grassland or riparian forest

Species	Pitfall trap type			Habitat	
	Standard	Deep	Total	Grassland	Riparian forest
<i>Plagiolepis pygmaea</i>	708 (56)	567 (44)	1275	745	530
<i>Aphaenogaster gibbosa</i>	212 (40)	323 (60)	535	383	152
<i>Pheidole pallidula</i>	212 (48)	228 (52)	440	19	421
<i>Messor barbarus</i>	200 (48)	215 (52)	415	415	0
<i>Tapinoma madeirense</i>	52 (13)	349 (87)	401	0	401
<i>Creumatogaster auberti</i>	31 (8)	355 (92)	386	3	383
<i>Plagiolepis schmitzii</i>	131 (42)	180 (58)	311	311	0
<i>Aphaenogaster senilis</i>	83 (34)	163 (66)	246	178	68
<i>Creumatogaster scutellaris</i>	4 (2)	236 (98)	240	0	240
<i>Tetramorium semilaeve</i>	76 (32)	158 (68)	234	5	229
<i>Formica cunicularia</i>	57 (25)	171 (75)	228	0	228
<i>Temnothorax alfacariensis</i>	50 (30)	115 (70)	165	4	161
<i>Solenopsis</i> spp.	45 (35)	83 (65)	128	3	125
<i>Temnothorax racovitzai</i>	46 (47)	52 (53)	98	85	13
<i>Tapinoma</i> cf. <i>nigerrimum</i>	33 (38)	53 (62)	86	84	2
<i>Lasius grandis</i>	5 (8)	54 (92)	59	0	59
<i>Camponotus barbaricus</i>	14 (45)	17 (55)	31	27	4
<i>Aphaenogaster iberica</i>	8 (27)	22 (73)	30	0	30
<i>Temnothorax recedens</i>	11 (48)	12 (52)	23	0	23
<i>Tetramorium caespitum</i>	11 (61)	7 (39)	18	0	18
<i>Temnothorax tyndalei</i>	5 (71)	2 (29)	7	7	0
<i>Camponotus</i> spp.	2 (40)	3 (60)	5	5	0
<i>Lasius lasioides</i>	0 (0)	4 (100)	4	0	4
<i>Tetramorium forte</i>	2 (100)	0 (0)	2	0	2
<i>Cataglyphis velox</i>	0 (0)	1 (100)	1	1	0
<i>Camponotus gestroi</i>	1 (100)	0 (0)	1	1	0
<i>Hypoponera eduardi</i>	1 (100)	0 (0)	1	0	1
Total individuals	2000	3370	5370	3094	2276
Total spp.	25	24	27	17	21

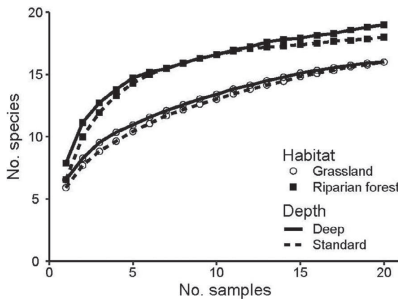


Figure 3 Ant species accumulation curves (no. ant species) as a function of the number of pitfall traps (sample units) of two types (standard vs. deep) in two habitats (grassland vs. riparian forest).

Deeper traps tend to capture more workers than the standard ones (Figure 4B), this is especially true for *A. gibbosa*, *A. senilis*, and *F. cunicularia*, but not for *P. pygmaea*.

For the nine most common species ($nW \geq 100$, $nTO \geq 25$), no relation was found between ant size (WS) and % nTO (DT: $r = 0.350$; ST: $r = -0.350$, both $P = 0.36$), nor between WS and nW captured per trap (DT: $r = -0.136$, $P = 0.73$; ST: $r = -0.330$, $P = 0.39$).

Discussion

In the present study, when comparing deeper with shallower traps, the total number of ant species captured was similar. This supports the statement of Pendola & New (2007) that for a 'rapid biodiversity assessment', both types of traps could be used with similar results. However, independent of the type of habitat (grassland or riparian

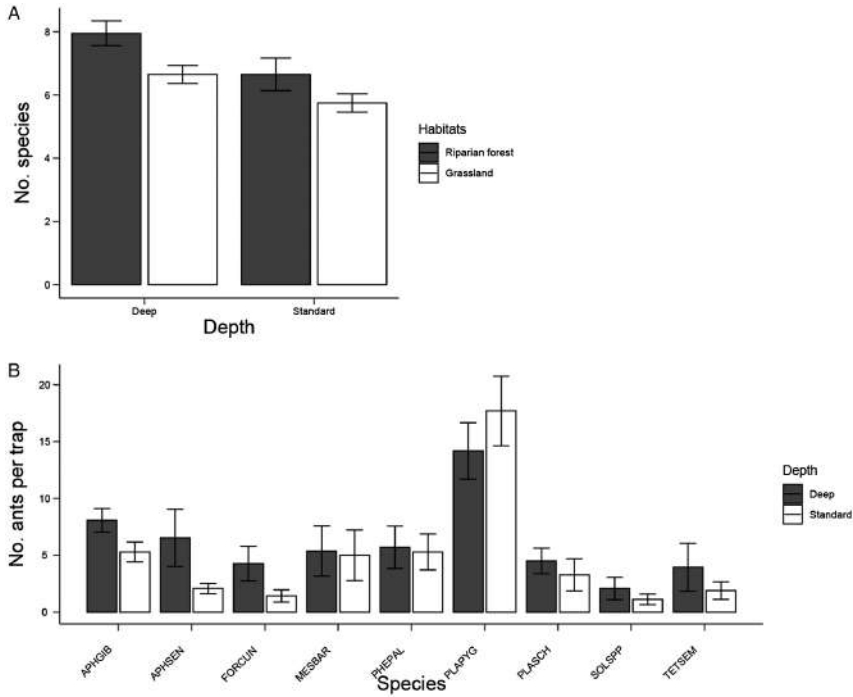


Figure 4 Mean (\pm SE) number of (A) ant species captured per trap, as a function of trap type (standard vs. deep) in two habitats (grassland vs. riparian forest), and (B) individuals captured (nW) of the nine most common species (i.e., ≥ 100 ants captured in ≥ 25 traps) in standard vs. deep traps. Ant species names comprise the first three letters of the genus and the first three letters of the species (see Table 2 for full names).

Table 2 Abundance of the most common ant species ($nW \geq 100$ and $nTO \geq 25$), according to trap depth (standard vs. deep). nW, total number of captured individuals; nTO, number of traps occupied per species; nW/nTO, number of individuals captured per occupied trap

Species	nW			χ^2 test P	nTO			nW/nTO	
	Standard	Deep	Total		Standard	Deep	Total	Standard	Deep
<i>Aphaenogaster gibbosa</i>	212	323	535	<0.001	31	35	66	6.8	9.2
<i>Aphaenogaster senilis</i>	83	163	246	<0.001	29	31	60	2.9	5.3
<i>Formica cunicularia</i>	57	171	228	<0.001	12	17	29	4.8	10.1
<i>Messor barbarus</i>	200	215	415	0.46	11	14	25	18.2	15.4
<i>Pheidole pallidula</i>	212	228	440	0.45	17	15	32	12.5	15.2
<i>Plagiolepis pygmaea</i>	708	567	1275	<0.001	37	37	74	19.1	15.3
<i>Plagiolepis schmitzii</i>	131	180	311	0.005	16	19	35	8.2	9.5
<i>Solenopsis</i> spp.	45	83	128	0.001	11	15	26	4.1	5.5
<i>Tetramorium semilaeve</i>	76	158	234	<0.001	13	14	27	5.8	11.3

χ^2 test P indicates P-values adjusted with Bonferroni correction.



6 Jiménez-Carmona et al.

forest), when analyzing the captures for both types of trap individually, DT captured more species and more individuals. It would be interesting to check whether these results are translatable to more diverse ecosystems, for example in the tropics, where the use of DT could reduce the hard work of sampling.

As more individuals of some species are captured in DT, the relative abundance of the species changed between both types of traps. A similar effect was found by Santos et al. (2007) for spiders, although they did not analyze the depth factor separately but linked the differences to trap diameter. Unlike our traps, the traps of Santos et al. (2007) were dry, that is, no killing agent was used.

In our study standard and deep traps had the same catch area (same aperture diameter), consequently the capture rate was the same for both types of traps. Therefore, the differences found in the capture of ants will be due to the escape ability of the individuals, which is affected by the depth of the trap – as also proposed by Santos et al. (2007). Another variable that could be affecting escape is the inclination of the trap walls. In the present study the difference between standard traps and deep traps was small, of just 1°, being steeper in deep traps. Nevertheless, this could also be a possible bias factor to be considered in future studies.

One of the factors that may affect the escape rate of the individuals is their size (Luff, 1975; Hancock & Legg, 2012). Hancock & Legg (2012) found in beetles that largest species had greater chances of escaping from shallower traps. However, we did not find any relationship between ant size and the number of workers per trap or the percentage of occupied traps. Bigger ants, such as *F. cunicularia* (WS = 5.3 mm), and smaller ones, such as *P. schmitzii* (WS = 2.1 mm), both escaped more frequently from shallower traps, as also concluded for spiders by Santos et al. (2007). Some studies support that an ant's ability to climb smooth surfaces is closely related to the specific morphology of their pretarsa (Orivel et al., 2006; Billen et al., 2017). Thus, anatomical details of the legs affect their locomotory capacity, which could determine their ability to climb and escape from the pitfall traps.

In conclusion, the depth of the traps influenced the relative abundance of the species of ants that were captured; deeper ones captured more species and individuals. Therefore, when conducting comparative studies, the depth of the traps, along with other possible bias factors, should be considered.

Acknowledgements

The revision of the manuscript by Alba Jiménez-Guirval is gratefully acknowledged.

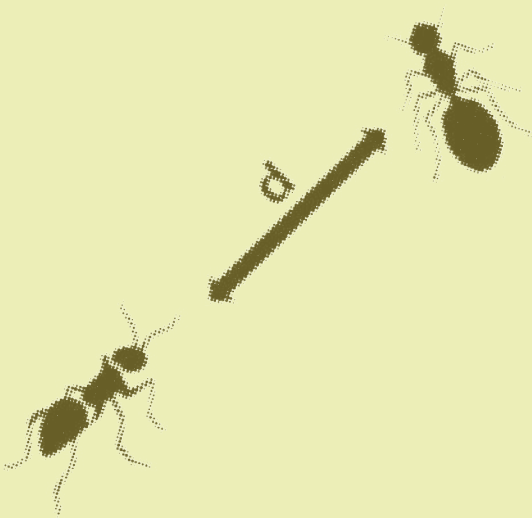
References

- Abensperg-Traun M & Steven D (1995) The effects of pitfall trap diameter on ant species richness (Hymenoptera: Formicidae) and species composition of the catch in a semi-arid eucalypt woodland. *Australian Journal of Ecology* 20: 282–287.
- Arnan X, Cerdá X & Retana J (2015) Partitioning the impact of environment and spatial structure on alpha and beta components of taxonomic, functional, and phylogenetic diversity in European ants. *PeerJ* 3: e1241.
- Bates D, Mächler M, Bolker B & Walker S (2015) Fitting linear mixed-effects models using lme4. *Journal of Statistical Software* 67: 1–48.
- Billen J, Al-Khalifa MS & Silva RR (2017) Pretarsus structure in relation to climbing ability in the ants *Brachyponera senmaarensis* and *Daceton armigerum*. *Saudi Journal of Biological Sciences* 24: 830–836.
- Boetzl FA, Ries E, Schneider G & Krauss J (2018) It's a matter of design – how pitfall trap design affects trap samples and possible predictions. *PeerJ* 6: e5078.
- Borgelt A & New TR (2006) Pitfall trapping for ants (Hymenoptera, Formicidae) in mesic Australia: what is the best trapping period? *Journal of Insect Conservation* 10: 75–77.
- Brown GR & Matthews IM (2016) A review of extensive variation in the design of pitfall traps and a proposal for a standard pitfall trap design for monitoring ground-active arthropod biodiversity. *Ecology and Evolution* 6: 3953–3964.
- Chaves LF (2010) An entomologist guide to demystify pseudoreplication: data analysis of field studies with design constraints. *Journal of Medical Entomology* 47: 291–298.
- Efron B (1979) Bootstrap methods: another look at the jackknife. *Annals of Statistics* 7: 1–26.
- Greenacre M & Primmerio R (2013) *Multivariate Analysis of Ecological Data*. Fundación BBVA, Madrid, Spain.
- Greenslade PJM (1973) Sampling ants with pitfall traps: digging-in effects. *Insectes Sociaux* 20: 343–353.
- Hancock MH & Legg CJ (2012) Pitfall trapping bias and arthropod body mass. *Insect Conservation and Diversity* 5: 312–318.
- Honek A (1988) The effect of crop density and microclimate on pitfall trap catches of Carabidae, Staphylinidae (Coleoptera), and Lycosidae (Araneae) in cereal fields. *Pedobiologia* 32: 233–242.
- Huber PJ (1964) Robust estimation of a location parameter. *Annals of Mathematical Statistics* 35: 73–101.
- Jiménez-Carmona F, Carpintero S & Reyes-López JL (2019) The digging-in effect on ant studies with pitfall traps: influence of type of habitat and sampling time. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 167: 906–914.
- Joosse ENG & Kapteijn JM (1968) Activity-stimulating phenomena caused by field-disturbance in the use of pitfall-traps. *Oecologia* 1: 385–392.
- Knapp M, Baranovská E & Jakubec P (2016) Effects of bait presence and type of preservative fluid on ground and carrion beetle samples collected by pitfall trapping. *Environmental Entomology* 45: 1022–1028.

- Lasmar CJ, Queiroz ACMM, Rabello AM, Feitosa RM, Canedo-Júnior EO et al. (2017) Testing the effect of pitfall-trap installation on ant sampling. *Insectes Sociaux* 64: 445–451.
- Luff ML (1975) Some features influencing the efficiency of pitfall traps. *Oecologia*, 19(4), 345–357.
- Melbourne BA (1999) Bias in the effect of habitat structure on pitfall traps: an experimental evaluation. *Austral Ecology* 24: 228–239.
- Oksanen J, Blanchet FG, Friendly M, Kindt R, Legendre P et al. (2019) *Vegan: community ecology package*. <https://github.com/vegandevs/vegan> (accessed 4 July 2020).
- Orivel J, Malherbe MC & Dejean A (2006) Relationships between pretarsus morphology and arboreal life in ponerine ants of the genus *Pachycondyla* (Formicidae: Ponerinae). *Annals of the Entomological Society of America* 94: 449–456.
- Pendola A & New TR (2007) Depth of pitfall traps – does it affect interpretation of ant (Hymenoptera: Formicidae) assemblages? *Journal of Insect Conservation* 11: 199–201.
- Phillips ID & Cobb TP (2005) Effects of habitat structure and lid transparency on pitfall catches. *Environmental Entomology* 34: 875–882.
- R Core Team (2020) *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Raine EH, Mikich SB, Lewis OT & Slade EM (2019) Interspecific and intraspecific variation in diet preference in five Atlantic forest dung beetle species. *Ecological Entomology* 44: 436–439.
- Santos SAP, Cabanas JE & Pereira JA (2007) Abundance and diversity of soil arthropods in olive grove ecosystem (Portugal): effect of pitfall trap type. *European Journal of Soil Biology* 43: 77–83.
- Schlick-Steiner BC, Steiner FM, Moder K, Bruckner A, Fiedler K & Christian E (2006) Assessing ant assemblages: pitfall trapping versus nest counting (Hymenoptera, Formicidae). *Insectes Sociaux* 53: 274–281.
- Sheikh AH, Ganaie GA, Thomas M, Bhandari R & Rather YA (2018) Ant pitfall trap sampling: an overview. *Journal of Entomological Research* 42: 421–436.
- Weeks RD & McIntyre NE (1997) A comparison of live versus kill pitfall trapping techniques using various killing agents. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 82: 267–273.
- Wickham H (2016) *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer, New York, NY, USA.
- Woodcock BA (2005) Pitfall trapping in ecological studies. *Insect Sampling in Forest Ecosystems* (ed. by SR Leather), pp. 37–57. Blackwell Science, Oxford, UK.

CAPÍTULO 6

Efecto de la distancia entre trampas de caída en los estudios de hormigas (Hymenoptera: Formicidae)



*“Golpe a golpe, verso a verso
murió el poeta lejos del hogar
le cubre el polvo de un país vecino
al alejarse, le vieron llorar
caminante, no hay camino, se hace camino al andar.”*

Joan Manuel Serrat
Cantares. Dedicado a Antonio Machado, poeta, 1969

Introducción

Las hormigas son insectos eusociales que viven en colonias cuyo tamaño depende, entre otros factores, de la especie (Hölldobler y Wilson, 1990). La distribución de sus nidos variará en función de ciertas variables, como la disponibilidad de espacio o de alimento, o la presencia de especies competidoras (Fernández-Escudero y Tinaut, 1999; Hölldobler y Wilson, 1990). Asimismo, el tipo de medio va a afectar a las especies que alberga y a su patrón de distribución: los medios homogéneos tienen menos especies que los heterogéneos y suelen distribuirse de forma más regular (Roth *et al.*, 1994). *A priori*, podemos señalar que en cada punto de muestreo las especies capturadas y su abundancia dependerán principalmente de la cercanía de nidos, tamaño y movilidad de cada especie y a sus hábitos de forrajeo.

Para el muestreo de hormigas epigeas, uno de los sistemas más usados es el de las trampas de caída (Sheikh *et al.*, 2018). Cada trampa consiste en un contenedor, generalmente con forma de vaso, enterrado a ras de suelo y que, a menudo, se llena de una solución líquida que previene que las capturas se escapen. Tanto el tipo de trampa que se emplee como la forma de disponerlas pueden generar diferencias en los resultados de captura. Así, las características del recipiente (el perímetro de abertura, su profundidad, el material del que están hechas, el uso o no de tapas) y su disposición en el espacio de muestreo (transectos, rejillas, círculos), entre otras variables, pueden afectar a qué especies se capturan y en qué abundancia (Sheikh *et al.*, 2018; Woodcock, 2005). Hay una amplia literatura científica que estudia estas modificaciones y sus sesgos, pero algunas de las variables, como es el caso de la distancia entre trampas de



caída, creemos que no están lo suficientemente bien estudiadas.

En estos términos, puede suceder que, cuando colocamos dos trampas de caída en un área, estas capturen muestras similares en cuanto a composición específica (Palmer, 1995). Esto podría deberse a que, como se comentó anteriormente, se trate de un medio homogéneo, con pocas especies que se distribuyen de forma más o menos regular. Pero también, tanto en medios heterogéneos como en homogéneos, puede darse que exista un fenómeno de autocorrelación espacial (Legendre y Legendre, 1998) que se traduciría en que dos trampas próximas estén capturando individuos procedentes de los mismos nidos y, por lo tanto, las mismas especies y en similar abundancia. En este caso las muestras no son independientes (Hurlbert, 1984), sino pseudoréplicas. Si fuera así, los resultados de los análisis estadísticos que realicemos sobre nuestro conjunto de datos pueden dar valores poco veraces y podría llevarnos a interpretar resultados que se alejarían de la realidad (Govorushko, 2018). Dicha autocorrelación espacial se puede evitar. Para ello se deberán tomar las muestras considerando una distancia mínima, que dependerá tanto del tipo de medio como de las especies que estén presentes en él.

En cuanto a las especies concretas, Gotelli, Ellison, Dunn, y Sanders, (2011) dicen que, para el caso de especies de hormigas pequeñas, como por ejemplo las del género *Temnothorax*, con 2 m de separación entre trampas de caída puede ser suficiente para evitar la pseudoreplicación. Sin embargo, para especies de mayor tamaño, como es el caso de las del género *Camponotus*, las distancias deben ser mayores. Por todo ello, y debido a que la composición específica varía en función del hábitat (Hill *et al.*, 2008), la distancia de separación de las trampas de caída para evitar la pseudoreplicación variará con este.

Algunos autores han estudiado ya este fenómeno. La mayoría de ellos lo abordan a través del número de especies capturadas por las trampas en función de su separación (Digweed *et al.*, 1995; Ward *et al.*, 2001). El problema del uso de esta variable es que ciertamente dos puntos de muestreo pueden tener el mismo número de especies, pero puede ser que las especies presentes en ellos sean diferentes. Por lo tanto, sería más certero el uso de sistemas multivariantes como el que hacen referencia King y Porter (2005), que comparan la similitud o congruencia en especies y abundancia relativa, entre cada punto de muestreo.

En nuestro caso, queremos determinar cuál es la distancia mínima a la que dos trampas de caída presentarán muestras de hormigas (especies y abundancia relativa) significativamente distintas, centrándonos en un rango de distancias entre trampas de 0.5 a 40 m.

Material y Métodos

Área de muestreo

Para comprobar los objetivos de este capítulo se realizaron dos experimentos en sendos pastizales próximos entre sí, a menos de 2 km uno del otro, situados dentro del Polígono Industrial de “Las Quemadas”, Córdoba (España). A estas zonas de estudio les asignamos los nombres de Pastizal 1 (37.909489° N, 4.714287° W) y Pastizal 2 (37.895690° N, 4.727536° W) (Figura 1). Ambos son pastizales suburbanos, de aspecto homogéneo, con predominancia de plantas nitrófilas (ver Tabla 1) y con una alta presión de herbivoría.



Figura 1. Vista general y de las áreas de muestreo. Los iconos en rojo señalan la localización del Campus Universitario de Rabanales y del Polígono industrial de las Quemadas. Los verdes señalan las áreas de muestreo en los pastizales.



Tabla 1. Listado de especies de plantas observadas a nivel de especie o género. La columna P1 corresponde al Pastizal 1 y la P2 al Pastizal 2. X muestra la presencia de las especies en el pastizal.

Spp.	P1	P2
<i>Aegilops geniculata</i> Roth	X	
<i>Andryala integrifolia</i> L.	X	X
<i>Astragalus pelecinus</i> (L.) Barneby		X
<i>Atractylis cancellata</i> L.	X	
<i>Avena sterilis</i> L.	X	X
<i>Bellardia trixago</i> (L.) All	X	
<i>Bromus hordeaceus</i> L.	X	
<i>Bromus</i> spp.	X	X
<i>Cardus bourgeanus</i> Boiss. y Reuter		X
<i>Carlina corymbosa</i> L.	X	X
<i>Chondrilla juncea</i> L.	X	X
<i>Cichorium tybus</i> L.	X	X
<i>Convolvulus arvensis</i> L.	X	X
<i>Cynara humilis</i> L.	X	
<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Pers.	X	X
<i>Cynoglossum creticum</i> Mill.	X	X
<i>Daucus carota</i> L.	X	X
<i>Echium plantagineum</i> L.	X	X
<i>Eryngium campestre</i> L.	X	
<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	X	X
<i>Galactites tomentosa</i> Moench	X	X
<i>Hordeum</i> sp.		X
<i>Lactuca serriola</i> L.		X
<i>Marrubium vulgare</i> L.		X
<i>Medicago orbicularis</i> (L.) Bartal.	X	
<i>Medicago polymorpha</i> L.	X	X
<i>Ononis</i> spp.	X	X
<i>Onopordum nervosum</i> Boiss.		X
<i>Pallenis spinosa</i> (L.) Cass.	X	
<i>Paspalum paspalodes</i> (Michx) Scribner	X	X
<i>Phalaris canariensis</i> L.	X	X
<i>Plantago lagopus</i> L.	X	X
<i>Pulicaria paludosa</i> Link		X
<i>Rumex pulcher</i> L.	X	X
<i>Salvia verbenaca</i> L.		X
<i>Scolymus hispanicus</i> L.		X
<i>Silybum marianum</i> (L.) Gaertner		X
<i>Sinapis</i> sp.		X
<i>Torilis</i> spp.	X	X
<i>Trifolium angustifolium</i> L.	X	X
<i>Trifolium campestre</i> Schreb. in Sturm	X	X
<i>Trifolium stellatum</i> L.	X	
<i>Verbascum sinuatum</i> L.	X	X
<i>Verbena officinalis</i> L.		X
Total spp.	20	23

La selección de estos dos lugares se basó en la necesidad de un área de muestreo homogénea y una extensión suficiente para albergar el experimento.

Climatología

La climatología del área de estudio corresponde a la Mediterránea Continental (Fuente: Agencia Estatal de Meteorología, Aemet.es). Los datos recogidos en la estación meteorológica del Aeropuerto de Córdoba (Fuente: Aemet.es) fueron: entre el 13 y el 15 de junio de 2018 se registró una temperatura media 24 °C (rango 14.6-33.4 °C), y entre el 18 y el 20 de junio de 2018 se registró una temperatura media de 28.6 °C (rango 18.6-38 °C). En ninguno de los dos periodos de muestreo se registraron precipitaciones.

Diseño experimental

Se realizó un diseño experimental basado en transectos lineales de 8 trampas cada uno, en dirección este-oeste, y separados entre sí por 40 m (Figura 2A). Se colocaron trampas a 0, 0.5, 1.5, 3.5, 8.5, 18.5, 38.5 y 78.5 m del inicio del transecto. De esta manera las trampas consecutivas estaban separadas entre sí por 0.5, 1, 2, 5, 10, 20 y 40 m. Los transectos impares se colocaron en sentido este-oeste y los pares, oeste-este. Así, se eliminarían, si los hubiera, los posibles efectos de algún patrón de distribución de especies de hormigas debidos a distintos factores (como, por ejemplo, cambios en la cobertura vegetal o en el tipo de suelo).

Las trampas de caída consistían en vasos de muestra traslúcidos de 5,7 cm de diámetro en la abertura superior, 5 cm en la base, una profundidad de 7,3 cm y con una capacidad de 150 ml. (REF. 409702, DELTALAB SL.). Estos se introducían en un agujero previamente excavado en el pastizal, quedando la trampa enrasada con la superficie del suelo y sin huecos entre el vaso y el suelo. Todos los vasos se llenaban con una solución 1% de detergente (lavavajillas líquido comercial) para romper la tensión superficial del agua y evitar que los artrópodos de menor tamaño pudieran escapar (Weeks y McIntyre, 1997; Woodcock, 2005). No usamos cebos ni ningún tipo de conservante. Este método permite determinar tanto la presencia y ausencia de las especies como su abundancia relativa (Wang *et al.*, 2001).

En el Pastizal 1 se colocaron un total de 80 trampas en dos periodos

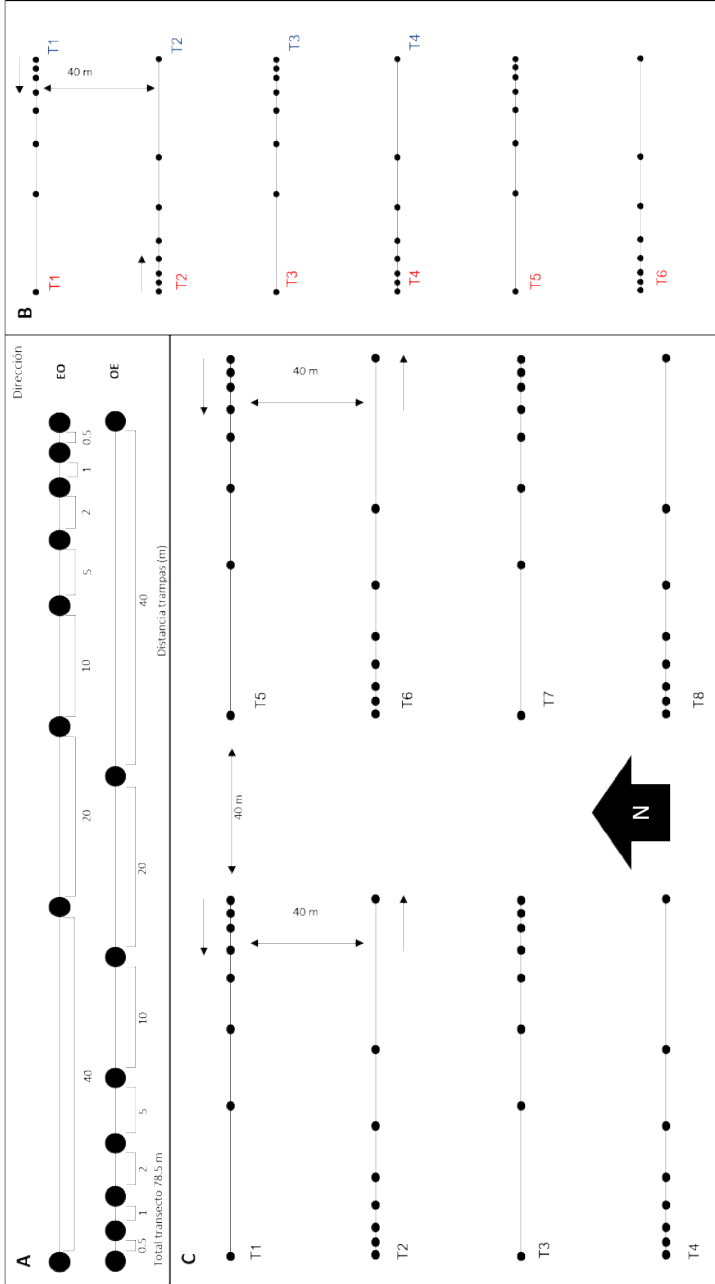


Figura 2. Esquemas del diseño de muestreo. **A.** Diseño de los transectos. **B.** Diseño de la colocación de transectos en el Pastizal 1. En azul, numeración de los transectos correspondientes al primer muestreo, en rojo al segundo muestreo. **C.** Diseño de la colocación de transectos en el Pastizal 2.

distintos: un primer periodo, del 13 al 15 de junio de 2018 en el que se dispusieron 4 transectos paralelos, que hacían un total de 32 trampas; y un segundo, del 18 al 20 de junio de 2018, en el que se colocaron 6 transectos paralelos con un total de 48 trampas.

En el Pastizal 2 (del 12 al 14 de junio de 2019) se colocaron un total de 64 trampas, dispuestas en dos bloques de 4 transectos cada uno, colocados uno junto a otro en dirección este-oeste y separados entre sí por 40 m (Figura 2C). Se eligió esta disposición debido al tamaño y orientación del área de muestreo (ver Figura 1).

En todos los casos las trampas se mantuvieron abiertas un total de 48 horas. Tras esto se separaron las hormigas del resto de artrópodos y detritus, y se conservaron en alcohol. La identificación de las hormigas se realizó a nivel de especie y se registró el número de obreras por especie y trampa.

Análisis estadísticos

Los análisis estadísticos fueron realizados con R v3.6.3 (R Core Team, 2020), y los gráficos fueron realizados mediante la función “ggplot” (paquete “ggplot2”; Wickham, 2016).

Con el fin de determinar si existe alguna relación entre la distancia entre trampas y las hormigas capturadas, se llevaron a cabo los siguientes pasos. En primer lugar, se calculó la matriz de similitud Bray-Curtis de cada transecto teniendo en cuenta cada par de trampas consecutivas (según las categorías de distancias entre trampas establecidas en el estudio: 0.5, 1, 2, 5, 10, 20, 40 m), a partir de la matriz de abundancia de obreras por especie y trampa.

A continuación, para comprobar si el efecto de la distancia era significativo, se realizó un modelo lineal general mixto (GLMM) mediante la función “lmer” (paquete “lme4”; Bates, Mächler, Bolker y Walker, 2015) usando como variable respuesta la similitud Bray-Curtis entre los pares de trampas, como variables factoriales la zona (Pastizal 1 y 2), la distancia en forma de variable categórica y como factor *random* el transecto. Seguidamente, recodificamos la variable distancia en una nueva que llamamos grupos de distancias, con dos categorías: la 1 que incluía las distancias de 0.5 a 2 m y la 2 que incluía las distancias de 5 a 40 m. Seguidamente, con esta nueva variable volvimos a realizar un GLMM



usando como variable respuesta los valores de similitud Bray-Curtis, como variables factoriales el pastizal y los dos grupos de distancias y como factor *random* el transecto.

Resultados

En los dos muestreos realizados se capturaron un total de 3 763 obreras de 15 especies distintas, 14 en Pastizal 1 y 10 en Pastizal 2 (ver Tabla 2). Hubo que eliminar el transecto 5 del pastizal 2 debido a que varias trampas se perdieron, por tanto, el número final de transectos fue de 10 para el Pastizal 1 (80 trampas) y de 7 para el Pastizal 2 (56 trampas). Las especies encontradas son la mayoría generalistas (ver en Roig y Espadaler, 2010), entre ellas la más abundante fue *Messor barbarus* (Linnaeus, 1767).

Tabla 2. Listado de especies de hormigas, y obreras capturas por zona de muestreo y en total.

ESPECIE	PASTIZAL 1	PASTIZAL 2	TOTAL
<i>Messor barbarus</i> (Linnaeus, 1767)	301	661	962
<i>Tennothorax alfacarensis</i> Tinaut and Reyes-Lopez, 2020	528	0	528
<i>Aphaenogaster senilis</i> Mayr, 1853	220	197	417
<i>Crematogaster auberti</i> Emery, 1869	19	353	372
<i>Tetramorium forte</i> Forel, 1904	294	0	294
<i>Tetramorium semilaeve</i> André, 1883	34	212	246
<i>Cataglyphis velox</i> Santschi, 1929	132	108	240
<i>Tapinoma nigerrimum</i> group (Nylander, 1856)	3	194	197
<i>Cataglyphis rosenhaueri</i> Santschi, 1925	66	126	192
<i>Goniomma hispanicum</i> (André, 1883) v	32	82	114
<i>Plagiolepis pygmaea</i> (Latreille, 1798)	103	0	103
<i>Camponotus micans</i> (Nylander, 1856)	46	37	83
<i>Cardiocondyla batesii</i> Forel, 1894	0	7	7
<i>Tennothorax tyndalei</i> (Forel, 1909)	6	0	6
<i>Tennothorax racovitzai</i> (Bondroit, 1918)	2	0	2
NW TOTAL	1786	1977	3763
SPP.	14	10	15
I. SHANNON	2.022	1.932	-

Un primer análisis GLMM para todas las categorías de distancias dio como resultado que el factor distancia tenía una fuerte influencia en los valores de similitud Bray-Curtis para los pares de trampas ($F_{6,13} = 4.199$, $p < 0.001$) mientras que del factor zona ($F_{1,13} = 0.006$, $p = 0.938$) y de la interacción ($F_{6,13} = 1.627$, $p = 0.148$) no se obtuvieron resultados

significativos. El segundo GLMM realizado con los valores de los dos grupos de distancias creados, se obtuvieron resultados similares, encontrándose diferencias significativas entre los valores de similitud Bray Curtis entre ambos grupos ($F_{1,3} = 20.829$, $p < 0.001$) y no para el factor zona ($F_{1,3} = 0.886$, $p = 0.886$), ni para la interacción ($F_{1,3} = 2.726$, $p = 0.102$).

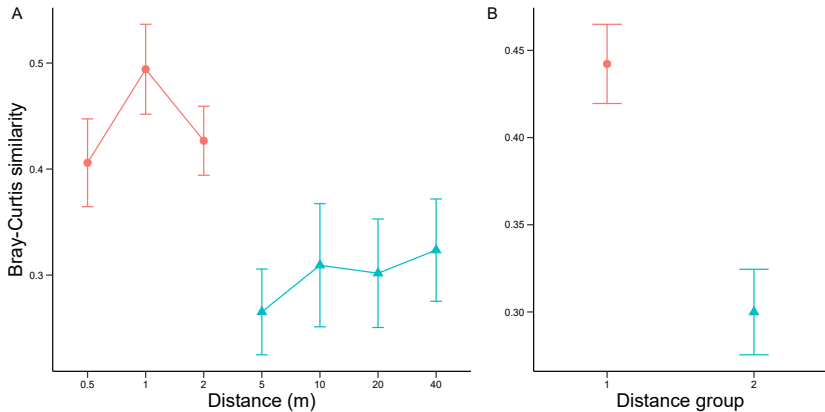


Figura 3. Gráficos de medias \pm sd del Índice de similitud Bray-Curtis. A. Para cada una de las distancias B. Para los grupos de distancias (1) de 0.5 a 2 m (2) de 5 a 40 m.

Discusión

Cuando realizamos un muestreo mediante trampas de caída es necesario conocer y estandarizar el método que se va a utilizar a tal efecto. La distancia entre trampas de caída es una de las variables que puede afectar a los resultados de nuestro experimento. De hecho, podemos encontrar multitud de trabajos que intentan evitar los posibles efectos de la pseudoreplicación por efecto de la distancia entre muestras con distintos tratamientos estadísticos (Chaves, 2010; Lasmar *et al.*, 2020; Law y Parr, 2020), y otros que, para este fin, incrementan de manera notable la distancia entre trampas (Hacala *et al.*, 2020; Zhu *et al.*, 2019).

Existen trabajos previos, como el de Digweed, Currie, Carcamo y Spence (1995), o el de Ward, New y Yen (2001), que no llegan a conclusiones a este respecto para el caso particular de hormigas, aunque sí para escarabajos. Sin embargo, estos estudios solamente analizan el número de especies capturadas, sin tener en cuenta qué especies son y



la abundancia relativa de cada una de ellas. De esta forma, al sólo tener en cuenta el número de especies, se produce una simplificación de los datos que conlleva a la no detección de diferencias que quizá se hubieran manifestado al comparar la composición y abundancia de especies.

En nuestro trabajo hemos podido comprobar que en ecosistemas homogéneos, como es el caso de pastizales mediterráneos nitrófilos, la distancia de separación mínima entre dos trampas para que la similitud (en especies y abundancia relativa) sea significativamente distinta, corresponde a 5 m. Este dato concuerda con lo ya estudiado previamente por King y Porter (2005), quienes utilizaban también trampas de caída al realizar un estudio en distintos ecosistemas (bosques, zonas de matorral y pastizales). En dicho estudio llegan a las mismas conclusiones que nosotros. Sin embargo, estos autores no tuvieron en consideración distancias menores a 5 m, por lo que no llegan a explicar qué pasaría por debajo de esta medida. En nuestro caso también desconocemos qué sucedería a distancias intermedias entre 2 y 5 m, es decir, si las muestras de hormigas entre 2 y 3 metros o entre 2 y 4 m, son diferentes o no, ya que estos pares de distancias no las hemos estudiamos.

En nuestro caso sólo hemos estudiado uno de los ecosistemas propuestos por King y Porter 2005, por lo que quedaría por explicar si en ecosistemas más complejos la distancia mínima cambiaría. Pero lo cierto es que el incremento de la complejidad de la vegetación se relaciona con un incremento de la diversidad de especies de hormigas (Andersen *et al.*, 2002; Dauber *et al.*, 2003; de Queiroz *et al.*, 2017; Lassau y Hochuli, 2004; Siemann *et al.*, 1998). De esta forma, en los bosques, la diversidad de hormigas será mayor y, además, la existencia de distintos microhábitats debido a la presencia de mayor complejidad espacial (suelos con presencia o no de hojarasca, zonas cercanas a pies de árboles, bajo el dosel o sin cobertura...) ocasionaría un incremento de la rotación de especies que podría suponer una disminución de la distancia mínima para evitar la pseudoreplicación. De cualquier manera, si los requerimientos experimentales de un trabajo o las características del área de estudio requirieran distancias más cortas, se podrían emplear distintas técnicas estadísticas que nos ayudaran a discriminar estos efectos; como son los modelos lineales mixtos generalizados entre otros (Chaves, 2010; Lazic *et al.*, 2020; Schank y Koehnle, 2009).

En resumen, en nuestro trabajo encontramos que en pastizales homogéneos la distancia mínima entre dos trampas de caída para evitar la pseudoreplicación fue de 5 m. De cualquier manera, esta distancia puede estar influenciada por la complejidad del medio, por lo que, para trabajos en otros tipos de medio, deberían hacerse estudios previos que determinasen dicha variable.

Agradecimientos

Agradezco la ayuda prestada durante los muestreos de este capítulo a los alumnos del grado en biología de la Universidad de Córdoba: Rafael Villafuerte Jordán, Félix López Soria, Ginés Fernández Castilla y José Ignacio Morales Mata. Y por último a Rafael Obregón Romero por su ayuda con la identificación de las especies vegetales herbáceas de las área de muestreo.

Bibliografía

- Andersen AN, Hoffmann BD, Müller WJ, Griffiths AD, Muller WJ y Griffiths AD (2002) Using ants as bioindicators in land management: simplifying assessment of ant community responses. *Journal of Applied Ecology* 39:8-17.
- Bates D, Mächler M, Bolker B y Walker S (2015) Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software* 67.
- Chaves LF (2010) An entomologist guide to demystify pseudoreplication: data analysis of field studies with design constraints. *Journal of Medical Entomology* 47:291-298.
- Dauber J, Hirsch M, Simmering D, Waldhardt R, Otte A y Wolters V (2003) Landscape structure as an indicator of biodiversity: matrix effects on species richness. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 98:321-329.
- Digweed SC, Currie CR, Carcamo HA y Spence JR (1995) Digging out the «digging-in effect» of pitfall traps: influences depletion and disturbance on catches of ground beetles (Coleoptera: Carabidae).



Pedobiologia 39:561-576.

- Fernández-Escudero I y Tinaut A (1999) Factors determining nest distribution in the high-mountain ant *Proformica longiseta* (Hymenoptera: Formicidae). *Ethology Ecology and Evolution* 11:325-338.
- Gotelli NJ, Ellison AM, Dunn RR y Sanders NJ (2011) Counting ants (Hymenoptera: Formicidae): biodiversity sampling and statistical analysis for myrmecologists. *Myrmecological News* 15:13-19.
- Govorushko S (2018) *Insect Conservation*. CRC Press, Boca Ratón, FL : CRC Press, 2017.
- Hacala A, Le Roy M, Sawtschuk J y Pétilion J (2020) Comparative responses of spiders and plants to maritime heathland restoration. *Biodiversity and Conservation* 29:229-249.
- Hill JG, Summerville KS y Brown RL (2008) Habitat associations of ant species (Hymenoptera: Formicidae) in a heterogeneous Mississippi landscape. *Environmental Entomology* 37:453-463.
- Hölldobler B y Wilson EO (1990) *The Ants*. Belknap Press, Cambridge.
- Hurlbert SH (1984) Pseudoreplication and the Design of Ecological Field Experiments. *Ecological Monographs* 54:187-211.
- King JR y Porter SD (2005) Evaluation of sampling methods and species richness estimators for ants in upland ecosystems in Florida. *Environmental Entomology* 34:1566-1578.
- Lasmar CJ, Ribas CR, Louzada J, Queiroz ACM, Feitosa RM, Imata MMG, Alves GP, Nascimento GB, Neves FS y Domingos DQ (2020) Disentangling elevational and vegetational effects on ant diversity patterns. *Acta Oecologica* 102:103489.
- Lassau SAS y Hochuli DFD (2004) Effects of habitat complexity on ant assemblages. *Ecography* 27:157-164.
- Law SJ y Parr C (2020) Numerically dominant species drive patterns in resource use along a vertical gradient in tropical ant assemblages. *Biotropica* 52:101-112.

- Lazic SE, Mellor JR, Ashby MC y Munafò MR (2020) A Bayesian predictive approach for dealing with pseudoreplication. *Scientific Reports* 10:839894.
- Legendre P y Legendre L (1998) *Numerical Ecology*. Elsevier, Amsterdam.
- Palmer MW (1995) How should one count species? *Natural Areas Journal* 15:124-135.
- de Queiroz ACM, Rabello AM, Braga DL, Santiago GS, Zurlo LF, Philpott SM y Ribas CR (2017) Cerrado vegetation types determine how land use impacts ant biodiversity. *Biodiversity and Conservation*:1-18.
- R Core Team (2020) R: a language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing* 1:1-2630.
- Roig X y Espadaler X (2010) Propuesta de grupos funcionales de hormigas para la Península Ibérica y Baleares, y su uso como bioindicadores [Proposal of functional groups of ants for the Iberian Peninsula and Balearic Islands, and their use as bioindicators]. *Iberomyrmex* 2:28-29.
- Roth DS, Perfecto I y Rathcke B (1994) The effects of management systems on ground-foraging ant diversity in Costa Rica. *Ecological Applications* 4:423-436.
- Schank JC y Koehnle TJ (2009) Pseudoreplication is a pseudoproblem. *Journal of Comparative Psychology* 123:421-433.
- Sheikh AH, Ganaie GA, Thomas M, Bhandari R y Rather YA (2018) Ant pitfall trap sampling: an overview. *Journal of Entomological Research* 42:421-436.
- Siemann E, Tilman D, Haarstad J y Ritchie M (1998) Experimental tests of the dependence of arthropod diversity on plant diversity. *The American naturalist* 152:738-750.
- Wang C, Strazanac J y Butler L (2001) A comparison of pitfall traps with bait traps for studying leaf litter ant communities. *Journal of Economic Entomology* 94:761-765.
- Ward DF, New TR y Yen AL (2001) Effects of pitfall trap spacing on the abundance, richness and composition of invertebrate catches. *Journal*



of Insect Conservation 5:47-53.

Weeks RD y McIntyre NE (1997) A comparison of live versus kill pitfall trapping techniques using various killing agents. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 82:267-273.

Wickham H (2016) *ggplot2: Elegant graphics for data analysis*. Springer-Verlag, New York.

Woodcock BA (2005) Pitfall trapping in ecological studies. *Insect Sampling in Forest Ecosystems*. (Ed. Leather SR) 1ª edn. Blackwell Science Ltd, Oxford, UK, pp 37-57.

Zhu Y, Wang Y y Chen L (2019) Responses of ground-active arthropods to black locust (*Robinia pseudoacacia* L.) afforestation in the Loess Plateau of China. *Catena* 183:104233.

DISCUSIÓN GENERAL



*“Et t’attends quoi?
Que la terre nous gronde,
que le soleil ne fonde,
et qu’on enfouisse le monde.
Dis moi, dis moi mais j’attends quoi?”*

Zaz

T’attends quoi. *Recto Verso*, 2013.

En numerosos trabajos se ha podido demostrar que, debido a su alta fidelidad ecológica (Folgarait, 1998; Philpott y Armbrecht, 2006; Crist, 2009; Diamé *et al.*, 2017), las hormigas son un excelente grupo de organismos bioindicadores (Andersen, 1997; Underwood y Fisher, 2006; Nakamura *et al.*, 2007; Crist, 2009; Ribas *et al.*, 2012; Verdinelli *et al.*, 2017), por lo que son muy útiles para la evaluación del estado de conservación de los ecosistemas.

En esta tesis se ha testado esta propiedad de las hormigas en dos ecosistemas del sur de la península ibérica de especial interés: las dehesas y los bosques de ribera del río Guadalquivir. En ambos ecosistemas hemos podido comprobar el carácter de las hormigas como bioindicadoras, por lo que, sus patrones de distribución están íntimamente ligados al tipo y estado del medio en el que se encuentran.

Las dehesas del norte de Andalucía.

Las dehesas son ecosistemas que ocupa gran parte de Sierra Morena (Costa Pérez *et al.*, 2006), siendo de vital importancia en estas zonas (Martin, 1996) no sólo por su valor económico, sino también por su contribución a la biodiversidad (Díaz *et al.*, 2003; Pulido y Picardo, 2010; Ramírez Hernández *et al.*, 2015). En estos momentos la dehesa viene atravesando una crisis en dos vertientes, la económica y la ambiental. Los principales factores que están provocando esta crisis son las enfermedades que están sufriendo los árboles (Robin *et al.*, 2001; Sánchez *et al.*, 2002) y el cambio climático (Natalini *et al.*, 2016). Pero también es un hecho probado que el cambio de manejo de prácticas tradicionales a intensivas está influyendo de manera notable (Hernández Díaz-Ambrona, 1996;



Pulido, 1999), provocando un descenso de regeneración del estrato arbóreo en la dehesa, encinas en su mayoría, y pérdidas de biodiversidad. Distintos autores proponen diferentes formas de atajar este problema, como la reducción de la carga ganadera, emprender medidas de reforestación o el abandono de zonas limitadas de las fincas para inducir en ellas la regeneración de las plántulas (Plieninger *et al.*, 2003).

La importancia de las hormigas como grupo subrogado del resto de artrópodos epigeos.

En este contexto, se ha podido demostrar no sólo el papel de las hormigas como bioindicadoras para los ecosistemas de dehesa, sino también por cómo pueden actuar como un excelente grupo subrogado del resto de la fauna de artrópodos epigeos. Se llegó a esta conclusión utilizando la clasificación de Leal *et al.* (2010), donde especificaba que grupos con una correlación de riqueza de especies superior al 80% se pueden considerar grupos subrogados “excelentes”. En este caso, haciendo extensiva esta clasificación, se compararon los valores de correlación (PLSr) entre la abundancia de especies de hormigas y la abundancia de grupos (en su mayoría órdenes) de artrópodos epigeos y se obtuvieron valores de correlación ligeramente superiores a los establecidos por Leal *et al.* (2010); por lo que se pueden considerar como un “excelente grupo” subrogado. Otros autores han encontrado resultados que apoyan el papel de las hormigas como grupo subrogado de otros artrópodos, como Nakamura *et al.* (2007), quienes encuentran una fuerte relación entre el número de especies de hormigas y de órdenes de insectos en bosques de la costa este Australiana.

Los SNFs como reservorios de la biodiversidad de la dehesa.

Las fincas de dehesa, en general, son zonas bastante homogéneas en cuanto a la diversidad de hormigas y la composición de los ensamblajes (ver CAPÍTULO 1). Pero existen lugares concretos, como pueden ser la vegetación alrededor de cursos de agua, zonas de matorral o muros de piedra, entre otros, que aportan diferentes especies a las fincas. Estas zonas se denominan *small natural features* (SNFs) (“microentorno” en el CAPÍTULO 1) y presentan una importancia ecológica desmedida respecto a su tamaño, debido a que ofrecen recursos y un microclima distintos al área circundante (Hunter, 2017; Poschlod y Braun-Reichert, 2017). De esta

forma, los SNFs sirven de refugio para especies que no podrían sobrevivir en el biotopo de dehesa propiamente dicho, y permiten un incremento en la biodiversidad de las fincas (Jiménez-Carmona, Carpintero, y Reyes-López, 2020a).

De esta manera, sería esencial diseñar programas tanto educativos, como de subvención económica o protección ambiental, para que los propietarios de las dehesas conserven estos SNFs y, además, favorezcan la creación de otros nuevos; por ejemplo, en zonas de difícil acceso, con pendiente, alrededor de cursos temporales o cárcavas, etcétera. El presente trabajo refuerza esta hipótesis con la identificación de diferentes grupos de hormigas en función de los microentornos que ocupan.

Influencia de las variables ambientales, geográficas y de gestión en los ensamblajes de hormigas.

A lo largo de la literatura se ha demostrado que distintas variables geográficas (latitud, longitud y altitud), ambientales (temperatura, pluviometría) y derivadas de la gestión de la finca (presión ganadera, estructura de la vegetación, presencia y tipos de pastizal...) influyen en los ensamblajes de hormigas de cada ecosistema (Gaston, 2000; Retana y Cerdá, 2000; Kaspari *et al.*, 2004; Dunn *et al.*, 2009; Bugalho *et al.*, 2011; Vasconcelos *et al.*, 2018; Economo *et al.*, 2018; Heuss *et al.*, 2019).

En el caso particular de las dehesas del norte de Andalucía, las variables que parecen estar más relacionadas con la diversidad de hormigas son la altitud y las temperaturas máximas medias anuales, estando ambas variables correlacionadas entre sí. Existen trabajos previos con hormigas, que relacionan su diversidad con los gradientes de altitud (Olson, 1994; Fisher, 1999; Lessard *et al.*, 2011; Nowrouzi *et al.*, 2016), pero todos ellos comparan lugares cercanos dentro de una misma estructura montañosa. En nuestro caso estamos comparando puntos muy distantes y que no forman parte del mismo macizo montañoso o montaña. Por tanto, podemos presumir que la variación que observamos puede estar altamente influenciada por la temperatura. Este efecto se ha visto en otros trabajos donde se define a la temperatura como uno de los factores determinantes para la actividad y distribución de las especies de hormigas (Hölldobler y Wilson, 1990; Dunn *et al.*, 2009; Prather *et al.*, 2013). Por todo ello, en un escenario de cambio climático, donde se va a producir un incremento progresivo de las



temperaturas (Karl y Trenberth, 2003), se puede generar un cambio en la distribución de especies de hormigas, y debido a los papeles fundamentales que estas juegan en los ecosistemas (Prather *et al.*, 2013), se pueden generar cambios notables en la dehesa.

Relación de las especies de hormigas con el microentorno inmediato a las trampas de caída.

Hemos podido comprobar, como ya se recoge en diferentes trabajos (Luque y Reyes López, 2007; Gibb y Parr, 2013; Queiroz *et al.*, 2013), que el entorno inmediato a las unidades del muestreo puede afectar de manera significativa a la composición de especies de hormigas. De esta manera, la presencia o ausencia de matorral, pastizal o árboles van a ser los principales factores que van a determinar qué grupos de especies ocupan localmente estos microentornos. Además, hemos demostrado, siguiendo la clasificación de grupos funcionales de Roig y Espadaler (2010), que la presencia de árboles incrementa la diversidad de especies de grupos especialistas del frío y sombra, de la madera y especies crípticas. Además, conforme el área cubierta por árboles es mayor; se incrementan los valores de diversidad y el número de especies indicadoras de madurez.

En las zonas de pastizal, por otro lado, abundan los grupos de especialistas de calor y zonas abiertas junto con algunas especies generalistas/oportunistas y especies crípticas propias del pastizal abierto.

Y finalmente, en las zonas de matorral se ha visto una presencia principal de especies de los grupos funcionales de frío y/o sombra, crípticas, y algunas especies de los grupos de calor y zonas abiertas y generalistas/oportunistas con cierta tendencia boscosífilas. Sin embargo, a diferencia de la cobertura de arbolado, el número de especies de hormigas es menor bajo matorral, efecto que se ha visto en otros trabajos, como el de Staab *et al.* (2014).

Bosques de ribera

Los bosques de ribera constituyen ecosistemas que sirven de refugio a numerosas especies y participan en múltiples mecanismos que previenen la erosión y favorecen la preservación del medio (Rios y Bailey, 2006; Lorion y Kennedy, 2009; Marczak *et al.*, 2010). De esta manera,

juegan un papel fundamental en la conservación de la biodiversidad, sobre todo en ecosistemas fragmentados y que sufren presión antrópica (Tockner y Stanford, 2002).

Las hormigas como bioindicadores de calidad ambiental en ecosistemas ribereños.

Se pudo comprobar que existe una relación en cada uno de los sotos muestreados entre los ensamblajes de hormigas y las variables de perturbación: índice QBR (Munné *et al.*, 2003), distancia al municipio grande más cercano (> 25.000 habitantes) y distancia al municipio más cercano (Fornwalt *et al.*, 2003; Alston y Richardson, 2006). De esta manera, se verifica que la diversidad de hormigas constituye en sí una fuente de información respecto al estado de conservación de un bosque de ribera. Además, hemos encontrado algunas especies cuya presencia en estos ecosistemas se relacionan con índices QBR superiores a 80 (bosques de ribera sin alteraciones), como son el caso de *Temnothorax pardoii*, *Temnothorax recendens*, *Temnothorax luteus*, *Temnothorax mediterraneus* y *Myrmica aloba*. Aunque en el caso de *T. luteus* y *T. mediterraneus* se encontraron solamente en sotos dentro del Parque Natural Sierra de Cazorla, Segura y Las Villas (Jaén). Por el contrario, se encontró una especie, *Tetramorium semilaeve*, cuya presencia estaba relacionada con índices QBR bajos. De esta forma, podemos determinar que para los sotos del río Guadalquivir, la diversidad de hormigas y la aparición de ciertas especies bioindicadoras serán reflejo del estado de conservación general del ecosistema.

Factores de sesgo en muestreos de hormigas con trampas de caída

Debido a la importancia y frecuencia de uso de las trampas de caída como sistemas de muestreo para hormigas (Woodcock, 2005; Brown y Matthews, 2016), se vio conveniente estudiar los distintos factores de sesgo que han de considerarse a la hora de realizar este tipo de trabajos. Algunos de estos factores están bien estudiados, como es el caso del tamaño de abertura de la trampa de caída, el uso de cebos o el material



del que están hechas las trampas (Sherley y Stringer, 2016; Knapp *et al.*, 2016; Sheikh *et al.*, 2018). Sin embargo, otros posibles factores de sesgo no están tan estudiados, como son el impacto al escarbar el suelo para colocar las trampas (efecto *digging-in*), la profundidad de las trampas o el efecto de la distancia entre trampas. De esta manera, se abordó el estudio de los factores de sesgo más desconocidos y se profundizó en el análisis de otros más tratados, puesto que en ocasiones se encuentran discrepancias entre estudios.

El efecto *digging-in* en muestreos de trampas de caída para hormigas.

El efecto *digging-in* fue descrito inicialmente en colémbolos (Entognatha: Collembola) por Joosse (1965) y es consecuencia de la perturbación causada al escarbar el suelo para colocar las trampas de caída. Este efecto parece inducir un aumento en las capturas (Joosse, 1965; Greenslade, 1973). Se ha comprobado la existencia de este fenómeno para diferentes taxones de artrópodos, aunque en hormigas se han encontrado resultados contradictorios y algunos autores ponen en duda que tenga el mismo impacto sobre todas las especies (Schirmel *et al.*, 2010; Lasmar *et al.*, 2017).

En esta tesis se demuestra que el efecto *digging-in* induce a una variación en las muestras de hormigas recogidas en función del tiempo de actuación de las trampas (tiempo desde su activación a su recogida). Así se detectó una incidencia sobre las capturas durante las primeras 24 horas, que desaparecía durante el segundo día de muestreo.

En conjunto, los ensamblajes de hormigas, se mostraron sensibles al efecto *digging-in*. Pero al analizar las especies una a una, con el fin de determinar si todas ellas se veían afectadas de la misma manera, se encontró que únicamente eran algunas las que respondían a dicho efecto. De esta manera, *Solenopsis latro* cae con mayor abundancia en las trampas en las primeras horas tras su colocación. En el caso de esta especie, se piensa que este resultado puede deberse a que, al ser de hábitos eminentemente subterráneos (Ohyama *et al.*, 2018), la ruptura de túneles superficiales del nido tras la colocación de las trampas y su inmediata abertura, haga que las obreras salgan confundidas y caigan en las trampas con más facilidad.

Otras especies, como *Temnothorax racovitzai*, *Plagiolepis*

schmitzii o *Aphaenogaster* spp. también se ven influenciadas por el efecto *digging-in*; aunque posiblemente por diferentes causas. Por ejemplo *Aphaenogaster senilis* es una especie oportunista, con gran plasticidad en lo que se refiere al alimento que busca y consume (Caut *et al.*, 2013). Esta característica puede explicar que las capturas de esta especie sean mayores en las primeras horas tras colocar las trampas, cuando las perturbaciones ocasionadas en el medio son más patentes, ya que las obreras se verán atraídas por las posibles nuevas fuentes de alimento.

En las trampas que no se abrieron inmediatamente tras su colocación, sino que se dejaron un tiempo colocadas en campo, pero cerradas, no se encontró una incidencia del efecto *digging-in*. Esto se pudo deber a que los individuos tuvieron tiempo para adaptarse a los cambios en el medio (familiarización). Esta hipótesis ha sido demostrada por autores como Lasmar *et al.* (2017) para el caso de hormigas arborícolas.

Greenslade (1973) encontró que, independientemente del medio que se tratara, en general el efecto *digging-in* inducía mayores capturas tras la colocación de las trampas, declinando posteriormente a medida que permanecían activas. En el presente estudio, al analizar si este efecto podía estar condicionado por el tipo de medio (abierto-pastizal, cerrado-con cobertura de matorral y arbolado), no se encontraron resultados significativos, pero sí una tendencia a que dicho efecto se mostrara o no según el tipo de hábitat. Este resultado es lógico, puesto que la riqueza y ensamblajes de especies se ven fuertemente afectadas por el tipo de medio, en concreto por la cobertura, hecho que queda bien demostrado en la bibliografía (Greenslade y Greenslade, 1977; Andersen, 2018). De esta forma, si las especies se ven afectadas por el efecto *digging-in* y por las características del medio en el que se encuentran, se puede esperar que dependiendo del tipo de medio el efecto *digging-in* aparezca en mayor o menor medida. De cualquier manera, si se quieren evitar los efectos del *digging-in*, sólo hay que diseñar los muestreos de manera que las trampas permanezcan en campo un tiempo suficiente para que dicho efecto desaparezca, que en este estudio ha resultado ser mayor a 24 horas; o bien colocar las trampas algún tiempo antes de activarlas, como también sugiere Greenslade (1973).



Efecto de la profundidad de las trampas de caída en muestreos con hormigas.

Según lo publicado por Pendola y New (2007), globalmente la profundidad de las trampas de caída no afecta al número total de especies de hormigas capturadas. Sin embargo, en esta tesis, sí se registró un mayor número de obreras en las trampas más profundas (Capítulo 5.1 y Capítulo 5.2). Este hecho se traslada igualmente a la composición de las muestras: en las trampas más profundas aparecen distintas especies y en diferente proporción que en las menos profundas (Jiménez-Carmona, Carpintero y Reyes-López 2020b). De esta forma, es probable que en el caso del estudio de Pendola y New (2007) tanto como en esta tesis no se detecte variación en la riqueza de especies capturadas por cada tipo de trampas debido a que se ha llegado a un esfuerzo de muestreo suficiente como para describir la población. Así, en lugares con mayor diversidad es posible que las trampas profundas capturen un mayor número de especies que las menos profundas, con un esfuerzo de muestreo similar (igual número de muestras).

Santos *et al.* (2007), propone que el incremento de la tasa de captura con respecto a la profundidad puede deberse a que la probabilidad de escape de los individuos capturados disminuya con la profundidad de las trampas. No encontramos razones para pensar que esta capacidad de escape dependa del tamaño corporal de las especies, aunque sí hemos encontrado autores que demuestran que la capacidad de trepar por superficies lisas se debe a la morfología de los pretarsos, independientemente del tamaño del individuo (Orivel *et al.*, 2006; Billen *et al.*, 2017). Por tanto la tasa de escape se constituiría como un valor específico de cada especie de hormiga.

En este capítulo también estudiamos el efecto del diámetro de las trampas de caída sobre la captura de especies e individuos. Al contrario que otros autores, usamos el mismo tipo de trampas, con iguales características a diferencia de la profundidad y el diámetro de la boca (Luff, 1975; Abensperg-Traun y Steven, 1995; Work *et al.*, 2002; Borgelt y New, 2005). Encontramos una relación directa del tamaño de la boca de la trampa con el número de especies e individuos capturados, validando los resultados de numerosos autores (Luff, 1975; Abensperg-Traun y Steven, 1995; Work *et al.*, 2002; Koivula *et al.*, 2003; Borgelt y New, 2005; Vockenhuber *et al.*, 2011). Además, comprobamos que para el caso de los distintos tipos de trampas, la composición de las muestras de hormigas puede ser distinta.

Es más, pudimos demostrar que las trampas con tamaño de boca mayores capturaban más individuos de especies más grandes y que el número de estos decrecía con el tamaño de la boca, como ya describen Abensperg-Traun y Steven (1995).

De esta manera, podemos afirmar que usando trampas con mayor diámetro podemos capturar más individuos y especies que con trampas menores. Así mismo, podemos concluir que para la profundidad de la trampa ocurre algo igual: aunque no tenemos constancia empírica de que el número total de especies capturadas vaya a ser distinto, sí se encuentra una tendencia a que haya mayor media de especies capturadas por trampa conforme se incrementa la profundidad. Por tanto, podemos concluir que tanto el tamaño de la boca como la profundidad de las trampas de caída son factores de sesgo para tener en cuenta en los muestreos de hormigas.

Autocorrelación espacial entre las capturas de hormigas en trampas de caída.

Otro de los factores de sesgo para el muestreo con trampas de caída es la distancia mínima entre trampas que no conlleve una similitud entre las muestras de hormigas y, por tanto, un patrón de autocorrelación espacial. En nuestro trabajo, al contrario que otros (Digweed *et al.*, 1995; Ward *et al.*, 2001) que usaron la riqueza en especies, hemos realizado análisis de similitud de las muestras. De esta manera, hemos podido concluir que la distancia mínima de autocorrelación espacial oscila en torno a 5 m para pastizales nitrófilos, como es nuestro caso; lo que viene a confirmar lo ya dicho por King y Porter (2005). Por todo esto, en este trabajo no se ha estudiado lo que sucede a este respecto en distancias en el rango de 2 a 5 m, por lo que no tenemos la certeza de qué ocurre en dicho intervalo. Por tanto, sería importante repetir este estudio considerando estas distancias.



Bibliografía

- Abensperg-Traun M y Steven D (1995) The effects of pitfall trap diameter on ant species richness (Hymenoptera: Formicidae) and species composition of the catch in a semi-arid eucalypt woodland. *Australian Journal of Ecology* 20:282-287.
- Alston KP y Richardson DM (2006) The roles of habitat features, disturbance, and distance from putative source populations in structuring alien plant invasions at the urban/wildland interface on the Cape Peninsula, South Africa. *Biological Conservation* 132:183-198.
- Andersen AN (1997) Using ants as bioindicators: multiscale issues in ant community ecology. *Conservation Ecology* 1.
- Andersen AN (2018) Responses of ant communities to disturbance: five principles for understanding the disturbance dynamics of a globally dominant faunal group. *Journal of Animal Ecology* 88:350-362.
- Billen J, Al-Khalifa MS y Silva RR (2017) Pretarsus structure in relation to climbing ability in the ants *Brachyponera sennaarensis* and *Daceton armigerum*. *Saudi Journal of Biological Sciences* 24:830-836.
- Borgelt A y New TR (2005) Pitfall trapping for ants (Hymenoptera: Formicidae) in mesic Australia: the influence of trap diameter. *Journal of Insect Conservation* 9:219-221.
- Brown GR y Matthews IM (2016) A review of extensive variation in the design of pitfall traps and a proposal for a standard pitfall trap design for monitoring ground-active arthropod biodiversity. *Ecology and Evolution* 6:3953-3964.
- Bugalho MN, Lecomte X, Gonçalves M, Caldeira MC y Branco M (2011) Establishing grazing and grazing-excluded patches increases plant and invertebrate diversity in a Mediterranean oak woodland. *Forest Ecology and Management* 261:2133-2139.
- Caut SS, Barroso Á, Cerdá X, Amor F y Boulay RR (2013) A year in an ant's life: opportunism and seasonal variation in the foraging ecology of *Aphaenogaster senilis*. *Ecoscience* 20:19-27.

- Costa Pérez JC, Martín Vicente Á, Fernández Alés R y Estirado Oliet M (2006) Dehesas de Andalucía : caracterización ambiental. Consejería de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio. Junta de Andalucía, Sevilla.
- Crist TO (2009) Biodiversity, species interactions, and functional roles of ants (Hymenoptera: Formicidae) in fragmented landscapes: a review. *Myrmecological News* 12:3-13.
- Diamé L, Rey J-Y, Vayssières J-F, Grechi I, Chailleux A y Diarra K (2017) Ants: major functional elements in fruit agro-ecosystems and biological control agents. *Sustainability* 10:23.
- Díaz M, Pulido FJ y Marañón T (2003) Diversidad biológica y sostenibilidad ecológica y económica de los sistemas adehesados. *Ecosistemas* 12:1-10.
- Digweed SC, Currie CR, Carcamo HA y Spence JR (1995) Digging out the ‘digging-in effect’ of pitfall traps: influences depletion and disturbance on catches of ground beetles (Coleoptera: Carabidae). *Pedobiologia* 39:561-576.
- Dunn RR, Agosti D, Andersen AN, Arnan X, Bruhl CA, Cerdá X, Ellison AM, Fisher BL, Fitzpatrick MC, Gibb H, Gotelli NJ, Gove AD, Guenard B, Janda M, Kaspari M, Laurent EJ, Lessard J-PP, Longino JT, Majer JD, Menke SB, McGlynn TP, Parr CL, Philpott SM, Pfeiffer M, Retana J, Suarez A V., Vasconcelos HL, Weiser MD y Sanders NJ (2009) Climatic drivers of hemispheric asymmetry in global patterns of ant species richness. *Ecology Letters* 12:324-333.
- Economu EP, Narula N, Friedman NR, Weiser MD y Guénard B (2018) Macroecology and macroevolution of the latitudinal diversity gradient in ants. *Nature Communications* 9:1778.
- Fisher BL (1999) Ant diversity patterns along an elevational gradient in the Réserve Naturelle Intégrale d’Andohahela. *Fieldiana: Zoology* 94:129-147.
- Folgarait P (1998) Ant biodiversity to ecosystem functioning: a review. *Biodiversity And Conservation* 7:1121-1244.
- Fornwalt PJ, Kaufmann MR, Huckaby LS, Stoker JM y Stohlgren TJ (2003)



- Non-native plant invasions in managed and protected ponderosa pine/Douglas-fir forests of the Colorado Front Range. *Forest Ecology and Management* 177:515-527.
- Gaston KJ (2000) Global patterns in biodiversity. *Nature* 405:220-227.
- Gibb H y Parr CL (2013) Does structural complexity determine the morphology of assemblages? An experimental test on three continents (Ed. Fenton B). *PLoS ONE* 8:e64005.
- Greenslade PJM (1973) Sampling ants with pitfall traps: digging-in effects. *Insectes Sociaux* 20:343-353.
- Greenslade PJMM y Greenslade PJMM (1977) Some effects of vegetation cover and disturbance on a tropical ant fauna. *Insectes Sociaux* 24:163-182.
- Hernández Díaz-Ambrona CG (1996) Problemas en la dehesa: la falta de regeneración del arbolado. *Agricultura* 65:50-55.
- Heuss L, Grevé ME, Schäfer D, Busch V y Feldhaar H (2019) Direct and indirect effects of land-use intensification on ant communities in temperate grasslands. *Ecology and Evolution* 9:4013-4024.
- Hölldobler B y Wilson EO (1990) *The Ants*. Belknap Press, Cambridge.
- Hunter ML (2017) Conserving small natural features with large ecological roles: an introduction and definition. *Biological Conservation* 211:1-2.
- Jiménez-Carmona F, Carpintero S y Reyes-López JL (2020a) Ants (Hymenoptera: Formicidae) as surrogates for epigeic arthropods in Northern Andalusian 'dehesas' (Spain). *Sociobiology* 67:201-212.
- Jiménez-Carmona F, Carpintero S y Reyes-López JL (2020b) Ant sampling: the importance of pitfall trap depth as a bias factor. *Entomologia Experimentalis et Applicata*:eea.12965.
- Joose E (1965) Pitfall-trapping as a method for studying surface dwelling Collembola. *Zeitschrift für Morphologie und Ökologie der Tiere* 55:587-596.
- Karl TR y Trenberth KE (2003) Modern Global Climate Change. *Science* 302:1719-1723.

- Kaspari M, Ward PS y Yuan M (2004) Energy gradients and the geographic distribution of local ant diversity. *Oecologia* 140:407-413.
- King JR y Porter SD (2005) Evaluation of sampling methods and species richness estimators for ants in upland ecosystems in Florida. *Environmental Entomology* 34:1566-1578.
- Knapp M, Baranovská E y Jakubec P (2016) Effects of bait presence and type of preservative fluid on ground and carrion beetle samples collected by pitfall trapping. *Environmental Entomology* 45:1022-1028.
- Koivula M, Kotze DJ, Hiisivuori L y Rita H (2003) Pitfall trap efficiency: do trap size, collecting fluid and vegetation structure matter? *Entomologica Fennica* 14:1-14.
- Lasmar CJ, Queiroz ACMM, Rabello AM, Feitosa RM, Canedo-Júnior EO, Schmidt FA, Cuissi RG y Ribas CR (2017) Testing the effect of pitfall-trap installation on ant sampling. *Insectes Sociaux* 64:445-451.
- Leal IR, Bieber AGD, Tabarelli M y Andersen AN (2010) Biodiversity surrogacy: indicator taxa as predictors of total species richness in Brazilian Atlantic forest and Caatinga. *Biodiversity and Conservation* 19:3347-3360.
- Lessard J-P, Sackett TE, Reynolds WN, Fowler DA y Sanders NJ (2011) Determinants of the detrital arthropod community structure: the effects of temperature and resources along an environmental gradient. *Oikos* 120:333-343.
- Lorion CM y Kennedy BP (2009) Relationships between deforestation, riparian forest buffers and benthic macroinvertebrates in neotropical headwater streams. *Freshwater Biology* 54:165-180.
- Luff ML (1975) Some features influencing the efficiency of pitfall traps. *Oecologia* 19:345-357.
- Luque GM y Reyes López J (2007) Effect of experimental small-scale spatial heterogeneity on resource use of a Mediterranean ground-ant community. *Acta Oecologica* 32:42-49.
- Marczak LB, Sakamaki T, Turvey SL, Deguise I, Wood SLR y Richardson



- JS (2010) Are forested buffers an effective conservation strategy for riparian fauna? An assessment using meta-analysis. *Ecological Applications* 20:126-134.
- Martin M (1996) La dehesa. *Agricultura* 762:44-49.
- Munné A, Prat N, Solà C, Bonada N y Rieradevall M (2003) A simple field method for assessing the ecological quality of riparian habitat in rivers and streams: QBR index. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 13:147-163.
- Nakamura A, Catterall CP, House APNN, Kitching RL y Burwell CJ (2007) The use of ants and other soil and litter arthropods as bio-indicators of the impacts of rainforest clearing and subsequent land use. *Journal of Insect Conservation* 11:177-186.
- Natalini F, Alejano R, Vázquez-Piqué J, Cañellas I y Gea-Izquierdo G (2016) The role of climate change in the widespread mortality of holm oak in open woodlands of Southwestern Spain. *Dendrochronologia* 38:51-60.
- Nowrouzi S, Andersen AN, Macfadyen S, Staunton KM, Vanderwal J y Robson SKA (2016) Ant diversity and distribution along elevation gradients in the Australian wet tropics: the importance of seasonal moisture stability. *PLoS ONE* 11:e0153420.
- Ohyama L, King JR y Jenkins DG (2018) Diversity and distribution of *Solenopsis* (Hymenoptera: Formicidae) thief ants belowground. *Myrmecological News* 27:47-57.
- Olson DM (1994) The distribution of leaf litter invertebrates along a Neotropical altitudinal gradient. *Journal of Tropical Ecology* 10:129-150.
- Orivel J, Malherbe MC y Dejean A (2006) Relationships between pretarsus morphology and arboreal life in ponerine ants of the genus *Pachycondyla* (Formicidae: Ponerinae). *Annals of the Entomological Society of America* 94:449-456.
- Pendola A y New TR (2007) Depth of pitfall traps—does it affect interpretation of ant (Hymenoptera: Formicidae) assemblages? *Journal of Insect Conservation* 11:199-201.

- Philpott SM y Armbrecht I (2006) Biodiversity in tropical agroforests and the ecological role of ants and ant diversity in predatory function. *Ecological Entomology* 31:369-377.
- Plieninger T, Pulido FJ y Konold W (2003) Effects of land-use history on size structure of holm oak stands in Spanish dehesas: implications for conservation and restoration. *Environmental Conservation* 30:61-70.
- Poschlod P y Braun-Reichert R (2017) Small natural features with large ecological roles in ancient agricultural landscapes of Central Europe - history, value, status, and conservation. *Biological Conservation* 211:60-68.
- Prather CM, Pelini SL, Laws A, Rivest E, Woltz M, Bloch CP, del Toro I, Ho CK, Kominoski J, Newbold TAS, Parsons S y Joern A (2013) Invertebrates, ecosystem services and climate change. *Biological Reviews* 88:327-348.
- Pulido FJ (1999) Herbivorismo y regeneración de la encina (*Quercus ilex* L.) en bosques y dehesas.
- Pulido F y Picardo Á (2010) Libro verde de la dehesa. Documento para el debate hacia una estrategia ibérica de gestión.
- Queiroz ACM de, Ribas CR y França FM (2013) Microhabitat characteristics that regulate ant richness patterns: the importance of leaf litter for epigeic ants. *Sociobiology* 60:367-373.
- Ramírez Hernández A, Micó Balaguer E y Galante Patiño E (2015) El ecosistema de dehesa como reservorio de diversidad de insectos saproxílicos (Coleoptera y Diptera: Syrphidae) y factores que determinan sus ensambles.
- Retana J y Cerdá X (2000) Patterns of diversity and composition of Mediterranean ground ant communities tracking spatial and temporal variability in the thermal environment. *Oecologia* 123:436-444.
- Ribas CR, Campos RBF, Schmidt FA y Solar RRC (2012) Ants as indicators in Brazil: a review with suggestions to improve the use of ants in environmental monitoring programs. *Psyche: A Journal of Entomology* 2012:1-23.



- Rios SL y Bailey RC (2006) Relationship between riparian vegetation and stream benthic communities at three spatial scales.
- Robin C, Capron G y Desprez-Loustau ML (2001) Root infection by *Phytophthora cinnamomi*. Plant Pathology 50:708-716.
- Roig X y Espadaler X (2010) Propuesta de grupos funcionales de hormigas para la Península Ibérica y Baleares, y su uso como bioindicadores [Proposal of functional groups of ants for the Iberian Peninsula and Balearic Islands, and their use as bioindicators]. Iberomyrmex 2:28-29.
- Sánchez ME, Caetano P, Ferraz J y Trapero A (2002) Phytophthora disease of Quercus ilex in south-western Spain. Forest Pathology 32:5-18.
- Santos SAP, Cabanas JE y Pereira JA (2007) Abundance and diversity of soil arthropods in olive grove ecosystem (Portugal): effect of pitfall trap type. European Journal of Soil Biology 43:77-83.
- Schirmel J, Lenze S, Katzmann D y Buchholz S (2010) Capture efficiency of pitfall traps is highly affected by sampling interval. Entomologia Experimentalis et Applicata 136:206-210.
- Sheikh AH, Ganaie GA, Thomas M, Bhandari R y Rather YA (2018) Ant pitfall trap sampling: an overview. Journal of Entomological Research 42:421-436.
- Sherley G y Stringer I (2016) Invertebrates: pitfall trapping. Inventory and monitoring toolbox: invertebrates. New Zealand Government.
- Staab M, Schuldt A, Assmann T, Bruelheide H y Klein AM (2014) Ant community structure during forest succession in a subtropical forest in South-East China. Acta Oecologica 61:32-40.
- Tockner K y Stanford JA (2002) Riverine flood plains: present state and future trends. Environmental Conservation 29:308-330.
- Underwood EC y Fisher BL (2006) The role of ants in conservation monitoring: if, when, and how. Biological Conservation 132:166-182.
- Vasconcelos HL, Maravalhas JB, Feitosa RM, Pacheco R, Neves KC y Andersen AN (2018) Neotropical savanna ants show a reversed latitudinal gradient of species richness, with climatic drivers reflecting

- the forest origin of the fauna. *Journal of Biogeography* 45:248-258.
- Verdinelli M, Yakhlef S, Cossu C, Pilia O y Mannu R (2017) Variability of ant community composition in cork oak woodlands across the Mediterranean region: implications for forest management. *iForest - Biogeosciences and Forestry* 10:707-714.
- Vockenhuber EA, Scherber C, Langenbruch C, Meißner M, Seidel D y Tschardtke T (2011) Tree diversity and environmental context predict herb species richness and cover in Germany's largest connected deciduous forest. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 13:111-119.
- Ward DF, New TR y Yen AL (2001) Effects of pitfall trap spacing on the abundance, richness and composition of invertebrate catches. *Journal of Insect Conservation* 5:47-53.
- Woodcock BA (2005) Pitfall trapping in ecological studies. *Insect Sampling in Forest Ecosystems*. (Ed. Leather SR) 1st edn. Blackwell Science Ltd, Oxford, UK, pp 37-57.
- Work TT, Buddle CM, Korinus LM y Spence JR (2002) Pitfall Trap Size and Capture of Three Taxa of Litter-Dwelling Arthropods: Implications for Biodiversity Studies. *Environmental Entomology* 31:438-448.

CONCLUSIONES



*“He comprado mi billete con destino por fijar
y dejé la vuelta abierta.
He corrido demasiado y ahora no puedo parar
y mi voz rebota contra el mar.*

lzal

Eco. Teletransporte, 2010.

1. Se ha caracterizado la fauna de hormigas de las dehesas andaluzas, compuesta en su mayor parte por especies generalistas/oportunistas y especies típicas de zonas cálidas y despejadas, entre las que destacan: *Cataglyphis hispanica*, *Messor barbarus*, *Iberoformica subrufa*, *Tapinoma nigerrimum*, *Aphaenogaster iberica*, *Tetramorium semilaeve* y *Tetramorium forte*. En menor proporción aparecen especies de ambientes fríos y de sombra, crípticas y especialistas de la madera.
2. Las hormigas de la dehesa pueden considerarse un excelente grupo subrogado del resto de artrópodos epigeos a nivel de orden. De esta manera, la diversidad de hormigas va a ser un indicador fiable de la diversidad del resto de grupos de artrópodos.
3. Las pequeñas áreas naturales (*small natural features*, SNFs) muestreadas en las fincas de dehesa han demostrado ser lugares de refugio de especies de hormigas que no se encuentran en el biotopo de dehesa propiamente dicho (zonas de pastizal arbolado). Por ello, la conservación de estas zonas y la creación de nuevos espacios similares debe ser un objetivo prioritario para el mantenimiento de la biodiversidad en los ecosistemas de dehesa.
4. Los factores climáticos, como la temperatura máxima y medias anuales, las precipitaciones anuales acumuladas, así como la de los meses de verano; son las variables que mejor describen la diversidad de los ensamblajes de hormigas de las fincas de dehesa.



5. Se ha identificado que la estructura vegetal local de la dehesa afecta a la composición y número de especies de hormigas. De esta manera se pueden identificar grupos de especies típicas de zonas de pastizal, de zonas arboladas y de zonas de matorral.
6. La cobertura de arbolado es un factor determinante de la diversidad local de hormigas en la dehesa: una mayor cobertura no sólo produce un incremento en la riqueza de especies, sino que también afecta a la presencia de especies de grupos funcionales indicadores de madurez.
7. Las hormigas han demostrado ser un buen grupo bioindicador en bosques de ribera. Su diversidad (riqueza de especies, índice de Shannon y equitatividad) se correlaciona con el índice de calidad de bosques de ribera (QBR). Además, la composición de los ensamblajes de hormigas se correlaciona con la distancia a los núcleos urbanos (variable de perturbación). También se ha detectado que la presencia de ciertas especies, como *Temnothorax pardoii*, *Temnothorax recedens* y *Camponotus lateralis*, son indicadoras de buena calidad del ecosistema, al encontrarse sólo en aquellos sotos en los que la media del QBR es más alta. Y, por el contrario, se encontró *Tetramorium semilaeve* en aquellos cuya media del índice QBR era más bajo.
8. Al remover el suelo para colocar la trampa de caída se produce una perturbación (efecto *digging-in*) que induce un cambio en el número de especies de hormigas capturadas y en la composición de estas, durante las primeras 24 horas de muestreo. Sin embargo, usando periodos de muestreo más largos, de 48 horas o superiores, el efecto *digging-in* desaparece. No obstante, de manera general, este efecto no repercutirá de igual forma en todos los hábitats, sino que dependerá de los ensamblajes de hormigas de cada lugar.
9. Se ha comprobado que el tamaño de abertura de las trampas de caída es un factor del que depende directamente el número de especies capturadas y la composición de las muestras. En las trampas de mayor tamaño se incrementa significativamente la captura de especies de hormigas de talla mayor.

10. La profundidad de las trampas de caída ha de considerarse como un factor de sesgo en los muestreos de hormigas, ya que, al incrementarse, se capturan más especies e individuos por trampa y se produce un cambio en la composición de especies. El tamaño de las obreras no se relacionó con una mayor tasa de escape, en contraposición con los resultados obtenidos por otros autores.
11. En los muestreos con trampas de caída la distancia de separación entre trampas es un factor importante para evitar el fenómeno de pseudoreplicación. Con este fin, se ha determinado, que en ecosistemas homogéneos como son pastizales nitrófilos, la distancia mínima de separación deber ser igual o superior a 5 m.

AGRADECIMIENTOS

Llegado un momento como este, en el que terminas un trabajo modesto para la ciencia, pero arduo para ti, te das cuenta de que no llegaste solo; que hubo gente que apareció, ayudó y alivió parte o mucha de esa tarea, por todo ello quiero agradecerse a todos uno por uno.

A mi madre y a mi padre, por muchas razones; por tantas que quizás no tuviera páginas suficientes para agradecerles todo lo que han hecho por mí y ayudado a que llegue hasta aquí.

A mi abuelo, por sus ideas que me marcaron sin saberlo, y enseñarme cómo de grande era antes el campo. A mi hermana y a mis primas, por ser todas tan hermanas. A mis sobrinos, que sin saberlo me ayudaron a aprender otras formas de perder la paciencia. A mi tía y a mi tío, por acompañarme sin reclamarme nada a cambio.

A Sergio, por su ayuda en la corrección y revisión de esta tesis y sobre todo por su paciencia al escucharme, manteniéndose cerca sin dudarle cuando más lo necesité.

A mis amigas y amigos, Pepa, Manoli, Julio, Agustina, José Antonio Álvarez y José Antonio Pérez, por tantos momentos, charlas, risas y por el ánimo que me dieron cuando más lo necesité.

A mis Albas, para las que no encuentro una palabra, ni tan siquiera una frase, que aúne lo que significan para mí. Ambas me han ayudado en diferentes capítulos de esta tesis, ya sea en la revisión, traducción y coautoría. Además, han sido un verdadero apoyo cuando lo he necesitado, por lo que tengo, debo y quiero agradecerse.

A mis compañeras y compañeros del departamento de ecología Pilar, Rafa y Manolo, por su apoyo y por escucharme (o aguantarme).

A todos los compañeros y compañeras del Life Biodehesa que



participaron en los muestreos de las dehesas: Sergio Andicoberry, Manolo Olmo, Rafa Villar (Universidad de Córdoba) y Alma M^a García, Belén Caño, Pedro J. Gómez (IFAPA Córdoba, Junta de Andalucía). También quiero mostrar mi agradecimiento a José Emilio Guerrero, como coordinador del Life Biodehesa, por haber contado conmigo en este proyecto.

A todos los alumnos internos del departamento y otros del grado en biología Tamara Murillo, Daniel Ortega, Belén Vacas, Thabatha Thorne, Nuria Villalobos, Rafa Villafuertes, Ginés Rodríguez, Félix López y Nacho Morales por su participación en los muestreos en campo.

Y por último a mi director Joaquín Reyes y mi codirectora Soledad Carpintero, dos buenos profesionales y personas, que me dieron la oportunidad de trabajar con ellos. Por eso les agradezco enormemente las horas, la paciencia, el esfuerzo y todo lo que aprendí y viví gracias a ellos.

Finalmente, quería agradecer a todos los que estáis aquí y a los que olvidé incluir pero podéis leerlo; vuestro apoyo y el tiempo que me dedicasteis. Y a los que no están, espero mientras estuvieron aquí, haberles demostrado mi gratitud.

