



UNIVERSITÀ DI PARMA

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PARMA

DOTTORATO DI RICERCA IN
" Biologia Evoluzionistica ed Ecologia "

CICLO XXXIV

Il ruolo della formica *Tetramorium
immigrans* (Hymenoptera: Formicidae) nel
monitoraggio delle aree verdi urbane e nella
struttura di comunità: indagini eco-
etologiche e sistematiche

Coordinatore:
Chiar.mo Prof. Pierluigi Viaroli

Tutore:
Chiar.ma Prof.ssa Alessandra Mori
Co-Tutore:
Chiar.mo Prof. Donato A. Grasso

Dottoranda: Martina Ghizzoni

Anni Accademici 2018/2019 – 2020/2021

Il Dottorato in Biologia Evoluzionistica ed Ecologia - XXXIV ciclo è in convenzione tra le Università di Ferrara, Firenze e Parma (sede amministrativa).

ABSTRACT	Pag. 6
1. INTRODUZIONE	Pag. 12
1.1 L'urbanizzazione	Pag. 13
1.1.1 Le aree verdi urbane	Pag. 17
1.2 La biodiversità urbana	Pag. 19
1.2.1 I bioindicatori	Pag. 19
1.2.2 La mirmecofauna come modello di studio	Pag. 22
1.2.3 I fattori che modellano la comunità delle formiche	Pag. 24
1.3 Il complesso <i>Tetramorium caespitum</i>	Pag. 31
1.3.1 Inquadramento sistematico	Pag. 31
1.3.2 Storia del Complesso <i>Tetramorium caespitum</i>	Pag. 32
1.3.3 Le formiche del complesso <i>Tetramorium caespitum</i> nelle aree urbane	Pag. 33
2. SCOPO	Pag. 36
3. RUOLO DI <i>Tetramorium immigrans</i> COME BIOINDICATORE IN AREE VERDI URBANE	Pag. 38
3.1. Introduzione	Pag. 39
3.1.1 Le aree verdi urbane di Parma	Pag. 39
3.2 Scopo	Pag. 41
3.3 Materiali e Metodi	Pag. 42
3.3.1 Area di studio	Pag. 42
3.3.2 Selezione delle metodologie di campionamento	Pag. 46
3.3.3 Pitfall trapping	Pag. 47
3.3.4 Baiting	Pag. 54
3.3.4.4 Scan sampling	Pag. 57
3.3.4.7 Continuous sampling	Pag. 60
3.5 Risultati	Pag. 63
3.5.1 Sforzo di campionamento	Pag. 63
3.5.2 Valutazione della dominanza numerica	Pag. 64
3.5.3 Valutazione della dominanza comportamentale	Pag. 72
3.5.3.1 Scan sampling	Pag. 72
3.5.3.2 Continuous sampling	Pag. 81
3.6 Discussione	Pag. 86
4. IDENTIFICAZIONE DELLE SPECIE DEL COMPLESSO <i>Tetramorium caespitum</i>: INDAGINI SISTEMATICHE E PROTOCOLLO DI RICONOSCIMENTO	Pag. 94
4.1 Introduzione	Pag. 95
4.2 Scopo	Pag. 96
4.3 Materiali e Metodi	Pag. 97
4.3.1 Gestione dei campioni	Pag. 97
4.3.2 Protocollo di identificazione delle specie del complesso <i>Tetramorium caespitum</i>	Pag. 97

4.3.3 Pitfall	Pag. 100
4.3.4 Bait	Pag. 103
4.3.5 Organizzazione dei dati	Pag. 104
4.4 Risultati	Pag. 105
4.4.1 Sforzo di riconoscimento	Pag. 105
4.4.2 Pitfall	Pag. 105
4.4.2 Bait	Pag. 109
4.4 Discussione	Pag. 110
5. COMPETIZIONE PER LE RISORSE IN <i>Tetramorium immigrans</i>	Pag. 113
5.1 Introduzione	Pag. 114
5.1.1 Competizione per la risorsa alimentare	Pag. 114
5.1.2 Aggressività interspecifica	Pag. 115
5.2 Scopo	Pag. 117
5.3 Materiali e Metodi	Pag. 118
5.3.1 Scelta delle specie modello	Pag. 118
5.3.2 Esperimenti di competizione alimentare	Pag. 121
5.3.2.1 Organizzazione e mantenimento delle colonie sperimentali	Pag. 121
5.3.2.2 Apparato sperimentale	Pag. 121
5.3.2.3 Protocollo sperimentale	Pag. 123
5.3.2.4 Piano sperimentale	Pag. 123
5.3.2.5 Organizzazione dei dati	Pag. 124
5.3.2.6 Analisi statistiche	Pag. 124
5.3.3 Esperimenti di aggressività	Pag. 126
5.3.3.1 Organizzazione e mantenimento delle colonie sperimentali	Pag. 126
5.3.3.2 Apparato sperimentale	Pag. 127
5.3.3.3 Protocollo sperimentale	Pag. 128
5.3.3.4 Piano sperimentale	Pag. 129
5.3.3.5 Analisi video	Pag. 130
5.3.3.6 Organizzazione dei dati	Pag. 132
5.3.3.7 Analisi statistiche	Pag. 133
5.4 Risultati	Pag. 137
5.4.1 Esperimenti di competizione alimentare	Pag. 137
5.4.2 Esperimenti di aggressività	Pag. 143
5.5 Discussione	Pag. 157
6. UTILIZZO DI STRUMENTI DA PARTE DI <i>Tetramorium immigrans</i>	Pag. 164
6.1 Introduzione	Pag. 165
6.1.1 Definizione di uso di strumenti	Pag. 165
6.1.2 Uso di strumenti negli invertebrati	Pag. 168
6.1.3 Uso di strumenti nelle formiche	Pag. 169
6.2 Scopo	Pag. 172
6.3 Materiali e Metodi	Pag. 173

6.3.1 Scelta delle specie modello	Pag. 173
6.3.2 Organizzazione e mantenimento delle colonie sperimentali	Pag. 174
6.3.3 Esperimenti di confronto tra specie simpatriche	Pag. 175
6.3.3.1 Apparato sperimentale	Pag. 175
6.3.3.2 Protocollo sperimentale	Pag. 177
6.3.3.3 Piano sperimentale	Pag. 178
6.3.3.4 Organizzazione dei dati.....	Pag. 179
6.3.3.5 Analisi statistiche	Pag. 179
6.3.4 Esperimenti di indagine sulla funzione adattativa dell'uso di strumenti in <i>Tetramorium immigrans</i>	Pag. 181
6.3.4.1 Apparato sperimentale	Pag. 181
6.3.4.2 Protocollo sperimentale	Pag. 182
6.3.4.3 Piano sperimentale	Pag. 183
6.3.4.4 Organizzazione dei dati	Pag. 183
6.3.4.5 Analisi statistiche	Pag. 184
6.5 Risultati	Pag. 186
6.5.1 Esperimenti di confronto tra specie simpatriche	Pag. 186
6.5.2 Esperimenti di indagine sulla funzione adattativa dell'uso di strumenti in <i>Tetramorium immigrans</i>	Pag. 191
6.6 Discussione	Pag. 197
7. CONCLUSIONI GENERALI	Pag. 201
8 BIBLIOGRAFIA	Pag. 210
9. APPENDICE	Pag. 231
10. RINGRAZIAMENTI	Pag. 244

ABSTRACT

Le formiche del complesso *Tetramorium caespitum* sono tra le specie europee più abbondanti e distribuite in diversi tipi di ambienti, compreso quello urbano. Una recente revisione sistematica ha evidenziato come questo complesso sia costituito da specie morfologicamente molto simili, ma distinguibili con analisi morfometriche e genetiche. Lo studio ha però analizzato pochi campioni provenienti dall'Italia e la situazione italiana necessita, perciò, di indagini più approfondite. Inoltre, a livello globale, sono scarse le informazioni sull'ecologia e sugli adattamenti di queste specie all'*habitat* urbano. Dunque, lo scopo del mio progetto di Dottorato è quello di indagare la presenza e la distribuzione delle specie del complesso *T. caespitum* in ambiente urbano, evidenziando gli adattamenti che le rendono competitive nei confronti di altre specie di formiche simpatriche. Il progetto si articola in 3 moduli di ricerca: 1) Le specie del complesso *T. caespitum* nel monitoraggio delle aree verdi di Parma; 2) Presenza e distribuzione delle specie italiane del complesso *T. caespitum* in ambiente urbano; 3) Eto-ecologia e adattamenti all'ambiente urbano. Per il primo modulo è stato svolto un confronto delle comunità della mirmecofauna urbana in due differenti categorie di area verde, denominate "aree verdi" e i "piazzi verdi". Queste categorie si sono principalmente distinte per la diversa percentuale di superficie erbosa in esse presente, maggiore nelle prime rispetto ai secondi. Lo scopo è stato quello di valutare l'effetto della tipologia delle aree verdi urbane sulle comunità delle formiche e sulle specie del complesso *T. caespitum*. Sono state utilizzate le *pitfall traps* per censire la distribuzione e l'abbondanza delle specie delle formiche, col fine di stimarne la dominanza numerica. Parallelamente, con le *bait* sono stati raccolti dati comportamentali nell'ambito della competizione per le risorse alimentari, conducendo *scan sampling* per registrare le abbondanze specifiche e *focal sampling* per osservare le interazioni interspecifiche. In questo caso, il fine è stato quello di stimare la dominanza comportamentale mediante il calcolo di indici comportamentali (*Discovery Ability Index*; *Monopolisation Index*). I risultati hanno mostrato come vi siano molte più specie di formiche all'interno delle aree verdi rispetto ai piazzali verdi. Questo potrebbe essere associato a una diversa ricchezza in *microhabitat* tra le due categorie, grazie ai quali le aree verdi supportano una comunità più complessa e variegata. In generale, le formiche del complesso *T. caespitum* sono le più frequenti e abbondanti, anche se la loro dominanza numerica diminuisce passando dalle aree verdi ai piazzali verdi. Inoltre, queste formiche presentano alti valori per entrambi gli indici comportamentali, suggerendo una prima indicazione sulle loro strategie

competitive all'interno delle comunità. Per quanto riguarda il secondo modulo, con l'obiettivo di riconoscere quali specie del complesso fossero presenti nelle aree verdi di Parma, è stato sviluppato un efficace protocollo di riconoscimento tassonomico. La metodologia ha impiegato l'uso di misurazioni morfometriche a stereomicroscopio con l'utilizzo delle poche chiavi dicotomiche esistenti. I risultati ottenuti hanno identificato *T. immigrans* come unica specie presente. Infatti, quest'ultima è considerata la meglio adattata agli *habitat* urbanizzati. È stato osservato, dagli studi in campo, che la grande abilità di monopolizzazione di *T. immigrans* non è stata accompagnata da una spiccata aggressività. Dunque, lo scopo del terzo modulo è stato quello di studiare gli adattamenti eto-ecologici che rendono *T. immigrans* vincente nella competizione per le risorse. Sono stati condotti esperimenti in laboratorio, individuando 2 ambiti di studio. Il primo ha valutato la capacità di monopolizzazione di *T. immigrans* con esperimenti di "competizione per la risorsa alimentare", confrontandola con 3 specie di formiche simpatriche ed eliminando la dominanza numerica, ponendo a parità numerica i frammenti coloniali. Sono stati effettuati *scan sampling* per registrare le abbondanze specifiche alla *bait* e *focal sampling*, osservando le interazioni interspecifiche. I risultati hanno mostrato che *T. immigrans* ha monopolizzato quasi tutte le *bait*, suggerendo che la sua strategia per la competizione delle risorse non si basa solo sulla dominanza numerica, ma che intervenga anche una strategia di tipo comportamentale, legata probabilmente a un rapido reclutamento. Nel secondo ambito, sono stati valutati i livelli di aggressività di *T. immigrans* in "esperimenti di aggressività" 1 contro 1, impiegando le *fighting box*. Sono stati condotti scontri intraspecifici e interspecifici. L'obiettivo è stato quello di osservare se la risposta aggressiva di *T. immigrans* potesse variare in funzione della specie avversaria. Dagli esperimenti è stato definito l'etogramma della risposta aggressiva di *T. immigrans*, calcolando, inoltre, un indice di aggressività. I risultati hanno mostrato come *T. immigrans* non sia una specie marcatamente aggressiva ma che, in funzione del comportamento dall'opponente, sappia modulare la propria risposta. Nel terzo modulo sono compresi anche gli esperimenti condotti in laboratorio con lo scopo di indagare il possibile uso di strumenti da parte di *T. immigrans*. Infatti, dalle osservazioni in campo è emerso che solo *T. immigrans* portava detriti naturali sulla *bait*. Sono stati individuati due ambiti di studio. Nel primo sono stati svolti esperimenti di "confronto tra specie simpatriche", con i quali, nell'ambito del foraggiamento alla risorsa alimentare, è stato indagato se anche altre specie potessero usare gli strumenti come *T. immigrans*. Inoltre, è stato osservato se *T. immigrans* potesse avere una preferenza per strumenti di origine naturale o artificiale. Sono stati condotti degli *scan sampling* con i quali è stato registrato il numero di operaie che portavano gli strumenti alla *bait*, mentre a fine esperimento è stato contato il

numero totale degli strumenti alla *bait*, considerando anche la tipologia di strumento. I risultati hanno mostrato che *T. immigrans* è la specie che, fra tutte, usa in modo maggiore gli strumenti e che utilizza tutte le tipologie di strumento, mostrando una preferenza per i granelli di terra. Per il secondo ambito sono stati svolti esperimenti sulla “funzione adattativa dell’uso di strumenti in *T. immigrans*” con l’obiettivo di studiare le finalità di questo comportamento. È stato ipotizzato che l’uso di strumenti potesse essere associato al comportamento di *burying*, già studiato in altre specie di formiche quando vogliono conservare la risorsa alimentare per sfruttarla in un secondo momento. A tal fine, sono stati confrontati, separatamente, frammenti coloniali di *T. immigrans* affamati e non affamati. Come per gli esperimenti precedenti, sono stati effettuati gli stessi *scan sampling* e il conteggio finale degli strumenti. I risultati non hanno supportato l’ipotesi iniziale, pertanto, si rendono necessari ulteriori studi per indagare quale sia la funzione adattativa di questo comportamento. In conclusione, la ricerca di base qui condotta ha fornito informazioni che, in futuro, potranno avere riscontri anche applicativi. Per esempio, il monitoraggio della biodiversità urbana in funzione delle diverse categorie di area verde non fornirebbe solo informazioni sulle comunità presenti, ma, nell’ottica di una gestione sostenibile del verde pubblico, restituirebbe conoscenze anche su quale tipologia di area verde preferire e implementare per garantire la conservazione della biodiversità in *habitat* urbano. In questo contesto, le specie del complesso *T. caespitum* potrebbero diventare il target principale del monitoraggio, in quanto ubiquitarie, abbondanti e rappresentative della propria comunità. In linea generale, questo è il primo studio italiano focalizzato sulle specie del complesso *T. caespitum* e, precisamente, su *T. immigrans*. Pertanto, i risultati ottenuti pongono le basi per progettare futuri studi che permettano, da una parte, di mappare la distribuzione delle specie del complesso *T. caespitum* in altri contesti urbani e extraurbani in Italia, e, dall’altra, di approfondire le conoscenze sugli adattamenti eto-ecologici di queste specie in diversi tipi di ambiente.

The ants of the *Tetramorium caespitum* complex are among the most abundant European species and are distributed in many environments, including the urban one. A recent systematic review has shown that this complex is made up of species that are morphologically very similar but can be distinguished by morphometric and genetic analyses. However, the study analysed only few samples from Italy, and, for this reason, the Italian situation needs further investigation. Moreover, at a global level, there is little information on the behavioural -ecology and adaptations of these species to urban habitats. Therefore, my Ph.D. project aims to investigate the presence and distribution of the species of the *T. caespitum* complex in urban

environments, highlighting the adaptations that make them competitive with other sympatric ant species. The project is divided into three research modules: 1) The species of the *T. caespitum* complex in the monitoring of green areas in Parma; 2) The presence and distribution of Italian species of the *T. caespitum* complex in urban environments; 3) Etho-ecology and adaptations to the urban environment. For the first module, a comparison between urban ant communities of two different categories of green areas, called "green areas" and "green squares", was carried out. The two categories were mainly distinguished by the different percentage of grass surface present in them, which was higher in the former than in the latter. The aim was to evaluate the effect of the type of green areas both on ant communities and on the *T. caespitum* complex species. Pitfall traps were used to census the distribution and abundance of ant species to estimate their numerical dominance. At the same time, baits were used to collect behavioural data on the competition for food resources, conducting scan sampling to record the abundance of ants, and focal sampling to record interspecific interactions. In this case, the aim was to estimate behavioural dominance through the calculation of behavioural indices (Discovery Ability Index; Monopolisation Index). Results showed that there were many more species of ants inside the green areas than in the green squares. This could be associated with a different richness in microhabitats between the two categories, whereby green areas support a more complex and diverse community. In general, ants of the *T. caespitum* complex were the most frequent and abundant, although their numerical dominance decreased when moving from green areas to green squares. Moreover, these ants presented high values for both behavioural indices, providing preliminary information on their competitive strategies within the communities. For the second module, an effective identification protocol was developed to identify which species of the complex were present in Parma green areas. The methodology employed morphometric measurements using a stereoscope and the few existing dichotomous keys. Results identified *T. immigrans* as the only species present. Indeed, the latter is considered to be the best adapted to urban habitats among *T. caespitum* complex species. In the field study, *T. immigrans* resulted very skillful at monopolising food but not thanks to its aggressiveness. Therefore, the third module aimed to study the etho-ecological adaptations that make *T. immigrans* successful in the competition for resources. Two sets of laboratory experiments were carried out. The first evaluated the monopolising ability of *T. immigrans* in "competition for food resource" experiments, comparing it with 3 sympatric ant species and eliminating numerical dominance by placing colonial fragments at numerical parity. Scan sampling was carried out to record bait-specific abundances and focal sampling to record interspecific interactions. Results showed that *T.*

immigrans monopolised almost all the baits, suggesting that its strategy for competing for resources was not based on numerical dominance alone, but that a behavioural strategy was also involved, relying on a rapid recruitment. In the second area, aggression levels of *T. immigrans* were assessed in 1-on-1 "aggression experiments" using fighting boxes. Intraspecific and interspecific fights were conducted. The aim was to observe whether the aggressive response of *T. immigrans* could vary according to the opponent species. From the experiments, the ethogram of the aggressive response of *T. immigrans* was defined and an aggression index was calculated. Results showed that, in general, *T. immigrans* did not behave aggressively, but that it modulated its response according to the behaviour of its opponent. The third module also included experiments to investigate the possible use of tools by *T. immigrans*. Indeed, field observations showed that only *T. immigrans* carried natural debris on the bait. Two sets of experiments were identified. In the first, "comparison of sympatric species" experiments were carried out, whereby it was investigated whether other species could also use tools like *T. immigrans* when foraging at the food source. In addition, it was observed whether *T. immigrans* might have preference for instruments of natural or artificial origin. Scan sampling was carried out and the number of workers bringing tools to the bait was recorded, while, at the end of the experiment, the total number of each type of tools was counted. Results showed that *T. immigrans* used more tools than the other species and that it was the only one that used all types of tools, showing a preference for soil debris. The second set of experiments was carried out on the "adaptive function of tool use in *T. immigrans*" to study why it performed this behaviour. The hypothesis was that the use of tools could be associated with burying behaviour, which has already been studied in other ant species when they want to conserve the food resource for later use. Colonial fragments of hungry and not hungry *T. immigrans* compared separately. As before, scan sampling and the final count of tools were performed. Results did not support the hypothesis and, therefore, further studies are needed to investigate the adaptive function of this tool use. In conclusion, the basic research carried out here has provided preliminary information that may also have application implications in the future. For example, urban biodiversity monitoring according to different categories of green spaces would not only provide information on their ant communities, but would also provide knowledge on which type of green area should be preferred and implemented for sustainable management purposes, as biodiversity conservation. In this context, *T. caespitum* complex species could be the main target in monitoring, as they are ubiquitous, abundant and representative of their communities. In general, this is the first Italian study on *T. caespitum* complex and, precisely, on *T. immigrans*. Therefore, the results obtained lay the foundations for planning studies aimed,

on one hand, to map the Italian distribution of *T. caespitum* complex species and, on the other hand, to deepen the knowledge on the behavioural ecology of these species in different ecosystems.

Cap1 ~ INTRODUZIONE

1.1 L'urbanizzazione

Dare una definizione univoca del processo di urbanizzazione non è semplice. Una prima definizione di urbanizzazione descrive il fenomeno come un **processo di concentrazione della popolazione, il quale procede sia attraverso una moltiplicazione dei centri di aggregazione delle popolazioni, ovvero le città, e sia mediante l'aumento delle dimensioni dei singoli centri** (Tisdale, 1941). Una definizione più recente descrive l'urbanizzazione come la **modificazione di un ecosistema per sostenere elevate densità di popolazioni umane e le loro attività** (Gaston, 2010). In questa seconda definizione si fa ancora riferimento a un aumento di concentrazione delle popolazioni umane in punti specifici del territorio, ovvero le città, ma in questo caso, rispetto alla definizione precedente, è stato introdotto il concetto di modificazione degli ecosistemi. Infatti, l'urbanizzazione può essere generalmente definita come un grande **cambiamento globale che induce modifiche complesse e multiple dei paesaggi e degli ecosistemi** (Gippet *et al.*, 2017; Cordonnier *et al.*, 2019a) ed è perciò considerata come uno dei più grandi processi di trasformazione degli ambienti e della società (Beninde *et al.*, 2015; Melliger *et al.*, 2017). Questo fenomeno è solitamente associato a processi legati alle attività umane, le quali a livello globale convertono a ritmi elevati e su ampia scala i territori da naturali in urbani, comportando la perdita di “*key habitat*” (Schwarz *et al.*, 2017). Ad esempio, le aree urbane sono caratterizzate dalla trasformazione di aree vegetate in aree edificate, nonché dalla creazione di vaste reti di infrastrutture per i trasporti di merci e persone e dall'intensificazione delle attività agricole alle periferie delle città; mediante questo processo le popolazioni umane consumano le risorse naturali incrementando demograficamente (Seto *et al.*, 2011; ISTAT, 2017; Gippet *et al.*, 2017; Johnson & Munshi-South, 2017; Cordonnier *et al.*, 2019a; Balbi *et al.*, 2021). Globalmente, le aree urbanizzate ricoprono solo il 4% della superficie terrestre (UNDP *et al.*, 2000), meno dello 0.5% del totale delle terre emerse (Ives *et al.*, 2016); ciò nonostante, la società umana sta subendo un drastico e veloce passaggio dalla vita rurale alla vita urbana. Infatti, se nel 1950 solamente il 30% della popolazione mondiale occupava le aree urbane, il tasso è cresciuto in maniera talmente elevata che oggi, questa percentuale si aggira attorno al 55 % (United Nation, 2019), ed è destinata ad aumentare nei prossimi 50 anni (Grimm *et al.*, 2008). Si prevede infatti che entro il 2050 circa i due terzi della popolazione mondiale, ovvero il 68%, (stima secondo United Nation, 2019) vivrà nelle zone urbane (Burks & Philpott, 2017; Fiorillo *et al.*, 2018; Braschler *et al.*, 2021). Dunque, l'urbanizzazione sta determinando, con una velocità senza precedenti, un profondo cambiamento a livello globale per quanto concerne sia i paesaggi naturali e sia gli ecosistemi,

tanto da essere considerata la principale minaccia per la biodiversità (Buczowski & Richmond 2012; Xun *et al.*, 2014; Aronson *et al.*, 2017; Jokimäki *et al.*, 2018; Gippet *et al.*, 2017; Cordonnier *et al.*, 2020a; Rocha & Fellowes, 2020; Fenoglio *et al.*, 2021). In generale, sono molteplici i modi con i quali l'uomo influenza gli ecosistemi e la biodiversità attraverso il processo di urbanizzazione del territorio e numerosi studi di ecologia urbana hanno riportato dati riguardanti gli impatti negativi di questo fenomeno. Tali impatti possono essere identificati attraverso una serie di processi i quali possono alterare gli ambienti abiotici e biotici nel tempo e nello spazio in modo diretto e/o indiretto (Alberti *et al.*, 2003; Johnson & Munshi-South, 2017, Braschler *et al.*, 2021). In generale, i **cambiamenti diretti**, che modificano l'**ambiente biotico**, includono fenomeni quali la modificazione del suolo e la riduzione degli *habitat*, la frammentazione e l'insediamento di nuove specie animali e vegetali, alloctone e/o invasive (Wu, 2014; Gippet *et al.*, 2017; Fenoglio *et al.*, 2021). La **modificazione della copertura del suolo** avviene principalmente tramite sostituzione, completa o parziale, della vegetazione nativa con superfici pavimentate (strade, marciapiedi, edifici, etc.) e piante esotiche (colture e/o piante ornamentali); questo porta a una forte semplificazione della struttura della vegetazione nelle aree urbane e a una conseguente perdita di *habitat* e biodiversità (Heterick *et al.*, 2013; Fenoglio *et al.*, 2021). L'**alterazione delle caratteristiche fisiche dell'habitat** è invece una conseguenza diretta delle differenti modalità di gestione del suolo che si possono riscontrare nell'ambiente urbano, e che alterano fenomeni quali l'albedo e la conduttività termica del suolo. Queste alterazioni, unite alla rimozione della vegetazione, determinano un generale aumento delle temperature (Angilletta *et al.*, 2007; Dousset *et al.*, 2011). La **frammentazione** è uno dei fenomeni principali che caratterizzano l'urbanizzazione e determina una modificazione e una perdita degli *habitat* esistenti all'interno del contesto urbano (Jenerette & Potere, 2010; Santos, 2016; Fenoglio *et al.*, 2021). Tra i principali effetti si ha la riduzione degli *habitat* e di conseguenza un loro progressivo isolamento che impatterà negativamente su quelle specie che necessitano di ampi areali per la loro sopravvivenza. Indirettamente, la riduzione degli areali porterà a una diminuzione delle dimensioni delle popolazioni delle specie coinvolte con conseguente riduzione del flusso genico e a un calo della *fitness* (Goddard *et al.*, 2010; Jenerette & Potere, 2010; Santos, 2016). La frammentazione, inoltre, causa un aumento dell'effetto margine che porta a modificazioni delle caratteristiche fisiche e microclimatiche dell'ambiente, alterando così la superficie idonea alla sopravvivenza delle diverse specie (Clarke *et al.*, 2008). Per questo motivo, la frammentazione è considerata una delle principali cause di estinzione delle specie (Buczowski & Richmond, 2012). Infine, l'**invasione e la diffusione di specie alloctone** è favorita da tutte quelle attività introdotte con

l'urbanizzazione come il commercio e il trasporto delle merci. Il disturbo antropico determina, infatti, la formazione di *habitat* che risultano spesso attrattivi per specie tipicamente generaliste in grado di adattarsi agli ambienti urbani; in particolare, le specie alloctone risultano favorite dal minor numero di predatori naturali e competitori che si riscontrano all'interno delle aree urbane. Questo si traduce in una forte omogeneizzazione delle comunità biologiche e in un declino indiretto dell'unicità biologica degli ecosistemi locali (Blair, 2001; Buczkowski & Richmond, 2012; Johnson & Munshi-South, 2017; Fenoglio *et al.*, 2020; Fenoglio *et al.*, 2021). Per quanto riguarda i **cambiamenti indiretti**, questi ultimi coinvolgono l'**ambiente abiotico** e consistono in una modificazione dell'ambiente fisico e chimico. Alcuni dei cambiamenti più evidenti all'ambiente fisico comportano una maggiore copertura superficiale impervia (come edifici e strade), temperature più elevate e alterazione nell'idrologia delle zone urbane e rurali (Fenoglio *et al.*, 2021). Infatti, un fenomeno molto comune nelle zone urbanizzate dovuto all'innalzamento della temperatura e, correlato alla cementificazione delle superfici, è il fenomeno delle **isole di calore** (*heat island effect*), ovvero zone localizzate interne ai centri urbani dove la temperatura è maggiore rispetto alle zone circostanti (Angilletta *et al.*, 2007; Wibowo & Rustanto, 2013; Livesley *et al.*, 2016; Gippet *et al.*, 2017; Johnson & Munshi-South, 2017; Fenoglio *et al.*, 2021). È stato infatti dimostrato che vi può essere un aumento di ben 12° C nelle zone interne alle aree urbane rispetto alla temperatura registrata nelle zone adiacenti i confini cittadini (Fenoglio *et al.*, 2021). Inoltre, la creazione e l'espansione degli agglomerati urbani porta a un **incremento dell'inquinamento idrico, del suolo, atmosferico, acustico e luminoso** (McIntyre *et al.*, 2001; Clarke *et al.*, 2008; Uno *et al.*, 2010; Gippet *et al.*, 2017; Johnson & Munshi-South, 2017; Fenoglio *et al.*, 2021). Ad esempio, l'aumento della quantità degli inquinanti nel suolo e nell'acqua favorisce la selezione di specie che tollerano meglio queste sostanze, causando, di conseguenza, cambiamenti nella composizione delle comunità (Knapp *et al.*, 2009).

Di seguito è riportato uno schema dei cambiamenti diretti e indiretti e dei comparti sui quali agiscono (**Fig.1**).

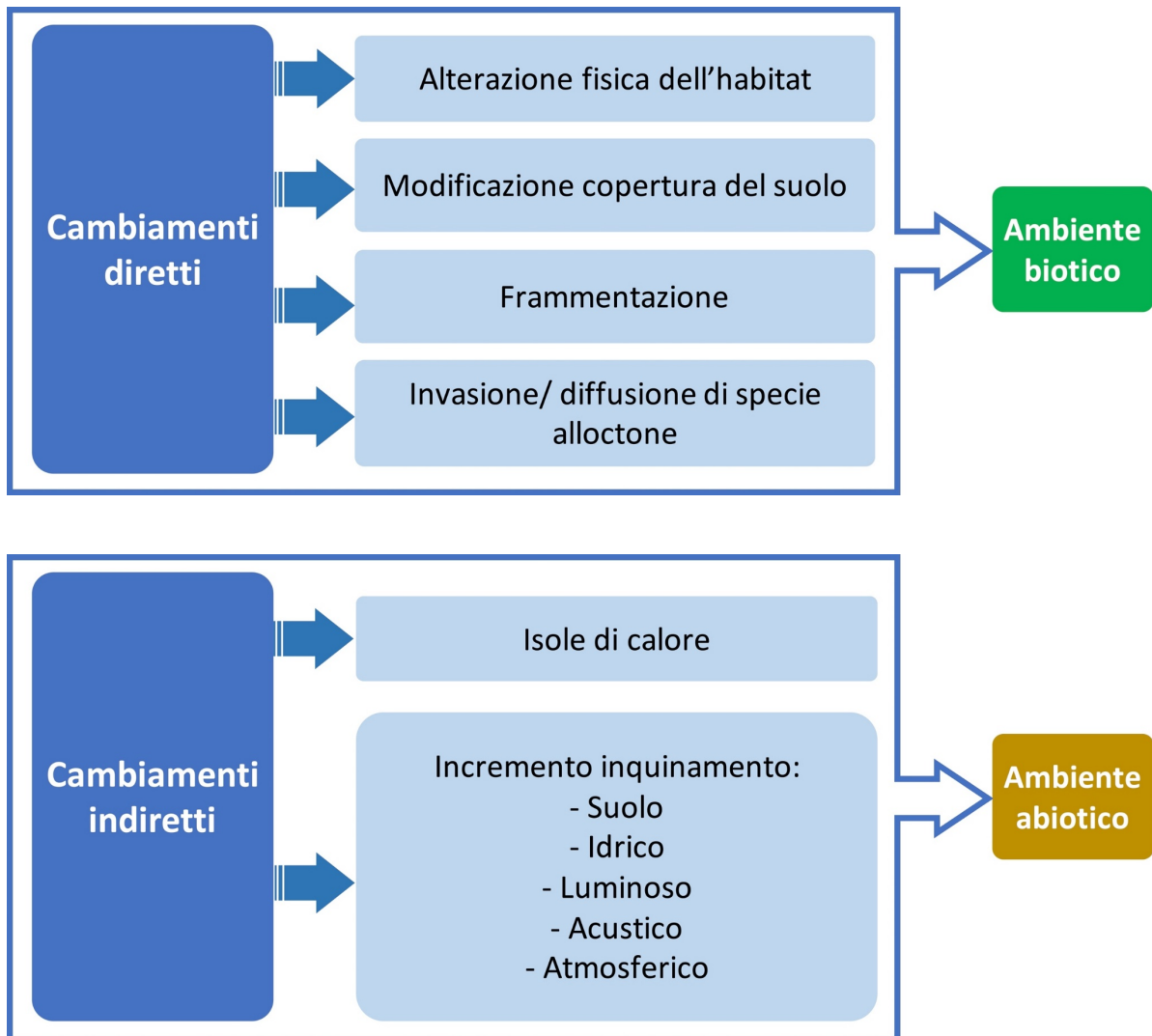


Fig.1 Rappresentazione schematica dei cambiamenti diretti e indiretti e delle modificazioni che apportano all'ambiente biotico e abiotico.

Globalmente, la maggior parte degli studi svolti in ambiente urbano si sono concentrati sull'impatto negativo che l'urbanizzazione procura agli ecosistemi e alla biodiversità (Beninde *et al.*, 2015), in quanto le città, essendo per loro natura ambienti eterogenei, complessi e dinamici (Grimm *et al.*, 2008), registrano di conseguenza condizioni biotiche e abiotiche alterate (Kuttler, 2008), le quali possono manifestarsi come cambiamenti nella composizione e nella struttura delle comunità naturali (Schwarz *et al.*, 2017). Nonostante le aree urbane siano comunemente ritenute zone povere di specie, in realtà possono permettere la creazione e il mantenimento di un'ampia varietà di *habitat* i quali, sfumando da contesti fortemente modificati ad ambienti quasi naturali, come le cosiddette aree verdi urbane, possono giocare un ruolo importante nella conservazione della biodiversità, ospitando un elevato numero di specie tra le quali anche specie rare e minacciate (Niemelä, 1999; Beninde *et al.*, 2015; Aronson

et al., 2017; Braschler *et al.*, 2021). Di conseguenza, le città possono diventare centri importanti per la conservazione della biodiversità nativa, ma solamente attraverso un'attenta attività di gestione e pianificazione per la conservazione degli spazi verdi urbani al loro interno (Aronson *et al.*, 2017). Infatti, gli spazi verdi urbani sono importanti sia da un punto di vista naturale, per lo sviluppo dell'ecologia urbana, e sia come componente culturale ed economica, influenzando in modo positivo il benessere umano (Mitchell & Popham, 2008; Tian & Wang, 2014). Dunque, comprendere, misurare e sostenere la biodiversità urbana è di primaria importanza sia da un punto di vista conservazionistico e sia da un punto di vista sociale, in quanto la conservazione della biodiversità ha implicazioni uniche anche sul benessere umano (Miller, 2005; Fuller *et al.*, 2007; Goddard *et al.*, 2010).

1.1.1 Le aree verdi urbane

Sebbene l'urbanizzazione alteri le proprietà biotiche e abiotiche degli ecosistemi, rappresentando una tra le più gravi minacce alla biodiversità, questo processo può essere in parte mitigato dalle aree verdi urbane, le quali assumono un ruolo di rilevanza all'interno delle città (Aronson *et al.*, 2017). In generale, le aree verdi sono state definite come **terreni aperti e non sviluppati con vegetazione naturale** (Mitchell & Popham, 2008), i quali possono essere presenti all'interno delle aree urbane o nell'adiacente zona suburbana. Queste aree possono comprendere al loro interno ecosistemi naturali (*patches* di vegetazione nativa), semi naturali (terreni incolti e foreste urbane) e artificiali (giardini, parchi e infrastrutture verdi come i giardini verticali e i tetti verdi) (Angold *et al.*, 2006; Mitchell & Popham, 2008; Aronson *et al.*, 2017; Melliger *et al.*, 2017; Knapp *et al.*, 2019). Per quanto riguarda la gestione delle aree verdi, questa dipende da molteplici fattori i quali devono saper bilanciare e trovare un compromesso tra gli interessi umani e il potenziale ruolo di queste aree come *pool* di biodiversità urbana (Aronson *et al.*, 2017). Tra questi fattori si elencano:

- 1) **Tirannia delle piccole decisioni**, ovvero, essendo le città suddivise in quartieri i quali ospitano singole proprietà edili, i diversi proprietari degli immobili possono prendere decisioni che, unite a quelle degli altri singoli proprietari, porteranno a massicci cambiamenti dell'ecosistema. Per esempio, queste scelte potrebbero portare ad avere la massima eterogeneità possibile di *habitat* in pochi metri quadrati, causando danni a quelle specie animali che invece necessitano di un ampio *habitat* contiguo e omogeneo. (Odum, 1982).

- 2) **Effetto lusso**, con il quale si definisce la correlazione positiva tra agiatezza e biodiversità. Infatti è stato riscontrato che nei quartieri urbani abitati dai ceti maggiormente abbienti vi sia una maggiore biodiversità dovuta alla grande ricchezza botanica presente nelle aree verdi. Questa tendenza, di conseguenza, può influenzare a sua volta la biodiversità delle specie animali (Grove *et al.*, 2014).
- 3) **Pratiche di gestione**, le quali a seconda della loro sostenibilità possono favorire o danneggiare la biodiversità. Nel caso in cui siano attuate pratiche di gestione sostenibili è probabile che aumentino le connessioni ecologiche tra giardini pubblici e cortili privati portando quindi a un possibile aumento della diversità biologica su ampia scala. Purtroppo, le comuni pratiche di gestione impiegate nelle aree verdi urbane comprendono l'utilizzo di pesticidi ed erbicidi, la manutenzione dei prati con rasatura del manto erboso, la potatura degli alberi e la rimozione della lettiera, portando a una semplificazione dell'*habitat* (Aronson *et al.*, 2017).

Generalmente, le aree verdi urbane risultano frammentate fra loro, ma, nella globalità del tessuto urbano, costituiscono un importante *network* di *habitat* indicato come “*Urban Greenways*” (Angold *et al.*, 2006). Come diversi studi a riguardo hanno dimostrato, una corretta progettazione e gestione del ***network di aree verdi urbane*** può diventare essenziale per la fornitura di servizi ecosistemici, utili anche per il benessere umano, e per il sostegno e la tutela della biodiversità (McFrederick & LeBuhn 2006; Clarke *et al.*, 2008; Carrus *et al.*, 2015; Elmqvist *et al.*, 2015; Aronson *et al.*, 2017; Calderón-Contreras & Quiroz-Rosas, 2017; Balbi *et al.*, 2021). Infatti, una rete ben strutturata di aree verdi può facilitare la dispersione delle specie vegetali e animali, fornendo a quest'ultime siti di crescita o di nidificazione e substrati di foraggiamento adeguati (Angold *et al.*, 2006; Pacheco & Vasconcelos, 2007; Filazzola *et al.*, 2019). In aggiunta, la vegetazione presente in queste aree fornisce una gamma di importanti funzioni ecosistemiche come il riciclo e lo stoccaggio dei nutrienti e il sequestro e l'immagazzinamento del carbonio, traducendosi, quest'ultima azione, in una regolazione del clima cittadino (Doick & Hutchings, 2013; Ziter, 2016; Dobbs *et al.*, 2017; Melliger *et al.*, 2017). Pertanto, per garantire un futuro alla biodiversità urbana è necessario intervenire sul modo in cui sono strutturate, mantenute e gestite le aree verdi urbane, la cui organizzazione si riflette sulle popolazioni animali e vegetali presenti al loro interno. Di conseguenza, solo attraverso interventi mirati e un'attiva collaborazione delle diverse parti interessate, come figure esperte quali gli ecologi, autorità competenti e i cittadini che usufruiscono di tali aree,

potranno essere raggiunti quei compromessi necessari per la tutela della biodiversità (Aronson *et al.*, 2017).

1.2 La biodiversità urbana

Esistono molteplici definizioni del termine “**biodiversità**”, ma si può assumere che una definizione completa e ampiamente accettata sia la seguente: **variabilità tra gli organismi viventi compresi gli ecosistemi terrestri, marini e altri ecosistemi acquatici e i complessi ecologici di cui fanno parte; questo include la variazione degli attributi genetici, fenotipici, filogenetici e funzionali, nonché i cambiamenti nell'abbondanza e nella distribuzione nel tempo e nello spazio all'interno e tra le specie, tra le comunità biologiche e gli ecosistemi** (Nazioni Unite 1993; Duffy *et al.*, 2013; Díaz *et al.*, 2015). Parlando specificatamente di biodiversità urbana, invece, quest'ultima può essere descritta come **l'insieme degli animali e delle piante che vivono nelle aree abitate di una città** (Werner & Zahner, 2009).

Globalmente, alla biodiversità urbana sono legati molteplici servizi ecosistemici i quali determinano, in una reazione a cascata, una serie di meccanismi che si riflettono sul benessere umano e dunque, sulla salute pubblica (Dearborn & Kark, 2010; Sandifer *et al.*, 2015; Ziter, 2016; Schwarz *et al.*, 2017). Pertanto, diventa imperativo acquisire una profonda comprensione degli effetti dell'urbanizzazione sull'ecosistema e sui gruppi tassonomici funzionali, per permettere uno sviluppo ecosostenibile delle città e per garantire all'interno delle stesse la promozione e la conservazione della biodiversità (Fiera, 2009; Fenoglio *et al.*, 2020). È quindi con tale fine che ci si avvale dell'impiego degli organismi bioindicatori per lo studio degli effetti prodotti dall'urbanizzazione sulle componenti naturali presenti nelle città (Buczowski & Richmond, 2012; Santorufo *et al.*, 2012; Júnior *et al.*, 2015; Lettoof *et al.*, 2020; Bernat-Ponce *et al.*, 2021).

1.2.1 I bioindicatori

Con il termine **bioindicatori** sono indicati **tutti quegli organismi, o comunità di organismi, che reagiscono alle influenze ambientali alterando le loro risposte funzionali, fisiologiche o di popolazione**. Tali alterazioni possono essere sia predittive delle risposte di altre specie presenti nello stesso ambiente e possono, inoltre, essere utilizzate per valutare le modificazioni apportate alla qualità ambientale (Iserentant e De Sloover, 1976; Gaston & Blackburn, 1995;

McCarty & Munkittrick, 2002; Kohler & Schneider, 2003; Castracani & Mori, 2006; Fattorini, 2014).

Gli organismi bioindicatori, sia facenti parte della comunità vegetale che animale, possono essere classificati in tre diverse categorie sulla base delle loro applicazioni principali: 1) **indicatori ambientali**, i quali riflettono i disturbi o i cambiamenti dell'ambiente abiotico o biotico dando una risposta facilmente osservabile e quantificabile (Hellawell, 1986; Paoletti *et al.*, 1996; Castracani & Mori, 2006); 2) **indicatori ecologici**, i quali rappresentano l'impatto del cambiamento ambientale su un *habitat* e la loro risposta è rappresentativa della risposta di almeno un sottoinsieme di altri taxa presenti nell'*habitat*. Essi possono essere rappresentati da uno specifico taxon o assemblaggi di taxa, i quali sono sensibili a fattori di stress ambientale (McGeoch, 1998; Castracani & Mori, 2006); 3) **indicatori di biodiversità**, i quali sono indicativi della diversità all'interno di un'area e sono rappresentati da gruppi di taxa o un gruppo funzionale, la cui diversità riflette, in una certa misura, la diversità di altri taxa superiori presenti in un *habitat* o insieme di *habitat* (Gaston & Blackburn, 1995; Castracani & Mori, 2006).

In particolare, tra i diversi organismi bioindicatori che possono essere presi come modello di studio, gli artropodi del suolo, specificatamente gli insetti, sono ritenuti degli ottimi candidati per valutare lo stato della qualità ambientale (Andersen *et al.*, 2002; Suheryanto *et al.*, 2018). Infatti, nel corso del tempo gli studiosi hanno preso coscienza dell'importanza di utilizzare gli **insetti come organismi bioindicatori** e hanno applicato questo concetto a una grande varietà di taxa presenti in *habitat* diversi (Kremen *et al.*, 1993). In generale, gli insetti costituiscono il gruppo più diversificato e di successo fra tutti gli organismi presenti sul pianeta, contribuendo significativamente a moltissime funzioni ecologiche (Losey & Vaughan, 2006). Essi sono funzionalmente essenziali nei processi ecosistemici, anche per le attività umane come quelle comprese nel campo agroalimentare, in quanto sono molto diversi fra loro da un punto di vista tassonomico, regolano la dinamica dei nutrienti e la qualità del suolo, l'impollinazione, il controllo dei parassiti, la decomposizione, sono sensibili ai cambiamenti ambientali e, infine, sono facilmente campionabili anche negli ambienti più disturbati come quelli urbani (Bolger *et al.*, 2000; McIntyre *et al.*, 2001; Andersen *et al.*, 2002; Andersen & Majer, 2004; Andersen *et al.*, 2004; Losey & Vaughan, 2006; Santorufo *et al.*, 2012; Suheryanto *et al.*, 2018). Queste caratteristiche hanno reso e rendono gli insetti un modello particolarmente indicato per lo studio degli effetti dell'urbanizzazione e per la valutazione della qualità ambientale delle componenti naturali presenti nelle città (Menke *et al.*, 2010; Uno *et al.*, 2010; Koivula, 2011; Buczkowski & Richmond, 2012). Tra gli insetti terrestri impiegati come bioindicatori troviamo

i coleotteri della famiglia Carabidae (Melis *et al.*, 2010; Kotze *et al.*, 2011; Martinson & Raup, 2013; Gobbi *et al.*, 2018). Un'attenzione particolare, tra gli insetti utilizzati come modello di studio per la qualità degli *habitat*, deve essere però dedicata agli insetti sociali, i quali mostrano tratti comportamentali, fisici e fisiologici che li rendono particolarmente rilevanti per la fornitura di servizi ecosistemici tra i quali l'essere per l'appunto ottimi bioindicatori (Elizalde *et al.*, 2020). I motivi che portano all'impiego degli **insetti sociali come bioindicatori** sono (Urbini *et al.*, 2006):

- 1) l'essere presenti nel nido con un elevato numero di individui (fattore che ne facilita la raccolta da parte degli studiosi);
- 2) la raccolta di materiale per la costruzione e il mantenimento delle colonie provenienti da vaste aree intorno al nido principale, con la probabilità di porsi a contatto con sostanze inquinanti;
- 3) il consumo di molta biomassa (caratterizzati da un elevato rapporto ingestione/produzione, definito come il rapporto tra cibo consumato e aumento di peso), che porta a un accumulo di inquinanti nei loro tessuti.

Ad esempio, le termiti sono considerate *key organism* in quanto mantengono inalterate l'integrità strutturale e funzionale degli ecosistemi (Viana-Junior *et al.*, 2014; Maynard *et al.*, 2015) e diversi studi hanno osservato che la loro abbondanza relativa declina sensibilmente quando sono presenti fattori quali il disturbo del suolo e la frammentazione degli *habitat* (Alves *et al.*, 2010; Pribadi *et al.*, 2011; Viana-Junior *et al.*, 2014; Kasseney *et al.*, 2019). Anche le api sono ampiamente utilizzate come organismi bioindicatori e sono considerate molto versatili ed efficienti (Urbini, 2006; Zhelyazkova, 2012), essendo impiegate per il monitoraggio dei pesticidi ed erbicidi, inquinanti industriali e dei metalli negli ambienti urbani (Tonelli *et al.*, 1990; Urbini, 2006; Balayiannis & Balayiannis, 2008; Porrini *et al.*, 2014; de Oliveira *et al.*, 2016). Inoltre, alcuni generi di vespa sono stati utilizzati come organismi utili per il biomonitoraggio dei metalli pesanti (Urbini *et al.*, 2006; Skaldina *et al.*, 2012).

Infine, tra gli insetti sociali utilizzati come bioindicatori dello stato di salute ambientale vi sono le **formiche**. Queste ultime sono state utilizzate in studi volti a valutare le concentrazioni di inquinanti nelle foreste boreali (Urbini *et al.*, 2006), per monitorare le condizioni degli ecosistemi disturbati dalle attività antropiche e in studi sulla composizione della struttura di comunità naturali in funzione a variazioni ambientali (Andersen, 1997; Andersen *et al.*, 2002; Andersen & Muller, 2000; Andersen & Majer, 2004; Castracani & Mori, 2006; Underwood & Fisher, 2006; Castracani *et al.*, 2010). Inoltre, molte specie di formiche sono ben adattate all'ambiente urbano e dunque possono fornire valide informazioni circa lo stato di salute di

questo particolare ambiente (Yamaguchi, 2004; Angilletta *et al.*, 2007; Menke *et al.*, 2011; Buczkowski & Richmond, 2012; Nooten *et al.*, 2019).

1.2.2 La mirmecofauna come modello di studio

Le formiche sono insetti eusociali appartenenti al Phylum degli Arthropoda, Classe degli Insecta, Ordine degli Hymenoptera e alla sola Famiglia Formicidae Latreille, 1809. Le formiche presentano una sistematica tra le meglio conosciute fra gli insetti e, a oggi, sono state descritte tra le 16.000 e le 20.000 specie (Bolton, 1994; Ward, 2006; Bolton, 2019; Antweb, 2021).

Una caratteristica molto importante che rende le formiche ottimi modelli di studio risiede nella loro organizzazione sociale. Come detto in precedenza, le formiche sono insetti eusociali e l'**eusocialità** è definita come **l'espressione del grado più alto di organizzazione sociale degli animali, tipico di alcuni insetti** (Mainardi *et al.*, 1992). Questa caratteristica conferisce notevoli vantaggi in termini di acquisizione delle risorse, difesa dai nemici e attenuazione delle variazioni ambientali, influenzando, infine, l'ambiente circostante la colonia (Hölldobler & Wilson, 1990; Ward, 2006). I requisiti per i quali una specie può essere definita eusociale sono i seguenti (Michener, 1967; Wilson, 1971; Crespi, 1995; Lach *et al.*, 2010):

- divisione riproduttiva del lavoro (presenza di caste specializzate)
- sovrapposizione di almeno 2 generazioni di individui
- cura cooperativa della prole

Alle formiche si riconosce un ruolo chiave in tutti gli ecosistemi all'interno dei quali sono presenti, inclusi quelli urbani, ponendosi quindi come **keystones species** (Boswell *et al.*, 1998; Thompson & McLachlan, 2007; Gove *et al.*, 2007; Warren & McMillan, 2015). Infatti, come l'elevato numero di specie descritte può suggerire, le formiche sono uno dei taxon più diversificati e abbondanti nella maggior parte degli ambienti terrestri, rappresentando una cospicua componente della biodiversità, costituendo circa il **10-15% della biomassa animale** (Hölldobler & Wilson, 1990). Proprio in virtù della loro ampia distribuzione geografica sono definite insetti **ubiquitari** e questa caratteristica, insieme alle precedenti già illustrate, le rende un modello di studio particolarmente interessante e un valido organismo bioindicatore negli studi di comunità (Gotelli, 1996; Andersen, 1992; Andersen, 1997; Castracani *et al.*, 2010; Castracani *et al.*, 2014). L'incredibile radiazione evolutiva delle formiche le ha portate anche ad adattarsi ad ambienti con climi molto differenti fra loro, rendendole al tempo stesso

altamente **sensibili ai cambiamenti ambientali** (Hölldobler & Wilson, 1990, Andersen, 1997; Andersen & Muller, 2002; Touyama *et al.*, 2002, Antweb, 2021).

In aggiunta, le formiche forniscono **numerosi servizi ecosistemici**, definiti, in generale, come **un qualsiasi servizio che possa supportare la società umana e sostenerne il benessere** (Costanza *et al.*, 1997; WRI 2005, Daily & Matson, 2008; Carpenter *et al.*, 2009; Fisher *et al.*, 2009; Tan *et al.*, 2020). I servizi ecosistemici che le formiche forniscono possono essere raggruppati in 4 categorie, di seguito descritte:

- 1) **Servizi di approvvigionamento:** tutti quei beni o servizi che in modo diretto migliorano il benessere dell'uomo; le formiche possono essere impiegate come risorse alimentari (Doufour, 1987; DeFoliart, 1999; Srivastava *et al.*, 2009) e alcuni loro prodotti trovano applicazione in ambito medico e farmaceutico (Brown *et al.*, 2003; Brown *et al.*, 2004; Reddy & Yang, 2011).
- 2) **Servizi di regolazione:** spesso di difficile riconoscimento e quantificazione in quanto non sempre immediati da identificare, tuttavia sono necessari affinché la vita sulla Terra possa essere supportata e mantenuta e, in alcuni casi, possono a loro volta promuovere i servizi di approvvigionamento (WRI, 2005). Le formiche possono fornire servizi di regolazione come l'impollinazione (Gómez & Zamora, 1992; Rostás *et al.*, 2018) e la dispersione dei semi (mirmecoria) (Beattie, 1985; Lengyel *et al.*, 2010), la regolazione della struttura delle comunità di un ecosistema (Fellers, 1987; Andersen & Patel, 1994; Cerdà *et al.*, 1998a, b; Parr, 2008; Drescher *et al.*, 2011; Guariento & Fiedler, 2021) e, infine, possono essere impiegate come agenti per il controllo biologico (Adlung, 1966; Beattie, 1985; Heads, & Lawton, 1985; Castracani *et al.*, 2017; Bulgarini *et al.*, 2021).
- 3) **Servizi culturali:** essenziali per il benessere umano in quanto stimolano l'identità culturale e spirituale generando senso d'appartenenza comunitario. Come per i servizi di regolazione, anche quelli culturali sono difficili da individuare e quantificare (Capinera, 1993; WRI, 2005; Sears, 2010; Botelho & Weigel, 2011). Uno dei più celebri esempi di servizio culturale fornito dalle formiche lo si ritrova nella cerimonia detta "Tucandeira", ovvero un rito di passaggio all'età adulta che i ragazzi di diverse tribù indigene del Nuovo Mondo devono affrontare (Botelho & Weigel, 2011).
- 4) **Servizi di supporto:** spesso di difficile riconoscimento e quantificazione come i servizi di regolazione perché i loro *link* con il benessere umano non è così ovvio come quello che si può rilevare per i servizi di approvvigionamento (Del Toro *et al.*, 2012). Le formiche sono spesso definite "ingegneri ecosistemici" (Menke *et al.*, 2011; Nooten *et al.*, 2019) in quanto influenzano la struttura e la funzione dell'ecosistema. Per esempio, modificando la

formazione e la struttura del suolo e fornendo *habitat* per altri invertebrati (Lavelle *et al.*, 1997; Frouz & Jilkova, 2008), alterando il ciclo dei nutrienti, il flusso del carbonio e la respirazione del suolo (Lavelle *et al.*, 1997; Wagner *et al.*, 1997; Ohashi *et al.*, 2005; Risch *et al.*, 2005; Jouquet *et al.*, 2006; Lavelle *et al.*, 2006; Ohashi *et al.*, 2007; Frouz & Jilkova, 2008; Jurgensen *et al.*, 2008), e attuando una dispersione preferenziale dei semi di specie di piante mirmecocore (Brown & Human 1997; Rey & Manzaneda 2007; Servigne & Detrain 2010; Zelikova *et al.*, 2011). Rientra in questo tipo di servizio anche l'impiego delle formiche come bioindicatori (Burbidge *et al.*, 1992; Read, 1996; Andersen, 1997; Jill Landsberg *et al.*, 1999; Read & Pickering 1999; Vanderwoude *et al.*, 2000; York, 1999; Andersen *et al.*, 2002; Touyama *et al.*, 2002; Woinarski *et al.*, 2002; Majer *et al.*, 2007; Castracani *et al.*, 2010; Del Toro *et al.*, 2010).

Infine, grazie alla relativa stabilità delle colonie e all'impiego di tecniche di campionamento rapide e poco costose, le formiche risultano soggetti ideali per studi a lungo termine (Lessard & Buddle, 2005; Clarke *et al.*, 2008; Castracani *et al.*, 2017).

1.2.3 I fattori che modellano la comunità delle formiche

Le comunità ecologiche sono definite come **un insieme di organismi che coesistono in uno stesso ambiente interagendo tra loro** (Lach *et al.*, 2010). Infatti, uno dei principali obiettivi dell'ecologia è proprio quello di comprendere in modo approfondito la struttura e le dinamiche delle comunità ecologiche, nonostante tale compito sia reso difficile dalla complessità di questi sistemi e dai differenti *pattern* che si riscontrano in aree biogeografiche diverse (Cerdá *et al.*, 2013). Parlando specificatamente delle formiche, numerosi studi hanno identificato come elemento chiave nel modellamento delle loro comunità la **competizione interspecifica**, la quale è stata definita come “*the hallmark of ant ecology*” (Hölldobler & Wilson, 1990). Questo fenomeno è dovuto al fatto che specie di formiche diverse sfruttano inevitabilmente risorse simili, come i siti di nidificazione e le fonti trofiche e, di conseguenza, è comune poterle osservare durante interazioni di tipo aggressivo (Fellers, 1987; Savolainen & Vepsäläinen, 1988; Savolainen *et al.*, 1989). Dunque, la competizione per le risorse sembra essere ubiquitaria nelle varie comunità di formiche (Davidson, 1998) e diversi studi hanno evidenziato come le stesse specie di formiche possano influenzare l'abbondanza, la distribuzione spaziale e il comportamento di altre specie di formiche tramite comportamenti aggressivi che vanno dall'utilizzo di sostanze chimiche repellenti all'istituzione di territori (Hölldobler & Wilson, 1990; Andersen *et al.*, 1991). Nonostante ciò, il ruolo della competizione nel modellamento

delle comunità delle formiche risulta ancora controverso (Cerdá *et al.*, 2013). Per esempio, nello studio condotto da Feener *et al.* (2008) è stato evidenziato come, in assenza di meccanismi compensatori, si abbia, come inevitabile risultato della competizione, l'esclusione competitiva di tutte le specie a eccezione fatta per quella più dominante. Considerando la rarità dell'osservare in natura comunità costituite da una sola specie dominante, è logico pensare che esistano ulteriori meccanismi regolatori i quali agiscono sull'organizzazione delle comunità modificando il risultato atteso della competizione così come proposta in Feener *et al.* (2008) (Cerdá *et al.*, 2011). Dunque, i due principali fattori che, unitamente alla competizione, influenzano la struttura delle comunità sono lo **stress** e il **disturbo**. Secondo una definizione classica, lo **stress** è l'insieme di fattori che limitano la produttività della comunità e il **disturbo** è l'insieme di fattori che rimuovono biomassa dalla comunità (Grime 1979) (Fig.2).

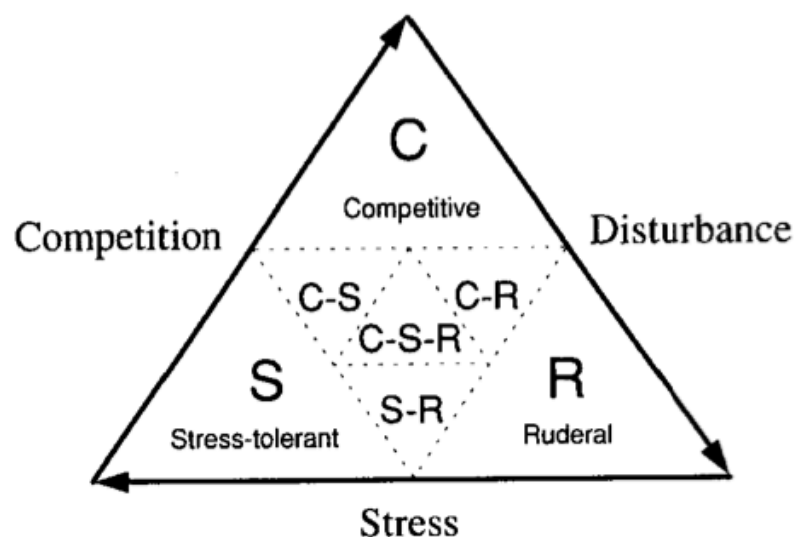


Fig.2 Nell'immagine è riportata una rappresentazione schematica della classificazione delle comunità in relazione allo stress e al disturbo seguendo la nomenclatura di Grime (1979) (Andersen, 1995).

Nei prossimi paragrafi è riportata una descrizione di questi tre fattori: stress, disturbo, competizione e dei meccanismi che possono derivare da essi.

1.2.3.1 La competizione

La competizione rappresenta una delle interazioni più importanti all'interno delle comunità di formiche, influenzandone la struttura in diversi modi e determinando l'accesso alle risorse alimentari e ai siti di nidificazione (Andersen, 1992; Santini *et al.*, 2007; Lach *et al.*, 2010; Gibb & Cunningham, 2011). La **competizione può essere definita come un'interazione**

negativa tra individui, innescata dalla presenza di una risorsa condivisa e limitata e, in genere, il risultato che si ottiene è l'aumento della fitness di una specie rispetto a un'altra (Parr & Gibb, 2010). Nello specifico, esistono due tipologie di competizione (Parr & Gibb, 2010):

- 1) **competizione intraspecifica**, che si innesca fra individui della stessa specie
- 2) **competizione interspecifica**, la quale avviene fra individui di specie diverse

Per quanto riguarda più nel dettaglio la competizione interspecifica, quest'ultima è considerata uno dei processi fondamentali dell'ecologia, in quanto influenza non solo la distribuzione e il successo delle specie, ma anche la loro evoluzione (Lach *et al.*, 2010; Parr & Gibb, 2010). Per permettere la coesistenza di specie simpatriche, spesso la competizione interspecifica si risolve con la formazione di gerarchie di dominanza. La **gerarchia di dominanza** è un meccanismo con il quale molti animali organizzano la loro struttura sociale ed è basato principalmente sull'abilità competitiva degli individui o della specie (Parr & Gibb, 2010). Nelle formiche, le gerarchie sono costruite sulla base dell'abilità di sfruttamento della risorsa e sull'aggressività delle stesse specie. Queste gerarchie sono relativamente robuste all'interno e tra le diverse regioni biogeografiche (Vepsäläinen & Pisarski, 1982; Morrison, 1996; Cerdá *et al.*, 1997) ma, al contempo, sono anche dinamiche, in quanto influenzate da fattori come la tipologia della risorsa, la temperatura e/o la presenza di parassitoidi (Parr & Gibb, 2010). Sono stati proposti numerosi modelli di gerarchie di dominanza, ma si ritiene che il modello di Vepsäläinen & Pisarski (1982) e Savolainen *et al.* (1989) sia quello che fornisce la classificazione migliore, basata sia sul comportamento aggressivo delle specie e sia sull'impatto che quest'ultimo ha sulle altre specie (Cerdá *et al.*, 2013). Questa classificazione suddivide le specie in tre livelli:

- a) **Specie dominanti** (o territoriali), sono specie molto aggressive che predominano sulle altre a livello numerico, mostrano pattern di distribuzione mutualmente esclusivi e difendono territori ampi e continui (Cerdá *et al.*, 2013).
- b) **Specie sub-dominanti** (o "encounter"), sono specie non territoriali ma aggressive quando difendono una risorsa concentrata o cercano di ottenerla; riescono a raggiungere densità moderate nelle aree dove le specie dominanti sono assenti (Arnan *et al.*, 2011).
- c) **Specie subordinate** (o sottomesse), formano colonie di dimensioni ridotte e mostrano forme di reclutamento semplici o inesistenti, evitano il contatto con operaie di altre colonie e di altre specie, a eccezione del caso in cui il loro nido venga attaccato (Cerdá *et al.*, 2013); queste specie difendono unicamente il proprio nido, non avendo territori e non difendono le risorse alimentari (Parr & Gibb, 2010).

A loro volta, queste due tipologie di competizione possono essere esercitate dalle formiche tramite modalità quali l'interferenza e lo sfruttamento. La **competizione per interferenza** si verifica quando gli individui di una colonia interferiscono con il foraggiamento, la riproduzione o la sopravvivenza di un'altra colonia, attraverso scontri diretti; durante questi scontri sono messi in atto comportamenti aggressivi che possono includere il morso, principalmente diretto verso le zampe e le antenne, cariche, trascinamenti, spruzzo di acido formico o di altre sostanze chimiche attraverso il gastro e l'utilizzo del pungiglione. La **competizione per sfruttamento**, invece, avviene indirettamente attraverso il consumo di una risorsa condivisa e limitata (cibo e materiale per il nido) da parte di una specie, la quale determina una diminuzione della disponibilità della risorsa nei confronti delle altre specie.

Per quanto riguarda la definizione di **dominanza**, questo concetto viene frequentemente utilizzato in ambito ecologico, ma gli sono stati attribuiti significati diversi (Cerdá *et al.*, 2013). È fondamentale tenere presente che ogni tentativo di definire la dominanza è finora risultato parziale, relativo solo ad alcuni aspetti che caratterizzano la dominanza e riferito esclusivamente alle specie che fanno parte della stessa comunità (Cerdá *et al.*, 2013; Lach *et al.*, 2010). In termini ecologici, la dominanza si presenta quando una singola specie costituisce una grande porzione della biomassa all'interno di una comunità e, tipicamente, è possibile analizzarla descrivendo e misurando le sue componenti, ovvero la **dominanza numerica** e **comportamentale** (Lach *et al.*, 2010; Parr & Gibb, 2010):

- 1) **Dominanza numerica** – è un tipo di dominanza basato su valori elevati di abbondanza e di biomassa. Proprio perché basata sulla stima di parametri di facile misurazione, è ampiamente utilizzata in ecologia per definire le specie che dominano una comunità e, nel contesto della competizione, mostra un ampio *range* di sfaccettature (Buczowski & Bennett, 2008; Resasco *et al.*, 2014; Achury *et al.*, 2020; Law & Parr, 2020). I parametri utilizzati includono: **abbondanza** (numero di individui di una specie presenti nelle trappole), **frequenza** (numero di trappole in cui una specie è presente) e, talvolta, abilità nel controllare una risorsa in virtù della propria superiorità numerica (Parr & Gibb, 2010). In quest'ultimo caso, è necessario fissare un numero minimo di individui in presenza del quale si considera che la specie abbia (Bestelmeyer, 2000a) o al tipo di reclutamento (individuale rispetto a quello di gruppo o di massa) (Lachaud, 1985; Beckers, 1989; Santini *et al.*, 2007; Cerdá *et al.*, 2009).
- 2) **Dominanza comportamentale** – questo tipo di dominanza si riferisce, in particolare, alla possibilità di accedere alle risorse alimentari che le specie ottengono come conseguenza delle loro interazioni comportamentali (Cerdá *et al.*, 1997). Generalmente, una specie viene

considerata dominante a livello comportamentale quando mostra comportamenti aggressivi che determinano la fuga o l'evitamento da parte di altre specie (Andersen, 1992; Cerdá *et al.*, 1997; Davidson 1998; Fellers, 1987; Bestelmeyer, 2000a); questo tipo di dominanza determina un differente accesso alla risorsa da parte delle diverse specie come conseguenza delle interazioni che intercorrono tra esse (Cerdá *et al.*, 1997; 2013). La dominanza comportamentale viene spesso individuata osservando le interazioni interspecifiche presso esche alimentari e si può misurare con diversi metodi. Tuttavia, attualmente non esistono parametri standard per la definizione della dominanza comportamentale; molto utilizzati sono gli indici di dominanza che possono essere ottenuti attraverso diverse modalità. Spesso, gli indici si basano sul numero di volte in cui una specie risulta vincente negli incontri con le altre (impedendone l'accesso alla risorsa o causandone la fuga) rispetto al numero totale di incontri. Talvolta, la dominanza comportamentale può anche essere stimata come tasso di turnover e di persistenza presso la risorsa: una specie è considerata dominante quando viene osservata per più volte consecutivamente sulla risorsa (Parr & Gibb, 2010). Bisogna però considerare che, specie indicate come dominanti, possono rivestire un ruolo ecologico molto diverso in ambienti differenti, di conseguenza, il loro impatto competitivo sull'intera comunità può variare (Cerdá *et al.*, 1997; Feener *et al.*, 2008; Del Toro *et al.*, 2012; Stuble *et al.*, 2013).

In natura, la competizione per le risorse può essere regolata da diversi meccanismi compensatori, tra i quali i *trade-off* interspecifici, fondamentali per la coesistenza delle specie, soprattutto su scale spaziali ridotte e del quale vari studi sulle comunità delle formiche se ne sono occupati (Hubbell, 2001; Kneitel & Chase, 2004; Wiescher *et al.*, 2011; Segev & Ziv, 2012; Bertelsmeier *et al.*, 2015). Per esempio, il ***dominance-discovery trade-off*** è definito come una **relazione inversa tra la capacità di una specie di dominare una risorsa e la sua capacità di scoprire tale risorsa**; ciò può essere verificato quando l'abilità di una specie nella competizione per interferenza determina caratteristiche morfologiche, comportamentali e fisiche che riducono l'abilità della specie di scoprire le stesse risorse (Case & Gilpin, 1974). Questo *trade-off* è stato descritto per la prima volta da Fellers (1987) che ha suggerito come questo meccanismo potesse essere la chiave per spiegare la coesistenza di un elevato numero di specie dipendenti dalle stesse risorse. Successivamente, altri autori hanno evidenziato la presenza del *dominance-discovery trade-off* nei loro studi (Savolainen & Vepsäläinen, 1989; Le Breton *et al.*, 2007; Sarty *et al.*, 2006; Stuble *et al.*, 2013), mentre altri hanno suggerito che questo meccanismo potesse non essere una caratteristica costante delle comunità di formiche poiché non è sempre riscontrata (Jordan & Blüthgen, 2007; Santini *et al.*, 2007; Lessard *et al.*,

2009; Wiescher *et al.*, 2011; Castracani *et al.*, 2014; Camarota *et al.*, 2018). Vi sono stati altri casi di studio che hanno preso in esame tutti quei fattori che possono rompere il *trade-off*, come, per esempio la complessità dell'habitat, la presenza di parassitoidi, la presenza di specie alloctone invasive, la *discovery-defense strategy* (il quale è una relazione opposta all'andamento negativo descritto dal *dominance-discovery trade-off*) (Holway, 1999; Le Brun & Feener 2002; Sarty *et al.*, 2006; Le Brun & Feener, 2007; Feener *et al.*, 2008; Parr & Gibb, 2012; Camarota *et al.*, 2018). Per concludere, il *dominance-discovery trade-off* si rivela essere un meccanismo controverso (Cerdá *et al.*, 2013), come evidenziano le numerose eccezioni che sono state precedentemente elencate.

1.2.3.2 Lo Stress

L'attività di foraggiamento delle formiche è particolarmente sensibile ai parametri abiotici ambientali come la temperatura, l'umidità, la luce, il vento e la struttura dell'*habitat*, ma fra tutti questi, la **temperatura** è il fattore che più influenza il loro tasso metabolico e di foraggiamento (ricordando che l'umidità è spesso correlata alla temperatura e che può avere un effetto rilevante) (Parr & Gibb, 2010; Cerdá *et al.*, 2013). La maggior parte delle specie di formiche foraggia entro un *range* di temperature che varia dai 10° C ai 45°C (Hölldobler & Wilson, 1990) e temperature al di fuori di questo *range* costituiscono uno stress, poiché superano il limite critico di tolleranza (Berman *et al.*, 2010). Nonostante ciò, alcune specie hanno evoluto un'elevata tolleranza termica che consente loro di essere attive anche in presenza di temperature estreme. Il termine "**termofilia**", infatti, indica l'abilità di una specie di poter essere attiva anche quando le temperature sono superiori a 45° C, avvicinandosi quindi al limite di letalità (Cerdá *et al.*, 1998a). Al contrario la "**criofilia**", poco studiata nelle formiche, costituisce la capacità di una specie di poter essere attiva a temperature vicine al limite inferiore del *range* di tolleranza (Bestelmeyer, 1996). Le specie criofile iniziano l'attività di foraggiamento a temperature appena sopra la temperatura di congelamento e cessano quando questa raggiunge i 20° C. Esiste un'elevata correlazione fra la **tolleranza termica**, posseduta da una specie, e il tipo di ambiente in cui questa è presente. Nonostante ciò, all'interno di una stessa comunità si possono osservare specie che mostrano temperature di foraggiamento ottimali molto diverse (Wittman *et al.*, 2010; Wiescher *et al.*, 2012). Queste differenze determinano un'ampia variabilità temporale nei ritmi di foraggiamento delle specie simpatriche, riducendo le interazioni interspecifiche competitive permettendo una maggiore ripartizione delle risorse disponibili e la formazione di nicchie termiche (Cerdá *et al.*, 1998a;

Parr & Gibb, 2010, Cerdá *et al.*, 2013). Dunque, la formazione di queste nicchie ecologiche termiche potrebbe essere ricondotta a una relazione inversa tra la dominanza e l'adattamento agli stress fisici, definita per l'appunto *dominance-thermal tolerance trade-off* (Fellers 1987; Cros *et al.*, 1997). Questo *trade-off* non si riscontra in tutti gli ambienti (Santini *et al.*, 2007; Wiescher *et al.*, 2011) e si ritiene che sia presente solo in quegli *habitat* caratterizzati da un'ampia escursione termica tra il giorno e la notte (Cerdá *et al.*, 2013).

1.2.3.3 Il Disturbo

Uno studio australiano ha suggerito che il disturbo spesso possa favorire le specie dominanti (Hoffmann & Andersen, 2003) e le specie alloctone, le quali a loro volta possono essere la principale fonte di disturbo (Carpintero *et al.*, 2004; Angulo *et al.*, 2007; Todd *et al.*, 2008; Stuble *et al.*, 2009; Le Brun *et al.*, 2012). Gli effetti del disturbo possono essere generati da eventi quali:

1. **Incendi** (Gill *et al.*, 1981; York, 1999; Retana & Cerdá, 2000; Hoffmann & Andersen, 2003; Arnan *et al.*, 2006; Arnan *et al.*, 2009; Frizzo *et al.*, 2012). Il fuoco è uno dei più importanti fattori di disturbo naturale e produce effetti significativi sulla struttura e sulla composizione delle comunità animali e vegetali (Gill *et al.*, 1981), riducendo la complessità dell'*habitat* che a sua volta influenza le interazioni competitive tra le stesse specie di formica (Retana & Cerdá, 2000; York, 1999; Arnan *et al.*, 2009);
2. **Allagamenti** (Lenoir 2006; Mertl *et al.*, 2009). In generale, a livello di comunità, gli allagamenti hanno un impatto negativo sulla densità e sulla ricchezza di specie che nidificano nella lettiera (Mertl *et al.*, 2009);
3. **Frammentazione dell'*habitat***, i cui effetti non comportano solo una riduzione o una perdita diretta delle specie native, ma possono anche alterare numerosi processi ecologici e biologici che fanno parte del ciclo vitale degli animali e delle piante come la migrazione, la predazione, la dispersione dei semi, il flusso genico e il ciclo dei nutrienti (Basu, 1997; Floren & Linsenmair, 2001; McIntyre *et al.*, 2001 ; Menke *et al.*, 2010; Buczkowski & Richmond, 2012; Patrick *et al.*, 2012; Xun *et al.*, 2014; Santos, 2016);
4. **Predazione** (Harkness, 1976; MacKay, 1982; Gotelli 1996; Feener, 2000; Rao, 2000; Suarez *et al.*, 2000; Pekár *et al.*, 2008; Wanger *et al.*, 2011). Questo processo non è considerato tra i principali fattori che modellano le comunità di formiche, nonostante possa avere un impatto sulla distribuzione, sull'abbondanza e sul comportamento delle

specie che foraggiano al suolo (Gotelli 1996; Wanger *et al.*, 2011). Il rischio di predazione può essere più elevato per alcune specie rispetto ad altre, portando a una riduzione dell'abbondanza di tali specie e influenzando i risultati delle interazioni competitive. Questo risultato è stato evidenziato in studi dove è stato osservato che i predatori si nutrivano solo di alcuni generi o specie di formiche scelti in base alla dimensione (della preda e del predatore) (Suarez *et al.*, 2000; Pekár *et al.*, 2008).

1.3 Il complesso *Tetramorium caespitum*

1.3.1 Inquadramento sistematico

L'oggetto di questo studio sono le specie appartenenti al complesso *Tetramorium caespitum*, il quale, da un punto di vista tassonomico è stato definito solo di recente (Wagner *et al.*, 2017). Parlando del suo inquadramento sistematico, il complesso appartiene alla sottofamiglia delle Myrmicinae Lepeletier de Saint-Fargeau, 1835, tribù dei Crematogastrini Forel 1983 e al genere *Tetramorium* Mayr, 1855. Per quanto riguarda la sottofamiglia delle Myrmicinae, composta da 147 generi viventi e con 7018 specie (Bolton, 2014; Ward *et al.*, 2015; Antweb, 2021), si pone come la più diversificata fra le sottofamiglie di formiche oggi viventi (Kugler, 1979; Bleimer *et al.*, 2018) e la maggior parte di questa diversità è rappresentata dalla tribù dei Crematogastrini, la quale contiene tre dei generi più cospicui e ricchi in specie, ovvero i generi *Crematogaster* Lund, 1831, *Temnothorax* Mayr, 1861 e *Tetramorium* (Bleimer *et al.*, 2018). In generale, le specie di questa sottofamiglia si differenziano sulla base delle diverse strategie ecologiche e comportamentali che le hanno portate a essere, nel corso della storia evolutiva, predatori generalisti o specializzati, spazzini, onnivori, granivori, erbivori, parassiti sociali e in grado di effettuare simbiosi con altri organismi (Kugler, 1979; Davidson & McKey, 1993; Beibl *et al.*, 2005; Fiedler, 2006; Russell *et al.*, 2009; Buschinger, 2009; Hölldobler & Wilson, 2010; Ward *et al.*, 2015). Inoltre, parlando della tribù dei Crematogastrini, la si può descrivere come un gruppo molto diversificato, la quale comprende il 45% di tutti i generi e il 40% di tutte le specie della sottofamiglia delle Myrmicinae e il 20% di tutte le specie di formiche descritte (Ward *et al.*, 2015; Bleimer *et al.*, 2018). Le formiche di questa tribù hanno occupato e occupano tutt'oggi una vasta gamma di *habitat*, costruendo le loro colonie sia nel suolo che sugli alberi (Bleimer *et al.*, 2018). Parlando, infine, del genere *Tetramorium*, quest'ultimo è il più ricco in specie fra i generi della sottofamiglia delle Myrmicinae, con oltre 587 specie valide, 9 sottospecie e 2 specie fossili (Bolton, 2014; AntWeb, 2021).

1.3.2 Storia del complesso *Tetramorium caespitum*

Il genere *Tetramorium* è da sempre stato considerato una sfida tassonomica, in quanto le operaie di molte delle sue specie sono piuttosto simili nel colore e nella morfologia, rendendone incerto il riconoscimento e richiedendo, nella maggior parte dei casi, regine e maschi per l'identificazione a livello di specie (Schlick-Steiner *et al.*, 2006; Radchenko & Dlussky, 2015; Wagner *et al.*, 2017). Proprio sulla difficoltà nel distinguere le specie del genere *Tetramorium* si basa la storia tassonomica dell'oggi riconosciuto complesso *T. caespitum*. Infatti, prima del XX secolo, in Europa, furono descritte solo due specie, tutt'oggi valide, ovvero *Tetramorium caespitum* s.s. (Linnaeus, 1758) e *Tetramorium impurum* (Foerster, 1850). Storicamente, Bolton (1976) fu il primo a effettuare una revisione sistematica del genere, che ne comportò una suddivisione in ben 7 diversi generi, tra i quali l'attuale genere *Tetramorium*. Fino al 2006 si mantenne una certa situazione di incertezza tassonomica, grazie alla quale tutte le specie del genere *Tetramorium* presenti nella regione paleartica vennero raggruppate nel complesso *T. caespitum/impurum*. Tale situazione d'incertezza tassonomica iniziò a dipanarsi quando, come suggerito da uno studio di quello stesso anno (Schlick-Steiner *et al.*, 2006), fu accertata la presenza di **specie criptiche** all'interno del complesso *T. caespitum/impurum*, ipotesi precedentemente considerata da altri studi (Sanetra *et al.*, 1999; Steiner *et al.*, 2002). Con il termine "specie criptiche" sono definite quelle specie che non sono morfologicamente distinguibili utilizzando metodi convenzionali, ma che necessitano di analisi genetiche e morfometriche per essere determinate (Seifert, 2009; Wagner *et al.*, 2017). Infatti, è stato indicato che le operaie appartenenti al complesso *T. caespitum* presentano una serie di caratteristiche legate alla colorazione e alla morfologia che, per il riconoscimento a livello di specie, sono da considerarsi poco attendibili, in quanto tali caratteristiche possono variare anche a livello intraspecifico (Schlick-Steiner *et al.*, 2006). Per questo motivo, lo studio di Schlick-Steiner *et al.* (2006) ha suggerito che alle analisi morfometriche dovevano essere affiancate anche analisi genetiche, poiché specie morfologicamente simili possono avere sequenze di DNA mitocondriale differenti. In realtà, è stato sottolineato come nemmeno l'approccio genetico da solo potesse essere sufficiente e completamente affidabile per ottenere una corretta identificazione tassonomica e che pertanto era necessario combinare più approcci, unendo morfologia, genetica e semiochimica (Schlick-Steiner *et al.*, 2006). Lo stesso studio ha portato all'identificazione di cinque specie criptiche denominate *Tetramorium* specie A, B, C, D ed E, dove, solo qualche anno più tardi vennero identificate con certezza e rinominate, *Tetramorium* sp. A in *Tetramorium alpestre* (Steiner *et al.*, 2010) e *Tetramorium* sp. C in

Tetramorium indocile Santschi, 1927 (Csösz *et al.*, 2014). La situazione tassonomica all'interno del complesso è poi rimasta confusa fino al 2017, quando è stata effettuata la revisione del complesso utilizzando un approccio multidisciplinare che ha unito lo studio della morfologia con le analisi genetiche e l'ecologia (Wagner *et al.*, 2017). Nello stesso studio è stata inoltre ridefinita la filogenesi delle specie paleartiche, arrivando a constatare che *Tetramorium caespitum* fosse la specie più antica, e, come di consuetudine negli studi tassonomici, è stato dato il suo nome al complesso. Dunque, il complesso che fino al 2017 è stato chiamato *Tetramorium caespitum/impurum*, venne rinominato *Tetramorium caespitum* nello stesso anno e le 10 specie paleartiche che lo compongono sono: *T. alpestre* Stainer *et al.*, 2010, *T. breviscapus*, *T. caespitum*, *T. caucasicum*, *T. fusciclava* Consani & Zangheri, 1952, *T. hungaricum* Rösler, 1935, *T. immigrans* Santschi, 1927, *T. impurum* (Foerster, 1850), *T. indocile* Santschi, 1927, *T. staercke* Kratochvíl, 1944. A questo complesso appartengono anche altre due specie presenti rispettivamente in Asia e in Siberia: *T. tsushimae* e *T. sibiricum* (Wagner *et al.*, 2017; Seifert, 2021).

Tutte le specie paleartiche appartenenti al complesso sono originarie dell'Europa con areali di distribuzione che si sono ampliati rispetto l'area d'origine, come ad esempio il caso di *T. immigrans*. L'origine geografica di questa specie è stata identificata nella zona dell'Anatolia e del Caucaso ma è ampiamente distribuita in tutta Europa (Wagner *et al.*, 2017). In appendice (Cap.9) è possibile consultare le schede di approfondimento per le 12 specie del complesso *Tetramorium caespitum*.

1.3.3 Le formiche del complesso *Tetramorium caespitum* nelle aree urbane

Il ruolo delle formiche come organismi indicatori per la qualità ambientale è ben noto, anche per quanto riguarda le aree urbane. In particolar modo, due specie del complesso, ovvero *T. caespitum* s.s. e *T. immigrans*, sono indicate come ben adattate agli ambienti urbani e suburbani, ponendosi dunque come potenziali organismi bioindicatori per questo tipo di *habitat* (Wagner *et al.*, 2017, Cordonnier *et al.*, 2019a; b; 2020a). Per esempio, a riprova del buon grado di adattamento al disturbo antropico da parte del genere *Tetramorium*, uno studio americano ha analizzato la risposta della mirmecofauna ai cambiamenti ambientali indotti dall'urbanizzazione di siti naturali convertiti in aree residenziali (Buczowski & Richmond, 2012). Nello studio è stata misurata la *species richness* a tre tempi differenti: prima, durante e dopo la conversione. I lotti urbanizzati hanno effettivamente visto una riduzione del numero di

specie, in quanto le 20 specie iniziali sono state ridotte a 3, ovvero *Lasius neoniger* Emery, 18893, *Tetramorium caespitum* s.s. e *Tapinoma sessile* (Say, 1836). In generale, la specie *Tetramorium caespitum* s.s. è risultata sempre la più abbondante in tutti i tempi di verifica, risentendo in modo minimo dell’impatto di urbanizzazione (Buczowski & Richmond, 2012). Una ricerca francese, invece, ha esaminato la distribuzione spaziale nelle aree urbane di *Tetramorium* sp. E e sp. U2, oggi identificate rispettivamente come *T. immigrans* e *T. caespitum* s.s., osservando che queste ultime possedevano trend opposti. Infatti, *T. immigrans* ha presentato livelli di abbondanza maggiori nelle aree urbanizzate, mentre *T. caespitum* è risultata maggiormente abbondante nelle aree suburbane (Gippet *et al.*, 2017). Sempre in Francia, studi recenti hanno indagato gli effetti dell’urbanizzazione sulle specie del complesso *T. caespitum* e i dati raccolti hanno mostrato che le specie erano distribuite secondo un gradiente di urbanizzazione, evidenziando, ancora una volta, che la specie *T. caespitum* s.s. preferiva ambienti rurali, mentre *T. immigrans* è risultava più frequente nelle aree con il maggior grado di urbanizzazione (Cordonnier *et al.*, 2019a; 2020a). Gli studi francesi hanno inoltre sottolineato come la distribuzione spaziale di queste due specie, *T. caespitum* e *T. immigrans*, dipendesse anche da fattori legati alle condizioni climatiche e dall’interazione di queste con il grado di urbanizzazione (Cordonnier *et al.*, 2020a). Per *T. caespitum* s.s., i dati hanno mostrato come essa preferisse le zone caratterizzate da clima continentale, con significative variazioni di temperatura stagionali e con precipitazioni annuali scarse. Al contrario, *T. immigrans* è stata ritrovata prevalentemente nelle aree contraddistinte da clima mediterraneo e con livelli di precipitazioni medie annuali elevate. Inoltre, i risultati suggeriscono che *T. immigrans* e *T. caespitum* s.s. siano specie vicarianti, in quanto *T. caespitum* è risultata presente solo nei siti in cui *T. immigrans* era assente (Cordonnier *et al.*, 2019b).

In Italia, le informazioni sulla distribuzione del complesso *T. caespitum* nelle aree urbane sono a tutt’oggi molto scarse. Solo grazie al progetto di Citizen Science “School of Ants: a scuola con le formiche” è stata descritta la mirmecofauna di alcune aree verdi della città di Parma, ottenendo informazioni preliminari sulla distribuzione e sull’abbondanza della specie allora riconosciuta come *T. caespitum* s.l. (lo studio è avvenuto prima della revisione sistematica condotta da Wagner *et al.*, 2017). I risultati dello studio hanno inoltre sottolineato che *T. caespitum* s.l. è stata la sola specie del complesso a essere presente in tutte le aree indagate (Lucky *et al.*, 2014). Successivamente, lo stesso progetto ha permesso di analizzare la mirmecofauna delle aree antropizzate di 12 Parchi regionali lombardi; in questo caso, i risultati hanno mostrato che solo *T. immigrans* era presente in tutti i siti campionati, confermando la

preferenza di questa specie per gli ambienti interessati dalla presenza umana (Castracani *et al.*, 2020). Dunque, le informazioni presenti in letteratura danno indicazioni sull'areale di distribuzione e sulle preferenze climatiche riguardanti le due specie del complesso che in generale meno risentono del disturbo antropico, seppur tra loro con gradi di tolleranza differenti, fornendo inoltre evidenze del fatto che esse possono essere osservate con facilità all'interno delle aree verdi urbane.

Cap 2 ~ SCOPO

La perdita di *key habitat* dovuta all'urbanizzazione pone una seria minaccia alla biodiversità, il cui declino non comporta solo una perdita a livello di patrimonio naturale, ma influisce anche sul benessere umano (Dearborn & Kark, 2010; Sandifer *et al.*, 2015). Pertanto, diventa fondamentale costruire città ecosostenibili e questo scopo può essere raggiunto anche mediante la valutazione dell'impatto antropico sugli elementi naturali presenti nelle aree urbane. Queste valutazioni sono possibili attraverso l'impiego dei così detti organismi bioindicatori (Kohler & Schneider, 2003; Castracani & Mori, 2006). Fra i possibili bioindicatori, le formiche si prestano per studi relativi l'impatto antropico avendo caratteristiche peculiari tra le quali, per esempio, essere ubiquitarie, abbondanti e sensibili ai cambiamenti climatico ambientali (Menke *et al.*, 2011; Buczkowski & Richmond, 2012; Nooten *et al.*, 2019). Recentemente, studi riguardanti l'ambiente urbano hanno interessato le specie del complesso *Tetramorium caespitum*: delle dieci specie paleartiche che compongono il complesso, *T. immigrans* si è distinta in quanto è risultata maggiormente adattata agli ambienti disturbati. È noto che *T. immigrans* sia presente all'interno dei contesti urbanizzati di diverse città europee, anche se gli studi più recenti, riguardanti il rapporto tra urbanizzazione e *T. immigrans*, provengono principalmente dalla Francia (Cordonnier *et al.*, 2019a; b; 2020a). Seppur vi sia indicazione della presenza delle specie del complesso anche nelle città italiane, come, per esempio, Parma (Lucky *et al.*, 2014; Castracani *et al.*, 2020), la situazione a livello nazionale rimane generalmente poco indagata e conferme sulla presenza esclusiva di *T. immigrans* nelle aree urbane devono essere ancora verificate. Pertanto, lo scopo di questo progetto di Dottorato è quello di **valutare gli adattamenti eto-ecologici delle specie del complesso *Tetramorium caespitum* in ambiente urbano e la loro efficacia come bioindicatori degli ambienti urbani**. Per raggiungere il suddetto scopo, sono state individuate 4 linee di ricerca le quali si propongono di:

- 1) Valutare l'effetto della tipologia delle aree verdi urbane sulla comunità delle formiche e, in particolare, sulle specie del complesso *Tetramorium caespitum*;
- 2) Sviluppare un efficace protocollo di riconoscimento tassonomico delle specie del complesso *T. caespitum*;
- 3) Determinare quali sono i fattori e gli adattamenti comportamentali che influenzano la specie *T. immigrans* nella competizione per le risorse;
- 4) Indagare un possibile utilizzo di strumenti da parte della specie *T. immigrans* come strategia competitiva durante l'attività di foraggiamento.

CAP 3 ~ Ruolo di
Tetramorium immigrans
COME BIOINDICATORE
IN AREE VERDI URBANE

3.1 INTRODUZIONE

3.1.1 Le aree verdi urbane di Parma

Il documento “Rapporto sulle performance ambientali delle città 2019” (Fiorillo *et al.*, 2018) illustra 18 indicatori utilizzati per determinare una classifica delle performance ambientali di 104 capoluoghi di provincia italiani. Gli indicatori hanno valutato principalmente la qualità della gestione di aria, acque, rifiuti, mobilità, verde urbano ed energia. A ciascun capoluogo è stato assegnato un punteggio, che poteva raggiungere il valore massimo di 100, costruito caso per caso sulla base degli obiettivi di sostenibilità del comune. All’interno di tale classifica, Parma è stata inserita al quinto posto, dopo Trento, Mantova, Bolzano e Pordenone, risultando quindi uno dei comuni di maggiore rilevanza per quanto riguarda la qualità ambientale (Laurenti & Bono, 2019).

Inoltre, il Rapporto (ISTAT, 2019) ha osservato come tanto la densità di verde storico e parchi urbani quanto la disponibilità di verde urbano fossero positivamente correlati al benessere dei cittadini di Parma. Di fatto, il tessuto urbano di Parma si estende su una superficie di 260.6 km², il 4% dei quali è costituito da aree verdi urbane (ISTAT, 2015) e, per ogni cittadino presente nel comune di Parma, è stata calcolata una disponibilità di verde urbano pro capite di 10,6 m² (Laurenti & Bono, 2019; ISTAT, 2019).

Dunque, tenendo in considerazione la grande disponibilità di aree verdi e la qualità delle stesse, la città di Parma può essere considerata come un buon modello di studio per le indagini proposte dal progetto di dottorato.

Di seguito è riportato l’elenco delle 104 aree verdi presenti a Parma, suddivise per quartiere (Cortesi, 2009).

Aree verdi urbane della città di Parma

Parma Centro

Parco Primo Maggio - Parco Urbano
Parco Falcone Borsellino - Parco Urbano
Viale P. M. Rossi / V. Le S. Michele - Parterre Alberato
P. Le Della Pace - Piazza Verde
P. Le Boito - Piazza Verde
Parco Giardini S. Paolo - Parco Storico
P. Le Dalla Chiesa - Piazza Verde

P. Le Salvo D'acquisto - Piazza Verde
Parco Pellegrini / P. Le Allende - Area Verde Attrezzata

Quartiere Oltretorrente – Molinetto

Parco Giardino Ducale - Parco Storico
Parco V.Portofino / V.S.Remo - Parco Urbano

Parco V.Re (Vigheffio) - Parco Periferia
Parch. Dei Mille/V.Le Vittoria - Viale Alberato con parcheggio

Via Varese - Area Verde Attrezzata
Via Baganza - Area Verde
Via Orzi Baganza - Area Verde Attrezzata
P.Le Chaplin/Campo Gioco - Area Verde Attrezzata
Via Fleming / V.Tagliaferri - Area Verde
Via Pini / V. Di Nanni - Area Verde Attrezzata

Via Bocchi / V. La Grola (Ernani) - Area Verde
Via Bocchi / V. La Grola (Ernani) - Area Verde
Via Cremonese Parco Fognano - Area Verde Attrezzata
P.Le Martin Luter King Fognano - Area Verde Attrezzata

Via Gandhi Fognano - Area Verde Attrezzata
Via Lizzardi Peep S. Pancrazio - Area Verde Attrezzata
P.Le Faraboli San Pancrazio - Piazza Verde
Q.Re San Pancrazio Q.Re Pirani - Area Verde Attrezzata

Via San Pancrazio V. Bertucci - Area Verde Attrezzata
Loc. Vicofertile Peep - Area Verde Attrezzata
Peep Baganzola Peep - Area Verde Attrezzata
P.Le Michelangelo - Piazza Verde
P.Le Pablo - Piazza Verde

Via Minghetti - Area Verde Attrezzata
Loc. Orti Crocetta - Area Gioco Bimbi - Area Verde Attrezzata
Via Di Nanni - Area Verde Attrezzata
Via Di Nanni Pedonale - Incolto

Viale Osacca - Viale Alberato

P.Le Matteotti - Piazza Verde

Quartiere San Leonardo

Parco Naviglio Alto - Parco Urbano
Peep Paradigna, Parco urbano - Area Verde Attrezzata
Via Colombo / V.Cortopasso - Area Verde Attrezzata
Via Lanfranchi (Q.Re Benedetta) - Area Verde Attrezzata
Via Lanfranchi / V.Magnanini - Area Verde Attrezzata
Via Micheli - Area Verde Attrezzata
Via Chierchi (Peep Naviglio Alto) - Area Verde Attrezzata
Via Bassano Del Grappa - Area Verde Attrezzata
Via Zaccari - Area Verde

Via Strobel-V.Camesasca - Area Verde Attrezzata
Via Flavio D'angelo - Area Verde Attrezzata
Via Guarini / V.Franco - Area Verde
Via Testi - Area Verde
P.Le Salsi - Area Verde Attrezzata

Quartiere Lubiana San Lazzaro

Parco Martini - Parco Urbano
Strada S.Bruno/Parco delle Lavandaie - Area Verde Attrezzata

Via Passo Del Cirone - Area Verde Attrezzata
Via Sofia - Area Verde Attrezzata

Via Rosmini / V.Irnerio - Area Verde Attrezzata
Via Parigi / V.Atene - Area Verde

Peep S.Lazzaro Est - Parco urbano/ Area Verde Attrezzata

Peep Sidoli - Parco urbano/ Area Verde Attrezzata
Via Einstein - Area Verde Attrezzata

Via Pascal - Area Verde Attrezzata
Via Marziale (P.Le Fedro) - Area Verde Attrezzata

Via Bavagnoli - Area Verde Attrezzata

P.Le Lubiana - Piazza Verde

Via Newton - Area Verde Attrezzata

Via Bernardelli / Burani S.Prospiero - Area Verde Attrezzata

Parco Casati - Area Verde Attrezzata

Parco 24 Maggio / V. Buddellungo - Parco Urbano

Via Cocconi - Area Verde Attrezzata

Quartiere Cittadella

Parco Cittadella - Parco Urbano

Parco Ferrari - Parco Urbano

Parco Parma '80 - Area Verde Attrezzata

Via La Malfa - Area Verde Attrezzata

Via Brigate Julia - Area Verde Attrezzata

Peep S. Eurosia - Via Casaburi - Area Verde Attrezzata

Via Terranova + Argine - Area Verde Attrezzata

Peep Montebello - Parco urbano/Area Verde Attrezzata

P.Le Maestri - Piazza Verde

Quartiere Montanara

Via Langhirano - Area Verde

Via Bramante - Area Verde Attrezzata

Via Zanguidi / V. Torr. Pelpirana - Area Verde Attrezzata

Via Montanara/via Aleotti - Parco Urbano/Area Verde Attrezzata

Q.Re Cinghio – Parco urbano/Area Verde Attrezzata

Loc. Corcagnano Municipio - Area Verde Attrezzata

Peep Corcagnano - Area Verde Attrezzata

Via Cava Carignano - Area Verde Attrezzata

Via Oliva Carignano - Area Verde Attrezzata

Peep Vigatto - Area Verde

3.2 SCOPO

In un contesto di continua crescita del tasso di **urbanizzazione** e della perdita di biodiversità, le aree verdi urbane possono giocare un ruolo fondamentale nella conservazione delle specie (Clarke *et al.*, 2008). In generale, esistono diversi tipi di aree verdi urbane, le quali si distinguono in aree naturali, semi-artificiali, ad aree completamente artificiali (Angold *et al.*, 2006; Mitchell & Popham, 2008; Aronson *et al.*, 2017; Melliger *et al.*, 2017; Knapp *et al.*, 2019). Inoltre, una corretta progettazione e gestione di queste aree verdi diventa essenziale in quanto si potrebbe formare una rete di aree verdi che, connesse fra loro, fornirebbero *habitat* idonei a ospitare specie sia vegetali che animali, contribuendo a incrementare la biodiversità urbana (Angold *et al.*, 2006; Pacheco & Vasconcelos, 2007; Aronson *et al.*, 2017; Filazzola *et al.*, 2019). Purtroppo non tutte queste aree sono idonee a ospitare e conservare la diversità biologica cittadina e, pertanto, deve essere condotta una valutazione (Aronson *et al.*, 2017).

Le formiche sono modelli particolarmente idonei per gli studi di etoecologia di comunità e per studiare gli effetti dell'urbanizzazione, in quanto sono ben adattate agli *habitat* urbani, sono ubiquitarie, abbondanti e diversificate, sono particolarmente sensibili all'attività antropica e si possono osservare e campionare con metodologie semplici ed economiche. Ciononostante, il loro ruolo come bioindicatori è ancora poco studiato in Italia e ulteriori approfondimenti sono necessari. Alla luce di queste considerazioni, l'obiettivo di questa linea di ricerca è quello di confrontare le **comunità di formiche** presenti all'interno di due categorie di aree verdi della città di Parma, le quali differiscono per la proporzione di superficie pavimentata e vegetata. Tale confronto ha lo **scopo di valutare l'effetto della tipologia delle aree verdi urbane sulla comunità delle formiche e sulle specie del complesso *T. caespitum***. Per indagare tale scopo sono stati individuati due sotto-obiettivi, ovvero valutare se differenti tipologie di verde pubblico possano avere effetto su

1) presenza e abbondanza (valutazione della dominanza numerica)

2) adattamenti comportamentali (valutazione della dominanza comportamentale)

della mirmecofauna e, in particolare, delle specie del complesso *T. caespitum*.

3.3 MATERIALI e METODI

3.3.1 Area di studio

Per portare a compimento gli obiettivi del progetto, come prima cosa sono state determinate le aree di studio all'interno della città di Parma. Sono state individuate, in via preliminare, 35 aree verdi mediante l'utilizzo di un software per la rilevazione di immagini satellitari quale Google Earth Pro (versione 7.3.2). La scelta è ricaduta su quelle aree verdi che potessero differenziarsi fra loro sulla base di una diversa composizione in termini di superficie pavimentata, di superficie erbosa e di superficie arborea. Dalla selezione sono state escluse tutte quelle aree verdi classificate come parchi storici in quanto, generalmente, all'interno delle città questa tipologia di parchi non è numerosa e non può offrire la possibilità di avere sufficienti repliche sperimentali. Non sono state considerate neppure quelle aree verdi che al loro interno presentavano strutture per le attività sportive come campi da calcio, da rugby e da pallavolo. Inoltre, grazie alla ricerca svolta con Google Earth Pro è stato possibile ottenere l'area in metri quadrati di ciascun parco e si è deciso di selezionare aree verdi con dimensioni che potessero rientrare in un *range* compreso tra i 2000 e i 2500 m². Per le aree di dimensioni superiori ai 2500 m² è stata appositamente selezionata e delimitata l'area di studio escludendo l'eccedenza. Le dimensioni adottate come criterio per la selezione delle aree verdi sono state ritenute adeguate a un idoneo sforzo di campionamento condotto nella stagione estiva del 2019 e, allo stesso tempo, hanno consentito di selezionare più repliche sperimentali per la stessa categoria funzionale.

In seguito, sono stati svolti **sopralluoghi** finalizzati alla verifica delle effettive condizioni delle aree selezionate, ovvero della struttura architettonica e degli elementi di arredo urbano in esse presenti. Di conseguenza, è stato deciso di escludere dalla scelta tutti quei parchi che presentavano al loro interno l'area di sgambamento per cani o infrastrutture in cemento come gazebi e piazzole di ritrovo, tutti elementi che avrebbero reso disomogenea la superficie di campionamento. Sono stati invece annotati tutti quegli elementi di arredo urbano presenti e comuni alle aree verdi selezionate come panchine, bidoni per la raccolta dei rifiuti, fontanelle, aree gioco per bambini e presenza di edifici ai margini dei parchi che ne delineassero i confini. Inoltre è stata registrata la presenza o l'assenza di stradine e camminamenti per il percorso ciclo-pedonale. Tutte le componenti annotate hanno permesso di comprendere la finalità d'utilizzo delle aree verdi urbane visitate. In generale, esse hanno in comune lo scopo di

fungere da luoghi di ritrovo dove la popolazione può aggregarsi spontaneamente in attività sociali, ricreative e di svago, sia per singoli individui e sia per famiglie. Quindi, dal *pool* iniziale di 35 aree verdi urbane, sono state selezionate **12 aree totali**. La scelta del numero finale è risultata compatibile con un adeguato sforzo di campionamento e realizzata in modo tale che le aree verdi fossero omogeneamente distribuite all'interno del tessuto urbano di Parma. Per ciascuna area è stata poi calcolata la percentuale di copertura erbosa, arborea e pavimentata, tramite l'impiego di Google Earth Pro. Infine, le 12 aree selezionate sono state confrontate in termini di percentuale media di copertura pavimentata, erbosa e arborea, venendo suddivise in 2 tipologie, con 6 aree per tipo, come indicato di seguito e illustrato in **Fig.3**.

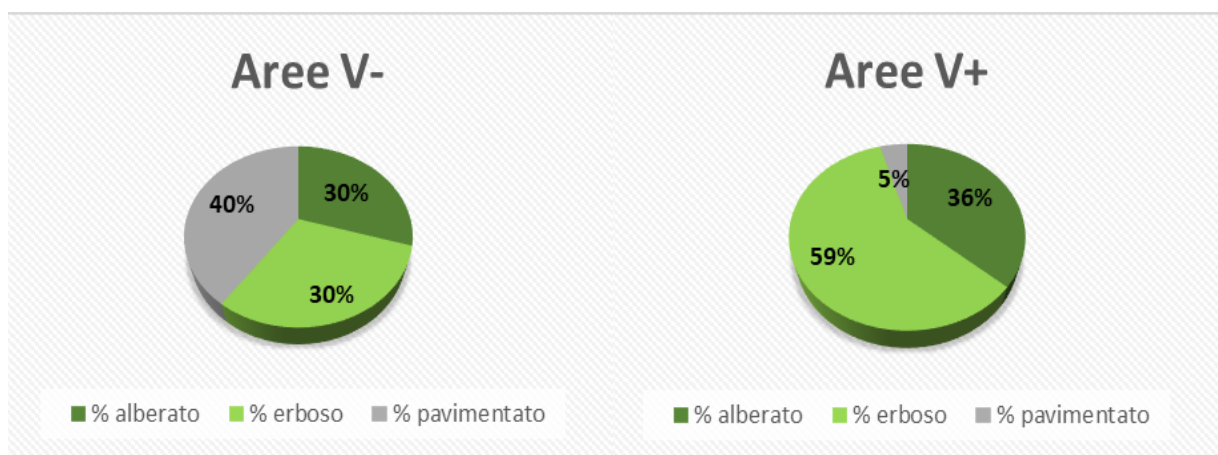


Fig.3 Percentuale media di copertura erbosa, alberata e pavimentata nelle Aree V+ e nelle Aree V-.

1) Piazzali (V - = Verde -) caratterizzati da un'ampia porzione di superficie pavimentata (30-60% sul totale di superficie) che può comprendere, oltre a percorsi ciclo pedonali, aiuole e cordoli che delimitino le porzioni vegetate; queste aree includono al loro interno aree gioco per bambini.

2) Aree Attrezzate (V + = Verde +) caratterizzate da una porzione di superficie pavimentata ridotta (5-30% sul totale di superficie), limitata ai percorsi ciclo pedonali, se presenti, e da una porzione di superficie vegetata che invece occupa interamente o quasi l'area considerata; anche queste aree verdi includono al loro interno aree gioco per bambini.

All'interno di ciascuna area verde è stata poi operata un'ulteriore suddivisione in "zone erbose" e "zone pavimentate" al fine di garantire un campionamento più omogeneo delle diverse tipologie di *microhabitat* presenti all'interno delle singole aree. Le "zone erbose" sono definite come porzioni dell'area verde caratterizzate dall'assenza, nelle immediate vicinanze, di

marciapiedi, cordoli, muretti, aree giochi o altre strutture cementate; possono presentare copertura erbosa, lettiera, suolo privo di vegetazione e ospitare alberi e arbusti. Le “zone pavimentate” sono invece porzioni dell’area verde attigue a zone cementate, come marciapiedi, muretti, stradine, piazzali, cordoli. In **Tab.1** sono riassunte le 12 aree verdi selezionate, suddivise per categoria.

Categoria	Nome	Coordinate geografiche	Superficie totale (m ²)	% Pavimentata	% Erbosa	% Alberata
V-	Lubiana (1)	44.791N 10.352E	2592	30	50	20
V-	Maestri (2)	44.785N 10.337E	2104	48	22	30
V-	Matteotti (3)	44.799N 10.316E	2326	52	22	26
V-	Pablo (4)	44.808N 10.310E	2323	37	26	37
V-	Rondani (5)	44.798N 10.321E	2000	30	30	40
V-	S. d'Acquisto (6)	44.804N 10.333E	2598	45	30	25
V+	Brigate Julia (7)	44.784N 10.333E	2472	0	55	45
V+	Casati (8)	44.787N 10.358E	2295	0	60	40
V+	Chaplin (9)	44.795N 10.300E	2898	0	75	25
V+	Cocconi (10)	44.808N 10.346E	2126	5	35	60
V+	Leporati (11)	44.801N 10.311E	2687	4	67	29
V+	Pellegrini (12)	44.804N 10.338E	2509	18	62	20

Tab.1 Aree di studio nella città di Parma. Per ciascuna area, è riportato il nome e, tra parentesi, il codice numerico, l’ubicazione, la superficie in cui si sono svolti i campionamenti e le percentuali di superficie pavimentata, erbosa e alberata, di ciascuna area verde.

Di seguito sono riportate le fotografie delle 12 aree verdi.



Fig.4 Piazzale Lubiana



Fig.5 Piazzale Maestri



Fig.6 Piazzale Matteotti



Fig.7 Piazzale Maestri



Fig.8 Piazzale S. d'Acquisto



Fig.9 Piazzale Rondani

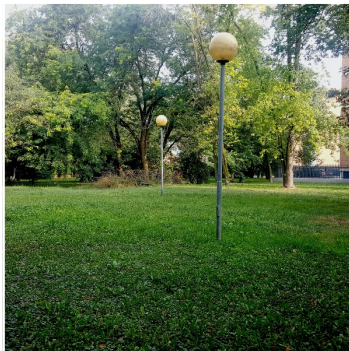


Fig.10 Parco Brigate Julia

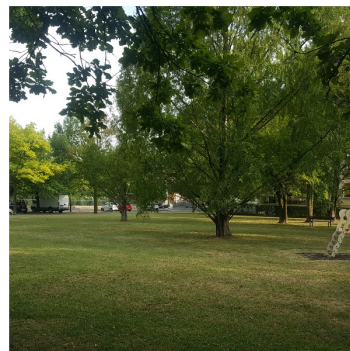


Fig.11 Parco Casati



Fig.12 Parco Chaplin



Fig.13 Parco Cocconi



Fig.14 Parco Leporati



Fig.15 Parco Pellegrini

3.3.2 Selezione delle metodologie di campionamento

In generale, le tecniche di raccolta dei campioni entomologici, come quelle utilizzate per le formiche, possono essere classificate in attive e passive. Si definiscono tecniche attive quelle metodologie che richiedono il campionamento diretto degli individui o delle colonie, prevedendo quindi che l'operatore ricerchi attivamente le formiche all'interno dell'area di studio. Per esempio, il *baiting* può essere considerato una tecnica attiva qualora si effettuino *continuous* o *scan sampling* per studi sulle interazioni interspecifiche e richiede un certo grado di conoscenza delle specie osservate. Mentre le tecniche passive, al contrario, non richiedono la presenza continuativa di un operatore specializzato (Bestelmeyer *et al.*, 2000b; Lach *et al.*, 2010). Le tecniche passive includono metodologie come il *pitfall trapping*, l'utilizzo dell'imbutto di Berlese o del selettore di Winkler. Soffermandoci sulla descrizione di queste tecniche, entrambe le metodologie di campionamento presentano una serie di vantaggi e svantaggi. In generale, le tecniche attive sono difficili da replicare tra operatori diversi, perché limitate dall'efficienza nella ricerca dei singoli operatori, dalla variabilità nell'esecuzione delle tecniche di campionamento tra un operatore e l'altro e dalle differenze nella rilevabilità delle diverse specie (Bestelmeyer *et al.*, 2000a; Underwood & Fisher, 2006). Nonostante queste limitazioni, le tecniche attive risultano le più efficaci nel determinare la ricchezza di specie massima effettuando un censimento completo dell'area di studio, ma al contempo, richiedono un tempo maggiore e numerosi operatori specializzati. Gli svantaggi delle tecniche passive riguardano il fatto che queste ultime tendono a sottostimare il numero di specie presenti poiché i dati che si ottengono sono fortemente influenzati dalle differenze comportamentali e dal tipo di *habitat* occupato dalle specie. Ad esempio, il campionamento della lettiera con gli estrattori Winkler o con gli imbuti di Berlese risulta essere un metodo più efficace in *habitat* ricchi in strati di lettiera, mentre si rivela poco adeguato in *habitat* più secchi e poveri in lettiera. I vantaggi invece presentati da queste tecniche consistono nel fatto che sono facilmente replicabili e non richiedono un equipaggiamento costoso per raccogliere dati sulla presenza e l'attività delle formiche nei pressi dei siti di campionamento.

Per rispondere alle esigenze della ricerca, è stata selezionata la metodologia delle trappole a caduta, ovvero le *pitfall trap*, per la valutazione della dominanza numerica, mentre per la stima della dominanza comportamentale la metodologia delle trappole con esca alimentare, ovvero le *bait*.

3.3.3 Pitfall trapping

Il *pitfall trapping* è una tecnica standardizzata rappresentante uno dei metodi di campionamento più comuni (Folgarait 1998; Bestelmeyer *et al.*, 2000a) e frequentemente utilizzati per studiare la ricchezza e le abbondanze relative delle specie di artropodi epigei in una determinata area di campionamento, fornendo un risultato rapido e ripetibile (Andersen 1991; Cerdà *et al.*, 1998b; Bestelmeyer *et al.*, 2000a; Clarke *et al.*, 2008; Sanford & Murphy, 2009; Reyes-Lopez & Carpintero, 2014). Una delle prime ricerche che ha impiegato questa metodologia per analizzare la struttura di comunità della mirmecofauna è stata condotta in Australia nei primi anni Novanta. Nello studio sono state comparate, in termini di efficacia della stima delle abbondanze relative delle specie, la metodologia dei quadrati e quella delle *pitfall trap*. Dal confronto fra le due tecniche di campionamento è emerso come queste metodologie potessero in ugual modo fornire stime ragionevoli sulle abbondanze relative delle specie di formiche presenti nella comunità (Andersen, 1992). Nello stesso decennio, studi condotti nel bacino mediterraneo hanno utilizzato le trappole a caduta per comprendere quale ruolo avessero la temperatura e la competizione nel delineare le gerarchie di dominanza di diverse comunità di formiche presenti in *habitat* naturali del sud della Spagna (Cerdà *et al.*, 1998b). Successivamente, questa metodologia è stata impiegata con successo non solo per studi in ambienti naturali, ma anche per studi di comunità della mirmecofauna in ambiente urbano, permettendo di raccogliere dati sulla composizione della comunità e sulle distribuzioni e abbondanze specifiche (Vanderwoude *et al.*, 1997; Lindsey & Skinner, 2001; Andersen & Majer, 2004; Underwood & Fisher, 2006; Angold *et al.*, 2006; Clarke *et al.*, 2008; Pećarević *et al.*, 2010; Menke *et al.*, 2011; Gallé, 2017; Santos, 2016; Triyogo *et al.*, 2020; Guariento & Fiedler, 2021).

Le *pitfall* hanno rappresentato una metodologia di campionamento efficiente per indagare l'effetto delle aree verdi urbane sulla frequenza e sull'abbondanza delle specie del complesso *T. caespitum* per la stima della **dominanza numerica**. La dominanza numerica è generalmente riferita a quelle specie che, all'interno della comunità nella quale sono presenti, possiedono alti valori di abbondanza (in termini di biomassa) rispetto alle altre specie simpatriche (Lach *et al.*, 2010).

3.3.3.1 Piano sperimentale

Il campionamento si è svolto tra maggio e settembre 2019 e ha compreso due giorni di campionamento distribuiti in 6 sessioni, come illustrato in **Tab.2**.

Sessione	Date
	Piazzamento - Ritiro
1	14/05/2019 – 16/05/2019
2	04/06/2019 – 06/06/2019
3	17/07/2019 – 19/07/2019
4	19/08/2019 – 21/08/2019
5	04/09/2019 – 06/09/2019
6	16/09/2019 – 18/09/2019

Tab.2 Calendario dei campionamenti effettuati nel 2019.

Da dati presenti in letteratura risulta che la maggior parte delle specie di formiche foraggiano a temperature comprese tra i 10°C e i 45°C (Cerdà *et al.*, 2013) e le specie del complesso *Tetramorium caespitum* foraggiano preferenzialmente con una temperatura media di 16°C (Wagner *et al.*, 2017; Cordonnier *et al.*, 2019b). Queste informazioni sono state considerate per programmare e condurre le attività in campo. La prima sessione ha avuto durata maggiore a causa delle condizioni metereologiche avverse che hanno causato una riprogrammazione delle attività di campo.

3.3.3.2 Protocollo di campionamento

Il numero di trappole impiegate per ciascuna area è stato deciso in riferimento allo studio condotto da Clark e colleghi (2008), in cui era previsto l'utilizzo di un minimo di 5 *pitfall trap* per ettaro. Sono state, quindi, impiegate 4 trappole a caduta in ciascuna area, per un totale di 288 trappole (4 trappole x 12 aree x 6 sessioni di campionamento). Le trappole utilizzate nel presente studio sono costituite da provette di tipo *Falcon* (cilindriche e a fondo conico), in polipropilene chiarificato, un materiale particolarmente adatto in quanto flessibile e durevole. Ciascuna trappola ha capacità 50 ml e misura 30 mm di diametro e 115 mm di altezza; il diametro della trappola è importante in quanto può influenzare la sua efficacia di cattura nei confronti delle specie di dimensioni maggiori. Nel caso delle formiche, un diametro di 30 mm risulta sufficiente (Bestelmeyer *et al.*, 2000a). Le *pitfall* sono state riempite con 20 ml di propandiolo (glicole propilenico), un liquido di conservazione inodore, incolore, poco volatile e non tossico per i vertebrati, che non attrae né repelle le formiche (Bestelmeyer *et al.*, 2000a). Il piazzamento delle trappole a caduta è stato eseguito tramite l'utilizzo di martelli e picchetti;

Delle 4 *pitfall* posizionate per area, due sono state collocate in zone erbose e due in zone pavimentate in modo da garantire un campionamento più omogeneo (**Fig.16**).



Fig.16 Nell'immagine **A** è possibile osservare il kit per il piazzamento delle *pitfall trap* composto da martello, picchetto e la trappola da posizionare (provetta tipo Falcon 50 ml per 30x115 mm), mentre in **B** è presentato un esempio di come le trappole sono state posizionate nell'area di studio. Le trappole 1 e 2 sono collocate nella "zona erbosa", mentre e le trappole 3 e 4 nella "zona pavimentata". Nelle fotografie in basso (**C** e **D**) è fotografata una *pitfall* posizionata nella zona pavimentata (sinistra) e nella zona erbosa (destra).

In generale è molto importante che durante le operazioni di posizionamento delle trappole si proceda effettuando uno scavo all'interno del terreno abbastanza profondo per permettere al bordo della stessa trappola di essere rasente la superficie del suolo. In questo modo si minimizza l'effetto di disturbo che la trappola potrebbe portare al suolo, influenzando in modo

negativo la cattura delle formiche; se questo si sollevasse dal terreno potrebbe determinare una sottostima delle specie più piccole o più diffidenti, che in queste condizioni non cadrebbero nella trappola (Bestelmeyer *et al.*, 2000a). Le trappole sono state aperte e lasciate in campo per 48 ore. La durata del campionamento è un fattore che può influenzare il numero di specie che possono essere raccolte: in generale, un periodo di 2 o 3 giorni è sufficiente per raccogliere gli individui che foraggiano attorno alla trappola e per fornire una misura adeguata della loro abbondanza relativa (Bestelmeyer *et al.*, 2000a). Terminato l'intervallo di 48 ore, le trappole sono state prelevate tramite l'utilizzo di pinze e a ciascuna di esse è stata assegnata un'etichetta indicante la data di prelievo, l'area verde in cui è stata piazzata e un numero progressivo da 1 a 4, assegnato in base all'ordine di ritiro (**Fig.17**). Inoltre, ciascuna trappola è stata geolocalizzata e le sue coordinate sono state inserite sulla mappa dell'area in cui è stata piazzata, utilizzando Google Earth Pro (7.3.2).

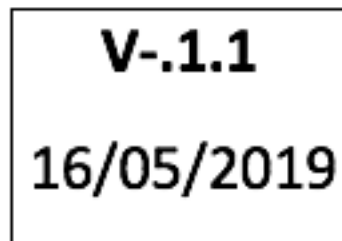


Fig.17 Esempio di etichetta applicata alle trappole a caduta; qui viene indicata l'area verde in cui è stata piazzata (le Aree V- sono distinte tramite numeri progressivi da 1 a 6, le Aree V+ sono distinte tramite numeri progressivi da 7 a 12), un numero indicante l'ordine di ritiro (in questo caso l'1 indica che questa è stata la prima trappola ad essere stata rimossa) e la data di ritiro.

3.3.3.3 Processamento dei campioni e riconoscimento delle specie

Le *pitfall* sono poi state portate in laboratorio dove è stato eseguito il processamento, ovvero il procedimento mediante il quale i campioni vengono suddivisi e riconosciuti tassonomicamente. Durante questa prima fase il contenuto di ciascuna *pitfall* è stato sversato e filtrato e in seguito è stato esaminato separando, in un primo momento, gli altri artropodi dalle formiche, contando queste ultime senza distinguerne genere o specie. Sia gli artropodi non formicidi, sia le formiche, sono stati posti temporaneamente in provette tipo Eppendorf riempite con etanolo al 70% in modo da essere preservati, senza che colore e consistenza venissero alterati, fino al momento dell'identificazione. Durante la fase di riconoscimento tassonomico sono state analizzate solamente le formiche. Queste ultime sono state identificate al livello di specie tramite l'utilizzo di uno stereomicroscopio (Zeiss, modello Stemi 508) e la

3.3.3.5 Analisi statistiche

Tutte le analisi statistiche sono state eseguite utilizzando il software R v.3.6.2 (R Core Team 2019).

Non-metric Multidimensional Scaling (NMDS)

Per analizzare i dati raccolti attraverso le *pitfall trap*, è stata eseguita la *Non-metric Multidimensional Scaling* (NMDS) utilizzando il pacchetto *vegan* (v.2.5.6). L'NMDS permette di comprendere quanto due o più comunità possano sovrapporsi, cioè risultare simili o differenti, sulla base della composizione in specie, ovvero della *species richness*, delle abbondanze e delle frequenze specifiche. Operativamente, questa metodologia statistica ordina gli oggetti, inseriti nell'analisi, all'interno di una matrice delle distanze di Bray – Curtis (Legendre & Legendre 2012). In ecologia e in biologia la matrice delle distanze di Bray – Curtis è utilizzata per quantificare la dissimilarità tra due diversi siti sulla base della composizione in specie di ciascun sito, operando sulle abbondanze delle specie in essi presenti. Nel caso di analisi su comunità animali e vegetali la dissimilarità o la similarità derivano dalle specie condivise o non condivise fra le comunità oggetto d'esame (Legendre & Legendre 2012; Borcard *et al.*, 2018). La funzione NMDS si adatta bene a qualsiasi tipo di dato e, operando mediante una procedura iterativa attraverso un algoritmo complesso, cerca di ordinare gli oggetti all'interno della matrice delle distanze di Bray – Curtis, posizionando questi ultimi nel numero di dimensioni richiesto, in modo tale da rendere le distanze calcolate il più vicino possibile a quelle riportate nella matrice di distanze fornita come input (il dataset di partenza). Il processo iterativo continua fino a quando una quantità chiamata “*stress*” viene minimizzata; questo parametro può assumere valori che vanno da 0 a 1 e misura quanto le distanze ottenute nello spazio ridotto (creato dall'analisi) si discostano da quelle osservate (i dati di partenza), trasformate a loro volta da una funzione monotonica. Più basso è il valore di stress ottenuto, più la rappresentazione degli oggetti nello spazio ridotto rispecchia le distanze reali misurate (Borcard *et al.*, 2018).

Nel presente studio, l'analisi NMDS ha permesso il confronto tra le comunità appartenenti alle categorie V+ vs V-, utilizzando come variabili le frequenze e le abbondanze specifiche. Per l'analisi è stato utilizzato l'indice di distanza di Bray-Curtis, il quale è stato applicato a due matrici:

- 1) una matrice contenente, per ognuna delle 12 aree verdi campionate, le **abbondanze** delle diverse specie registrate nel corso di tutta la stagione di campionamento

2) una matrice contenente, per ognuna delle 12 aree verdi campionate, le **frequenze** delle diverse specie, espresse come numero di trappole all'interno delle quali ogni specie è stata rinvenuta nel corso di tutta la stagione di campionamento.

In questo modo le comunità sono state confrontate sia sulla base delle abbondanze sia delle frequenze. La categoria di area verde è stata usata come variabile discriminante fra le comunità, sono stati calcolati i centroidi per ogni categoria e i *p value* sono stati ottenuti sulla base di 999 permutazioni.

ANOVA per misure ripetute (abbondanza e frequenza specifica)

In seguito, sempre con i dati relativi le *pitfall trap* è stata eseguita un'**ANOVA per misure ripetute**, la quale è servita per valutare quali specie sono influenzate, in termini di frequenza e abbondanza, dalla tipologia di area verde. In generale, l'Anova per misure ripetute si effettua quando un dato è stato preso più volte sulla stessa variabile, in date di campionamento successive (insulaR, 2020). Il test è stato eseguito solo per quelle specie che presentavano una frequenza totale maggiore o uguale a 20. Nell'analisi è stato inserito come fattore fisso la categoria di area verde (V- e V+) e le sessioni di campionamento come misure ripetute. I dati sulla frequenza e sull'abbondanza sono stati inseriti come variabili dipendenti. Questo tipo di Anova effettua automaticamente il Mauchly's Sphericity test e la Correzione Geisser Green-House per la sfericità, combinando la funzione *lm* con la funzione ANOVA del pacchetto *carData* (v.3.0-4) (datanovia, 2020; insulaR, 2020).

Andamento stagionale

È stato infine descritto l'andamento stagionale delle frequenze e delle abbondanze di ciascuna specie senza distinzione per la tipologia di area verde. Sono state, quindi, calcolate le frequenze totali per ogni sessione, ottenute sommando le frequenze che ogni specie ha mostrato nelle due categorie di area verde per quella specifica sessione. Medesima operazione è stata eseguita per le abbondanze.

3.3.4 Baiting

Le *bait* sono una metodologia di campionamento la quale, mediante l'impiego di un'esca alimentare, permette di attrarre le specie di interesse. Il *baiting* può essere impiegato per stimare la composizione e la ricchezza in specie, per osservare le attività di foraggiamento e i pattern comportamentali relativi alla competizione intraspecifica e interspecifica, o per stimare il contributo di una particolare specie all'interno dell'ecosistema valutandone i servizi che può fornire. Inoltre, l'abbondanza delle operaie foraggiatrici nei pressi delle *bait* può fornire informazioni sulla dominanza delle specie e sulla loro efficienza nel foraggiamento (Cerdà *et al.*, 1998b; Bestelmeyer *et al.*, 2000a; b Santini *et al.*, 2007). In aggiunta, i dati raccolti mediante osservazioni con le *bait* possono essere impiegati per definire parametri ecologici quali la dominanza ecologica e la dominanza comportamentale grazie al calcolo di indici comportamentali (Bestelmeyer *et al.*, 2000; Santini *et al.*, 2007; Lach *et al.*, 2010). In ambito entomologico, deve esser menzionato tra le prime ricerche che hanno impiegato la metodologia delle *bait* lo studio condotto da Freney nel 1932 e Fuller nel 1934 in Australia, sulla famiglia di ditteri Calliphoridae. Mentre uno dei primi studi in ambito mirmecologico è stato quello di Fellers nel 1987, dove questa metodologia è stata applicata per lo studio della competizione interspecifica come meccanismo che potesse influenzare i pattern di distribuzione delle specie all'interno della comunità. Inoltre, nello studio è stato osservato che il piazzamento dell'esca su un supporto cartaceo non interferiva con le attività di foraggiamento delle formiche, rendendo questa tecnica efficace ma non invasiva. Altri studi hanno utilizzato le *bait* per osservare, per esempio, i pattern di dominanza tra le specie analizzando la competizione interspecifica in funzione della temperatura in agroecosistemi italiani (Santini *et al.*, 2007), per indagare la composizione e la *species richness* di comunità di formiche presenti in foreste indonesiane (Asfya *et al.*, 2010) e comprendere se, in comunità di formiche mediterranee, fosse presente il *discovery-ability trade-off* (Castracani *et al.*, 2014). Questa metodologia comporta alcuni vantaggi quali l'essere poco costosa, semplice da applicare, molto versatile per i materiali di costruzione delle trappole (carta millimetrata o plastica), per la varietà di esche alimentari impiegabili e per la tipologia di substrato sul quale possono essere posizionate (suoli aridi, prati rasati o con vegetazione fitta, lettiere di bosco, pavimentazioni). In generale, gli alimenti solitamente impiegati come esca alimentare comprendono cibi proteici e cibi ricchi di carboidrati (Fellers, 1987; Bestelmeyer *et al.*, 2000; Santini *et al.*, 2007).

Per il presente studio, le *bait* hanno rappresentato una metodologia di campionamento efficiente per indagare l'effetto delle aree verdi urbane sulle strategie comportamentali che le

specie mettono in atto nel corso della competizione interspecifica e per studiarne la **dominanza comportamentale**. Generalmente, la dominanza comportamentale è determinata osservando le interazioni interspecifiche tra specie simpatriche (Lach *et al.*, 2010).

3.3.4.1 Piano sperimentale

Il campionamento è stato svolto da maggio a ottobre 2019, comprendendo 72 date di campionamento suddivise in 6 sessioni (12 date x 6 sessioni), iniziando il 10/05/2019 e finendo il 3/10/2019 (**Tab.3**). Le sessioni di campionamento non hanno avuto la stessa durata in quanto lo studio è stato soggetto alle influenze del tempo meteorologico. Come per il campionamento svolto con le *pitfall*, anche in questo caso sono stati rispettati gli stessi parametri di temperatura indicati dalla letteratura (Cerdà *et al.*, 2013; Wagner *et al.*, 2017; Cordonnier *et al.*, 2019b), riguardanti l'attività delle formiche, i quali sono stati utilizzati per programmare e condurre le attività in campo.

Sessione	Date
1	10/05/2019 – 07/06/2019
2	08/06/2019 – 28/06/2019
3	01/07/2019 – 18/07/2019
4	24/07/2019 – 08/08/2019
5	21/08/2019 – 04/09/2019
6	13/09/2019 – 03/10/2019

Tab.3 Calendario dei campionamenti effettuati nel 2019.

3.3.4.2 Protocollo di campionamento

Nel presente studio sono state posizionate 8 *bait* in ognuna delle 12 aree verdi, le quali sono state suddivise in 4 trappole nella “stazione erbosa” e 4 trappole nella “stazione pavimentata”. In ogni stazione, le trappole sono state posizionate a una distanza di circa 20 cm le une dalle altre (**Fig.20**). In totale, sono state utilizzate 576 *bait* (8 *bait* x 12 aree x 6 sessioni di campionamento). Ciascuna *bait* è stata costituita partendo da un foglio di carta millimetrata di dimensioni 6 x 9 cm, sul quale è stato posto tonno in olio d'oliva. La scelta è ricaduta sul tonno in quanto, essendo compatto e mantenendo una propria umidità per intervalli relativamente lunghi, garantisce un tempo d'osservazione prolungato, impedendo alle formiche di rimuovere l'esca dalla trappola e, allo stesso tempo, continuare ad attrarle. Inoltre, il tonno è una tra le esche alimentare maggiormente utilizzate in questo tipo di studi. Il retro di ciascuna *bait* è stato

impermeabilizzato mediante l'applicazione di nastro adesivo, il quale ha avuto la funzione di evitare che l'olio passasse nella pagina inferiore e che le formiche si collocassero al di sotto della *bait*, risultando non visibili all'occhio dell'operatore. Il protocollo d'osservazione è durato 2 ore, iniziando alle 9.00 del mattino e terminando alle 11.00. Le 2 ore di lavoro in campo sono state suddivise in 6 intervalli da 20 minuti ciascuno, durante i quali sono state condotte due tipi di osservazioni: *scan sampling* e *continuous sampling*. In Fig.21 è mostrata la scheda di campo utilizzata per questo studio.



Fig.20 Nelle foto in alto (A e B) sono mostrati un esempio di campionamento in zona erbosa e in zona pavimentata. Le foto in basso (C e D) mostrano due *bait* monopolizzate da *T. immigrans*.

Data		Area Verde			OSSERVAZIONI: Trappola (T1-T4), Interazione (Co-E-X), Specie (A-B-C..)				
Ora		Stazione			1				
					2				
					3				
					4				
					5				
					6				
					7				
					8				
					9				
					10				
					11				
					12				
					13				
					14				
					15				
					16				
					17				
					18				
					19				
					20				
					21				
					22				
					23				
					24				
					25				
					26				
					27				
					28				
					29				
					30				
					31				
					32				
					33				
					34				
					35				

Fig.21 Scheda per le osservazioni in campo. A sinistra, è stato registrato il numero di operaie di ogni specie presente al termine di ciascun intervallo di 20 minuti (*scan sampling*); a destra sono state registrate le interazioni interspecifiche: coesistenza, evitamento e attacco (*continuous sampling*).

3.3.4.3 Processamento dei campioni e riconoscimento delle specie

Le formiche prelevate dalle *bait* sono state conservate in provette Eppendorf riempite con etanolo al 70% fino al momento dell'identificazione in laboratorio. Il riconoscimento delle specie è avvenuto utilizzando lo stereomicroscopio (Zeiss, modello Stemi 508) e le stesse chiavi dicotomiche impiegate per il riconoscimento delle formiche campionate con le *pitfall* (Shattuck *et al.*, 2014; Lebas *et al.*, 2016; Seifert, 2018).

3.3.4.4 Scan sampling

Lo *scan sampling* è stato svolto al termine di ciascun intervallo di 20 minuti e in totale sono stati effettuati 6 *scan sampling*. Questo tipo d'osservazione ha previsto il conteggio delle formiche presenti su ciascuna *bait*, suddividendole per specie; quando non è stato possibile determinare il numero preciso di individui sulla *bait*, a causa dell'elevato numero di esemplari, è stata operata una stima. Tale stima è stata effettuata avvalendosi della griglia fornita dal foglio

di carta millimetrata dal quale è stata ritagliata la *bait*. È stato contato il numero di individui presenti in un'area di 1 cm² e, in seguito, sono stati moltiplicati per il numero di quadrati occupati dagli individui della stessa specie. Per le specie non identificabili a occhio nudo è stato possibile prelevare campioni attraverso un *putter*, ossia un aspiratore entomologico. Il prelievo di campioni, quando necessario, è stato effettuato solo al termine dei primi 20 minuti, in modo da non ostacolare eventuali attività di reclutamento.

3.3.4.5 Organizzazione dei dati

Le osservazioni condotte con l'impiego delle *bait* hanno permesso di stimare dati riguardanti l'*occurrence* delle diverse specie di formiche, ovvero il numero di trappole visitate dalle specie durante le singole sessioni di campionamento e, di conseguenza, durante l'arco di tutta la stagione di campionamento. Inoltre, gli stessi dati hanno permesso il calcolo di indici comportamentali. Dunque, per ogni singola specie di formica presentatasi alle *bait* è stato possibile associare un dato di *occurrence*, sia per la singola data di campionamento, che per la singola sessione o per l'intera stagione di campionamento, ed è anche stato calcolato l'indice di scoperta e di monopolizzazione della risorsa.

3.3.4.6 Analisi statistiche

Tutte le analisi statistiche sono state eseguite utilizzando il software R v.3.6.2 (R Core Team 2019).

Indici comportamentali

In generale, gli **indici di dominanza comportamentale** sono molto utili in studi di comunità all'interno dei quali si vogliono capire le relazioni che intercorrono tra le differenti specie di formiche che coesistono all'interno dello stesso *habitat* (Fellers, 1987; Santini *et al.*, 2007; Lach *et al.*, 2010). Attraverso questi indici sono calcolate delle proporzioni su un totale, le quali restituiscono valori compresi tra 0 e 1. In generale, al numeratore possono essere presenti o il numero di *bait* scoperte per prime o monopolizzate, oppure il numero di interazioni interspecifiche vinte dalla specie. Al denominatore, invece, è riportata l'*occurrence* della specie per la quale si sta calcolando l'indice o il numero di interazioni totali. Nello specifico, per lo studio condotto con l'impiego delle *bait*, sono stati calcolati indici comportamentali quali il *Monopolisation Index* (MI) e il *Discovery Ability Index* (DAI). Questi due indici sono stati calcolati nel seguente modo:

- **Discovery Ability Index (DAI)**

questo indice si ottiene dal rapporto fra il numero di trappole scoperte dalla specie i e il numero di trappole visitate dalla stessa specie i

$$DAI = \frac{N \text{ bait scoperte}}{N \text{ bait visitate}}$$

Una trappola si ritiene scoperta da una specie quando questa risulta la prima a visitarla, nel corso delle due ore di osservazione.

- **Monopolisation Index (MI)**

si ottiene dal rapporto fra il numero di trappole monopolizzate dalla specie i e il numero di trappole visitate dalla stessa specie i

$$MI = \frac{N \text{ bait monopolizzate}}{N \text{ bait visitate}}$$

Una trappola è stata considerata monopolizzata quando, nell'ultimo *scan sampling*:

- 1) sulla trappola è presente un'unica specie con almeno 5 individui
- 2) sulla trappola è presente più di una specie, ma la specie che monopolizza è presente con almeno il doppio degli individui rispetto alle altre specie.

Correlazioni di Pearson

Per studiare la struttura di comunità e comprendere le strategie per la competizione delle risorse delle diverse specie di formiche e, in particolar modo, di *T. immigrans*, sono state calcolate le seguenti correlazioni utilizzando il pacchetto *stats* (v.3.6.2):

- *Occurrence* vs numero di trappole monopolizzate
- Numero di trappole scoperte per prime vs numero di trappole monopolizzate
- *Occurrence* vs Indice di monopolizzazione (MI)
- *Discovery Ability Index* (DAI) e *Monopolisation Index* (MI) (*Discovery Ability Trade-off*)

Test del Chi-quadrato e Test di Fisher

Il Chi-quadrato è un test di statistica non parametrica il quale non richiede assunti specifici sulla distribuzione dei dati; in particolare, non richiede l'uguaglianza delle varianze tra i gruppi di studio o l'omoschedasticità nei dati e consente la valutazione sia di variabili indipendenti dicotomiche, sia di studi a gruppi multipli. In generale, questo test è utilizzato in lavori sperimentali dove i dati raccolti consistono in frequenze o conteggi e l'obiettivo è quello di

valutare la dipendenza o l'indipendenza tra le variabili (Zibran, 2007; McHugh, 2013; Kim, 2017). Il test di Fisher è invece usato nei casi in cui le osservazioni non sono numerose. In generale, questo test si applica quando il totale delle osservazioni è inferiore a 20, quando il valore osservato è inferiore a 10 o il valore atteso è inferiore a 5 (Finney, 1948). Nell'analisi sono state inserite solo quelle specie con *occurrece* maggiore alle 10 *bait*. Mediante questi due test, è stato valutato e confrontato l'effetto della "categoria di area verde", V- e V+, sulla singola specie per quanto riguarda l'abilità di scoprire per prime le *bait* e di monopolizzarle. In seguito, è stato valutato l'effetto della "specie" sull'abilità di scoprire per prime le *bait* e di monopolizzarle, separatamente, nelle due categorie di area verde. L'abilità di scoperta e di monopolizzazione è stata espressa come conteggio e, pertanto, a ogni specie è stato associato un numero di trappole scoperte e/o monopolizzate totali. Quando il totale dei casi è inferiore a 20, il valore osservato è inferiore a 10 o il valore atteso è inferiore a 5, è stato utilizzato il test di Fisher per confermare quanto ottenuto dal Chi-quadrato.

3.3.4.7 Continuous sampling

Il *continuous sampling* è stato svolto durante ciascuno dei 6 intervalli di 20 minuti e ha previsto l'osservazione ciclica di ogni *bait* per una durata complessiva di 4 minuti (suddivisi in 2 osservazioni da 2 minuti ciascuna); durante i 4 minuti di osservazione tutte le interazioni interspecifiche avvenute sulla *bait* sono state registrate su apposite schede, suddividendole in 3 categorie (Fellers, 1987):

- 1) Evitamento, quando uno dei due individui percepisce la presenza dell'altro e si allontana dalla *bait*;
- 2) Attacco, quando uno o entrambi gli individui mostrano comportamenti aggressivi l'uno verso l'altro (morso, trascinamento dell'avversario, *gaster flexing*, spruzzo di composti chimici dal gastro).

Nel caso dell'evitamento e dell'attacco è stato anche registrato l'esito del conflitto, ossia quale specie è rimasta sulla *bait* e quale invece è fuggita o è perita a seguito dello scontro.

3.3.4.8 Organizzazione dei dati

Le osservazioni condotte con l'impiego delle *bait* hanno permesso di stimare dati riguardanti le interazioni interspecifiche avvenute tra le specie di formiche. Questo ha permesso il calcolo di un terzo indice comportamentale e, inoltre, ha permesso di verificare la presenza o l'assenza

di una gerarchia di dominanza all'interno delle comunità presenti nelle due tipologie di area verde urbana. Dunque, a ogni specie è stato possibile associare il numero di interazioni interspecifiche vinte e perse per la singola data, sessione o per l'intera stagione di campionamento, calcolando dunque l'indice di dominanza comportamentale.

3.3.4.9 Analisi statistiche

Tutte le analisi statistiche sono state eseguite utilizzando il software R v.3.6.2 (R Core Team 2019).

Test del Chi-quadrato e Test di Fisher

Il test del Chi-quadrato e il test di Fisher sono stati utilizzati per confrontare il numero di interazioni interspecifiche dominanti effettuate dalla singola specie nelle due categorie V- e V+. Inoltre, è stato valutato l'effetto della "specie" sul numero di interazioni interspecifiche dominanti, separatamente, nelle due categorie di area verde. Nell'analisi non sono state inserite le coesistenze registrate tra le varie specie di formiche. Nell'analisi sono state inserite solo le specie con un numero di interazioni maggiori uguali alle 20.

David's score Index

L'importanza della gerarchia di dominanza nelle comunità naturali ha condotto gli studiosi allo sviluppo di molti metodi per la sua stima, partendo dalle interazioni sociali che possono intercorrere tra le specie presenti nelle comunità; uno di questi metodi è rappresentato dal **David's score** (Sanchez, 2017), il quale è stato realizzato utilizzando il pacchetto *Steepness* (v.0.2-2) (Leiva, 2014; Leiva & de Vries, 2014). In generale, questo tipo di analisi rappresenta un metodo statistico che, basandosi sulla matrice delle interazioni agonistiche che si verificano tra diadi di individui, calcola i ranghi di dominanza degli stessi individui (appartenenti alla stessa specie o a specie diverse). I ranghi di dominanza sono costruiti attribuendo a ciascun individuo dei punteggi, assegnati basandosi sul tipo di interazione comportamentale e sul numero di incontri vinti o persi dagli stessi individui. Dunque, questo metodo provvede a misurare il successo competitivo degli individui, fornendo misure operative del loro successo agonistico (Gammel *et al.*, 2003; Balasubramanian *et al.*, 2013; Sanchez, 2017). Nel David's score si definisce la proporzione delle vittorie di individuo (i), nell'interazione con un altro individuo (j) (P_{ij}), come il numero di volte nelle quali i batte j (α_{ij}) diviso per il totale del numero di interazioni tra i e j (n_{ij}), la cui formula è:

$$P_{ij} = \frac{\alpha_{ij}}{n_{ij}}$$

Mentre la proporzione delle sconfitte, di individuo (i), nelle interazioni con un altro individuo (j) (P_{ij}), è definita con la formula:

$$P_{ji} = 1 - P_{ij}$$

Se il numero di interazioni tra i e j (n_{ij}) è uguale a zero, allora anche P_{ij} e P_{ji} saranno uguali a zero.

Il David's score è calcolato per ogni membro del gruppo con la formula:

$$DS = w_1 - l_2$$

I termini della formula indicano: W , la somma delle vittorie di i (P_{ij}); w_2 è la somma di w pesata per l'appropriato P_{ij} di quegli individui con i quali i ha interagito; l rappresenta la somma dei valori di j (P_{ji}); l_2 è la somma dei valori di l pesata per l'appropriato P_{ji} di quegli individui con i quali i ha interagito. Operativamente, per l'analisi, sono stati utilizzati i dati ottenuti dalle trappole con l'esca alimentare e le variabili inserite sono state le date di campionamento, le specie vincitrici, le specie perdenti e il tipo di interazioni interspecifiche avvenute tra gli avversari, ovvero attacco ed evitamento. Inoltre, per comprendere la ripidità, ovvero il grado della gerarchia di dominanza che intercorre tra gli individui di una comunità, è stata calcolata la pendenza della gerarchia (*steepness*). Questo parametro si riferisce alle differenze assolute, in termini di punteggio, tra individui che sono classificati in modo adiacente all'interno della scala gerarchica, riferendosi quindi al loro successo. La pendenza è data dal valore di una linea retta, calcolata sulla normalizzazione del David's score e il suo valore può variare tra 0 e 1. Quando queste differenze tra i valori della pendenza sono grandi la gerarchia è ripida, dunque stabile, in quanto vi sono grandi differenze tra i punteggi di dominanza dei singoli individui; al contrario, quando questi valori sono piccoli, la gerarchia è tendenzialmente piatta e dunque instabile, perché fra gli individui intercorrono differenze minime, le quali non portano a stabilire che vi sia un individuo o una specie maggiormente dominante rispetto agli altri individui o alle altre specie (Gammel *et al.*, 2003; Leiva, 2014; Leiva & de Vries, 2014; Sanchez, 2017). Il David's score normalizzato si ottiene correggendo il valore del David's score, ottenuto dall'analisi, per la matrice delle vittorie che le specie di formiche hanno ottenuto nelle interazioni/scontri a coppie (Leiva & de Vries, 2014). La formula per normalizzare il David's score è:

$$\text{NormDS} = (DS + N * (N - 1) / 2) / N$$

3.5 RISULTATI

3.5.1 Sforzo di campionamento

Il protocollo di campionamento ha permesso la raccolta e/o l'osservazione di 190'205 individui di formicidi: di questi, 2'077 sono stati raccolti tramite *pitfall*, mentre 188'228 sono stati osservati alle *bait*. La differenza numerica degli individui censiti con le due tecniche di campionamento è spiegabile considerando la differente tipologia di trappole utilizzate nello studio. Infatti, le *pitfall* raccolgono individui che cadono all'interno di esse in modo casuale durante l'attività di foraggiamento ed esplorazione del territorio, mentre le *bait*, essendo trappole attive, sfruttano la presenza di un'esca alimentare che attira una formica scout la quale, a sua volta, recluterà le compagne di nido che giungeranno a loro volta alla fonte di cibo. Globalmente, sono state censite 23 specie appartenenti alla famiglia Formicidae; di queste, 3 alla sottofamiglia Dolichoderinae, 9 alla sottofamiglia Formicinae, 10 alla sottofamiglia Myrmicinae e 1 alla sottofamiglia Ponerinae (**Tab.4**)

Sottofamiglia	Specie	Abbreviazione	Frequenza Specie Aree V+ (N=6)	Frequenza Specie Aree V- (N=6)
Dolichoderinae	<i>Dolichoderus quadripunctatus</i> (Linnaeus, 1771)	DQ	1	2
	<i>Tapinoma magnum</i> Mayr, 1861	TM	0	1
	<i>Tapinoma subboreale</i> Seifert, 2012	TS	6	6
Formicinae	<i>Camponotus lateralis</i> (Olivier, 1792)	CL	1	0
	<i>Formica clara</i> Forel, 1886	FCI	5	0
	<i>Formica cunicularia</i> Latreille, 1798	FCu	6	0
	<i>Lasius emarginatus</i> (Olivier, 1792)	LE	3	4
	<i>Lasius fuliginosus</i> (Latreille, 1798)	LF	2	0
	<i>Lasius niger</i> (Linnaeus, 1758)	LN	4	4
	<i>Lasius paralienus</i> Seifert, 1992	LP	6	5
	<i>Plagiolepis pygmaea</i> (Latreille, 1798)	PPy	6	5
	<i>Crematogaster scutellaris</i> (Olivier, 1792)	CS	5	4
	<i>Messor ibericus</i> Santschi, 1931	MI	4	0
Myrmicinae	<i>Monomorium monomorium</i> Bolton, 1987	MM	4	3
	<i>Myrmecina graminicola</i> (Latreille, 1802)	MG	1	0
	<i>Myrmica hellenica</i> Finzi, 1926	MH	3	0
	<i>Myrmica specioides</i> Bondroit, 1918	MS	4	0
	<i>Pheidole pallidula</i> (Nylander, 1849)	PPa	6	1
	<i>Solenopsis fugax</i> (Latreille, 1798)	SF	4	3
	<i>Temnothorax nylanderii</i> (Foerster, 1850)	TN	2	0
	<i>Temnothorax unifasciatus</i> (Latreille, 1798)	TU	3	2
	<i>Tetramorium immigrans</i> Santschi, 1927	TI	6	6
	<i>Hypoponera eduardi</i> (Forel, 1894)	HE	1	0

Tab.4 Check-list delle specie raccolte nelle aree di studio. Per ciascuna specie, è indicata la sottofamiglia di appartenenza, l'abbreviazione e il numero di aree (frequenza specie) V+ e V- in cui è stata riscontrata.

3.5.2 Valutazione della dominanza numerica

Per confrontare le comunità della mirmecofauna nelle due categorie di area verde sono state, anzitutto, indagate la presenza e la distribuzione delle specie di formiche, misurandone i livelli di abbondanza e frequenza, attraverso l'impiego di trappole a caduta.

Il primo risultato è stato la redazione di una **check-list delle specie** riscontrate nelle trappole (**Tab.5**). Globalmente nelle **aree V-** sono state registrate **10 specie**, mentre nelle **aree V+** ne sono state registrate **19**. Per quanto riguarda le specie del complesso *Tetramorium caespitum*, i risultati hanno mostrato la presenza della sola specie *Tetramorium immigrans*, (**Cap.4**).

Piazzali (V-)	Aree Attrezzate (V+)
<i>Crematogaster scutellaris</i>	<i>Camponotus lateralis</i>
<i>Dolichoderus quadripunctatus</i>	<i>Crematogaster scutellaris</i>
<i>Lasius emarginatus</i>	<i>Formica clara</i>
<i>Lasius niger</i>	<i>Formica cunicularia</i>
<i>Lasius paralienus</i>	<i>Hypoponera eduardi</i>
<i>Monomorium monomorium</i>	<i>Lasius emarginatus</i>
<i>Plagiolepis pygmaea</i>	<i>Lasius niger</i>
<i>Tapinoma subboreale</i>	<i>Lasius paralienus</i>
<i>Temnothorax unifasciatus</i>	<i>Messor ibericus</i>
<i>Tetramorium immigrans</i>	<i>Monomorium monomorium</i>
	<i>Myrmica hellenica</i>
	<i>Myrmica speciodes</i>
	<i>Pheidole pallidula</i>
	<i>Plagiolepis pygmaea</i>
	<i>Solenopsis fugax</i>
	<i>Tapinoma subboreale</i>
	<i>Temnothorax nylanderi</i>
	<i>Temnothorax unifasciatus</i>
	<i>Tetramorium immigrans</i>

Tab.5 Check-list delle specie presenti nelle aree V- (in grigio) e nelle aree V+ (in verde) ottenuta dall'analisi del contenuto delle pitfall traps nel corso di tutta la stagione di campionamento (maggio – settembre, 2019).

Per quanto riguarda l'effetto della tipologia di area sulla mirmecofauna, l'analisi NMDS ha mostrato una **differenza significativa tra le comunità nelle due categorie di area verde**, sia sulla base delle abbondanze (Stress value= 0,12, R²= 0,8073, p= 0,004), sia sulla base delle frequenze (Stress value= 0,13, R²=0,7632, p= 0,004). Questo risultato è illustrato nelle **Fig.22** e **23** dove, per ogni categoria, sono stati rappresentati i centroidi e l'errore standard.

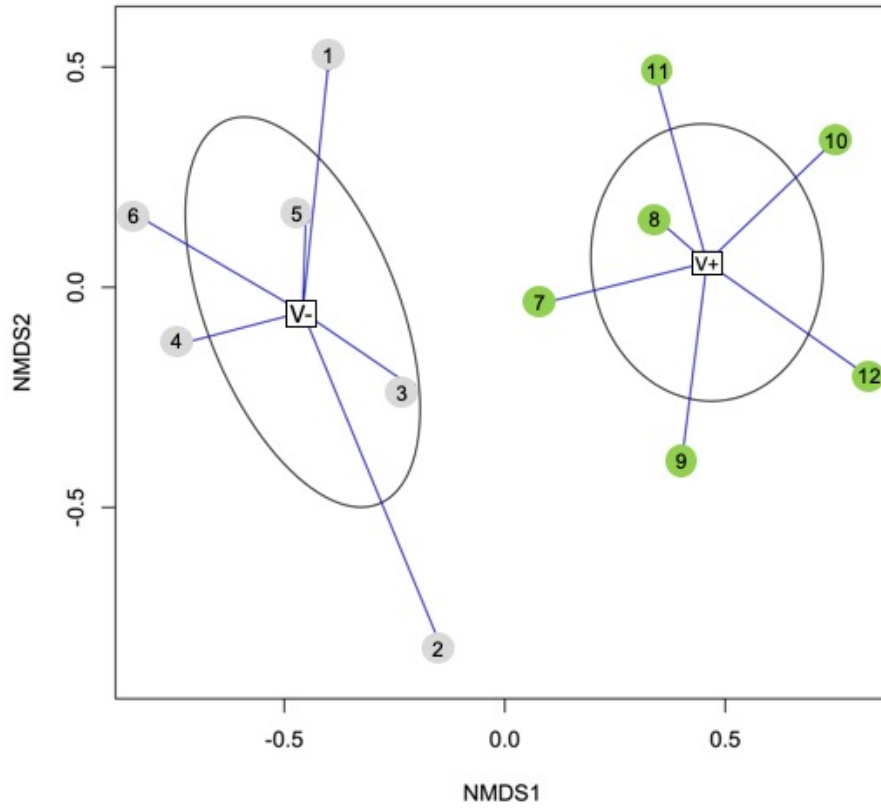


Fig.22 NMDS sulle abbondanze. I centroidi indicano la categoria di area verde, V- e V+. Le ellissi rappresentano l'errore standard di ogni categoria e la numerazione progressiva indica l'etichetta di ogni parco (**Tab.1**).

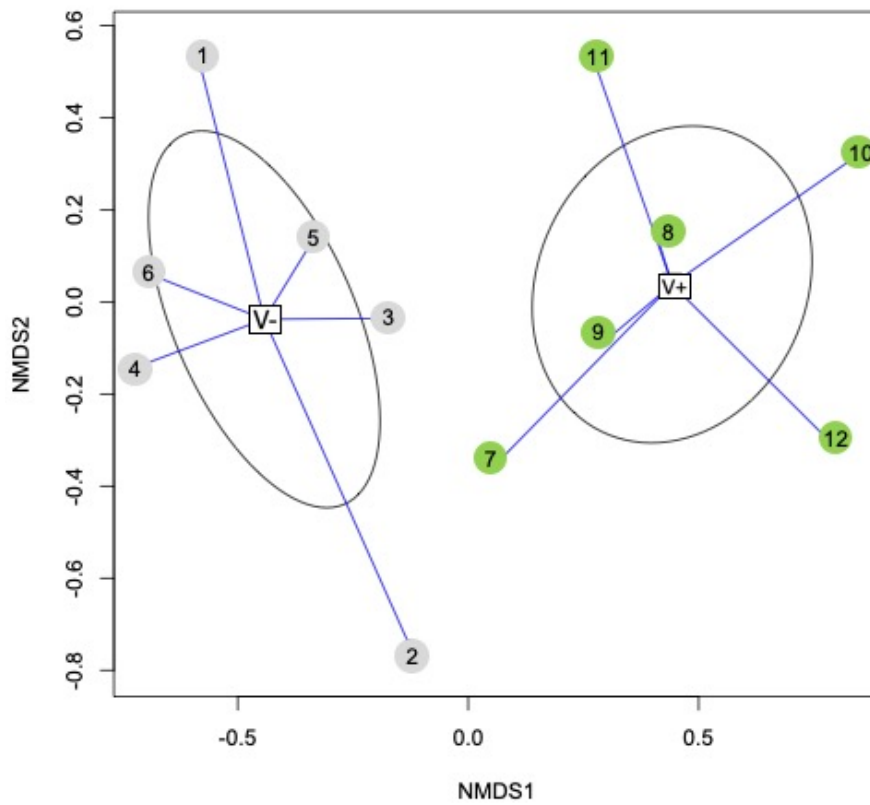


Fig.23 NMDS sulle frequenze. I centroidi indicano la categoria di area verde, V- e V+. Le ellissi rappresentano l'errore standard e la numerazione progressiva indica l'etichetta di ogni parco (**Tab.1**).

Un buon metodo per valutare l'adeguatezza dei risultati dell'NMDS è quello di confrontare, in un diagramma di Shepard, le distanze osservate e le distanze calcolate nel nuovo spazio ridotto (**Fig.24 e 25**). In aggiunta, una misura della significatività della nuova configurazione è fornita dai valori di R^2 calcolati sia su una regressione lineare sia su una regressione non lineare delle distanze fornite dall'NMDS sulle distanze originali (Borcard *et al.*, 2018).

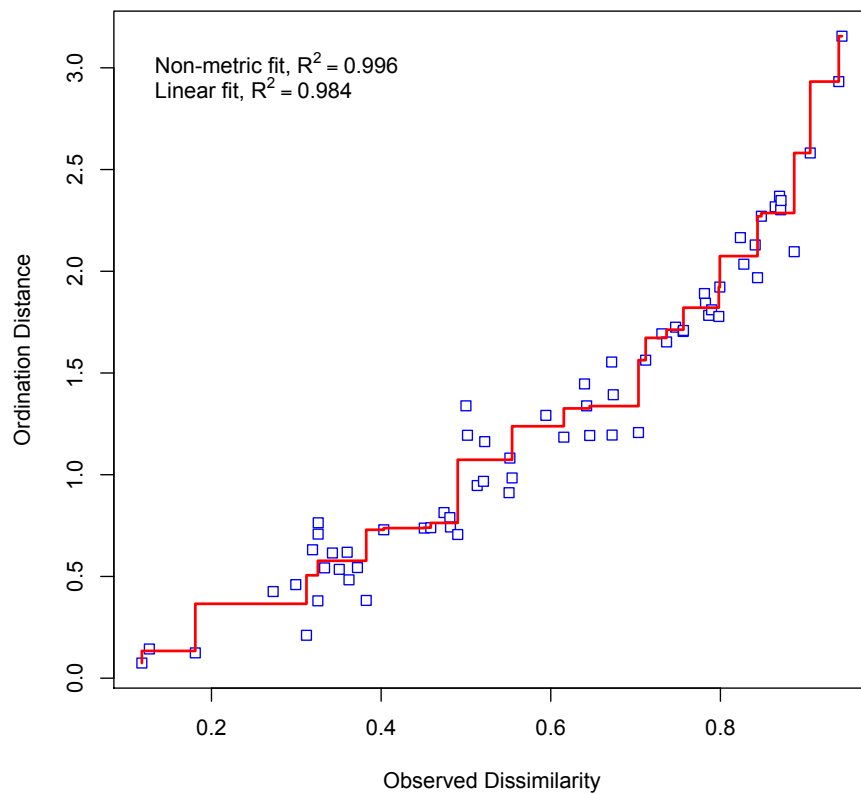


Fig.24 Diagramma di Shepard basato sui dati di abbondanza. In alto a sinistra vengono forniti i due valori di R^2 .

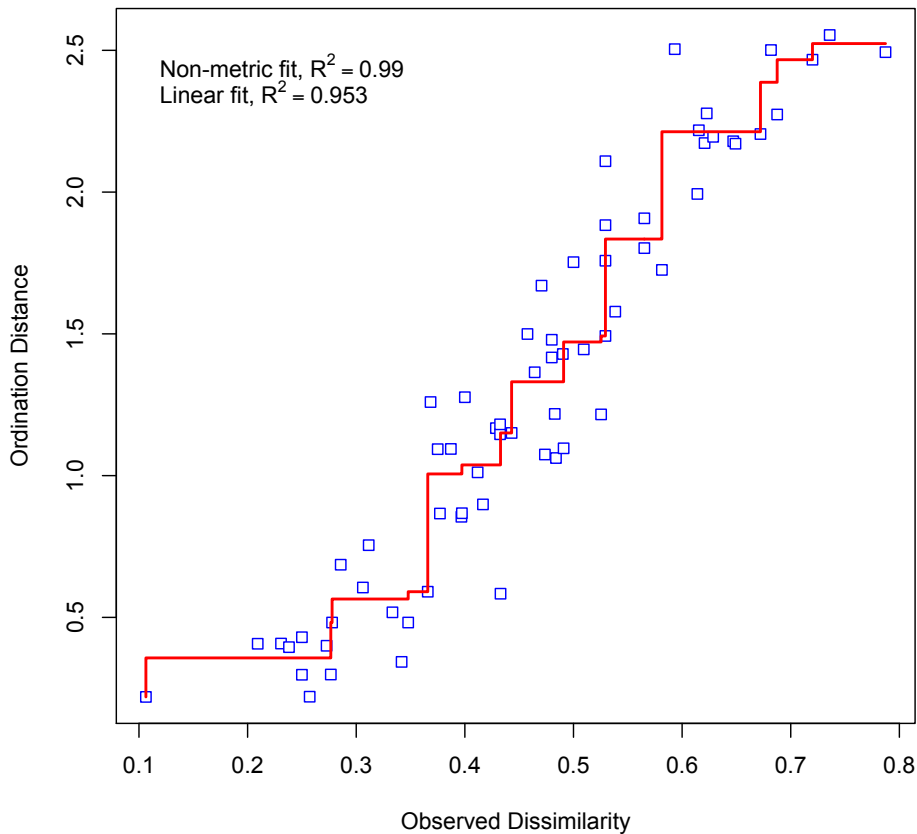


Fig.25 Diagramma di Shepard basato sui dati di frequenza. In alto a sinistra vengono forniti i due valori di R².

Nei grafici in figura **Fig.24 e 25**, le distanze ottenute tramite NMDS sono plottate contro le distanze osservate e, il *fit* appare come una linea monotona. I grafici mostrano buoni valori di R² sia per i dati di abbondanza (Non-metric fit R²= 0,997; Linear fit R²= 0,989) sia per i dati di frequenza (Non-metric fit R²= 0,989; Linear fit R²= 0,933) e una buona corrispondenza fra le distanze osservate e le distanze ottenute nella nuova configurazione. Di conseguenza si possono ritenere attendibili i risultati ottenuti.

I grafici in **Fig.26** mostrano l'**andamento** delle abbondanze e delle frequenze specifiche nelle comunità ospitate dalle due tipologie di area verde (V+ vs V-). In particolare, l'**abbondanza media** di ogni specie è stata calcolata come rapporto tra abbondanza della specie nell'intera stagione di campionamento e il numero di trappole totali (n=144), mentre la **frequenza relativa** come rapporto tra il numero di trappole nelle quali la specie era presente e il numero di trappole totali (n=144). In entrambe le comunità, la specie *T. immigrans* risulta essere la **più abbondante e diffusa**. Per quanto riguarda *Lasius paralienus* Seifert, 1992, essa si presenta come la seconda specie più abbondante nella categoria V-. Tuttavia, questo risultato è dovuto al fatto che una trappola è stata piazzata casualmente nei pressi di un nido di questa specie, con la conseguente raccolta di ben 588 operaie in un'unica sessione di campionamento.

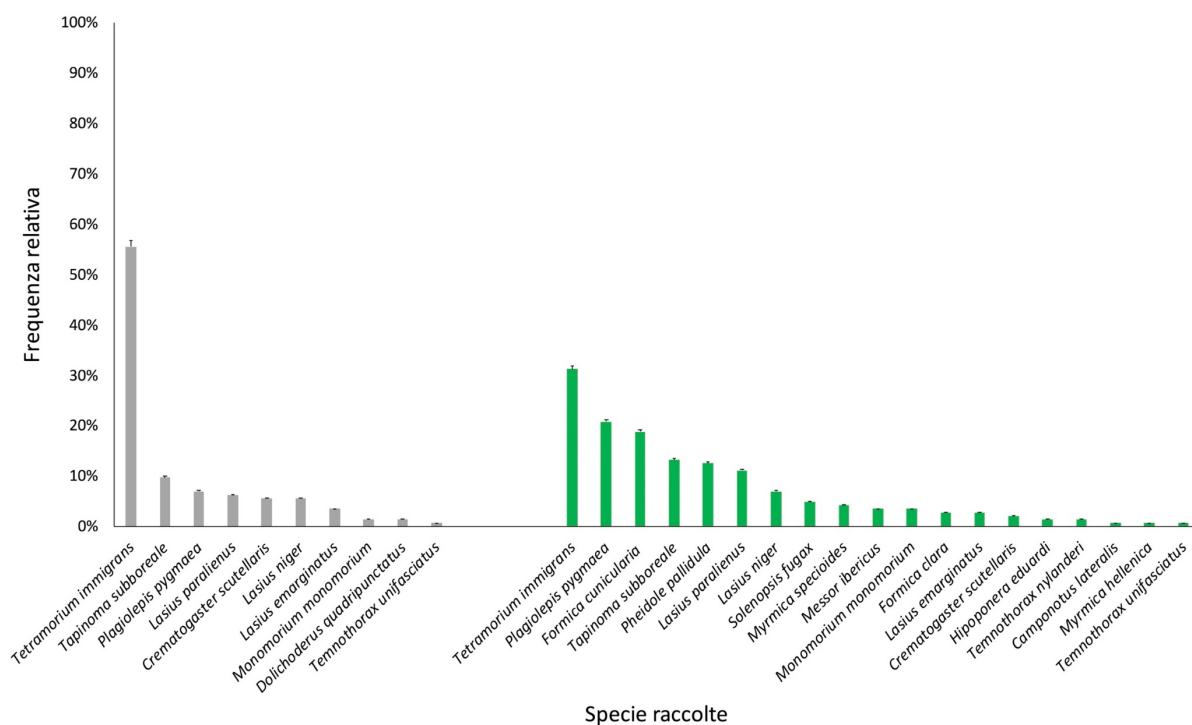
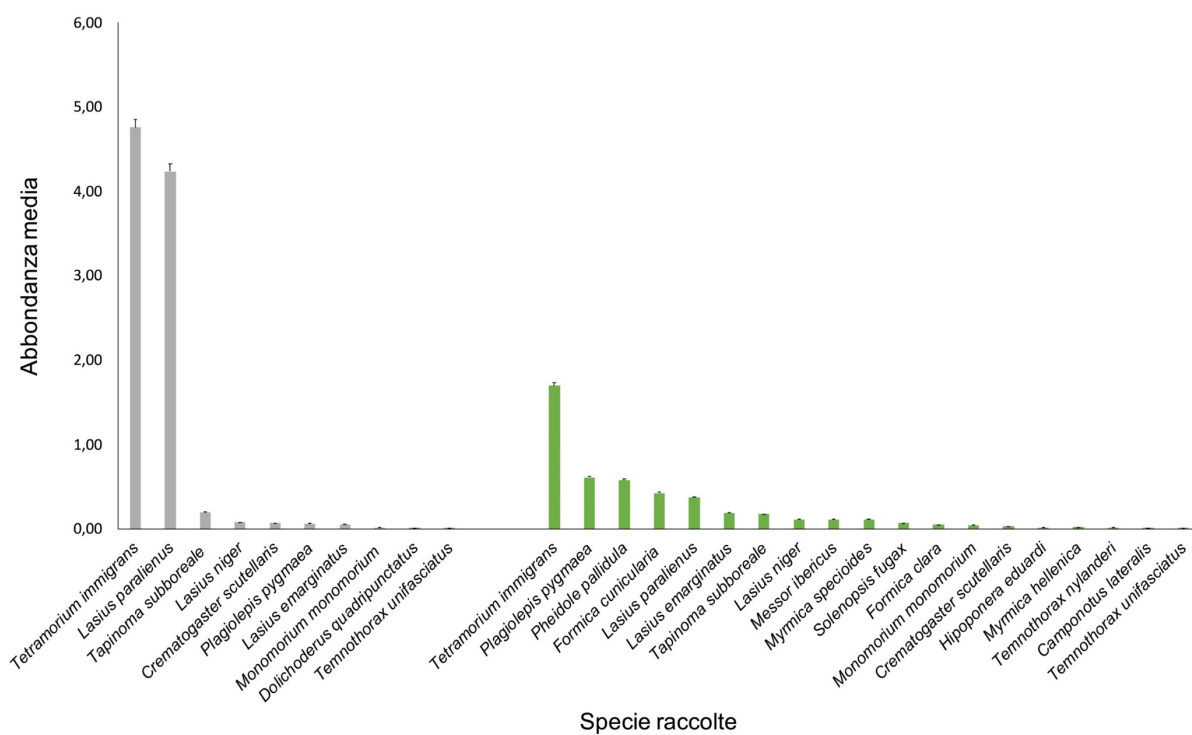


Fig.26 Media (+ ES), in alto, vi è dell'andamento delle abbondanze medie delle specie presenti in V- (a sinistra, in grigio) e in V+ (a destra, in verde). In basso, vi è l'andamento delle frequenze relative delle specie in V- (a sinistra, in grigio) e in V+ (a destra, in verde).

Per indagare statisticamente le differenze tra le due categorie V- e V+, è stato svolto un test ANOVA per misure ripetute per le specie più rappresentative. Sia per i dati di abbondanza che di frequenza, il test ha evidenziato differenze significative per *P. pygmaea* (abbondanza: $F_{(1,10)} = 9,78$; $p = 0,01$; frequenza: $F_{(1,10)} = 8,78$; $p = 0,01$) e *T. immigrans* (abbondanza: $F_{(1,10)} = 6,28$; $p = 0,03$; frequenza: $F_{(1,10)} = 13,64$; $p = <0,01$), ma non per *L. paralienus* (abbondanza: $F_{(1,10)} = 0,85$; $p = 0,3$; frequenza: $F_{(1,10)} = 1,11$; $p = 0,31$) e *T. subboreale* ($F_{(1,10)} = 0,03$; $p = 0,87$; frequenza: $F_{(1,10)} = 1,52$; $p = 0,25$). In particolare, *T. immigrans* è più abbondante e frequente nelle aree V- rispetto alle V+, mentre *P. pygmaea* mostra l'andamento inverso (Fig.27 e 28).

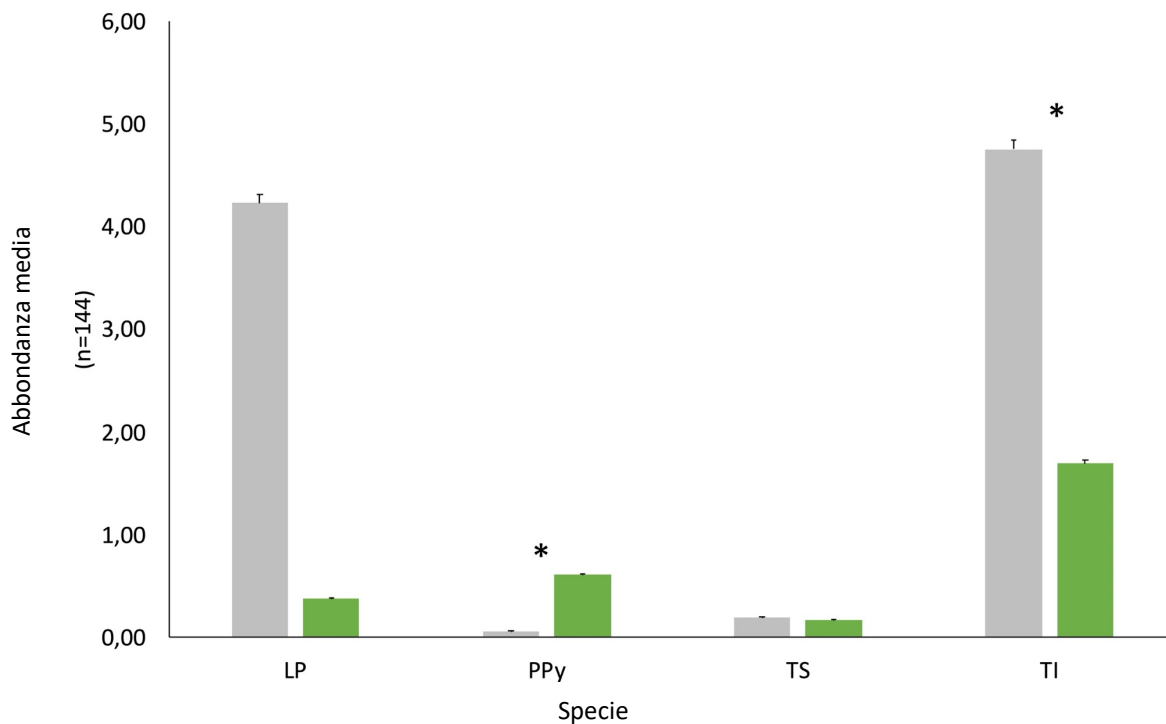


Fig.27 Confronto tra le abbondanze medie di *L. paralienus*, *P. pygmaea*, *T. subboreale* e *T. immigrans* nelle categorie V- (in grigio) e V+ (in verde). La significatività è indicata dagli asterischi, *: $p < 0.05$.

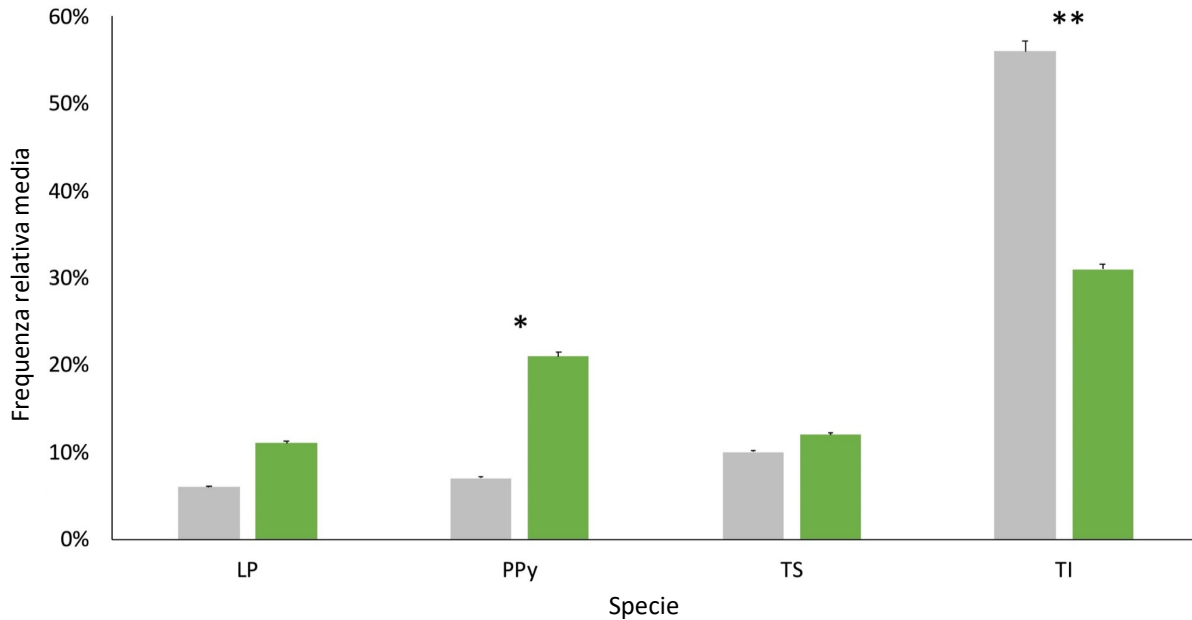


Fig.28 Confronto tra le frequenze relative medie di *L. paralienus*, *P. pygmaea*, *T. subboreale* e *T. immigrans* nelle categorie V- (in grigio) e V+ (in verde). La significatività è indicata dagli asterischi, *: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$.

Infine, è stato descritto l'**andamento stagionale** che le diverse specie hanno mostrato nel corso delle sei sessioni di campionamento, indipendentemente dalla tipologia di area verde (**Fig.29 e 30**). Considerando le abbondanze, **l'andamento di *T. immigrans* si discosta nettamente da quello di tutte le altre specie**. Infatti, *T. immigrans* è risultata sempre presente ed è la specie più abbondante in tutte le sessioni (con almeno 100 individui per sessione, ad eccezione dell'ultima), con un picco in corrispondenza della seconda sessione, in cui la sua abbondanza triplica. Per quanto riguarda *L. paralienus*, la sua abbondanza presenta un picco in corrispondenza della sessione 4, imputabile alla vicinanza di una trappola a un nido della specie, come discusso in precedenza.

Anche considerando le frequenze, l'unico andamento che si distingue da quello delle altre specie è quello di *T. immigrans*, con caratteristiche simili all'andamento dell'abbondanza.

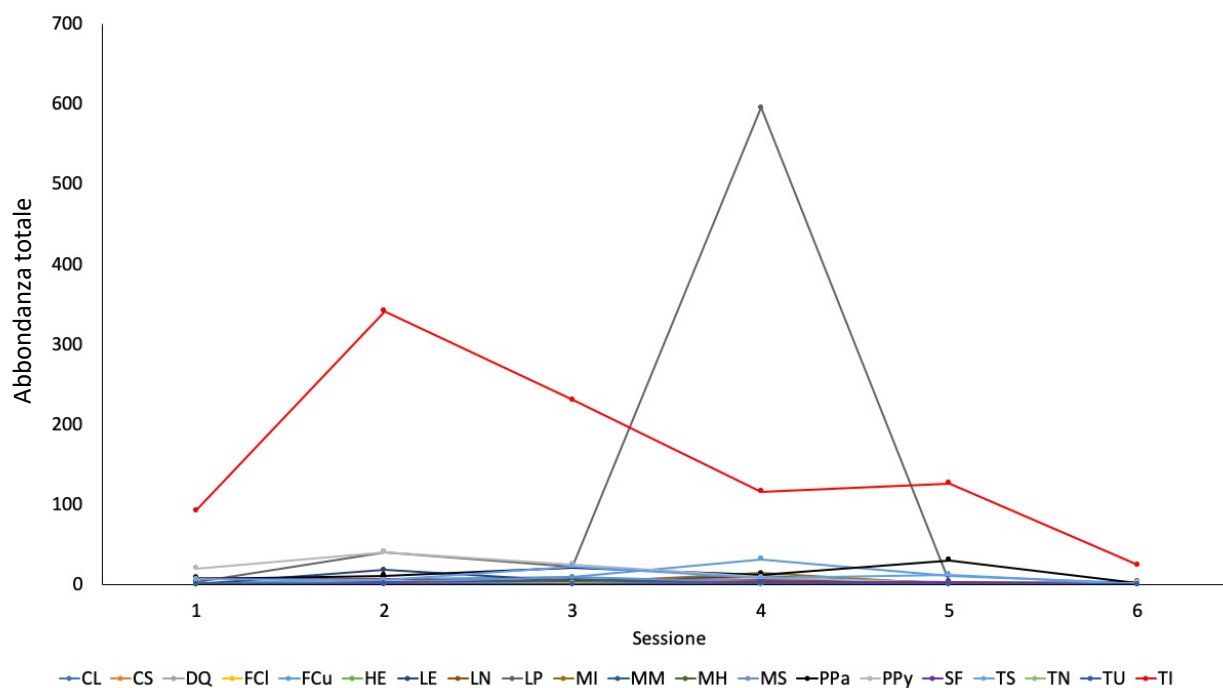


Fig.29 Andamenti stagionali delle abbondanze delle specie raccolte mediante le *pitfall traps*.

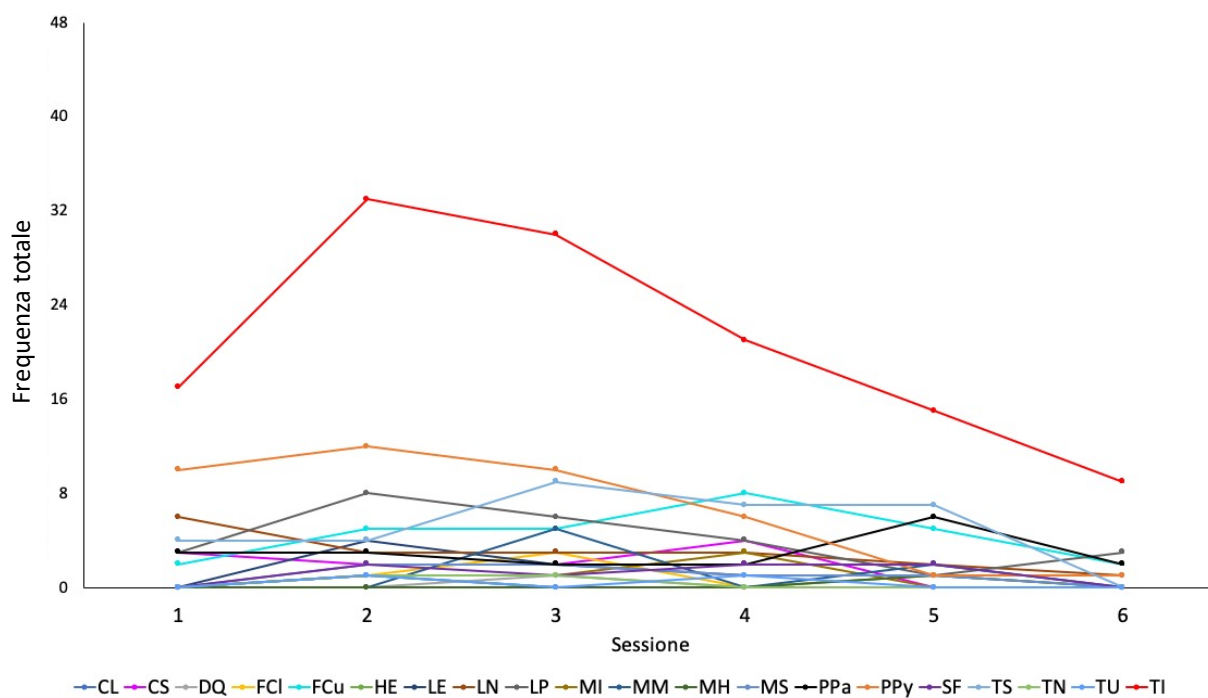


Fig.30 Andamenti stagionali delle frequenze delle specie raccolte mediante le *pitfall traps*.

3.5.3 Valutazione della dominanza comportamentale

È stata eseguita un'analisi della dominanza comportamentale, con particolare *focus* sulla specie *T. immigrans*, con lo scopo di determinare se quest'ultima sia dominante all'interno delle comunità in esame e, in tal caso, verificare se tale dominanza possa essere legata all'utilizzo di particolari strategie comportamentali. Di seguito sono riportati i risultati ottenuti dalla metodologia di osservazione dello *scan sampling* e del *continuous sampling*.

3.5.3.1 Scan sampling

I risultati relativi al calcolo degli indici comportamentali DAI e MI, sono integralmente riportati in **Tab.6**.

Specie	Occurrence		Occurrence		Bait		Bait		Bait		Bait		DAI		DAI			
	V-	V+	totale	monopolizzate	V-	V+	monopolizzate	monopolizzate	Scoperte	Scoperte	Scoperte	Scoperte	MI	MI	MI	MI		
									V-	V+	totale	totale	V-	V+	totale	totale		
CS	4	23	27	0	7	7	7	7	1	3	4	4	0	0,30	0,26	0,25	0,13	0,15
DQ	2	1	3	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0,50	0	0,33
FCI	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	-	0	0
FCu	0	67	67	0	0	0	0	0	0	17	17	17	-	0	0	-	0,25	0,25
LF	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	-	0	0	-	1,0	1,0
LN	16	6	22	2	1	3	3	12	1	1	13	13	0,13	0,17	0,14	0,75	0,17	0,59
LP	6	39	45	2	8	10	10	4	12	16	16	16	0,33	0,21	0,22	0,67	0,31	0,36
MI	0	3	3	0	0	0	0	0	0	1	1	1	-	0	0	-	0,33	0,33
MM	6	42	48	4	15	19	19	1	8	9	9	9	0,67	0,36	0,40	0,17	0,19	0,19
MG	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	-	0	0
MH	0	13	13	0	4	4	4	0	5	5	5	5	-	0,31	0,31	-	0,38	0,38
MS	0	5	5	0	1	1	1	0	2	2	2	2	-	0,20	0,20	-	0,40	0,40
PPa	1	21	22	1	17	18	18	0	14	14	14	14	1,0	0,81	0,82	0	0,67	0,64
PPy	27	88	115	0	15	15	15	18	37	55	55	55	0	0,17	0,13	0,67	0,42	0,48
SF	6	14	20	1	5	6	6	5	3	8	8	8	0,17	0,36	0,30	0,83	0,21	0,40
TM	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	-	0
TS	38	42	80	2	3	5	5	24	17	41	41	41	0,05	0,07	0,06	0,63	0,40	0,51
TN	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	-	0	0
TU	1	10	11	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	1,0	0	0,09
TI	208	144	352	162	114	276	149	66	215	0,78	0,79	0,78	0,72	0,46	0,61			

Tab.6 Valori di *occurrence*, trappole monopolizzate e scoperte con i quali sono stati calcolati gli indici MI e DAI, sia totali sia relativi alla categoria di area verde, per le specie osservate alle *bait*. I valori totali degli indici non sono la somma dei valori degli indici nelle due categorie.

I valori di *occurrence*, di MI e di DAI delle specie osservate alle bait, indipendentemente dalla categoria di area verde, sono stati utilizzati per eseguire alcune correlazioni. Per prima cosa è stato verificato se le **specie con le *occurrence* più elevate** fossero anche quelle con **un numero maggiore di bait monopolizzate** e l'analisi ha mostrato una **relazione significativa e positiva** tra le due variabili ($t_{18} = 11,42$; $p < 0,01$; $r = 0,94$), confermando l'ipotesi iniziale. In seguito, è stata eseguita una correlazione tra l'*occurrence* e l'indice MI, che, come l'analisi precedente, è risultata significativa e positiva ($t_{18} = 3,01$; $p < 0,01$; $r = 0,58$). Osservando i grafici delle due correlazioni (**Fig.31**) si vede come la specie ***T. immigrans* si discosti da tutte le altre** a causa della sua elevata *occurrence* (352) e dell'alto numero di trappole monopolizzate (276), che si riflette in un indice MI alto (0,8).

Successivamente è stata valutata la presenza del *dominance-discovery trade-off* nelle comunità in esame, indipendentemente dalla categoria di area, correlando **gli indici DAI e MI**. L'analisi non è risultata significativa ($t_{18} = 1,55$; $p = 0,14$), ovvero non esiste una correlazione tra gli indici e, dunque, il *trade-off* è assente. In seguito, è stata svolta la correlazione tra il numero di trappole scoperte per prime e il numero di trappole monopolizzate, osservando il numero effettivo di trappole scoperte e monopolizzate senza pesare per l'*occurrence* delle specie presenti nella comunità. La **correlazione** è risultata **positiva e significativa** ($t_{18} = 15,55$; $p < 0,01$; $r = 0,96$) indicando che **non è presente un *dominance-discovery trade-off***. Questo risultato si deve probabilmente alla presenza di *T. immigrans* che è la specie con i valori più elevati di trappole scoperte (215) e monopolizzate (276). In **Fig.32** sono presenti i grafici relativi alle due analisi. Osservando la distribuzione dei punti nel grafico in **Fig.32**, si osserva che le specie *T. immigrans* e *P. pallidula*, entrambe con gli stessi valori di indici DAI (0,6) e MI (0,8), sono presenti nel secondo quadrante del grafico, sovrapponendosi fra loro ma distinguendosi dalle altre specie.

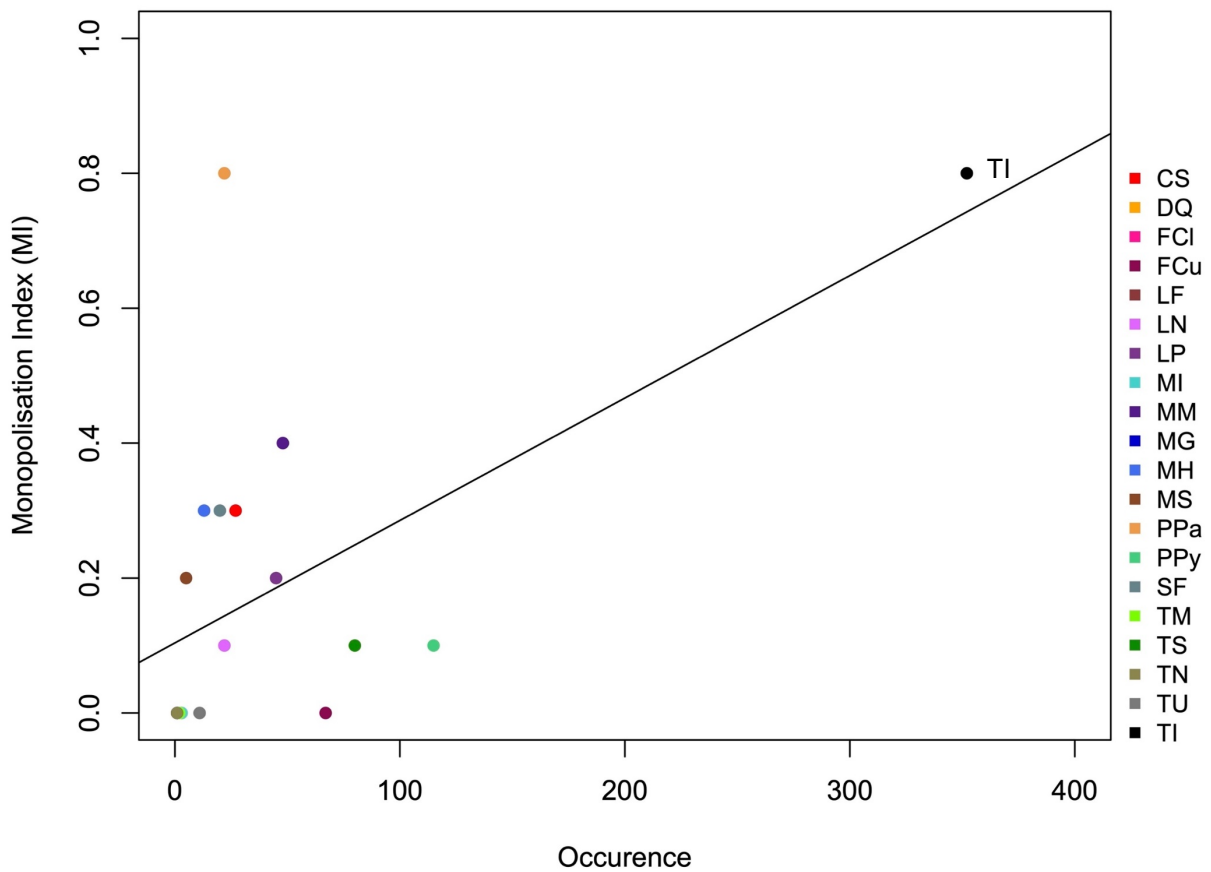
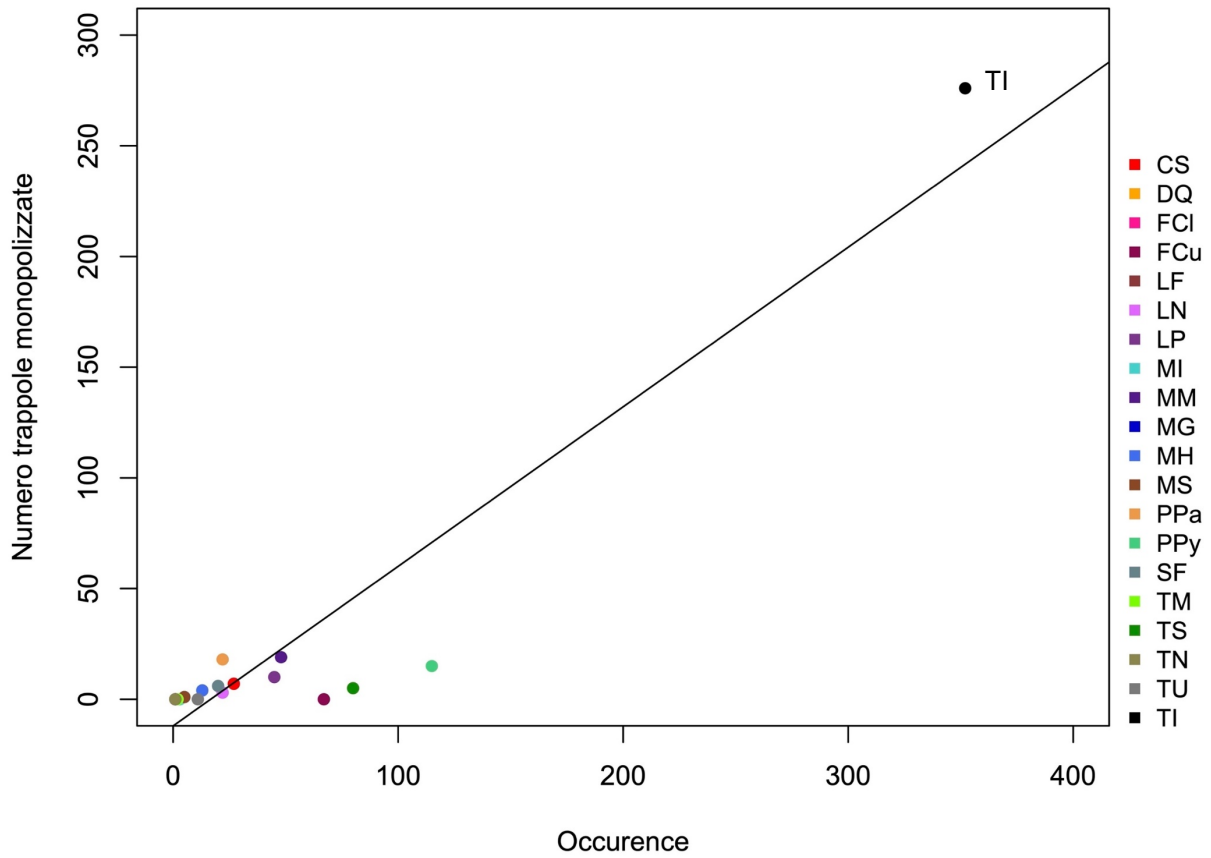


Fig.31 Correlazione tra *occurrence* e numero di trappole monopolizzate (in alto) e *occurrence* e indice MI (in basso), per le specie osservate alle bait, indipendentemente dalla categoria di area.

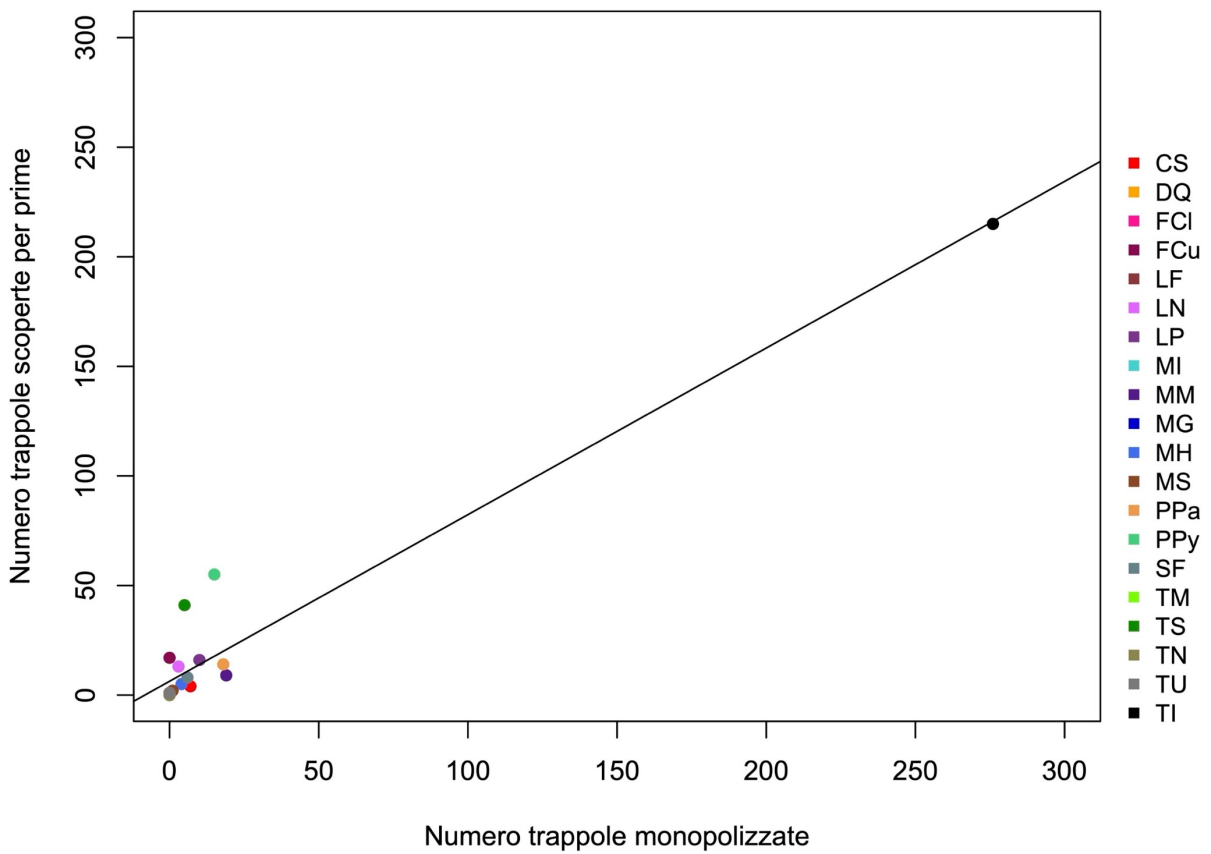
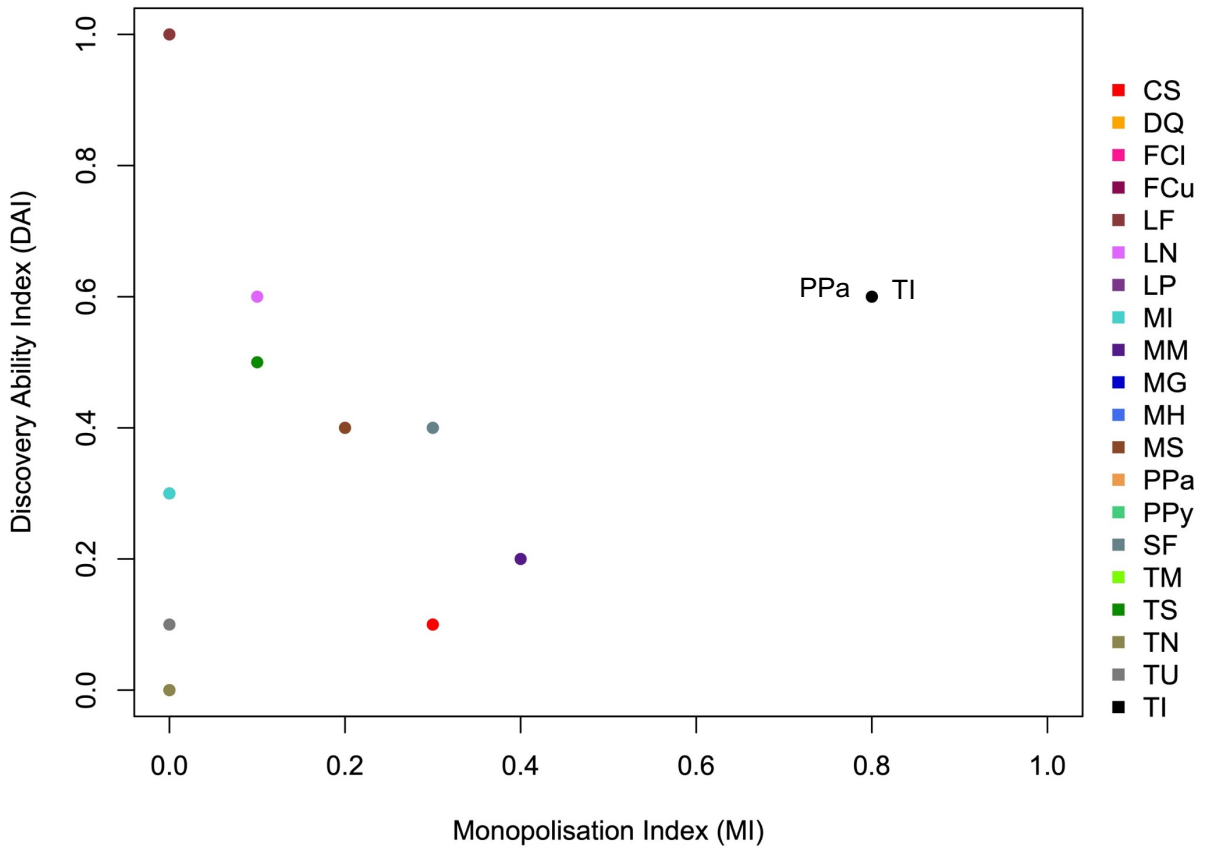


Fig.32 Correlazione tra numero di trappole scoperte per prime e monopolizzate (in alto) e tra gli indici DAI e MI (in basso), per le specie osservate alle bait, indipendentemente dalla categoria di area.

Inoltre, è stato valutato l'effetto della categoria (V- vs V+) sul numero di *bait* scoperte per prime dalle singole specie. Gli esiti dell'analisi sono elencati in **Tab.7**; in **Fig.33** sono mostrati, invece, solo i risultati significativi. ***T. immigrans*** si dimostra molto **più abile nella scoperta delle trappole nelle aree V-** rispetto alle V+, come anche *L. niger* e *S. fugax*, sebbene in misura minore. *P. pygmaea* mostra, invece, il trend opposto.

Specie	Esito del Chi-quadrato o del Fisher test
CS	Fisher test: $p = 0,49$
DQ	Fisher test: $p = 1$
LN	Fisher test: $p = 0,02$ *
LP	Fisher test: $p = 0,17$
MM	Fisher test: $p = 1$
PPa	Fisher test: $p = 0,36$
PPy	$\chi^2(1) = 4,08, p = 0,043$ *
SF	Fisher test: $p = 0,01806$ *
TS	$\chi^2(1) = 3,25, p = 0,07$
TU	Fisher test: $p = 0,09$
TI	$\chi^2(1) = 22,76, p < 0,001$ ***

Tab.7 esito dell'analisi svolta con il Chi-quadrato (χ^2) o con il test di Fisher. La significatività è indicata dagli asterischi: *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$.

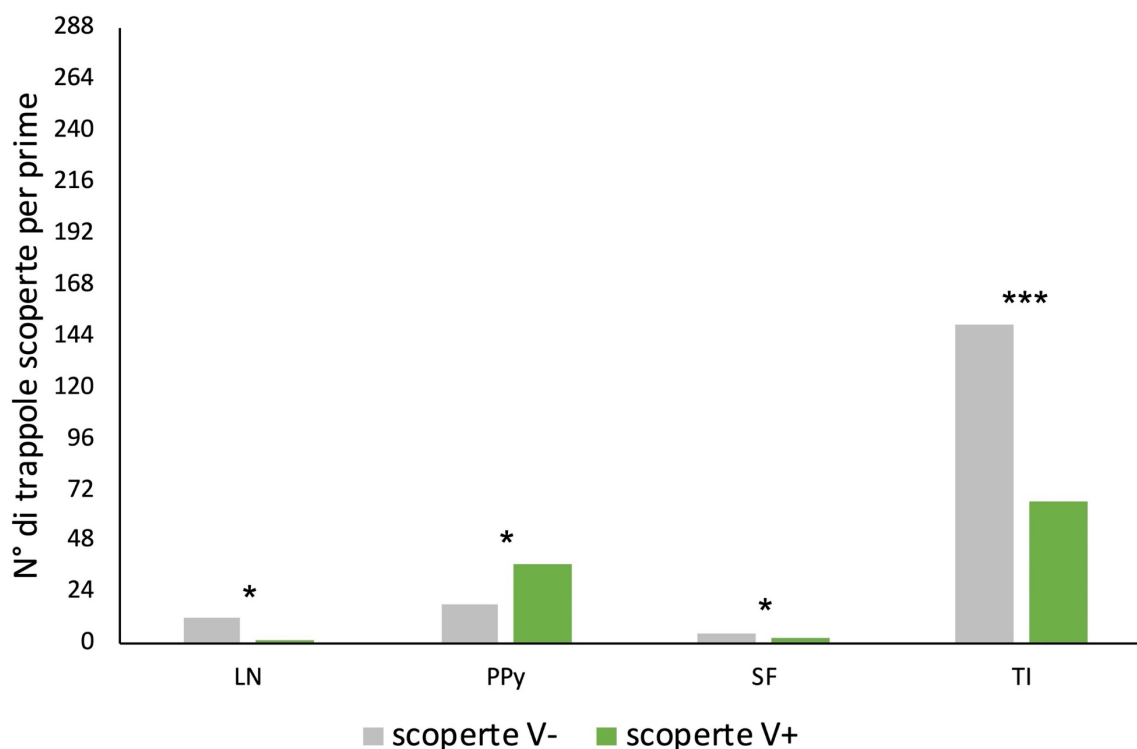


Fig.33 Effetto della tipologia di area sul numero di trappole scoperte per prime dalle specie. La significatività è indicata dagli asterischi: *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$.

Allo stesso modo, è stato valutato l'effetto della categoria (V- vs V+) sul numero di *bait* monopolizzate dalle singole specie. I risultati hanno mostrato differenze significative solo per la specie *P. pygmaea* (Fisher: $p = 0,02$), la quale risulta **più abile nella monopolizzazione in V+**. Gli esiti dell'analisi sono elencati in **Tab.8**

Specie	Esito del Chi-quadrato o del Fisher test
CS	Fisher test: $p = 0,54$
LN	Fisher test: $p = 1$
LP	Fisher test: $p = 0,60$
MM	Fisher test: $p = 0,19$
PPa	Fisher test: $p = 1$
PPy	Fisher test: $p = 0,02$ *
SF	Fisher test: $p = 0,61$
TS	Fisher test: $p = 1$
TI	$\chi^2(1) = 0,02, p = 0,88$

Tab.8 Esito dell'analisi svolta con il Chi-quadrato (χ^2) o con il test di Fisher. La significatività è indicata dagli asterischi: *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$.

In seguito, sono state **confrontate tra loro le specie** presenti all'interno della stessa categoria di area verde urbana, sia per l'abilità di scoperta delle *bait* sia per la loro monopolizzazione. Per quanto riguarda l'**abilità di scoperta** delle specie presenti in V-, l'analisi è stata svolta solo su 4 specie: *L. niger*, *P. pygmaea*, *T. subboreale* e *T. immigrans*. Il Chi-quadrato non è risultato significativo ($\chi^2(3) = 1,44; p = 0,70$) e, pertanto, **nessuna specie si è distinta** dalle altre per abilità nella scoperta della risorsa. Il confronto svolto nella categoria V+ è risultato significativo ($\chi^2(9) = 31,43; p < 0,01$), con solo *P. pallidula* che si è dimostrata più abile delle altre specie (**Fig.34**). È stato inoltre utilizzato il Fisher test, il quale ha confermato la significatività del Chi-quadrato ($p < 0,01$).

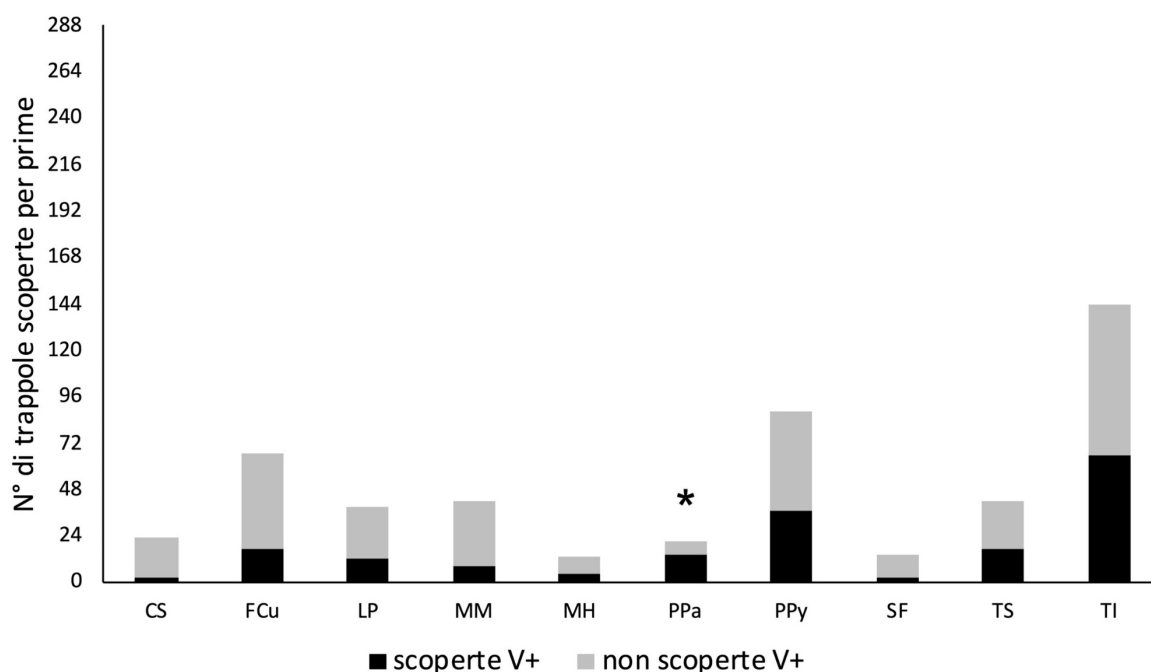


Fig.34 Confronto tra specie per l'abilità di scoperta delle trappole in V+. La significatività è indicata dagli intervalli all'interno dei quali cadono i valori dei residui: $\pm 1,96^*$: $p < 0,05$; $\pm 2,58^{**}$: $p < 0,01$; $\pm 3,29$; $***$: $p < 0,001$.

Il chi quadrato svolto sull'abilità di **monopolizzazione** per le specie presenti nella categoria **V-** è risultato significativo ($\chi^2(3) = 127,54$; $p < 0,01$), con tutte e 4 le specie inserite nell'analisi che si distinguono per il numero di trappole monopolizzate: *T. immigrans* si dimostra **più abile** nella monopolizzazione rispetto all'attesa, mentre *L. niger*, *P. pygmaea* e *T. subboreale* mostrano il trend opposto (**Fig.35**).

Anche il test svolto sulle trappole monopolizzate dalle specie presenti nella categoria **V+** è risultato significativo ($\chi^2(9) = 200,22$; $p < 0,01$), con le specie *F. cunicularia*, *P. pallidula*, *P. pygmaea*, *T. subboreale* e *T. immigrans* che si distinguono dalle altre (**Fig.36**). In particolare, *T. immigrans* e *P. pallidula* si dimostrano **più abili** nella monopolizzazione rispetto all'attesa, mentre le altre specie mostrano il trend opposto. È stato inoltre utilizzato il Fisher test il quale ha confermato la significatività del Chi-quadrato ($p < 0,01$).

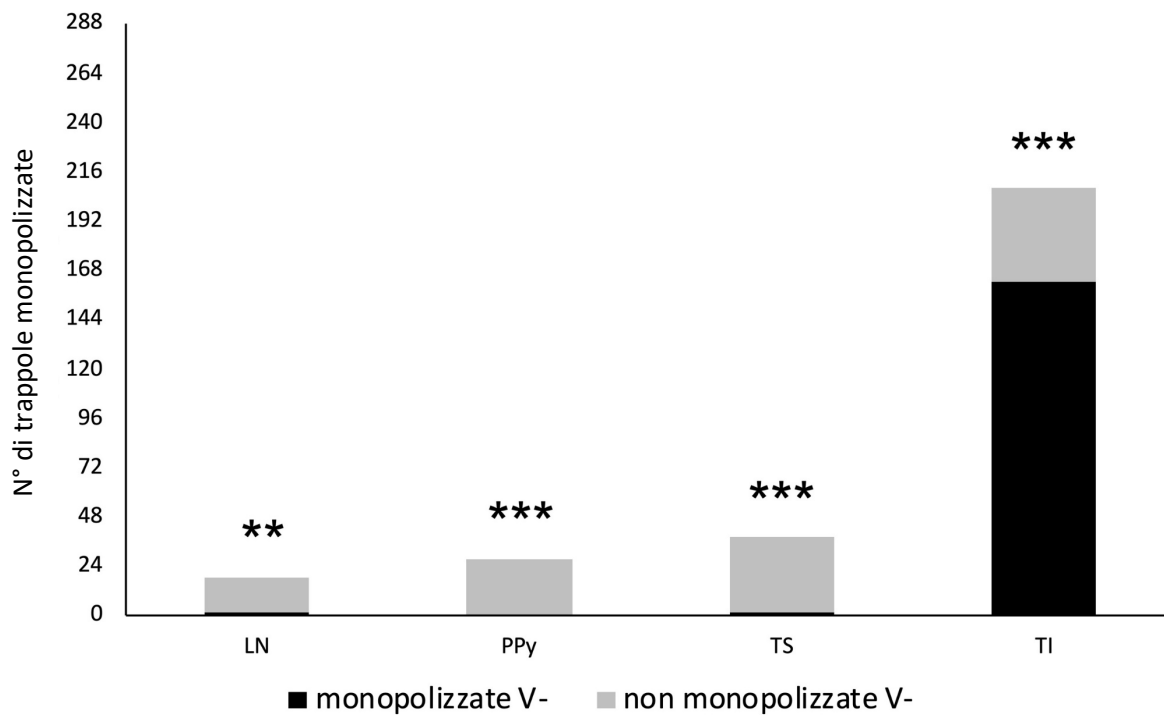


Fig.35 Confronto tra specie per l'abilità di monopolizzare le trappole in V-. La significatività è indicata dagli intervalli all'interno dei quali cadono i valori dei residui: $\pm 1,96$ * : $p < 0,05$; $\pm 2,58$ ** : $p < 0,01$; $\pm 3,29$ *** : $p < 0,001$.

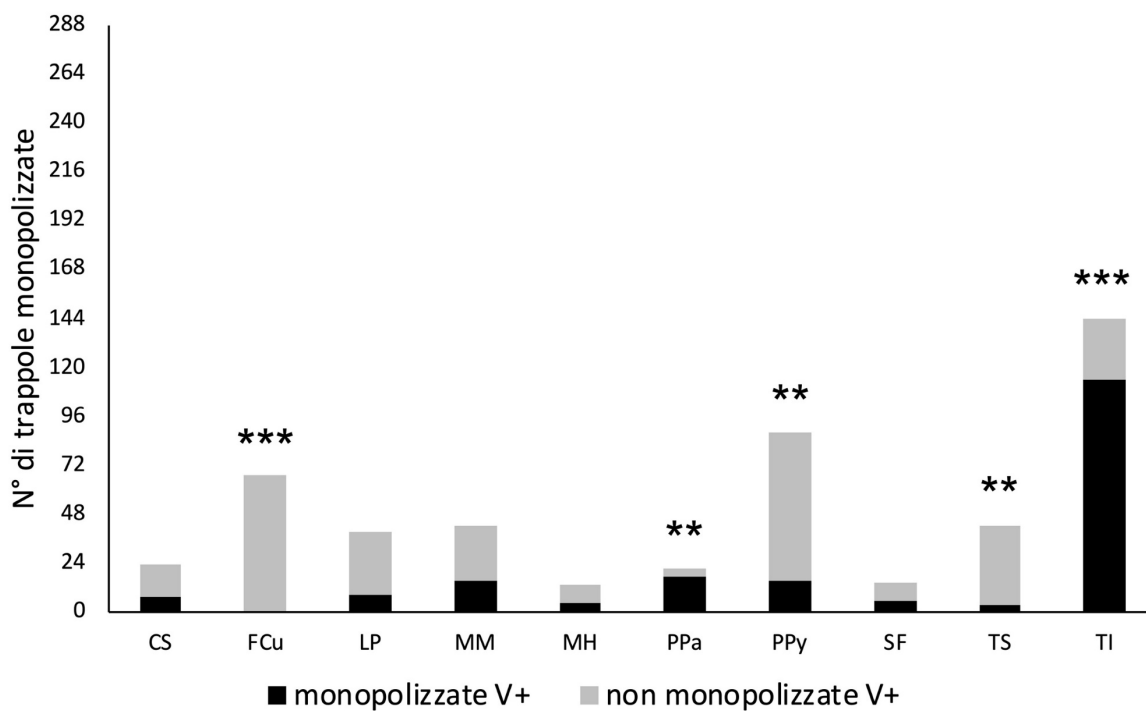


Fig.36 Confronto tra specie per l'abilità di monopolizzare le trappole in V+. La significatività è indicata dagli intervalli all'interno dei quali cadono i valori dei residui $\pm 1,96$ * : $p < 0,05$; $\pm 2,58$ ** : $p < 0,01$; $\pm 3,29$ *** : $p < 0,001$.

3.5.3.2 Continuous sampling

Per verificare se all'interno delle comunità delle due categorie, V- e V+, esistono gerarchie di dominanza, è stata effettuata una valutazione del diverso grado di aggressività espresso dalle specie nel corso delle interazioni osservate. In **Tab.9** sono riportate le specie per cui sono state osservate **interazioni interspecifiche**, con i relativi valori di interazioni vinte, perse per le due categorie V- e V+ sul totale della stagione di campionamento. Dalle interazioni sono state escluse le coesistenze osservate tra le diverse specie e nell'analisi sono state inserite solo le specie con un numero di interazioni maggiori o uguali a 20.

Interazioni interspecifiche							
Specie	Abbreviazione	Vinte V-	Perse V-	Totali	Vinte V+	Perse V+	Totali
<i>C. scutellaris</i>	CS	2	4	6	22	32	54
<i>F. cunicularia</i>	FCu	-	-	-	7	138	145
<i>L. niger</i>	LN	1	1	2	4	11	15
<i>L. paralienus</i>	LP	1	7	8	25	65	90
<i>M. monomorium</i>	MM	5	13	18	35	178	213
<i>M. hellenica</i>	MH	-	-	-	19	48	67
<i>P. pallidula</i>	PPa	-	-	-	9	46	55
<i>P. pygmaea</i>	PPy	0	17	17	16	144	160
<i>S. fugax</i>	SF	0	3	3	2	23	25
<i>T. subboreale</i>	TS	3	52	55	13	136	149
<i>T. unifasciatus</i>	TU	0	2	2	1	34	35
<i>T. immigrans</i>	TI	18	46	64	40	139	179

Tab.9 Numero di interazioni vinte e perse da ciascuna specie nelle categorie V- e V+.

Guardando la tabella è possibile osservare che il numero **totale di interazioni in V+** (1187) è **6 volte maggiore** rispetto al numero totale di interazioni in V- (175). Inoltre, è da notare che anche il numero di interazioni di *T. immigrans* è molto maggiore in V+, triplicando rispetto a V-. È stato valutato l'**effetto della competizione tra le specie** presenti nella stessa categoria, V- o V+, espresso mediante moduli comportamentali aggressivi. Il Chi-quadrato eseguito sul numero di interazioni vinte e perse dalle specie presenti in V- è risultato significativo ($\chi^2(1) = 8,96; p = 0,02$). Nell'analisi sono state inserite solo le specie *T. subboreale* e *T. immigrans*, in quanto sono state le uniche a soddisfare la soglia richiesta delle 20 interazioni. Tra le due, solo *T. subboreale* si differenzia perché **perde più scontri** di quanto atteso (**Fig.37**). Lo stesso confronto è stato effettuato per le specie presenti nella categoria V+ e il test del Chi-quadrato è risultato significativo ($\chi^2(10) = 75,70; p < 0,01$). In questo caso, le specie che si distinguono,

perdendo più scontri rispetto a quanto atteso, sono: *C. scutellaris*, *F. cunicularia*, *L. paralienus*, *M. hellenica*, *T. subboreale* e *T. immigrans* (**Fig.38**). È stato inoltre utilizzato il Fisher test il quale ha confermato la significatività del Chi-quadrato ($p < 0,01$).

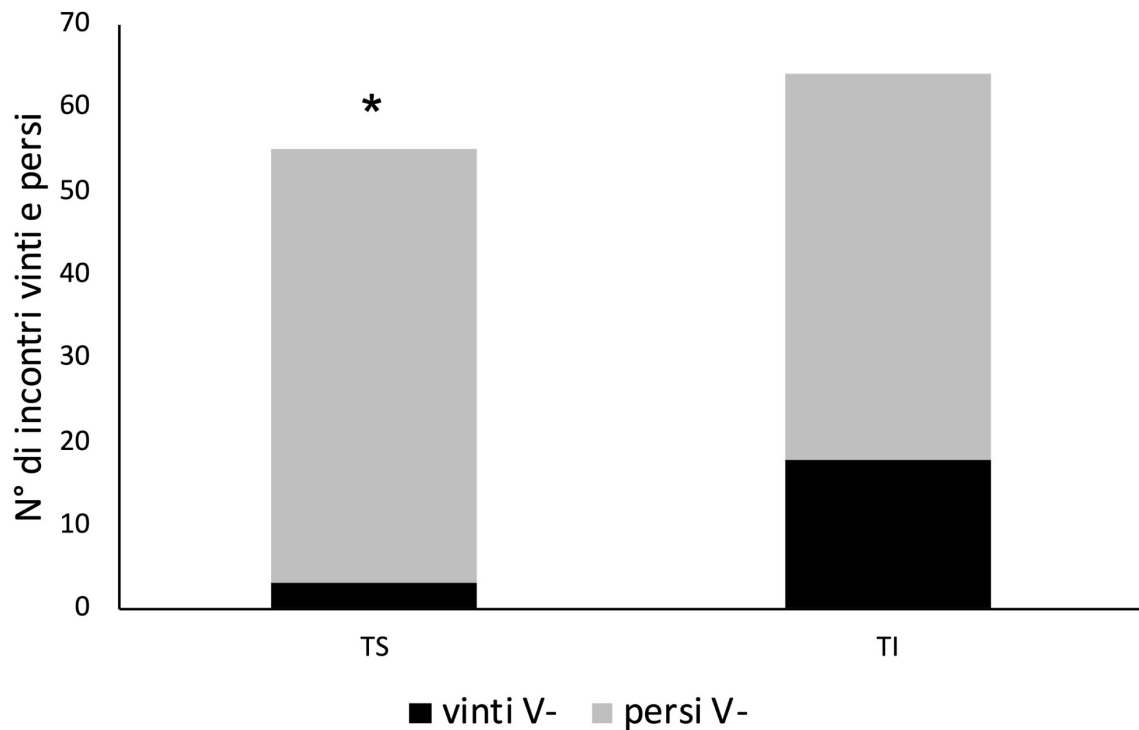


Fig.37 Confronto tra specie per abilità nel vincere gli scontri in V-. La significatività è indicata dagli intervalli all'interno dei quali cadono i valori dei residui: $\pm 1,96$ * : $p < 0,05$; $\pm 2,58$ ** : $p < 0,01$; $\pm 3,29$; *** : $p < 0,001$.

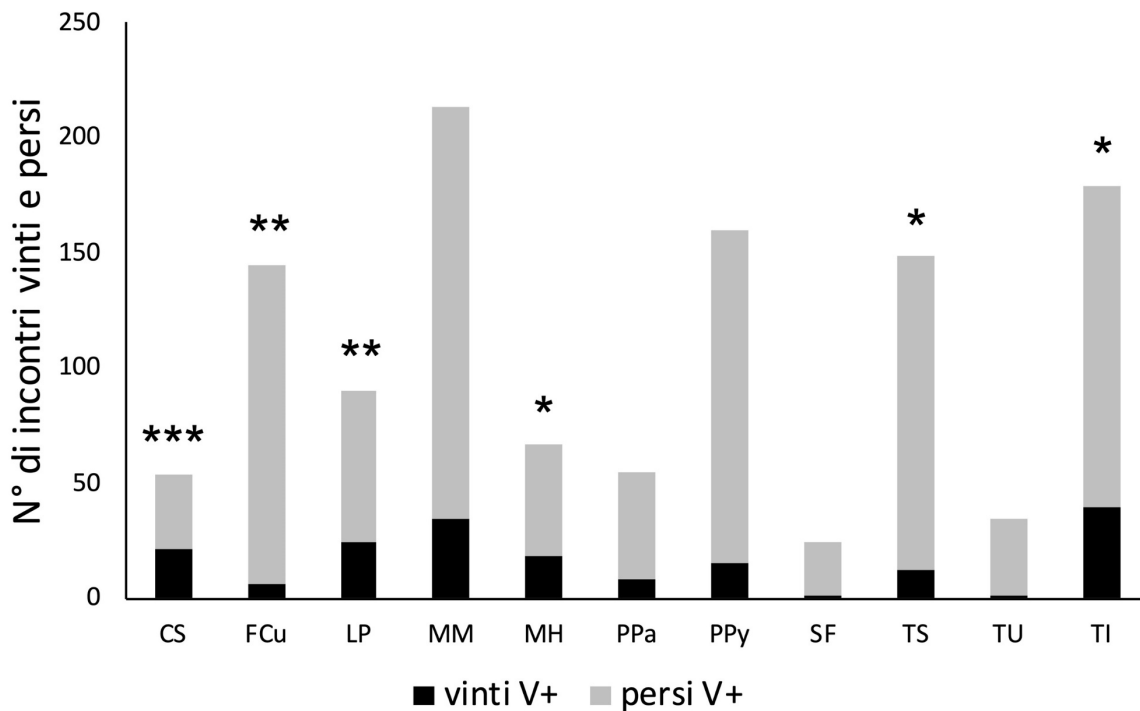


Fig.38 Confronto tra specie per abilità nel vincere gli scontri in V+. La significatività è indicata dagli intervalli all'interno dei quali cadono i valori dei residui: $\pm 1,96$ * : $p < 0,05$; $\pm 2,58$ ** : $p < 0,01$; $\pm 3,29$ *** : $p < 0,001$.

È stato valutato l'effetto della categoria di area verde (V- vs V+), sul numero di interazioni interspecifiche vinte dalle specie. Dal test non sono emerse differenze significative, ovvero non c'è un effetto della tipologia di area sulle interazioni; gli esiti dell'analisi sono elencati in **Tab.10**.

Specie	Esito del Chi-quadrato o del Fisher test
CS	Fisher test: $p = 1$
LN	Fisher test: $p = 0,51$
LP	Fisher test: $p = 0,68$
MM	Fisher test: $p = 0,21$
PPy	Fisher test: $p = 0,37$
SF	Fisher test: $p = 1$
TS	Fisher test: $p = 0,57$
TU	Fisher test: $p = 1$
TI	$\chi^2(1) = 0,58, p = 0,45$

Tab.10 Esito dell'analisi svolta con il Chi-quadrato (χ^2) o con il test di Fisher.

Il secondo approccio impiegato per indagare la presenza di una gerarchia di dominanza, è stato quello di calcolare il valore della pendenza della gerarchia, detta anche *steepness*, mediante l'analisi del **David's score**. È stata effettuata un'analisi per le due categorie di area verde separatamente e sono state inserite tutte le specie della comunità che hanno avuto interazioni interspecifiche. I valori della *steepness* ottenuti sono risultati molto bassi sia per le aree V- (*steepness* = 0,09658) e sia per le V+ (*steepness* = 0,06287), indicando l'assenza di una gerarchia di dominanza. I grafici con i risultati delle analisi sono mostrati in **Fig.39** e **Fig.40**.

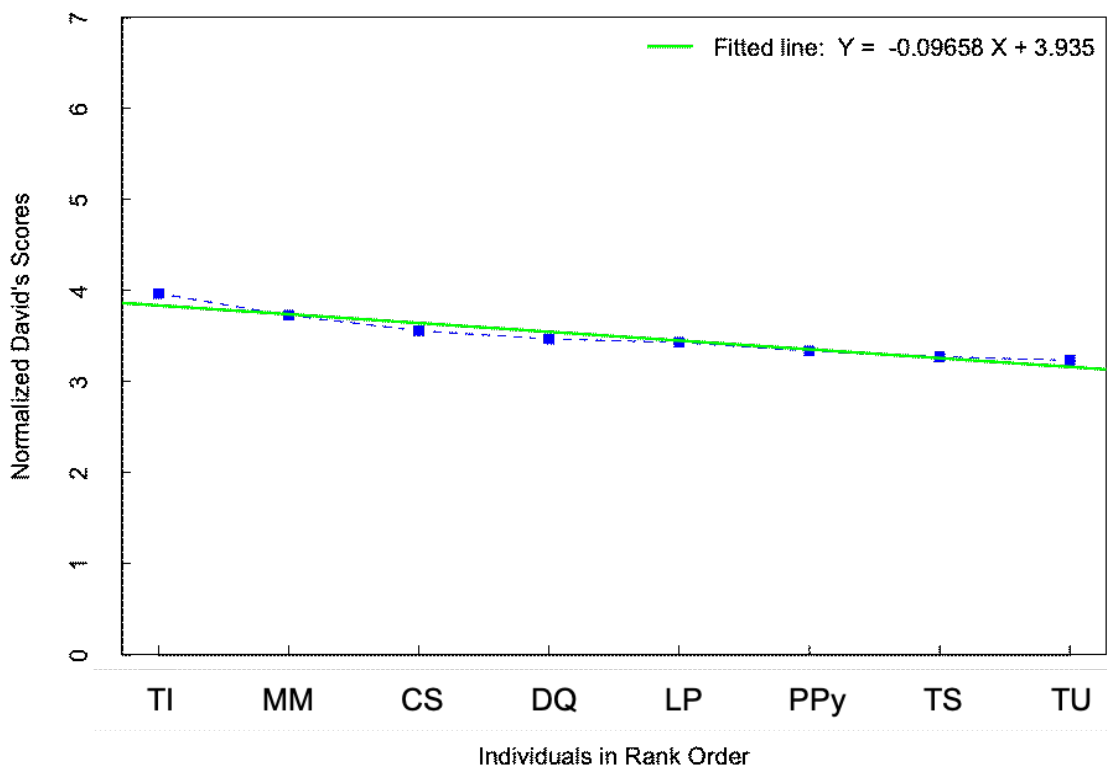


Fig.39 David's score per le specie nella categoria V-. Le specie sono distribuite in modo da seguire l'ordine per ranghi di dominanza. La linea tracciata in verde indica la pendenza della gerarchia.

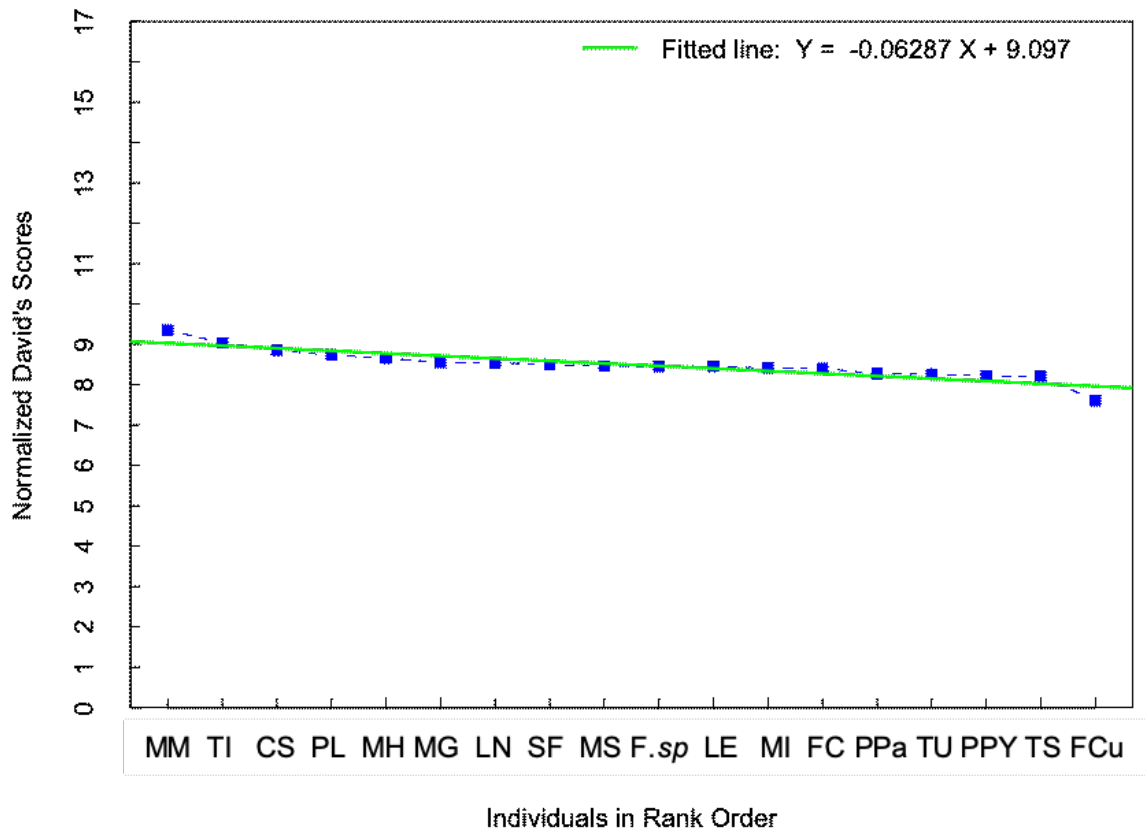


Fig.40 David's score per le specie nella categoria V+. Le specie sono distribuite in modo da seguire l'ordine per ranghi di dominanza. La linea tracciata in verde indica la pendenza della gerarchia.

3.6 DISCUSSIONE

Generalmente gli *habitat* urbani sono associati a una povertà e omogeneità nella *species richness* in quanto fortemente eterogenei e impattati dalle attività antropiche, le quali generano azioni di disturbo, alterando la struttura delle comunità animali presenti (Grimm *et al.*, 2008; Kuttler, 2008; Menke *et al.*, 2011; Schwarz *et al.*, 2017). D'altro canto, le città possono offrire una grande varietà di *habitat* diversi che spaziano da aree fortemente modificate ad ambienti con un gradiente di naturalità crescente, come infrastrutture verdi, giardini, parchi, corsi d'acqua e zone boschive (Aronson *et al.*, 2017). Proprio la preservazione e/o la progettazione di questi ambienti a impronta naturale, o semi-naturale, deve essere incoraggiata nel piano di sviluppo delle città, in quanto tali ambienti possono risultare fondamentali per la conservazione della biodiversità urbana (Niemelä, 1999; Pacheco & Vasconcelos, 2007; Beninde *et al.*, 2015; Aronson *et al.*, 2017; Braschler *et al.*, 2021). Alla luce di queste considerazioni, il presente studio ha indagato due differenti categorie di area verde urbana, le quali si differenziavano principalmente per la proporzione di superficie pavimentata. L'approccio adottato dallo studio è stato quello di indagare, mediante studi su campo, la comunità della mirmecofauna che le due categorie di area verde ospitano, mediante l'impiego di organismi bioindicatori quali le formiche (Menke *et al.*, 2011; Buczkowski & Richmond, 2012; Nooten *et al.*, 2019). Più specificatamente, dai recenti risultati emersi da studi svolti sul complesso *T. caespitum*, la specie *T. immigrans* si è distinta dalle altre in quanto maggiormente adattata agli ambienti disturbati come quello urbano (Gippet *et al.*, 2017; Cordonnier *et al.*, 2019a; b; 2020a). Pertanto, nello studio è stata data particolare attenzione alla specie *T. immigrans*, la quale, data la sua presenza e distribuzione nelle aree verdi di Parma, può candidarsi come possibile bioindicatore delle suddette aree. Inoltre, i risultati ottenuti forniscono alcune prime utili indicazioni che possono contribuire allo sviluppo sostenibile della città di Parma.

Innanzitutto, lo studio ha permesso la redazione di una **check-list** delle specie di formiche presenti nelle 12 aree di studio, aggiornando, di conseguenza, l'unica altra *check-list* di Parma fino a oggi disponibile (Lucky *et al.*, 2014). Nella presente *check-list* sono state identificate 23 specie appartenenti a 16 generi suddivisi in 4 sottofamiglie (Dolichoderinae, Formicinae, Myrmicinae e Ponerinae). I generi osservati sono comunemente presenti sia negli ambienti naturali e sia in quelli antropizzati (Antweb, 2021) e la loro distribuzione in aree urbanizzate è stata confermata da altri studi, condotti in contesti urbani sia europei che extraeuropei e in fasce climatiche molto varie (temperata, temperata fredda, continentale, mediterranea, oceanica,

subtropicale ed equatoriale-monsoonica) (Yamaguchi, 2004; Clark *et al.*, 2008; Vepsäläinen *et al.*, 2008; Stinger *et al.*, 2009; Piva & campos, 2012; Slipinski *et al.*, 2012; Carpintero & Lopez, 2014; Reyes-López & Carpintero, 2014; Savage *et al.*, 2014; Gippet *et al.*, 2017; Hasin & Tasin, 2020). Delle specie campionate nel presente studio, nessuna è alloctona e/o invasiva, ma tutte possiedono areali di distribuzione compresi nella regione paleartica e la loro presenza è già stata documentata in Italia (Antweb, 2021). Per quanto riguarda *T. immigrans*, seppur questa specie non sia originaria dell'Italia, ma della zona dell'Anatolia e del Caucaso, il suo areale di distribuzione si è nel tempo ampliato fino a comprendere anche la penisola italiana (Wagner *et al.*, 2017).

Dunque, il ritrovamento di 23 specie nella città di Parma può essere considerato un buon risultato in termini di **species richness**, se al tempo stesso si considerano i risultati ottenuti da studi condotti in contesti urbani simili. Infatti, dal confronto è emerso che, nonostante in questi studi vi sia stato uno sforzo di campionamento da due o otto volte maggiore, il numero di specie osservate è stato inferiore o di poco superiore a 23 (Clark *et al.*, 2008; Uno *et al.*, 2010; Slipinski *et al.*, 2012; Carpintero & Lopez, 2014; Reyes-López & Carpintero, 2014).

Per quanto riguarda la **composizione delle comunità**, si riscontrano per la maggior parte specie generaliste le quali si adattano a tipologie di *habitat* eterogenee fra loro e che non risentono, o risentono in minima parte, del disturbo antropico (Brandão *et al.*, 2012; Moranz *et al.*, 2013; Seifert, 2018). Tra le specie generaliste ne troviamo alcune della sottofamiglia delle Formicinae appartenenti al genere *Formica*, *Lasius* e *Plagiolepis* (Moranz *et al.*, 2013; Antweb, 2021). Anche per le Myrmicinae abbiamo specie generaliste dei generi *Crematogaster*, *Pheidole*, *Messor*, e *Monomorium* (Andersen, 1995; Andersen, 1997; King *et al.*, 1998; Richard & Dejean, 2001; Majer *et al.*, 2004; Brandão *et al.*, 2012; Bharty *et al.*, 2013; Moranz *et al.*, 2013; Rivas-Arancibia *et al.*, 2014) e alcune opportuniste dei generi *Myrmica* e *Tetramorium*. Per le Dolichoderinae abbiamo generi classificati come opportunisti (*Dolichoderus* e *Tapinoma*) (Bharty *et al.*, 2013). La sottofamiglia delle Ponerinae, invece, è rappresentata da specie criptiche le quali nidificano e foraggiano prevalentemente nel suolo e perciò difficili da osservare. Infatti, per questa sottofamiglia è stata osservata solo la specie *Hipoponera eduardi*, la quale risulta anch'essa generalista (King *et al.*, 1998; Majer *et al.*, 2004; Brandão *et al.*, 2012; Bharty *et al.*, 2013).

Considerando il **confronto tra le due categorie di verde urbano**, le aree con maggiore copertura vegetale hanno presentato quasi il **doppio delle specie**. Probabilmente, la semplificazione dell'*habitat* nelle aree in cui vi è una maggiore estensione della superficie pavimentata, ha aumentato il grado di disturbo ed è stato, quindi, responsabile della

conseguente semplificazione della comunità della mirmecofauna. Questo risultato costituisce una prima indicazione del fatto che le aree caratterizzate da un ambiente più eterogeneo, dove prevale la copertura erbosa ed arborea, sono più idonee alla conservazione della biodiversità urbana.

Per approfondire questo aspetto, sono state svolte indagini per comprendere quale fosse l'**effetto della categoria di verde urbano sulla struttura delle comunità** ospitata. I risultati hanno dimostrato che **le comunità sono influenzate dalla tipologia di area verde**, diversificandosi in termini di abbondanza e diffusione delle specie. In particolare, è emerso questo *trend*: l'abbondanza e la frequenza di una specie diminuiscono, seppur non sempre in modo significativo, dalle aree con maggior copertura vegetazionale a quelle in cui è minore. Questo risultato concorda con quanto sopra discusso circa l'impoverimento della comunità nelle aree maggiormente disturbate. In letteratura, numerosi studi confermano che aree meno colpite dal disturbo dell'urbanizzazione e/o più eterogenee nella composizione della vegetazione possono ospitare comunità più ricche in specie. Per esempio, uno studio giapponese ha indagato l'influenza della progressiva urbanizzazione delle aree verdi sulla composizione e *sulla species richness* della mirmecofauna in parchi urbani presenti nella megalopoli di Tokyo e a Chiba, piccola cittadina a 40 km dalla capitale giapponese. I risultati dello studio hanno sottolineato che la *species richness* non solo incrementasse al diminuire del grado di urbanizzazione, ma che fosse anche positivamente correlata all'età e alla superficie delle aree verdi indagate. Inoltre, i parchi di Tokyo presentavano una minore diffusione delle specie rispetto ai parchi situati a Chiba. (Yamaguchi, 2004). Non solo le formiche, ma anche la composizione della comunità delle lumache è stata studiata in quanto utili organismi bioindicatori per studiare gli effetti dell'urbanizzazione. Lo studio americano, condotto in tre città dello stato del Tennessee, ha preso in esame 54 aree verdi le quali, seguendo un gradiente d'urbanizzazione, riducevano non solo le proprie dimensioni al progressivo avvicinarsi del centro cittadino, ma anche la struttura vegetazionale subiva una riduzione della copertura arborea. Le analisi hanno mostrato un'omogeneità delle comunità delle lumache presenti in aree verdi differenti ma situate presso i centri delle città. Dalla ricerca è anche emersa la presenza di una progressiva eterogeneità delle comunità all'aumentare sia della distanza dei parchi dal centro cittadino e sia della copertura arborea al loro interno (Hodges & McKinney, 2018). Storicamente, l'ipotesi che aree più eterogenee, maggiormente complesse da un punto di vista strutturale, come sono per esempio le aree verdi V+, potessero ospitare una *species richness* maggiore, era già stata proposta nel lavoro di McArthur & McArthur (1961) e da McArthur & Wilson (1967) nell'ambito della "*habitat heterogeneity hypothesis*".

Questa ipotesi predice che *habitat* strutturalmente più complessi possano fornire una maggiore varietà di nicchie e risorse sostenendo così le specie al loro interno. Tra gli studi che hanno voluto verificare questa ipotesi vi è una recente ricerca australiana. Tale ricerca ha posto in relazione la complessità degli *habitat* e la *species richness* della mirmecofauna presenti in 15 campi da golf i quali si differenziavano per l'età, le dimensioni, la tipologia della vegetazione e il grado di connettività all'*habitat* nativo adiacente. Dai risultati è emerso che la *species richness* delle formiche era positivamente correlata con la complessità dell'*habitat* delle aree di studio indagate e che all'aumentare della copertura arborea aumentava anche il numero di specie ospitate, supportando la “*habitat heterogeneity hypothesis*” (Nooten *et al.*, 2019).

Nel presente studio, è emersa, tuttavia, **un'eccezione** rilevante all'andamento generale. Infatti, la specie *T. immigrans* si è dimostrata più abbondante e diffusa nelle aree a minor copertura vegetazionale. Questo risultato è in accordo con quanto ottenuto da altri studi che hanno evidenziato come, in generale, *T. immigrans* occupi più frequentemente *habitat* disturbati e semplificati rispetto ad altre specie (Lucky *et al.*, 2014; Gippet *et al.*, 2017; Cordonnier *et al.*, 2019a; 2020). In termini di valutazione della **dominanza numerica**, i risultati della presente ricerca hanno anche evidenziato come, per entrambe le tipologie di comunità, sia proprio la specie *T. immigrans* a risultare dominante. Tuttavia, come discusso sopra, la sua dominanza è mitigata nelle aree più verdi, dove *T. immigrans* coesiste con molte più specie. Probabilmente, in un ambiente più eterogeneo e meno impattato, assume un peso maggiore la **competizione interspecifica**, intesa come fattore che influenza la struttura di comunità, limitando la diffusione di specie opportuniste più adattate ad ambienti disturbati. La competizione è uno dei fattori noti per regolare la struttura di comunità delle formiche ed è stata ampiamente studiata, spesso in associazione con altri fattori come ad esempio la temperatura o il disturbo antropico (Andersen, 1992; Cerdà *et al.*, 1998b; Cerdà *et al.*, 2012; Rowles & O'Dowd, 2007; Santini *et al.*, 2007; Achury *et al.*, 2020; Lach *et al.*, 2010).

Considerando l'**andamento stagionale**, *T. immigrans* è risultata nel presente studio la specie più abbondante e diffusa in ogni sessione di campionamento. Ciò significa che *T. immigrans* **si dimostra precocemente attiva**, dopo il periodo di quiescenza invernale, rispetto ad altre specie simpatriche inizialmente assenti o poco attive. Durante la prima sessione di campionamento, condotta nel mese di maggio, la temperatura media oscillava tra i 19,5° C e i 22,3° C: questo range di temperature è compatibile con la nicchia termica documentata per l'attività di foraggiamento in *T. immigrans* (Wagner *et al.*, 2017; Cordonnier *et al.*, 2019b). Inoltre, questa specie **si è mantenuta attiva per tutta la stagione estiva**, con picchi di attività tra giugno e luglio. Poiché ad oggi non esistono studi specifici sui ritmi di attività di *T.*

immigrans, per approfondire ulteriormente il vantaggio che un ampio range di tolleranza termica può conferire a questa specie in termini di acquisizione delle risorse, si rendono necessari studi *ad hoc* sui ritmi di attività stagionali e giornalieri sia di *T. immigrans* sia delle specie simpatriche, potenziali competitori. Futuri studi potrebbero concentrare gli sforzi di campionamento in periodi dell'anno diversi da quello estivo, verificando se variazioni nella temperatura e nelle precipitazioni possano influenzare le specie presenti nelle aree verdi urbane.

Parallelamente, sono state indagate e messe a confronto le **abilità comportamentali** delle specie tra loro e rispetto alla tipologia di verde urbano, nell'ambito della competizione per le risorse alimentari. I risultati hanno mostrato che, in generale, **l'abilità di monopolizzare una risorsa è legata alla maggior presenza e diffusione della specie nell'ambiente**; in particolare, questo **trend è stato guidato da *T. immigrans***, che ha visitato più della metà delle esche piazzate e ne ha monopolizzate i tre quarti. Infatti, questa specie si è dimostrata, in generale, la più abbondante e diffusa: questa dominanza numerica potrebbe essere la spiegazione del suo grande successo nella competizione per le risorse. In letteratura non vi sono studi che hanno valutato direttamente questa abilità per la specie *T. immigrans*, ma ricerche condotte sulle strategie di foraggiamento attuate dal genere *Tetramorium* indicano che queste formiche adottano un particolare tipo di reclutamento alla risorsa alimentare, ovvero il reclutamento di massa (Lachaud, 1985; Beckers *et al.*, 1989). In questo caso, le operaie che tornano da una fonte di cibo al nido rilasciano una traccia chimica che guiderà le compagne alla fonte alimentare, consentendone un efficace sfruttamento in poco tempo (Beckers *et al.*, 1989; Biseau *et al.*, 1994; Katayama & Suzuki, 2003; Cerdà *et al.*, 2009; Collignon & Detrain, 2010). Questo tipo di strategia, adottata da *T. immigrans* nel presente studio, potrebbe effettivamente averne decretato il successo nella monopolizzazione delle esche.

È stata poi indagata la presenza di un *trade-off* tra abilità di scoprire la risorsa e di monopolizzarla nelle comunità in esame, senza distinzione di categoria di area verde. Storicamente, questo *trade-off* è stato considerato come meccanismo in grado di spiegare e regolare la convivenza di specie di formiche all'interno dello stesso *habitat* (Fellers, 1987; Savolainen & Vepsäläinen, 1989; Le Breton *et al.*, 2007; Sarty *et al.*, 2006; Stuble *et al.*, 2013), dimostrando che le specie dominanti, capaci di monopolizzare una risorsa, fossero meno abili nello scoprirla, consentendo alle specie subordinate di garantirsi l'accesso a parte delle risorse nell'ambiente (Vepsäläinen & Pisarski 1982; Fellers, 1987; Hölldobler & Wilson, 1990; Le Brun & Feener 2002; 2007; Feener *et al.*, 2008). Ciononostante, nel presente studio **non è stato evidenziato questo *dominance-discovery trade-off***, ma, al contrario, la relazione tra le abilità

è risultata positiva. Ancora una volta, responsabile del *trend* è la specie *T. immigrans*, che **si è dimostrata molto abile in entrambe le specialità**. Il risultato ottenuto concorda con quelli registrati in ricerche precedenti condotte su comunità di formiche in ambienti di foresta e prateria del Nord e Sud America, in zone suburbane della Germania e in ambienti mediterranei dell'Italia. Infatti, nelle comunità studiate, la correlazione positiva tra la capacità di scoprire la risorsa e quella di saperla monopolizzare ha definito la rottura di questo *trade-off*, portando i ricercatori a pensare che altri meccanismi dovessero intervenire nella regolazione delle interazioni interspecifiche (Jordan & Blüthgen, 2007; Santini *et al.*, 2007; Feener *et al.*, 2008; Wiescher *et al.*, 2011; Castracani *et al.*, 2014; Camarota *et al.*, 2018). È, quindi, stato suggerito che, volendo studiare gli equilibri che regolano una comunità di formiche e ne determinano la struttura, l'analisi debba essere più complessa, integrando non solo parametri che misurino il fattore competizione, ma anche variabili relative a più fattori ambientali e di disturbo antropico (Parr & Gibb, 2012).

Per quanto riguarda l'**effetto della categoria di verde urbano sulle strategie comportamentali** di alcune specie rappresentative, è stato evidenziato un trend simile a quello già discusso per i risultati su abbondanze e frequenze: *T. immigrans* si è dimostrata **più abile** nella scoperta delle risorse **nelle aree a minor copertura vegetazionale**, dove raggiunge per prima le esche il doppio delle volte rispetto a quanto accade nelle aree più verdi. Pertanto, questo risultato supporta l'ipotesi, già discussa, che una specie ruderale come *T. immigrans* sia avvantaggiata in ambienti più impattati, in cui l'abilità nella competizione con le altre specie può assumere un ruolo di secondo piano rispetto alla capacità di adattarsi al disturbo antropico. Dal **confronto tra specie**, effettuato separatamente per le due tipologie di area, è emerso, inoltre, che *T. immigrans* si conferma **la specie più abile nel monopolizzare la risorsa**, sia nelle aree a maggior copertura vegetazionale sia in quelle a minor copertura. Come discusso in precedenza, si ipotizza che questo successo sia legato all'adozione di una strategia di foraggiamento per reclutamento di massa, che ha come risultato l'arrivo, in poco tempo, di numerosi individui della colonia alla risorsa che, di fatto, viene circondata, rendendola non più disponibile per le colonie di altre specie.

Le analisi condotte nell'ambito della valutazione sulle strategie comportamentali hanno portato ad una **considerazione metodologica circa l'uso di indici** per descrivere le abilità delle singole specie. Pesando il numero di trappole scoperte per prime o monopolizzate per il numero di trappole visitate, questi indici permettono di evidenziare anche le abilità delle specie meno rappresentate in un'area e che, è ipotizzabile, raggiungono meno trappole nello stesso periodo di tempo rispetto a specie molto abbondanti (Fellers, 1987; Bestelmeyer *et al.*, 2000; Santini *et*

al., 2007; Lach *et al.*, 2010). Per questo motivo, nel presente studio, per esempio, la specie *P. pallidula* è risultata abile nella monopolizzazione, in alcuni casi al pari di *T. immigrans*, pur avendo visitato solo 1/16 delle trappole visitate da *T. immigrans*. Allo stesso tempo, nella presente ricerca le analisi sono state condotte anche impiegando solo il numero di trappole scoperte per prime o monopolizzate (il numeratore dell'indice). Ciò è stato possibile in quanto il piano sperimentale ha previsto un disegno bilanciato: lo stesso numero di trappole è stato utilizzato sia per ogni tipologia di area verde sia per ogni sessione di raccolta dati nella stessa area nel corso della stagione di campionamento. In questo modo, in ogni sessione, potenzialmente le specie avevano sempre la possibilità di visitare lo stesso numero di trappole, rendendo l'analisi dei dati indipendente dal fattore *occurrence*. I risultati di queste analisi hanno messo chiaramente in evidenza il ruolo di primo piano assunto da *T. immigrans* rispetto alle altre specie simpatriche, in virtù delle abilità mostrate nella competizione per le risorse trofiche. Volendo, quindi, trarre una conclusione più generale, si potrebbe suggerire la conduzione di analisi che, in parallelo, impieghino dati non pesati e dati pesati (ovvero indici) per avere un quadro più completo della complessità che caratterizza la struttura di una comunità di formiche e dei contributi che le singole specie apportano a tale complessità.

Infine, l'indagine sulla **dominanza comportamentale**, in termini di successo negli **scontri osservati presso la risorsa**, non ha evidenziato specie marcatamente più aggressive o più abili di altre nello scacciare le competitori. In altri termini, è emerso che nelle comunità in esame **non esiste una gerarchia di dominanza basata sulla competizione diretta**, che gioca, quindi, un ruolo marginale nello strutturare le comunità stesse. In generale, alcuni autori hanno messo in evidenza che i diversi parametri e metodi con i quali le gerarchie di dominanza sono formulate e descritte in letteratura rendono difficile la standardizzazione e il confronto tra i diversi casi di studio (Stuble *et al.*, 2017). Gli stessi autori suggeriscono, quindi, di considerare le comunità come reti dinamiche costituite da specie interagenti fra loro, piuttosto che come entità statiche regolate da gerarchie lineari in cui le specie possono essere classificate dalla più dominante alla meno dominante (Stuble *et al.*, 2017). D'altra parte, nel presente studio, non è stato evidenziato neppure un effetto della tipologia di area sulle interazioni delle specie presenti, sebbene il numero di interazioni totali nelle aree a maggior copertura vegetazionale sia sei volte superiore rispetto alle aree con minor copertura. Quest'ultimo risultato supporta ancora una volta il fatto che, all'interno di habitat semplificati e impattati, è proprio il disturbo più che la competizione il fattore chiave nel plasmare le comunità. Per quanto riguarda i risultati ottenuti per *T. immigrans*, questa specie è stata coinvolta nel **maggior numero di scontri con altre specie**, sebbene gli esiti siano stati di **scarso successo**. È probabile che il

grande numero di interazioni osservate sul campo per *T. immigrans* sia dovuto non tanto ad un'indole più aggressiva quanto alla sua maggiore abbondanza, che ha permesso di registrare più scontri rispetto alle altre specie. Proprio per approfondire alcuni di questi aspetti, legati all'espressione di comportamenti aggressivi in *T. immigrans*, sono stati progettati esperimenti che saranno presentati nel **cap.5**.

In conclusione, i risultati hanno fornito una prima indicazione su alcune caratteristiche della struttura di aree verdi da preferire nella progettazione di un piano di sviluppo urbano volto a promuovere e conservare la biodiversità. Per quanto riguarda le specie del complesso *T. caespitum*, nelle aree verdi indagate è stata riscontrata solo *T. immigrans*, nota, all'interno del complesso, per essere la specie meglio adattata a questo tipo di *habitat*. *T. immigrans* potrebbe essere una buona candidata come bioindicatore, non solo in quanto ubiquitaria e numericamente dominante, ma anche perché la sua abbondanza ed alcune strategie comportamentali variano in funzione della tipologia di ambiente.

**CAP 4 ~ IDENTIFICAZIONE DELLE
SPECIE DEL COMPLESSO**

Tetramorium caespitum:

**INDAGINI SISTEMATICHE
E PROTOCOLLO DI
RICONOSCIMENTO**

4.1 INTRODUZIONE

Il complesso *Tetramorium caespitum* comprende 10 specie paleartiche difficilmente distinguibili fra loro (Wagner *et al.*, 2017). Morfologia e colorazione, simili a livello interspecifico e variabili anche livello intraspecifico, possono essere elementi di confusione e pertanto, nel corso del tempo, diversi ricercatori hanno iniziato a compiere studi tassonomici con l'obiettivo di raggiungere una chiara identificazione delle specie del complesso (Bolton, 1976; Schlick-Steiner *et al.*, 2006; Radchenko & Dlussky, 2015; Wagner *et al.*, 2017). La revisione sistematica avvenuta nel 2017 ha chiarito la situazione a livello tassonomico fornendo, inoltre, una chiave dicotomica dettagliata basata su diverse misurazioni morfometriche (Wagner *et al.*, 2017). Di conseguenza, dopo il 2017, studi focalizzati sul complesso *T. caespitum* hanno potuto identificare chiaramente le specie oggetto d'indagine, iniziando a caratterizzarle anche dal punto di vista ecologico (Cordonnier *et al.*, 2019a; b; c, 2020a; b). Questo ha, inoltre, permesso di stabilire quali specie sono presenti anche in contesti urbani, essendosi adattate ad ambienti soggetti al disturbo antropico. Tra queste, come indicato in precedenza, *T. immigrans* sembra essere la specie più diffusa in ambiente urbano (Cordonnier *et al.*, 2019a; b; c, 2020a; b; Gippet *et al.*, 2017) e, quindi, quella che potrebbe candidarsi come indicatore di qualità ambientale per questo particolare tipo di *habitat*.

4.2 SCOPO

La recente revisione tassonomica del complesso *T. caespitum* ha messo in luce che, per quanto riguarda gli ambienti urbani, due specie in particolare, *T. caespitum* s.s. e *T. immigrans*, sono ben associate a questa tipologia di *habitat*, seppur con preferenze differenti (Buczowski & Richmond, 2012; Cordonnier *et al.*, 2019b; 2020a). Purtroppo, le specie del complesso *T. caespitum* sono morfologicamente molto simili tra loro, rappresentando pertanto una sfida tassonomica per i ricercatori che le studiano (Wagner *et al.*, 2017). Dunque, la presente linea di ricerca si propone di **sviluppare un efficace protocollo di riconoscimento tassonomico delle specie del complesso *T. caespitum***, attraverso misurazioni morfometriche, per rispondere alla domanda: **quali specie appartenenti al complesso d'interesse sono presenti nelle aree urbane verdi di Parma?**

4.3 MATERIALI e METODI

4.3.1 Gestione dei campioni

I campioni delle formiche appartenenti al genere *Tetramorium*, ottenuti tramite i campionamenti del 2019 nelle aree verdi di Parma (**Cap.3**), sono stati trasferiti in laboratorio, separati dalle altre specie di formiche e poste in provette Eppendorf riempite di alcol al 70%. In seguito, ne è stato eseguito il riconoscimento tassonomico.

4.3.2 Protocollo di identificazione delle specie del complesso *Tetramorium caespitum*

Per il riconoscimento è stato messo a punto un protocollo *ad hoc* seguendo la chiave dicotomica di Wagner *et al.*, (2017) e per alcuni casi è stata impiegata come ausilio aggiuntivo, per un'identificazione più robusta, anche la chiave di riconoscimento di Seifert (2018). Tale procedura ha richiesto l'impiego di strumenti specifici per svolgere un'accurata **analisi morfometrica** (Wagner *et al.*, 2017): è stato utilizzato uno stereomicroscopio Zeiss modello Stemi 508, sul quale è stata montata una fotocamera Axiocam Erc 5s. In aggiunta, sul microscopio sono stati montati elementi aggiuntivi in modo da ottenere una magnificazione totale di 75x. Tutte le fotografie delle porzioni morfologiche sono state elaborate con il software Zeiss Zen Core 2.6 (**Fig.41**).



Fig.41 Schermata principale del software Zen core (versione 2.6).

Tramite questo software è stata svolta la misurazione diretta dei caratteri fotografati. Dunque, per l'analisi, sono stati richiesti i 34 caratteri morfologici corrispondenti a 32 misurazioni morfometriche e 2 conteggi. All'interno del lavoro di Wagner *et al.* (2017) sono fornite: una tavola morfologica, con le indicazioni che consentono di effettuare in modo corretto le misurazioni necessarie, e una tavola con gli acronimi utilizzati per indicare le varie misurazioni (Fig.42 e Tab.11).

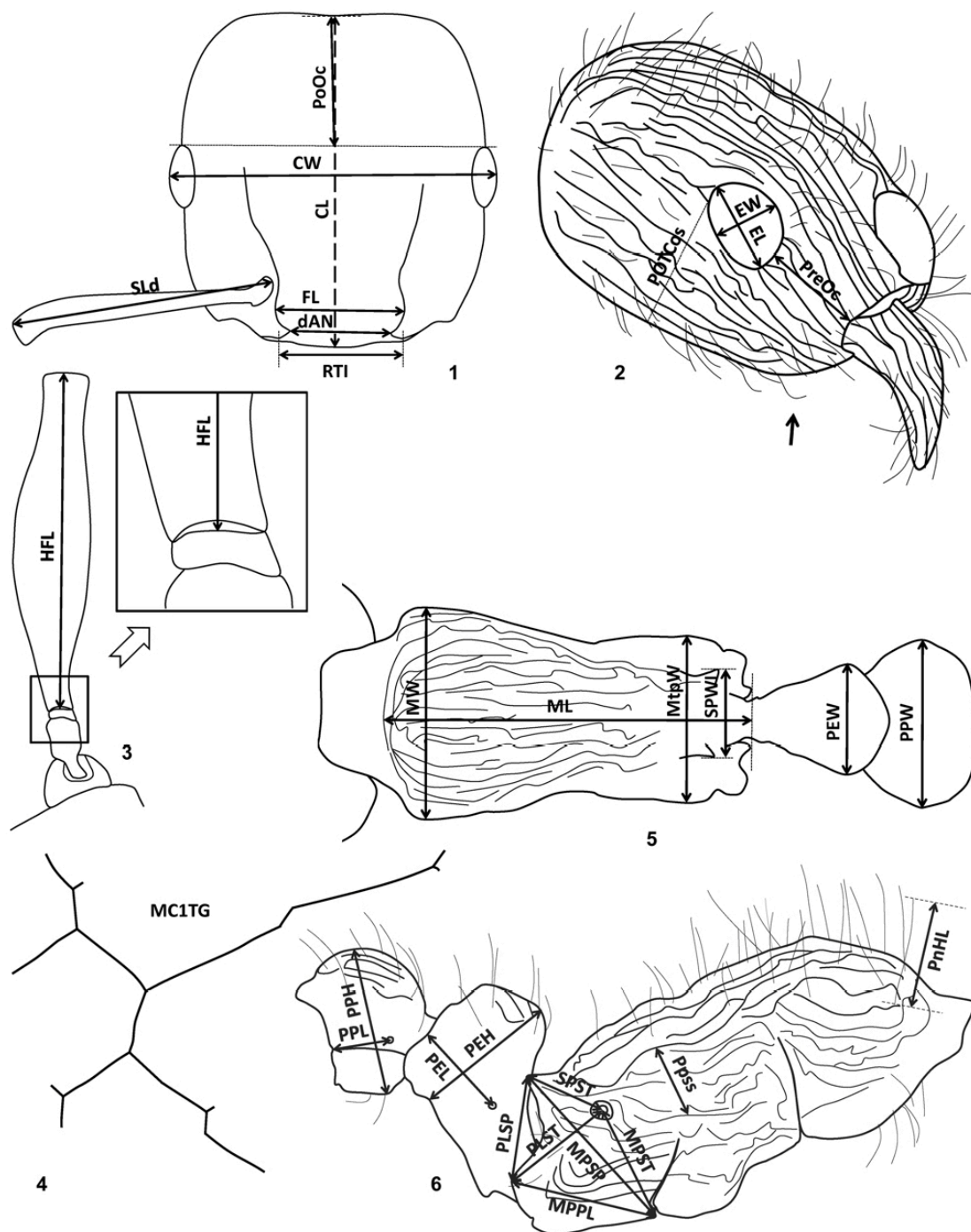


Fig.42 Porzioni anatomiche della formica sulle quali effettuare le misurazioni morfometriche (Wagner *et al.*, 2017).

Acronym	Definition
CL	Maximum cephalic length in median line (Fig. 1); head is carefully tilted to position with true maximum; excavations of occiput and / or clypeus reduce CL. Peaks due to sculpture are ignored and only valleys are considered.
CS	Arithmetic mean of CL and CW.
CW	Maximum cephalic width across eyes (Fig. 1).
dAN	Minimum distance between antennal fossae (Fig. 1); measured in dorsofrontal view.
EL	Maximum diameter of one eye. All structurally defined ommatidia, pigmented or not, are included (Fig. 2).
EW	Minimum diameter of one eye. All structurally defined ommatidia, pigmented or not, are included (Fig. 2).
EYE	Arithmetic mean of EL and EW.
FL	Maximum distance between external margins of frontal lobes (Fig. 1). If this distance is not defined because frontal carinae constantly converge frontad, FL is measured at FRS level (definition of FRS see SEIFERT 2003) as distance between the outer margins of frontal carinae.
HFL	Length of hind femur in dorsal view (Fig. 3). Second trochanter, which could appear to be portion of femur, must not be mistakenly included.
MCITG	Quantification of stickman-like or reticulate microsculpture units on base of 1 st gastral tergite (use > 150 × magnification; Fig. 4): Number of connected lines building units and being separated by line intersections and by flections angled > 10° is counted. Also very short lines are full counts. Arithmetic means of at least three units per worker are taken.
ML	Mesosoma length measured in dorsal view from caudalmost portion of propodeum to dorsofrontal corner of pronotal slope (i.e., where coarsely structured dorsal shield meets finely structured pronotal neck; Fig. 5); equivalent measuring also possible in lateral view.
MPPL	Distance between most anteroventral point of metapleuron and most dorsocaudal point of propodeal lobe in lateral view (Fig. 6). If there are two points coming into question to be dorsocaudalmost point on propodeal lobe, the one which is provided with a carina is taken.
MPSP	Distance between most anteroventral point of lateral metapleuron and distalmost point of propodeal spine (it does not need to be uppermost point of spine; Fig. 6).
MPST	Distance between most anteroventral point of metapleuron and center of propodeal stigma (Fig. 6).
MtpW	Maximum metapleuron width measured in dorsal view (Fig. 5). (In most cases, maximum is at caudal and in few cases at central or frontal region of metapleuron.)
MW	Maximum mesosoma width (Fig. 5).
PEH	Petiole height. Measured from uppermost point of concave ventral margin to node top (Fig. 6).
PEL	Petiole length. Measured in lateral view from center of petiolar stigma to caudal margin of petiole (both measuring points on same focal level; Fig. 6).
PEW	Maximum petiole width (Fig. 5).
PLSP	Distance between most dorsocaudal point of propodeal lobe (if there are two points coming into question to be dorsocaudalmost point of propodeal lobe, the one which is provided with a carina is taken) and distalmost point of propodeal spine (it does not need to be uppermost point of spine; Fig. 6).
PLST	Distance between most dorsocaudal point of propodeal lobe and center of propodeal stigma (Fig. 6).
PnHL	Length of hair at frontolateral corner of pronotum (Fig. 6). Take longest hair of both sides.
PoOc	Postocular distance. Using cross-scaled ocular micrometer, head is adjusted to measuring position of CL; caudal measuring point: median posterior margin of head, microsculpture peaks are ignored and valleys are considered; frontal measuring point: median head crossing line between posterior eye margins (Fig. 1).
POTCos	Number of postoculo-temporal costae and costulae (Fig. 2). With head in lateral view and longitudinal axis of head adjusted horizontally, counted by focussing along perpendicular line from caudalmost point of eye down to underside of head. Costae / costulae just touching measuring line are counted as 0.5, those positioned just at ventral margin of head silhouette are not counted. Arithmetic mean of both sides.
PPH	Maximum postpetiole height (Fig. 6).
PPL	Postpetiole length; distance from center of postpetiolar stigma to caudalmost intersection point of tergite and sternite (both measuring points at same focal level; Fig. 6).
Ppss	Maximum height of smooth and shiny area on lateral side of propodeum (Fig. 6). This area is brought into visual plane; a line is positioned perpendicular to main costae on propodeum and maximum height of smooth and shiny area without any costulae and costae is measured. Take arithmetic means of both sides.
PPW	Maximum postpetiole width (Fig. 5).
PreOc	Preocular distance in lateral view. Measured as minimum distance between anterior eye margin and sharp frontal margin of gena (Fig. 2).
RTI	Distance between tops of ridges between antennal fossae and clypeus (Fig. 1). Tops are defined as dorsofrontalmost points of ridges, provided with a costa on clypeus. Measured in dorsoanterior view.
SLd	Maximum scape length, including scape lobe, excluding articular condyle (Fig. 1).
SPST	Distance between distalmost point of propodeal spine (it does not need to be uppermost point of spine) and center of propodeal stigma (Fig. 6).
SPWI	Maximum distance between outer margins of propodeal spines (Fig. 5). Measured in dorsoanterior view.

Tab.11 Acronimi utilizzati da Wagner *et al.* (2017) e da Seifert (2018) per riferirsi ai caratteri morfologici da misurare.

Per le due metodologie campionamento, *pitfall* e *bait*, sono stati misurati, per ciascuna trappola, un numero di campioni variabile definito in base alla metodologia stessa.

4.3.3 Pitfall

Per i campioni raccolti con le *pitfall* non è stato possibile determinare la colonia d'appartenenza in quanto le trappole sono state lasciate aperte per 48 ore consecutive nelle aree verdi urbane. Dunque, all'interno di una stessa trappola, potevano essere presenti formiche provenienti da colonie diverse e potenzialmente di specie differenti. La definizione del numero di formiche analizzate per ogni trappola ha fatto parte del protocollo di riconoscimento, il quale è dettagliatamente spiegato di seguito.

Il protocollo di identificazione ha seguito un percorso suddiviso in 5 *step*:

- 1) Definizione del numero di campioni da analizzare
- 2) Controllo preliminare dei campioni
- 3) Analisi morfometrica
- 4) Applicazione delle funzioni discriminanti
- 5) Gestione dei casi dubbi

1) Definizione del numero di campioni da analizzare: poiché per motivi di tempo non è stato possibile analizzare la totalità dei campioni, in questa fase è stato deciso di procedere con un'approssimazione, osservando solo un certo numero di individui per ciascuna trappola, secondo le seguenti indicazioni:

- nella maggior parte dei casi (n trappole = 98), la trappola conteneva da 1 a 8 individui, che sono stati analizzati tutti (**100% degli individui osservati**);
- in alcuni casi (n trappole = 34), la trappola conteneva da 9 a 85 individui e ne sono stati analizzati sempre 8, ovvero **almeno il 10%** degli individui totali;
- in un solo caso, una trappola conteneva più di 85 individui ed è stato osservato un numero di campioni pari al 10% del totale.

Gli individui non analizzati in una trappola sono stati attribuiti alla specie degli individui identificati nella stessa trappola.

2) Controllo preliminare dei campioni: in questa fase è stato dapprima osservato se il singolo campione fosse integro, per poter effettuare tutte le misurazioni richieste da Wagner et al. 2017, ed è stato verificato se fosse visibile il carattere MC1TG. Questo carattere consiste in una micro-scultura reticolata presente sul primo tergite del gastro (**Fig.43**). Per l'applicazione delle funzioni discriminanti è stato necessario individuare tre di questi reticoli per calcolare una

media delle misurazioni richieste. Pertanto, per verificare che il campione fosse idoneo alla misurazione si è proceduto nel seguente modo:

A. Se uno dei caratteri necessari per calcolare le discriminanti non poteva essere misurato, il campione non poteva a sua volta essere analizzato e quindi è stato indicato come **non valutabile**.

A loro volta, i campioni appartenenti a questa categoria potevano essere gestiti in due modi:

a. Se il campione non valutabile apparteneva a una trappola con più di 8 individui, quest'ultimo poteva essere sostituito da un altro campione proveniente dalla medesima trappola;

b. Se il campione non valutabile apparteneva a una trappola contenente 8 individui o meno, esso non poteva essere sostituito da un altro campione e dunque sarebbe stato, in seguito, eliminato dal conteggio totale, in quanto la specie d'appartenenza non poteva essere stabilita;

B. Se il campione risultava **integro** e tutti i caratteri erano ben identificabili e misurabili, MC1TG compreso, si poteva procedere all'analisi morfometrica.

3) Analisi morfometrica: in questo *step* sono stati misurati tutti e 32 i caratteri morfometrici.

4) Applicazione delle funzioni discriminanti: una volta eseguita l'analisi morfometrica, i valori ottenuti sono stati inseriti all'interno delle funzioni discriminanti. Queste funzioni contengono gli acronimi presenti in **Tab.11**. Gli acronimi sono moltiplicati per coefficienti numerici fissi all'interno delle funzioni e tali coefficienti si differenziano da discriminante a discriminante. Il risultato della funzione può avere segno positivo o negativo e quest'ultimo definisce se il campione può appartenere a una determinata specie oppure, essendo una chiave dicotomica, è necessario passare alla funzione successiva. Di seguito è riportato un esempio di funzione discriminante:

$$D1 = 164,05 * SPWI/CS + 95,81 * PEL/CS - 65,61 + RTI/CS - 197,3 * EL/CS + 6,3$$

5) Gestione dei casi dubbi: l'utilizzo della chiave dicotomica poteva portare a una determinazione certa della specie o a un caso di incertezza. Per rendere più robusto il risultato è stata anche applicata la chiave di Seifert (2018) e i casi di incertezza, nell'attribuire la specie riconosciuta al campione esaminato, potevano sorgere quando i risultati delle due chiavi dicotomiche non concordavano sull'esito. Pertanto, se vi era concordanza tra il risultato ottenuto dal protocollo di Wagner et al. (2017) e quello ottenuto da Seifert (2018), allora il campione poteva essere identificato con certezza. In caso contrario, la discordanza delle due chiavi di riconoscimento determinava la dubbiosità del campione in esame, ponendolo per tanto nei "casi dubbi".

In caso di campione dubbio, si è agito in due modi:

- a) Se il campione che risultava essere dubbio apparteneva a una trappola con più di 8 individui, allora si sostituiva, analizzandone un altro proveniente dalla stessa trappola;
- b) Se il campione che risultava dubbio apparteneva a una provetta con 8 individui o meno, allora non poteva essere sostituito ed è stato tolto dal conteggio finale non potendone definire la specie d'appartenenza.

Di seguito sono riportati alcuni esempi fotografici delle misurazioni morfometriche rilevate a stereomicroscopio (**Fig.44**).

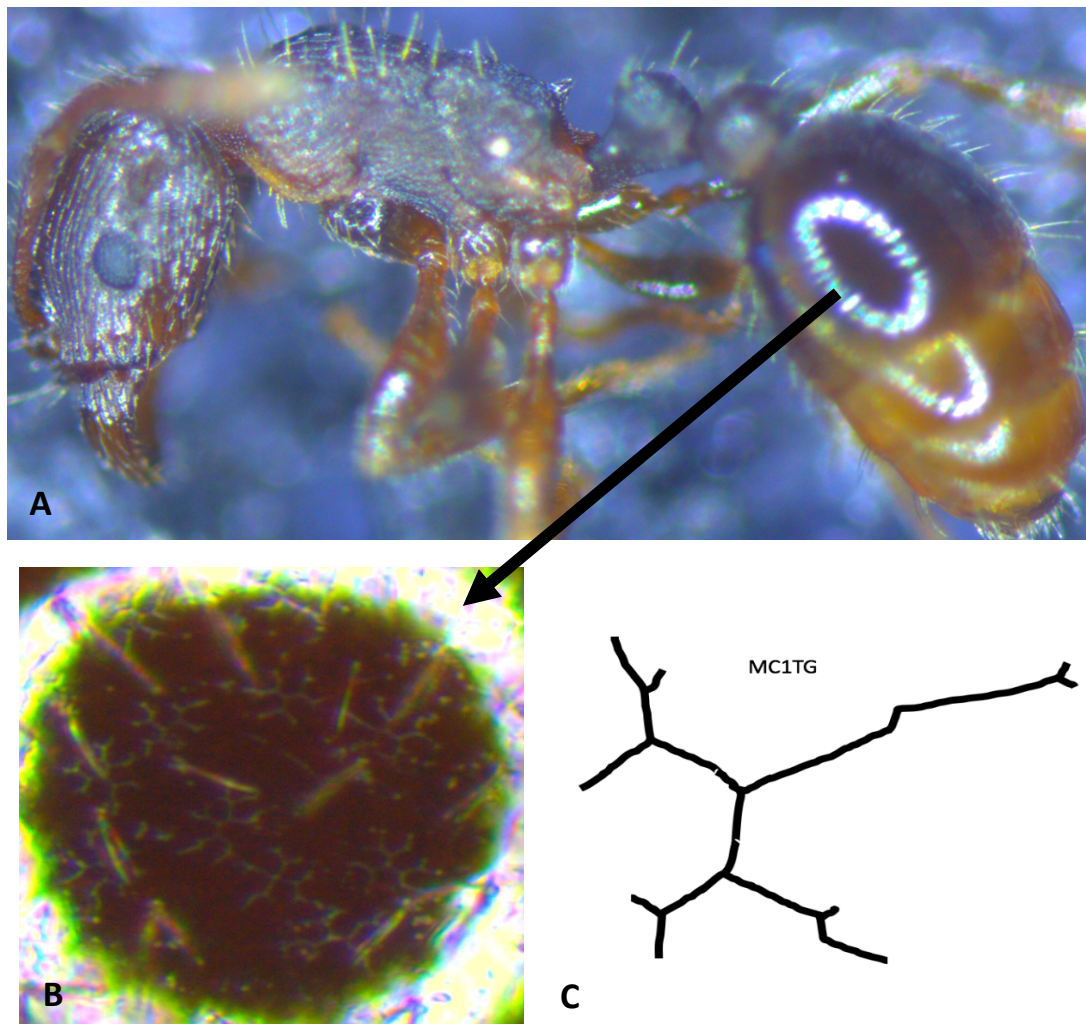


Fig.43 Nella foto in alto (A) si osserva una delle operaie sottoposte all'analisi morfometrica. In basso a sinistra (B) vi è lo *zoom* (75x) della porzione del gastro dove si possono intravedere i reticoli MC1TG. In basso destra (C) è mostrata una rappresentazione schematica del carattere MC1TG (unità di misura 200µm).

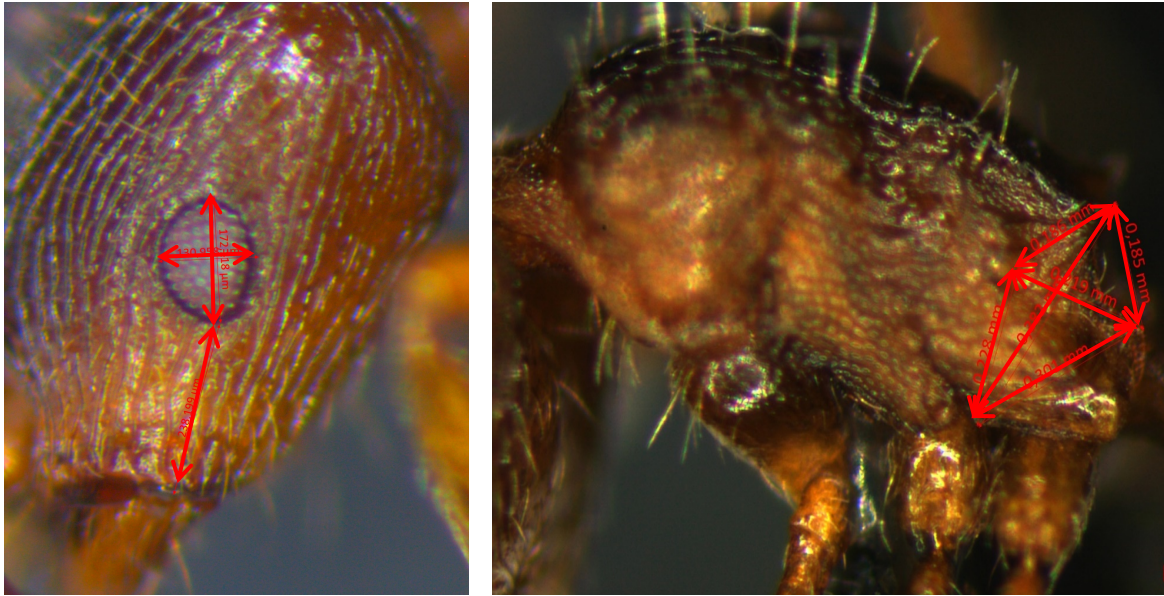


Fig.44 Nell'immagine a sinistra, sono riportate le misurazioni relative ai parametri per l'occhio (EL, EW) e la porzione preoculare (PreOc), mentre a destra, è mostrato il torace in visione laterale con le misurazioni relative al propodeo: MPST; SPST; PLSP; MPPL, MPSP e PLST (unità di misura 200 μ m).

4.3.4 Bait

Anche per i campioni provenienti dalle *bait* è stato seguito lo **stesso iter**, ovvero sono stati seguiti i 5 *step* del protocollo precedentemente descritto. In questo caso, però, ci sono state differenze circa il numero di campioni analizzati e la gestione dei casi dubbi.

Innanzitutto, **l'osservazione diretta delle bait** da parte dell'operatore ha permesso di **identificare**, già al momento della raccolta in campo, **la colonia d'appartenenza dei campioni**, assicurando, pertanto, che gli individui raccolti appartenessero alla stessa specie.

Dunque, è stato deciso di riconoscere un numero di individui per trappola pari a:

- 1, se la provetta conteneva solo 1 individuo;
- 2, se la provetta conteneva un numero maggiore e uguale a 2 individui.

Come in precedenza, gli individui non analizzati in una trappola sono stati attribuiti alla specie degli individui identificati nella stessa trappola.

Per quanto riguarda la **gestione dei casi dubbi**, si è proceduto in questo modo:

- se il campione dubbio apparteneva a una trappola con più di 2 individui, quest'ultimo era sostituito;
- se il campione dubbio apparteneva a una trappola con 2 individui e il secondo risultava identificato con certezza, allora si assumeva che, provenendo dallo stesso nido, anche il campione dubbio appartenesse a quella specie;

- se il campione dubbio apparteneva a una trappola con 1 individuo, veniva tolto dal conteggio finale dei campioni riconosciuti, non potendolo sostituire con nessun altro campione.

4.3.5 Organizzazione dei dati

I dati ottenuti, ovvero il numero di operaie riconosciute seguendo il protocollo elaborato in questa linea di ricerca, hanno permesso di quantificare l'efficacia di tale protocollo, effettuando conteggi e percentuali sul numero di operaie identificate in modo certo.

Pertanto, il **numero di campioni** appartenenti al complesso *T. caespitum* interessati dal protocollo messo a punto in questa linea di ricerca è stato pari a **972**. In **Fig.46** è mostrato il destino di questi campioni, secondo quanto definito nei Materiali e Metodi.

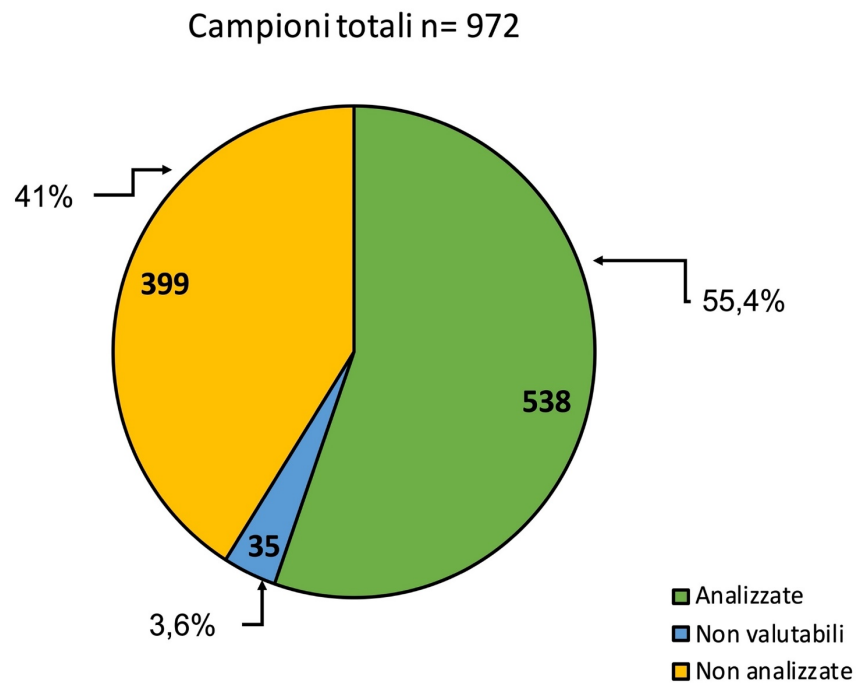


Fig.46 Il grafico mostra la porzione di campioni che sono stati analizzati, scartati e non osservati.

In totale, i campioni riconosciuti con certezza sono stati 510 su 538, mentre i campioni riconosciuti come dubbi sono stati 28. Il grafico in **Fig.47** mostra la porzione di campioni riconosciuti con certezza e i casi dubbi.

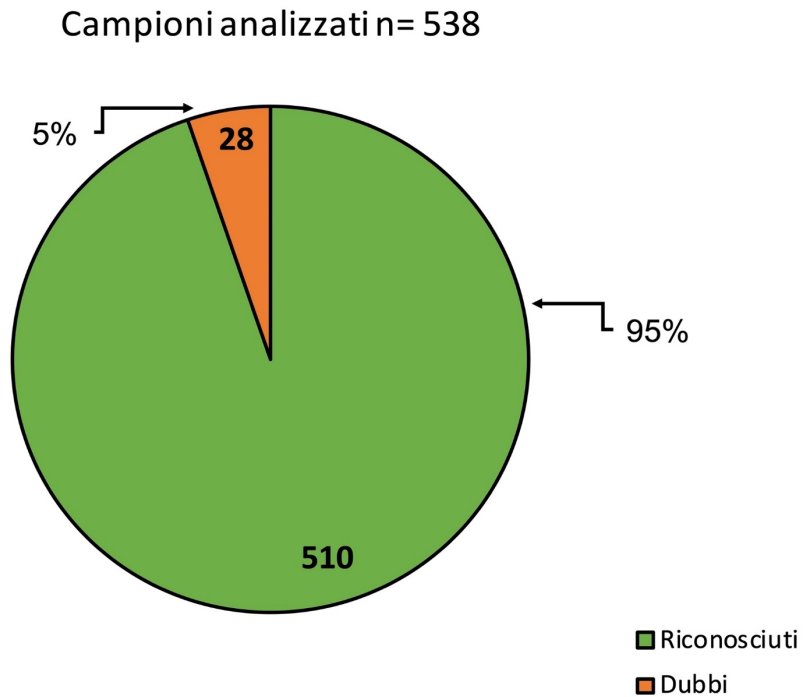


Fig.47 Il grafico mostra la porzione di campioni che sono stati riconosciuti come certi e la porzione dei casi ritenuti dubbi.

Al termine della revisione, i campioni identificati sono stati 20 su 28 casi dubbi, mentre i campioni non identificati sono stati 8. Pertanto, sottraendo questi 8 campioni ai 937 che dovevano essere riconosciuti, sono state identificate **un totale di 929 operaie**, su 937, appartenenti alla **specie *T. immigrans***. Il grafico in **Fig.48** mostra la porzione dei campioni dubbi che sono stati riconosciuti e i campioni dubbi rimasti tali.

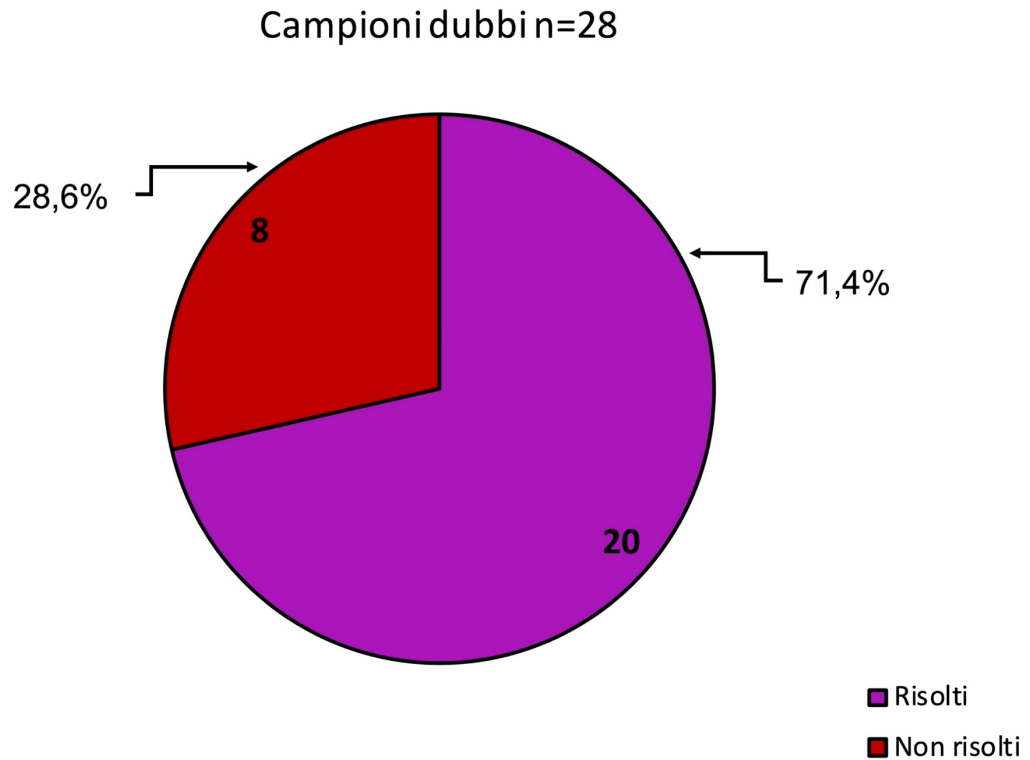


Fig.48 Il grafico mostra la porzione dei campioni dubbi che sono stati riconosciuti e dei campioni dubbi rimasti tali.

Ricapitolando i risultati ottenuti, di 538 campioni analizzati, 510 (94,8%) sono stati riconosciuti con certezza e 28 (5%) non sono stati identificati con sicurezza venendo etichettati come casi dubbi. Dei 28 campioni dubbi è stata svolta una seconda analisi, la quale ha portato al riconoscimento di 20 (3,7%) campioni, mentre 8 (1,5%) campioni sono rimasti non identificati. Dunque, si può affermare che il protocollo di riconoscimento, elaborato in questo studio per l'identificazione delle specie del complesso *T. caespitum*, abbia riconosciuto 530 campioni sui 538 analizzati, avendo **un'efficacia del 98,5%**. Il grafico in **Fig.49** mostra la porzione totale dei campioni riconosciuti come *T. immigrans* e la porzione dei campioni rimasti dubbi.

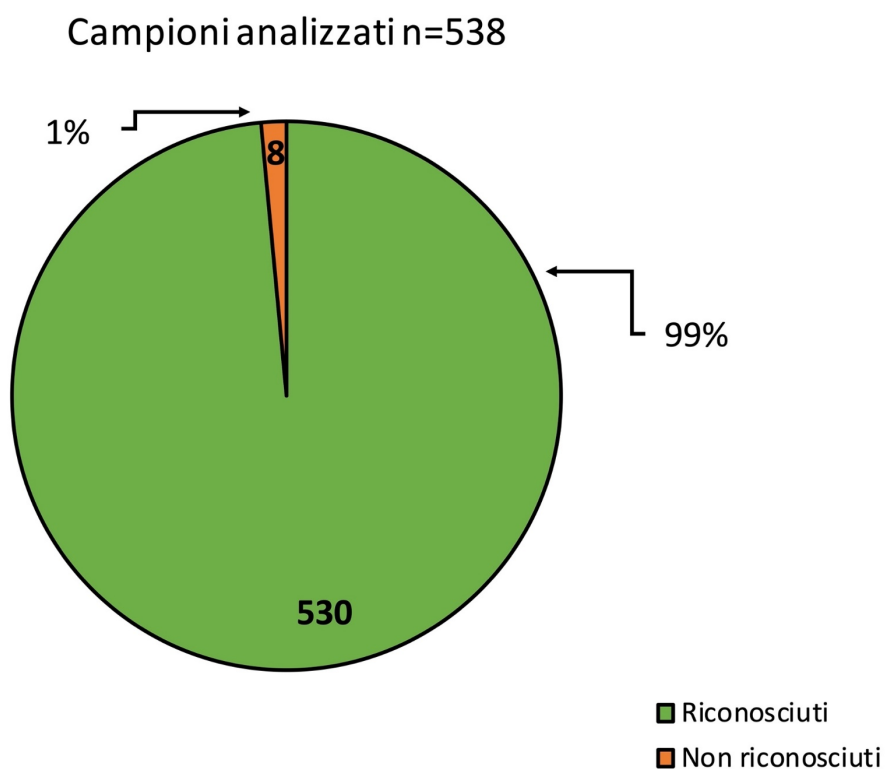


Fig.49 Il grafico mostra la porzione di campioni riconosciuti con sicurezza appartenenti alla specie *T. immigrans* e la porzione di campioni per i quali non è stato possibile giungere a una identificazione certa.

4.4.3 Bait

Per quanto riguarda i risultati ottenuti analizzando i campioni provenienti dalle *bait*, l'osservazione diretta delle operaie al momento della raccolta e l'individuazione del nido di provenienza, hanno permesso di analizzare un numero inferiore di individui per trappola e sulle **240 operaie analizzate** è risultato, infine, il **100% delle identificazioni** come *T. immigrans*.

4.5 DISCUSSIONE

La difficoltà nel distinguere le specie de, l'attualmente riconosciuto, complesso *T. caespitum* ha condotto diversi studiosi in materia a effettuare revisioni sistematiche volte all'identificazione tassonomica delle suddette specie (Bolton, 1976; Bolton 1980). I primi studi hanno raggruppato le specie paleartiche nel complesso *T. caespitum/impurum*, scoprendo in seguito che, essendo specie criptiche, ve ne potevano essere molte di più delle due allora identificate (Sanetra *et al.*, 1999; Steiner *et al.*, 2002; Schlick-Steiner *et al.*, 2006; Steiner *et al.*, 2006; Seifert, 2009; Steiner *et al.*, 2010). In generale, le specie del complesso *T. caespitum* sono difficili da identificare a prima vista, in quanto presentano caratteristiche morfologiche molto simili sia a livello intraspecifico sia interspecifico (Schlick-Steiner *et al.*, 2006; Radchenko & Dlussky, 2015; Wagner *et al.*, 2017), com'è comune per altre specie appartenenti ad altri gruppi e complessi (Seifert & Schulz, 2009; Seifert, 2012; Berville *et al.*, 2013; Steiner *et al.*, 2018; Seifert, 2020). Dal 2006 al 2017, gli studi svolti hanno proposto un approccio multidisciplinare per il riconoscimento delle specie (Schlick-Steiner *et al.*, 2006; Steiner *et al.*, 2006; Steiner *et al.*, 2010; Wagner *et al.*, 2017), fintanto che, nel 2017 sono state definite le 11 specie del complesso *T. caespitum* (Wagner *et al.*, 2017) e, nel 2021, è stata identificata la dodicesima specie (Seifert, 2021). In Italia sono presenti 6 specie (*T. alpestre*, *T. caespitum*, *T. fusciclava*, *T. immigrans*, *T. impurum*, *T. indocile*) e, di queste, *T. caespitum* s.s. e *T. immigrans* sono quelle che risentono in misura minore dell'impatto antropico e comunemente distribuite nelle aree urbane (Pećarević *et al.*, 2010; Buczkowski & Richmond, 2012; Penick *et al.*, 2015; Gippet *et al.*, 2017; Wagner *et al.*, 2017; Cordonnier *et al.*, 2019a; b; 2020a). In linea generale, ancora molto scarse sono le informazioni sulle specie italiane per quanto riguarda le aree urbane. Infatti, le conoscenze note risalgono a prima della revisione svolta da Wagner *et al.*, (2017) e/o trattano di ambienti extraurbani (Castracani & Mori, 2006; Castracani *et al.*, 2007; Castracani *et al.*, 2010; Castracani *et al.*, 2014; Lucky *et al.*, 2014; Castracani *et al.*, 2020; Schifani *et al.*, 2021). Specificatamente per la città di Parma, le conoscenze sulla sua mirmecofauna sono fornite solo nel lavoro di Lucky *et al.* (2014).

Pertanto, lo studio condotto nelle aree verdi urbane di Parma, nella stagione primaverile-estiva del 2019, ha permesso di collezionare campioni delle specie del complesso *T. caespitum*, raccogliendo informazioni sulla loro presenza e distribuzione. Inoltre, la raccolta dei campioni ha permesso di procedere con l'identificazione tassonomica delle specie del complesso nell'area urbana di Parma. Lo scopo principale di questa linea di ricerca è stato quello di

mettere a punto un protocollo che, in modo standardizzato, fornisse un'identificazione efficace delle specie del complesso, basandosi sulle uniche due chiavi dicotomiche presenti in letteratura (Wagner *et al.*, 2017; Seifert, 2018).

I campioni analizzati sono stati raccolti mediante due metodologie di campionamento, ovvero le *pitfall trap* e le *bait*. Per il tipo di protocollo di campionamento eseguito, la sfida principale e la **maggior criticità** è stata rappresentata dai campioni provenienti dalle *pitfall*, per i quali non è stato possibile conoscere, a priori, se provenissero dalla stessa colonia, al contrario di quanto osservato per quelli raccolti con le *bait*. Infatti, tale protocollo è stato pensato soprattutto per il riconoscimento di un numero di campioni elevato e dalla provenienza sconosciuta, per i quali non si sarebbe potuto generalizzare l'identificazione a seguito del corretto riconoscimento di soli 2 esemplari, come suggerito in Wagner *et al.*, (2017). Tale **protocollo** è stato progettato e **strutturato in 5 step**, mediante i quali è stato possibile determinare il numero di operaie da riconoscere, organizzando in tal modo l'attività lavorativa. Molto importante si è rivelato il passaggio nel quale doveva essere controllata l'idoneità dei campioni da analizzare, prima di procedere alle misurazioni morfometriche. In particolare, si è rivelato **cruciale il controllo del carattere morfometrico MC1TG**, ovvero il reticolo presente sul primo tergite del gastro della formica. Se la possibilità di osservare tre di questi reticoli fosse stata preclusa, non si sarebbe potuto ottenere un conteggio fondamentale per il riconoscimento dell'operaia stessa. Infatti, questo carattere è richiesto all'interno delle funzioni discriminanti. Pertanto, si è proceduto allo scarto del campione quando questo carattere non poteva essere osservato con correttezza. La scrematura dei campioni ha portato, di conseguenza, a un abbassamento del numero di operaie da identificare, riprogrammando l'attività lavorativa sulla base dei campioni considerati idonei per le misurazioni. Altro punto critico è stato rappresentato dall'ultimo *step*, ovvero la **gestione dei casi dubbi**. Tali casi potevano essere risolti utilizzando la chiave dicotomica proposta nel lavoro di Seifert (2018), la quale segue il principio di quella proposta da Wagner *et al.*, (2017), applicando alle misurazioni ottenute delle funzioni discriminanti. Infatti, l'applicazione delle due chiavi di riconoscimento e la loro concordanza ha reso più robusto il risultato ottenuto per il campione riconosciuto.

Il **protocollo di riconoscimento** è stato in grado di riconoscere, tra gli esemplari che si sono potuti analizzare in quanto idonei, il **99%** delle operaie campionate grazie alle *pitfall* e il **100%** delle operaie campionate alle *bait*: si può dire, quindi, che l'obiettivo è stato raggiunto. In considerazione di quanto detto, le potenzialità del protocollo proposto sono quelle di:

- **ridurre gli errori** necessariamente legati all'effettuazione di misurazioni, utilizzando contemporaneamente due chiavi per rendere più robusta l'identificazione del campione;

- arrivare ad un' **approssimazione** accettabile del **numero di campioni** su cui effettuare le misurazioni rispetto al tempo a disposizione;
- permettere il riconoscimento delle specie del complesso nelle **fasi iniziali di uno studio** e/o quando non è disponibile l'analisi genetica.

Tramite i riconoscimenti effettuati mediante questo protocollo, sia dalle *pitfall* sia dalle *bait*, ***T. immigrans*** è stata riconosciuta come **sola specie del complesso presente e distribuita nelle aree verdi urbane di Parma** esaminate in questo studio. Questo risultato è in linea con la letteratura in merito (Gippet *et al.*, 2017; Wagner *et al.*, 2017; Cordonnier *et al.*, 2019a; b; 2020a). Era anche stato ipotizzato di poter riscontrare tra i campioni operaie della specie *T. caespitum* s.s., ma, sempre secondo quanto riportato in letteratura, è probabile che questa specie sia maggiormente distribuita nelle aree suburbane e rurali, ai confini tra città e campagna (Cordonnier *et al.*, 2019a; b; 2020a). Pertanto, studi futuri potrebbero considerare di effettuare campionamenti anche in aree tangenziali i confini cittadini, come zone rurali e di campagna. In questo modo si potrebbero identificare ulteriori specie del complesso *T. caespitum*, sempre in accordo con la loro distribuzione biogeografica. Questo potrebbe implementare le informazioni per lo scenario italiano.

CAP 5 ~ COMPETIZIONE
PER LE RISORSE IN
Tetramorium immigrans

5.1 INTRODUZIONE

5.1.1 Competizione per la risorsa alimentare

Nel corso degli ultimi decenni sono stati condotti numerosi studi per esaminare le diverse strategie che le specie di formiche mettono in atto per risultare vincenti nella competizione per le risorse alimentari (Beckers *et al.*, 1989; Cerdà *et al.*, 1998; Lach *et al.*, 2000). Tra i fattori che possono influire sull'esito della competizione, vi sono le modalità con le quali le specie reclutano le compagne di nido. In generale, le **strategie di trasporto del cibo al nido** si dividono in 4 tipologie, passando da un **foraggiamento individuale**, dove l'operaia che scopre la risorsa non comunica alle compagne di nido il ritrovamento del cibo, trasportandolo da sola, a strategie di reclutamento che possono coinvolgere un numero variabile di operaie. Il primo tipo di reclutamento è il così detto **reclutamento in tandem**, dove l'operaia scout, che scopre la fonte di cibo, recluta una sola compagna di nido. Un secondo tipo è il **reclutamento di gruppo**, nel quale la scout, tornando al nido, lascia una traccia chimica grazie alla quale, dopo aver reclutato un piccolo gruppo di operaie, potrà ritornare alla fonte alimentare. Infine, alcune specie di formiche possono attuare un **reclutamento di massa**: in questo caso, dopo aver lasciato una traccia chimica e tornando al nido, la scout recluta un cospicuo numero di compagne che, nel tempo, aumenteranno sempre di più, portando la specie a monopolizzare la risorsa alimentare (Beckers *et al.*, 1989; Cerdà *et al.*, 2009). In uno studio condotto in laboratorio è stata osservata la plasticità del comportamento predatorio in operaie di *Ectatomma ruidum* (Roger, 1860) in relazione alle dimensioni delle fonti alimentari. Lo studio ha messo in luce come le operaie di *E. ruidum* passassero da un foraggiamento solitario a un foraggiamento cooperativo e, infine, a un foraggiamento di gruppo man mano che le dimensioni della risorsa e, di conseguenza, il suo valore energetico aumentavano, in maniera tale da poterla sfruttare nel modo più efficiente possibile (Schatz *et al.*, 1997). D'altra parte, anche il **tipo di competizione** può influenzare il successo di una specie nello sfruttare al meglio le risorse. Per esempio, la **competizione per interferenza** è stata studiata in alcune specie di formiche come *Aphaenogaster cockerelli* (ora *Novomessor cockerelli*) (André, 1893), che, contro la specie competitorice, ovvero *Pogonomirmex barbatus* (Smith, 1858) lanciano detriti come piccoli grani di terra, nel nido di queste ultime, per limitarne il periodo di foraggiamento (Gordon, 1988). In linea generale, la competizione per interferenza si osserva quando individui di una colonia interferiscono con le attività di un'altra colonia (foraggiamento, riproduzione,

sopravvivenza). Questo tipo di competizione può implicare scontri diretti e aggressivi tra le specie competitive (Lach *et al.*, 2000). La **competizione per sfruttamento**, invece, non è sempre facile da osservare (Lach *et al.*, 2000), e generalmente si manifesta quando una risorsa limitata è condivisa da più specie competitive. In questo tipo di competizione non è necessario essere aggressivi, infatti la risorsa può essere sfruttata perché la specie si presenta più numerosa o più velocemente (Lach *et al.*, 2000; Lach, 2005). Vi sono numerosi casi di studio che analizzano i due tipi di competizione in specie diverse. Un esempio ha come protagonista la specie alloctona *Linepithema humile* (Mayr, 1868), la cosiddetta formica argentina, nei confronti di 2 specie di formiche autoctone del sud dell'Australia, *Iridomyrmex bicknelli* Emery, 1898 e *Pheidole* sp. 2. La specie *L. humile* è altamente invasiva a livello globale e, quando si trova in un nuovo *habitat*, riesce a spodestare le specie di formiche autoctone perché più efficiente nella competizione per le risorse. Dallo studio, infatti, è emerso che *L. humile* associa a un rapido reclutamento di massa anche un'intensa aggressività interspecifica con la quale riesce ad avere la meglio sulle specie competitive (Rowels & O'Dowd, 2007). Uno studio simile è stato svolto anche per la specie *Myrmica rubra* Linnaeus, 1758, alloctona invasiva nel Nord America. Anche in questo caso, gli esperimenti hanno sottolineato che la sua efficienza nel colonizzare nuovi *habitat* fosse dovuta alla sua capacità di scoprire rapidamente le risorse alimentari, oltre che a una forte aggressività interspecifica (Garnas *et al.*, 2014). Le comunità descritte in questi studi sono, inoltre, caratterizzate dalla rottura del *dominance-discovery trade-off* (Fellers, 1987) (paragrafo 1.2.3.1): *L. humile* e *M. rubra* hanno attuato sia una competizione per interferenza, con moduli comportamentali aggressivi diretti verso le avversarie, sia una competizione per sfruttamento, richiamando alla risorsa alimentare un numero di operaie maggiore di quello delle specie opposte.

5.1.2 Aggressività interspecifica

In generale, ed erroneamente, i termini “aggressività” e “aggressione” sono spesso usati come sinonimi. In realtà, con il termine “**aggressività**” si fa riferimento allo stato interno o ai fattori motivazionali che influenzano la predisposizione di un animale a comportarsi aggressivamente, mentre, con il termine “**aggressione**” ci si riferisce alle manifestazioni di minaccia, rabbia ed eventualmente attacco, nei confronti di un animale omospecifico o eterospecifico (Mainardi, 1992). Per quanto riguarda le formiche, l'aggressività è stata ed è studiata soprattutto nell'ambito della competizione per le risorse, le quali possono essere rappresentate dal territorio, dal materiale per la costruzione del nido e dal cibo, in quanto specie diverse possono

richiedere risorse simili (Cerdá *et al.*, 1998a; b; Lach, 2005; Rowles & O'Down, 2007; Thomas *et al.*, 2007; Drescher *et al.*, 2007; 2011; Garnas *et al.*, 2014; Adams & Plowes, 2020). Lo studio dell'aggressività nelle formiche è pertanto importante, in quanto l'impiego di strategie comportamentali aggressive può influenzare l'abbondanza e la distribuzione spaziale delle specie di formiche che le attuano, modellando quindi la struttura di comunità (Cerdá *et al.*, 2013). Per esempio, è stato esaminato il comportamento di 2 specie di formiche, *Formica xerophila* Smith, 1939 e *Formica integroides* Wheeler, 1913, in relazione ai contesti all'interno dei quali i comportamenti aggressivi potevano essere espressi, ovvero per il territorio e per il valore energetico della risorsa alimentare. I ricercatori hanno infatti osservato che la familiarità del tipo di *habitat* e il valore delle risorse potevano influenzare il comportamento aggressivo interspecifico. Lo studio ha scoperto che gli incontri avvenuti nei territori di una delle due specie portavano a interazioni interspecifiche più aggressive rispetto a quelli avvenuti in un territorio neutrale e che l'aggressività verso le contendenti era correlata al crescente valore delle risorse alimentari (Tanner & Adler, 2009).

In laboratorio, l'aggressività nelle formiche è generalmente studiata mediante esperimenti che prendono in esame incontri intraspecifici o interspecifici, per valutare la risposta aggressiva in base a determinate situazioni. Per esempio, lo studio dell'aggressività può investigare il comportamento che le formiche possono manifestare in incontri interspecifici utilizzando, ad esempio, apparati sperimentali quali le *fighting box* (le Moli & Parmigiani, 1981 Moli; & Mori, 1990; Mori *et al.*, 1994). In questi studi è stato inoltre redatto un **etogramma**, ovvero l'elenco formale del repertorio comportamentale delle specie in esame (Mainardi, 1992). Infatti, descrivere e misurare il comportamento, in questo caso il comportamento aggressivo, è fondamentale, in quanto lo studio dei repertori comportamentali fornisce un quadro dettagliato di tutte le attività sviluppate da una specie, aiutando nella comprensione e caratterizzazione della sua storia naturale e dei suoi adattamenti ecologici (Santos *et al.*, 2005; MacNulty *et al.*, 2007). In generale, le modalità con le quali un etogramma può essere redatto sono varie e possono consistere in (Wilson, 1976; McDonnell & Haviland, 1995; Nishida *et al.*, 1999; McDonnell & Poulin, 2002; Santos *et al.*, 2005):

- un elenco completo di tutti i comportamenti
- un elenco di particolari classi funzionali di comportamenti
- un testo descrittivo dettagliato o disegni di elementi o sequenze comportamentali

5.2 SCOPO

La struttura di comunità delle formiche può, in generale, essere influenzata da innumerevoli fattori come, ad esempio, la complessità e l'eterogeneità dell'*habitat*, il clima e la tolleranza termica espressa dalle singole specie, la presenza di predatori e parassiti, le dinamiche di competizione per le risorse e gli eventi di disturbo apportati dalle attività antropiche (Fellers, 1987; Cerdá *et al.*, 1998b; Lach *et al.*, 2010; Cerdá *et al.*, 2013). Tra questi fattori, la **competizione** per le risorse ha un ruolo fondamentale poiché influenza sia la distribuzione delle specie sia la loro evoluzione (Lach *et al.*, 2010).

Dalle osservazioni condotte in campo durante la stagione estiva del 2019, in due categorie di aree verdi urbane di Parma, è emerso che la specie *T. immigrans* è **la più abbondante e la più abile nel monopolizzare la risorsa alimentare**, sebbene **non** mostri una spiccata **aggressività**. I risultati hanno fornito una prima indicazione della strategia attuata da *T. immigrans* nella competizione per le risorse alimentari, la quale non sembra essere legata a una dominanza di tipo comportamentale, con l'attuazione di comportamenti aggressivi, bensì a una dominanza di tipo numerico. Tuttavia, in campo, durante il tempo di osservazione, le interazioni con altre specie erano poco numerose e non bilanciate. Dunque, sono stati pianificati esperimenti *ad-hoc* in laboratorio, con il fine di approfondire lo studio delle strategie comportamentali di *T. immigrans* e, in particolare, il ruolo del comportamento aggressivo nell'ambito della monopolizzazione delle risorse. Di conseguenza, lo scopo di questa linea di ricerca è stato quello di **studiare**, in condizioni controllate di laboratorio, **gli adattamenti eto-ecologici della specie *T. immigrans* che la rendono vincente nella competizione interspecifica**.

A tale scopo, sono stati individuati due ambiti di studio:

- 1) è stata valutata la capacità di monopolizzazione di *T. immigrans* attraverso **esperimenti di competizione alimentare**. In questi esperimenti è stato eliminato il vantaggio numerico, che *T. immigrans* ha mostrato in campo, ponendo a parità di individui i frammenti coloniali confrontati. L'obiettivo è stato quello di indagare il ruolo della dominanza comportamentale nella competizione per le risorse, eliminando il vantaggio della dominanza numerica;
- 2) sono stati valutati i livelli di aggressività di *T. immigrans* in **esperimenti di aggressività** 1 contro 1. L'obiettivo è stato quello di determinare se la risposta aggressiva di *T. immigrans* potesse variare in funzione del livello di aggressività espresso dalle differenti specie di formiche poste come oppONENTI.

5.3 MATERIALI e METODI

5.3.1 Scelta delle specie modello

Sia per gli esperimenti riguardanti la competizione alimentare sia per quelli riguardanti lo studio dell'aggressività, sono state scelte come oppositori di *T. immigrans* specie di formiche molto diffuse nelle aree verdi urbane precedentemente indagate e sue potenziali competitori. Le specie scelte sono le seguenti: *Crematogaster scutellaris* (Olivier, 1792), *Lasius paralienus* e *Tapinoma subboreale* Seifert, 2012. In generale, *C. scutellaris* è una specie ampiamente distribuita in tutto il bacino del Mediterraneo, sia negli ecosistemi naturali sia in quelli urbani. Questa specie forma solitamente grandi colonie, scavate in tronchi d'albero o legno morto, le quali sono generalmente polidome e costituite da diverse migliaia di operaie (Longino, 2003; Ottonetti *et al.*, 2008; Frizzi *et al.*, 2009; Santini *et al.*, 2011; Frizzi *et al.*, 2014; 2015). *C. scutellaris* è considerata una formica aggressiva e tra i moduli di aggressività descritti per questa specie ritroviamo comportamenti quali mandibole aperte, morsi singoli, multipli e frequenti flessioni del gastro (Marlier *et al.*, 2004; Frizzi *et al.*, 2015). In **Fig.50** sono mostrati alcuni esemplari di *C. scutellaris*.



Fig.50 Vista frontale (A), laterale (B) e dorsale (C) di *C. scutellaris* (antweb.org/, 2021).

Le formiche del genere *Lasius*, Fabricius, 1804, sono specie molto abbondanti e comuni negli ambienti naturali, come i boschi o zone aperte, ma si possono osservare anche nelle aree urbane (Seifert, 1992; Bernadou *et al.*, 2010; Martelloni *et al.*, 2014). In generale, la maggior parte delle specie di questo genere si nutre di melata prodotta dagli afidi e di piccole prede animali (Bernadou *et al.*, 2010). In particolare, anche la specie *L. paralienus* presenta le caratteristiche finora elencate. Questa specie paleartica è ampiamente distribuita in gran parte dell'Europa e mostra una preferenza per le aree aperte con bassa densità di vegetazione, come

le praterie xeroterme, la steppa e la brughiera, ma è anche possibile osservarla nelle aree urbanizzate. *L. paralienus* è una specie monoginica e forma colonie di medie dimensioni, con una limitata capacità competitiva e i suoi nidi, scavati nel terreno, hanno ingressi semplici non protetti da tumuli di terriccio (Bernadou *et al.*, 2010; Martelloni *et al.*, 2014). Le operaie di questa specie possono foraggiare sia a terra che sugli alberi e instaurare un rapporto simbiotico con insetti fitomizi come alcune specie di afidi (Karman, 1999; Braschler & Brau 2003; Shiran *et al.*, 2017; Seifert & Galkowski, 2016). In **Fig.51** è mostrato un esemplare di *L. paralienus*.



Fig.51 Vista frontale (A), laterale (B) e dorsale (C) di *L. paralienus* (antweb.org/, 2021).

Per quanto riguarda *T. subboreale*, questa specie è distribuita nell'Europa centrale e meridionale. È una specie termofila che vive in *habitat* aperti, soleggiati e relativamente asciutti, ma è presente anche negli *habitat* urbani. I nidi si trovano spesso sotto le pietre e le colonie sono generalmente poliginiche (Német *et al.*, 2012; Seifert, 2012; Wegnez & Fichaux, 2015). In **Fig.52** sono mostrati alcuni esemplari di *T. subboreale*.



Fig.52 Vista frontale (A), laterale (B) e dorsale (C) di *T. subboreale* (antweb.org/, 2021).

Il prelievo in natura dei frammenti coloniali per le 4 specie selezionate è stato svolto in 6 aree verdi urbane di Parma nei mesi da giugno ad agosto 2020. Precedentemente alla raccolta dei frammenti, sono stati condotti i sopralluoghi necessari per poter localizzare e mappare i nidi delle specie d'interesse. La posizione di ogni colonia è stata geolocalizzata attraverso l'impiego di Google Earth Pro (v.7.3.3.7699) (**Tab.12**).

Colonie impiegate negli esperimenti			
Specie	Area verde	Latitudine	Longitudine
<i>C. scutellaris</i>	Parco B. Julia	44°47'3.53"N	10°19'57.63"E
	Parco B. Julia	44°47'4.04"N	10°19'57.36"E
	Parco B. Julia	44°47'4.44"N	10°19'56.74"E
	Campus – Parma	44°46'2.30"N	10°18'49.72"E
	Campus – Parma	44°46'4.03"N	10°18'51.27"E
	Campus – Parma	44°46'4.05"N	10°18'51.59"E
	Campus - Parma	44°46'5.67"N	10°18'54.27"E
	Campus - Parma	44°46'6.65"N	10°18'57.10"E
	Campus - Parma	44°46'6.70"N	10°18'57.00"E
	Campus – Parma	44°46'8.02"N	10°18'56.65"E
	Campus – Parma	44°46'10.18"N	10°18'56.13"E
<i>L. paralienus</i>	Parco Casati	44°47'14.63"N	10°21'31.61"E
	Parco Casati	44°47'16.21"N	10°21'28.96"E
	Parco Cocconi	44°48'30.30"N	10°20'46.70"E
	Parco Cocconi	44°48'31.36"N	10°20'46.82"E
	Parco della Gentilezza	44°48'5.50"N	10°18'1.19"E
	Parco della Gentilezza	44°48'5.82"N	10°18'1.14"E
	Parco della Gentilezza	44°48'5.90"N	10°18'1.16"E
	Parco della Gentilezza	44°48'6.60"N	10°17'59.77"E
<i>T. subboreale</i>	Parco della Gentilezza	44°48'6.10"N	10°18'0.32"E
	Parco Chaplin	44°47'44.22"N	10°18'0.80"E
	Parco Chaplin	44°47'44.38"N	10°18'0.87"E
	Parco Chaplin	44°47'44.39"N	10°18'0.93"E
	Parco Chaplin	44°47'43.42"N	10°18'0.49"E
<i>T. immigrans</i>	Parco Chaplin	44°47'44.62"N	10°18'1.06"E
	Parco Chaplin	44°47'43.93"N	10°18'0.69"E
	Parco Chaplin	44°47'43.99"N	10°18'0.72"E
	Parco Chaplin	44°47'43.42"N	10°18'0.49"E
	Parco B. Julia	44°47'5.85"N	10°19'56.81"E
	Parco B. Julia	44°47'5.93"N	10°19'57.48"E
	Parco B. Julia	44°47'4.95"N	10°19'57.26"E
	Parco B. Julia	44°47'5.72"N	10°19'57.14"E
	Parco Casati	44°47'14.76"N	10°21'31.59"E
	Parco Casati	44°47'15.14"N	10°21'30.43"E
	Parco Casati	44°47'14.29"N	10°21'28.50"E
	Parco Casati	44°47'14.36"N	10°21'27.97"E
	Campus – Parma	44°45'58.44"N	10°18'19.05"E
	Campus – Parma	44°45'57.53"N	10°18'17.94"E
	Campus – Parma	44°45'57.64"N	10°18'18.02"E
	Campus – Parma	44°45'57.72"N	10°18'18.06"E
	Campus – Parma	44°45'58.04"N	10°18'20.43"E
Campus – Parma	44°45'58.35"N	10°18'19.43"E	
Campus – Parma	44°45'58.45"N	10°18'19.09"E	
Campus – Parma	44°45'58.56"N	10°18'18.78"E	

Tab.12 Per ciascun frammento di colonia è indicata la specie, l'area verde in cui è avvenuto il prelievo e le coordinate geografiche.

I prelievi sono stati condotti attirando gli individui all'esterno del nido mediante l'impiego di esche alimentari e alloggiandoli all'interno di nidi artificiali i quali, in seguito, sono stati portati in laboratorio. Le operaie sono state prelevate mediante aspiratore entomologico, scegliendo di non procedere alla spalatura dell'intero nido e, di conseguenza, della sua completa rimozione dell'ambiente. Tale decisione è stata presa in quanto la mappatura delle colonie, soprattutto per quanto riguarda le specie *L. paralienus* e *T. subboreale*, è stata dispendiosa in termini di tempo,

perciò si è scelto di preservare le colonie stesse per avere la possibilità di effettuare altri prelievi in caso di necessità.

5.3.2 Esperimenti di competizione alimentare

5.3.2.1 Organizzazione e mantenimento delle colonie sperimentali

A seguito della raccolta in natura, per la loro permanenza in laboratorio, le operaie delle 4 specie sono state inserite in contenitori cilindrici in plastica (10 cm d'altezza x 19,4 cm di diametro), dotati di coperchio in plastica trasparente. Lo spazio interno agli apparati è stato organizzato in due ambienti: **nido** e **area di foraggiamento**. Il nido era costituito da una provetta Falcon (50 ml x 115 mm) ricoperta da cartoncino (spessore 0,5 mm), mentre l'area di foraggiamento, esterna al nido, è stata arricchita con detriti vegetali e terricoli provenienti dalle stesse aree in cui sono state prelevate le colonie. All'interno di ogni apparato sono state poste 50 operaie scelte casualmente dal frammento coloniale d'origine. Questa scelta ha tenuto conto della biologia di specie quali *L. paralienus* e *T. subboreale*, caratterizzate da colonie poco popolose e della difficoltà di reperire, in tempi accettabili, un numero di colonie adeguato a consentire un sufficiente numero di repliche sperimentali. In laboratorio, le colonie sono state mantenute in cella termostata ($25 \pm 1^\circ \text{C}$ e UR 57%) con fotoperiodo di 8:16 (L:D). Le colonie sono state nutrite con una miscela composta da acqua e miele in parti uguali. L'apporto della risorsa idrica è stato garantito fornendo un batuffolo d'ovatta imbibito d'acqua, il quale è anche servito per creare una zona più umida all'interno del nido. Per le finalità sperimentali, tutti i frammenti coloniali sono stati posti in condizione di digiuno per le 48h precedenti l'inizio degli esperimenti.

5.3.2.2 Apparato sperimentale

L'apparato sperimentale era costituito dagli stessi contenitori cilindrici dove le specie sono state mantenute dopo essere state portate in laboratorio. Al centro, è stata posta un'**arena sperimentale** collegata ai due contenitori mediante due tubi di plastica trasparente (2,3 cm di diametro x 7 cm di lunghezza), che permettevano il passaggio delle formiche durante le prove sperimentali. Ai bordi superiori dell'arena sperimentale è stata applicata una miscela di paraffina liquida e vaselina in crema per impedire la fuga delle formiche. Come risorsa alimentare è stato utilizzato del tonno in olio d'oliva (4 g), posto centralmente sulla trappola

bait (un cerchio di carta millimetrata di 8 cm di diametro). La *bait* è stata fissata al centro dell'arena sperimentale mediante nastro biadesivo. Di seguito è mostrato l'apparato sperimentale (Fig.53, Fig.54).

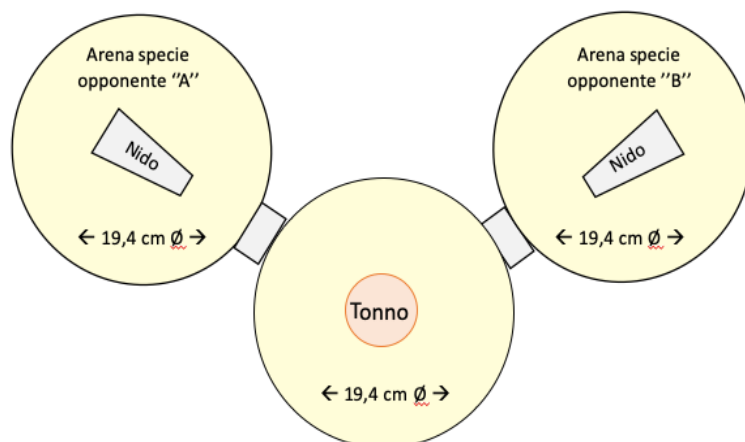


Fig.53 Rappresentazione schematica dell'apparato sperimentale: 1) nido specie "A"; 2) arena centrale; 3) nido specie "B".



Fig.54 Apparato sperimentale, dall'alto: all'interno dei cilindri laterali, sono state poste le provette Falcon, con funzione di nido, circondate dai detriti vegetali e terricoli. All'interno dell'arena centrale si può vedere la *bait* con il tonno.

5.3.2.3 Protocollo sperimentale

Tutte le repliche sperimentali sono state condotte in condizioni controllate di temperatura e umidità relativa ($T^{\circ} 25 \pm 1^{\circ} \text{C}$ e UR 57%). La **durata** di ogni **esperimento** è stata di **60 minuti**, i quali sono stati suddivisi in 6 intervalli da 10 minuti l'uno. Prima dell'inizio di ogni esperimento, l'arena centrale, contenente la risorsa alimentare, è stata collegata ai contenitori di alloggiamento dei frammenti coloniali. In questa fase, per impedire l'accesso prematuro delle formiche all'arena centrale, i tubi di collegamento sono stati occlusi con un tappo d'ovatta. Costituendo un potenziale disturbo, l'intera operazione precedentemente descritta è stata effettuata un'ora prima dell'inizio dell'esperimento, dando dunque tempo alle formiche di ritornare in uno stato di quiete. Dopo un'ora, i tappi d'ovatta sono stati rimossi decretando l'inizio della prova sperimentale. Durante i 60 minuti d'osservazione sono stati effettuati degli *scan sampling* e dei *continuous sampling*. Gli *scan sampling* sono stati svolti al termine di ciascuno dei 6 intervalli e hanno consentito di effettuare il conteggio delle operaie delle due specie in 4 zone dell'apparato sperimentale: 1) nel nido di *T. immigrans*; 2) presso la *bait*; 3) nell'arena centrale (fuori dalla *bait*); 4) nel nido della specie opponente. Il *continuous sampling* è stato svolto durante ciascuno dei 6 intervalli e la *bait* è stata osservata per un tempo di 4 minuti per intervallo. In totale, la *bait* è stata osservata per 24 minuti (4 minuti x 6 intervalli) durante l'intera prova sperimentale e sono state registrate le interazioni interspecifiche avvenute alle *bait* tra le operaie delle due specie confrontate. Tali interazioni sono state suddivise in 2 categorie:

- 1) Evitamento, quando uno dei due individui percepisce la presenza dell'altro e si allontana dalla *bait*
- 2) Attacco, quando uno o entrambi gli individui mostrano comportamenti aggressivi l'uno verso l'altro (morso, trascinamento dell'avversario, *gaster flexing*, spruzzo di composti chimici dal gastro)

Inoltre, è stato registrato l'esito dei conflitti ed è stato ritenuto vincitore l'individuo che non è fuggito o perito a seguito del contatto con l'opponente.

5.3.2.4 Piano sperimentale

Il piano ha previsto lo svolgimento di 36 repliche sperimentali suddivise in 12 prove bilanciate tra i frammenti di *T. immigrans* e quelli di *C. scutellaris*, *L. paralienus* e *T. subboreale*. Ogni frammento coloniale è stato etichettato con il nome della specie, un numero progressivo indicante la colonia di provenienza e una lettera (*a* o *b*) identificativa del frammento

considerato (ad es. *T. immigrans* 1a e 1b). Ogni frammento coloniale è stato impiegato per un'unica prova sperimentale. Di seguito è riportata la tabella con le coppie dei frammenti coloniali confrontati, secondo quanto previsto dal piano sperimentale (**Tab.13**). Al termine degli esperimenti, tutti i frammenti coloniali sono stati riportati in natura, ricollocandoli nei pressi della colonia d'origine.

<i>T. immigrans</i>	<i>C. scutellaris</i>	<i>T. immigrans</i>	<i>L. paralienus</i>	<i>T. immigrans</i>	<i>T. subboreale</i>
1 a	1 a	5 a	1 a	9 a	1 a
1 b	2 a	5 b	2 a	9 b	2 a
1 c	3 a	5 c	3 a	9 c	3 a
2 a	4 a	6 a	4 a	10 a	4
2 b	5 a	6 b	5 a	10 b	5 a
2 c	6 a	6 c	6 a	10 c	6 a
3 a	1 b	7 a	1 b	11 a	1 b
3 b	2 b	7 b	2 b	11 b	2 b
3 c	3 b	7 c	3 b	11 c	3 b
4 a	4 b	8 a	4 b	12 a	7
4 b	5 b	8 b	5 b	12 b	5 b
4 c	6 b	8 c	6 b	12 c	6 b

Tab.13 In tabella è presentato lo schema del piano sperimentale. La colonna a sinistra mostra i confronti fra *T. immigrans* e *C. scutellaris*, la colonna al centro mostra i confronti fra *T. immigrans* e *L. paralienus*, mentre quella a destra mostra i confronti fra *T. immigrans* e *T. subboreale*.

5.3.2.5 Organizzazione dei dati

Le osservazioni condotte mediante lo *scan sampling* hanno permesso di conteggiare il numero di formiche presenti nelle quattro zone dell'apparato sperimentale durante i 60 minuti d'osservazione. Per ogni specie, è stato possibile ottenere un dato di **abbondanza** associato a una determinata posizione nello spazio e a uno specifico intervallo di tempo. Considerando, poi, solo il numero di operaie presenti sulla bait nell'ultimo intervallo di tempo, è stato possibile determinare la specie monopolizzatrice della bait calcolando il *Monopolisation Index (MI)*. Grazie alle osservazioni condotte con il *continuous sampling* sono state registrate le interazioni interspecifiche (attacco ed evitamento), avvenute tra le operaie. È stato pertanto possibile misurare il contributo della dominanza comportamentale nella capacità di monopolizzare la risorsa alimentare.

5.3.2.6 Analisi statistiche

Tutte le analisi statistiche sono state eseguite utilizzando il software R v.3.6.2 (R Core Team 2019).

Test del Chi-quadrato e Test di Fisher

Il Chi-quadrato è un test di statistica non parametrica il quale non richiede assunti specifici sulla distribuzione dei dati; in particolare, non richiede l'uguaglianza delle varianze tra i gruppi di studio o l'omoschedasticità nei dati e consente la valutazione sia di variabili indipendenti dicotomiche, sia di studi a gruppi multipli. In generale, questo test è utilizzato in lavori sperimentali dove i dati raccolti consistono in frequenze o conteggi e l'obiettivo è quello di valutare la dipendenza o l'indipendenza tra le variabili (Zibran, 2007; McHugh, 2013; Kim, 2017). Il test di Fisher, con caratteristiche simili al chi-quadrato, è invece usato nei casi in cui le osservazioni non sono numerose. In generale, questo test si applica quando il totale delle osservazioni è inferiore a 20, quando il valore osservato è inferiore a 10 o il valore atteso è inferiore a 5 (Finney, 1948).

Mediante queste analisi, nell'ambito dei dati raccolti durante lo *scan sampling*, è stata valutata l'**abilità di *T. immigrans* nello scoprire per prima e nel monopolizzare la bait**, in condizioni di parità numerica con le operaie delle tre specie opponenti, ed è stato inoltre osservato se tale abilità potesse variare in funzione della specie opponente. Nell'ambito, invece, delle osservazioni condotte con il *continuous sampling* è stato osservato il numero di **interazioni vinte e perse dalle operaie di *T. immigrans***, contro le operaie delle specie opponenti, ed è stato valutato se il numero di vittorie e/o sconfitte variasse in funzione della specie avversaria.

Modelli lineari generalizzati a effetti misti

Sempre nell'ottica di investigare se la capacità di monopolizzazione di *T. immigrans* potesse essere influenzata dalla specie opponente, è stata analizzata la distribuzione spaziale e temporale delle operaie di *T. immigrans* all'interno dell'apparato sperimentale durante lo svolgimento dei 60 minuti d'osservazione. L'analisi è stata condotta utilizzando il pacchetto *lme4* (1.1-26) e la funzione *glmer*. Questo pacchetto fornisce funzioni per analizzare modelli misti lineari, modelli misti lineari generalizzati e modelli misti non lineari. Con il termine "effetti misti" si indica che il modello incorpora sia fattori fissi che fattori *random* (Bates *et al.*, 2007; 2011; 2014). Nella formula dell'analisi, come variabile dipendente è stato inserito il numero di operaie di *T. immigrans* in una delle tre posizioni considerate (nel proprio nido, nell'arena centrale o nel nido dell'opponente); come fattore fisso è invece stata inserita l'interazione tra il tempo e l'opponente, ovvero i 6 intervalli di tempo nei quali sono state registrate le abbondanze di *T. immigrans*. Come effetti *random* sono invece state inserite il numero delle osservazioni totali (12 repliche x 6 intervalli x 3 specie opponenti) e il numero di repliche sperimentali (12 repliche per ogni opponente). Gli effetti *random* sono stati inseriti in

quanto si è tenuto conto dell'*overdispersion* dei dati, la quale è stata corretta mediante la Observation Level random Effect (Harrison, 2014). In ultimo, nella formula è stata specificata la famiglia d'appartenenza della distribuzione dei dati, che in questo caso è stata una Poisson (funzione di link= "Log"), in quanto sono state inserite le frequenze dei comportamenti, ovvero dei *counts*, espressi dalle operaie di *T. immigrans*. In seguito, per verificare la significatività del trattamento, ovvero il tipo di opponente, è stata eseguita un'analisi della devianza sul modello (Analysis of Deviance Table: Type II Wald chisquare test). In seguito, è stata svolta un'analisi più puntiforme, dove, per i *dataset* di ognuna delle tre posizioni è stato selezionato un *subset* grazie al quale è stato possibile confrontare due precisi intervalli di tempo scelti liberamente. Sono state confrontate il numero di operaie del secondo intervallo di tempo, dopo 20 minuti dall'inizio dell'esperimento, e del sesto intervallo di tempo, dopo 60 minuti, per le tre posizioni dell'apparato. Così facendo è stato possibile osservare se vi sono state delle **differenze nella distribuzione spaziale di *T. immigrans* nel tempo, contro le tre specie opposti**. Per ogni subset è stato eseguito un nuovo modello e una nuova analisi della devianza e, per i risultati significativi è stato poi eseguito un *post-hoc* con il Tukey mediante la funzione *glht* del pacchetto *multcomp*.

5.3.3 Esperimenti di aggressività

5.3.3.1 Organizzazione e mantenimento delle colonie sperimentali

Al momento del prelievo in natura, i frammenti coloniali sono stati posti in contenitori di plastica modulati nel seguente modo: un contenitore rettangolare (10x13x20cm) connesso tramite tubo di plastica trasparente (2,3cm di diametro x 7cm di lunghezza) a un'arena cilindrica (19,4cm di diametro x 10cm d'altezza). Il contenitore rettangolare ha funto da nido artificiale all'interno del quale, oltre alle operaie, sono stati alloggiati detriti dello stesso materiale del quale era composto il nido naturale. L'arena cilindrica ha invece simulato il territorio di foraggiamento, ponendo, anche all'interno di quest'ultima, detriti vegetali e terricoli prelevati nei pressi della colonia naturale. All'interno di ogni apparato sono state poste 50 operaie scelte casualmente dal frammento coloniale d'origine. In laboratorio, le colonie sono state mantenute con le stesse modalità precedentemente descritte nel paragrafo 5.3.2.1. Per le finalità sperimentali, tutti i frammenti coloniali sono stati lasciati ambientare per un tempo di 24h precedenti gli esperimenti.

5.3.3.2 Apparato sperimentale

L'apparato sperimentale, ovvero le *fighting box* (le Moli & Parmigiani, 1981; Moli & Mori, 1990; Mori *et al.*, 1994), consistevano in una scatola in plastica rettangolare (2,5x2,7x3,4cm) al centro, con l'aggiunta di 2 serbatoi costituiti da provette Eppendorf (2,5 ml) ai lati corti della scatola, inserite effettuando un foro di 1cm di diametro a circa 0,5cm di distanza dal fondo della *box*. Grazie ai fori è stato consentito l'incastro delle provette alle quali in precedenza è stato rimosso il fondo. Le provette sono state tenute adese alla scatola fissandole con colla a caldo dal lato esterno della parete. Sul fondo interno dell'arena è stato applicato un rettangolo di carta millimetrata, eliminando in questo modo i riflessi prodotti dallo stesso fondo di plastica e fornendo al contempo una scala di riferimento. Le ridotte dimensioni dell'apparato hanno consentito di registrare video con un buon livello di ingrandimento dell'immagine in modo da permettere la visione dei comportamenti d'interesse per la stesura dell'etogramma. Gli esperimenti di aggressività sono stati filmati con Telecamera Samsung 65x intelli zoom (f=2.1-109.2mm F:1.8) fissata su un tripode. Per consentire una buona resa del video, gli apparati sono stati illuminati con faretto posizionati in modo tale che la luce, proveniente dall'alto, eliminasse eventuali zone d'ombra. In **Fig.55** sono mostrati l'apparato sperimentale e una fotografia del *set* sperimentale.

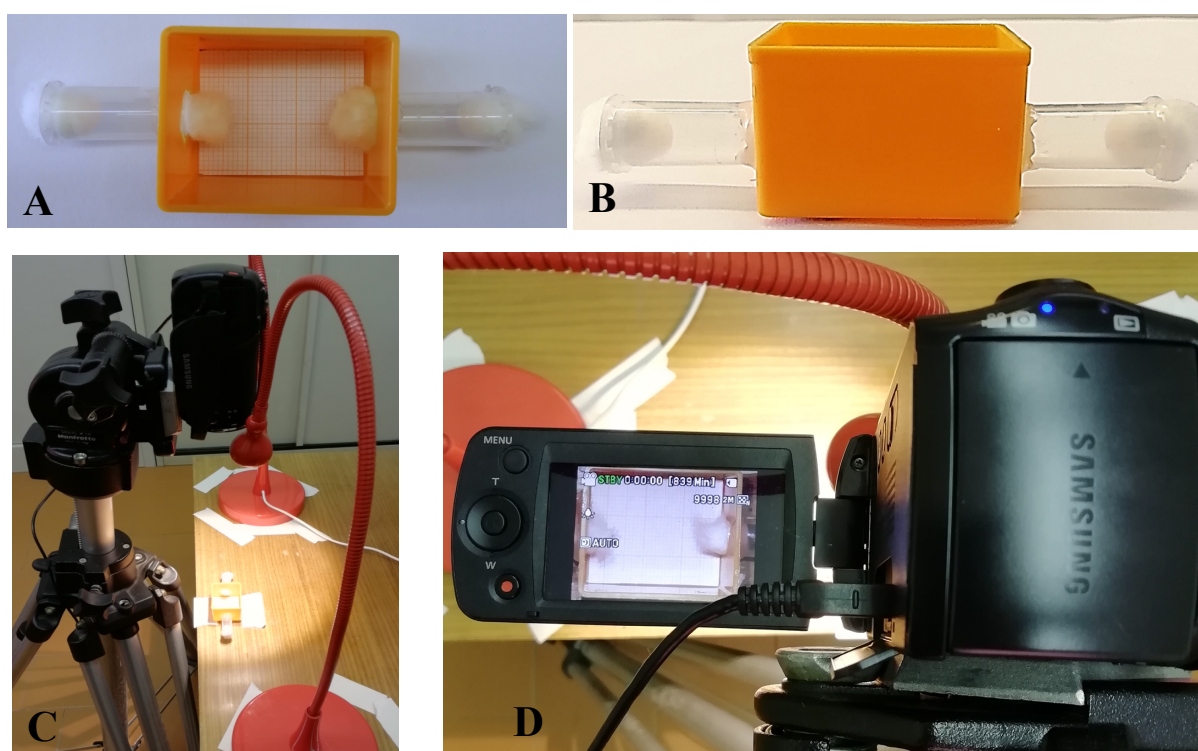


Fig.55 Fotografie delle *fighting box* viste dall'alto (A) e lateralmente (B); fotografie del *set* sperimentale (C e D).

5.3.3.3 Protocollo sperimentale

Le 60 repliche sperimentali sono state condotte in condizioni controllate di temperatura e umidità relativa ($T^{\circ} 25 \pm 1^{\circ} C$ e UR 57%) e il protocollo ha previsto che, prima dell'inizio degli esperimenti, a tutti i frammenti coloniali fosse dato un tempo di ambientazione di 24h alle nuove condizioni di laboratorio. In seguito, tutte le operaie sono state estratte in modo casuale dai propri frammenti coloniali accoppiandole secondo i confronti precedentemente illustrati nel piano sperimentale (**Tab.14 e Tab.15**). Per poter riconoscere e assegnare ciascuna operaia al frammento coloniale di provenienza, è stata eseguita una marcatura equiripartita delle operaie, alternando, in modo bilanciato nel corso degli esperimenti, le marcature degli individui opposti. In generale, l'operazione di marcatura è avvenuta applicando, mediante un pennello con punta di 0.2 mm, un puntino di inchiostro bianco ad asciugatura rapida (a base di tempera acrilica e acqua, inodore e atossico; marcatore UniPosca) sul pronoto della formica (**Fig.56**) (Errard & Hefetz, 1997; Tamarri *et al.*, 2009).

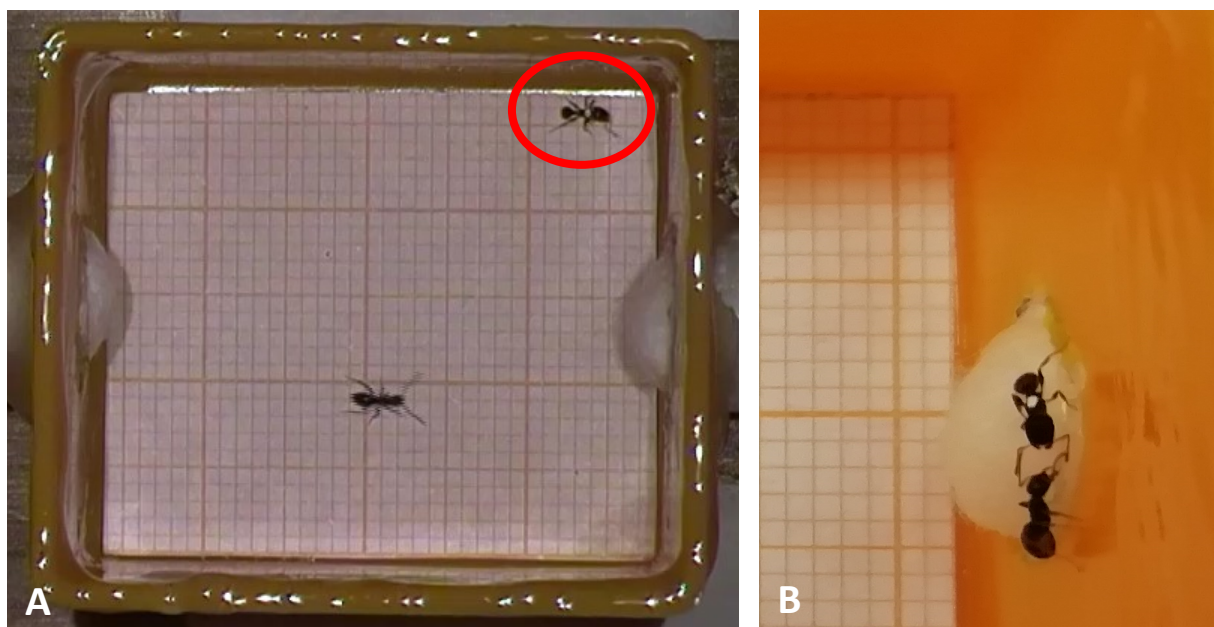


Fig.56 Nella figura è mostrato un esemplare marcato di *T. immigrans*. Nell'immagine **A** cerchiata di rosso è indicata l'operaia di *T. immigrans* marcata, durante un confronto con *T. subboreale*; mentre in fotografia **B** è mostrata un'operaia di *T. immigrans* durante un confronto con *L. paralienus*.

Dopo la marcatura, gli individui sono stati alloggiati all'interno dei serbatoi laterali della *fighting box*, per consentirne l'ambientazione prima di iniziare la prova sperimentale. Questa fase di ambientazione, della durata di 20 minuti, è stata necessaria affinché potesse essere minimizzato il disturbo causato alle operaie a seguito delle operazioni precedenti. Per evitare la fuga delle operaie, le due estremità di ogni provetta sono state chiuse con tappi d'ovatta. In

seguito, i tappi presenti alle estremità interne delle Eppendorf sono stati rimossi per consentire l'entrata nell'arena sperimentale delle formiche; mentre i tappi presenti alle estremità esterne delle Eppendorf sono stati spinti verso l'interno impedendo alle formiche di rientrare nelle Eppendorf. Al termine delle operazioni sopra citate e solo quando l'operatore allontanava le mani dall'apparato sperimentale, è stata avviata la registrazione. Per l'analisi della risposta aggressiva è stato deciso di condurre un *focus sampling* attraverso una registrazione video della durata di 10 minuti l'uno. L'intervallo di 10 minuti è stato a sua volta suddiviso in 2 intervalli di 5 minuti l'uno. Nel corso dei primi 5 minuti l'operatore ha osservato se le due formiche interagivano, o meno, entrando in contatto fra loro, discriminando in questo modo una prova nulla da una prova valida (prova nulla= nessun contatto; prova valida= contatto nei primi 5 minuti). Con il termine **contatto** è stato definito quell'evento durante il quale una o entrambe le formiche, con una qualsiasi parte del loro corpo, hanno toccato una qualsiasi parte del corpo dell'opponente. Nel corso del secondo intervallo, invece, sono state registrate le interazioni comportamentali avvenute tra le operaie. In totale, sono state effettuati 600 minuti di registrazione (10 minuti per 60 repliche sperimentali). Per tutti gli esperimenti svolti, per impedire la fuga delle formiche dall'apparato sperimentale è stato applicato con un pennello, lungo il bordo superiore dell'arena, uno strato composto da una miscela di paraffina liquida pura e vaselina in crema.

5.3.3.4 Piano sperimentale

Il piano sperimentale ha previsto lo svolgimento di 60 repliche sperimentali suddivise in 3 trattamenti:

- 1) **Omocoloniale** (un individuo di *T. immigrans* è posto contro un altro individuo della stessa colonia)
- 2) **Eterocoloniale intraspecifico** (un individuo di *T. immigrans* è posto contro un altro individuo della stessa specie ma di diversa colonia)
- 3) **Interspecifico** (un individuo di *T. immigrans* è posto contro un altro individuo di una specie diversa)

Dunque, sono state effettuate 12 prove per il trattamento 1, 12 prove per il trattamento 2 e 36 prove per il trattamento 3 (12 prove x 3 specie: *C. scutellaris*, *L. paralienus* e *T. subboreale*). Ogni frammento coloniale è stato etichettato con il nome della specie e seguendo un ordine alfabetico progressivo con una lettera dalla *A* alla *C* per le specie *C. scutellaris*, *L. paralienus* e *T. subboreale*, mentre con lettere dalla *A* alla *D* per *T. immigrans* (ad es. *L. paralienus* 1A;

C. scutellaris 1B; *T. immigrans* 1C). Ogni frammento coloniale è stato impiegato in una sola prova sperimentale. Di seguito è riportata la tabella con le coppie dei frammenti coloniali confrontate secondo l'organizzazione del piano sperimentale (**Tab.14 e Tab.15**).

Replica	Esperimenti di aggressività omocoloniale		Esperimenti di aggressività eterocoloniale	
	<i>T. immigrans</i> Vs <i>T. immigrans</i>		<i>T. immigrans</i> Vs <i>T. immigrans</i>	
1	A	A	A	B
2	A	A	A	C
3	A	A	A	D
1	B	B	B	A
2	B	B	B	C
3	B	B	B	D
1	C	C	C	A
2	C	C	C	B
3	C	C	C	D
1	D	D	D	A
2	D	D	D	B
3	D	D	D	C

Tab.14 Nella tabella sono presentati i confronti omocoloniali ed eterocoloniali tra le operaie di *T. immigrans*. Le lettere rappresentano il frammento coloniale dal quale l'operaia è stata prelevata.

Replica	Esperimenti di aggressività interspecifica					
	<i>T. immigrans</i> Vs <i>C. scutellaris</i>		<i>T. immigrans</i> Vs <i>L. paralienus</i>		<i>T. immigrans</i> Vs <i>T. subboreale</i>	
1	A	A	A	A	A	A
2	A	B	A	B	A	B
3	A	C	A	C	A	C
1	B	A	B	A	B	A
2	B	B	B	B	B	B
3	B	C	B	C	B	C
1	C	A	C	A	C	A
2	C	B	C	B	C	B
3	C	C	C	C	C	C
1	D	A	D	A	D	A
2	D	B	D	B	D	B
3	D	C	D	C	D	C

Tab.15 Nella tabella sono presentati i confronti interspecifici. Le lettere rappresentano il frammento coloniale dal quale l'operaia è stata prelevata.

5.3.3.5 Analisi video

In totale, sono stati prodotti 60 video. Il protocollo di sbobinatura, ovvero l'operazione mediante la quale si prende visione dei video svolti durante gli esperimenti, trascrivendone le informazioni, ha previsto che fossero analizzati 3 minuti e 30 secondi su 10 minuti di registrazione totale. Questa durata dell'intervallo di sbobinatura ha consentito sia di raccogliere una quantità di dati adeguata alle esigenze sperimentali sia di ridurre le tempistiche, impiegando pertanto uno sforzo d'analisi sostenibile. In media, l'operazione di sbobinatura ha

occupato un intervallo di tempo compreso fra i 90 e i 120 minuti per video, per un tempo totale compreso fra le 90 ore e le 120 ore. In linea generale, negli studi che utilizzano un protocollo tramite il quale i soggetti sperimentali sono assegnati a categorie qualitative, deve essere verificata la replicabilità del protocollo stesso mediante un **test di affidabilità inter-osservatore** (Cohen, 1960; Landis & Koch, 1977; Young, 1979; Kvålseth, 1989; Viera *et al.*, 2005; Kaufman & Rosenthal, 2009). Analogo procedimento deve essere seguito in studi nei quali sono svolte registrazioni video degli esperimenti eseguiti. Dunque, una parte dei video realizzati deve essere sbobinata, indipendentemente, da operatori diversi. Generalmente, per verificare il grado di concordanza nella sbobinatura tra gli operatori, possono essere applicate analisi statistiche come la correlazione di Pearson, Spearman o la K di Cohen (Cohen, 1960; Young *et al.*, 1979; Blackman & Koval, 2000; Call *et al.*, 2003; Travain *et al.*, 2015; Horowitz & Hetch, 2016; Huck & Watson, 2019). In questo caso di studio è stato scelto di sottoporre al test di affidabilità inter-osservatore il 20% dei 60 video realizzati. I video sono stati scelti in modo casuale fra le 3 tipologie di trattamenti sperimentali (omocoloniale, eterocoloniale intraspecifica e interspecifica). Tutti i video sono stati analizzati mediante il software **Solomon Coder** (v.beta.18.09.02), il quale, generalmente, consente la descrizione e la codifica dei moduli comportamentali espressi dai soggetti osservati (András, 2002). All'operatore che utilizza Solomon Coder è consentita l'impostazione e l'utilizzo di un insieme di comportamenti da lui stesso definiti in base alle finalità sperimentali. Infatti, quando si utilizza Solomon Coder, la prima operazione da svolgere è quella di impostare la configurazione d'analisi video creando dei "bottoni" nominati con il nome dei comportamenti che si vogliono registrare. In aggiunta, è importante, per una corretta registrazione delle informazioni, stabilire in questa fase se i comportamenti osservati trattano un evento istantaneo o continuo. Se tale indicazione non viene espressa, il *software* di *default* registrerà tali comportamenti come continui. In seguito, l'operatore deve creare le categorie, ovvero i raggruppamenti all'interno dei quali sono inclusi tutti i comportamenti mutualmente esclusivi fra loro, ovvero quelle azioni che non possono essere attuate in contemporanea dal soggetto. Anche in questo caso, è importante definire questa impostazione per una corretta registrazione dei dati. In seguito, l'operatore potrà procedere al salvataggio della configurazione e all'importazione del video da sbobinare. I comportamenti registrati sono annotati all'interno di un foglio di codifica dal quale è possibile estrarre le statistiche primarie come le frequenze, le durate e le percentuali, esportandole su un foglio di calcolo. Dunque, mediante questo *software* è stato possibile definire e analizzare l'etogramma della risposta aggressiva delle formiche soggetto degli esperimenti. In **Fig.57** è possibile osservare uno *screenshot* esemplificativo della schermata-tipo di Solomon Coder.

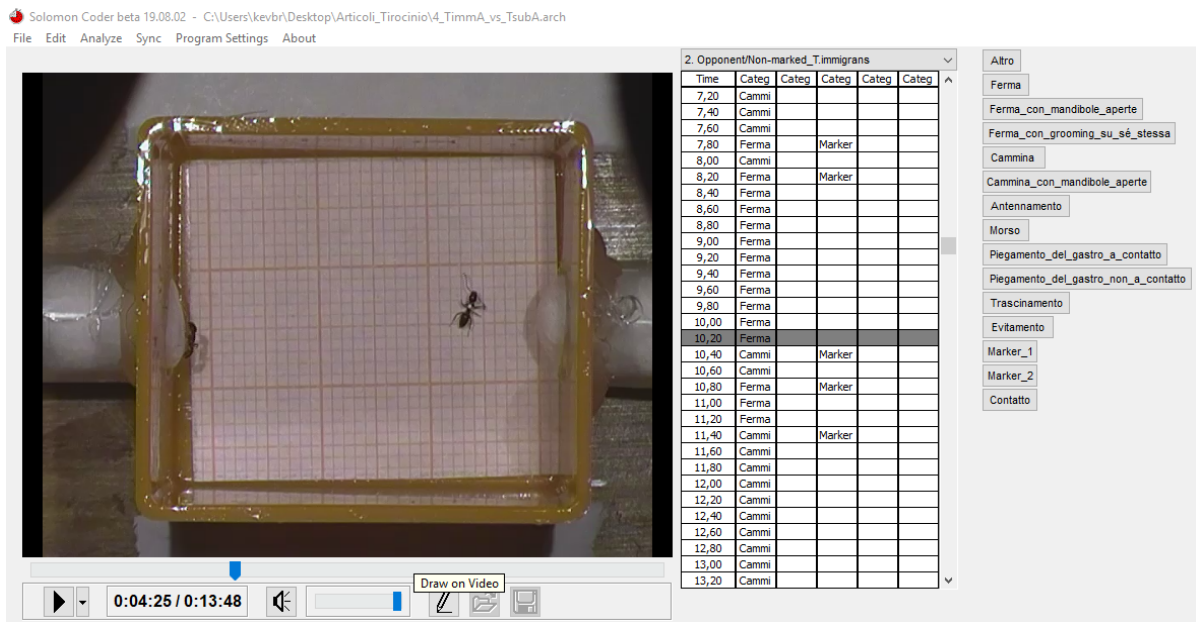


Fig.57 Impostazione del foglio di codifica definito secondo i criteri stabiliti dall’operatore. In alto a sinistra vi è la finestra video, mentre a destra vi è la tabella nella quale si registrano i comportamenti (a fianco sono visibili i bottoni creati per i comportamenti da registrare).

5.3.3.6 Organizzazione dei dati

Mediante le registrazioni video ottenute osservando le *fighting box* è stato possibile annotare i comportamenti attuati dalle singole operaie. Questo ha permesso la redazione dell’etogramma riguardante il comportamento aggressivo espresso sia da *T. immigrans* sia dalle specie oppponenti, nel contesto degli scontri 1 contro 1. Inoltre, è stato possibile associare a ciascuna operaia non solo il tipo di comportamento espresso durante gli scontri ma anche i dati riguardanti le frequenze dei comportamenti espressi. In aggiunta, i comportamenti dell’etogramma sono stati suddivisi in 4 categorie, in base a un gradiente di aggressività. Le 4 categorie sono:

1. comportamenti non aggressivi
2. comportamenti di minaccia
3. comportamenti di aggressione aperta istantanei
4. comportamenti di aggressione aperta prolungati

Nella categoria “**comportamenti non aggressivi**” sono stati inseriti tutti quei moduli comportamentali caratterizzati da assenza di aggressività: si tratta, in generale, di azioni che le formiche svolgono durante la loro attività di esplorazione dell’ambiente. Esempi di comportamenti non aggressivi sono l’autogrooming e l’antennamento. Alla categoria “**comportamenti di minaccia**”, sono stati assegnati quei comportamenti per i quali le formiche

hanno manifestato un intento aggressivo senza però portarlo a termine, ovvero senza entrare in contatto con l'opponente (Strayer & Strayer, 1976). Esempi di questa categoria sono il gaster flexing o il movimento con mandibole aperte. Nelle ultime due categorie, “**comportamenti di aggressione aperta istantanei**” e “**comportamenti di aggressione aperta prolungati**”, sono stati inseriti comportamenti di aggressione aperta, i quali, a differenza dei comportamenti di minaccia, sono culminati in un contatto tra le due opposti. Esempi di comportamenti di aggressione aperta istantanei sono il gaster flexing a contatto istantaneo e il morso istantaneo, mentre prolungati sono il gaster flexing a contatto prolungato, il morso prolungato e il trascinamento. La suddivisione tra comportamenti istantanei e continui è stata decisa sulla base delle durate temporali di ogni singolo comportamento, le quali sono state registrate mediante Solomon Coder. I comportamenti “**istantanei**” sono stati classificati come tali perché hanno avuto una durata di tempo compreso tra 0 e 1 secondo, mentre i comportamenti “**prolungati**” hanno avuto una durata superiore a 1 secondo. Di seguito è mostrata la tabella contenente i comportamenti suddivisi nelle 4 categorie (**Tab.16**). Per tutti i comportamenti sopra elencati sono state registrate le **frequenze**, ovvero il numero di comportamenti espressi dalla singola formica nella singola prova.

Comportamenti non aggressivi
Antennamento; Auto-grooming; Evitamento; Immobilità; Movimento
Comportamenti di minaccia
Gaster flexing; Immobilità con mandibole aperte; Movimento con mandibole aperte
Comportamenti di aggressione aperta istantanei
Gaster flexing a contatto istantaneo; Morso istantaneo
Comportamenti di aggressione aperta prolungati
Gaster flexing a contatto prolungato; Morso prolungato; Trascinamento

Tab.16 Nella tabella sono riportate le 4 categorie di comportamenti registrati, ordinate, dall'alto verso il basso, dal grado di aggressività più basso al grado di aggressività più alto.

5.3.3.7 Analisi statistiche

Tutte le analisi statistiche sono state eseguite utilizzando il software R v.3.6.2 (R Core Team 2019).

Correlazioni di Spearman

Sono state eseguite delle correlazioni di Spearman per verificare il grado di concordanza tra i dati rilevati dalla sbobinatura video eseguita da due operatori indipendentemente. Sono stati scelti in modo casuale 12 video sui 60 registrati, analizzando, in questo modo, il 20% dei filmati realizzati (Horowitz & Hetch, 2016). L'analisi è stata svolta sui comportamenti più frequenti espressi dalle operaie di *T. immigrans*, ovvero “Antennamento”, “Autogrooming”, “Immobilità” e “Movimento”: ogni comportamento è stato esaminato separatamente dagli altri sulla base delle frequenze registrate dai due operatori. Dunque, le variabili inserite nella correlazione sono state rappresentate dalle 12 frequenze, di quel comportamento, registrate dall'operatore 1 e dalle 12 frequenze registrate, sempre per lo stesso comportamento, dall'operatore 2 (Young *et al.*, 1979). La stessa analisi è stata applicata anche ai comportamenti espressi dalle formiche opponenti, ovvero “Antennamento”, “Autogrooming”, “Immobilità” e “Movimento”. Il grado di concordanza si osserva dal valore assunto dalla correlazione dove, più tale valore si avvicina a 1 e maggiore sarà il grado di concordanza tra i dati registrati indipendentemente dai due operatori (Hartman, 1977).

Modello Lineare Generalizzato (GLM)

Per quei comportamenti espressi maggiormente dalle operaie di *T. immigrans* nelle *fighting box* sono stati eseguiti dei GLM, con la funzione *glm*. In questo modo è stato valutato un eventuale **effetto della specie opponente sui comportamenti di *T. immigrans***. Sono stati selezionati per l'analisi quei comportamenti con almeno 10 frequenze sulle 12 repliche sperimentali svolte per i 5 trattamenti. In generale, con questo tipo di modelli possono essere bypassate le assunzioni riguardanti la distribuzione dei dati come la normalità e l'omoschedasticità e quindi possono essere inserite nell'analisi distribuzioni che considerano come variabili indipendenti dati espressi in percentuali (valori compresi fra 0 e 1), dati binomiali (es.: vivo/morto) e conteggi di numeri interi (*counts* interi positivi) (Nelder & Wedderburn, 1972; Nicholls, 1989; Nicholls, 1990; Breslow & Clayton, 1993). Dunque le distribuzioni che possono essere espresse all'interno di un GLM sono di tipo “Binomial”, “Gaussian”, “Poisson”, “Gamma” ed “Esponenziale”. Nella formula dell'analisi, come variabile dipendente sono state inserite le frequenze dei comportamenti espressi da *T. immigrans* nelle 60 prove sperimentali; come fattore fisso è invece stata inserita la categoria dell'opponente. In ultimo, nella formula è stata specificata la famiglia d'appartenenza della distribuzione dei dati, che in questo caso è stata una Quasipoisson (funzione di link= “Log”),

in quanto sono state inserite le frequenze dei comportamenti, ovvero dei *counts*, espressi dalle operaie di *T. immigrans*. Tramite la distribuzione Quasipoisson è stato possibile correggere l'*overdispersion* dei dati. In seguito, per verificare la significatività generale dei trattamenti (il tipo di opponente) è stata eseguita un'analisi della devianza sul modello, usando il test "F". Per i risultati significativi, è stato svolto il test di Tuckey per definire quale categoria di opponente ha un effetto sui comportamenti di *T. immigrans*.

Indice di aggressività (AI)

Per valutare la risposta aggressiva di *T. immigrans* quando posta in scontri forzati 1 contro 1, è stato calcolato un indice di aggressività (AI) (Errard & Hefetz, 1997; D'Ettorre & Heinze, 2005; Dreier *et al.*, 2007; Tamarri *et al.*, 2009), associando ai vari comportamenti punteggi crescenti, al crescere del livello di aggressività del comportamento stesso. La formula utilizzata per calcolare l'indice di aggressività è la seguente (Dreier, 2007):

$$AI = \frac{\sum_{i=1}^n AI_i * f_i}{\sum C}$$

Al numeratore è presente la sommatoria dei prodotti ottenuti dalla moltiplicazione di AI_i , ovvero il punteggio di aggressività assegnato a ciascuna categoria comportamentale, per f_i , ovvero la frequenza del comportamento. Al denominatore è presente $\sum C$, ovvero la sommatoria delle frequenze di tutti i comportamenti espressi.

Il primo passaggio da eseguire per procedere al calcolo dell'indice è stato quello di suddividere i comportamenti nelle 4 categorie precedentemente descritte. In seguito, a ogni categoria è stato attribuito un **punteggio di aggressività** da 0 a 3 (0= assenza di aggressività, 3= aggressività massima), sulla base di precedenti studi presenti in letteratura (Errard & Hefetz, 1997; D'Ettorre & Heinze, 2005; Dreier *et al.*, 2007; Tamarri *et al.*, 2009). Dunque, i punteggi sono stati attribuiti come segue:

“Comportamenti non aggressivi” = **0**;

“Comportamenti di minaccia” = **1**;

“Comportamenti di aggressione aperta istantanei” = **2**;

“Comportamenti di aggressione aperta prolungati” = **3**.

Infine è stato calcolato un Indice di Aggressività (**AI**) per ciascuna formica: in totale sono stati calcolati 60 valori dell'Indice di Aggressività.

Kruskall-Wallis

Per stabilire se c'è un **effetto dell'opponente sugli indici di aggressività** calcolati per *T. immigrans*, è stato condotto il test non parametrico Kruskal-Wallis (Kruskal-Wallis chi-squared), utilizzando la funzione *kruskal.test*. Il test Kruskal-Wallis, in generale, è considerato come l'analogo non parametrico di un'ANOVA unidirezionale: non assume la normalità della distribuzione dei dati, né l'omogeneità della varianza, come, invece, richiesto dal test ANOVA. Come per la maggior parte dei test non parametrici, il Kruskal-Wallis viene eseguito sui ranghi delle osservazioni di misurazione e l'ipotesi nulla afferma che i dati provengono da popolazioni identiche, mentre l'ipotesi alternativa afferma che le popolazioni non siano identiche (Feir-Walsh & Toothaker, 1974; Vargha & Delaney, 1998; Hecke, 2012). In seguito, per confrontare le differenze tra le specie oppponenti è stato eseguito un *pairwise wilcox test* utilizzando come metodo di correzione per i *p-value* il Benjamini & Hochberg ("BH") (1995).

5.4 Risultati

5.4.1 Esperimenti di competizione alimentare

Per verificare se l'abilità di scoperta e monopolizzazione di *T. immigrans* fosse **influenzata dalla specie opponente** (*C. scutellaris*, *L. paralienus*, *T. subboreale*), sono stati eseguiti due test del Chi-quadrato. L'analisi eseguita sul **numero di bait scoperte per prime non** è risultata **significativa** ($\chi^2_{(2)} = 2,90$, $p = 0,23$). Al contrario, l'analisi svolta sul **numero di bait monopolizzate** da *T. immigrans* è risultata **significativa** ($\chi^2_{(2)} = 11$, $p < 0,01$): in questo caso, *T. immigrans* si è dimostrata **particolarmente abile nel monopolizzare la risorsa quando le oppponenti erano *L. paralienus* e *T. subboreale***, mentre questa abilità non si è evidenziata quando il confronto era con *C. scutellaris*. È stato inoltre utilizzato il Fisher test, il quale ha confermato la significatività del Chi-quadrato ($p < 0,01$). In **Fig.58** è rappresentato il grafico dei risultati.

Infine, nell'ottica di indagare se il **comportamento aggressivo di *T. immigrans*** fosse **influenzato dalla specie avversaria**, è stata eseguita l'analisi sul numero di incontri vinti e persi da *T. immigrans* contro le tre oppponenti. Il test è **risultato significativo** ($\chi^2_{(2)} = 51,71$, $p < 0,01$); infatti, *T. immigrans* **dominava contro *T. subboreale***, non si distingueva contro *L. paralienus*, mentre risultava maggiormente **perdente contro *C. scutellaris***. In **Fig.59** è rappresentato il grafico dei risultati. In **Tab.17** è mostrato il numero di trappole scoperte e non scoperte per prime, monopolizzate e non monopolizzate e gli incontri vinti e persi da *T. immigrans* per le tre oppponenti *C. scutellaris*, *L. paralienus*, *T. subboreale*.

Specie	Bait scoperte	Bait non scoperte	Bait monopolizzate	Bait non monopolizzate	Incontri vinti	Incontri persi
<i>C. scutellaris</i>	4	8	6	6	29	50
<i>L. paralienus</i>	8	4	12	0	43	27
<i>T. subboreale</i>	5	7	11	1	50	0

Tab.17 Esiti del numero di *bait* scoperte e non scoperte per prime, delle *bait* monopolizzate e non monopolizzate e degli incontri vinti e persi da *T. immigrans* contro le tre specie oppponenti.

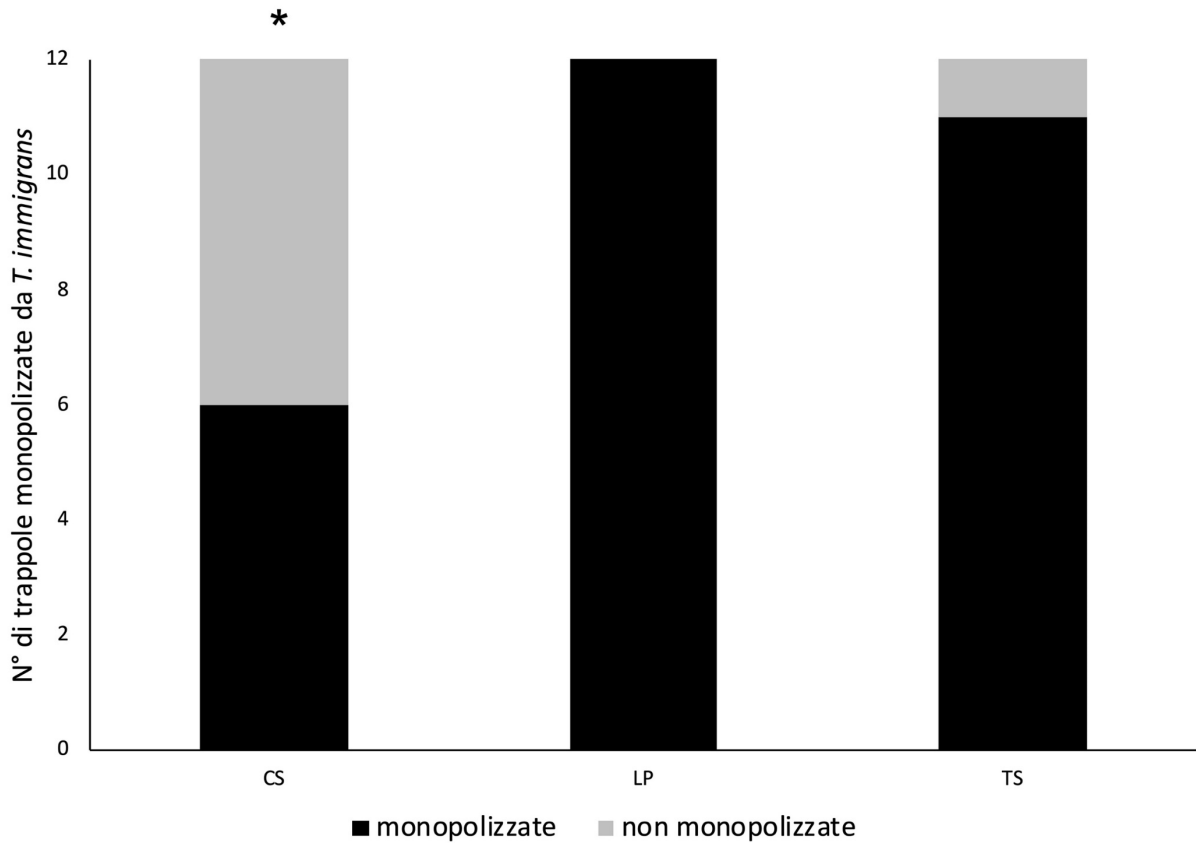


Fig.58 Numero di trappole monopolizzate e non monopolizzate da *T. immigrans* contro CS = *C. scutellaris*, LP = *L. paralienus* e TS = *T. subboreale*. La significatività è indicata dagli intervalli all'interno dei quali sono compresi i valori dei residui: $\pm 1,96$ * : $p < 0,05$; $\pm 2,58$ ** : $p < 0,01$; $\pm 3,29$; *** : $p < 0,001$.

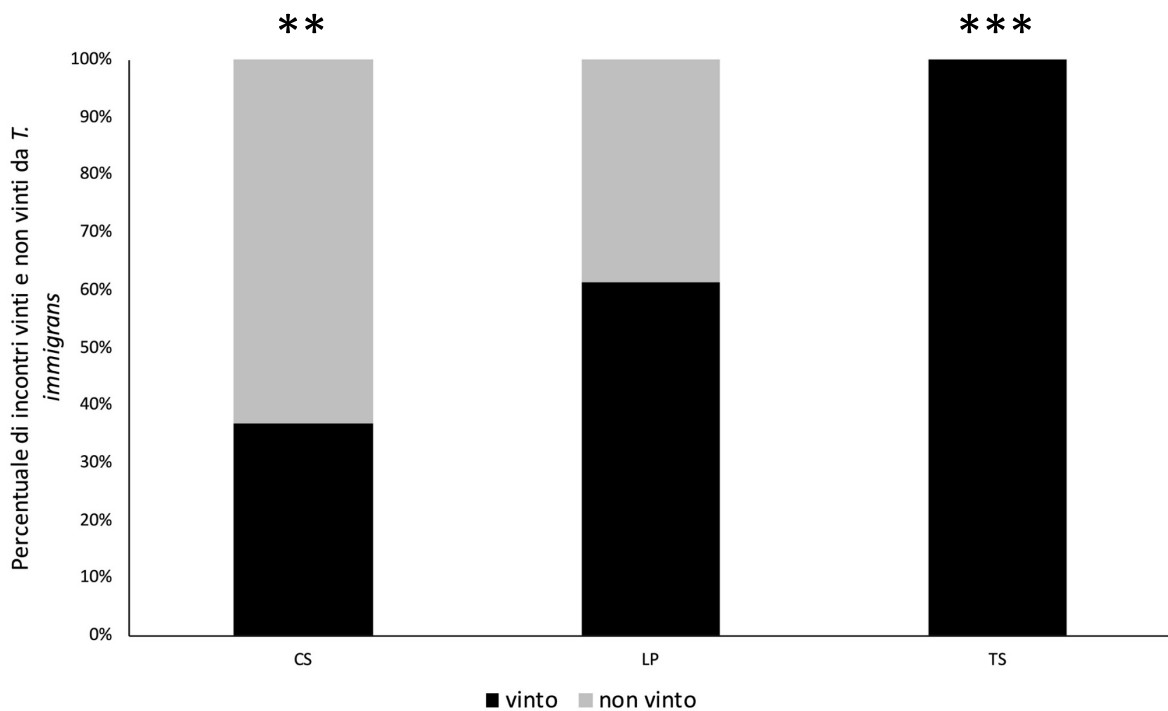


Fig.59 Numero di incontri vinti e persi da *T. immigrans* contro CS = *C. scutellaris*, LP = *L. paralienus* e TS = *T. subboreale*. La significatività è indicata dagli intervalli all'interno dei quali sono compresi i valori dei residui: $\pm 1,96$ * : $p < 0,05$; $\pm 2,58$ ** : $p < 0,01$; $\pm 3,29$; *** : $p < 0,001$.

Un secondo approccio adottato per valutare l'effetto dell'opponente sulle abilità di *T. immigrans*, è stato quello di analizzare la **distribuzione spaziale e temporale delle operaie** di questa specie per le tre posizioni dell'apparato sperimentale (nel proprio nido, nell'arena centrale e nel nido dell'opponente), rispetto alle distribuzioni delle specie oppponenti (*C. scutellaris*, *L. paralienus*, *T. subboreale*). L'analisi della devianza svolta separatamente sui tre modelli ha mostrato differenze significative (**Tab.18**).

Fattore	TI nel proprio nido	TI arena centrale	TI nido opponente
Tempo:	$\chi^2= 76,36$, $df= 1$, $p < 0,001$	$\chi^2= 85,95$, $df= 1$, $p < 0,001$	$\chi^2= 77,98$, $df= 1$, $p < 0,001$
Opponente:	$\chi^2= 52,76$, $df= 2$, $p < 0,001$	$\chi^2= 49,97$, $df= 2$, $p < 0,001$	$\chi^2= 104,37$, $df= 2$, $p < 0,001$
Tempo*opponente:	$\chi^2= 29,40$, $df= 2$, $p < 0,001$	$\chi^2= 6,92$, $df= 2$, $p < 0,001$	-

Tab18 Esito dell'analisi della devianza svolta separatamente per i tre distinti modelli riguardanti le tre posizioni all'interno dell'apparato sperimentale. Per le prime due analisi è stato usato un modello con iterazione, mentre per la terza analisi è stato usato un modello additivo a seguito della non significatività dell'interazione.

Di seguito sono riportate le differenze statistiche ottenute confrontando a coppie le tre specie oppponenti per il numero di *T. immigrans* nelle 3 zone dell'apparato sperimentale (**Tab.19**). Se confrontiamo gli esperimenti per il numero di *T. immigrans* presenti nel proprio nido, vediamo che c'è una differenza significativa tra il numero di operaie di *T. immigrans* dove l'opponente è *C. scutellaris* e gli esperimenti con *L. paralienus*; la stessa differenza si osserva negli esperimenti con *T. subboreale* e *L. paralienus* e negli esperimenti con *T. subboreale* e *C. scutellaris*. Per il numero di *T. immigrans* nell'arena centrale, si ha una differenza nel numero di operaie di *T. immigrans* solo confrontando gli esperimenti osservati per *C. scutellaris* e *L. paralienus*. Per quanto riguarda il numero di operaie presenti al nido dell'opponente, si osservano delle differenze negli esperimenti con *C. scutellaris* e *L. paralienus* e tra gli esperimenti dove le oppponenti sono state *T. subboreale* e *L. paralienus*. Invece, se si confrontano gli esperimenti svolti con *C. scutellaris* e *T. subboreale*, non si osservano differenze nel numero di operaie di *T. immigrans* presenti nel nido dell'opponente.

Confronto opponente	TI nel proprio nido	TI arena centrale	TI nido opponente
CS - LP	$p < 0,001$	$p < 0,01$	$p < 0,001$
TS - LP	$p < 0,01$	$p = 0,34$	$p < 0,01$
TS - CS	$p = 0,02$	$p = 0,09$	$p = 0,47$

Tab19 Confronti effettuati dal *summary* dei modelli eseguiti per le tre posizioni dell'apparato sperimentale e per le tre oppponenti.

In seguito, è stata svolta un'analisi puntiforme sui *subset* prendendo in esame il secondo e il sesto intervallo di tempo. Gli esiti sono mostrati in **Tab.20**.

Intervallo	TI nel proprio nido	TI arena centrale	TI nido opponente
Tempo 2	$\chi^2 = 1,42$ $df = 2$, $p = 0,49$	$\chi^2 = 0,06$, $df = 2$, $p = 0,98$	$\chi^2 = 0,12$, $df = 2$, $p = 0,94$
Tempo 6	$\chi^2 = 13,38$, $df = 2$, $p = 0,001$	$\chi^2 = 14,49$, $df = 2$, $p < 0,001$	$\chi^2 = 36,57$, $df = 2$, $p < 0,001$
Tukey Tempo 6	TI nel proprio nido	TI arena centrale	TI nido opponente
CS - LP	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$
TS - LP	$p = 0,05$	$p = 0,08$	$p < 0,001$
TS - CS	$p = 0,32$	$p = 0,19$	$p = 0,48$

Tab.20 Esito dell'analisi della devianza e dei confronti svolti con il Tukey, per gli intervalli di tempo 2 e 6. I confronti con il Tukey sono stati svolti solo per l'intervallo di tempo 6, ovvero per l'intervallo che ha mostrato delle differenze significative per il numero di operaie di *T. immigrans*.

In **Fig.60; 61; 62** sono rappresentati i grafici dei modelli svolti per le tre posizioni dell'apparato sperimentale.

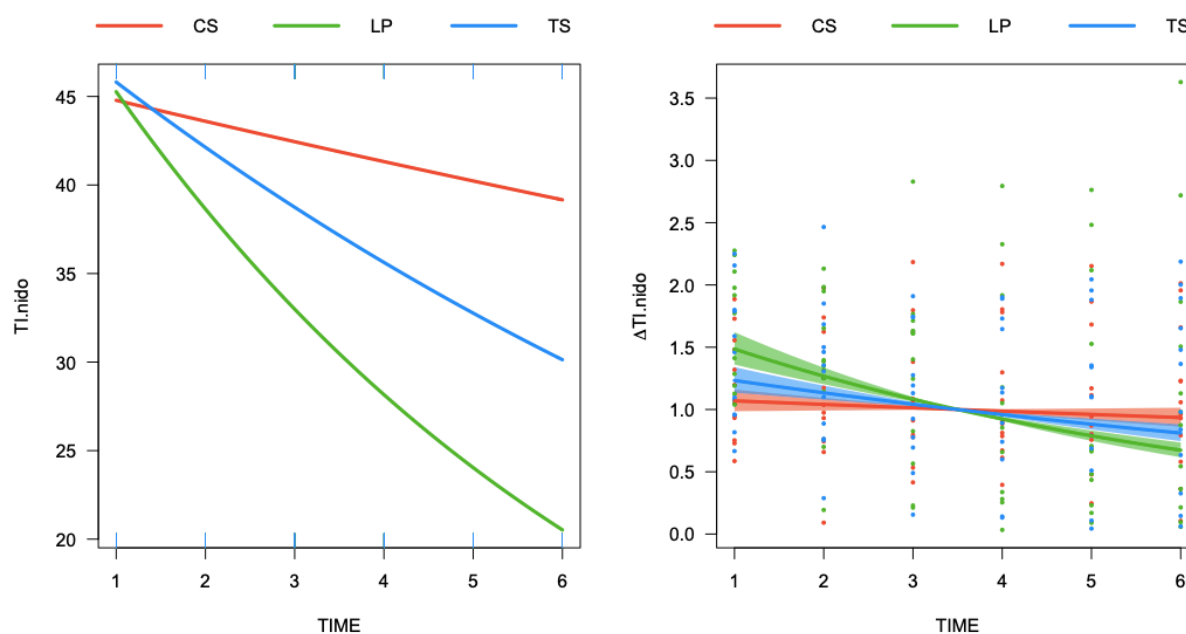


Fig.60 Rappresentazione del **numero di operaie di *T. immigrans* nel proprio nido**, nel corso del tempo, contro le tre oppoenti. Nel grafico di sinistra è mostrato l'andamento del numero di *T. immigrans* nei 6 intervalli di tempo. Nel grafico di destra, le fasce di colore più chiaro indicano le bande di confidenza e se sovrapposte mostrano una mancata differenza statisticamente significativa nel numero di operaie di *T. immigrans* per le oppoenti. I punti nel grafico indicano i residui parziali.

Come presentato nel grafico di sinistra, si può osservare come con lo scorrere dei 6 intervalli di tempo **le operaie di *T. immigrans* siano uscite dal proprio nido in maniera differente in base al tipo di opponente con la quale sono state poste a confronto**. Quando l'opponente è stata *L. paralienus*, le operaie di *T. immigrans* son uscite in modo numeroso dal proprio nido per poi andare nelle altre due zone dell'apparato sperimentale. Infatti si può vedere come, i vari

intervalli temporali, vi sia un basso numero di *T. immigrans* che esce dal nido tra il primo e il secondo intervallo, ma come, al contrario, questo numero aumenti fino ad arrivare al sesto intervallo. Anche quando l'opponente è stata *T. subboreale* si può osservare che le operaie di *T. immigrans* siano uscite dal proprio nido con lo scorrere del tempo, anche se un po' meno numerose rispetto agli esperimenti con *L. paralienus*. Anche in questo caso, però, si può vedere una differenza del numero di individui usciti dal proprio nido tra i primi due intervalli e gli ultimi. Invece, contro *C. scutellaris*, si osserva un flusso minore di operaie di *T. immigrans* che sono uscite dal proprio nel corso del tempo.

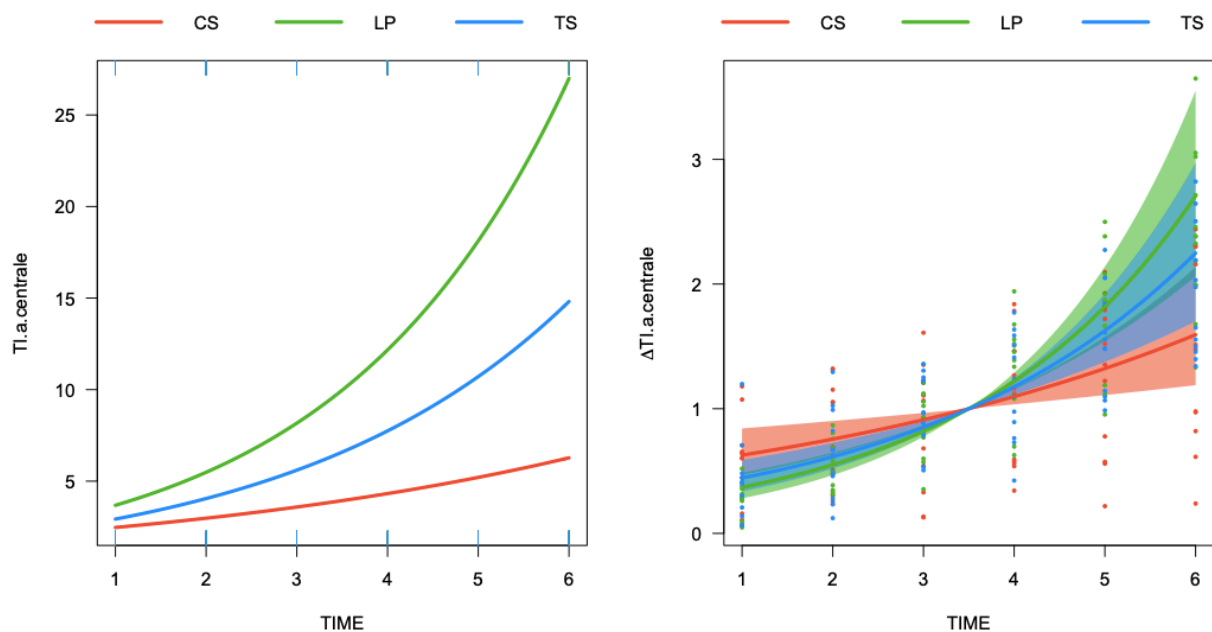


Fig.61 Rappresentazione del **numero di operaie di *T. immigrans* nell'arena centrale**, nel corso del tempo, contro le tre oppoventi. Nel grafico di sinistra è mostrato l'andamento del numero di *T. immigrans* nei 6 intervalli di tempo. Nel grafico di destra, le fasce di colore più chiaro indicano le bande di confidenza e se sovrapposte mostrano una mancata differenza statisticamente significativa nel numero di operaie di *T. immigrans* per le oppoventi. I punti nel grafico indicano i residui parziali.

Di conseguenza, per quanto riguarda il numero di operaie di *T. immigrans* presenti nell'arena centrale, si hanno molte più *T. immigrans* negli esperimenti contro *L. paralienus*. Infatti, sempre osservando il grafico di sinistra, si può osservare la grande differenza nel numero di *T. immigrans* che sono entrate nell'arena centrale tra i primi intervalli di tempo e il sesto. Contro *T. subboreale*, invece, si ha una situazione che si pone a metà tra ciò che è stato osservato per *L. paralienus* e per *C. scutellaris*. Ma anche in questo caso si denota una differenza il numero di operaie presenti nell'arena centrale tra i primi intervalli di tempo e il sesto. Per gli esperimenti dove *C. scutellaris* è stata l'opponente, come conseguenza alle poche operaie uscite dal nido, sono state osservate poche operaie dirigersi nell'arena centrale. Ancora una

volta si osserva una mancata differenza nel numero di operaie di *T. immigrans* se si confrontano i primi due intervalli di tempo con il sesto.

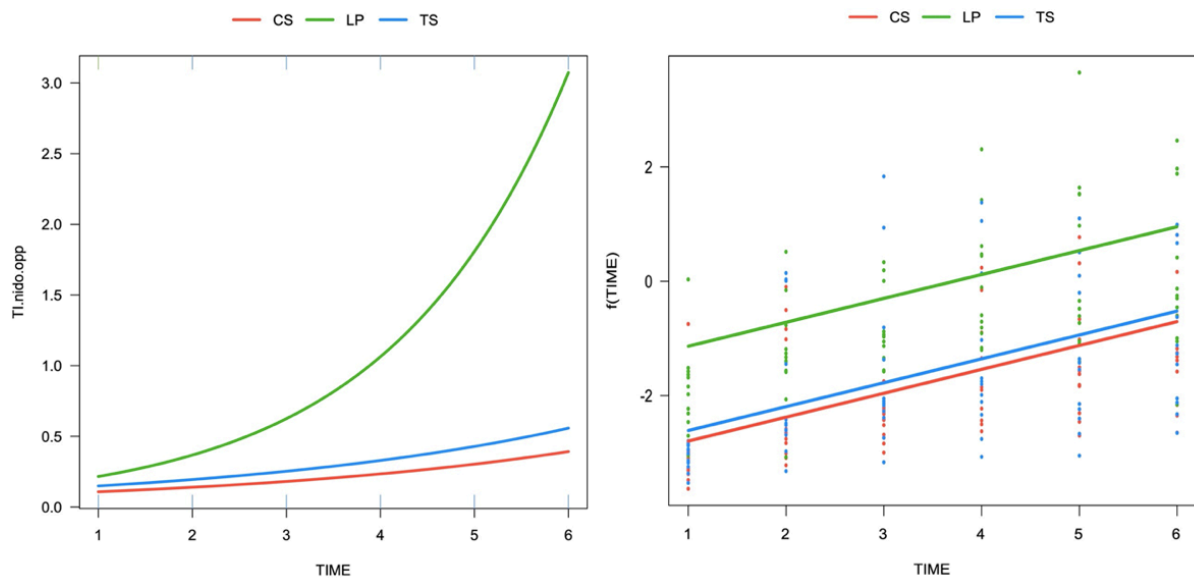


Fig.62 Rappresentazione del **numero di operaie di *T. immigrans* nel nido dell'opponente**, nel corso del tempo, nelle prove sperimentali contro le tre oppoventi. Nel grafico di sinistra è mostrato l'andamento del numero di *T. immigrans* nei 6 intervalli di tempo. Nel grafico di destra, la scala dell'asse y non è più logaritmica, ma l'andamento riportato rispecchia quello presente nel grafico di destra. I punti nel grafico indicano i residui parziali. Per questo grafico non è stato possibile proiettare le bande di confidenza.

Infine, osservando sempre il grafico di sinistra, anche per il numero di operaie di *T. immigrans* presenti nel nido dell'opponente, si hanno più operaie nei confronti contro *L. paralienus* rispetto alle altre due specie oppoventi. Infatti si può osservare una differenza molto marcata nel numero di *T. immigrans* presenti nel nido di *L. paralienus* tra i primi due intervalli di tempo e il sesto. Per quanto riguarda i confronti effettuati contro *C. scutellaris* e *T. subboreale*, il numero di *T. immigrans* presenti nei nidi delle due oppoventi è molto basso e questo lo si osserva anche confrontando gli intervalli di tempo.

5.4.2 Esperimenti di aggressività

5.4.2.1 Definizione dell'etogramma

La costruzione dell'etogramma è stata effettuata mediante osservazione diretta degli individui nel corso degli esperimenti e, in seguito, visionandone le registrazioni. Ogni modulo comportamentale è stato descritto nel dettaglio sulla base della letteratura di riferimento (Mori *et al.*, 1994; Human & Gordon, 1999; Suarez *et al.*, 2002; Roulston *et al.*, 2003; Thomas *et al.*, 2005; Bos *et al.*, 2019). Inoltre, ogni modulo comportamentale è stato classificato sulla base della sua durata: **istantaneo (I)** (durata inferiore a 1 secondo), oppure **continuo (C)** (durata superiore a 1 secondo). Di seguito sono riportati i 12 comportamenti inseriti all'interno dell'etogramma.

Etogramma

- **Antennamento (C)**: la formica è ferma e tocca con le proprie antenne il corpo dell'opponente.
- **Auto-grooming (C)**: la formica è ferma e si pulisce antenne, arti e/o gastro.
- **Evitamento (I)**: la formica si allontana dall'opponente, senza esserne entrata in contatto.
- **Gaster flexing/rising (I)**: la formica è ferma e inclina il gastro portandolo sotto/sopra il suo corpo. Il comportamento si reputa terminato quando la formica riporta il gastro nella posizione iniziale. In base alla specie della formica che lo attua, questo comportamento può culminare nella secrezione di composti tossici o nella puntura dell'opponente.
- **Gaster flexing/rising a contatto istantaneo (I)**: compiendo le stesse azioni sopra descritte, la formica tocca col proprio gastro il corpo dell'opponente per un lasso di tempo massimo di 1 secondo.
- **Gaster flexing/rising a contatto prolungato (C)**: compiendo le stesse azioni sopra descritte, la formica tocca col proprio gastro il corpo dell'opponente per un lasso di tempo superiore a 1 secondo.
- **Immobilità (C)**: la formica è ferma, oppure muove al massimo un passo, girandosi sul posto. Se il comportamento “*Immobilità*” avviene come interruzione di un altro comportamento, viene registrato solo se dura almeno 1 secondo.
- **Immobilità con mandibole aperte (C)**: la formica, compiendo le stesse azioni sopra descritte per “*immobilità*”, tiene le mandibole aperte.

- **Movimento (C)**: la formica cammina (ovvero compie almeno due passi) sulle superfici orizzontali e verticali dell'arena. Questo comportamento include eventuali fughe di una delle due oppONENTI a seguito di uno scontro aggressivo.
- **Movimento con mandibole aperte (C)**: la formica, compiendo le stesse azioni sopra descritte per "movimento", tiene le mandibole aperte.
- **Morso istantaneo (I)**: la formica è ferma e morde l'opponente (ovvero chiude le mandibole su una qualsiasi parte del corpo dell'avversaria), per un lasso di tempo massimo di 1 secondo.
- **Morso prolungato (C)**: la formica è ferma e morde l'opponente per un lasso di tempo superiore a 1 secondo.
- **Trascinamento (C)**: la formica è in movimento e morde l'opponente, trascinandola per l'arena. Un trascinamento si considera terminato quando la formica rimane immobile, pur mordendo l'avversaria, per un intervallo di tempo che dura più di 1 secondo.
- **Altro**: comportamenti che esulano da quelli descritti nell'etogramma e che non sono stati categorizzati in quanto rari e difficili da definire. Ad esempio, rientra in questa categoria il modo in cui, durante uno scontro, le formiche si attorcigliano fra loro rendendo difficoltosa la comprensione dei moduli comportamentali messi in atto nello scontro stesso. Inoltre, rientrano in questa categoria anche i comportamenti espressi quando gli individui non sono visibili dall'operatore. Per esempio, quando una o due formiche sostano sotto il tappo d'ovatta, risulta impossibile per l'operatore capire quali comportamenti stiano attuando.

Sono state eseguite delle correlazioni di Spearman per l'affidabilità inter-osservatore per verificare il grado di concordanza tra i dati registrati dalla fase di sbobinatura dei video da due operatori in modo indipendente. Le correlazioni sono state eseguite sui comportamenti maggiormente espressi da *T. immigrans* e dalle specie oppONENTI. In **Tab.21** sono presentati i risultati ottenuti per i comportamenti espressi da *T. immigrans*. Osservando gli esiti delle correlazioni è possibile osservare un **buon grado di concordanza tra i risultati ottenuti dai due operatori**. Il solo comportamento per il quale non vi è un risultato significativo e, dunque, nemmeno concordanza è il comportamento "Immobilità". In **Fig.63** sono illustrati i grafici delle correlazioni.

Comportamento	Correlazione
Antennamento	(s = 38,03, p < 0,01, rho = 0,87)
Autogrooming	(s = 27,60, p < 0,01, rho = 0,90)
Immobilità	(s = 186,96, p = 0,27, rho = 0,35)
Movimento	(s = 106,48, p = 0,03, rho = 0,63)

Tab.21 Risultati delle correlazioni di Spearman effettuate sui comportamenti maggiormente espressi da *T. immigrans*.

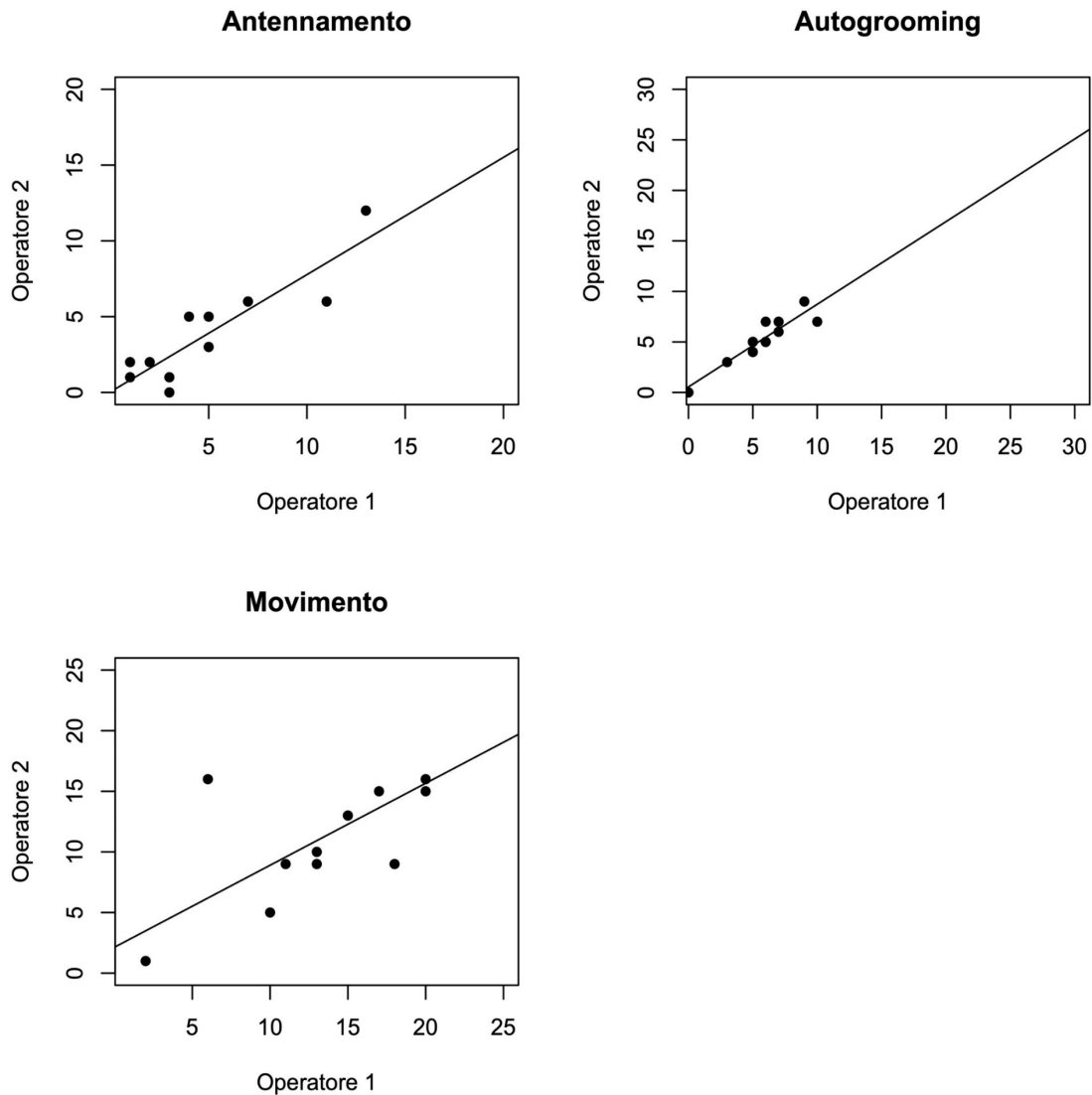


Fig.63 Grafici delle correlazioni di Spearman per le frequenze dei comportamenti registrate per *T. immigrans*, in modo indipendente dai due operatori.

In **Tab.22** sono mostrati i risultati dell'analisi per le frequenze dei comportamenti delle opposenti, considerate come gruppo unico, senza distinzione tra i 5 trattamenti (omocoloniale, eterocoloniale, *C. scutellaris*, *L. paralienus*, *T. subboreale*). Anche in questo caso si può

osservare un buon grado di concordanza tra i risultati ottenuti dai due operatori. In **Fig.64** sono illustrati i grafici delle correlazioni.

Comportamento	Correlazione
Antennamento	($s = 83,91$, $p = 0,01$, $\rho = 0,71$)
Autogrooming	($s = 11,66$, $p < 0,01$, $\rho = 0,96$)
Immobilità	($s = 70,87$, $p < 0,01$, $\rho = 0,75$)
Movimento	($s = 62,53$, $p < 0,01$, $\rho = 0,78$)

Tab.22 Risultati delle correlazioni di Spearman effettuate sui comportamenti espressi dalle specie opponenti, ovvero *C. scutellaris*, *L. paralienus* e *T. subboreale*.

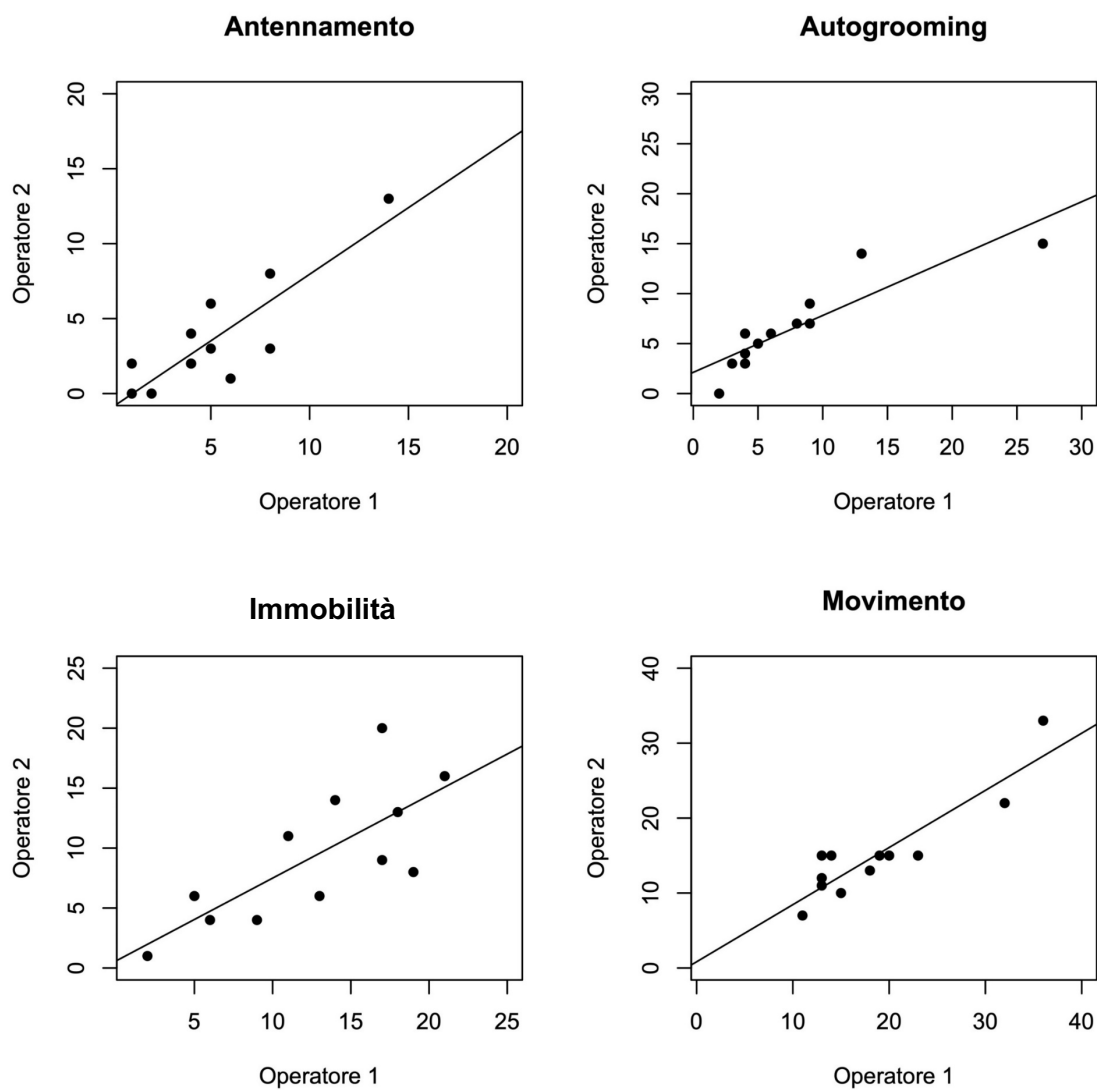


Fig.64 Grafici delle correlazioni di Spearman per le frequenze dei comportamenti registrate per le opponenti, dai due operatori in modo indipendente.

I seguenti grafici illustrano le frequenze medie dei comportamenti espressi da *T. immigrans* negli scontri con le 5 tipologie di opposenti (Fig.65; 66; 67, 68).

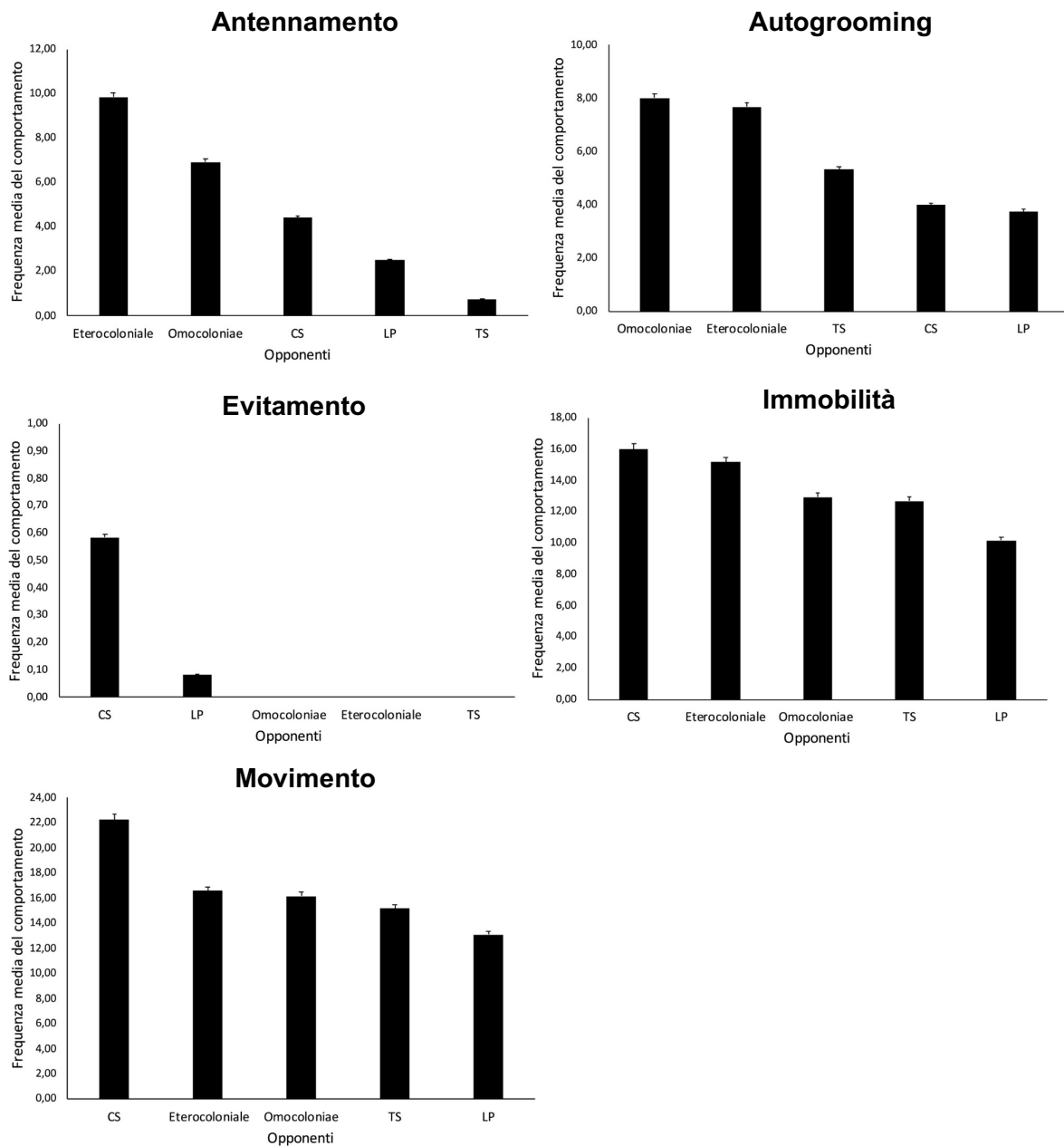


Fig.65 Media (+ ES) delle frequenze dei comportamenti per la categoria “**comportamenti non aggressivi**” attuati da *T. immigrans* negli scontri 1 contro 1, suddivisi in omocoloniali, eterocoloniali intraspecifici e contro le tre specie oppoenti.

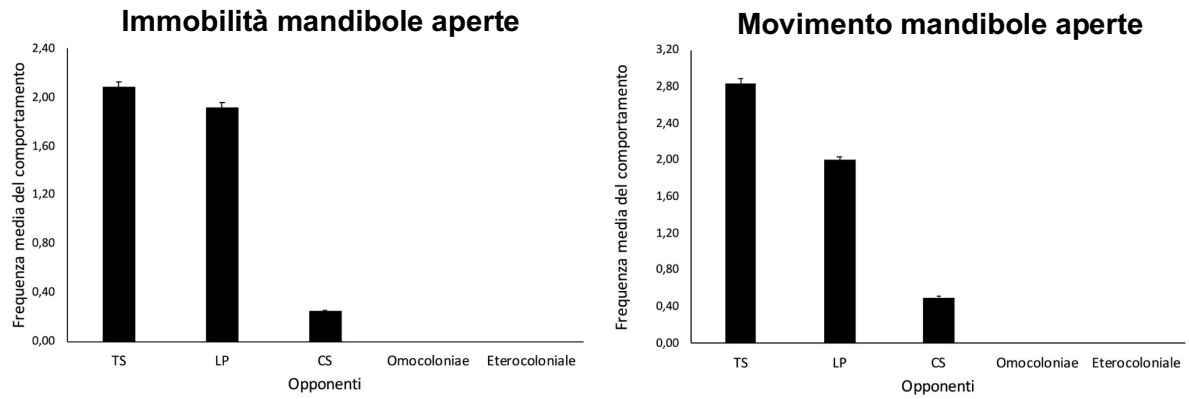


Fig.66 Media (+ ES) delle frequenze dei comportamenti per la categoria “**comportamenti di minaccia**” attuati da *T. immigrans* negli scontri 1 contro 1, suddivisi in omocoloniali, eterocoloniali intraspecifici e contro le tre specie oppONENTI.

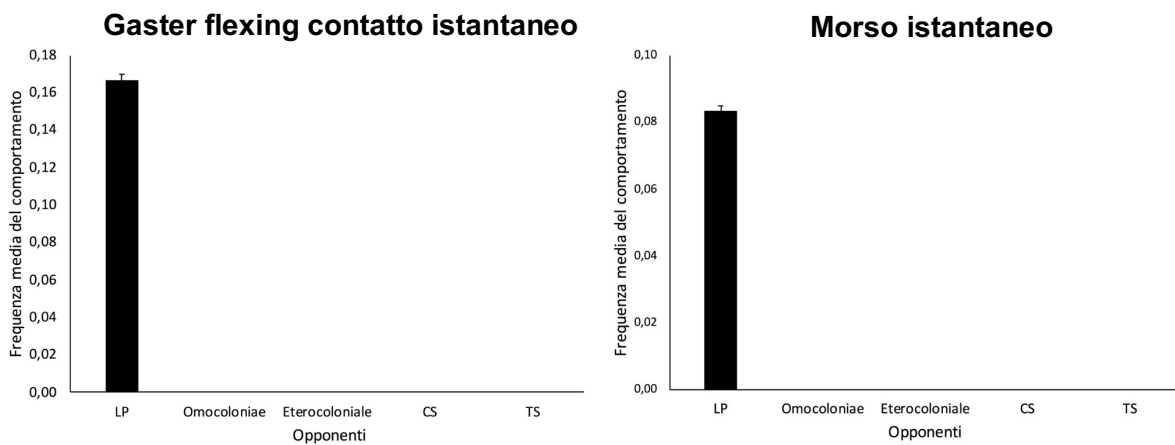


Fig.67 Media (+ ES) delle frequenze dei comportamenti per la categoria “**Comportamenti di aggressione aperta istantanei**” attuati da *T. immigrans* negli scontri 1 contro 1, suddivisi in omocoloniali, eterocoloniali intraspecifici e contro le tre specie oppONENTI.

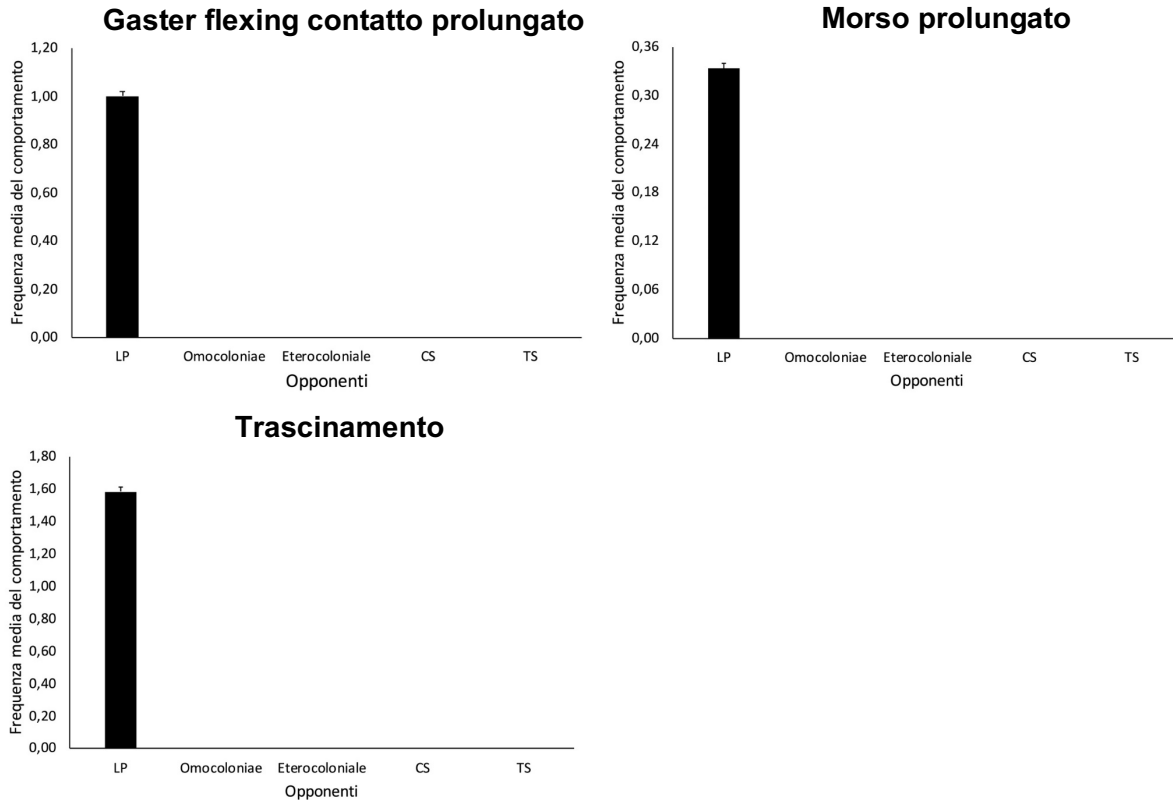


Fig.68 Media (+ ES) delle frequenze dei comportamenti per la categoria “**Comportamenti di aggressione aperta prolungati**” attuati da *T. immigrans* negli scontri 1 contro 1, suddivisi in omocoloniali, eterocoloniali intraspecifici e contro le tre specie oppONENTI.

Osservando i grafici è possibile notare come *T. immigrans* abbia espresso in misura maggiore e **per tutte le oppONENTI** i comportamenti presenti nella categoria “**Comportamenti non aggressivi**”. Il comportamento di Evitamento è l’unico a fare eccezione ed è stato espresso solo per le specie *C. scutellaris* e *L. paralienus*. Per la categoria “**Comportamenti di minaccia**”, tali comportamenti sono stati espressi da *T. immigrans* **solo negli scontri interspecifici**. Per la categoria “**Comportamenti di aggressione aperta istantanei**” e “**Comportamenti di aggressione aperta prolungati**”, *T. immigrans* ha espresso tali comportamenti **solo contro *L. paralienus***.

Di seguito, invece, i grafici che illustrano le frequenze medie dei comportamenti espressi dalla specie oppONENTE (**Fig.69; 70; 71; 72**).

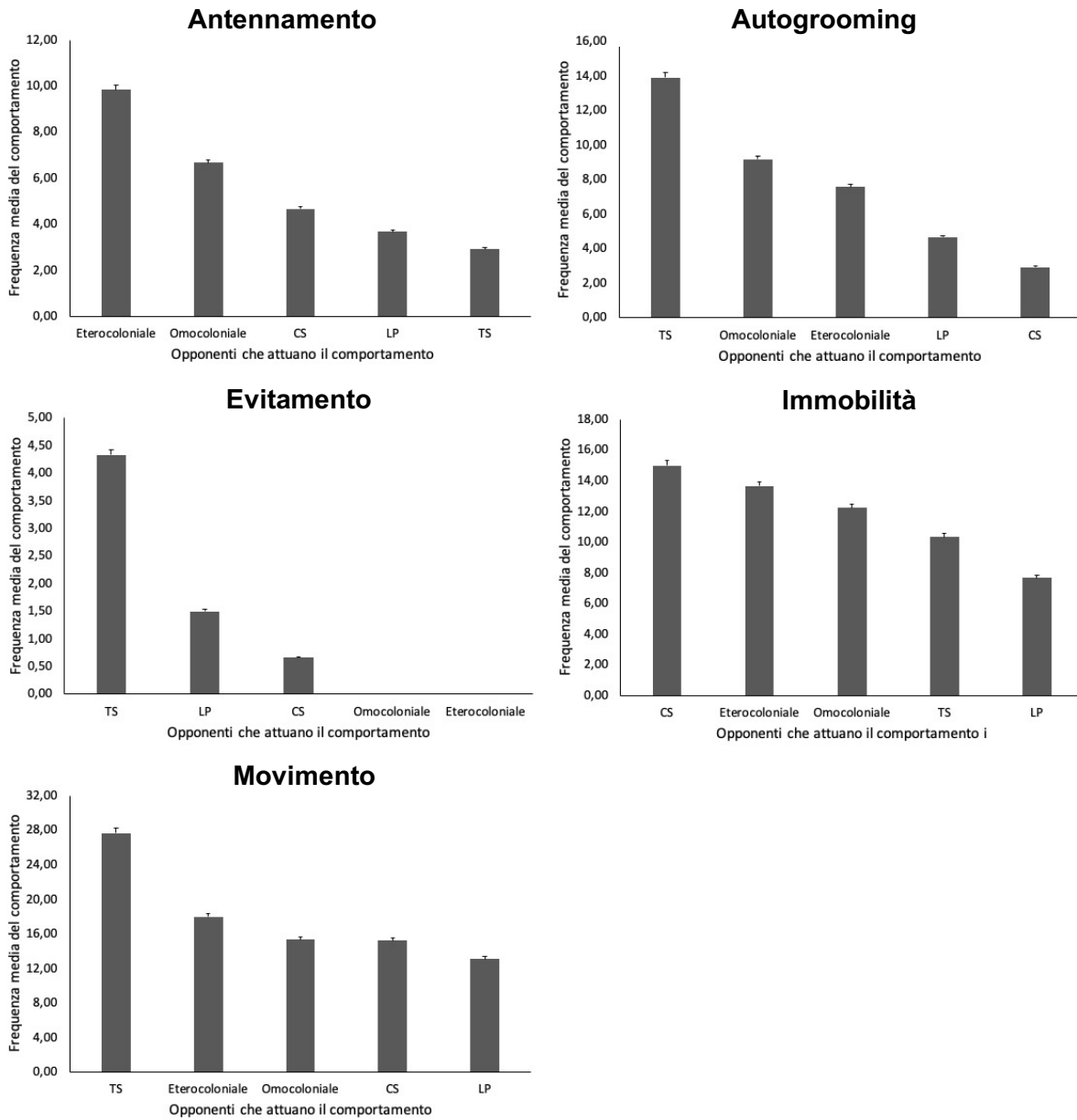


Fig.69 Media (+ ES) delle frequenze dei comportamenti per la categoria “**Comportamenti non aggressivi**” svolti dalle 5 opponenti (omocoloniali, eterocoloniali intraspecifiche e le tre specie opponenti) negli scontri 1 contro 1 contro *T. immigrans*.

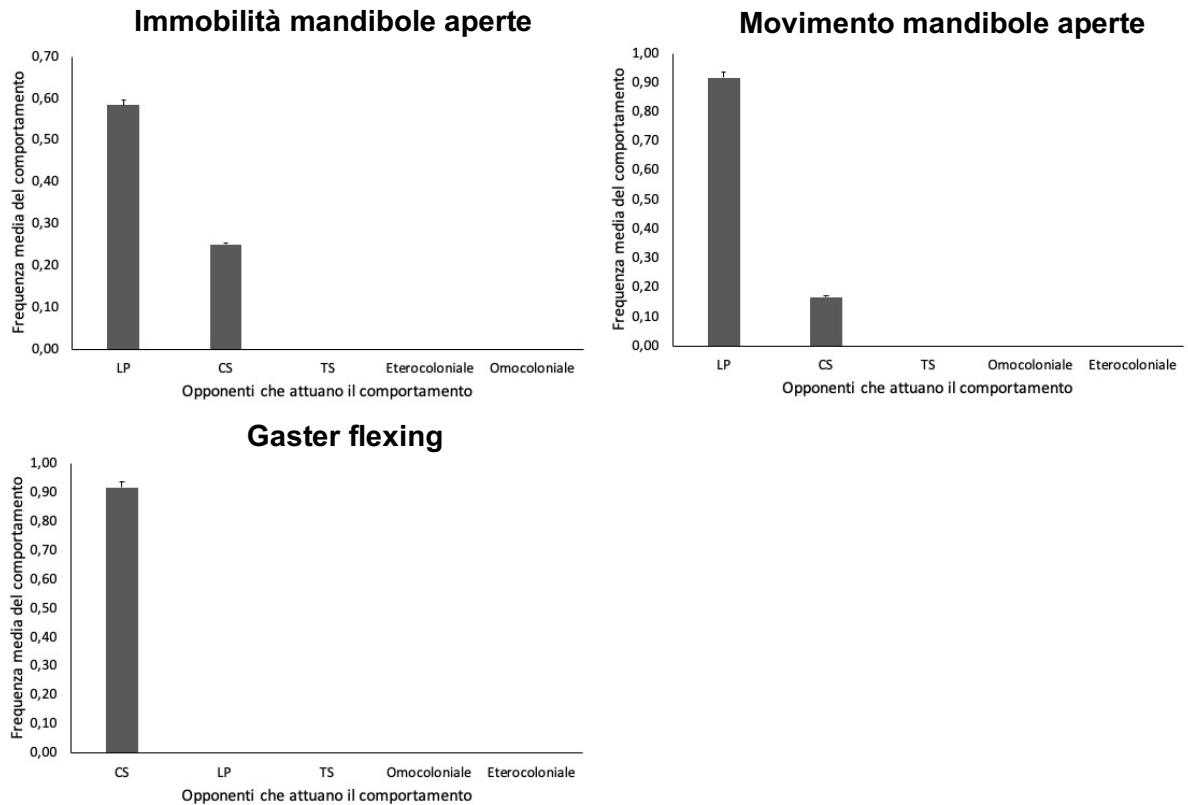


Fig.70 Media (+ ES) delle frequenze dei comportamenti per la categoria “**Comportamenti di minaccia**” svolti dalle 5 oppoventi (omocoloniali, eterocoloniali intraspecifiche e le tre specie oppoventi) negli scontri 1 contro 1 contro *T. immigrans*.

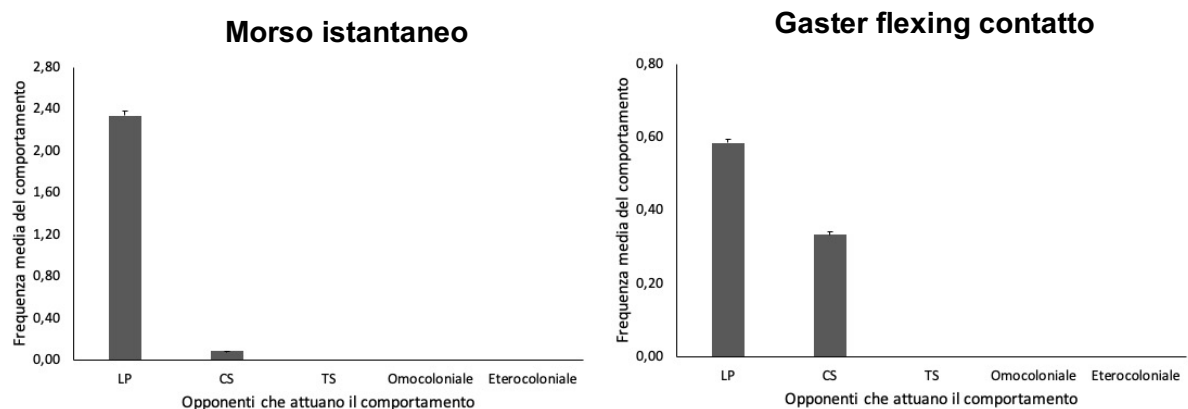


Fig.71 Media (+ ES) delle frequenze dei comportamenti per la categoria “**Comportamenti di aggressione aperta istantanei**” svolti dalle 5 oppoventi (omocoloniali, eterocoloniali intraspecifiche e le tre specie oppoventi) negli scontri 1 contro 1 contro *T. immigrans*.

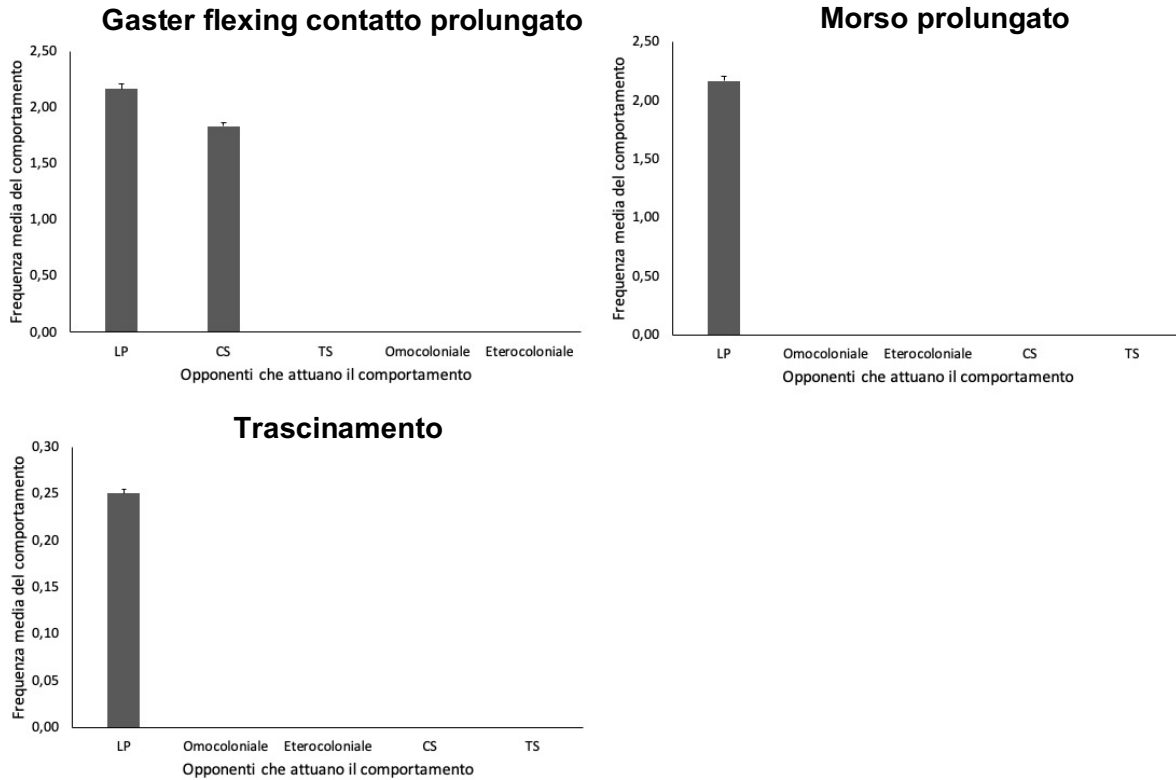


Fig.72 Media (+ ES) delle frequenze dei comportamenti per la categoria “**Comportamenti di aggressione aperta prolungati**” svolti dalle 5 opponenti (omocoloniali, eterocoloniali intraspecifiche e le tre specie opponenti) negli scontri 1 contro 1 contro *T. immigrans*.

Osservando i grafici è possibile notare come, per la categoria “**Comportamenti non aggressivi**”, questi ultimi siano stati eseguiti da tutte le opponenti, eccezion fatta per il Trascinamento, il quale non è stato eseguito dalle operaie dei trattamenti eterocoloniale e omocoloniale. Per i comportamenti della categoria “**Comportamenti di minaccia**”, solo due specie li hanno eseguiti, ovvero *C. scutellaris* e *L. paralienus*, seppur in modo differente. Infatti, *C. scutellaris* è stata l’unica specie ad aver minacciato *T. immigrans* mediante il *Gaster flexing*, mentre ha eseguito in misura minore rispetto a *L. paralienus* i comportamenti di Immobilità e Movimento con le mandibole aperte. Anche per i “**Comportamenti di aggressione aperta istantanei**”, *C. scutellaris* e *L. paralienus* sono state le uniche a effettuarli rispetto tutte le altre opponenti e dove, la specie *L. paralienus* è stata quella che li ha espressi in misura maggiore rispetto *C. scutellaris*. Infine, per la categoria “**Comportamenti di aggressione aperta prolungati**”, ancora una volta, le uniche due specie ad aver eseguito questi comportamenti sono state *C. scutellaris* e *L. paralienus*. In questo caso, però, *L. paralienus* ha eseguito in misura maggiore, rispetto a *C. scutellaris*, il comportamento di *Gaster flexing* a contatto prolungato, mentre è stata l’unica ad aver eseguito i comportamenti di Morso prolungato e Trascinamento.

Sono stati presi in esame quattro comportamenti appartenenti alla categoria “Comportamenti non aggressivi” (Antennamento; Autogrooming; Immobilità; Movimento). Sono stati scelti solo questi quattro comportamenti in quanto sono stati gli unici per i quali sono state registrate, per tutti 5 i trattamenti, sufficienti frequenze per permetterne l’analisi. L’analisi della devianza svolta sul modello GLM è risultata **significativa** per i comportamenti di **Antennamento** ($F_{(4,55)} = 23,17, p < 0,001$), **Autogrooming** ($F_{(4,55)} = 5,70, p < 0,001$) e **Movimento**, ($F_{(4,55)} = 3,99, p < 0,01$), mentre non è risultata significativa per il comportamento d’Immobilità. In seguito, per i risultati significativi è stato eseguito il test di Tukey con il quale è stato possibile osservare per quale specie opponente i comportamenti espressi da *T. immigrans* si sono differenziati. Per quanto riguarda l’Antennamento (**Fig.73**), si osserva la presenza di più gruppi, dove, in linea generale, nessuno si è nettamente distinto dagli altri. Si può osservare come *T. immigrans* abbia eseguito questo comportamento in misura maggiore con le operaie dei trattamenti eterocoloniale e omocoloniale, mentre con le altre opponenti vi è stata una progressiva decrescita nell’espressione di questo comportamento. Per l’Autogrooming (**Fig.74**), si può osservare la presenza di tre gruppi: anche in questo caso, *T. immigrans* ha eseguito di più il comportamento di Autogrooming in presenza di operaie dei trattamenti eterocoloniale e omocoloniale. Con *T. subboreale*, invece, ha svolto questo comportamento in modo intermedio, ovvero, di meno rispetto i trattamenti eterocoloniale e omocoloniale, ma in misura lievemente maggiore rispetto a *C. scutellaris* e *L. paralienus*. Infine, anche per il Movimento (**Fig.75**), si hanno tre gruppi, anche se questo comportamento è stato maggiormente espresso da *T. immigrans* negli esperimenti svolti contro *C. scutellaris*.

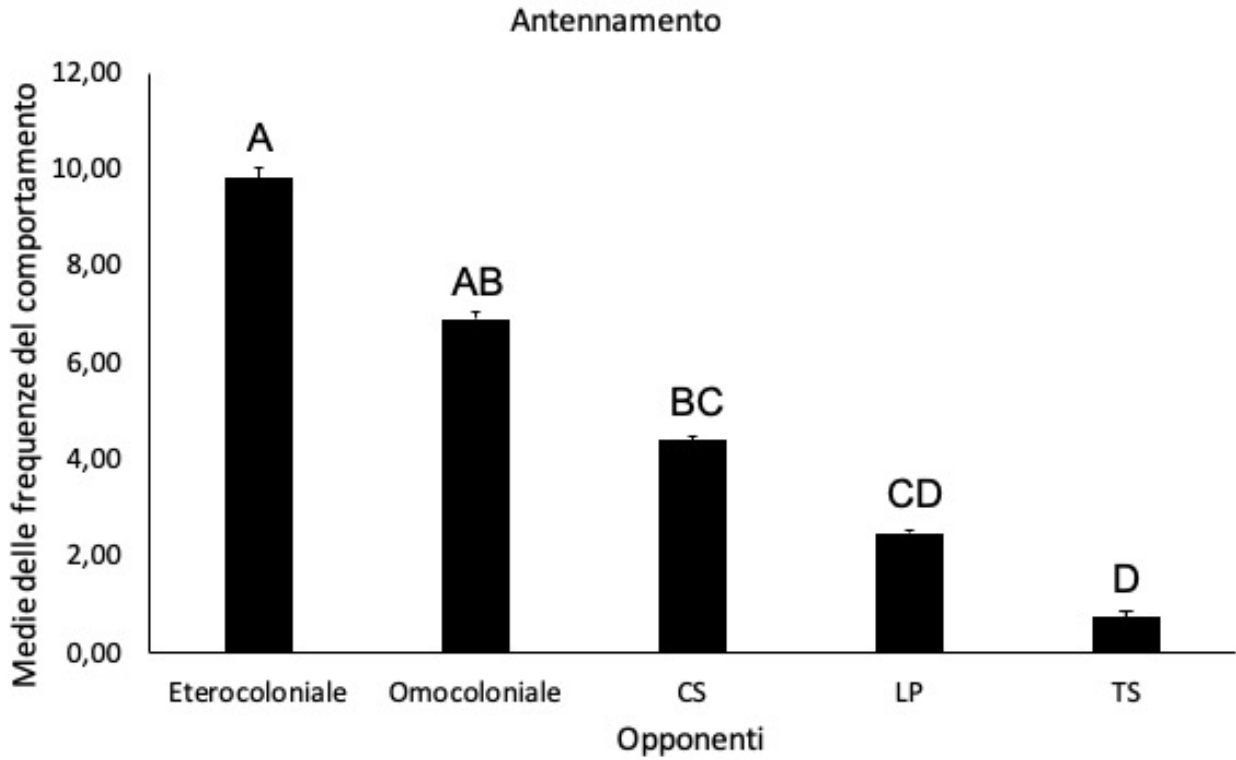


Fig.73 Media (+ ES) delle frequenze del comportamento di Antennamento attuato da *T. immigrans* negli scontri 1 contro 1, suddivisi in omocoloniali, eterocoloniali intraspecifici e contro le tre specie oppONENTI. Le lettere su ogni istogramma individuano gruppi che differiscono significativamente (Tukey; $p < 0,001$).

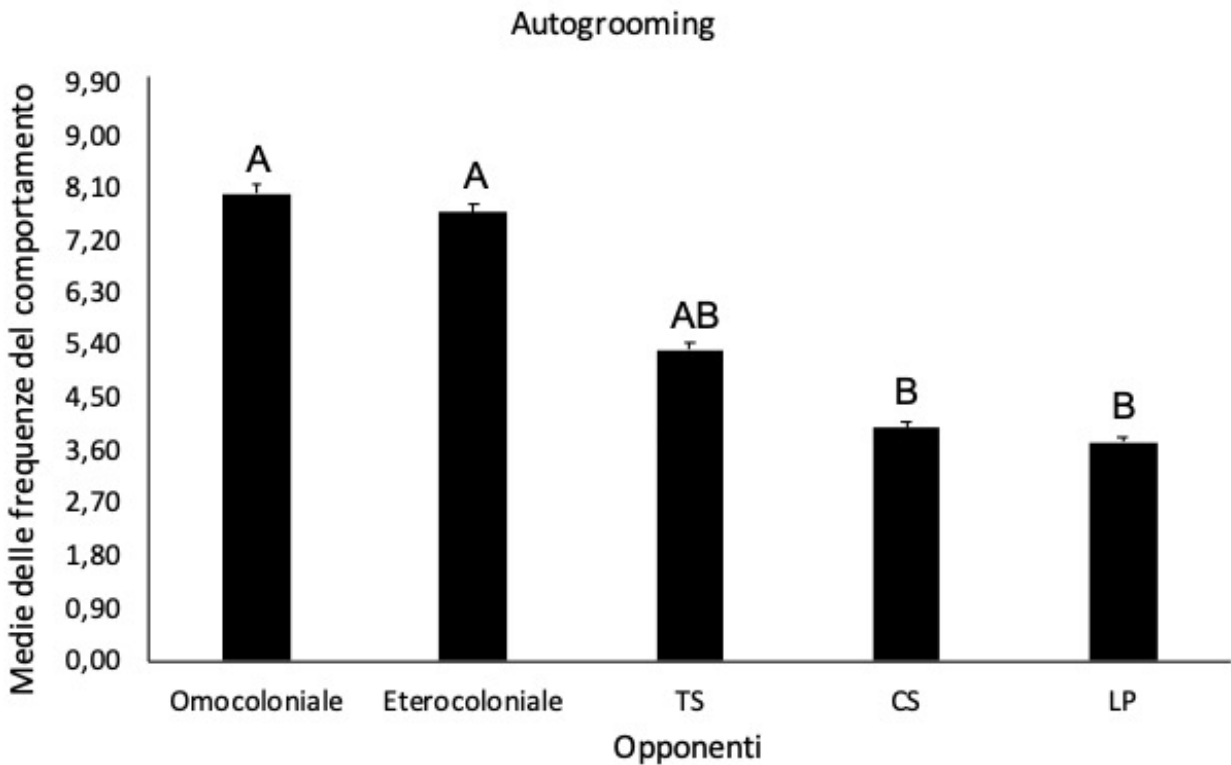


Fig.74 Media (+ ES) delle frequenze del comportamento di Autogrooming svolto da *T. immigrans* negli scontri 1 contro 1 suddivisi in omocoloniali, eterocoloniali e contro tre specie oppONENTI. Le lettere su ogni istogramma individuano gruppi che differiscono significativamente (Tukey; $p < 0,001$).

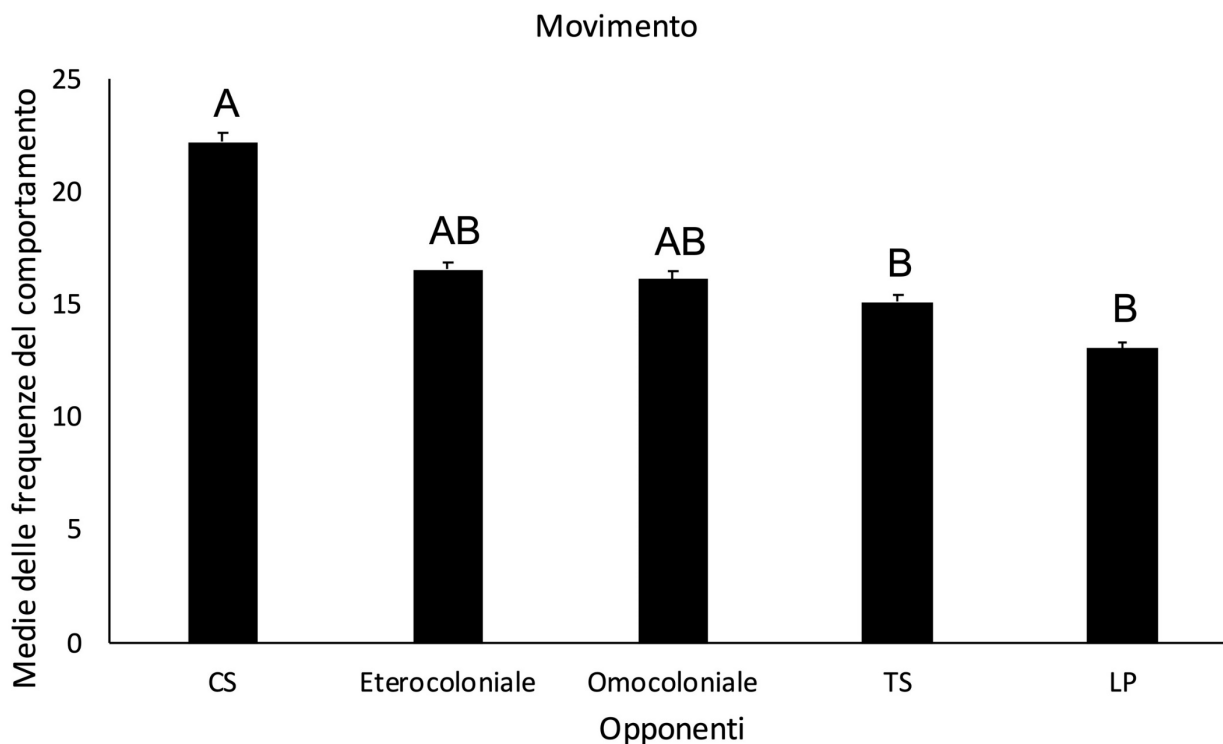


Fig.75 Media (+ ES) delle frequenze del comportamento di Movimento svolto da *T. immigrans* negli scontri 1 contro 1 suddivisi in omocoloniali, eterocoloniali e contro tre specie opponenti. Le lettere su ogni istogramma individuano gruppi che differiscono significativamente (Tukey; $p < 0,001$).

Utilizzando gli **indici di aggressività** calcolati per *T. immigrans* è stato eseguito il Kruskal-Wallis, il quale è risultato **significativo** ($\chi^2 = 26.167$, $df = 4$, $p < 0,001$), evidenziando una **differenza in funzione della opponente**. In seguito, con una *pairwise-comparision* sono state confrontate le 5 opponenti.

Parwise comparision				
	<i>C.scutellaris</i>	Eterocoloniale	<i>L. paralienus</i>	Omocoloniale
Eterocoloniale	0,05	-	-	-
<i>L. paralienus</i>	0,01	0.001	-	-
Omocoloniale	0,05	-	0,001	-
<i>T. subboreale</i>	0,26	0,01	0,05	0,01

Tab.23 Risultati del *pairwise* con il quale sono state confrontate le differenze tra le specie opponenti ($p < 0,05$ *; $p < 0,01$ **; $p < 0,001$ ***).

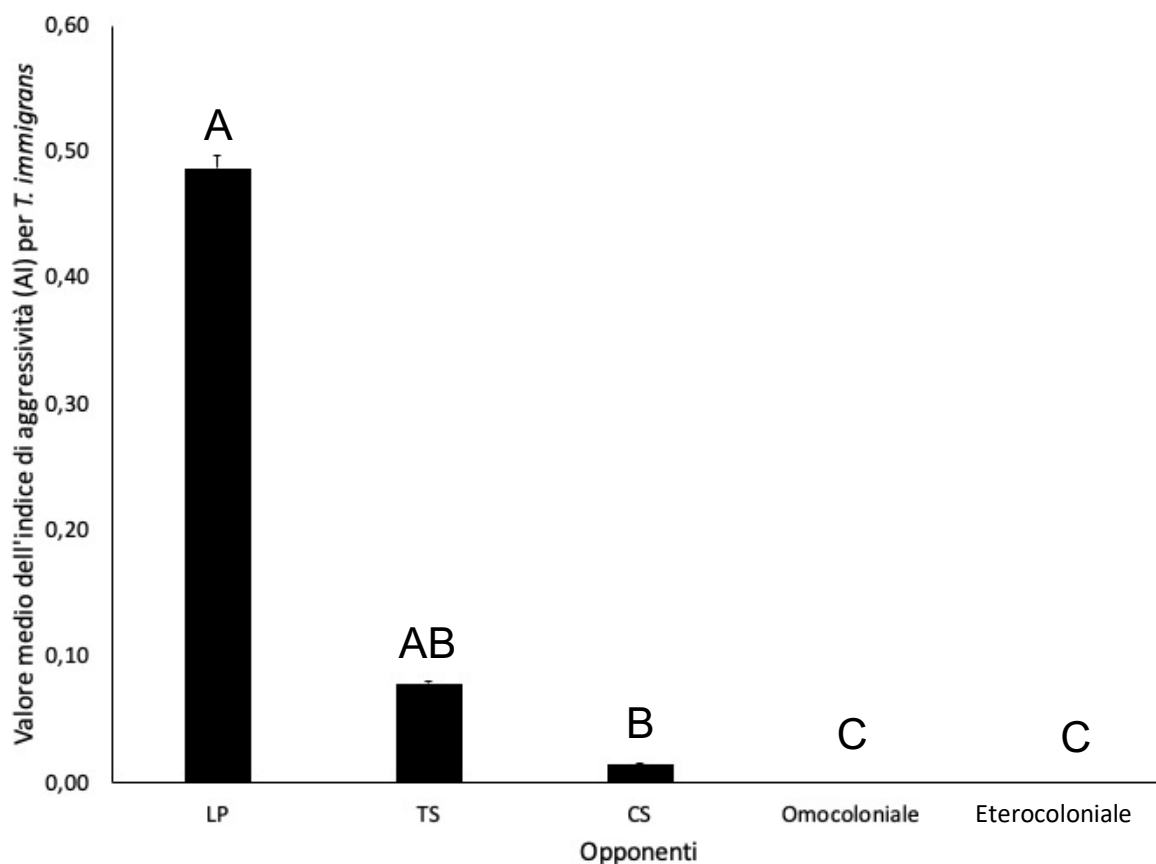


Fig.76 Media (+ ES) degli indici di aggressività di *T. immigrans* calcolati per gli scontri 1 contro 1 suddivisi per le 5 oppONENTI.

Osservando i grafici dell'analisi svolta con gli indici di aggressività (AI) (**Fig. 76**) è possibile notare come *T. immigrans* abbia avuto **i più alti valori di indice contro la specie *L. paralienus***, mentre con la specie *T. subboreale* abbia avuto valori intermedi tra *L. paralienus* e *C. scutellaris*. Con le operaie dei trattamenti eterocoloniale e omocoloniale, invece, *T. immigrans* nei confronti 1 contro 1 non ha eseguito nessun comportamento appartenenti alle categorie “Minaccia” e “Aggressione aperta istantaneo o prolungata” e, di conseguenza, non è stato possibile calcolare un indice di aggressività diverso da zero (in quanto i comportamenti della categoria “Non aggressivi” sono stati inseriti nella formula dell'indice ma moltiplicati per 0).

5.5 Discussione

Tra i fattori che modellano la struttura di comunità delle formiche troviamo la competizione, definita come “*the hallmark of ant ecology*” da Hölldobler e Wilson (1990) ed è considerata un importante meccanismo in grado non solo di regolare la distribuzione delle specie, ma anche il loro processo evolutivo (Lach *et al.*, 2010; Parr & Gibb, 2010). In generale, la competizione si esplica come un’interazione negativa tra individui che competono per una risorsa condivisa e limitata (ad es. territorio, nido, fonti alimentari), culminando, in casi estremi, in comportamenti aggressivi (Fellers, 1987; Savolainen & Vepsäläinen, 1988; Savolainen *et al.*, 1989; Parr & Gibb, 2010). Proprio nell’ambito dello studio della competizione sono state formulate diverse teorie per spiegare la compresenza di specie di formiche differenti nello stesso *habitat*, come il *dominance-discovery trade-off* e le gerarchie di dominanza (Fellers, 1987; Kneitel & Chase, 2004; Parr & Gibb, 2010; Wiescher *et al.*, 2011; Segev & Ziv, 2012; Bertelsmeier *et al.*, 2015). Parlando specificatamente delle gerarchie di dominanza, in generale, non è mai stato semplice definire in modo univoco il concetto di dominanza, in quanto fortemente legato allo specifico caso di studio oggetto dell’indagine (Lach *et al.*, 2010; Parr & Gibb, 2010; Cerdá *et al.*, 2013). Pertanto, nell’ottica di definire i meccanismi alla base dei fattori che regolano la struttura di comunità e comprendere come le differenti specie di formiche dominano sulle altre specie simpatriche, la dominanza è stata spesso studiata esaminandone due componenti (Lach *et al.*, 2010; Parr & Gibb, 2010): la dominanza numerica (Buczowski & Bennett, 2008; Resasco *et al.*, 2014; Achury *et al.*, 2020; Law & Parr, 2020) e la dominanza comportamentale (Andersen, 1992; Cerdá *et al.*, 1997; Davidson 1998; Fellers, 1987; Bestelmeyer, 2000a).

Nello studio condotto nella stagione estiva del 2019 nelle aree verdi urbane di Parma non è stato possibile indagare in modo esaustivo il ruolo della dominanza comportamentale per la specie *T. immigrans*. Infatti, tutte le interazioni interspecifiche osservate alle *bait* sono avvenute in scontri non bilanciati, in quanto questi ultimi si sono verificati in modo casuale. Dunque, con lo scopo di comprendere l’effettivo ruolo della dominanza comportamentale e del comportamento aggressivo per la specie *T. immigrans*, nel contesto della competizione per le risorse alimentari, sono stati svolti esperimenti in laboratorio mediante confronti bilanciati. Gli ambiti di studio individuati, ovvero **esperimenti di competizione alimentare** e **esperimenti di aggressività**, hanno permesso di valutare sia la capacità di monopolizzazione di *T. immigrans* e sia i suoi livelli di aggressività. Le opponenti sono state scelte tra quelle specie

simpatriche a *T. immigrans* e che, pertanto, si pongono come sue potenziali competitori. In aggiunta, le tre specie sono state scelte anche perché presentanti livelli di aggressività differenti, i quali avrebbero potuto sollecitare una diversa risposta aggressiva in *T. immigrans*. La specie *C. scutellaris*, per esempio, è riconosciuta come una aggressiva e dominante all'interno delle comunità mediterranee (Cammel *et al.*, 1996; Way *et al.*, 1997; Shatz & McKey, 2003; Santini *et al.*, 2007; 2011; Richard *et al.*, 2011; Frizzi *et al.*, 2009; 2014; 2015); *L. paralienus*, invece, è considerata sub-dominante, ovvero territoriale ma con un comportamento aggressivo che si manifesta solo quando deve difendere od ottenere una risorsa (Arnan *et al.*, 2011; Cerdà *et al.*, 2013); mentre per *T. subboreale* non vi sono studi riguardanti il suo comportamento aggressivo, ma questo genere comprende specie schive e tendenti alla fuga quando minacciate (Smith, 1928; Wilson, 1971; Meudec & Lenoir, 1982).

Negli **esperimenti di competizione alimentare** è stato verificato se, a parità di operaie per frammento coloniale, eliminando la dominanza numerica, *T. immigrans* potesse riuscire a competere efficacemente per la risorsa alimentare monopolizzandola e, è stato esaminato se questa sua abilità potesse essere influenzata dalla specie opponente. Per prima cosa, è stata verificata l'abilità di scoperta di *T. immigrans* e se quest'ultima potesse scoprire per prima più trappole rispetto alle altre specie. I risultati hanno mostrato che nessuna specie è stata la più abile nello scoprire per prima l'esca alimentare. Questo risultato è in linea con quanto ci si poteva attendere, in quanto, proprio in virtù della conformazione dell'apparato sperimentale, tutte le specie sono state poste a pari condizioni di scoperta della risorsa alimentare. Per l'abilità di **monopolizzazione di *T. immigrans***, è emerso che quest'ultima sia stata **influenzata dalla presenza della specie opponente**. Infatti, è stato osservato che, **contro le specie *L. paralienus* e *T. subboreale*, *T. immigrans* sia stata molto abile** nel monopolizzare la risorsa alimentare, anche a parità di operaie presenti. Al contrario, quando posta **contro *C. scutellaris***, *T. immigrans* **non è stata così abile** come per le due specie precedenti. Infatti, contro *C. scutellaris* è riuscita a monopolizzare solo la metà delle esche. **L'influenza della diversa specie avversaria** è stata osservata **anche per il numero di scontri vinti e persi da *T. immigrans*** contro le tre opponenti. In questo caso, *T. immigrans* è riuscita a vincere la totalità degli scontri contro *T. subboreale*, la metà contro *L. paralienus* e, come per la monopolizzazione, la specie ***C. scutellaris*** si è rivelata essere quella che l'ha **messa più in difficoltà**, in quanto contro di essa ha perso la maggior parte degli scontri. In seguito, sempre nell'ottica di indagare l'effetto della specie opponente sull'abilità di monopolizzazione di *T. immigrans*, è stato adottato un approccio differente, il quale non ha più considerato

direttamente l'abilità di monopolizzazione, bensì, ha esaminato come potesse variare nel tempo la **distribuzione delle operaie** di questa specie all'interno dell'apparato sperimentale. **I risultati ottenuti sono stati in linea con quanto osservato in precedenza.** Infatti, prendendo in considerazione prima i risultati ottenuti per *L. paralienus*, si può osservare come le operaie di *T. immigrans* sono uscite, nel corso del tempo, in modo massiccio dal proprio nido per distribuirsi nell'arena centrale e nel nido dell'avversaria. Pertanto, è probabile che la grande distribuzione di *T. immigrans* all'interno dell'apparato sperimentale abbia a sua volta influenzato la distribuzione di *L. paralienus*, la quale, distribuendosi in modo minore, ha avuto limitate *chance* di poter monopolizzare la *bait*. Anche contro *T. subboreale*, le operaie di *T. immigrans* hanno esplorato l'intero apparato sperimentale, ma in misura minore rispetto l'avversaria precedente, riuscendo comunque a monopolizzare la totalità delle esche alimentari. Infine, anche contro *C. scutellaris*, i risultati di *T. immigrans* sono stati in accordo con quanto visto in precedenza. In questo caso, a differenza delle altre due specie, le operaie di *T. immigrans* sono uscite molto poco dal nido per esplorare il resto dell'apparato e questo ha influenzato il numero di esche alimentari monopolizzate. Dunque, in linea generale, si può osservare che, anche tolto il vantaggio numerico, *T. immigrans* sia riuscita ugualmente a monopolizzare con successo la risorsa alimentare contro le specie *L. paralienus* e *T. subboreale* e come queste ultime due non abbiano attuato strategie di interferenza atte a limitarne l'efficace azione competitiva. Questi risultati potrebbero indicare anche che, come avviene in natura, *T. immigrans* attua un reclutamento di massa, che le conferisce un vantaggio sulle altre specie. In generale, grazie a questo tipo di reclutamento le formiche possono richiamare un numero elevato di operaie nel giro di poco tempo, impedendo, di conseguenza, l'avvicinamento alla risorsa alimentare alle altre specie competitive (Lachaud, 1985; Beckers *et al.*, 1989; Bonabeau *et al.*, 1998). È dunque probabile che sia nel caso di *L. paralienus* e *T. subboreale*, la tempestiva azione di reclutamento attuata da *T. immigrans* abbia impedito il foraggiamento e la monopolizzazione della risorsa alimentare a queste due specie. Al contrario, solo negli esperimenti contro *C. scutellaris*, *T. immigrans* ha avuto una limitata capacità di monopolizzazione, probabilmente dovuta al fatto che *C. scutellaris* è una specie dominante con alti livelli di aggressività (Cammel *et al.*, 1996; Way *et al.*, 1997; Shatz & McKey, 2003; Santini *et al.*, 2007; 2011; Richard *et al.*, 2011; Frizzi *et al.*, 2009; 2014; 2015). È pertanto probabile che, *T. immigrans*, se posta, contro una specie dominante come *C. scutellaris*, perda la competizione per le risorse quando manca la prevalenza numerica.

In seguito, grazie agli **esperimenti di aggressività** è stato definito l'etogramma mediante il quale è stata descritta la risposta di *T. immigrans* negli scontri 1 contro 1. Generalmente,

l'etogramma è utilizzato negli studi di mirmecologia col fine di generare una conoscenza più profonda e completa del comportamento sociale, chiarendo anche aspetti riguardanti l'ecologia della specie in esame (Santos *et al.*, 2005), indagando gli animali sia a livello di singola specie e sia come parte della comunità ecologica (Alcock, 1979; Krebs & Davies, 1993; Santos *et al.*, 2005). L'**etogramma di *T. immigrans*** è consistito in una lista di 13 moduli comportamentali suddivisi in 4 categorie sulla base del gradiente di aggressività di questi ultimi. In aggiunta, grazie all'analisi video, è stato possibile osservare i differenti livelli di aggressività espressi da *T. immigrans* nei confronti delle diverse opponenti. In generale, è buona prassi che in studi nei quali sono svolte registrazioni video sia verificata la replicabilità del protocollo mediante il **test di affidabilità inter-osservatore** (Cohen, 1960; Landis & Koch, 1977; Young, 1979; Kvalseth, 1989; Viera *et al.*, 2005; Kaufman & Rosenthal, 2009). Questo test ha mostrato una discreta concordanza, da entrambi gli operatori, per i risultati ottenuti sia dall'analisi svolta per i comportamenti di *T. immigrans* e sia per quelli delle tre opponenti. L'osservazione dell'andamento dei comportamenti espressi da *T. immigrans*, nei confronti delle 5 opponenti, ha permesso di verificare se vi fossero delle differenze in funzione della specie avversaria. In generale, sono stati osservati **pochi comportamenti aggressivi eseguiti da *T. immigrans***, soprattutto nei confronti di *C. scutellaris*. Una probabile spiegazione per questo risultato potrebbe essere ricercata nel modo con il quale *C. scutellaris* ha attaccato *T. immigrans*, ovvero con *gaster flexing* a contatto, sia istantaneo che prolungato, tramite i quali, però, *T. immigrans* non è mai stata trattenuta dall'avversaria. Pertanto, è probabile che una volta subito l'attacco, *T. immigrans* abbia cercato di fuggire al posto di contrattaccare. Non a caso, è possibile osservare come con *C. scutellaris*, *T. immigrans* abbia espresso in misura maggiore il comportamento di Evitamento, probabilmente per cercare di limitare ulteriori contatti con l'avversaria. Anche con le operaie del trattamento eterocoloniale, *T. immigrans* non ha mai effettuato alcun comportamento aggressivo. Pertanto, questi risultati non sono stati in linea con le attese. Al contrario, in linea con quanto si poteva attendere sono stati i risultati per le opponenti omocoloniale, *T. subboreale* e *L. paralienus*. Con il trattamento omocoloniale non era attesa alcuna risposta aggressiva, in quanto quest'ultimo è stato utilizzato come controllo. Con *T. subboreale*, invece, sono stati in prevalenza espressi comportamenti non aggressivi e di minaccia. **Contro *L. paralienus*, *T. immigrans* ha espresso sia comportamenti di minaccia e sia comportamenti di aggressione aperta**. In questo caso, è possibile osservare come il comportamento aggressivo di *T. immigrans* sia stato una **risposta al comportamento aggressivo tenuto da *L. paralienus***. Dunque, i risultati hanno evidenziato che *T. immigrans* non si dimostra particolarmente aggressiva, ma che **modula la propria risposta**

comportamentale aggressiva in funzione del comportamento tenuto dall'avversaria. L'influenza delle diverse opponenti è stata valutata anche osservando, in modo separato, i comportamenti non aggressivi, per i quali sono stati registrati i dati per tutte e 5 le opponenti. Per l'**Antennamento**, sono state registrate alte frequenze per i trattamenti omocoloniale ed eterocoloniale. Per il primo trattamento, l'alta frequenza nell'antennare una compagna di nido per riconoscerla come tale è giustificata dal fatto che si tratta di un'azione che le formiche eseguono comunemente (Holldobler, 1985; Mori *et al.*, 1994; Holzer *et al.*, 2006). I risultati ottenuti per il trattamento eterocoloniale, i quali non sono in linea con l'atteso, possono essere spiegati prendendo in prestito l'ipotesi che imputa alle ridotte variazioni dell'odore coloniale, di colonie diverse ma della stessa specie, una prolungata investigazione attuata con l'antennamento. Inoltre, è stato ipotizzato che questa investigazione possa anche prevenire eventuali conflitti che danneggerebbero la colonia stessa (Holzer *et al.*, 2006). Per quanto riguarda la risposta tenuta con le tre opponenti interspecifiche, si osservano bassissime frequenze per la specie *T. subboreale*. Probabilmente, questo risultato può essere spiegato dal fatto che si tratta di una specie molto schiva che ha sempre evitato *T. immigrans* quando ne percepiva la presenza. I risultati ottenuti per i *C. scutellaris* e *L. paralienus*, invece, sembrano seguire un gradiente in accordo con l'aggressività espressa dalle due opponenti. Infatti, la bassa frequenza con la quale *T. immigrans* ha espresso questo comportamento per *C. scutellaris* e *L. paralienus* sembra essere inversamente proporzionale all'aggressività di queste due specie. Per l'**Autogrooming**, *T. immigrans* ha espresso alte frequenze per questo comportamento con i trattamenti eterocoloniale, omocoloniale e *T. subboreale*. Al contrario, le specie *C. scutellaris* e *L. paralienus* sono distinte da una bassa frequenza con il quale questo comportamento è stato effettuato da *T. immigrans*. Di norma, l'attività di *autogrooming* è eseguita dalle formiche per pulirsi antenne, arti, gastro e in generale la cuticola, da eventuali detriti, patogeni o sostanze repellenti spazzate da altre formiche (Bos *et al.*, 2019). Dai dati osservati in questo caso, sembra che *T. immigrans* abbia espresso in misura maggiore l'Autogrooming quando presenti specie meno aggressive. Non sono presenti studi che possano spiegare questi risultati, pertanto, ulteriori investigazioni sono necessarie al fine di confermare o smentire questa ipotesi. Per il **Movimento**, *T. immigrans* ha tenuto un'elevata frequenza quando posta contro *C. scutellaris*. In questo caso, questo risultato potrebbe riflettere l'alta frequenza per il comportamento di evitamento che *T. immigrans* ha tenuto sempre nei confronti di questa specie. Mentre per le altre specie opponenti, *T. immigrans* ha in generale espresso questo comportamento in modo simile. Per l'Immobilità, invece, non sono emersi risultati indicanti una differenza nell'espressione di questo comportamento tra le diverse specie opponenti. Successivamente,

sono stati calcolati gli **indici di aggressività** per *T. immigrans*. È necessario tenere in considerazione che, quando si utilizzano degli indici, questi ultimi, essendo delle proporzioni, potrebbero portare a un'uniformità dei risultati ottenuti, abbassando o eliminando le differenze tra i diversi trattamenti. Questo potrebbe a sua volta restituire un'immagine diversa da quella reale, soprattutto per quelle situazioni dove non sono state espresse forti variazioni. Dunque, quando si decide di utilizzare degli indici, sarebbe buona prassi affiancare questo tipo di analisi con altre analisi che invece prendono in considerazione il dato sperimentale non trasformato. Al contrario, il vantaggio di utilizzare degli indici è quello di poter considerare in un'unica analisi diversi risultati ottenuti da trattamenti differenti. Così facendo, si ottiene una panoramica generale della situazione oggetto di studio. Per il calcolo degli indici di aggressività è stata seguita la letteratura in materia (Errard & Hefetz, 1997; D'Ettoire & Heinze, 2005; Dreier *et al.*, 2007; Tamarri *et al.*, 2009) ma adattando la formula alle finalità sperimentali, come la suddivisione dei comportamenti in 4 categorie. Prima di questa suddivisione, è stata però svolta una prova dividendo i comportamenti in 5 categorie. La quinta categoria ha racchiuso i comportamenti prolungati con durata superiore ai 10 secondi. Questa operazione è stata eseguita per evidenziare ulteriori differenze nel comportamento aggressivo espresso da *T. immigrans*. Purtroppo, non vi sono stati sufficienti comportamenti aggressivi prolungati con durata superiore ai 10 secondi (5 casi su 60 repliche sperimentali) da giustificare la presenza di una quinta categoria. Per questo motivo, si è proceduto mantenendo solo 4 categorie. Anche per la scelta dei punteggi di moltiplicazione sono state svolte delle prove. Dapprima, è stato assegnato un punteggio da 1 a 4 con il quale sono state moltiplicate le frequenze dei comportamenti (“Comportamenti non aggressivi” x 1; “Comportamenti di minaccia” x 2; “Comportamenti di aggressione aperta istantanei” x 3; “Comportamenti di aggressione aperta prolungati” x 4). In seguito, è stato osservato che l'assegnazione di un punteggio pari a 1 ai comportamenti non aggressivi avrebbe fatto pesare troppo il loro contributo all'interno dell'indice, poiché questi comportamenti hanno presentato frequenze molto più elevate rispetto agli altri comportamenti. Questo ha sbilanciato il risultato dell'indice, facendo risultare più elevati gli indici di aggressività per le oppoienti omocoloniali ed eterocoloniali. Pertanto, è stato deciso di assegnare alle categorie comportamentali un punteggio di moltiplicazione da 0 a 3. In questo modo è stato dato peso solamente ai “Comportamenti di minaccia” e ai “Comportamenti di aggressione aperta istantanei” e “prolungati”. Dunque, mediante questa analisi è stato possibile confrontare contemporaneamente i valori degli indici di *T. immigrans* calcolati per le 5 oppoienti. I risultati ottenuti sono stati in accordo con quanto osservato dalle analisi precedenti. In linea generale, ci si attendeva un gradiente nei livelli di aggressività, con

valori maggiori degli indici per le specie *C. scutellaris* e *L. paralienus* e un *trend* calante passando per *T. subboreale*, eterocoloniale e nullo per il trattamento omocoloniale. Non tutti i risultati, però, sono stati in linea con l'atteso. I risultati ottenuti hanno mostrato alti valori di indice per la specie *L. paralienus* e a calare per le specie *T. subboreale* e *C. scutellaris*, mentre per i trattamenti eterocoloniale omocoloniale gli indici sono risultati uguali a zero. Per *L. paralienus*, un **alto valore dell'indice di aggressività** era atteso ed è stato in accordo con quanto osservato in precedenza. Mentre è stato un risultato inatteso quello che ha mostrato un valore di indice inferiore per *C. scutellaris* rispetto a *T. subboreale*. La probabile spiegazione per questi risultati potrebbe essere data dal fatto che, come evidenziato in precedenza, *T. immigrans* adatta il proprio comportamento aggressivo in funzione del comportamento espresso dalla specie avversaria.

Gli esperimenti svolti in laboratorio hanno evidenziato come, seppur a parità di operaie con le specie opponenti, *T. immigrans* sia riuscita, in generale, a monopolizzare le esche alimentari, suggerendo che, **oltre alla dominanza numerica intervenga anche una strategia di tipo comportamentale**. Pertanto, è possibile che la strategia adottata di *T. immigrans* per la competizione per le risorse unisca sia la dominanza numerica e sia la dominanza comportamentale, rendendola potenzialmente una specie ecologicamente dominante (Lach *et al.*, 2000). Pertanto, ulteriori studi in campo dovranno essere svolti per confermare il ruolo di *T. immigrans* come specie ecologicamente dominante negli ambienti urbani. Per quanto riguarda, invece, i livelli di aggressività espressi da *T. immigrans*, dai risultati ottenuti si evidenzia che questa specie non sia sempre aggressiva, ma che sappia **modulare la propria risposta in funzione dall'aggressività espressa dall'avversaria**, sottolineando una certa plasticità comportamentale. Anche in questo caso, ulteriori studi etologici sulla risposta aggressiva di *T. immigrans* potrebbero essere condotti col fine di ampliare il catalogo di comportamenti descritti per questa specie.

**CAP 6 ~ UTILIZZO DI
STRUMENTI DA PARTE DI
*Tetramorium immigrans***

6.1 INTRODUZIONE

6.1.1 Definizione di uso di strumenti

Storicamente, la capacità di utilizzare strumenti con il fine di ottenere un vantaggio in una particolare condizione è stata esclusivamente attribuita all'uomo (Bird & Emery, 2009; Wimpenny *et al.*, 2009). In seguito, l'uso di strumenti è stato descritto in pochi altri animali, cui sono state, quindi, attribuite abilità cognitive avanzate (van Schaick *et al.*, 1999; Tebbich *et al.*, 2002; Bird & Emery, 2009). Pertanto, per molto tempo, lo studio sull'utilizzo di strumenti si è concentrato su quelle specie abituate a manipolare oggetti, che presentano un cervello grande e che sono strettamente imparentate con gli esseri umani, come i primati (Boire *et al.*, 2002). Oggigiorno, sappiamo che questo comportamento non è una caratteristica peculiare solo dell'uomo e dei primati, ma è presente in diverse classi di vertebrati e in alcuni *phyla* di invertebrati (van Schaik *et al.*, 1999; Bird & Emery, 2009; Bentley-Condit & Smith 2010). Inoltre, diverse ricerche hanno verificato che lo studio sull'uso di strumenti negli animali ha contribuito allo studio dell'evoluzione della cognizione, della neuropsicologia umana, dell'interazione uomo-computer, della robotica e della filosofia della mente (Clark, 2002; Maravita & Iriki, 2004; Amant & Wood, 2005; St. Amant & Horton, 2008).

In generale, però, è sempre stato difficile giungere a una **definizione** univoca di “**uso di strumenti**”. Infatti, nel tempo, diverse definizioni hanno cercato di fornire una spiegazione il più possibile precisa e comprensiva delle cause remote e prossime che conducono gli animali a utilizzare questi mezzi (St. Amant & Horton, 2008). Per esempio, nel 1970, **Van Lawick & Goodall** suggeriscono come definizione: “*Uso di un oggetto esterno come estensione funzionale della bocca o becco, della mano o di un artiglio, per il raggiungimento di un fine immediato*”. Nel 1972, **Alcock**, enuncia che “*L'uso di strumenti coinvolge la manipolazione di un oggetto inanimato, non internamente prodotto, con l'effetto di incrementare l'efficienza dell'animale nell'alterare la forma o la posizione di un altro oggetto separato*”. Successivamente, la definizione fornita da **Beck** (1980) divenne lo standard utilizzato in diverse pubblicazioni: “*L'uso di strumenti consiste nell'impiego di un oggetto presente nell'ambiente esterno e separato dal proprio corpo, col fine di alterare in modo efficiente la forma, la posizione o la condizione di un altro oggetto, di un altro organismo o dell'utilizzatore dell'oggetto, quando, lo stesso utilizzatore tiene o trasporta lo strumento durante o appena prima dell'uso ed è responsabile del corretto orientamento dell'oggetto*”. Nel 2008, **St. Amant**

& Horton propongono una definizione che tenta di riunire le precedenti: “*L’uso di strumenti è l’esercitazione del controllo su un oggetto esterno liberamente manipolabile con lo scopo di alterare le proprietà fisiche di un altro oggetto, sostanza, superficie o medium, mediante un’interazioni meccanica dinamica o mediante il flusso di informazioni tra l’utilizzatore dello strumento e l’ambiente o un altro organismo presente nell’ambiente*”. Tuttavia, per le finalità di questo studio si è deciso di adottare la definizione proposta da **Mainardi** nel **Dizionario di Etologia** (1992) in quanto chiara, facilmente comprensibile e riconducibile al caso di studio indagato in questo ambito di ricerca, ovvero: “*L’uso di strumenti è la capacità di usare elementi del mondo esterno per ottenere un fine immediato altrimenti non raggiungibile*”.

Anche la definizione di cosa può essere considerato uno “strumento” è stata dibattuta (Bentley-Condit & Smith 2010), ma, molti ricercatori, basandosi sulla definizione di Becket (1980), concordano con il fatto che un oggetto possa essere considerato uno strumento solo se non è parte corporea dell'animale e se può essere manipolato dall'animale con lo scopo di ottenere un vantaggio (Hansell & Ruxton, 2008). Inoltre, un’ulteriore questione da risolvere è quella di fare chiarezza su cosa si intende per “intelligenza generale” che una specie possiede e per “motivazioni” che portano la specie stessa a utilizzare degli strumenti, in quanto, l’uso di strumenti potrebbe essere sia l’espressione dell’intelletto della specie sia la causa dello stesso (Chappell & Kacelnik, 2002). Infatti, è noto che molti animali usano e costruiscono strumenti (Wimpenny *et al.*, 2009), che, tuttavia, sono stati definiti dai ricercatori in vari modi e, pertanto, a seconda della definizione adottata varia anche il numero di specie alle quali è riconosciuto questo comportamento (Chappell & Kacelnik, 2002). Generalmente, l’evenienza che un taxon possa utilizzare degli strumenti è considerata come un evento poco frequente e, ancor più rara, è l’eventualità che gli animali riescano a fabbricare degli strumenti, ovvero ad “*apportare delle modifiche sostanziali a un substrato per produrre uno strumento*” (Chappell & Kacelnik, 2002).

Ad oggi, i pochi animali per i quali è stata chiaramente riconosciuta la capacità di alterare materiali per produrre degli strumenti sono due generi di primati, *Pan* e *Pongo* (van Schaik *et al.*, 1999), gli elefanti (*Loxodonta africana* (Blumenbach, 1797), *Elephas maximus* Linnaeus, 1758) (Chevalier-Skolnikoff e Liska 1993; Hart *et al.*, 2001), il fringuello picchio (*Cactospiza pallida* (Sclater & Salvin, 1870)) (Millikan e Bowman 1967; Tebbich *et al.*, 2001) e i corvi della Nuova Caledonia (*Corvus moneduloides* Lesson, 1931) (Chappell & Kacelnik, 2002; Hunt 1996, 2000). In aggiunta, nel tempo è stato anche dibattuto se, l'uso degli strumenti da parte degli animali fosse basato solo su conoscenze pratiche o se poteva intervenire anche una qualche conoscenza di tipo astratto (Manrique *et al.*, 2010). Un esempio di studio in cui i

ricercatori hanno osservato che gli animali erano consapevoli dell'uso degli strumenti e delle situazioni in cui svolgere questi comportamenti è stato fornito da Goodall (1986). In questo studio è stata osservata la capacità discriminativa degli **scimpanzé** nel selezionare gli strumenti sulla base della loro rigidità e di come, a seconda della contingenza nella quale il cibo doveva essere reperito, abbiano usato un *set* di strumenti, comprendente un bastone rigido e uno flessibile, per poter rispettivamente forare il termitaio e, in seguito, catturarne le termiti per nutrirsi (Goodall, 1986; Manrique *et al.*, 2010). Un secondo esempio classico è fornito dai **fringuelli picchio**, i quali utilizzano gli strumenti sulla base della stagionalità. Infatti, nella stagione più umida non usano strumenti per la cattura delle prede, in quanto queste ultime sono disponibili nell'ambiente, mentre, nella stagione secca, si avvalgono più frequentemente di lunghi bastoncini, in quanto le prede sono rintanate in fessure di tronchi e del terreno. I ricercatori hanno affermato che l'uso di strumenti in questi uccelli è un adattamento alle dure condizioni ambientali e alla limitata presenza delle risorse alimentari (Tebbich *et al.*, 2002). Inoltre, gli autori cercano di spiegare le motivazioni alla base dell'uso di strumenti nei fringuelli picchio e, guardando alle definizioni passate, propongono due ipotesi le quali non si escludono a vicenda. La prima ipotesi considera l'impiego di strumenti come una facilitazione per ottenere l'accesso alle risorse, come suggerito da diversi autori (Alcock 1972; Parker & Gibson 1977; Beck 1980) e dunque, l'avvalersi di strumenti compensa la mancanza di adattamenti morfologici a habitat poco ospitali (Alcock 1972; Parker & Gibson 1977; Tebbich *et al.*, 2002). La seconda ipotesi, invece, prende in esame l'impiego di strumenti come miglioramento quantitativo e/o qualitativo della dieta, in quanto gli animali potrebbero avere accesso a risorse alimentari con nutrienti importanti come lipidi, amminoacidi essenziali e vitamine (Nishida & Hiraiwa 1982; Tebbich *et al.*, 2002).

In conclusione, risulta evidente che il riconoscimento dell'uso di strumenti negli animali è tutt'ora un argomento complesso e dibattuto.

In **Fig.77** sono riportati due esempi di uso di strumenti nei vertebrati.

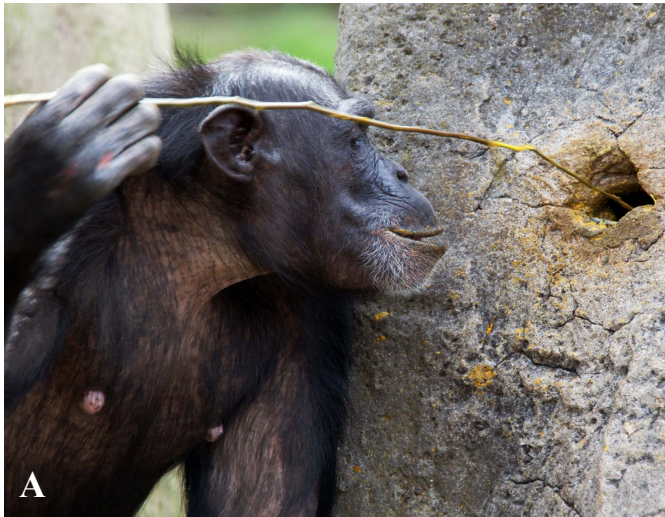


Fig.77 A sinistra (**A**) è mostrato un esemplare di Chimpanzee intento a utilizzare un ramoscello come strumento per estrarre delle termiti (©Mark Higgins/ Britannica.com). A destra (**B**) è mostrato un esemplare di fringuello picchio mentre utilizza un bastoncino per stanare una preda (ebid.org).

6.1.2 Uso di strumenti negli invertebrati

Come detto in precedenza, esistono numerosi casi di studio su manipolazione, modificazione e uso di strumenti nei vertebrati (Chisholm, 1954; Rumbaugh, 1970; Maron, 1982; Boswall, 1983; Erlwein, 1996; Yamakoshi, 1998; Babitz, 2000; Wimpenny *et al.*, 2009; Martin-Ordas *et al.*, 2012; Bräuer & Call, 2015). In realtà, diversi studi hanno osservato che anche animali **invertebrati** come i **cefalopodi** e gli **insetti** possono utilizzare strumenti per affrontare e risolvere alcuni problemi. Ad esempio, è stato scoperto che la specie del polpo *Amphioctopus marginatus* utilizza i gusci delle noci di cocco come scudo per difendersi dai predatori, portandoli sempre con sé (Finn *et al.*, 2009). Sebbene l'uso di strumenti come scudo difensivo non sia considerato un "vero" uso di strumenti, in quanto l'oggetto è sempre presente sul corpo dell'animale, il caso di *Amphioctopus marginatus* si pone come eccezione, in quanto il guscio è utilizzato come sistema difensivo dall'animale solo ed esclusivamente quando un predatore lo minaccia. Dunque, il beneficio che il polpo ricava dal trasporto dei gusci è solo potenziale e rivolto a un eventuale futuro attacco da parte di un predatore (Finn *et al.*, 2009). Un altro esempio, è l'uso di strumenti nel genere di grilli *Oecanthus* Serville, 1831. È stato osservato il peculiare sistema con il quale alcuni maschi di questa specie amplificano il loro canto stridulando contro la superficie delle foglie usandole come deflettori. Comparando la registrazione del canto di due maschi, uno utilizzatore della foglia e l'altro no, è stato osservato che la stridulazione del primo fosse più forte rispetto quella del secondo. In questo studio è stato dunque dimostrato il vantaggio di utilizzare uno strumento, come una foglia, per emettere

canti più percepibili dalle femmine e aumentare il proprio successo riproduttivo (Prozesky-Schulze *et al.*, 1975).

In **Fig.78** è riportato un esempio di uso di strumenti negli invertebrati.

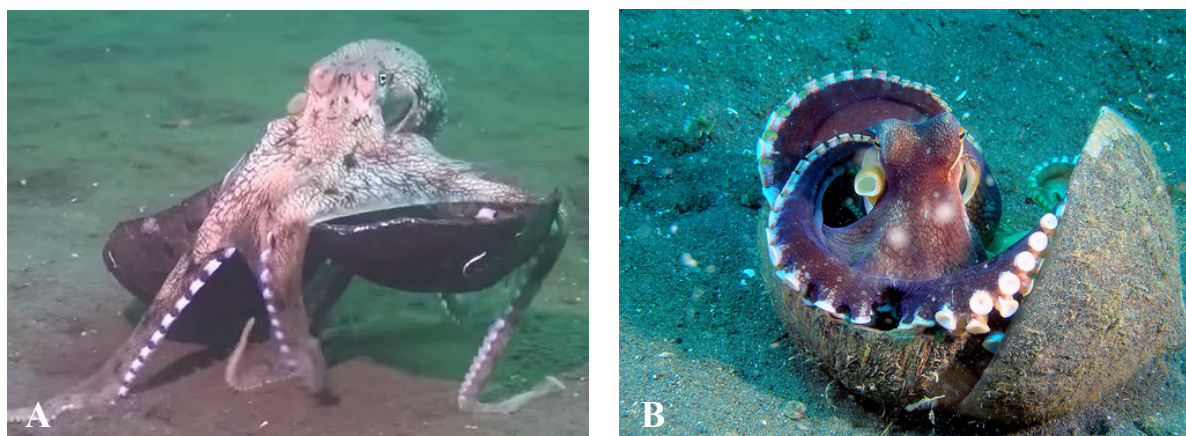


Fig.78 Nelle immagini sono mostrati due esemplari di polpo del genere *Amphioctopus* che trasportano (A) e si proteggono (B) con due gusci di noce di cocco (focus.it; animalspot.net).

6.1.3 Uso di strumenti nelle formiche

Anche per alcune specie di formiche sono stati osservati, in diversi casi di studio, comportamenti ascrivibili all'uso di strumenti ed è stato proposto di suddividerli in tre categorie funzionali (Lőrinczi, 2014; Lőrinczi *et al.*, 2018):

1) **costruzione di nidi fogliari**, come nel caso delle formiche tessitrici del genere *Oecophylla* Smith, 1860, e dei generi *Polyrhachis* Smith, 1857 e *Camponotus* Mayr, 1861 (Hölldobler & Wilson, 1990);

2) **competizione per interferenza**, attuata da alcune formiche del deserto, come *Dorymyrmex bicolor* Wheeler, 1906, *Novomessor cockerelli* (André, 1893), *Iridomyrmex purpureus* (Smith, 1858);

3) **trasporto di cibo al nido**, tramite imbibizione di detriti in alimenti liquidi, comportamento osservato ad esempio in *Aphaenogaster* Mayr, 1853, *Novomessor albisetosus* (Mayr, 1886), *Pogonomyrmex badius* (Latreille, 1802), (Fellers 1976; Banschbach *et al.*, 2006);

Uno dei primi esempi di uso di strumenti a opera delle formiche è stato descritto nel lavoro di Morrill (1972) per *P. badius*, la quale, in natura, è stata osservata gettare e, in seguito, ritirare piccoli grani di terra in una *bait* con miele. Comportamento analogo è stato osservato anche per il genere *Aphaenogaster*, dove le operaie hanno utilizzato frammenti di foglia, pezzi di fango e granelli di suolo come “spugne” per trasportare una quantità maggiore di cibo liquido rispetto a quello che avrebbero potuto trasportare senza questi strumenti (Fellers, 1976). Anche nella specie *N. albisetosus* è stato osservato lo spostamento di piccoli detriti di terra in sostanze

liquide. In questo caso, sono state osservate due situazioni per le quali le operaie effettuavano questo comportamento. Per la prima situazione, *N. albisetosus* è stata osservata, in natura, gettare piccoli granelli di terra per proteggere l'entrata del nido da sostanze liquide potenzialmente pericolose; nella seconda situazione, in esperimenti condotti in laboratorio, *N. albisetosus* è stata osservata gettare e ritirare i granuli di terra nella *bait* con il miele. I ricercatori hanno concluso che l'uso degli strumenti come efficace strategia per il foraggiamento doveva essere indagato anche in natura (McDonald, 1984).

Riprendendo le osservazioni di Fellers (1976) l'uso di strumenti in *Aphaenogaster* spp. è stato, in seguito, ampiamente studiato. È stato osservato che le formiche di questo genere non possiedono un apparato boccale abbastanza elastico da permettere il **trasporto** di ingenti quantità di **cibo liquido**. Pertanto, i ricercatori hanno ipotizzato che, per sopperire a questa mancanza, le formiche di questo genere utilizzano piccoli detriti per imbibirli di sostanza nutritiva liquida e trasportare, così, il cibo al nido. Inoltre, a fronte dei diversi materiali forniti nelle prove in laboratorio dai ricercatori, è stato osservato che le operaie di *A. subterranea* (Latreille, 1798) preferissero strumenti d'origine naturale. In aggiunta, in studi successivi è stato osservato che le operaie di questa specie erano in grado di scegliere lo strumento con le proprietà assorbenti più idonee alla tipologia di cibo liquido fornito dai ricercatori. Si è concluso che l'uso di strumenti da parte di *A. subterranea* ne aumenta in modo rilevante l'abilità competitiva nell'ambito del foraggiamento per le risorse alimentari (Lörinczi, 2014; Maák *et al.*, 2016; Lörinczi *et al.*, 2018).

Un altro esempio ben documentato riguarda *Solenopsis invicta* Buren, 1972. È stato osservato che sia la grandezza delle colonie che l'organizzazione delle caste possono influire sull'attività di foraggiamento. In laboratorio, i ricercatori hanno osservato che questa specie utilizzava granelli di terra per **rompere la tensione superficiale delle gocce di cibo liquido** e alimentarsi senza il pericolo di rimanere invischiata nella parte liquida (Wang, *et al.*, 2017). Per *S. invicta* è stato osservato anche l'uso di strumenti come metodo di seppellimento del cibo (*burying*). I ricercatori hanno confrontato formiche affamate e formiche non affamate, osservando che le formiche poste a digiuno hanno svolto poche volte il comportamento di seppellimento del cibo, rispetto a quelle nutrite. I ricercatori hanno concluso che un diverso grado di affamamento induce le formiche a compiere questo comportamento (Qin *et al.*, 2018). Infine, esperimenti con *S. invicta* hanno verificato che queste formiche attuano il comportamento di *burying* in funzione del tipo di sostanza vischiosa presentata, la quale, in base alla natura della sua densità, può essere avvertita come un elemento di minaccia (Wen, *et al.*, 2020).

Per le formiche del **genere *Tetramorium***, invece, il primo caso documentato di uso di strumenti risale a osservazioni condotte in campo. Nello studio è stato osservato che le operaie della specie *T. caespitum*, oggi identificata come *T. immigrans* (Steiner *et al.*, 2008), usavano piccoli granelli di sabbia per attaccare la specie di ape *Lasioglossum zephyrum* (Smith, 1853) quando quest'ultima era presente all'interno del suo nido (Lin, 1964). Sempre per *T. caespitum* s.l., questo stesso comportamento è stato in seguito osservato, nei confronti delle api appartenenti alla specie *Nomia melanderi* (Cockerell, 1906), (Schultz, 1982). Anche in questo caso, le operaie della formica gettavano piccoli granelli di terra all'entrata del nido dell'ape, costruito nel suolo, e, nella maggior parte dei casi, il lancio dei detriti portava alla morte dell'ape stessa. L'ipotesi formulata considera questo comportamento come un modo da parte delle formiche di eliminare un potenziale competitore e di poter pertanto allargare il loro territorio; inoltre, molto spesso, le formiche hanno utilizzato la carcassa dell'ape come risorsa alimentare (Schultz, 1982). Per il genere *Tetramorium* e per le specie del complesso *T. caespitum*, i casi sopradescritti sono gli unici studi riportati in letteratura in cui si descrive l'uso di strumenti. In **Fig.79** è riportato un esempio di uso di strumenti nelle formiche.



Fig.79 A sinistra (A) sono mostrate delle formiche della specie *Oecophylla smaragdina* intente a costruire il nido fogliare utilizzando la seta delle proprie larve. A destra (B) sono mostrate delle formiche della specie *Aphaenogaster subterranea* le quali stanno trasportando dei detriti di varia natura all'esca alimentare (Naturepl.com; Lőrinczi *et al.*, 2018).

6.2 SCOPO

Storicamente, l'uso di strumenti è stato principalmente attribuito ai primati, anche se, oggi, è stato osservato in diverse classi di vertebrati e in alcuni phyla di invertebrati (van Schaik *et al.*, 1999; Bird & Emery, 2009; Bentley-Condit & Smith 2010). Per quanto riguarda gli invertebrati come gli insetti, ne esistono diversi esempi, in particolar modo forniti dalle formiche. Per quanto riguarda il genere *Tetramorium*, anche per le operaie di alcune sue specie è stato osservato un uso di strumenti, ma quest'ultimo è ristretto a soli due casi di studio (Linn, 1964; Schulz, 1982). Durante le osservazioni svolte nelle aree verdi urbane nella stagione estiva del 2019, è stato osservato che la specie *T. immigrans* portava, talvolta, piccoli detriti di terra e/o vegetali alla risorsa alimentare. Questo comportamento è stato osservato esclusivamente per questa specie, ma non è stato possibile determinare le condizioni per le quali è stato attuato. L'ipotesi iniziale, formulata per spiegare l'uso di strumenti da parte di questa specie, considera questo comportamento come una strategia adottata da *T. immigrans* durante la competizione per le risorse alimentari. Pertanto, sono stati svolti esperimenti *ad-hoc* in laboratorio. Lo scopo è stato quello di **indagare il possibile utilizzo di strumenti da parte della specie *T. immigrans* come strategia competitiva durante l'attività di foraggiamento**. L'obiettivo è quello di determinare se l'utilizzo di strumenti offre a *T. immigrans* un vantaggio per un migliore sfruttamento delle risorse alimentari. Per rispondere allo scopo sono stati individuati due ambiti di studio.

Il primo si è focalizzato sul **confronto tra specie simpatriche** ed è stato osservato se:

1. *T. immigrans* fosse l'unica specie in grado di usare degli strumenti o se il comportamento fosse espresso anche da altre specie, osservate nelle stesse aree;
2. *T. immigrans* esprimesse una preferenza in base alla natura dello strumento, ovvero di origine naturale e artificiale.

Il secondo ambito di studio ha indagato un'ipotesi sulla **funzione adattativa** di questo comportamento in *T. immigrans*. È stato verificato se l'uso di strumenti fosse impiegato per la **copertura del cibo** e per un suo successivo sfruttamento. A tal fine, sono state confrontati frammenti di colonia affamati e non affamati. L'ipotesi formulata considera che formiche non affamate utilizzano gli strumenti a disposizione per coprire il cibo e recuperarlo in un secondo momento, mentre formiche affamate non attuano l'uso di strumenti, consumando direttamente la risorsa alimentare.

6.3 MATERIALI e METODI

6.3.1 Scelta delle specie modello

Per gli esperimenti di “confronto fra specie simpatiche”, sono state selezionate 3 specie di formiche simpatiche, potenziali competitori di *T. immigrans*. Le specie scelte sono state: *Crematogaster scutellaris*, *Lasius paralienus* e *Tapinoma magnum* Mayr, 1861. Le specie *C. scutellaris* e *L. paralienus* sono state descritte in precedenza, nel paragrafo 5.3.1. Per quanto riguarda *Tapinoma magnum*, quest’ultima è stata scelta in quanto possiede colonie molto numerose e anch’essa fonda i suoi nidi in *habitat* simili a quelli di *T. immigrans*. In generale, *T. magnum* è la specie principale che rappresenta il complesso *T. nigerrimum* nella penisola italiana. Questa specie è principalmente distribuita in Nord Africa ed è stata probabilmente introdotta in Italia in tempi storici recenti e la si può osservare prevalentemente in aree aperte o in aree degradate con influenza antropica. I nidi di *T. magnum* possono essere trovati nei prati o in terreno sassoso, lungo i sentieri e i muri, ma anche in siti meno disturbati. Di recente, la presenza di questa specie è stata segnalata anche in Germania, Belgio e Paesi Bassi, dove ha stabilito supercolonie permanenti e qui agisce come specie infestante con forti impatti locali. Infatti, questa specie è considerata la più invasiva di tutto il complesso *T. nigerrimum* (Seifert *et al.*, 2017; Dekoninck *et al.*, 2015; Noordijk, 2016; Bračko, 2019; D’Eustacchio *et al.*, 2019; Leonetti *et al.*, 2019). In **Fig.80** è mostrato un esemplare di *T. magnum*.



Fig.80 Nella prima fotografia a sinistra (A) è mostrato in visione frontale il capo di *T. magnum*, mentre nella foto centrale (B) e nell’ultima a destra (C) sono rappresentate le visioni laterale e dorsale (antweb.org/, 2021).

Per tutte le 4 specie impiegate negli esperimenti, il prelievo in natura dei frammenti coloniali è stato svolto in 4 aree verdi urbane di Parma, nei mesi da maggio a luglio 2021. La posizione di ogni colonia è stata geolocalizzata grazie al software Google Earth Pro (v.7.3.3.7699) e le coordinate spaziali sono state annotate in **Tab.24**.

Colonie impiegate negli esperimenti			
Specie	Area verde	Latitudine	Longitudine
<i>C. scutellaris</i>	Campus – Parma	44°46'3.92"N	10°18'51.42"E
	Campus – Parma	44°45'57.73"N	10°18'17.18"E
	Campus – Parma	44°45'58.88"N	10°18'17.84"E
	Campus - Parma	44°45'57.95"N	10°18'17.39"E
	Campus - Parma	44°45'58.61"N	10°18'17.76"E
	Campus - Parma	44°46'1.44"N	10°18'52.76"E
	Campus – Parma	44°45'56.79"N	10°18'19.02"E
<i>L. paralienus</i>	Campus – Parma	44°45'59.84"N	10°18'19.96"E
	Campus – Parma	44°46'5.43"N	10°18'55.70"E
	Campus – Parma	44°46'5.35"N	10°18'55.18"E
	P.co Cocconi	44°48'30.33"N	10°20'47.56"E
	P.co Gentilezza	44°48'6.01"N	10°18'1.07"E
	P.co Gentilezza	44°48'5.75"N	10°18'1.02"E
	P.co Gentilezza	44°48'5.62"N	10°18'0.50"E
<i>T. magnum</i>	P.co Gentilezza	44°48'5.49"N	10°18'0.97"E
	Campus – Parma	44°45'57.98"N	10°18'19.83"E
	Campus – Parma	44°45'58.00"N	10°18'20.56"E
	Campus – Parma	44°45'58.44"N	10°18'20.84"E
	Campus – Parma	44°45'58.79"N	10°18'18.12"E
	Campus – Parma	44°45'58.12"N	10°18'17.28"E
	Campus – Parma	44°45'58.28"N	10°18'17.98"E
<i>T. immigrans</i>	Campus – Parma	44°45'57.21"N	10°18'17.08"E
	Campus – Parma	44°45'58.69"N	10°18'21.00"E
	Campus – Parma	44°45'58.96"N	10°18'21.18"E
	Campus – Parma	44°45'59.15"N	10°18'21.29"E
	Campus – Parma	44°45'58.25"N	10°18'19.65"E
	Campus – Parma	44°45'58.19"N	10°18'19.84"E
	Campus – Parma	44°45'58.06"N	10°18'20.27"E
	Campus – Parma	44°45'55.13"N	10°19'4.15"E
	Campus – Parma	44°45'55.37"N	10°19'4.07"E
	Campus – Parma	44°45'54.38"N	10°19'4.97"E
	P.co Brigate Julia	44°47'5.75"N	10°19'57.41"E
	P.co Brigate Julia	44°47'5.84"N	10°19'56.70"E
	Parco Casati	44°47'14.40"N	10°21'28.32"E
	Parco Casati	44°47'14.14"N	10°21'30.21"E
	Parco Casati	44°47'15.58"N	10°21'28.51"E
	Parco Casati	44°47'15.28"N	10°21'28.35"E
	Parco Casati	44°47'15.45"N	10°21'28.46"E
Parco Casati	44°47'16.06"N	10°21'28.72"E	
Parco Casati	44°47'15.21"N	10°21'30.19"E	

Tab.24 Nella tabella sono riportati il nome del sito di prelievo e le coordinate geografiche del frammento coloniale.

A seguito dell'individuazione delle specie di interesse, è stata eseguita la spalatura dei frammenti coloniali utilizzando una pala, un aspiratore e delle pinzette entomologiche. Da ogni colonia sono state prelevate 800 operaie, in modo tale che i due frammenti coloniali fossero costituiti da 400 operaie l'uno. Nei casi in cui dalla colonia non è stato possibile collezionare tutti gli individui richiesti, si è proceduto prelevando una colonia aggiuntiva.

6.3.2 Organizzazione e mantenimento delle colonie sperimentali

A seguito della raccolta in natura e dopo essere state portate in laboratorio, le operaie delle 4 specie sono state inserite direttamente all'interno dell'apparato sperimentale, il quale è stato costituito assemblando un contenitore rettangolare (10x13x20cm) unito a un contenitore

cilindrico (10 cm d'altezza x 19,4 cm di diametro). Il contenitore rettangolare ha funto da nido artificiale all'interno del quale sono state poste operaie prelevate casualmente dalla scatola nella quale erano state inserite al momento della raccolta in campo. Il contenitore cilindrico, invece, ha funto da arena sperimentale simulando il territorio di foraggiamento. In laboratorio, tutte le colonie sono state mantenute in cella termostata ($25 \pm 1^\circ \text{C}$ e UR 50%) con fotoperiodo di 8:16 (L:D). A tutti i frammenti coloniali è stata garantita la risorsa idrica, inserendo un batuffolo d'ovatta imbibito d'acqua nel nido. Alle formiche è sempre stata concessa la possibilità, nelle 24h precedenti l'esperimento, di poter esplorare l'arena sperimentale. I frammenti impiegati negli esperimenti di "confronto tra specie simpatiche" sono stati posti in condizioni di digiuno per un tempo di 24h prima dell'inizio degli esperimenti. I frammenti coloniali utilizzati per gli esperimenti sulla "funzione adattativa" dell'uso di strumenti in *T. immigrans* sono stati suddivisi in due gruppi: "affamati" e "non affamati". Il primo gruppo è stato posto in condizioni di digiuno per un tempo di 48h prima dell'inizio degli esperimenti; al secondo gruppo è sempre stato fornito cibo nelle 48h precedenti l'inizio degli esperimenti. La risorsa alimentare fornita era costituita da 0.5 ml di miele diluito con acqua (0,5 ml, dei quali il 50% composto d'acqua e 50% da miele) e 4g di una sola larva di *Galleria mellonella*.

6.3.3 Esperimenti di confronto tra specie simpatiche

6.3.3.1 Apparato sperimentale

L'apparato sperimentale era composto da un contenitore rettangolare (10x13x20cm) connesso tramite un tubo di plastica trasparente (2,3cm di diametro e 7cm di lunghezza) a un'arena cilindrica (19,4cm di diametro e 10cm d'altezza). Al centro dell'arena sperimentale è stata posta la *bait* circolare di 4cm di diametro ricavata ritagliando un foglio di carta millimetrata plastificato sulla pagina inferiore. La plastificazione ha consentito di arrestare la fuoriuscita dell'olio da sotto il dischetto di carta. La *bait* è stata fissata utilizzando del nastro biadesivo e al centro di essa è stato posto 1 cm³ di tonno al quale sono stati aggiunti 0.3 ml del suo olio. Gli strumenti forniti alle specie sono stati divisi in "**strumenti naturali**" e "**strumenti artificiali**". Il gruppo degli strumenti naturali era composto da grani di terra, sassolini di arenaria e steli; il gruppo degli strumenti artificiali era invece composto da pezzetti di carta, striscioline di plastica e pezzetti di spugna. Tutto il materiale fornito alle formiche è stato ritagliato premunendosi di mantenere lo stesso *range* dimensionale compreso fra i 2mm e i 5mm di diametro. Per ogni tipologia di strumento è stata impiegata una quantità di 2ml di

volume. Per il corretto posizionamento degli strumenti sono stati disegnati, a 2 cm di distanza dalla *bait* e a 2 cm di distanza fra loro, dei cerchi in grafite. I cerchi hanno determinato la posizione esatta entro la quale lo strumento doveva essere posto e in ogni cerchio è stata scritta una lettera (dalla A alla F) che ha indicato l'ordine con il quale disporre gli strumenti. L'ordine seguito per il posizionamento dei 6 strumenti è variato tra le differenti repliche sperimentali ed è stato determinato estraendo in modo casuale, una sequenza di 6 numeri dall'1 al 6. In precedenza, ogni numero era stato associato a uno strumento (1= steli; 2= sassolini; 3= grani di terra; 4= carta; 5= plastica; 6= spugna) e il primo numero estratto è sempre stato associato alla lettera "A" e il secondo alla "B" e così facendo per tutti gli altri numeri e lettere. Il posizionamento degli strumenti secondo la sequenza casuale ha permesso di escludere che un'eventuale preferenza per uno strumento potesse essere determinata non tanto dalla scelta della formica, ma perché posizionato vicino all'ingresso del nido. Nella **Fig.81** sono mostrati gli strumenti utilizzati negli esperimenti, e in **Fig.82**, sono rappresentati gli apparati sperimentali.



Fig.81 nell'immagine sono presenti i 6 tubetti contenenti i 2ml di volume per ogni strumento somministrato alle formiche durante gli esperimenti.

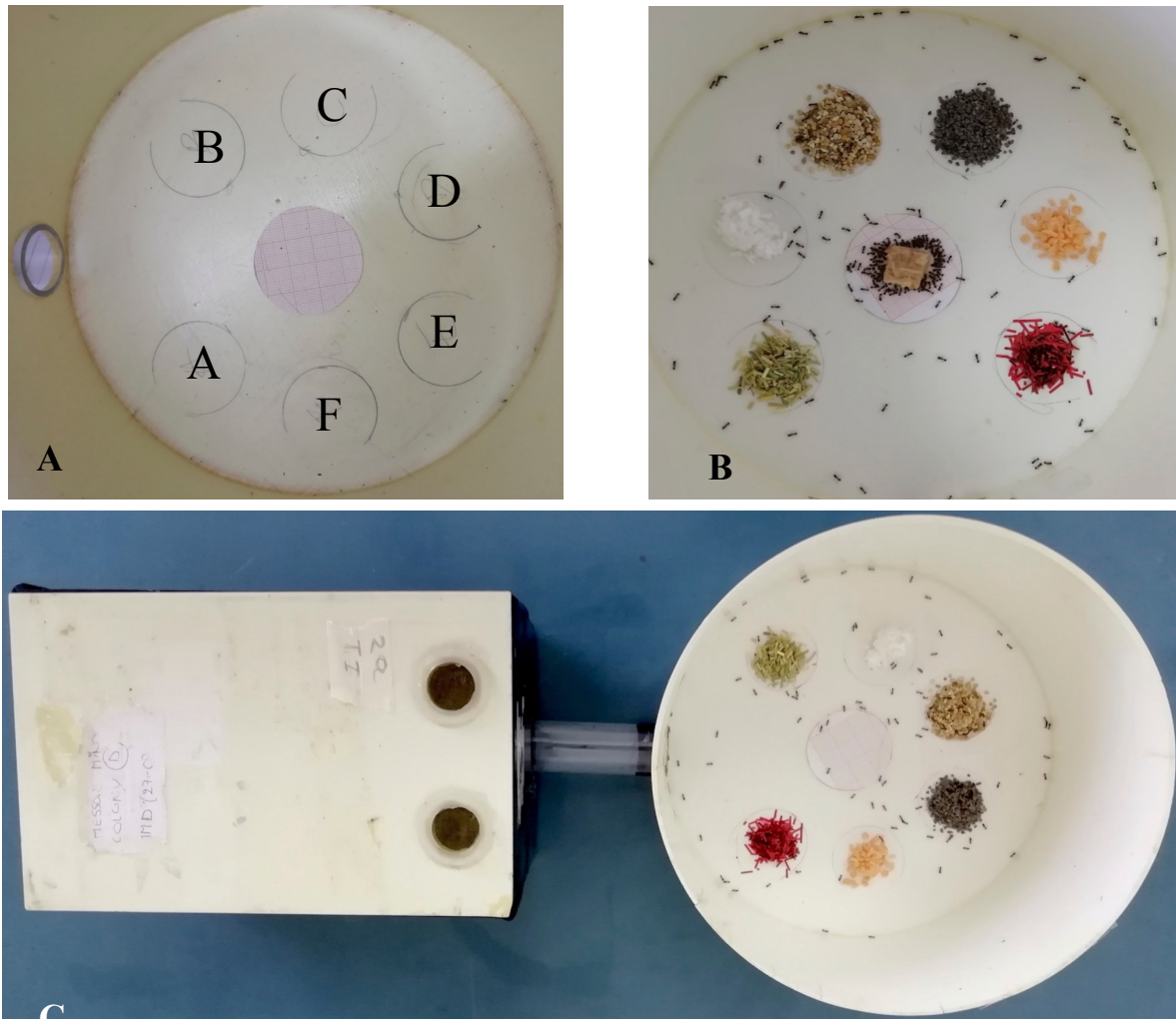


Fig.82 Nell'immagine in alto a sinistra (A) vi è l'arena sperimentale con le indicazioni delle posizioni per gli strumenti; in alto a destra (B) è mostrata l'arena sperimentale contenente gli strumenti e le formiche durante la fase iniziale dell'esperimento; in basso (C) è invece presentato l'apparato sperimentale.

6.3.3.2 Protocollo sperimentale

Tutte le repliche sperimentali sono state condotte sotto condizioni controllate di temperatura e umidità relativa ($T^{\circ} 25 \pm 1^{\circ} C$ e UR 45%). In ogni prova è stato osservato un solo frammento coloniale. Il tempo sperimentale è stato di 180 minuti suddiviso in 36 intervalli da 1 minuto l'uno. Prima dell'inizio di ogni esperimento si è proceduto posizionando gli strumenti, nell'arena cilindrica sperimentale, all'interno dei cerchi disegnati a matita, seguendo la disposizione casuale: gli strumenti risultavano così equidistanti fra loro e dalla *bait*. Alle formiche è stato consentito di entrare in contatto con gli strumenti durante il posizionamento di questi ultimi. Dopo aver posizionato gli strumenti e prima della deposizione tonno, sono stati fatti trascorrere 5 minuti, per consentire alle formiche di ritornare in uno stato di quiete. In seguito, sono stati aggiunti il tonno e l'olio ed è stato fatto partire il timer per i 36 *scan*

sampling. Le osservazioni alla *bait* hanno permesso di registrare il numero di formiche che trasportavano uno strumento, suddividendo il conteggio in base alla tipologia dello strumento. In questo modo, sono stati ottenuti dei conteggi per ciascuno degli *scan sampling*. Al termine dei 180 minuti, invece, è stato svolto il conto del numero di strumenti totali e suddiviso in base alla tipologia di strumento portati alla *bait*. In **Fig.83** è mostrato un estratto della scheda di raccolta dati.

Data		Colonia - Sp.	Disposizione strumenti			Note	
min.	Sassolini	Steli	Terra	Carta	Plastica	Spugna	
5							
10							
15							
20							
25							
30							
35							
40							
45							
50							

Fig.83 Scheda di laboratorio all'interno della quale sono state annotati, durante gli *scan sampling*, il numero di strumenti portati dalle formiche in quel dato intervallo di tempo.

Al termine degli esperimenti tutti i frammenti coloniali utilizzati sono stati riportati in natura, nei pressi della colonia d'origine.

6.3.3.3 Piano sperimentale

Sono stati prelevati 6 frammenti coloniali per *T. immigrans*, 7 frammenti coloniali per *C. scutellaris* e *T. magnum*, e 8 frammenti coloniali per *L. paralienus*. Ognuno di questi è stato suddiviso, a sua volta, in 2 frammenti da 400 operaie. Per l'identificazione dei frammenti è stata assegnata a ciascuno di essi un'etichetta riportante il nome della specie, il numero del frammento coloniale d'origine e una lettera (*a* e *b*), indicante la replica della colonia accompagnata da una numerazione progressiva. Il piano sperimentale ha previsto lo svolgimento di 12 repliche sperimentali per ognuna delle 4 specie e ogni frammento coloniale è stato testato una volta sola. In totale sono state svolte 48 repliche sperimentali. In **Tab.27** è riportata la tabella con i frammenti coloniali.

<i>T. immigrans</i>	<i>C. scutellaris</i>	<i>L. paralienus</i>	<i>T. magnum</i>
1a	1a	1a	1a
1b	1b	2a	1b
2a	2a	3a	2a
2b	2b	4a	2b
3a	3a	4b	3a
3b	3b	5a	3b
4a	4a	6a	4a
4b	4b	6b	4b
5a	5a	7a	5a
5b	6a	7b	6a
6a	6b	8a	7a
6b	7a	8b	7b

Tab.25 La tabella mostra lo schema del piano sperimentale attuato per eseguire gli esperimenti sull'uso di strumenti. Le lettere indicano i frammenti coloniali testati, mentre i numeri indicano la colonia d'origine.

6.3.3.4 Organizzazione dei dati

Le osservazioni condotte mediante lo *scan samplig* hanno permesso di conteggiare il numero di operaie che hanno attivamente portato uno strumento sulla *bait*. Al termine di ogni prova, per ogni categoria di strumento, è stato registrato il numero totale di strumenti presenti sulla *bait*.

6.3.3.5 Analisi statistiche

Tutte le analisi statistiche sono state eseguite utilizzando il software R v.3.6.2 (R Core Team 2019).

Modello Lineare Generalizzato (GLM)

Sono stati eseguiti dei GLM, con la funzione *glm*, per verificare:

1) Se la specie *T. immigrans* fosse l'unica a portare strumenti presso l'esca alimentare. È stato considerato il numero di strumenti portati alla *bait* al termine delle 3 ore di test.

- a) Un primo **GLM** ha considerato il numero totale di **strumenti senza distinzione di tipologia**. Nella formula dell'analisi è stata inserita come variabile dipendente la somma degli strumenti portati alla *bait* nelle 12 repliche sperimentali di ogni specie; come fattore fisso è stata inserita la specie. È stata specificata come famiglia di distribuzione dell'errore la Quasipoisson (funzione di link= "Log"), in quanto sono state inserite le somme degli strumenti, ovvero dei *counts*. Tramite la distribuzione Quasipoisson è stato possibile correggere l'*overdispersion* dei dati.

- b) 6 test **GLM**, invece, sono stati svolti separatamente sui totali di **ciascuna tipologia di strumento**. Nella formula è stata inserita come variabile dipendente la somma dello strumento portato alla *bait* nelle 12 repliche sperimentali di ogni specie; come fattore fisso è stata inserita la specie. Anche in questo caso, la distribuzione dell'errore è stata la Quasipoisson (funzione di link= "Log").

Tutti i confronti sono stati svolti solo sulle specie *T. magnum* e *T. immigrans*, in quanto sia *C. scutellaris* che *L. paralienus* non hanno mai portato strumenti alla *bait*.

2) Se vi fosse una **preferenza nell'uso degli strumenti**, da parte di *T. immigrans*, sia per quanto riguarda la loro origine, naturale o artificiale, sia per un particolare tipo di strumento.

a) Un primo GLM ha considerato l'origine degli strumenti, suddividendoli in **naturali e artificiali**. Nella formula dell'analisi è stata inserita come variabile dipendente la somma degli strumenti naturali e artificiali che le operaie di *T. immigrans* hanno portato all'esca alimentare nelle 72 repliche sperimentali (36 repliche x 2 origini: naturale e artificiale); come fattore fisso è stata inserita l'origine dello strumento. La distribuzione dell'errore è stata la Quasipoisson (funzione di link= "Log").

b) Un secondo GLM ha verificato la **preferenza per la tipologia dello strumento**. Nella formula è stata inserita come variabile dipendente la somma degli strumenti in accordo con la tipologia di strumento che le operaie di *T. immigrans* hanno portato all'esca alimentare nelle 72 repliche sperimentali (12 repliche X 6 tipologie di strumento); come fattore fisso, è stata inserita la tipologia dello strumento. Anche in questo caso, la famiglia di distribuzione dell'errore è stata la Quasipoisson (funzione di link= "Log").

Modelli lineari generalizzati a effetti misti

Solo per quanto riguarda l'uso di strumenti da parte di *T. immigrans*, è stata indagata la **variazione temporale** nel numero di strumenti portati all'esca alimentare durante le 3h di test. L'analisi è stata condotta utilizzando il pacchetto *lme4* (1.1-26) e la funzione *glmer*. Nella formula dell'analisi come variabile dipendente è stato inserito il numero di operaie di *T. immigrans* che, per i 36 intervalli di tempo e per le 12 repliche sperimentali, hanno trasportato uno strumento. Come fattore fisso sono stati inseriti l'intervallo di tempo e il tipo di strumento. L'intervallo di tempo è stato standardizzato mediante la funzione *scale*. Come effetti *random* sono state inserite le repliche sperimentali (12 repliche x 6 tipologie di strumenti x 36 intervalli di tempo). Gli effetti *random* sono stati inseriti in quanto si è tenuto conto dell'*overdispersion* dei dati, la quale è stata corretta mediante la Observation Level random Effect (Harrison, 2014).

In ultimo, nella formula è stata specificata la famiglia d'appartenenza della distribuzione dei dati, che in questo caso è stata una Poisson (funzione di link= "Log"), in quanto è stato inserito il numero di operaie di *T. immigrans*, ovvero dei *counts*. In seguito, per verificare la significatività generale del modello, è stata eseguita un'analisi della devianza (Analysis of Deviance Table: Type II Wald chisquare *test*). Siccome un primo modello dove è stata inserita l'interazione tra l'intervallo di tempo e lo strumento non è risultato significativo, si è proceduto con un modello additivo. In seguito, è stato utilizzato un secondo modello nel quale è stato tolto solo l'intervallo di tempo standardizzato, procedendo poi con l'analisi della devianza, come sopra riportato. In questo caso, è stato svolto un *test* di Tukey come *post-hoc* mediante il pacchetto *multcomp* con la funzione *glht*.

6.3.4 Esperimenti di indagine sulla funzione adattativa dell'uso di strumenti in *Tetramorium immigrans*

6.3.4.1 Apparato sperimentale

È stato utilizzato il medesimo apparato sperimentale descritto per gli esperimenti precedenti. Sono state mantenute anche le stesse tipologie di strumento, ma, in questo caso, gli **strumenti** presentati erano **mescolati tra loro** e non più suddivisi per tipologia. In particolare, ciascun gruppo di strumenti era costituito da proporzioni uguali di strumenti dello stesso tipo (1/6 per



Fig.84 nell'immagine sono presenti i 6 tubetti contenenti i 2ml di volume di strumenti misti inserite nell'apparato durante gli esperimenti.

ogni tipo di strumento), mantenendo un volume totale di 2ml. In **Fig.84** sono mostrati gli strumenti, mentre in **Fig.85** è mostrato l'apparato sperimentale

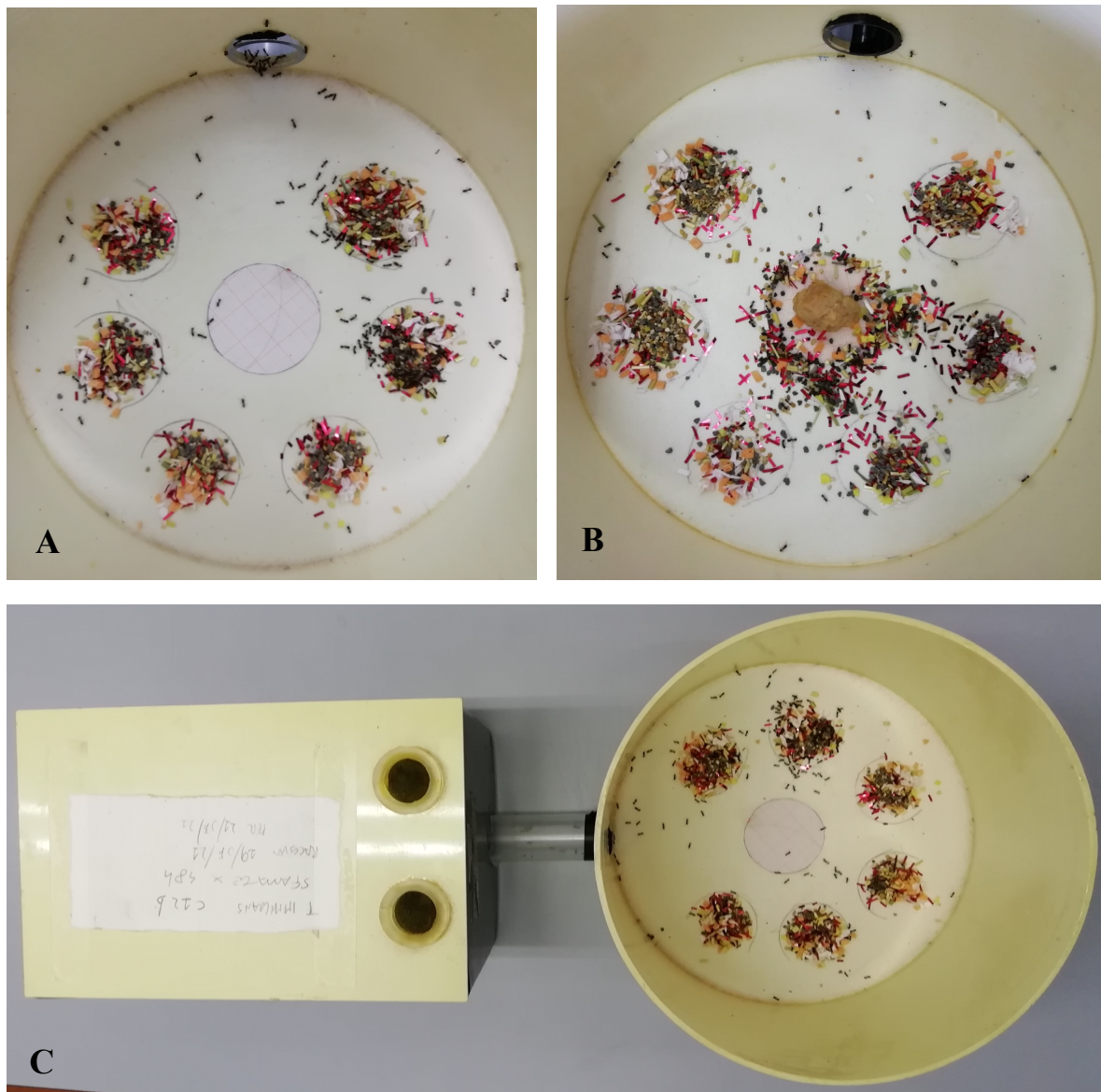


Fig.85 Nell'immagine in alto a sinistra (**A**) vi è l'arena sperimentale con gli strumenti misti; in alto a destra (**B**) è mostrata l'arena sperimentale contenente gli strumenti e le formiche durante l'ultima fase dell'esperimento; in basso (**C**) è invece presentato l'apparato sperimentale.

6.3.4.2 Protocollo sperimentale

Gli esperimenti sono stati condotti in condizioni controllate di temperatura e umidità relativa ($T^{\circ} 25 \pm 1^{\circ} C$ e UR 55%). Il tempo di svolgimento di ogni esperimento è stato di 180 minuti suddiviso in 36 intervalli da 1 minuto l'uno. Essendo forniti gruppi di strumenti misti, non è stato seguito un ordine di disposizione all'interno dell'arena cilindrica. Questi ultimi sono stati ugualmente posizionati nei 6 cerchi disegnati a matita per mantenere l'equidistanza dalla *bait*

e tra gli strumenti stessi. Anche in questo caso, dopo aver posizionato gli strumenti e prima dell'inizio degli esperimenti è stato fatto trascorrere un tempo di 5 minuti. Il tempo sperimentale è iniziato solo dopo il posizionamento del tonno e dell'olio. La registrazione dei dati sperimentali è avvenuta mediante la stessa scheda mostrata in **Fig.83**. Al termine degli esperimenti tutti i frammenti coloniali utilizzati sono stati riportati in natura, nei pressi della colonia d'origine.

6.3.4.3 Piano sperimentale

Per svolgere gli esperimenti sono stati prelevati 12 frammenti coloniali per *T. immigrans*, etichettandoli con una numerazione progressiva da 1 a 12. Ogni colonia è stata suddivisa in 2 frammenti coloniali da 400 operaie ciascuna. È stata applicata un'etichetta riportante il nome della specie, il tipo di trattamento “affamate” e “non affamate”, il numero del frammento coloniale d'origine e una lettera (*a* e *b*), accompagnata da una numerazione progressiva da 1 a 12. Il piano sperimentale ha previsto lo svolgimento di 24 repliche suddivise in due trattamenti per ciascuna colonia e ogni frammento è stato testato una sola volta. In **Tab.27** è riportata la tabella con i frammenti coloniali.

<i>T. immigrans</i> - affamate	<i>T. immigrans</i> – non affamate
1a	1b
2a	2b
3a	3b
4a	4b
5a	5b
6a	6b
7a	7b
8a	8b
9 a	9b
10a	10b
11a	11b
12a	12b

Tab.26 Tabella con lo schema del piano sperimentale. Le lettere indicano i frammenti coloniali sottoposti ad un tipo di trattamento (a=formiche affamate, b= formiche non affamate), mentre i numeri indicano la colonia d'origine.

6.3.4.4 Organizzazione dei dati

I dati raccolti sono stati dello stesso tipo di quelli raccolti per gli “Esperimenti di confronto tra specie simpatiche” (6.3.2).

6.3.4.5 Analisi statistiche

Modello Lineare Generalizzato (GLM)

Analogamente alle analisi descritte in precedenza, sono stati eseguiti dei GLM, con la funzione *glm*, sia per il **numero totale di strumenti** portati dalle formiche alle *bait*, senza distinzione della tipologia di strumento, sia per il **numero totale di ciascuna tipologia di strumento** portato dalle formiche alla *bait*. Per il primo GLM, nella formula dell'analisi, è stata inserita come variabile dipendente la somma degli strumenti portati all'esca alimentare dalle *T. immigrans* suddivise nei **due trattamenti "affamate" e "non affamate"**, nelle 12 prove sperimentali; come fattore fisso è stato inserito il trattamento. Per i GLM effettuati separatamente sulla somma dei singoli strumenti, come variabile dipendente è stata inserita la somma dello strumento portato all'esca alimentare dalle *T. immigrans* suddivise nei due trattamenti "affamate" e "non affamate" nelle 12 prove sperimentali; come fattore fisso è stata inserita la specie. Per entrambe le analisi è stata specificata come famiglia di distribuzione dell'errore la Quasipoisson (funzione di link= "Log"), in quanto sono state inserite le somme degli strumenti, ovvero dei *counts*. Tramite la distribuzione Quasipoisson è stato possibile correggere l'*overdispersion* dei dati.

Modelli lineari generalizzati a effetti misti

È stato indagato se vi potesse essere una **variazione temporale nell'uso degli strumenti** portati all'esca alimentare, nelle 3h sperimentali, sia per le *T. immigrans* "affamate" sia per le "non affamate". Sono stati usati il pacchetto *lme4* (1.1-26) e la funzione *glmer*. Sono state svolte **due analisi separate per i due trattamenti "affamato" e "non affamato"**. Nella formula dell'analisi, come variabile dipendente è stato inserito il numero di operaie di *T. immigrans* ("affamate" o "non affamate") che, per i 36 intervalli di tempo e per le 12 repliche sperimentali, hanno trasportato uno strumento. Come fattore fisso sono stati inseriti l'intervallo di tempo e lo strumento distinto in 6 tipologie differenti. Anche per queste due analisi, l'intervallo di tempo è stato standardizzato con la funzione *scale*. Come effetti *random*, sono state inserite le repliche sperimentali (12 repliche x 6 tipologie di strumenti x 36 intervalli di tempo). In ultimo, nella formula è stata specificata la famiglia d'appartenenza della distribuzione dell'errore, che in questo caso è stata una Poisson (funzione di link = "Log"). In seguito, per verificare la significatività generale del modello, è stata eseguita un'analisi della devianza (Analysis of Deviance Table: Type II Wald chisquare *test*). Anche in questo caso,

l'interazione tra l'intervallo di tempo e lo strumento non è risultata significativa e si è proceduto con un modello additivo. In seguito, è stato svolto un secondo modello nel quale è stato tolto solo l'intervallo di tempo standardizzato, procedendo poi con l'analisi della devianza, come sopra riportato. In questo caso, è stato svolto un *test* di Tukey come *post-hoc* mediante il pacchetto *multcomp* con la funzione *glht*.

6.5 Risultati

6.5.1 Esperimenti di confronto tra specie simpatriche

È stato condotto un GLM per valutare se la specie *T. immigrans* fosse l'unica a utilizzare gli strumenti o se anche le altre 3 specie fossero in grado di utilizzarli. L'analisi, svolta sul numero totale di strumenti portati alla *bait*, è stata condotta solo per le specie *T. magnum* e *T. immigrans*, in quanto *C. scutellaris* e *L. paralienus* non hanno portato strumenti all'esca alimentare. L'analisi ha mostrato una differenza statisticamente significativa ($F_{(1, 22)} = 7,70; p = 0,01$): *T. immigrans* ha portato **un numero maggiore di strumenti** rispetto a *T. magnum*. In **Fig.86** è mostrato il grafico dell'analisi.

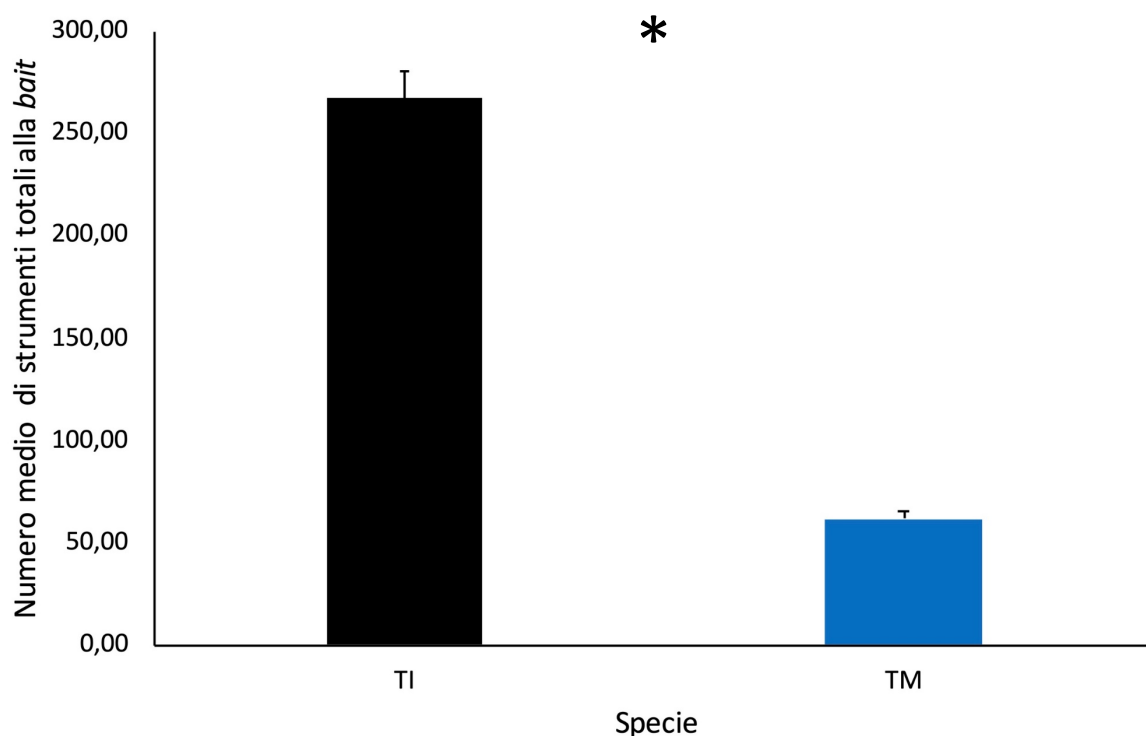


Fig.86 Media (+ ES) del totale degli strumenti, senza distinzione di tipologia degli strumenti, portati dalle operaie delle due specie *T. magnum* (TM) e *T. immigrans* (TI) all'esca alimentare.

In seguito, sono state condotte analisi separate per le 6 tipologie di strumenti portati da *T. magnum* e *T. immigrans* all'esca alimentare. In **Tab.28** sono presentati gli esiti delle analisi, mentre in **Fig.87** sono riportati i grafici delle analisi risultate significative. *T. immigrans* ha

portato **un numero maggiore di strumenti** rispetto a *T. magnum*, quando gli strumenti erano costituiti da grani di terra, sassolini, carta e plastica.

Tipologia di strumento	Risultato GLM
Grani di terra	($F_{(1, 22)} = 7,17; p = 0,01$)
Sassolini	($F_{(1, 22)} = 4,91; p = 0,03$)
Steli	($F_{(1, 22)} = 1,45; p = 0,24$)
Carta	($F_{(1, 22)} = 10,26; p < 0,01$)
Plastica	($F_{(1, 22)} = 13,31; p < 0,01$)
Spugna	($F_{(1, 22)} = 0,72; p < 0,40$)

Tab.27 Esiti delle analisi svolte sulle tipologie di strumenti portati dalle operaie delle specie di formica *T. magnum* e *T. immigrans*, all'esca alimentare per le 12 repliche sperimentali.

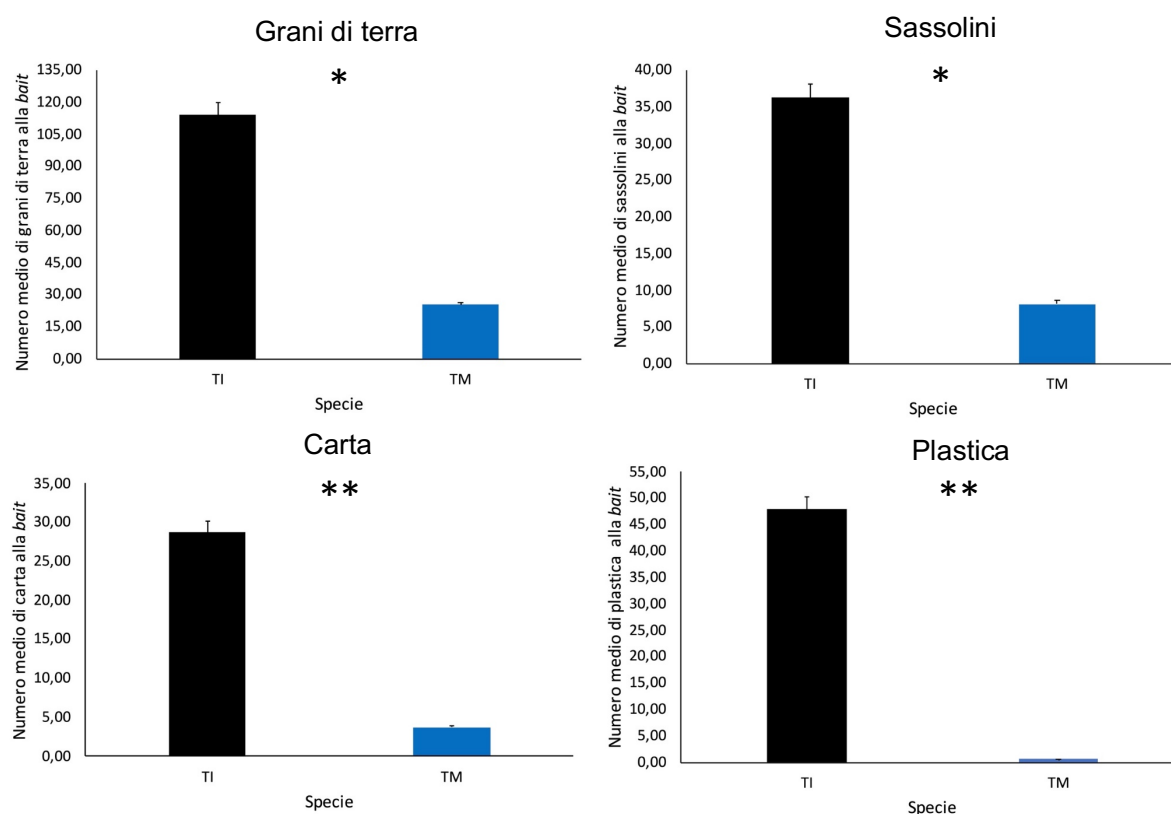


Fig.87 Media (+ ES) del totale degli strumenti suddivisi per tipologia, portati dalle operaie delle due specie *T. magnum* e *T. immigrans* all'esca alimentare.

In seguito, sono stati svolti due GLM solo per *T. immigrans*, con i quali è stata osservato se le operaie mostrassero una preferenza per gli strumenti naturali o artificiali e se avessero una preferenza per un tipo di strumento rispetto agli altri. L'analisi svolta sull'origine degli strumenti (naturale o artificiale) non è risultata significativa ($F_{(1, 70)} = 2,23; p = 0,14$), dimostrando che ***T. immigrans* utilizza indistintamente sia strumenti naturali sia artificiali.** L'analisi svolta considerando le 6 tipologie di strumenti è, invece, risultata significativa ($F_{(5,$

66) = 3,85; $p < 0,01$), perciò è stato eseguito il *test* di Tukey per i confronti *post-hoc*. Si evidenziano tre gruppi: gli strumenti **maggiormente trasportati** sono i **grani di terra**, seguiti da plastica, sassolini e carta, mentre steli e spugna sono gli strumenti meno utilizzati. In **Fig.88** è mostrato il grafico dell'analisi.

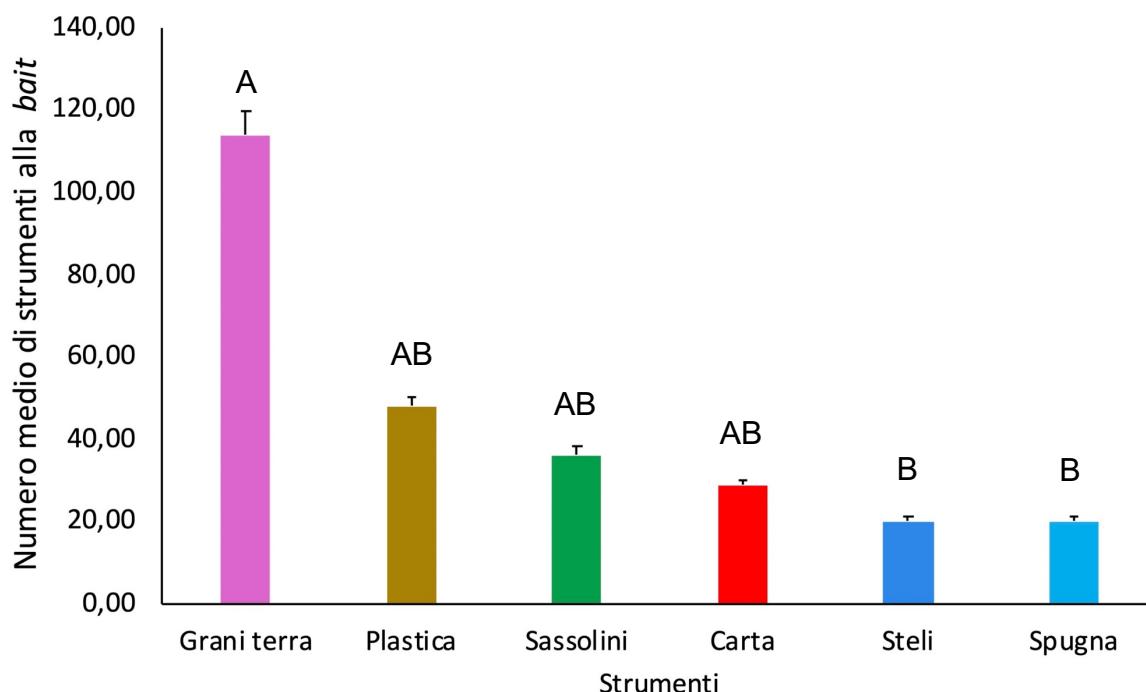


Fig.88 Media (+ ES) delle medie calcolate sul totale degli strumenti suddivisi per tipologia, portati dalle di *T. immigrans* all'esca alimentare.

In seguito, è stato valutato se vi fosse un andamento temporale nell'uso degli strumenti da parte delle operaie di *T. immigrans*. L'analisi della devianza non è risultata significativa per l'intervallo di tempo ($\chi^2 = 3,36$, $df = 1$, $p = 0,07$), mentre è **risultata significativa per il numero di operaie che trasportavano gli strumenti** ($\chi^2 = 69,71$, $df = 5$, $p < 0,001$). Pertanto, le operaie di *T. immigrans* che hanno trasportato gli strumenti, nei 36 intervalli di tempo, **non hanno seguito un trend temporale**, come mostrato dal grafico in **Fig.89**. In un secondo tempo, è stata svolta la stessa analisi eliminando l'intervallo temporale dal modello, considerando solo il numero di formiche che trasportano gli strumenti. L'analisi della devianza è risultata significativa ($\chi^2 = 69,71$, $df = 5$, $p < 0,001$) e con il Tukey è stato possibile effettuare il *test* per i *post-hoc*. In **Fig.90** è mostrato il grafico dell'analisi.

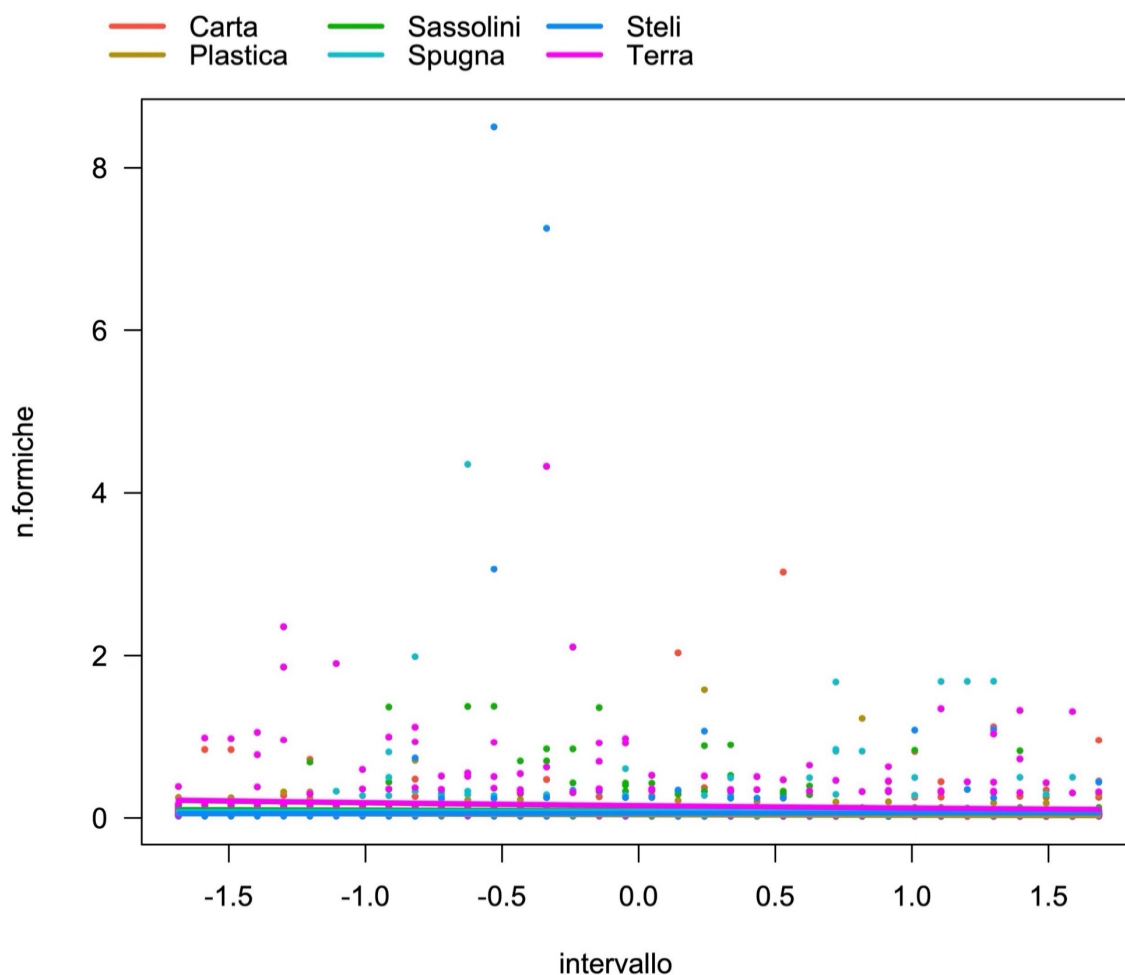


Fig.89 Rappresentazione del numero di operaie di *T. immigrans* che nell'arco dei 36 *scan sampling* hanno trasportato degli strumenti alla *bait*. I punti nel grafico indicano i residui parziali.

Dal grafico si può osservare come ci sia stato un trasporto costante di strumenti alla *bait* in quanto le linee sono tutte parallele fra loro e allo stesso tempo, le rette schiacciate verso il basso indicano come non sia stato seguito un andamento temporale crescente o decrescente per i vari strumenti. Inoltre, si può osservare come i grani di terra, indicati con la linea fucsia, siano stati non solo in generale, ma anche in media per ogni intervallo di tempo, lo strumento costantemente trasportato alla *bait* in misura maggiore.

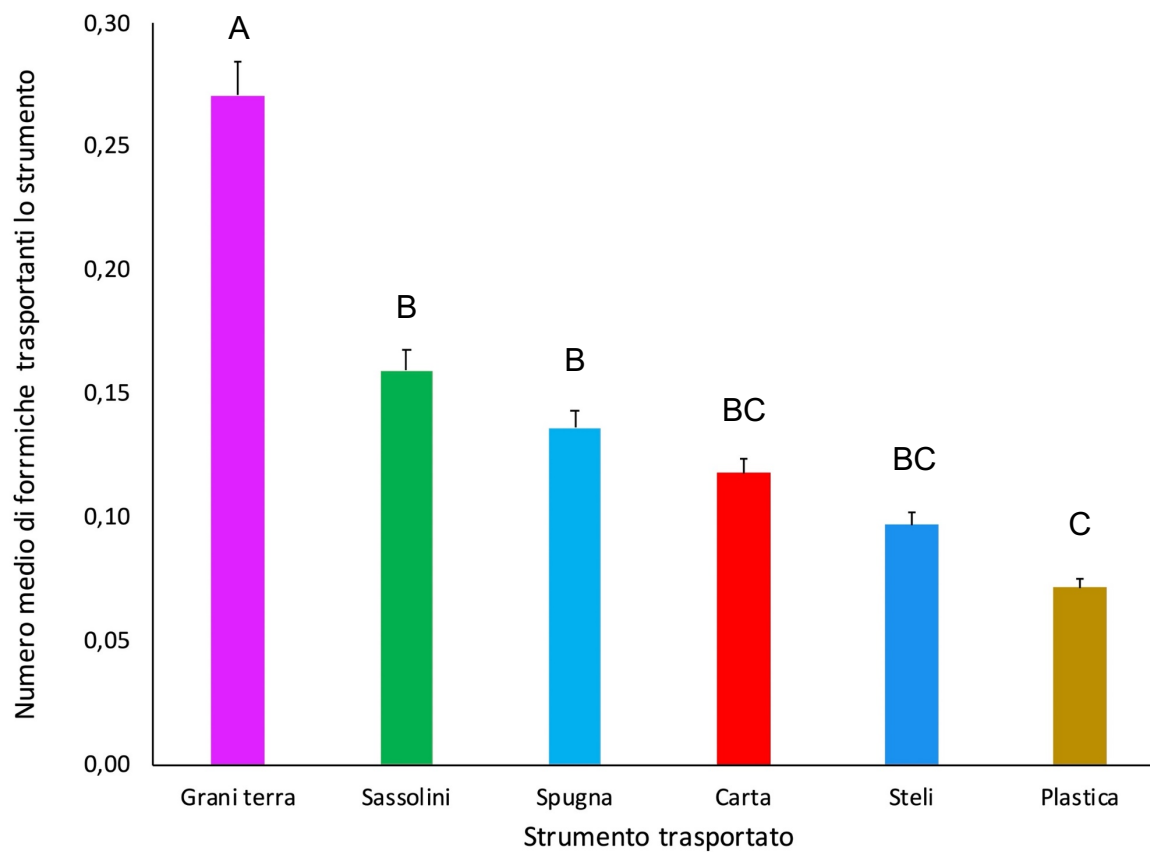


Fig.90 Medie (+ ES) calcolate sul numero delle operaie di *T. immigrans* che hanno trasportato lo strumento durante i 36 *scan sampling*.

Il test di Tuckey ha evidenziato 4 gruppi. Nel primo gruppo si distingue, da tutti gli altri strumenti, la **terra**, la quale **in media è trasportata dal maggior numero di operaie** nei 36 *scan sampling*. Per il secondo, terzo e quarto gruppo, invece, si osserva un *trend* calante nel numero di operaie che hanno trasportato le altre tipologie di strumenti.

6.5.2 Esperimenti di indagine sulla funzione adattativa dell'uso di strumenti in *Tetramorium immigrans*

In Fig.91 sono presentati i grafici che descrivono la scelta della tipologia di strumento operata da formiche affamate vs formiche non affamate.

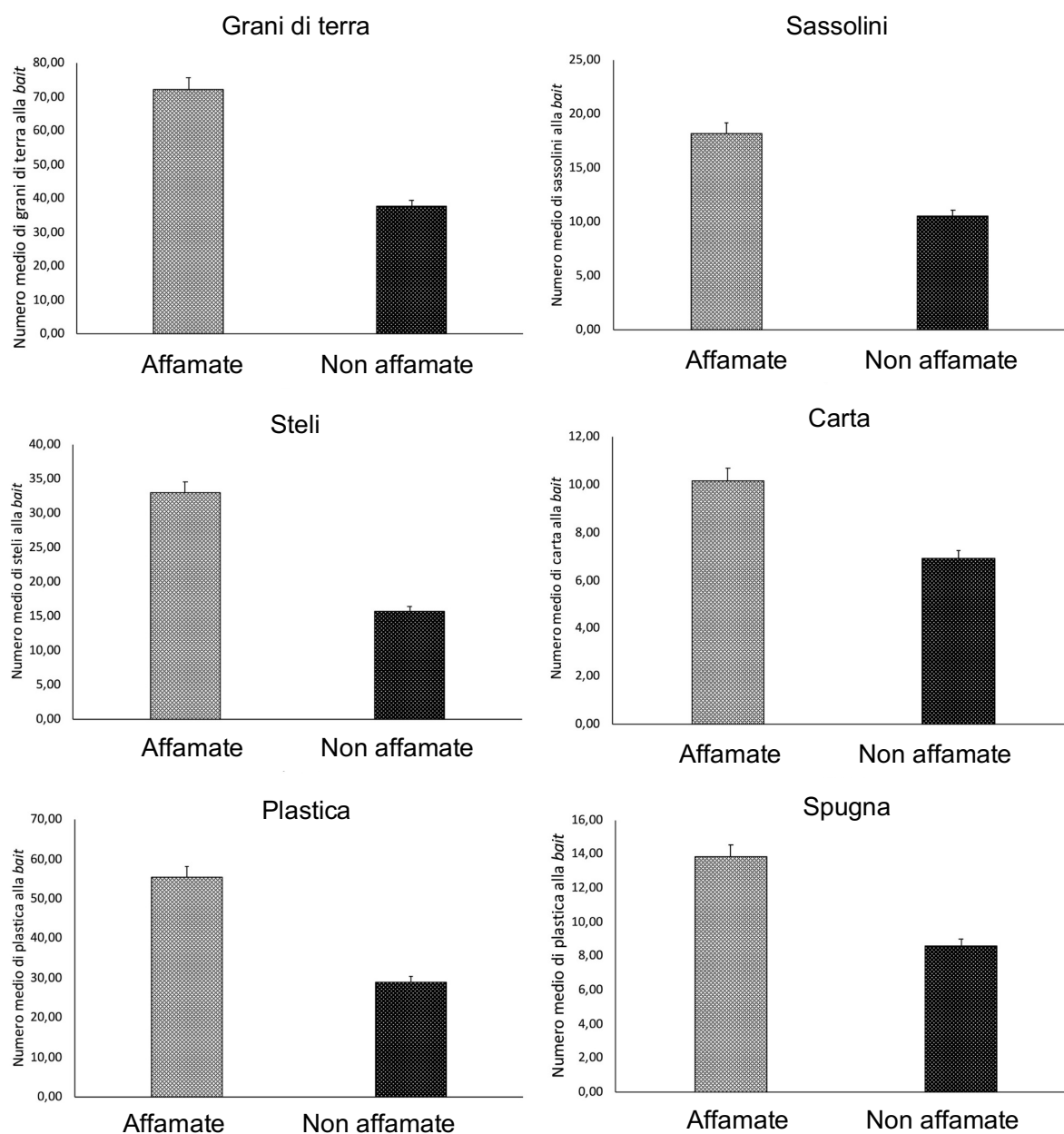


Fig.91 Media (+ ES) del totale degli strumenti suddivisi per tipologia, portati dalle operaie suddivise nei trattamenti, portati all'esca alimentare nelle 12 prove sperimentali.

È stato svolto un GLM sul numero totale di strumenti, senza distinzione di tipologia, portati dalle operaie di *T. immigrans* all'esca alimentare nelle 12 prove sperimentali, suddivise nei due trattamenti "affamate" e "non affamate". L'analisi non è risultata significativa ($F_{(1, 22)} = 1,91$; $p = 0,18$), ovvero **non c'è differenza nell'uso di strumenti per i due trattamenti**. Dopodiché, sono stati svolti singoli GLM **per le 6 tipologie di strumenti**, i quali **non hanno mostrato differenze statisticamente significative tra i due trattamenti**. In **Tab.29** sono riassunti gli esiti delle analisi

Tipologia di strumento	Risultato GLM
Grani di terra	($F_{(1, 22)} = 1,92$; $p = 0,18$)
Sassolini	($F_{(1, 22)} = 0,84$; $p = 0,37$)
Steli	($F_{(1, 22)} = 2,64$; $p = 0,12$)
Carta	($F_{(1, 22)} = 0,46$; $p = 0,50$)
Plastica	($F_{(1, 22)} = 2,02$; $p = 0,17$)
Spugna	($F_{(1, 22)} = 1,31$; $p = 0,26$)

Tab.28 Esiti delle analisi svolte sulle somme dei singoli strumenti portati dalle operaie di *T. immigrans*, dei trattamenti "affamate" e "non affamate", all'esca alimentare per le 12 repliche sperimentali.

Infine, è stato valutato se vi fosse un andamento temporale nell'uso degli strumenti da parte delle operaie di *T. immigrans* appartenenti ai trattamenti "affamate" e "non affamate". Per il **trattamento "affamate"**, l'analisi della devianza, svolta sul modello additivo non è risultata significativa per l'intervallo di tempo ($\chi^2 = 1,23$, $df = 1$, $p = 0,26$), mentre è risultata significativa per il numero di operaie che trasportavano gli strumenti ($\chi^2 = 53,91$, $df = 5$, $p < 0,001$), come mostrato nel grafico in **Fig.92**. In seguito, è stata svolta la stessa analisi eliminando dalla formula del modello l'intervallo temporale, considerando solo il numero di formiche che trasportano gli strumenti. L'**analisi della devianza è risultata significativa** ($\chi^2 = 53,91$, $df = 5$, $p < 0,001$) e mediante il Tukey è stato possibile effettuare il *test* per i *post-hoc*. In **Fig.93** è mostrato il grafico dell'analisi.

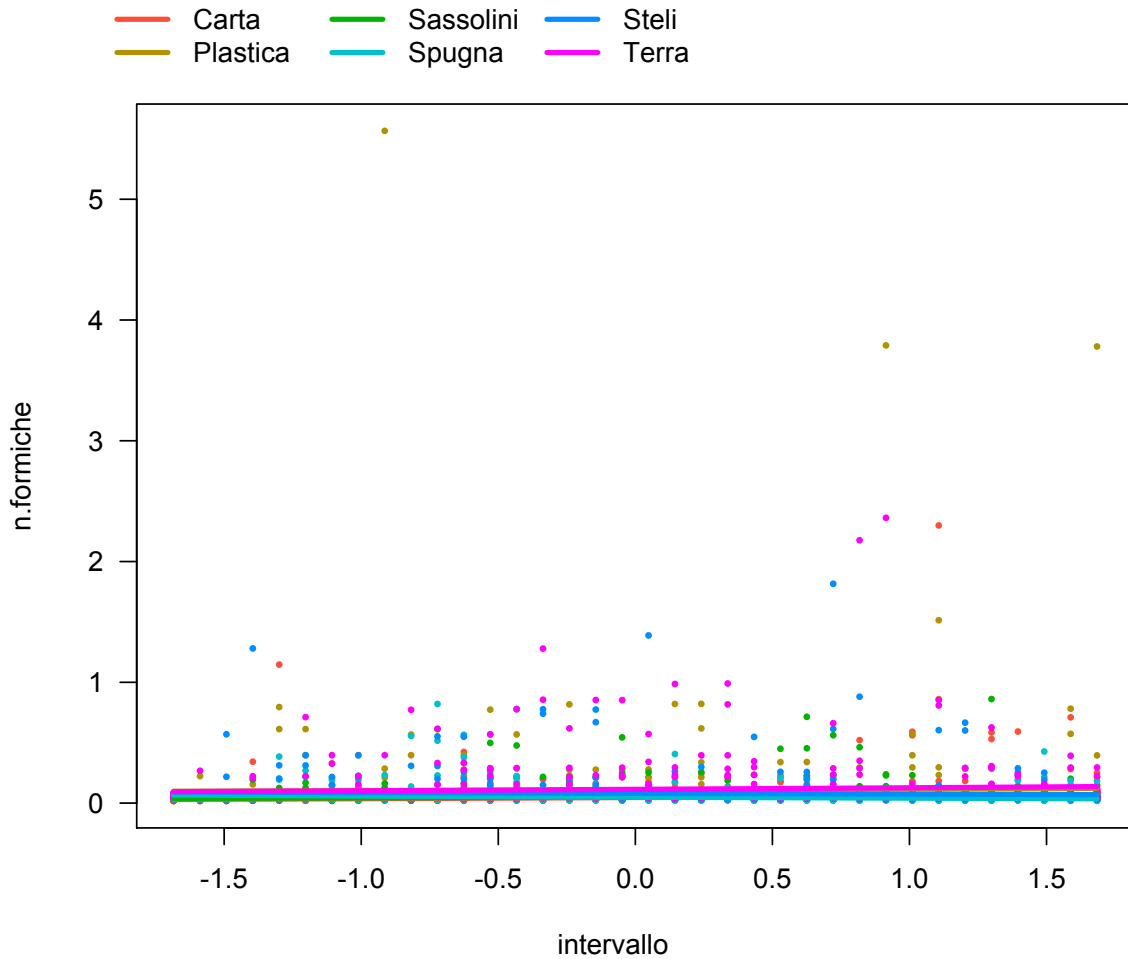


Fig.92 Rappresentazione del numero di operaie di *T. immigrans affamate* che nell'arco dei 36 *scan sampling* hanno trasportato degli strumenti alla *bait*. I punti nel grafico indicano i residui parziali.

Si può osservare come ci sia stato un trasporto costante di strumenti alla *bait*, in quanto le linee sono tutte parallele fra loro, ma il fatto che siano tutte schiacciate verso il basso indica che non vi è stato un andamento temporale crescente o calante per il trasporto degli strumenti. Si può invece osservare che i grani di terra, indicati con la linea fucsia, siano stati, in media, lo strumento maggiormente trasportato all'esca alimentare.

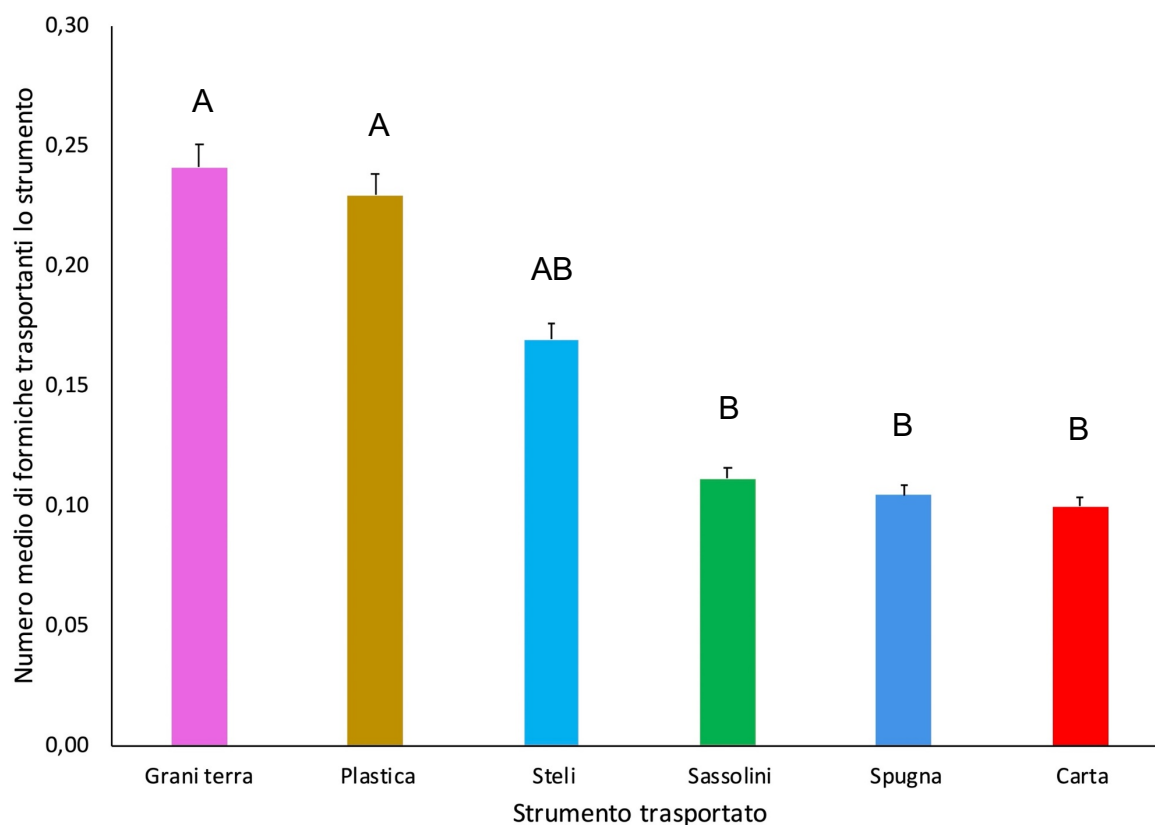


Fig.93 Medie (+ ES) calcolate sul numero delle operaie di *T. immigrans* **affamate** che hanno trasportato lo strumento durante i 36 *scan samplign*.

Il test Tuckey ha evidenziato tre gruppi. **Terra e plastica, in media, sono state trasportate da più operaie.** A seguire, gli steli appartengono al secondo gruppo, mentre sassolini, spugna e carta sono stati, in media, gli strumenti meno trasportati nei singoli scan sampling.

La stessa analisi è stata ripetuta per le formiche appartenenti al **trattamento “non affamate”**. L’analisi della devianza svolta sul modello additivo non è risultata significativa per l’intervallo di tempo ($\chi^2 = 5,74$, $df = 1$, $p = 0,06$), mentre è risultata significativa per il numero di operaie che trasportavano gli strumenti ($\chi^2 = 24,21$, $df = 5$, $p < 0,001$). In **Fig.94** è riportato il grafico dell’analisi. È stata poi svolta la stessa analisi eliminando l’intervallo temporale, per osservare quale strumento potesse differenziarsi dagli altri. Pertanto è stato considerato solo il numero di formiche che hanno trasportano gli strumenti. **L’analisi della devianza è risultata significativa** ($\chi^2 = 24,21$, $df = 5$, $p < 0,001$) e mediante il Tukey è stato possibile effettuare il *test* per i *post-hoc*. In **Fig.95** è mostrato il grafico dell’analisi.

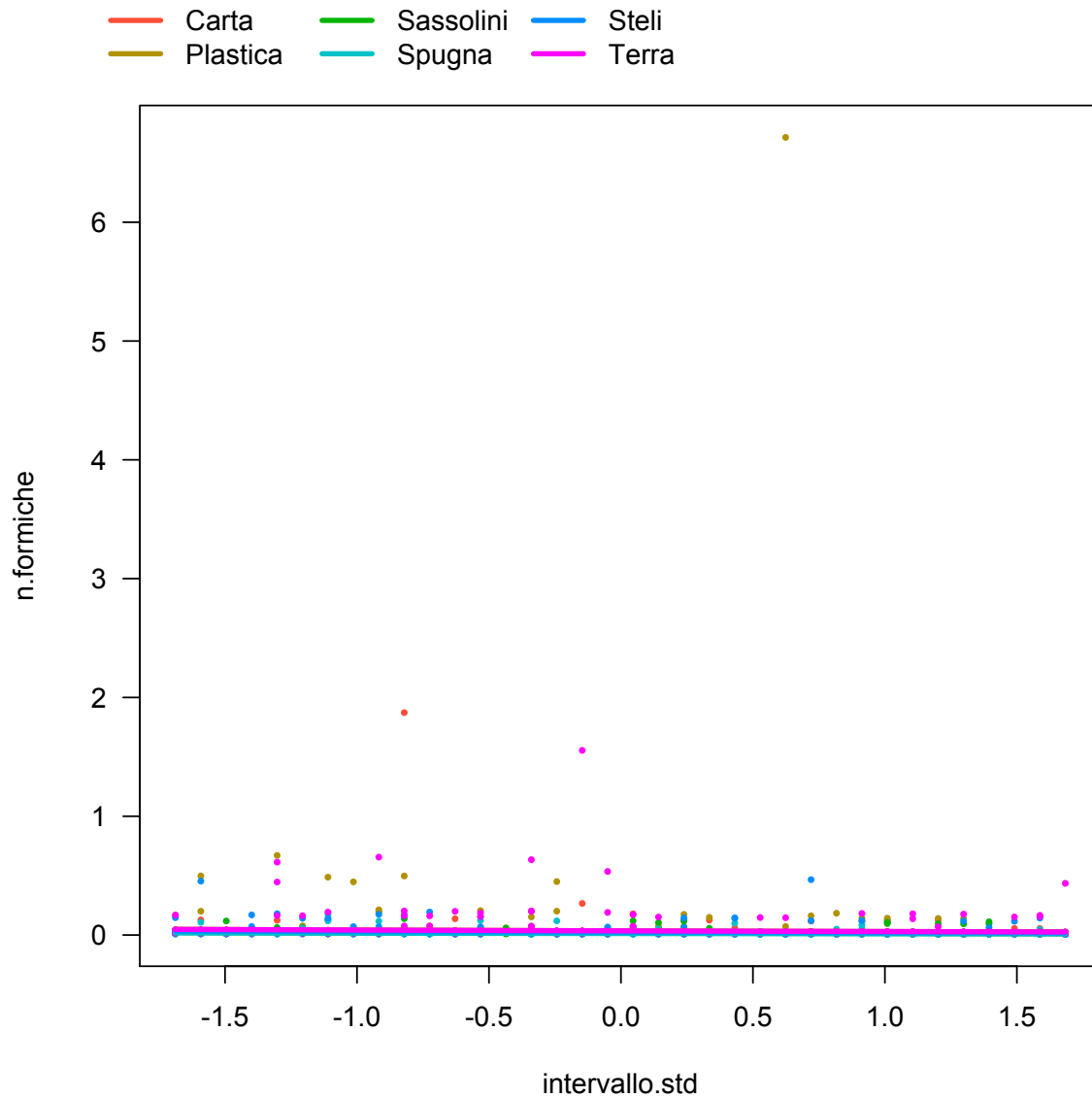


Fig.94 Rappresentazione del numero di operaie di *T. immigrans non affamate*, che nell'arco dei 36 *scan sampling* hanno trasportato degli strumenti alla *bait*. I punti nel grafico indicano i residui parziali.

Si può osservare che ci sia stato un trasporto costante di strumenti alla *bait*, in quanto le linee sono tutte parallele fra loro, ma, ancora una volta, il fatto che siano tutte e schiacciate verso il basso dimostra che non sussiste un andamento temporale. Si può osservare anche come, anche per questo trattamento, i grani di terra, indicati con la linea fucsia, siano stati in generale lo strumento maggiormente trasportato.

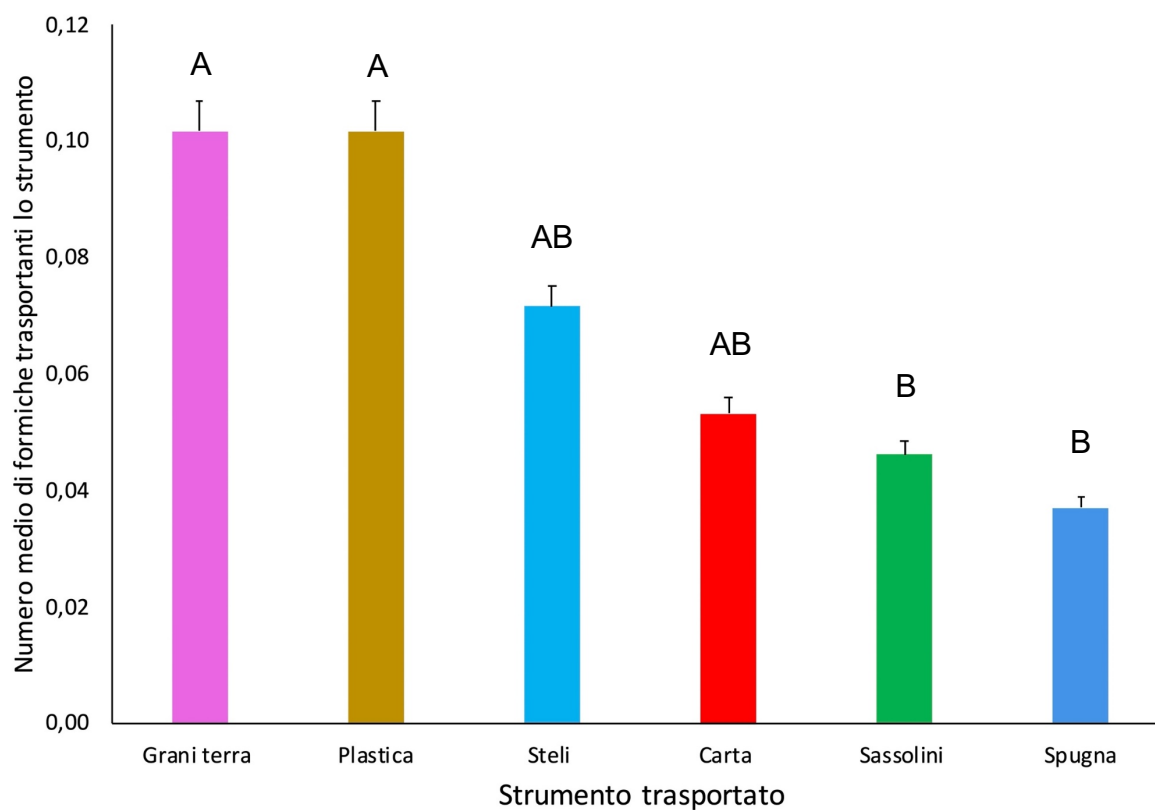


Fig.95 Medie (+ ES) calcolate sul numero delle operaie di *T. immigrans non affamate* che hanno trasportato lo strumento durante i 36 *scan samplign*.

Come per il trattamento “affamate”, anche in questo caso, il test Tuckey ha evidenziato tre gruppi. Come in precedenza, anche in questo caso, **terra e plastica, in media, sono state trasportate da più operaie**. A seguire, steli e carta si trovano nel secondo gruppo, mentre sassolini e spugna, nel terzo gruppo, sono i materiali trasportati, in media, da meno operaie.

6.6 DISCUSSIONE

Nel mondo animale, la capacità di utilizzare degli strumenti è stata a lungo associata solo all'uomo e ad altri pochi vertebrati (van Schaik *et al.*, 1999; Boire *et al.*, 2002; Bird & Emery, 2009; Bentley-Condit & Smith 2010), in parte anche a causa **dell'ambiguità nella definizione di “uso di strumenti”** (Alcock, 1972; Beck, 1980; Mainardi, 1982; St. Amant & Horton, 2008). Infatti, il raggiungimento di una definizione univoca di “uso strumenti”, di cosa può essere considerato o meno uno “strumento” e delle motivazioni che portano le specie a utilizzarli rappresentano questioni ancora aperte (Chappell & Kacelnik, 2002; Wimpenny *et al.*, 2009; Bentley-Condit & Smith 2010; Manrique *et al.*, 2010). Pertanto, per alcuni modelli di studio è già stata approfondita la conoscenza in questo ambito, mentre per molti altri (tra cui diversi phyla di invertebrati) le informazioni sono scarse o del tutto mancanti (Wheeler, 1910; Hölldobler e Wilson, 1990; Durán, 2011). **Attualmente, è noto che l'uso di strumenti è un comportamento presente anche tra gli invertebrati**, in particolare tra gli insetti, come le formiche (Lin, 1964; Fellers 1976; McDonald, 1984; Banschbach *et al.*, 2006 Lőrinczi, 2014; Maák *et al.*, 2016; Lőrinczi *et al.*, 2018; Módra *et al.*, 2020; Wen, *et al.*, 2020; Módra *et al.*, 2020; Módra *et al.*, 2021). Da osservazioni svolte in campo con le *bait*, nella stagione primaverile-estiva del 2019, è stato osservato che la specie *T. immigrans* portava, talvolta, piccoli detriti di terra o vegetali all'esca alimentare, giungendo in alcuni casi a ricoprirli per intero. Poiché la letteratura sull'argomento è attualmente molto scarsa (Lin, 1964; Schultz, 1982), si è deciso di indagare questo comportamento esibito da *T. immigrans*, attraverso esperimenti *ad-hoc* svolti in condizioni di laboratorio.

Inizialmente, è stato osservato se *T. immigrans* fosse l'unica specie in grado di usare gli strumenti che aveva a disposizione, confrontandola con alcune specie simpatriche, ovvero *C. scutellaris*, *L. paralienus* e *T. magnum*. Dagli esperimenti è emerso che le specie ***C. scutellaris* e *L. paralienus* non hanno portato alcuno strumento alla risorsa alimentare**, mentre, oltre a *T. immigrans*, la specie ***T. magnum* ha trasportato qualche strumento** alla risorsa alimentare. Tuttavia, i risultati hanno evidenziato che il comportamento descritto è stato espresso con **maggiore frequenza da *T. immigrans*** non solo considerando gli strumenti in generale, ma anche per quanto riguarda le singole tipologie di materiali, a eccezione di steli e spugna. Infatti, *T. immigrans* ha trasportato un numero di oggetti 4 volte superiore a quello portato da *T. magnum*. In generale, in letteratura non sono riportati studi riguardanti l'uso di strumenti per la specie *T. magnum*, ma queste prime osservazioni potrebbero offrire dei nuovi

spunti sulla capacità di competere per le risorse alimentari per queste due specie. Infatti, *T. magnum* e *T. immigrans* possono condividere la stessa tipologia di *microhabitat* ed essere, pertanto, competitori diretti (Bolton, 1980; Buczkowski & Richmond, 2012; Dekoninck *et al.*, 2015; Gippet *et al.*, 2017; Wagner *et al.*, 2017; Bračko, 2019; D'Eustacchio *et al.*, 2019). Dunque, come suggerito in studi precedenti (McDonald, 1984; Lőrinczi *et al.*, 2014; 2018; Gomes *et al.*, 2019), l'utilizzo di strumenti da parte delle formiche deve essere considerato come campo di studio di interesse qualora si vogliano osservare e confrontare le abilità di una o più specie nella competizione per le risorse (alimentari, territorio, materiale per il mantenimento delle colonie).

In seguito, è stato osservato se *T. immigrans* potesse avere una preferenza per la natura degli strumenti a lei forniti, ovvero se preferiva trasportare strumenti di origine naturale o di origine artificiale. Anzitutto, è stato osservato che ***T. immigrans* ha trasportato tutte le tipologie di strumenti** alla bait. Inoltre, l'analisi **non ha mostrato una preferenza per l'origine degli strumenti**, evidenziando come la natura dello strumento non sia stata un fattore discriminante per la sua scelta e utilizzo. In seguito, è stato osservato se vi fosse una preferenza per uno strumento specifico ed è emerso che, in media, la **terra** è stato lo **strumento maggiormente trasportato** all'esca alimentare. In seguito, è stato osservato se vi fosse un particolare andamento temporale per il trasporto delle diverse tipologie di strumenti da parte di *T. immigrans*. In realtà non si è evidenziato un **cambio di preferenze nel tempo per la tipologia di strumento** trasportato, ovvero **non è stato evidenziato alcun trend**. Al contrario, prendendo in esame solo il numero di operaie associate al tipo di strumento portato alla *bait*, togliendo pertanto il tempo dall'analisi, è risultato che la **terra è stata trasportata, in media, dal maggior numero di operaie** in ogni *scan sampling*. Pertanto, è possibile osservare che, benché sia assente una preferenza per l'origine naturale o artificiale degli strumenti e *T. immigrans* abbia trasportato alla *bait* tutte le tipologie di oggetti, sembra che la terra sia lo strumento preferito. Questo risultato potrebbe essere spiegato dal fatto che *T. immigrans* è una formica terricola, che costruisce i propri formicai in terreni sassosi, prati abbandonati e tra le fessure del cemento all'interno delle aree urbane (Bolton, 1980; Buczkowski & Richmond, 2012; Gippet *et al.*, 2017; Wagner *et al.*, 2017). La terra è dunque lo strumento con il quale questa formica ha, naturalmente, più familiarità. Comunque, l'utilizzo di vari tipi di strumenti, osservato anche per la specie *Messor structor* (Latreille, 1798) (Módra *et al.*, 2021), potrebbe indicare una grande plasticità da parte di *T. immigrans* nel manipolare materiali differenti. Questo potrebbe rappresentare un vantaggio competitivo per una specie che vive in un

ambiente eterogeneo come quello urbano, all'interno del quale si possono ritrovare detriti e scarti alimentari di varia natura (Pećarević *et al.*, 2010; Penick *et al.*, 2015).

È stata poi esaminata la **funzione adattativa dell'uso di strumenti in *T. immigrans*** confrontando l'uso di strumenti in operaie affamate e non affamate, in quanto è stato indagato se, come osservato in uno studio precedente (Qin *et al.*, 2018), un diverso grado di affamamento potesse sostenere l'**ipotesi del burying**, ovvero il comportamento per il quale gli animali seppelliscono il cibo. Infatti, è noto che alcune specie, quando non più affamate, seppelliscono la risorsa alimentare per poi sfruttarla in un secondo momento (Abbot & Quirk, 1969; Hayashida, 1989, Zong *et al.*, 2010; Qin *et al.*, 2018). Seguendo questa ipotesi, i risultati attesi hanno considerato che le formiche poste a digiuno consumassero direttamente la risorsa, mentre le formiche non affamate utilizzassero gli strumenti a disposizione per seppellire la risorsa alimentare. Inoltre, in questi esperimenti sono stati forniti gruppi di **strumenti misti** con il fine di osservare se le operaie di *T. immigrans* selezionassero comunque uno o più strumenti preferiti. I risultati ottenuti hanno mostrato una situazione differente dall'atteso, in quanto **i due trattamenti non hanno mostrato differenze** in termini di **numero di strumenti trasportati** all'esca alimentare. Come in precedenza, **non** si è evidenziato un **cambio di preferenze nel tempo per la tipologia di strumento** trasportato, ma è stato osservato che **la terra e la plastica sono stati gli strumenti trasportati, in media, dal maggior numero di operaie** in ogni *scan sampling*. Infine, al termine delle tre ore sperimentali è stato anche verificato se all'interno dei nidi vi fossero degli strumenti. **Non è mai stato ritrovato nessun strumento all'interno del nido** delle operaie, né tantomeno, è mai stato osservato il comportamento di imbibizione dello strumento e suo trasporto al nido da parte delle operaie di *T. immigrans* (Fellers 1976; Banschbach *et al.*, 2006; Lőrinczi, 2014; 2018; Maák *et al.*, 2016; Módra *et al.*, 2020; 2021).

Dunque, i risultati indicano che l'**ipotesi del burying**, come spiegazione della funzione di questo uso di strumenti, sia **da rifiutare**, diversamente da quanto osservato per la specie *S. invicta* (Qin *et al.*, 2018). Un'altra ipotesi, che può essere formulata e che dovrà essere verificata con appositi esperimenti, considera invece che le operaie di *T. immigrans* possano trasportare piccoli detriti per non rimanere invischiati nella sostanza liquida, che costituisce una potenziale minaccia, come l'olio dell'esca alimentare. Infatti, i detriti portati all'esca alimentare potrebbero fungere da "*stepping stone*", ovvero punti d'appoggio per non rimanere invischiati nella sostanza liquida come osservato per altre specie di formiche (McDonald, 1984; Lőrinczi *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2017; Wen *et al.*, 2020). Inoltre, un'altra ipotesi potrebbe considerare il trasporto di piccoli detriti alla risorsa alimentare come strategia per limitarne o

impedirne lo sfruttamento da parte di un'altra specie competitorice. Per questa ipotesi mancano esempi in letteratura e, pertanto, dovrebbe essere comprovata attraverso esperimenti mirati nell'ambito della competizione per le risorse alimentari, nei quali *T. immigrans* è posta a confronto con una specie opponente. Studi ed esperimenti futuri che vorranno indagare l'uso di strumenti in *T. immigrans* potrebbero osservare se tale comportamento è espresso dalle operaie di questa specie solo nell'ambito del foraggiamento alla risorsa alimentare o se vi possano essere anche altri contesti che promuovono il trasporto dei detriti. Per esempio, potrebbe essere osservato se esiste una soglia minima di sostanza liquida per la quale le operaie non sono, o sono indotte al trasporto degli strumenti, se esiste una distanza minima che possa promuovere o meno il trasporto degli strumenti, se reagiscono anche a sostanza non alimentari e se possa esistere un numero minimo di operaie grazie al quale questo comportamento è promosso.

CAP 7 ~ CONCLUSIONI GENENERALI

Generalmente, l'**urbanizzazione** è considerata come uno dei maggiori processi di trasformazione degli *habitat* (Beninde *et al.*, 2015; Melliger *et al.*, 2017) e se ne studiano principalmente gli effetti negativi che quest'ultima apporta all'ambiente (Alberti *et al.*, 2003; Johnson & Munshi-South, 2017, Braschler *et al.*, 2021). Anche la maggior parte degli studi svolti in ambiente urbano si è concentrata sull'impatto negativo che l'urbanizzazione procura agli ecosistemi e alla biodiversità (Beninde *et al.*, 2015). Infatti, le aree urbane sono generalmente considerate povere di *habitat* naturali e di specie, anche se, in realtà, diversi studi hanno dimostrato il contrario, portando l'attenzione su come questi spazi così eterogenei possano, invece, giocare un ruolo importante nella conservazione della biodiversità grazie alle aree verdi urbane (Niemelä, 1999; Beninde *et al.*, 2015; Aronson *et al.*, 2017; Braschler *et al.*, 2021). Questi spazi assumono pertanto un ruolo di primo piano, sia da un punto di vista naturalistico sia da un punto di vista socio-culturale (Mitchell & Popham, 2008; Tian & Wang, 2014). Dunque, nell'ottica di rendere le città nuovi centri per la conservazione della biodiversità, è importante **gestire correttamente gli spazi verdi urbani** (Aronson *et al.*, 2017) e, di conseguenza, diviene fondamentale comprendere e misurare i livelli di biodiversità in essi esistenti mediante studi che coinvolgano bioindicatori (Buczowski & Richmond, 2012; Santorufo *et al.*, 2012; Júnior *et al.*, 2015; Lettoof *et al.*, 2020; Bernat-Ponce *et al.*, 2021).

In particolare, tra i diversi organismi **bioindicatori**, insetti come le formiche sono ritenuti degli ottimi candidati per valutare lo stato della qualità ambientale (Andersen *et al.*, 2002; Urbini *et al.*, 2006; Underwood & Fisher, 2006; Castracani *et al.*, 2010; Suheryanto *et al.*, 2018). Inoltre, molte specie di **formiche** sono ben adattate agli *habitat* urbani e possono offrire valide informazioni circa lo stato di salute delle città (Yamaguchi, 2004; Angilletta *et al.*, 2007; Menke *et al.*, 2011; Buczowski & Richmond, 2012; Nooten *et al.*, 2019). Di recente, studi riguardanti l'ambiente urbano hanno interessato le **specie del complesso *Tetramorium caespitum*** (Cordonnier *et al.*, 2019a; b; 2020a). Le formiche del complesso *T. caespitum* sono tra le specie europee più abbondanti e distribuite in diversi ambienti, compreso quello urbano. Recentemente, una revisione svolta sulla tassonomia del complesso, ha identificato 11 specie rispetto alle 2 riconosciute in precedenza (Wagner *et al.*, 2017) e, nel 2021, ne è stata identificata una dodicesima (Seifert, 2021). Queste specie sono morfologicamente simili fra loro e possiedono anche una certa variabilità intraspecifica che le rende difficilmente distinguibili a occhio nudo, ma identificabili con accurate analisi morfometriche e genetiche. L'importanza della revisione e dell'identificazione di queste specie consente di possedere informazioni su quelle presenti negli ambienti sia naturali che urbani. Soprattutto, per quanto riguarda gli ambienti urbani, due specie in particolare sono indicate come ben adattate a questi

habitat, ovvero *T. caespitum* s.s. e *T. immigrans* (Gippet *et al.*, 2017; Wagner *et al.*, 2017; Cordonnier *et al.*, 2019a; b; Cordonnier *et al.*, 2020a), le quali possono candidarsi come utili organismi per il monitoraggio delle aree verdi urbane. Principalmente, gli studi svolti su queste due specie provengono dalla Francia (Gippet *et al.*, 2017; Cordonnier *et al.*, 2019a; b; Cordonnier *et al.*, 2020a), pertanto la situazione italiana rimane a oggi ancora poco indagata, sebbene vi siano indicazioni della presenza di queste specie anche in città italiane come Parma (Lucky *et al.*, 2014; Castracani *et al.*, 2020).

Pertanto, lo **scopo** del mio progetto di Dottorato è stato quello di **valutare gli adattamenti eto-ecologici delle specie del complesso *T. caespitum* all'ambiente urbano e la loro efficacia come indicatori di questo *habitat***. Sono state individuate 3 linee di ricerca volte a indagare gli ambiti di interesse dello scopo.

Nel **capitolo 3** si è valutato l'**effetto della categoria delle aree verdi urbane sulla comunità delle formiche e, in particolare, sulle specie del complesso *T. caespitum***. Per raggiungere gli obiettivi è stato svolto uno studio di campo in 12 aree verdi urbane suddivise in due categorie, i **piazzali verdi** (copertura vegetazionale minore) e le **aree verdi** (copertura vegetazionale maggiore). Sono state confrontate le comunità di formiche presenti all'interno delle due categorie per valutare l'effetto della tipologia di area verde sulla comunità delle formiche e sulle specie del complesso *T. caespitum*, sia in termini di dominanza numerica (frequenza e abbondanza) sia di dominanza comportamentale (abilità comportamentali). Per la valutazione della dominanza numerica è stata utilizzata la metodologia delle *pitfall*, con le quali è stato anche possibile definire una nuova *check-list* delle specie di formiche urbane. Nella *check-list* sono state identificate **23 specie**, tutte autoctone. Il ritrovamento delle 23 specie è da considerarsi un buon risultato se paragonato a quello ottenuto in altri studi in contesto urbano dove lo sforzo di campionamento è stato da due o otto volte superiore e dove, invece, il numero di specie osservate è stato inferiore o di poco superiore alle 23 qui osservate (Clark *et al.*, 2008, Uno *et al.*, 2010; Slipinski *et al.*, 2012; Carpintero & Lopez, 2014; Reyes-López & Carpintero, 2014). Inoltre, i risultati hanno fornito una prima indicazione relativa all'idoneità delle aree verdi come siti per la conservazione della biodiversità urbana rispetto ai piazzali verdi. Infatti, lo studio ha dimostrato che **le comunità sono influenzate dalla tipologia di area verde** e che, in linea generale, l'abbondanza e la frequenza delle specie diminuisce passando dalla comunità delle aree verdi a quella dei piazzali verdi. Nelle aree verdi è stato ritrovato quasi il doppio delle specie presenti nei piazzali verdi e questo risultato si pone in linea con quanto proposto dalla "*habitat heterogeneity hypothesis*" (McArthur & McArthur, 1961; McArthur & Wilson, 1967) nella quale si propone che, *habitat* strutturalmente complessi, come le aree verdi del

presente studio, possano fornire una maggiore varietà di nicchie e risorse sostenendo così le specie al loro interno. Specificatamente, i risultati sulla valutazione della dominanza numerica sulle specie del complesso *T. caespitum* hanno evidenziato come, ***T. immigrans*, unica specie del complesso presente nelle aree verdi urbane, sia risultata la specie dominante.** La particolarità di questa specie è stata però quella di essere più abbondante e diffusa nei piazzali verdi, ovvero le aree a minor copertura vegetazionale, dimostrando un *trend* opposto a quello mostrato dalle altre specie. Questo risultato è in accordo con altri studi nei quali è stato dimostrato che questa specie occupa più frequentemente *habitat* disturbati e semplificati (Lucky *et al.*, 2014; Gippet *et al.*, 2017; Cordonnier *et al.*, 2019a; 2020). Inoltre, questo risultato suggerisce che ***T. immigrans* possa essere considerata anche un buon indicatore per il monitoraggio delle suddette aree, in quanto risente dell'influenza della categoria di area verde urbana e del tipo di comunità in essa presente.** Infatti è probabile che, negli ambienti eterogenei come le aree verdi, rispetto ai piazzali verdi, la competizione interspecifica, uno dei principali fattori che modellano la struttura di comunità, assuma un peso maggiore e questo può limitare la diffusione di specie opportuniste e più adattate agli ambienti disturbati (Andersen, 1992; Cerdà *et al.*, 1998b, Cerdà *et al.*, 2012, Rowles & O'Dowd, 2007; Santini *et al.*, 2007; Achury *et al.*, 2020 Lach *et al.*, 2010). Per la valutazione della dominanza comportamentale, invece, sono state confrontate le abilità comportamentali delle specie sia fra di loro sia rispetto alla categoria di verde urbano nell'ambito della competizione per le risorse alimentari. In questo caso, è stata utilizzata la metodologia delle *bait*, conducendo *scan sampling* per registrare le abbondanze specifiche e *focal sampling* per osservare le interazioni interspecifiche attraverso la registrazione di moduli comportamentali standard (attacco e evitamento). Il fine è stato quello di stimare la dominanza comportamentale sia mediante il calcolo di indici comportamentali, quali il *Discovery Ability Index* e il *Monopolisation Index*, sia attraverso la valutazione della presenza di gerarchie di dominanza. I risultati hanno mostrato che, in generale, l'abilità di monopolizzazione della risorsa è legata alla maggior presenza e diffusione della specie all'interno dell'*habitat* e che, questo *trend* è stato soprattutto guidato da ***T. immigrans***, la quale è stata osservata essere **la specie più abile nel monopolizzare le esche alimentari in entrambe le categorie di area verde.** Infatti, è probabile che la sua elevata dominanza numerica possa essere la spiegazione del suo grande successo nella competizione per le risorse. A tal proposito, studi condotti sulle strategie di foraggiamento attuate dal genere *Tetramorium* indicano che queste formiche adottano il reclutamento di massa (Lachaud, 1985; Beckers *et al.*, 1989), il quale potrebbe effettivamente averne decretato il successo nella monopolizzazione delle esche. L'abilità di scoperta delle *bait*, invece, è stata influenzata dalla

categoria di area verde e, per quanto riguarda *T. immigrans*, è stata **la specie più abile nella scoperta delle risorse nei piazzali verdi**. Pertanto, anche questo risultato supporta l'ipotesi che una specie ruderale come *T. immigrans* sia avvantaggiata in ambienti più impattati, in cui l'abilità nella competizione con le altre specie assume un ruolo di secondo piano rispetto alla capacità di adattarsi al disturbo antropico. Inoltre, un altro importante risultato è stato quello di osservare come, all'interno delle strutture delle due comunità **non esista una gerarchia di dominanza basata sulla competizione diretta**, evidenziando l'assenza di specie marcatamente più aggressive. Infatti, alcuni autori sostengono che si debba abbandonare il concetto di comunità come entità statiche, regolate da gerarchie lineari, ma di considerarle come reti dinamiche costituite da specie interagenti fra loro (Stuble *et al.*, 2017). Per quanto riguarda *T. immigrans*, è stato registrato il **maggior numero di interazioni interspecifiche**, sebbene gli **esiti siano stati di scarso successo**. È dunque probabile che il grande numero di interazioni osservate sia dovuto non tanto alla manifestazione di una maggiore aggressività, quanto alla sua ampia abbondanza che le ha permesso di registrare più scontri rispetto alle altre specie. In conclusione, è stato osservato che, la diversa categoria di area verde ha influito sull'abbondanza, sulla distribuzione e sull'abilità di competizione delle diverse specie. Per il futuro, però, sarà necessario effettuare ulteriori studi di comunità. Per esempio, si potrebbe estendere l'area di campionamento verso la periferia di Parma, considerando aree presenti in ambiente rurale (Gippet *et al.*, 2017). Inoltre, questo potrebbe permettere di verificare se esiste un gradiente di distribuzione di *T. immigrans*, in quanto è stato osservato che più ci si allontana dalla matrice urbana, meno questa specie è diffusa, lasciando invece spazio a *T. caespitum* s.s. (Gippet *et al.*, 2017; Cordonnier *et al.*, 2019a; b). Oltretutto, per avere maggiori informazioni sulla distribuzione delle specie del complesso *T. caespitum*, si potrebbero considerare aree con destinazione d'utilizzo diversa (quartieri residenziali, industriali, commerciali) (Pacheco e Vasconcelos, 2006). Lo studio potrebbe poi essere applicato ad aree verdi urbane di altre città italiane con latitudini e altitudini diverse da quelle di Parma. Questo permetterebbe di osservare se la dominanza di *T. immigrans* è generalizzata oppure se ci sono differenze in base alla variazione dei parametri ambientali (Cordonnier *et al.*, 2019). Infine, si potrebbero concentrare gli sforzi di campionamento in periodi dell'anno differenti da quello estivo, verificando se variazioni di parametri come temperatura e precipitazioni possano influenzare le specie presenti nelle aree verdi urbane. È dunque possibile che si debba intervenire con un approccio integrato, considerando sia studi sulla struttura dell'*habitat* (specie vegetali, arboree ed erbacee, tipologia di suolo), sia studi che possano associare la distribuzione delle specie in funzione dei differenti usi di destinazione delle aree verdi e sulla base dei valori dei parametri

ambientali registrati nel corso della giornata o della stagione di campionamento. Nello specifico, per quanto riguarda *T. immigrans*, ulteriori investigazioni sono state condotte nel presente studio (cap. 5), soprattutto per chiarire la strategia competitiva utilizzata da questa specie nell'ambito della competizione per le risorse, per capire se essa è dominante solo da un punto di vista numerico o se le abilità comportamentali possono giocare un qualche ruolo. Pertanto è stato svolto un *focus* sull'aggressività che questa specie può esprimere nelle interazioni interspecifiche (cap. 5).

Nel **capitolo 4** è stato sviluppato un **protocollo di riconoscimento tassonomico** per le specie del complesso *T. caespitum*. Per raggiungere tale obiettivo, in parallelo alle osservazioni condotte nelle aree verdi urbane di Parma, sono stati analizzati i campioni raccolti durante la suddetta linea ricerca (cap. 3). Lo studio sul riconoscimento delle specie del complesso *T. caespitum* è stato condotto in quanto le informazioni sulla presenza di queste ultime risalivano a prima della revisione sistematica del 2017 (Lucky *et al.*, 2014; Wagner *et al.*, 2017) e, pertanto, ci si è chiesti quali specie del complesso fossero presenti nelle aree verdi urbane di Parma. Per il riconoscimento delle specie sono state condotte misurazioni morfometriche, seguendo la procedura metodologica presente in Wagner *et al.*, 2017. Il protocollo ha analizzato sia i campioni raccolti con le *pitfall* sia quelli raccolti con le *bait*. La sfida principale è stata rappresentata dai campioni raccolti con le *pitfall*, in quanto potevano raggruppare al loro interno individui di *Tetramorium* spp. provenienti da nidi diversi e quindi potenzialmente di specie differenti. Per i campioni raccolti con le *bait*, invece, la provenienza della colonia è stata accertata, in quanto sono stati prelevati al termine delle osservazioni condotte con questa metodologia. Infatti, il protocollo è stato pensato per il riconoscimento di un numero di campioni elevato e per i quali non è possibile conoscere la colonia d'origine: consisteva in una sequenza di **5 step** che permetteva l'identificazione di un singolo campione in un'ora circa. Il protocollo si è rivelato altamente efficace e *T. immigrans* è risultata essere l'unica specie del complesso presente nelle aree verdi di Parma.

Nel **capitolo 5** sono stati studiati gli **adattamenti comportamentali della specie *T. immigrans***, che la rendono vincente nella **competizione interspecifica per la risorsa alimentare**. Lo studio è stato svolto in condizioni controllate di laboratorio. Dapprima, è stata valutata la capacità di monopolizzazione di *T. immigrans* attraverso esperimenti di competizione alimentare, confrontando quest'ultima con tre specie di formiche simpatriche e, pertanto, potenziali competitori dirette (*Crematogaster scutellaris*, *Lasius paralienus*, *Tapinoma subboreale*). Per questi esperimenti è stato importante eliminare il vantaggio della dominanza numerica per *T. immigrans*, ponendo a parità numerica di operaie i frammenti

coloniali confrontati. L'obiettivo è stato quello di indagare il ruolo della dominanza comportamentale nella competizione per le risorse alimentari. I risultati ottenuti per questi esperimenti hanno mostrato che **l'abilità di monopolizzazione di *T. immigrans* è stata influenzata dalla specie opponente**. Infatti, è stato osservato che se posta contro *L. paralienus* e *T. subboreale*, *T. immigrans* ha mostrato un'efficiente abilità di monopolizzazione, mentre, contro *C. scutellaris* non è riuscita a essere altrettanto abile. Dunque, in linea generale, è stato osservato che **anche togliendo il vantaggio numerico, *T. immigrans* sia riuscita ugualmente a monopolizzare con successo la risorsa alimentare contro *L. paralienus* e *T. subboreale*** e come queste ultime due non siano riuscite a competere efficacemente contro *T. immigrans*. Questi primi due risultati potrebbero dare un'indicazione di come, durante la competizione per le risorse alimentari, *T. immigrans* utilizzi anche una strategia di tipo comportamentale, non basandosi solamente sulla dominanza numerica. Come ipotizzato in precedenza, tale strategia comportamentale potrebbe essere rappresentata dal reclutamento di massa (Lachaud, 1985; Beckers *et al.*, 1989; Perfecto, 1994; Bonabeau *et al.*, 1998). Al contrario, gli esperimenti dove *T. immigrans* è stata confrontata con *C. scutellaris* hanno evidenziato che, contro una specie dominante come *C. scutellaris* (Cammel *et al.*, 1996; Way *et al.*, 1997; Shatz & McKey, 2003; Santini *et al.*, 2007; 2011; Richard *et al.*, 2011; Frizzi *et al.*, 2009; 2014; 2015), *T. immigrans* perda la competizione per le risorse quando manca il vantaggio dato dalla dominanza numerica. Pertanto, studi futuri potrebbero concentrarsi su questo aspetto per continuare le indagini relative alle strategie comportamentali messe in atto da *T. immigrans* durante la competizione per le risorse alimentari. In seguito, sono stati condotti esperimenti di aggressività con l'obiettivo di determinare se la risposta aggressiva di *T. immigrans* potesse variare in funzione del livello di aggressività espresso dalle specie di formiche opponenti. In questo caso, *T. immigrans* è stata confrontata con 5 opponenti appartenenti a 3 trattamenti: omocoloniale, eterocoloniale, e interspecifico (*C. scutellaris*, *L. paralienus*, *T. subboreale*). Mediante questi esperimenti, è stato definito anche l'**etogramma** (Alcock, 1979; Krebs & Davies, 1993; Santos *et al.*, 2005) **della risposta aggressiva di *T. immigrans***, il quale, non essendo presente in letteratura, è il primo risultato che fornisce informazioni sulla gamma dei moduli comportamentali espressi da *T. immigrans* in scontri forzati 1 contro 1. La definizione dell'etogramma ha permesso, inoltre, di definire i livelli di aggressività di *T. immigrans* mediante il calcolo di un indice di aggressività, osservando se vi fossero delle differenze in funzione della specie avversaria. In generale, dall'etogramma è emerso che ***T. immigrans* ha eseguito pochi comportamenti aggressivi**, mentre, sono stati espressi per la maggior parte dei casi comportamenti non aggressivi. La specie *T. immigrans* **ha espresso il comportamento**

aggressivo solamente con *L. paralienus* e questo risultato è confermato anche dall'indice di aggressività. Infatti, il valore più elevato calcolato per *T. immigrans* è quello per *L. paralienus*. Questo risultato potrebbe essere spiegato dal fatto che la stessa *L. paralienus* ha attaccato con morsi e trascinamenti *T. immigrans*, al contrario di quanto espresso dalle altre specie oppoventi. Pertanto, è probabile che *T. immigrans* non sia una specie che reagisce aggressivamente indipendentemente dal tipo di oppovente che si trova ad affrontare, ma, al contrario, sappia **modulare la propria risposta aggressiva in funzione di quella dell'avversaria**. Questo risultato è in linea con quanto osservato per *T. immigrans* nello studio svolto nelle aree verdi urbane. Infatti, *T. immigrans* ha monopolizzato la maggior parte delle *bait* senza l'impiego di moduli comportamentali aggressivi. Pertanto, gli studi futuri potrebbero concentrarsi nell'ampliare la gamma di moduli comportamentali espressi da *T. immigrans* quando posta in scontri forzati 1 contro 1, considerando inoltre altre specie di formiche con diversi livelli di aggressività.

Infine, nel **capitolo 6** si è indagato il possibile **utilizzo di strumenti da parte della specie *T. immigrans*** come strategia competitiva durante l'attività di foraggiamento, concentrandosi, quindi, sugli adattamenti eto-ecologici della specie. Come primo ambito di studio sono stati condotti esperimenti di confronto tra specie simpatriche. È stato osservando se *T. immigrans* fosse l'unica specie in grado di usare degli strumenti o se anche altre specie di formiche simpatriche potessero attuare questo comportamento. Inoltre è stato anche indagato se *T. immigrans* potesse esprimere una qualche preferenza in base alla natura dello strumento, ovvero di origine naturale e artificiale. Per questi esperimenti sono state confrontate, in modo separato, *T. immigrans* e *C. scutellaris*, *L. paralienus* e *Tapinoma magnum*. Gli strumenti forniti alle formiche sono stati sei, tre naturale (grani di terra, sassolini, steli) e tre artificiali (carta, spugna, plastica). Dagli esperimenti è emerso che le specie *C. scutellaris* e *L. paralienus* non hanno portato alcuno strumento alla risorsa alimentare, mentre, oltre a *T. immigrans*, la specie *T. magnum* ha trasportato qualche strumento. Ma, in linea generale, ***T. immigrans* ha trasportato una quantità di strumenti quattro volte maggiore di quella trasportata da *T. magnum***. Inoltre, non è emersa una preferenza per l'origine degli strumenti, in quanto *T. immigrans* ha trasportato indistintamente sia strumenti di origine naturale e sia di origine artificiale. Tuttavia, sebbene in linea generale ***T. immigrans* abbia portato tutti gli strumenti alla risorsa alimentare, i grani di terra sono stati lo strumento maggiormente trasportato** e, pertanto, quello col numero più alto di detriti alla *bait*. Questo risultato potrebbe essere spiegato dal fatto che *T. immigrans* è una formica che fonda le proprie colonie in terreni sassosi e tra le fessure del cemento (Bolton, 1980; Buczkowski & Richmond, 2012; Gippet *et al.*, 2017;

Wagner *et al.*, 2017) e, pertanto, la terra è lo strumento con il quale ha più familiarità. In seguito, sono stati condotti esperimenti sulla **funzione adattativa** dell'uso di strumenti in operaie di *T. immigrans* affamate e non affamate per 48h. L'obiettivo è stato quello di verificare se l'uso di strumenti fosse impiegato per la conservazione del cibo e per un suo successivo sfruttamento. Infatti, in alcune specie di formiche è stato osservato il comportamento del **burying** quando le operaie, ormai sazie, ricoprono di detriti la risorsa alimentare (Qin *et al.*, 2018). Il risultato ha mostrato una situazione differente da quanto previsto, perché si è verificato un uso di strumenti sia nelle formiche affamate sia in quelle non affamate, senza differenze significative, quindi **l'ipotesi iniziale è stata rifiutata**. In linea generale, da questi esperimenti è emerso che *T. immigrans* è in grado di trasportare detriti di varia natura all'esca alimentare, in quantità superiori rispetto alle altre specie a essa simpatriche. Inoltre, **anche mescolando varie tipologie di strumenti tra loro, le operaie hanno comunque selezionato la terra come strumento preferenziale**. L'ipotesi del seppellimento del cibo per un suo sfruttamento in un secondo momento non sembra essere in linea con quanto osservato dai confronti tra i trattamenti affamati e non affamati. Dunque, studi futuri che vogliano indagare questo peculiare comportamento espresso da *T. immigrans*, dovranno tenere in considerazione altre ipotesi per spiegare le finalità alla base del trasporto di detriti al cibo.

In conclusione, *T. immigrans* è una specie ben adattata agli ambienti disturbati dalla presenza dell'uomo e dalle sue attività. Questo le offre un vantaggio adattativo che le consente di distribuirsi e diffondersi in questi tipi di *habitat*. Inoltre, la maggiore abbondanza di *T. immigrans* negli ambienti più disturbati fornisce, a sua volta, indicazioni sul tipo di *habitat* e sul grado di disturbo antropico che grava su di essi. Pertanto *T. immigrans* può essere considerata una specie utile nel monitoraggio delle aree verdi urbane. Questa specie si è dimostrata essere anche molto abile a monopolizzare la risorsa senza ricorrere a moduli comportamentali aggressivi, ma basandosi su una strategia che unisce la dominanza numerica a un rapido reclutamento di massa delle operaie. Queste indicazioni forniscono informazioni sugli adattamenti eto-ecologici di *T. immigrans*. Inoltre, tra le possibili strategie comportamentali per la competizione delle risorse alimentari si ha una prima indicazione di un uso di strumenti da parte di questa specie.

CAP 8 ~ BIBLIOGRAFIA

- Antweb.org (2021), <https://www.antweb.org>, consultato il 16 luglio 2021
- animalspot.net, <https://www.animalspot.net/> consultato il 22 luglio 202
- Britannica.com, <https://www.britannica.com/> consultato il 22 luglio 2022
- Datanovia (2020), <https://www.datanovia.com/>, consultato il 20 gennaio 2020
- Ebird.com, <https://ebird.org/> consultato il 22 luglio 2022
- Insular (2020), <http://www.insular.it/>, consultato il 20 gennaio 2020
- Naturepl.com, <https://www.naturepl.com/> consultato il 20 gennaio 2020
- Solomon (2020), <https://solomon.andraspeter.com/>, consultato il 27 luglio, 2020
- Achury, R., Chacón de Ulloa, P., Arcila, Á., & Suarez, A. V. (2020). Habitat disturbance modifies dominance, coexistence, and competitive interactions in tropical ant communities. *Ecological Entomology*, 45(6), 1247-1262.
- Adams, E. S., & Plowes, N. J. (2019). Self-organizing conflicts: Group assessment and the spatio-temporal dynamics of ant territory battles. *Behavioural processes*, 162, 119-129.
- Adlung, K. G. (1966). A critical evaluation of the European research on use of red wood ants (*Formica rufa* group) for the protection of forests against harmful insects. *Zeitschrift für angewandte Entomologie*, 57(1-4), 167-189.
- Alberti, M., Marzluff, J. M., Shulenberg, E., Bradley, G., Ryan, C., & Zumbrunnen, C. (2003). Integrating humans into ecology: opportunities and challenges for studying urban ecosystems. *BioScience*, 53(12), 1169-1179.
- Alcock, J. (1972). The evolution of the use of tools by feeding animals. *Evolution*, 464-473.
- Alves, W. D. F., Mota, A. S., De Lima, R. A. A., Bellezoni, R., & Vasconcellos, A. (2011). Termites as bioindicators of habitat quality in the Caatinga, Brazil: is there agreement between structural habitat variables and the sampled assemblages?. *Neotropical Entomology*, 40, 39-46.
- Amant, R. S., & Wood, A. B. (2005, July). Tool Use for Autonomous Agents. In *AAAI* (pp. 184-189).
- Andersen, A. N. (1991). Parallels between ants and plants: implications for community ecology.
- Andersen, A. N. (1992). Regulation of "momentary" diversity by dominant species in exceptionally rich ant communities of the Australian seasonal tropics. *The American Naturalist*, 140(3), 401-420.
- Andersen, A. N., & Patel, A. D. (1994). Meat ants as dominant members of Australian ant communities: an experimental test of their influence on the foraging success and forager abundance of other species. *Oecologia*, 98(1), 15-24.
- Andersen, A. N. (1995). A classification of Australian ant communities, based on functional groups which parallel plant life-forms in relation to stress and disturbance. *Journal of biogeography*, 15-29.
- Andersen, A. (1997). Functional groups and patterns of organization in North American ant communities: a comparison with Australia. *Journal of biogeography*, 24(4), 433-460.
- Andersen, A. N., & Müller, W. J. (2000). Arthropod responses to experimental fire regimes in an Australian tropical savannah: ordinal-level analysis. *Austral Ecology*, 25(2), 199-209.
- Andersen, A. N., Hoffmann, B. D., Müller, W. J., & Griffiths, A. D. (2002). Using ants as bioindicators in land management: simplifying assessment of ant community responses. *Journal of Applied Ecology*, 39(1), 8-17.
- Andersen, A. N., & Majer, J. D. (2004). Ants show the way Down Under: invertebrates as bioindicators in land management. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 2(6), 291-298.
- Angilletta Jr, M. J., Wilson, R. S., Niehaus, A. C., Sears, M. W., Navas, C. A., & Ribeiro, P. L. (2007). Urban physiology: city ants possess high heat tolerance. *PLoS One*, 2(2), e258.
- Angold, P. G., Sadler, J. P., Hill, M. O., Pullin, A., Rushton, S., Austin, K., ... & Thompson, K. (2006). Biodiversity in urban habitat patches. *Science of the Total environment*, 360(1-3), 196-204.
- Angulo, E., Boulay, R., Rodrigo, A., Retana, J., & Cerdá, X. (2007). Efecto de una especie invasora, *Linepithema humile*, la hormiga argentina, sobre la biodiversidad del Parque Nacional de Doñana (Huelva): descripción de las interacciones con las hormigas nativas.
- Arnan, X., Rodrigo, A., & Retana, J. (2006). Post-fire recovery of Mediterranean ground ant communities follows vegetation and dryness gradients. *Journal of Biogeography*, 33(7), 1246-1258.

- Arnan, X., Gracia, M., Comas, L., & Retana, J. (2009). Forest management conditioning ground ant community structure and composition in temperate conifer forests in the Pyrenees Mountains. *Forest Ecology and Management*, 258(2), 51-59.
- Arnan, X., Gaucherel, C., & Andersen, A. N. (2011). Dominance and species co-occurrence in highly diverse ant communities: a test of the interstitial hypothesis and discovery of a three-tiered competition cascade. *Oecologia*, 166(3), 783-794.
- Aronson, M. F., Lepczyk, C. A., Evans, K. L., Goddard, M. A., Lerman, S. B., MacIvor, J. S., ... & Vargo, T. (2017). Biodiversity in the city: key challenges for urban green space management. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 15(4), 189-196.
- (WRI 2005) Assessment, M. E. (2005). *Ecosystems and human well-being* (Vol. 5, p. 563). United States of America: Island press.
- Asfiya, W. A. R. A., Lach, L., Majer, J. D., Heterick, B. R. I. A. N., & Didham, R. K. (2015). Intensive agroforestry practices negatively affect ant (Hymenoptera: Formicidae) diversity and composition in southeast Sulawesi, Indonesia. *Asian Myrmecology*, 7, 87-104.
- Babitz, M. A. (2000). Object manipulation and tool use in Sulawesi crested black macaques. *American Journal of Primatology*, 51(Suppl 1), 38.
- Balbi, M., Croci, S., Petit, E. J., Butet, A., Georges, R., Madec, L., ... & Ernoult, A. (2021). Least-cost path analysis for urban greenways planning: A test with moths and birds across two habitats and two cities. *Journal of Applied Ecology*, 58(3), 632-643.
- Balasubramaniam, K. N., Berman, C. M., De Marco, A., Dittmar, K., Majolo, B., Ogawa, H., ... & De Vries, H. (2013). Consistency of dominance rank order: a comparison of David's scores with I&SI and Bayesian methods in macaques. *American journal of primatology*, 75(9), 959-971.
- Banschbach, V. S., Brunelle, A., Bartlett, K. M., Grivetti, J. Y., & Yeamans, R. L. (2006). Tool use by the forest ant *Aphaenogaster rudis*: ecology and task allocation. *Insectes sociaux*, 53(4), 463-471.
- Balayiannis, G., & Balayiannis, P. (2008). Bee honey as an environmental bioindicator of pesticides' occurrence in six agricultural areas of Greece. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 55(3), 462-470.
- Basu, P. (1997). Seasonal and Spatial Patterns in Ground Foraging Ants in a Rain Forest in the Western Ghats, India I. *Biotropica*, 29(4), 489-500.
- Bates, D., Sarkar, D., Bates, M. D., & Matrix, L. (2007). The lme4 package. *R package version*, 2(1), 74.
- Bates, D., Maechler, M., Bolker, B., Walker, S., Christensen, R. H. B., Singmann, H., ... & Grothendieck, G. (2011). Package 'lme4'. *Linear mixed-effects models using S4 classes. R package version*, 1(6).
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., & Walker, S. (2014). Fitting linear mixed-effects models using lme4. *arXiv preprint arXiv:1406.5823*.
- Beck, B. (1980). *Animal Tool Behavior: The Use and Manufacture of Tools by Animals*. Garland STPM Press, New York.
- Beckers, R., Goss, S., Deneubourg, J. L., & Pasteels, J. M. (1989). Colony size, communication, and ant foraging strategy. *Psyche*, 96(3-4), 239-256.
- Beattie, A. J. (1985). *The evolutionary ecology of ant-plant mutualisms*. Cambridge University Press.
- Beibl, J., Stuart, R. J., Heinze, J., & Foitzik, S. (2005). Six origins of slavery in formicoxenine ants. *Insectes sociaux*, 52(3), 291-297.
- Beninde, J., Veith, M., & Hochkirch, A. (2015). Biodiversity in cities needs space: a meta-analysis of factors determining intra-urban biodiversity variation. *Ecology letters*, 18(6), 581-592.
- Benjamini, Y., & Hochberg, Y. (1995). Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal statistical society: series B (Methodological)*, 57(1), 289-300.
- Bentley-Condit, V. (2010). Animal tool use: current definitions and an updated comprehensive catalog. *Behaviour*, 147(2), 185-32A.
- Berman, D. I. (2010). *Overwintering & Cold-hardiness of Ants in the Northeast of Asia*. Pensoft Publishers.

- Bernadou, A., Galkowski, C., Le Goff, A., Fourcassié, V., & Espadaler, X. (2010). First record of *Lasius paralienus* Seifert, 1992 (Hymenoptera: Formicidae) from France and Andorra. *Myrmecological News*, 13, 111-113.
- Bernat-Ponce, E., Gil-Delgado, J. A., & López-Iborra, G. M. (2021). Recreational noise pollution of traditional festivals reduces the juvenile productivity of an avian urban bioindicator. *Environmental Pollution*, 286, 117247.
- Bertelsmeier, C., Avril, A., Blight, O., Jourdan, H., & Courchamp, F. (2015). Discovery–dominance trade-off among widespread invasive ant species. *Ecology and evolution*, 5(13), 2673-2683.
- Berville, L., Hefetz, A., Espadaler, X., Lenoir, A., Renucci, M., Blight, O., & Provost, E. (2013). Differentiation of the ant genus *Tapinoma* (Hymenoptera: Formicidae) from the Mediterranean Basin by species-specific cuticular hydrocarbon profiles. *Myrmecological news*, 18, 77-92.
- Bestelmeyer, B. T., & Wiens, J. A. (1996). The effects of land use on the structure of ground-foraging ant communities in the Argentine Chaco. *Ecological Applications*, 6(4), 1225-1240.
- Bestelmeyer, B. T., Agosti, D., Alonso, L. E., Brandão, C. R. F., Brown, W. L., Delabie, J. H., & Silvestre, R. (2000a). Field techniques for the study of ground-dwelling ant: an overview, description, and evaluation. In: Agosti D., Majer J.D., Alonso L. E, Schultz T.R. *Ants: standard methods for measuring and monitoring biodiversity*. – Washington and London, Smithsonian Institution Press, pp. 122-144.
- Bestelmeyer, B. T. (2000b). The trade-off between thermal tolerance and behavioural dominance in a subtropical South American ant community. *Journal of Animal Ecology*, 69(6), 998-1009.
- Bird, C. D., & Emery, N. J. (2009). Insightful problem solving and creative tool modification by captive nontool-using rooks. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(25), 10370-10375.
- Blackman, N. J. M., & Koval, J. J. (2000). Interval estimation for Cohen's kappa as a measure of agreement. *Statistics in medicine*, 19(5), 723-741.
- Blair, R. B. (2001). Birds and butterflies along urban gradients in two ecoregions of the United States: is urbanization creating a homogeneous fauna? In *Biotic homogenization* (pp. 33-56). Springer, Boston, MA.
- Blaimer, B. B., Ward, P. S., Schultz, T. R., Fisher, B. L., & Brady, S. G. (2018). Paleotropical diversification dominates the evolution of the hyperdiverse ant tribe Crematogastrini (Hymenoptera: Formicidae). *Insect Systematics and Diversity*, 2(5), 3.
- Boire, D., Nicolakakis, N., & Lefebvre, L. (2002). Tools and brains in birds. *Behaviour*, 139(7), 939-973.
- Bolger, D. T., Suarez, A. V., Crooks, K. R., Morrison, S. A., & Case, T. J. (2000). Arthropods in urban habitat fragments in southern California: area, age, and edge effects. *Ecological Applications*, 10(4), 1230-1248.
- Bolton, B. (1976). The ant tribe Tetramoriini (Hymenoptera: Formicidae). Constituent genera, review of smaller genera and revision of *Triglyphothrix* Forel.
- Bolton, B. (1994). *Identification guide to the ant genera of the world*. Harvard University Press.
- Bolton, B. (2014). An online catalog of the ants of the world.
- Bolton, B. (2019). Bolton's world catalog. Electronic file available at [https://www. antweb.org/](https://www.antweb.org/) Accessed July 2019.
- Bonabeau, E., Theraulaz, G., & Deneubourg, J. L. (1998). Group and mass recruitment in ant colonies: the influence of contact rates. *Journal of theoretical biology*, 195(2), 157-166.
- Borcard, D., Gillet, F., & Legendre, P. (2018). *Numerical ecology with R*. Springer.
- Bos, N., Kankaanpää-Kukkonen, V., Freitak, D., Stucki, D., & Sundström, L. (2019). Comparison of twelve ant species and their susceptibility to fungal infection. *Insects*, 10(9), 271.
- Boswall, J. (1983). Tool-using and related behaviour in birds: More notes. *Aviculture Magazine*, 89, 94-108.
- Boswell, G. P., Britton, N. F., & Franks, N. R. (1998). Habitat fragmentation, percolation theory and the conservation of a keystone species. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 265(1409), 1921-1925.
- Botelho, J. B., & Weigel, V. A. (2011). The Satere-Mawe community of Y'Apirehyt: ritual and health on the urban outskirts of Manaus. *História, Ciências, Saúde-Manguinhos*, 18, 723-744.

- Bračko, G. (2019). Two invasive ant species, *Lasius neglectus* Van Loon et al., 1990 and *Tapinoma magnum* Mayr, 1861 (Hymenoptera: Formicidae), living in close proximity in coastal Slovenia. *Natura Sloveniae*, 21(2), 25-28.
- Braschler, B., & Baur, B. (2003). Effects of experimental small-scale grassland fragmentation on spatial distribution, density, and persistence of ant nests. *Ecological Entomology*, 28(6), 651-658.
- Braschler, B., Zwahlen, V., Gilgado, J. D., Rusterholz, H. P., & Baur, B. (2021). Owners' Perceptions Do Not Match Actual Ground-Dwelling Invertebrate Diversity in Their Gardens. *Diversity*, 13(5), 189.
- Bräuer, J., & Call, J. (2015). Apes produce tools for future use. *American Journal of Primatology*, 77(3), 254-263.
- Breslow, N. E., & Clayton, D. G. (1993). Approximate inference in generalized linear mixed models. *Journal of the American statistical Association*, 88(421), 9-25.
- Brown, M. J., & Human, K. G. (1997). Effects of harvester ants on plant species distribution and abundance in a serpentine grassland. *Oecologia*, 112(2), 237-243.
- Brown, S. G., Wiese, M. D., Blackman, K. E., & Heddle, R. J. (2003). Ant venom immunotherapy: a double-blind, placebo-controlled, crossover trial. *The Lancet*, 361(9362), 1001-1006.
- Brown, S. G., Haas, M. A., Black, J. A., Parameswaran, A., Woods, G. M., & Heddle, R. J. (2004). In vitro testing to diagnose venom allergy and monitor immunotherapy: a placebo-controlled, crossover trial. *Clinical & Experimental Allergy*, 34(5), 792-800.
- Buczkowski, G., & Bennett, G. W. (2008). Aggressive interactions between the introduced Argentine ant, *Linepithema humile* and the native odorous house ant, *Tapinoma sessile*. *Biological Invasions*, 10(7), 1001-1011.
- Buczkowski, G., & Richmond, D. S. (2012). The effect of urbanization on ant abundance and diversity: a temporal examination of factors affecting biodiversity. *PloS one*, 7(8), e41729.
- Bulgarini, G., Castracani, C., Mori, A., Grasso, D. A., & Maistrello, L. (2021). Searching for new predators of the invasive *Halyomorpha halys*: the role of the black garden ant *Lasius niger*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*.
- Burbidge, A., Leicester, K., McDavitt, S., & Majer, J. (1992). Ants as indicators of disturbance at Yanchep national Park, Western Australia. *Journal of the Royal Society of Western Australia*, 75, 89-95.
- Burks, J. M., & Philpott, S. M. (2017). Local and landscape drivers of parasitoid abundance, richness, and composition in urban gardens. *Environmental entomology*, 46(2), 201-209.
- Buschinger, A. (2009). Social parasitism among ants: a review (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News*, 12(3), 219-235.
- Calderón-Contreras, R., & Quiroz-Rosas, L. E. (2017). Analysing scale, quality and diversity of green infrastructure and the provision of Urban Ecosystem Services: A case from Mexico City. *Ecosystem services*, 23, 127-137.
- Call, J., Bräuer, J., Kaminski, J., & Tomasello, M. (2003). Domestic dogs (*Canis familiaris*) are sensitive to the attentional state of humans. *Journal of comparative psychology*, 117(3), 257.
- Camarota, F., Vasconcelos, H. L., Koch, E. B., & Powell, S. (2018). Discovery and defense define the social foraging strategy of Neotropical arboreal ants. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 72(7), 1-11.
- Cammell, M. E., Way, M. J., & Paiva, M. R. (1996). Diversity and structure of ant communities associated with oak, pine, eucalyptus and arable habitats in Portugal. *Insectes Sociaux*, 43(1), 37-46.
- Capinera, J. L. (1993). Insects in art and religion: the American southwest. *American Entomologist*, 39(4), 221-230.
- Carpenter, S. R., Mooney, H. A., Agard, J., Capistrano, D., DeFries, R. S., Díaz, S., ... & Whyte, A. (2009). Science for managing ecosystem services: Beyond the Millennium Ecosystem Assessment. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(5), 1305-1312.
- Carpintero, S., Reyes-Lopez, J., & de Reyna, L. A. (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(2), 279-289.

- Carrus, G., Scopelliti, M., Laforteza, R., Colangelo, G., Ferrini, F., Salbitano, F., ... & Sanesi, G. (2015). Go greener, feel better? The positive effects of biodiversity on the well-being of individuals visiting urban and peri-urban green areas. *Landscape and Urban Planning*, *134*, 221-228.
- Case, T. J., & Gilpin, M. E. (1974). Interference competition and niche theory. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *71*(8), 3073-3077.
- Castracani, C., & Mori, A. (2006). The role of permanent grasslands on ant community structure: ants (Hymenoptera: Formicidae) as ecological indicators in the agro-ecosystems of the Taro River Regional Park (Italy). *Myrmecologische Nachrichten*, *9*, 47-54.
- Castracani, Cristina., Piotti, Andrea, Grasso, Donato A., Le Moli, Francesco, & Mori, Alessandra (2007). Ant fauna as ecological indicator in Italian agroecosystems. *Redia*, *90*, 67-70.
- Castracani, C., Grasso, D. A., Fanfani, A., & Mori, A. (2010). The ant fauna of Castelporziano Presidential Reserve (Rome, Italy) as a model for the analysis of ant community structure in relation to environmental variation in Mediterranean ecosystems. *Journal of Insect Conservation*, *14*(6), 585-594.
- Castracani, C., Spotti, F. A., Grasso, D. A., & Fanfani, A. (2014). A new exception to the dominance-discovery trade-off rule in ant communities. *Redia*, *97*, 171-175.
- Castracani, C., Bulgarini, G., Giannetti, D., Spotti, F. A., Maistrello, L., Mori, A., & Grasso, D. A. (2017). Predatory ability of the ant *Crematogaster scutellaris* on the brown marmorated stink bug *Halyomorpha halys*. *Journal of Pest Science*, *90*(4), 1181-1190.
- Castracani, C., Spotti, F. A., Schifani, E., Giannetti, D., Ghizzoni, M., Grasso, D. A., & Mori, A. (2020). Public engagement provides first insights on Po Plain ant communities and reveals the ubiquity of the cryptic species *Tetramorium immigrans* (Hymenoptera, Formicidae). *Insects*, *11*(10), 678.
- Cerdá, X., Retana, J., & Cros, S. (1998a). Critical thermal limits in Mediterranean ant species: trade-off between mortality risk and foraging performance. *Functional Ecology*, *12*(1), 45-55.
- Cerdá, X., Retana, J., & Manzaneda, A. (1998b). The role of competition by dominants and temperature in the foraging of subordinate species in Mediterranean ant communities. *Oecologia*, *117*(3), 404-412.
- Cerdá, X., Angulo, E., Boulay, R., & Lenoir, A. (2009). Individual and collective foraging decisions: a field study of worker recruitment in the gypsy ant *Aphaenogaster senilis*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, *63*(4), 551-562.
- Cerdá, X., Angulo, E., Caut, S., & Courchamp, F. (2012). Ant community structure on a small Pacific island: only one native species living with the invaders. *Biological Invasions*, *14*(2), 323-339.
- Cerda, X., Arnan, X., & Retana, J. (2013). Is competition a significant hallmark of ant (Hymenoptera: Formicidae) ecology. *Myrmecological News*, *18*(1), 131-147.
- Chappell, J., & Kacelnik, A. (2002). Tool selectivity in a non-primate, the New Caledonian crow (*Corvus moneduloides*). *Animal cognition*, *5*(2), 71-78.
- Chevalier-Skolnikoff, S., & Liska, J. O. (1993). Tool use by wild and captive elephants. *Animal Behaviour*, *46*(2), 209-219.
- Chisholm, A. H. (1954). The use by birds of “tools” or “instruments”. *Ibis*, *96*(3), 380-383.
- Clark, A. (2002). Minds, Brains and Tools:(Comments on Dennett for Hugh Clapin’s “Workshop on mental representation”, Maine, August 1999).
- Clarke, K. M., Fisher, B. L., & LeBuhn, G. (2008). The influence of urban park characteristics on ant (Hymenoptera, Formicidae) communities. *Urban Ecosystems*, *11*(3), 317-334.
- Cohen, J. (1960). A coefficient of agreement for nominal scales. *Educational and psychological measurement*, *20*(1), 37-46.
- Consani, M., & Zangheri, P. (1952). Fauna di Romagna. Imenotteri – Formicidi. *Memorie della Società Entomologica Italiana*, *31*: 38-48.
- Cordonnier, M., Bellec, A., Dumet, A., Escarguel, G., & Kaufmann, B. (2019b). Range limits in sympatric cryptic species: a case study in *Tetramorium pavement* ants (Hymenoptera: Formicidae) across a biogeographical boundary. *Insect conservation and diversity*, *12*(2), 109-120.
- Cordonnier, M., Gayet, T., Escarguel, G., & Kaufmann, B. (2019c). From hybridization to introgression between two closely related sympatric ant species. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, *57*(4), 778-788.

- Cordonnier, M., Gibert, C., Bellec, A., Kaufmann, B., & Escarguel, G. (2019a). Multi-scale impacts of urbanization on species distribution within the genus *Tetramorium*. *Landscape Ecology*, 34(8), 1937-1948.
- Cordonnier, M., Bellec, A., Escarguel, G., & Kaufmann, B. (2020a). Effects of urbanization–climate interactions on range expansion in the invasive European pavement ant. *Basic and Applied Ecology*, 44, 46-54.
- Cordonnier, M., Escarguel, G., Dumet, A., & Kaufmann, B. (2020b). Multiple mating in the context of interspecific hybridization between two *Tetramorium* ant species. *Heredity*, 124(5), 675-684.
- Cortesi, I., (2009). Contestualizzazione aree verdi nel tessuto urbano di Parma.
- Costanza, R., d'Arge, R., De Groot, R., Farber, S., Grasso, M., Hannon, B., ... & Van Den Belt, M. (1997). The value of the world's ecosystem services and natural capital. *nature*, 387(6630), 253-260.
- Crespi, B. J., & Yanega, D. (1995). The definition of eusociality. *Behavioral Ecology*, 6(1), 109-115.
- Cros, S., Cerdá, X., & Retana, J. (1997). Spatial and temporal variations in the activity patterns of Mediterranean ant communities. *Ecoscience*, 4(3), 269-278.
- Csósz, S., Wagner, H. C., Bozsó, M., Seifert, B., Arthofer, W., Schlick-Steiner, B. C., ... & Péntzes, Z. (2014). *Tetramorium indocile* Santschi, 1927 stat. rev. is the proposed scientific name for *Tetramorium* sp. C sensu based on combined molecular and morphological evidence (Hymenoptera: Formicidae). *Zoologischer Anzeiger-A Journal of Comparative Zoology*, 253(6), 469-481.
- Daily, G. C., & Matson, P. A. (2008). Ecosystem services: From theory to implementation. *Proceedings of the national academy of sciences*, 105(28), 9455-9456.
- Davidson, D. W., & McKey, D. (1993). Ant-plant symbioses: stalking the Chuyachaqui. *Trends in Ecology & Evolution*, 8(9), 326-332.
- Davidson, D. W. (1998). Resource discovery versus resource domination in ants: a functional mechanism for breaking the trade-off. *Ecological Entomology*, 23(4), 484-490.
- D'Ettorre, P., & Heinze, J. (2005). Individual recognition in ant queens. *Current Biology*, 15(23), 2170-2174.
- D'Eustacchio, D., Centorame, M., Fanfani, A., Senczuk, G., Jiménez-Alemán, G. H., Vasco-Vidal, A., ... & Francioso, A. (2019). Iridoids and volatile pheromones of *Tapinoma darioi* ants: chemical differences to the closely related species *Tapinoma magnum*. *Chemoecology*, 29, 51-60.
- Dearborn, D. C., & Kark, S. (2010). Motivations for conserving urban biodiversity. *Conservation biology*, 24(2), 432-440.
- de Oliveira, R. C., do Nascimento Queiroz, S. C., da Luz, C. F. P., Porto, R. S., & Rath, S. (2016). Bee pollen as a bioindicator of environmental pesticide contamination. *Chemosphere*, 163, 525-534.
- De Biseau, J. C., Deneubourg, J. L., & Pasteels, J. M. (1991). Collective flexibility during mass recruitment in the ant *Myrmica sabuleti* (Hymenoptera: Formicidae). *Psyche*, 98(4), 323-336.
- DeFoliart, G. R. (1999). Insects as food: why the western attitude is important. *Annual review of entomology*, 44(1), 21-50.
- Dekoninck, W., Parmentier, T., & Seifert, B. (2015). First records of a supercolonial species of the *Tapinoma nigerrimum* complex in Belgium (Hymenoptera: Formicidae). *Bulletin de la Société royale belge d'Entomologie*, 151, 206-209.
- Del Toro, I., Floyd, K., Gardea-Torresdey, J., & Borrok, D. (2010). Heavy metal distribution and bioaccumulation in Chihuahuan Desert Rough Harvester ant (*Pogonomyrmex rugosus*) populations. *Environmental Pollution*, 158(5), 1281-1287.
- Del Toro, I., Ribbons, R. R., & Pelini, S. L. (2012). The little things that run the world revisited: a review of ant-mediated ecosystem services and disservices (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News*, 17(0), 133-46.
- Díaz, S., Demissew, S., Carabias, J., Joly, C., Lonsdale, M., Ash, N., ... & Zlatanova, D. (2015). The IPBES Conceptual Framework—connecting nature and people. *Current opinion in environmental sustainability*, 14, 1-16.
- Dobbs, C., Nitschke, C., & Kendal, D. (2017). Assessing the drivers shaping global patterns of urban vegetation landscape structure. *Science of the Total Environment*, 592, 171-177.

- Doick, K., & Hutchings, T. (2013). *Air temperature regulation by urban trees and green infrastructure* (No. 012). Forestry Commission.
- Dousset, B., Gourmelon, F., Laaidi, K., Zeghnoun, A., Giraudet, E., Bretin, P., ... & Vandentorren, S. (2011). Satellite monitoring of summer heat waves in the Paris metropolitan area. *International Journal of Climatology*, 31(2), 313-323.
- Dreier, S., Van Zweden, J. S., & D'Ettorre, P. (2007). Long-term memory of individual identity in ant queens. *Biology Letters*, 3(5), 459-462.
- Drescher, J., Feldhaar, H., & Blüthgen, N. (2011). Interspecific aggression and resource monopolization of the invasive ant *Anoplolepis gracilipes* in Malaysian Borneo. *Biotropica*, 43(1), 93-99.
- Duffy, J. E., Amaral-Zettler, L. A., Fautin, D. G., Paulay, G., Rynearson, T. A., Sosik, H. M., & Stachowicz, J. J. (2013). Envisioning a marine biodiversity observation network. *Bioscience*, 63(5), 350-361.
- Dufour, D. L. (1987). Insects as food: a case study from the northwest Amazon. *American anthropologist*, 89(2), 383-397.
- Durán, J. M. G. (2011). Liquid food transport by means of solid items in *Messor barbarus* (Linnaeus, 1767), with a reconsideration of the so called “tool use behavior” in ants. *Iberomyrmex*, 3, 9-20.
- Elizalde, L., Arbetman, M., Arnan, X., Eggleton, P., Leal, I. R., Lescano, M. N., ... & Pirk, G. I. (2020). The ecosystem services provided by social insects: traits, management tools and knowledge gaps. *Biological Reviews*, 95(5), 1418-1441.
- Elmqvist, T., Setälä, H., Handel, S. N., Van Der Ploeg, S., Aronson, J., Blignaut, J. N., ... & De Groot, R. (2015). Benefits of restoring ecosystem services in urban areas. *Current opinion in environmental sustainability*, 14, 101-108.
- Emery, C. (1877). Saggio di un ordinamento naturale dei Mirmicidae e considerazioni sulla filogenesi delle formiche. *Bollettino della Società Entomologica Italiana*, 9, 67-83.
- Erlwein, K. M. (1996). Hairy and red-bellied woodpeckers use bark crevice to break open seeds. *Kingbird*, 46, 200-201.
- Errard, C., & Hefetz, A. (1997). Label familiarity and discriminatory ability of ants reared in mixed groups. *Insectes sociaux*, 44(3), 189-198.
- Feener, Jr, D. H. (2000). Is the assembly of ant communities mediated by parasitoids?. *Oikos*, 90(1), 79-88.
- Feener Jr, D. H., Orr, M. R., Wackford, K. M., Longo, J. M., Benson, W. W., & Gilbert, L. E. (2008). Geographic variation in resource dominance–discovery in Brazilian ant communities. *Ecology*, 89(7), 1824-1836.
- Feir-Walsh, B. J., & Toothaker, L. E. (1974). An empirical comparison of the ANOVA F-test, normal scores test and Kruskal-Wallis test under violation of assumptions. *Educational and Psychological Measurement*, 34(4), 789-799.
- Fellers, J. H., & Fellers, G. M. (1976). Tool use in a social insect and its implications for competitive interactions. *Science*, 192(4234), 70-72.
- Fellers, J. H. (1987). Interference and exploitation in a guild of woodland ants. *Ecology*, 68(5), 1466-1478.
- Fenoglio, M. S., Rossetti, M. R., & Videla, M. (2020). Negative effects of urbanization on terrestrial arthropod communities: A meta-analysis. *Global Ecology and Biogeography*, 29(8), 1412-1429.
- Fenoglio, M. S., Calviño, A., González, E., Salvo, A., & Videla, M. (2021). Urbanisation drivers and underlying mechanisms of terrestrial insect diversity loss in cities. *Ecological Entomology*.
- Fiedler, K. (2006). Ant-associates of Palaearctic lycaenid butterfly larvae (Hymenoptera: Formicidae; Lepidoptera: Lycaenidae)—a review. *Myrmecologische Nachrichten*, 9, 77-87.
- Fiera, C. (2009). Biodiversity of Collembola in urban soils and their use as bioindicators for pollution. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 44, 868-873.
- Filazzola, A., Shrestha, N., & MacIvor, J. S. (2019). The contribution of constructed green infrastructure to urban biodiversity: A synthesis and meta-analysis. *Journal of Applied Ecology*, 56(9), 2131-2143.
- Finn, J. K., Tregenza, T., & Norman, M. D. (2009). Defensive tool use in a coconut-carrying octopus

- Fiorillo, A., Laurenti, M., & Bono, L. (2018). Ecosistema Urbano 2018. *Legambiente: Rome, Italy*, 123-140.
- Fisher, B., Turner, R. K., & Morling, P. (2009). Defining and classifying ecosystem services for decision making. *Ecological economics*, 68(3), 643-653.
- Floren, A., & Linsenmair, K. E. (2001). The influence of anthropogenic disturbances on the structure of arboreal arthropod communities. *Plant Ecology*, 153(1), 153-167.
- Folgarait, P. J. (1998). Ant biodiversity and its relationship to ecosystem functioning: a review. *Biodiversity & Conservation*, 7(9), 1221-1244.
- Freney, M. R. (1932). The Chemical Treatment of Baits for attracting Blowflies. I. *Journal of the Council for Scientific and Industrial Research, Australia*, 5(2).
- Frizzi, F., Santini, G., Natali, C., Chelazzi, G., & Ciofi, C. (2009). Characterization of polymorphic microsatellite loci in the ant *Crematogaster scutellaris*. *Conservation Genetics Resources*, 1(1), 425-428.
- Frizzi, F., Panichi, S., Rispoli, A., Masoni, A., & Santini, G. (2014). Spatial variation of the aggressive response towards conspecifics in the ant *Crematogaster scutellaris* (Hymenoptera Formicidae). *Redia*, 97, 165-169.
- Frizzi, F., Ciofi, C., Dapporto, L., Natali, C., Chelazzi, G., Turillazzi, S., & Santini, G. (2015). The rules of aggression: How genetic, chemical and spatial factors affect intercolony fights in a dominant species, the mediterranean acrobat ant *Crematogaster scutellaris*. *PLoS One*, 10(10), e0137919.
- Frizzo, T. L., Campos, R. I., & Vasconcelos, H. L. (2012). Contrasting effects of fire on arboreal and ground-dwelling ant communities of a Neotropical savanna. *Biotropica*, 44(2), 254-261.
- Frouz, J., & Jilková, V. (2008). The effect of ants on soil properties and processes (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News*, 11(11), 191-199.
- Fuller, M. E. (1934). Sheep Blowfly Investigations.-Some Field Tests of Baits treated with Sodium Sulphide. *Journal of the Council for Scientific and Industrial Research, Australia*, 7(3).
- Fuller, R. A., Irvine, K. N., Devine-Wright, P., Warren, P. H., & Gaston, K. J. (2007). Psychological benefits of greenspace increase with biodiversity. *Biology letters*, 3(4), 390-394.
- Gallé, L. (2017). Climate change impoverishes and homogenizes ants' community structure: a long term study. *Community Ecology*, 18(2), 128-136.
- Gammell, M. P., Vries, H. D., Jennings, D. J., Carlin, C. M., & Hayden, T. J. (2003). David's score: a more appropriate dominance ranking method than Clutton-Brock et al.'s index. *Animal behaviour*, 66(3), 601-605.
- Garnas, J., Groden, E., & Drummond, F. A. (2014). Mechanisms of competitive displacement of native ant fauna by invading *Myrmica rubra* (Hymenoptera: Formicidae) populations. *Environmental entomology*, 43(6), 1496-1506.
- Gaston, K. J., & Blackburn, T. M. (1995). Mapping biodiversity using surrogates for species richness: macro-scales and New World birds. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 262(1365), 335-341.
- Gaston, K. J., Davies, Z. G., & Edmondson, J. L. (2010). Urban environments and ecosystem functions. *Urban ecology*, 35-52.
- Gibb, H., & Cunningham, S. A. (2011). Habitat contrasts reveal a shift in the trophic position of ant assemblages. *Journal of Animal Ecology*, 80(1), 119-127.
- Gill, A. M., Groves, R. H., & Noble, I. R. (1981). *Fire and the Australian biota*. Australian Academy of Science.
- Gippet, J. M., Mondy, N., Diallo-Dudek, J., Bellec, A., Dumet, A., Mistler, L., & Kaufmann, B. (2017). I'm not like everybody else: urbanization factors shaping spatial distribution of native and invasive ants are species-specific. *Urban Ecosystems*, 20(1), 157-169.
- Gobbi, M., Barragán, Á., Brambilla, M., Moreno, E., Pruna, W., & Moret, P. (2018). Hand searching versus pitfall trapping: how to assess biodiversity of ground beetles (Coleoptera: Carabidae) in high altitude equatorial Andes?. *Journal of Insect Conservation*, 22(3), 533-543.
- Goddard, M. A., Dougill, A. J., & Benton, T. G. (2010). Scaling up from gardens: biodiversity conservation in urban environments. *Trends in ecology & evolution*, 25(2), 90-98.
- Gómez, J. M., & Zamora, R. (1992). Pollination by ants: consequences of the quantitative effects on a mutualistic system. *Oecologia*, 91(3), 410-418.

- Goodall, J. (1964). Tool-using and aimed throwing in a community of free-living chimpanzees. *Nature*, 201(4926), 1264-1266.
- Goodall, J. (1986). The chimpanzees of Gombe: Patterns of behavior. *Cambridge Mass.*
- Gordon, D. M. (1988). Nest-plugging: interference competition in desert ants (*Novomessor cockerelli* and *Pogonomyrmex barbatus*). *Oecologia*, 75(1), 114-118.
- Gove, A. D., Majer, J. D., & Dunn, R. R. (2007). A keystone ant species promotes seed dispersal in a “diffuse” mutualism. *Oecologia*, 153(3), 687-697.
- Gotelli, N. J. (1996). Ant community structure: effects of predatory ant lions. *Ecology*, 77(2), 630-638.
- Grime, J.P. (1979) Plant strategies and vegetation processes. John Wiley, Chichester.
- Grimm, N. B., Faeth, S. H., Golubiewski, N. E., Redman, C. L., Wu, J., Bai, X., & Briggs, J. M. (2008). Global change and the ecology of cities. *science*, 319(5864), 756-760.
- Grove, J. M., Locke, D. H., & O’Neil-Dunne, J. P. (2014). An ecology of prestige in New York City: Examining the relationships among population density, socio-economic status, group identity, and residential canopy cover. *Environmental management*, 54(3), 402-419.
- Guariento, E., & Fiedler, K. (2021). Ant Diversity and Community Composition in Alpine Tree Line Ecotones. *Insects*, 12(3), 219.
- Hansell, M., & Ruxton, G. D. (2008). Setting tool use within the context of animal construction behaviour. *Trends in Ecology & Evolution*, 23(2), 73-78.
- Harkness, R. D., & RD, H. (1976). Further observations on the relation between and ant. *Cataglyphis bicolor* (f.)(hym., formicidae) and a spider, *zodarium frenatum* (simon)(araneae, zodariidae).
- Harrison, X. A. (2014). Using observation-level random effects to model overdispersion in count data in ecology and evolution. *PeerJ*, 2, e616.
- Hart, B. L., Hart, L. A., McCoy, M., & Sarath, C. R. (2001). Cognitive behaviour in Asian elephants: use and modification of branches for fly switching. *Animal Behaviour*, 62(5), 839-847.
- Hartmann, D. P. (1977). Considerations in the choice of interobserver reliability estimates. *Journal of applied behavior analysis*, 10(1), 103-116.
- Hayashida, M. (1989). Seed dispersal by red squirrels and subsequent establishment of Korean pine. *Forest Ecology and Management*, 28(2), 115-129.
- Heads, P. A., & Lawton, J. H. (1985). Bracken, ants and extrafloral nectaries. III. How insect herbivores avoid ant predation. *Ecological Entomology*, 10(1), 29-42.
- Hecke, T. V. (2012). Power study of anova versus Kruskal-Wallis test. *Journal of Statistics and Management Systems*, 15(2-3), 241-247.
- Hellawell, J. M. (Ed.). (2012). *Biological indicators of freshwater pollution and environmental management*. Springer Science & Business Media.
- Heterick, B. E., Lythe, M., & Smithyman, C. (2013). Urbanisation factors impacting on ant (Hymenoptera: Formicidae) biodiversity in the Perth metropolitan area, Western Australia: Two case studies. *Urban Ecosystems*, 16(2), 145-173.
- Hodges, M. N., & McKinney, M. L. (2018). Urbanization impacts on land snail community composition. *Urban ecosystems*, 21(4), 721-735.
- Hoffmann, B. D., & Andersen, A. N. (2003). Responses of ants to disturbance in Australia, with particular reference to functional groups. *Austral Ecology*, 28(4), 444-464.
- Hölldobler, B. E. R. T. (1985). Liquid food transmission and antennation signals in ponerine ants. *Isr J Entomol*, 19, 89-99.
- Hölldobler, B., & Wilson, E. O. (1990). *The ants*. Harvard University Press.
- Hölldobler, B., & Wilson, E. O. (2010). *The leafcutter ants: civilization by instinct*. WW Norton & Company.
- Holway, D. A. (1999). Competitive mechanisms underlying the displacement of native ants by the invasive Argentine ant. *Ecology*, 80(1), 238-251.
- Holzer, B., Chapuisat, M., Kremer, N., Finet, C., & Keller, L. (2006). Unicoloniality, recognition and genetic differentiation in a native *Formica* ant. *Journal of Evolutionary Biology*, 19(6), 2031-2039.
- Horowitz, A., & Hecht, J. (2016). Examining dog–human play: the characteristics, affect, and vocalizations of a unique interspecific interaction. *Animal cognition*, 19(4), 779-788.

- Hubbell, S. P. (2001). *A Unified Theory of Biodiversity and Biogeography*–Princeton University Press. *Princeton, NJ*.
- Huck, M., & Watson, S. (2019). The use of animal-borne cameras to video-track the behaviour of domestic cats. *Applied Animal Behaviour Science*, *217*, 63-72.
- Human, K. G., & Gordon, D. M. (1999). Behavioral interactions of the invasive Argentine ant with native ant species. *Insectes Sociaux*, *46*(2), 159-163.
- Hunt, G. R. (1996). Manufacture and use of hook-tools by New Caledonian crows. *Nature*, *379*(6562), 249-251.
- Hunt, G. R. (2000). Human-like, population-level specialization in the manufacture of pandanus tools by New Caledonian crows *Corvus moneduloides*. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, *267*(1441), 403-413.
- ISTAT (2017). *Forme, livelli e dinamiche dell'urbanizzazione in Italia*. Istituto Nazionale di Statistica
- Iserentant, R., & De Sloover, J. R. (1976). LE CONCEPT DE BIOINDICATEUR.
- Ives, C. D., Lentini, P. E., Threlfall, C. G., Ikin, K., Shanahan, D. F., Garrard, G. E., ... &
- Jenerette, G. D., & Potere, D. (2010). Global analysis and simulation of land-use change associated with urbanization. *Landscape ecology*, *25*(5), 657-670.
- Jill Landsberg, S. M., & James, C. (1999). A comparison of the diversity and indicator potential of arthropods, vertebrates and plants in arid rangelands across Australia.
- Johnson, M. T., & Munshi-South, J. (2017). Evolution of life in urban environments. *Science*, *358*(6363).
- Jokimäki, J., Suhonen, J., & Kaisanlahti-Jokimäki, M. L. (2018). Urban core areas are important for species conservation: A European-level analysis of breeding bird species. *Landscape and urban planning*, *178*, 73-81.
- Jordan, R., & Blüthgen, N. (2007). No evidence for a dominance-discovery trade-off among *Formica pratensis* colonies (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News*, *10*, 7-10.
- Jouquet, P., Dauber, J., Lagerlöf, J., Lavelle, P., & Lepage, M. (2006). Soil invertebrates as ecosystem engineers: intended and accidental effects on soil and feedback loops. *Applied soil ecology*, *32*(2), 153-164.
- Júnior, C. D. S. M., Juen, L., & Hamada, N. (2015). Analysis of urban impacts on aquatic habitats in the central Amazon basin: adult odonates as bioindicators of environmental quality. *Ecological indicators*, *48*, 303-311.
- Jurgensen, M. F., Finér, L., Domisch, T., Kilpeläinen, J., Punttila, P., Ohashi, M., ... & Risch, A. C. (2008). Organic mound-building ants: their impact on soil properties in temperate and boreal forests. *Journal of Applied Entomology*, *132*(4), 266-275.
- Karaman, M. G. (1999). Contribution to the knowledge of the ants (Hymenoptera, Formicidae) of the Boka Kotorska bay-Montenegro. *Acta Entomologica Serbica, Beograd*, *4*(1-2), 93-106.
- Kasseney, B. D., N'tie, T. B., Nuto, Y., Wouter, D., Yeo, K., & Glitho, I. A. (2019). Diversity of Ants and Termites of the Botanical Garden of the University of Lomé, Togo. *Insects*, *10*(7), 218.
- Kaufman, A. B., & Rosenthal, R. (2009). Can you believe my eyes? The importance of interobserver reliability statistics in observations of animal behaviour. *Animal Behaviour*, *78*(6), 1487-1491.
- Knapp, S., Kühn, I., Bakker, J. P., Kleyer, M., Klotz, S., Ozinga, W. A., ... & Römermann, C. (2009). How species traits and affinity to urban land use control large-scale species frequency. *Diversity and distributions*, *15*(3), 533-546.
- Knapp, S., Schmauck, S., & Zehndorf, A. (2019). Biodiversity impact of green roofs and constructed wetlands as progressive eco-technologies in urban areas. *Sustainability*, *11*(20), 5846.
- Kneitel, J. M., & Chase, J. M. (2004). Trade-offs in community ecology: linking spatial scales and species coexistence. *Ecology letters*, *7*(1), 69-80.
- Kohler, A., & Schneider, S. (2003). Macrophytes as bioindicators. *Large Rivers*, *14*(1-2), 17-31.
- Koivula, M. J. (2011). Useful model organisms, indicators, or both? Ground beetles (Coleoptera, Carabidae) reflecting environmental conditions. *ZooKeys*, (100), 287.
- Kotze, D. J., Brandmayr, P., Casale, A., Dauffy-Richard, E., Dekoninck, W., Koivula, M. J., ... & Zetto, T. (2011). Forty years of carabid beetle research in Europe—from taxonomy, biology, ecology and population studies to bioindication, habitat assessment and conservation. *ZooKeys*, (100), 55.

- Kratochvíl, J. (1944). Hymenoptera-Aculeata: Jos (ef) Kratochvíl, VI (adimír) Novák a Jan Šnoflák. Formicidae-Apidae-Vespidae. S četrými obrázky v textu a 3 mapami. Svaz na ochranu přír. a domoviny.
- Kugler, C. (1979). Evolution of the sting apparatus in the myrmicine ants. *Evolution*, 117-130.
- Kuttler, W. (2008). The urban climate—basic and applied aspects. In *Urban ecology* (pp. 233-248). Springer, Boston, MA.
- Kvålseth, T. O. (1989). Note on Cohen's kappa. *Psychological reports*, 65(1), 223-226.
- Lach, L. (2005). Interference and exploitation competition of three nectar-thieving invasive ant species. *Insectes Sociaux*, 52(3), 257-262.
- Lach, L., Parr, C., & Abbott, K. (Eds.). (2010). *Ant ecology*. Oxford university press.
- Lachaud, J. P. (1985). Recruitment by selective activation: an archaic type of mass recruitment in a ponerine ant (*Ectatomma ruidum*). *Sociobiology*, 11(2), 133-142.
- Landis, J. R., & Koch, G. G. (1977). The measurement of observer agreement for categorical data. *biometrics*, 159-174.
- Lavelle, P., Bignell, D., Lepage, M., Wolters, V., Roger, P. A., Ineson, P. O. W. H., ... & Dhillon, S. (1997). Soil function in a changing world: the role of invertebrate ecosystem engineers. *European Journal of soil biology*, 33(4), 159-193.
- Law, S. J., & Parr, C. (2020). Numerically dominant species drive patterns in resource use along a vertical gradient in tropical ant assemblages. *Biotropica*, 52(1), 101-112.
- Lebas, C., Galkowski, C., Blatrix, R., & Wegnez, P. (2016). *Fourmis d'Europe occidentale*. Delachaux et Niestlé.
- Le Breton, J., Orivel, J., Chazeau, J., & Dejean, A. (2007). Unadapted behaviour of native, dominant ant species during the colonization of an aggressive, invasive ant. *Ecological Research*, 22(1), 107-114.
- LeBrun, E. G., & Feener, D. H. (2002). Linked indirect effects in ant-phorid interactions: impacts on ant assemblage structure. *Oecologia*, 133(4), 599-607.
- Le Brun, E. G., & Feener Jr, D. H. (2007). When trade-offs interact: balance of terror enforces dominance discovery trade-off in a local ant assemblage. *Journal of Animal Ecology*, 76(1), 58-64.
- LeBrun, E. G., Plowes, R. M., & Gilbert, L. E. (2012). Imported fire ants near the edge of their range: disturbance and moisture determine prevalence and impact of an invasive social insect. *Journal of Animal Ecology*, 81(4), 884-895.
- Legendre, P., & Legendre, L. F. (2012). *Numerical ecology*. Elsevier.
- Leiva, D., & de Vries, H. (2014). Testing steepness of dominance hierarchies. R Package.
- Leiva, D., & De Vries, H. (2014). Steepness: Testing steepness of dominance hierarchies. R package version 0.2-2.
- le Moli, F., & Parmigiani, S. (1981). Laboratory and field observations of attack by the red wood ant *Formica lugubris* Zett. on *Formica cunicularia* Latr. (Hymenoptera: Formicidae). *Aggressive Behavior*, 7(4), 341-350.
- Lengyel, S., Gove, A. D., Latimer, A. M., Majer, J. D., & Dunn, R. R. (2010). Convergent evolution of seed dispersal by ants, and phylogeny and biogeography in flowering plants: a global survey. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 12(1), 43-55.
- Lenoir, J. C. (2006). *Structure sociale et stratégie de reproduction chez Cardiocondyla elegans* (Doctoral dissertation, Université François Rabelais-Tours).
- Leonetti, D., Centorame, M., & Fanfani, A. (2019). Differences in exploitation and interference ability between two dominant ants: The invasive Argentine ant (*Linepithema humile*) and *Tapinoma magnum*. *Ethology Ecology & Evolution*, 31(4), 369-385.
- Lessard, J. P., & Buddle, C. M. (2005). The effects of urbanization on ant assemblages (Hymenoptera: Formicidae) associated with the Molson Nature Reserve, Quebec. *The Canadian Entomologist*, 137(2), 215-225.
- Lessard, J. P., Dunn, R. R., & Sanders, N. J. (2009). Temperature-mediated coexistence in temperate forest ant communities. *Insectes Sociaux*, 56(2), 149-156.
- Lettoof, D. C., Bateman, P. W., Aubret, F., & Gagnon, M. M. (2020). The broad-scale analysis of metals, trace elements, organochlorine pesticides and polycyclic aromatic hydrocarbons in wetlands

- along an urban gradient, and the use of a high trophic snake as a bioindicator. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 78(4), 631-645.
- Lin, N. (1964). The use of sand grains by the pavement ant *Tetramorium caespitum* while attacking halictine bees. *Bull. Brooklyn Entomol. Soc*, 59, 30-34.
 - Lindsey, P. A., & Skinner, J. D. (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(4), 551-568.
 - Livesley, S. J., McPherson, E. G., & Calfapietra, C. (2016). The urban forest and ecosystem services: impacts on urban water, heat, and pollution cycles at the tree, street, and city scale. *Journal of environmental quality*, 45(1), 119-124.
 - Longino, J. T. (2003). The *Crematogaster* (Hymenoptera, Formicidae, Myrmicinae) of Costa Rica. *Zootaxa*, 151(1), 1-150.
 - Losey, J. E., & Vaughan, M. (2006). The economic value of ecological services provided by insects. *Bioscience*, 56(4), 311-323.
 - Lőrinczi, G. (2014). Some notes on the tool-using behaviour of the ant, *Aphaenogaster subterranea* (Hymenoptera: Formicidae). *Tiscia (Szeged)*, 40, 17-24.
 - Lőrinczi, G., Módra, G., Juhász, O., & Maák, I. (2018). Which tools to use? Choice optimization in the tool-using ant, *Aphaenogaster subterranea*. *Behavioral Ecology*, 29(6), 1444-1452.
 - Lucky, A., Savage, A. M., Nichols, L. M., Castracani, C., Shell, L., Grasso, D. A., ... & Dunn, R. R. (2014). Ecologists, educators, and writers collaborate with the public to assess backyard diversity in The School of Ants Project. *Ecosphere*, 5(7), 1-23.
 - Maák, I., Lőrinczi, G., Le Quinquis, P., Módra, G., Bovet, D., Call, J., & d'Ettorre, P. (2017). Tool selection during foraging in two species of funnel ants. *Animal Behaviour*, 123, 207-216.
 - MacArthur, R. H., & MacArthur, J. W. (1961). On bird species diversity. *Ecology*, 42(3), 594-598.
 - MacArthur, R. H. and E. O. Wilson (1967). *The Theory of Island Biogeography*. Princeton University Press, NJ, 203 pp.
 - MacKay, W. P. (1982). The effect of predation of western widow spiders (Araneae: Theridiidae) on harvester ants (Hymenoptera: Formicidae). *Oecologia*, 53(3), 406-411.
 - Mainardi, D. (Ed.). (1992). *Dizionario di etologia*. Einaudi.
 - Majer, J. D., Orabi, G., & Bisevac, L. (2007). Ants (Hymenoptera: Formicidae) pass the bioindicator scorecard. *Myrmecological News*, 10, 69-76.
 - Manrique, H. M., Gross, A. N. M., & Call, J. (2010). Great apes select tools on the basis of their rigidity. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 36(4), 409.
 - Maravita, A., & Iriki, A. (2004). Tools for the body (schema). *Trends in cognitive sciences*, 8(2), 79-86.
 - Maron, J. L. (1982). Shell-dropping behavior of western gulls (*Larus occidentalis*). *The Auk*, 99(3), 565-569.
 - Martin-Ordas, G., Schumacher, L., & Call, J. (2012). Sequential tool use in great apes. *PLoS One*, 7(12), e52074.
 - Marlier, J. F., Quinet, Y., & De Biseau, J. C. (2004). Defensive behaviour and biological activities of the abdominal secretion in the ant *Crematogaster scutellaris* (Hymenoptera: Myrmicinae). *Behavioural Processes*, 67(3), 427-440.
 - Martelloni, G., Santarlasci, A., Bagnoli, F., & Santini, G. (2014). Modeling ant battles by means of a diffusion-limited Gillespie algorithm. *Modeling ant battles by means of a diffusion-limited Gillespie algorithm*, 57-76.
 - Martinson, H. M., & Raupp, M. J. (2013). A meta-analysis of the effects of urbanization on ground beetle communities. *Ecosphere*, 4(5), 1-24.
 - Maynard, D. S., Crowther, T. W., King, J. R., Warren, R. J., & Bradford, M. A. (2015). Temperate forest termites: ecology, biogeography, and ecosystem impacts. *Ecological Entomology*, 40(3), 199-210.
 - McCarty, L. S., Power, M., & Munkittrick, K. R. (2002). Bioindicators versus biomarkers in ecological risk assessment. *Human and Ecological risk assessment*, 8(1), 159-164.
 - McDonald, P. (1984). Tool use by the ant, *Novomessor albisetosus* (Mayr). *Journal of the New York Entomological Society*, 156-161.

- McDonnell, S. M., & Haviland, J. C. S. (1995). Agonistic ethogram of the equid bachelor band. *Applied Animal Behaviour Science*, 43(3), 147-188.
- McDonnell, S. M., & Poulin, A. (2002). Equid play ethogram. *Applied Animal Behaviour Science*, 78(2-4), 263-290.
- McFrederick, Q. S., & LeBuhn, G. (2006). Are urban parks refuges for bumble bees *Bombus* spp.(Hymenoptera: Apidae)?. *Biological conservation*, 129(3), 372-382.3
- McGeogh, M. A. (1998). The selection, testing and application of terrestrial insects as bioindicators. *Biological reviews*, 73(2), 181-201.
- McIntyre, N. E., Rango, J., Fagan, W. F., & Faeth, S. H. (2001). Ground arthropod community structure in a heterogeneous urban environment. *Landscape and urban planning*, 52(4), 257-274.
- MacNulty, D. R., Mech, L. D., & Smith, D. W. (2007). A proposed ethogram of large-carnivore predatory behavior, exemplified by the wolf. *Journal of Mammalogy*, 88(3), 595-605.
- Meudec, M., & Lenoir, A. (1982). Social responses to variation in food supply and nest suitability in ants (*Tapinoma erraticum*). *Animal Behaviour*, 30(1), 284-292.
- Melliger, R. L., Rusterholz, H. P., & Baur, B. (2017). Ecosystem functioning in cities: Combined effects of urbanisation and forest size on early-stage leaf litter decomposition of European beech (*Fagus sylvatica* L.). *Urban Forestry & Urban Greening*, 28, 88-96.
- Melis, C., Olsen, C. B., Hyllvang, M., Gobbi, M., Stokke, B. G., & Røskaft, E. (2010). The effect of traffic intensity on ground beetle (Coleoptera: Carabidae) assemblages in central Sweden. *Journal of Insect Conservation*, 14(2), 159-168.
- Menke, S. B., Guénard, B., Sexton, J. O., Weiser, M. D., Dunn, R. R., & Silverman, J. (2011). Urban areas may serve as habitat and corridors for dry-adapted, heat tolerant species; an example from ants. *Urban Ecosystems*, 14(2), 135-163.
- Mertl, A. L., Ryder Wilkie, K. T., & Traniello, J. F. (2009). Impact of flooding on the species richness, density and composition of Amazonian litter-nesting ants. *Biotropica*, 41(5), 633-641.
- Michener, C. D. (1969). Comparative social behavior of bees. *Annual review of entomology*, 14(1), 299-342.
- Miller, J. R. (2005). Biodiversity conservation and the extinction of experience. *Trends in ecology & evolution*, 20(8), 430-434.
- Millikan, G. C. (1967). Observations on Galápagos tool-using finches in captivity. *Living Bird*, 6, 23-41.
- Mitchell, R., & Popham, F. (2008). Effect of exposure to natural environment on health inequalities: an observational population study. *The lancet*, 372(9650), 1655-1660.
- Módra, G., Maák, I., Lőrincz, Á., Juhász, O., Kiss, P. J., & Lőrinczi, G. (2020). Protective behavior or 'true' tool use? Scrutinizing the tool use behavior of ants. *Ecology and Evolution*, 10(24), 13787-13795.
- Módra, G., Maák, I., Lőrincz, Á., & Lőrinczi, G. (2021). Comparison of foraging tool use in two species of myrmicine ants (Hymenoptera: Formicidae). *Insectes Sociaux*, 1-8.
- Moli, F. L., & Mori, A. (1990). Laboratory experiments on environmental sources of nestmate and non-nestmate discrimination in three species of *Formica* ants (Hymenoptera: Formicidae). *Psyche*, 97(3-4), 147-169.
- Mori, A., Grasso, D. A., D'ettorre, P., & Le Moli, F. (1994). Specificity in host choice by the slave-making ant *Polyergus rufescens* Latr.(Hymenoptera Formicidae). *Ethology Ecology & Evolution*, 6(sup1), 89-93.
- Morrill, W. L. (1972). Tool using behavior of *Pogonomyrmex badius* (Hymenoptera: Formicidae). *Florida Entomologist*, 59-60.
- Morrison, L. W. (1996). Community organization in a recently assembled fauna: the case of Polynesian ants. *Oecologia*, 107(2), 243-256.
- Nations, U. World Urbanization Prospects The 2018 Revision. 2018. *New York: Population Division, Department of Economic and Social Affairs, United Nations*.
- Nelder, J. A., & Wedderburn, R. W. (1972). Generalized linear models. *Journal of the Royal Statistical Society: Series A (General)*, 135(3), 370-384.
- Németh, E., Czékes, Z., Táusan, I., & Markó, B. (2012). Contribution to the knowledge of the myrmecofauna of the Cefa Nature Park (North-Western Romania).

- Nicholls, A. O. (1989). How to make biological surveys go further with generalised linear models. *Biological Conservation*, 50(1-4), 51-75.
- Nicholls, A. O. (1990). The increased use of generalised linear models in biological studies, including. *Nature Conservation: Cost Effective Biological Surveys and Data Analysis*.
- Niemelä, J. (1999). Ecology and urban planning. *Biodiversity & Conservation*, 8(1), 119-131.
- Nishida, T., & Hiraiwa, M. (1982). Natural history of a tool-using behavior by wild chimpanzees in feeding upon wood-boring ants. *Journal of Human Evolution*, 11(1), 73-99.
- Nishida, T., Kano, T., Goodall, J., McGrew, W. C., & Nakamura, M. (1999). Ethogram and ethnography of Mahale chimpanzees. *Anthropological Science*, 107(2), 141-188.
- Noordijk, J. (2016). Life-cycle and behaviour of *Tapinoma nigerrimum* (Hymenoptera: Formicidae), a new exotic ant in The Netherlands. *Entomologische Berichten*, 76(3), 86-93.
- Nooten, S., Schultheiss, P., Rowe, R. C., Facey, S. L., & Cook, J. M. (2019). Habitat complexity affects functional traits and diversity of ant assemblages in urban green spaces (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News*, 29.
- Ohashi, M., Finér, L., Domisch, T., Risch, A. C., & Jurgensen, M. F. (2005). CO₂ efflux from a red wood ant mound in a boreal forest. *Agricultural and Forest Meteorology*, 130(1-2), 131-136.
- Odum, W. E. (1982). Environmental degradation and the tyranny of small decisions. *BioScience*, 32(9), 728-729.
- Ottonetti, L., Tucci, L., Chelazzi, G., & Santini, G. (2008). Stable isotopes analysis to assess the trophic role of ants in a Mediterranean agroecosystem. *Agricultural and Forest Entomology*, 10(1), 29-36.
- Pacheco, R., & Vasconcelos, H. L. (2007). Invertebrate conservation in urban areas: ants in the Brazilian Cerrado. *Landscape and Urban Planning*, 81(3), 193-199.
- Paoletti, M. G., Bressan, M., & Edwards, C. A. (1996). Soil invertebrates as bioindicators of human disturbance. *Critical reviews in plant sciences*, 15(1), 21-62.
- Parker, S. T., & Gibson, K. R. (1977). Object manipulation, tool use and sensorimotor intelligence as feeding adaptations in *Cebus* monkeys and great apes. *Journal of Human Evolution*, 6(7), 623-641.
- Parr C.L. & Gibb H. (2010). Defining dominance. – In: Lach L., Parr C.L., Abbott K.L. *Ant Ecology*. – Oxford University Press, Oxford, pp. 83-84.
- Parr, C. L. (2008). Dominant ants can control assemblage species richness in a South African savanna. *Journal of Animal Ecology*, 77(6), 1191-1198.
- Parr, C. L., & Gibb, H. (2012). The discovery–dominance trade-off is the exception, rather than the rule. *Journal of Animal Ecology*, 81(1), 233-241.
- Patrick, M., Fowler, D., Dunn, R. R., & Sanders, N. J. (2012). Effects of treefall gap disturbances on ant assemblages in a tropical montane cloud forest. *Biotropica*, 44(4), 472-478.
- Pećarević, M., Danoff-Burg, J., & Dunn, R. R. (2010). Biodiversity on Broadway-enigmatic diversity of the societies of ants (Formicidae) on the streets of New York City. *PLoS One*, 5(10), e13222.
- Pekár, S., Toft, S., Hrušková, M., & Mayntz, D. (2008). Dietary and prey-capture adaptations by which *Zodarion germanicum*, an ant-eating spider (Araneae: Zodaridae), specialises on the Formicinae. *Naturwissenschaften*, 95(3), 233-239.
- Penick, C. A., Savage, A. M., & Dunn, R. R. (2015). Stable isotopes reveal links between human food inputs and urban ant diets. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282(1806), 20142608.
- Perfecto, I. (1994). Foraging behavior as a determinant of asymmetric competitive interaction between two ant species in a tropical agroecosystem. *Oecologia*, 98(2), 184-192.
- Porrini, C., Caprio, E., Tesoriero, D., & Di Prisco, G. (2014). Using honey bee as bioindicator of chemicals in Campanian agroecosystems (South Italy). *Bulletin of Insectology*, 67(1), 137-146.
- Pribadi, T. E. G. U. H., Raffiudin, R. I. K. A., & HARAHA, I. S. (2011). Termites community as environmental bioindicators in highlands: a case study in eastern slopes of Mount Slamet, Central Java. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 12(4).
- Prozesky-Schulze, L., Prozesky, O. P. M., Anderson, F., & Van Der Merwe, G. J. J. (1975). Use of a self-made sound baffle by a tree cricket. *Nature*, 255(5504), 142-143.

- Qin, W., Chen, X., Hooper-Bùi, L. M., Cai, J., Wang, L., Sun, Z., ... & Wang, C. (2019). Food-burying behavior in red imported fire ants (Hymenoptera: Formicidae). *PeerJ*, 7, e6349.
- Radchenko, A. G., & Dlussky, G. M. (2015). First record of fossil species of the genus *Tetramorium* (Hymenoptera, Formicidae). *Вестник зоологии*, (49, № 4), 311-316.
- Rao, M. (2000). Variation in leaf-cutter ant (*Atta* sp.) densities in forest isolates: the potential role of predation. *Journal of tropical ecology*, 16(2), 209-225.
- R Core Team (2019). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Read, J. L. (1996). Use of ants to monitor environmental impacts of salt spray from a mine in arid Australia. *Biodiversity & Conservation*, 5(12), 1533-1543.
- Read, J., & Pickering, R. (1999). Ecological and toxicological effects of exposure to an acidic, radioactive tailings storage. *Environmental Monitoring and Assessment*, 54(1), 69-85.
- Reddy, N., Xu, H., & Yang, Y. (2011). Unique natural-protein hollow-nanofiber membranes produced by weaver ants for medical applications. *Biotechnology and bioengineering*, 108(7), 1726-1733.
- Resasco, J., Pelini, S. L., Stuble, K. L., Sanders, N. J., Dunn, R. R., Diamond, S. E., ... & Levey, D. J. (2014). Using historical and experimental data to reveal warming effects on ant assemblages. *PLoS One*, 9(2), e88029.
- Retana, J., & Cerdá, X. (2000). Patterns of diversity and composition of Mediterranean ground ant communities tracking spatial and temporal variability in the thermal environment. *Oecologia*, 123(3), 436-444.
- Rey, P. J., & Manzaneda, A. J. (2007). Geographical variation in the determinants of seed dispersal success of a myrmecochorous herb. *Journal of Ecology*, 1381-1393.
- Reyes-López, J., & 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(3), 421.
- Richard, F. J., Fabre, A., & Dejean, A. (2001). Predatory behavior in dominant arboreal ant species: the case of *Crematogaster* sp. (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of insect behavior*, 14(2), 271-282.
- Risch, A. C., Jurgensen, M. F., Schütz, M., & Page-Dumroese, D. S. (2005). The contribution of red wood ants to soil C and N pools and CO₂ emissions in subalpine forests. *Ecology*, 86(2), 419-430.
- Rocha, E. A., & Fellowes, M. D. (2020). Urbanisation alters ecological interactions: Ant mutualists increase and specialist insect predators decrease on an urban gradient. *Scientific reports*, 10(1), 1-8.
- Rostás, M., Bollmann, F., Saville, D., & Riedel, M. (2018). Ants contribute to pollination but not to reproduction in a rare calcareous grassland forb. *PeerJ*, 6, e4369.
- Roulston, T. H., Buczkowski, G., & Silverman, J. (2003). Nestmate discrimination in ants: effect of bioassay on aggressive behavior. *Insectes Sociaux*, 50(2), 151-159.
- Rowles, A. D., & O'Dowd, D. J. (2007). Interference competition by Argentine ants displaces native ants: implications for biotic resistance to invasion. *Biological invasions*, 9(1), 73-85.
- Rumbaugh, D. M. (1970). Learning skills of anthropoids. *Primate behavior: Developments in field and laboratory research*, 1, 1-70.
- Russell, J. A., Moreau, C. S., Goldman-Huertas, B., Fujiwara, M., Lohman, D. J., & Pierce, N. E. (2009). Bacterial gut symbionts are tightly linked with the evolution of herbivory in ants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(50), 21236-21241.
- Sánchez-Tójar, A., Schroeder, J., & Farine, D. R. (2018). A practical guide for inferring reliable dominance hierarchies and estimating their uncertainty. *Journal of Animal Ecology*, 87(3), 594-608.
- Sandifer, P. A., Sutton-Grier, A. E., & Ward, B. P. (2015). Exploring connections among nature, biodiversity, ecosystem services, and human health and well-being: Opportunities to enhance health and biodiversity conservation. *Ecosystem services*, 12, 1-15.
- Sanetra, M., Güsten, R., & Schulz, A. (1999). On the taxonomy and distribution of Italian *Tetramorium* species and their social parasites. *Memorie della Società entomologica italiana*, 77, 317-357.

- Sanford, M. P., Manley, P. N., & Murphy, D. D. (2009). Effects of urban development on ant communities: implications for ecosystem services and management. *Conservation Biology*, 23(1), 131-141.
- Santini, G., Tucci, L., Ottonetti, L., & Frizzi, F. (2007). Competition trade-offs in the organisation of a Mediterranean ant assemblage. *Ecological Entomology*, 32(3), 319-326.
- Santini, G., Ramsay, P. M., Tucci, L., Ottonetti, L., & Frizzi, F. (2011). Spatial patterns of the ant *Crematogaster scutellaris* in a model ecosystem. *Ecological Entomology*, 36(5), 625-634.
- Santos, J. C., Yamamoto, M., Oliveira, F. R., & Del-Claro, K. (2005). Behavioral repertory of the weaver ant *Camponotus (Myrmobrachys) senex* (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology*, 46(1), 27-38.
- Santos, M. N. (2016). Research on urban ants: approaches and gaps. *Insectes Sociaux*, 63(3), 359-371.
- Santorufò, L., Van Gestel, C. A., Rocco, A., & Maisto, G. (2012). Soil invertebrates as bioindicators of urban soil quality. *Environmental Pollution*, 161, 57-63.
- Sarty, M., Abbott, K. L., & Lester, P. J. (2006). Habitat complexity facilitates coexistence in a tropical ant community. *Oecologia*, 149(3), 465-473.
- Savolainen, R., & Vepsäläinen, K. (1988). A competition hierarchy among boreal ants: impact on resource partitioning and community structure. *Oikos*, 135-155.
- Savolainen, R., & Vepsäläinen, K. (1989). Niche differentiation of ant species within territories of the wood ant *Formica polyctena*. *Oikos*, 3-16.
- Savolainen, R., Vepsäläinen, K., & Wuoreninne, H. (1989). Ant assemblages in the taiga biome: testing the role of territorial wood ants. *Oecologia*, 81(4), 481-486.
- Sanz, C., Morgan, D., & Gulick, S. (2004). New insights into chimpanzees, tools, and termites from the Congo Basin. *The American Naturalist*, 164(5), 567-581.
- Schatz, B., Lachaud, J. P., & Beugnon, G. (1997). Graded recruitment and hunting strategies linked to prey weight and size in the ponerine ant *Ectatomma ruidum*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 40(6), 337-349.
- Schatz, B., & Hossaert-McKey, M. (2003). Interactions of the ant *Crematogaster scutellaris* with the fig/fig wasp mutualism. *Ecological Entomology*, 28(3), 359-368.
- Schlick-Steiner, B. C., Steiner, F. M., Moder, K., Seifert, B., Sanetra, M., Dyreson, E., ... & Christian, E. (2006). A multidisciplinary approach reveals cryptic diversity in Western Palearctic *Tetramorium* ants (Hymenoptera: Formicidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 40(1), 259-273.
- Schifani, E., Nalini, E., Gentile, V., Alamanni, F., Ancona, C., Caria, M., ... & Bazzato, E. (2021). Ants of Sardinia: an updated checklist based on new faunistic, morphological and biogeographical notes. *Redia*, 104, 21-35.
- Schultz, G. W. (1982). Soil-dropping behavior of the pavement ant, *Tetramorium caespitum* (L.) (Hymenoptera: Formicidae) against the alkali bee (Hymenoptera: Halictidae). *Journal of the Kansas Entomological Society*, 277-282.
- Schwarz, N., Moretti, M., Bugalho, M. N., Davies, Z. G., Haase, D., Hack, J., ... & Knapp, S. (2017). Understanding biodiversity-ecosystem service relationships in urban areas: A comprehensive literature review. *Ecosystem services*, 27, 161-171.
- Sears, M. (2010). Warrior ants: elite troops in the Iliad. *Classical World*, 139-155.
- Segev, U., & Ziv, Y. (2012). Consequences of behavioral vs. numerical dominance on foraging activity of desert seed-eating ants. *Behavioral ecology and sociobiology*, 66(4), 623-632.
- Seifert, B. (1992). A taxonomic revision of the Palearctic members of the ant subgenus *Lasius* s. str. (Hymenoptera, Formicidae). *Abhandlungen und Berichte des naturkundemuseums Görlitz*, 66, 1-67.
- Seifert, B. (2009). Cryptic species in ants (Hymenoptera: Formicidae) revisited: we need a change in the alpha-taxonomic approach. *Myrmecological News*, 12, 149-166.
- Seifert, B., & Schultz, R. (2009). A taxonomic revision of the *Formica rufibarbis* FABRICIUS, 1793 group (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News*, 12, 255-272.
- Seifert, B. (2012). Clarifying naming and identification of the outdoor species of the ant genus *Tapinoma* FÖRSTER, 1850 (Hymenoptera)

- Seifert, B., & Galkowski, C. (2016). The Westpalaeartic *Lasius paralienus* complex (Hymenoptera: Formicidae) contains three species. *Zootaxa*, 4132(1), 44-58.
- Seifert B., D'Eustacchio D., Kaufmann B., Centorame M., Lorite P., Modica M.V. (2017). Four species within the supercolonial ants of the *Tapinoma nigerrimum* complex revealed by integrative taxonomy (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecol. News* 24: 123-144.
- Seifert, B. (2018). The ants of Central and North Europe. Iultra Verlags-und Vertriebsgesellschaft. Tauer, Germany.
- Seifert, B. (2020). A taxonomic revision of the Palaearctic members of the subgenus *Lasius* s. str. (Hymenoptera, Formicidae):+ The Supplementary Informations SI1 and SI2 are downloadable as digital material. *Soil organisms*, 92(1), 15-86.
- Seifert, B. (2021). Surviving the winter: *Tetramorium sibiricum* n. sp., a new Central Siberian ant species (Hymenoptera: Formicidae). *OSMIA*, 9, 15-24.
- Servigne, P., & Detrain, C. (2010). Opening myrmecochory's black box: what happens inside the ant nest? *Ecological Research*, 25(3), 663-672.
- Seto, K. C., Fragkias, M., Güneralp, B., & Reilly, M. K. (2011). A meta-analysis of global urban land expansion. *PloS one*, 6(8), e23777.
- Shattuck, S. O., Alpert, G. D., & Lubertazzi, D. (2014). AntWiki. Accessed online at <http://www.antwiki.org/wiki>.
- Shiran, E., Mossadegh, M. S., & Esfandiari, M. (2013). Mutualistic ants (Hymenoptera: Formicidae) associated with aphids in central and southwestern parts of Iran. *Journal of Crop Protection*, 2(1), 1-12.
- Skaldina, O., Ciszek, R., Peräniemi, S., Kolehmainen, M., & Sorvari, J. (2020). Facing the threat: common yellowjacket wasps as indicators of heavy metal pollution. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 29031-29042.
- Slipinski, P., Zmihorski, M., & Czechowski, W. (2012). Species diversity and nestedness of ant assemblages in an urban environment. *European Journal of Entomology*, 109(2), 197.
- Smith, M. R. (1928). The biology of *Tapinoma sessile* Say, an important house-infesting ant. *Annals of the Entomological Society of America*, 21(2), 307-330.
- Srivastava, S. K., Babu, N., & Pandey, H. (2009). Traditional insect bioprospecting—As human food and medicine.
- St Amant, R., & Horton, T. E. (2008). Revisiting the definition of animal tool use. *Animal Behaviour*, 75(4), 1199-1208.
- Steiner, F. M., Schlick-Steiner, B. C., Nikiforov, A., Kalb, R., & Mistrik, R. (2002). Cuticular hydrocarbons of *Tetramorium* ants from Central Europe: analysis of GC-MS data with self-organizing maps (SOM) and implications for systematics. *Journal of chemical ecology*, 28(12), 2569-2584.
- Steiner, F. M., Schlick-Steiner, B. C., VanDerWal, J., Reuther, K. D., Christian, E., Stauffer, C., ... & Crozier, R. H. (2008). Combined modelling of distribution and niche in invasion biology: a case study of two invasive *Tetramorium* ant species. *Diversity and Distributions*, 14(3), 538-545.
- Steiner, F. M., Seifert, B., Moder, K., & Schlick-Steiner, B. C. (2010). A multisource solution for a complex problem in biodiversity research: Description of the cryptic ant species *Tetramorium*
- Steiner, F. M., Csósz, S., Markó, B., Gamisch, A., Rinnhofer, L., Folterbauer, C., ... & Schlick-Steiner, B. C. (2018). Turning one into five: Integrative taxonomy uncovers complex evolution of cryptic species in the harvester ant *Messor* "structor". *Molecular phylogenetics and evolution*, 127, 387-404.
- Strayer, F. F., & Strayer, J. (1976). An ethological analysis of social agonism and dominance relations among preschool children. *Child Development*, 980-989.
- Stuble, K. L., Kirkman, L. K., & Carroll, C. R. (2009). Patterns of abundance of fire ants and native ants in a native ecosystem. *Ecological Entomology*, 34(4), 520-526.
- Stuble, K. L., Rodriguez-Cabal, M. A., McCormick, G. L., Jurić, I., Dunn, R. R., & Sanders, N. J. (2013). Tradeoffs, competition, and coexistence in eastern deciduous forest ant communities. *Oecologia*, 171(4), 981-992.
- Suarez, A. V., Richmond, J. Q., & Case, T. J. (2000). Prey selection in horned lizards following the invasion of Argentine ants in southern California. *Ecological Applications*, 10(3), 711-725.

- Suarez, A. V., Holway, D. A., Liang, D., Tsutsui, N. D., & Case, T. J. (2002). Spatiotemporal patterns of intraspecific aggression in the invasive Argentine ant. *Animal Behaviour*, 64(5), 697-708.
- Suheriyanto, D., Zuhro, Z., Farah, I. E., & Maulidiyah, A. (2019, May). The potential of soil arthropods as bioindicator of soil quality in relation to environmental factors at apple farm, Batu, East Java, Indonesia. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 1217, No. 1, p. 012180). IOP Publishing.
- Tamarri, V., Castracani, C., Grasso, D. A., Visicchio, R., Le Moli, F., & Mori, A. (2009). The defensive behaviour of two Formica slave-ant species: coevolutionary implications with their parasite *Polyergus rufescens* (Hymenoptera, Formicidae). *Italian Journal of Zoology*, 76(2), 229-238.
- Tan, P. Y., Zhang, J., Masoudi, M., Alemu, J. B., Edwards, P. J., Grêt-Regamey, A., ... & Wong, L. W. (2020). A conceptual framework to untangle the concept of urban ecosystem services. *Landscape and urban planning*, 200, 103837.
- Tanner, C. J., & Adler, F. R. (2009). To fight or not to fight: context-dependent interspecific aggression in competing ants. *Animal Behaviour*, 77(2), 297-305.
- Tebbich, S., Taborsky, M., Fessl, B., & Blomqvist, D. (2001). Do woodpecker finches acquire tool-use by social learning?. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 268(1482), 2189-2193.
- Tebbich, S., Taborsky, M., Fessl, B., & Dvorak, M. (2002). The ecology of tool-use in the woodpecker finch (*Cactospiza pallida*). *Ecology Letters*, 5(5), 656-664.
- Tian, Y., Jim, C. Y., & Wang, H. (2014). Assessing the landscape and ecological quality of urban green spaces in a compact city. *Landscape and urban planning*, 121, 97-108.
- Tisdale, H. (1941). The process of urbanization. *Soc. F.*, 20, 311.
- Thomas, M. L., Tsutsui, N. D., & Holway, D. A. (2005). Intraspecific competition influences the symmetry and intensity of aggression in the Argentine ant. *Behavioral Ecology*, 16(2), 472-481.
- Tonelli, D., Gattavecchia, E., Ghini, S., Porrini, C., Celli, G., & Mercuri, A. (1990). Honey bees and their products as indicators of environmental radioactive pollution. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 141(2), 427-436.
- Triyogo, A., Widyastuti, S. M., Subrata, S. A., & Budi, S. S. (2020). Abundance of ants (Hymenoptera: Formicidae) and the functional groups in two different habitats. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 21(5).
- Thompson, B., & McLachlan, S. (2007). The effects of urbanization on ant communities and myrmecochory in Manitoba, Canada. *Urban Ecosystems*, 10(1), 43-52.
- Todd, B. D., Rothermel, B. B., Reed, R. N., Luhring, T. M., Schlatter, K., Trenkamp, L., & Gibbons, J. W. (2008). Habitat alteration increases invasive fire ant abundance to the detriment of amphibians and reptiles. *Biological Invasions*, 10(4), 539-546.
- Topoff, H., & Miranda, J. (1978). Precocial behaviour of callow workers of the army ant *Neivamyrmex nigrescens*: importance of stimulation by adults during mass recruitment. *Animal Behaviour*, 26, 698-706.
- Touyama, Y., Yamamoto, T., & Nakagoshi, N. (2002). Are Ants Useful Bioindicator?: the Relationship between Ant Species Richness and Soil Macrofaunal Richness, in Hiroshima Prefecture. *Edaphologia*, 70, 33-36.
- Travain, T., Colombo, E. S., Heinzl, E., Bellucci, D., Previde, E. P., & Valsecchi, P. (2015). Hot dogs: Thermography in the assessment of stress in dogs (*Canis familiaris*)—A pilot study. *Journal of veterinary behavior*, 10(1), 17-23.
- Underwood, E. C., & Fisher, B. L. (2006). The role of ants in conservation monitoring: if, when, and how. *Biological conservation*, 132(2), 166-182.
- UNDP (United Nations Development Programme), United Nations Environment Programme, World Bank and World Resources Institute (2000) A guide to world resources 2000–2001: people and ecosystems—the fraying web of life, World Resources Institute, Washington DC
- Uno, S., Cotton, J., & Philpott, S. M. (2010). Diversity, abundance, and species composition of ants in urban green spaces. *Urban Ecosystems*, 13(4), 425-441.
- United Nations. (1993) 'Convention on Biological Diversity (with annexes). Concluded at Rio de Janeiro on 5 June 1992'. <<https://www.cbd.int/doc/legal/cbd-en.pdf>>. Last accessed: 20 February 2021.

- United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division (2019). *World Urbanization Prospects: The 2018 Revision (ST/ESA/SER.A/420)*. New York: United Nations.
- Urbini, A., Sparvoli, E., & Turillazzi, S. (2006). Social paper wasps as bioindicators: a preliminary research with *Polistes dominulus* (Hymenoptera Vespidae) as a trace metal accumulator. *Chemosphere*, 64(5), 697-703.
- Van Lawick, H., & Goodall, J. (1970). *Innocent killers*. Collins Publishers San Francisco.
- Van Schaik, C. P., Deaner, R. O., & Merrill, M. Y. (1999). The conditions for tool use in primates: implications for the evolution of material culture. *Journal of Human Evolution*, 36(6), 719-741.
- Vanderwoude, c., Andersen, a. N., & House, a. P. (1997). Ant communities as bio-indicators in relation to fire management of spotted gum (*Eucalyptus maculata* Hook.) forests in south-east Queensland. *Memoirs of the Museum of Victoria*, 56(2), 671-675.
- Vargha, A., & Delaney, H. D. (1998). The Kruskal-Wallis test and stochastic homogeneity. *Journal of Educational and behavioral Statistics*, 23(2), 170-192.
- Vepsäläinen, K., & Pisarski, B. (1982). Assembly of island ant communities. In *Annales Zoologici Fennici* (pp. 327-335). Finnish Academy of Sciences, Societas Scientiarum Fennica, Societas pro Fauna et Flora Fennica and Societas Biologica Fennica Vanamo.
- Viana-Junior, A. B., Reis, Y. T., Costa, A. P. M., & Souza, V. B. (2014). Termite assemblages in dry tropical forests of Northeastern Brazil: Are termites bioindicators of environmental disturbances?. *Sociobiology*, 61(3), 324-331.
- Viera, A. J., & Garrett, J. M. (2005). Understanding interobserver agreement: the kappa statistic. *Fam med*, 37(5), 360-363.
- Wagner, D., Brown, M. J., & Gordon, D. M. (1997). Harvester ant nests, soil biota and soil chemistry. *Oecologia*, 112(2), 232-236.
- Wagner, H. C., Arthofer, W., Seifert, B., Muster, C., Steiner, F. M., & Schlick-Steiner, B. C. (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.
- Wang, C., Chen, X., Hooper-Bùi, L. M., Strecker, R., Wen, Y. Z., Qin, W. Q., ... & Wen, X. J. (2018). How do groups of red imported fire ants (Hymenoptera: Formicidae) feed on a droplet of sugar water?. *Insect science*, 25(3), 499-507.
- Wanger, T.C., Wielgoss, A.C., Motzke, I., Clough, Y., Brook, B.W., SODHI, N.S. & Tschamtké, T. (2011) Endemic predators, invasive prey and native diversity. – Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences 278: 690-694.
- Ward, P. S. (2006). Ants. *Current Biology*, 16(5), R152-R155.
- Ward, P. S., Brady, S. G., Fisher, B. L., & Schultz, T. R. (2015). The evolution of myrmicine ants: phylogeny and biogeography of a hyperdiverse ant clade (Hymenoptera: Formicidae). *Systematic Entomology*, 40(1), 61-81.
- Warren, R. J., McMillan, A., King, J. R., Chick, L., & Bradford, M. A. (2015). Forest invader replaces predation but not dispersal services by a keystone species. *Biological Invasions*, 17(11), 3153-3162.
- Way, M. J., Cammell, M. E., Paiva, M. R., & Collingwood, C. A. (1997). Distribution and dynamics of the Argentine ant *Linepithema (Iridomyrmex) humile* (Mayr) in relation to vegetation, soil conditions, topography and native competitor ants in Portugal. *Insectes sociaux*, 44(4), 415-433.
- Wegnez, P., & Fichaux, M. (2015). Liste actualisée des espèces de fourmis répertoriées au Grand-Duché de Luxembourg (Hymenoptera: Formicidae). *Bulletin SRBE/KBVE*, 151(2), 150-165.
- Wen, C., Chen, J., Qin, W. Q., Chen, X., Cai, J. C., Wen, J. B., ... & Wang, C. (2020). Red imported fire ants (Hymenoptera: Formicidae) cover inaccessible surfaces with particles to facilitate food search and transportation. *Insect Science*.
- Werner, P., & Zahner, R. (2009). Biodiversity and cities. *A review and bibliography. BfN-Skripten, Bonn*, 245.
- Wheeler, W. M. (1910). *Ants: their structure, development and behavior* (No. 9). Columbia University Press.
- Wibowo, A., Rustanto, A., & Shidiq, I. P. A. (2013). Spatial-temporal analysis of urban heat island in tangerang city. *Indonesian Journal of Geography*, 45(2), 101-115.

- Wiescher, P. T., Pearce-Duvet, J. M., & Feener Jr, D. H. (2011). Environmental context alters ecological trade-offs controlling ant coexistence in a spatially heterogeneous region. *Ecological Entomology*, 36(5), 549-559.
- Wilson, E. O. (1971). The insect societies. *The insect societies*.
- Wilson, E. O. (1976). A social ethogram of the neotropical arboreal ant *Zacryptocerus varians* (Fr. Smith). *Animal behaviour*, 24(2), 354-363.
- Wimpenny, J. H., Weir, A. A., Clayton, L., Rutz, C., & Kacelnik, A. (2009). Cognitive processes associated with sequential tool use in New Caledonian crows. *PLoS One*, 4(8), e6471.
- Wittman, S. E., Sanders, N. J., Ellison, A. M., Jules, E. S., Ratchford, J. S., & Gotelli, N. J. (2010). Species interactions and thermal constraints on ant community structure. *Oikos*, 119(3), 551-559.
- WRI 2005: Millenium ecosystem assessment, ecosystems and human wellbeing: a framework for assessment. 1st editionn. – Island Press, Washington D.C., 160 pp.
- Woinarski, J. C., Andersen, A. N., Churchill, T. B., & Ash, A. J. (2002). Response of ant and terrestrial spider assemblages to pastoral and military land use, and to landscape position, in a tropical savanna woodland in northern Australia. *Austral Ecology*, 27(3), 324-333.
- Wu, J. (2014). Urban ecology and sustainability: The state-of-the-science and future directions. *Landscape and urban planning*, 125, 209-221.
- Xun, B., Yu, D., & Liu, Y. (2014). Habitat connectivity analysis for conservation implications in an urban area. *Acta Ecologica Sinica*, 34(1), 44-52.
- Yamakoshi, G. (1998). Dietary responses to fruit scarcity of wild chimpanzees at Bossou, Guinea: possible implications for ecological importance of tool use. *American Journal of Physical Anthropology: The Official Publication of the American Association of Physical Anthropologists*, 106(3), 283-295.
- Yamaguchi, T. (2004). Influence of urbanization on ant distribution in parks of Tokyo and Chiba City, Japan I. Analysis of ant species richness. *Ecological Research*, 19(2), 209-216.
- York, A. (1999). Long-term effects of frequent low-intensity burning on the abundance of litter-dwelling invertebrates in coastal blackbutt forests of southeastern Australia. *Journal of Insect Conservation*, 3(3), 191-199.
- Young, M., Dank, G. R., Roper, R., & Caro, T. M. (1979). Inter-observer reliability. *Behaviour*, 69(3-4), 303-315.
- Zhelyazkova, I. (2012). Honeybees–bioindicators for environmental quality. *Bulgarian journal of agricultural science*, 18(3), 435-442.
- Ziter, C. (2016). The biodiversity–ecosystem service relationship in urban areas: a quantitative review. *Oikos*, 125(6), 761-768.

CAP 9 ~ APPENDICE

***Tetramorium alpestre* (Fig.1)**

Distribuzione: Specie paleartica distribuita sui Monti iberici, Massiccio centrale, Monte ventoso, Corsica, Alpi, Appennino calabrese, Monti Nebrodi e Alpi Dinariche.

Morfologia: le operaie di queste specie sono di dimensioni medie rispetto alle altre specie del complesso e il loro colore varia dal marrone scuro al nerastro. Presentano testa moderatamente allungata, occhi piuttosto piccoli, scapo di lunghezza moderata e mesosoma lungo e largo.

Descrizione: questa specie è la meno termofila tra quelle del suo complesso. Normalmente la si può trovare in luoghi con una temperatura di $8.6 \pm 2.1^\circ \text{C}$, anche se nel sud Italia le popolazioni della specie sembrano essere più termofile visto che vivono a temperatura di $14.8 \pm 2.9^\circ \text{C}$. Sulle Alpi e sui Pirenei spesso si può trovare oltre il limite superiore della vegetazione e mai sotto i 900 metri sul livello del mare. Nelle Alpi, i tipici habitat in cui vive questa specie sono: prati alpini non forestali rivolti a sud, brughiere sub-alpine con arbusti nani, pascoli secchi, argini pietrosi o campi di pietre. Nei Pirenei invece la specie si può trovare nelle pinete pietrose. La specie nidifica spesso sotto le pietre, ma anche nel muschio, nelle radici e nel legno morto. È facoltativamente poliginica (quindi può esserci più di una regina per nido a deporre le uova) e presenta delle supercolonie (mancanza di aggressione tra operaie di nidi diversi e operaie che possono muoversi liberamente tra nidi diversi, anche lontani), unica specie del complesso a mostrare questi tratti insieme. Il periodo riproduttivo va dal 18 giugno al 10 settembre circa.



Fig1. *T. alpestre* fotografata in 3 visioni: visione frontale del capo (A), visione laterale (B) e visione dorsale (C) (fonte delle fotografie Antweb.org, 2021).

***Tetramorium breviscapus* (Fig.2)**

Distribuzione: Specie paleartica distribuita in Croazia, Bosnia-Erzegovina e Grecia.

Morfologia: Le operaie della specie sono più piccole della maggior parte delle altre specie del complesso. Il loro colore varia dal marrone scuro al nerastro e spesso il mesosoma risulta essere più chiaro di testa e gastro. Presentano un capo piuttosto troncato rispetto alle altre specie del complesso, occhi piuttosto piccoli, lo scapo più corto tra tutte le specie del complesso e un mesosoma corto e moderatamente largo.

Descrizione: È una specie maggiormente termofila rispetto ad altre del complesso, infatti vive a temperature di $22.1 \pm 1.4^\circ \text{C}$. Predilige habitat aperti.



Fig.2 *T. breviscapus* fotografata in 3 visioni: visione frontale del capo (A), visione laterale (B) e visione dorsale (C) (fonte delle fotografie Wagner *et al.*, 2017).

***Tetramorium caespitum* (Fig.3)**

Distribuzione: Specie paleartica distribuita in tutta l'Europa fino a 63 °N e nel Caucaso.

Morfologia: Le operaie di questa specie sono più grandi di quelle della maggior parte delle altre specie del complesso. Il loro colore varia dal marrone scuro al nerastro. Presentano una testa moderatamente allungata, occhi piuttosto piccoli, lunghezza dello scapo moderata e un mesosoma lungo e largo.

Descrizione: Specie moderatamente termofila, che vive in luoghi con temperatura media di circa $16.1 \pm 2.0^\circ \text{C}$. È la specie più diffusa in Europa ed è anche una specie più euriecia di altre appartenenti al complesso, questo vuol dire che è maggiormente versatile e in grado di adattarsi a diverse condizioni ambientali e per questo maggiormente ubiquitaria. Principalmente si trova in habitat non forestali, come prati, pascoli, brughiere, praterie aride o semi-aride, vigneti, terreni incolti, aree ruderali, bordi stradali, cumuli di roccia, sponde dei fiumi e boschi di pini e querce. La specie è piuttosto flessibile per quanto riguarda la costruzione dei nidi, che possono essere: nel suolo, sotto le pietre e raramente anche nel legno morto. È l'unica specie che costruisce tumuli di terra alti più di 10 cm. La specie inoltre, è monoginica.



Fig.3 *T. caespitum* fotografata in 3 visioni: visione frontale del capo (A), visione laterale (B) e visione dorsale (C) (fonte delle fotografie Antweb.org, 2021).

Tetramorium caucasicum (Fig.4)

Distribuzione: Specie paleartica distribuita in Caucaso, sud della Russia, Georgia e Armenia.

Morfologia: Le operaie di questa specie sono più grandi di quella della maggior parte delle altre specie del complesso. Presentano capo fortemente allungato, occhi di grandezza media, scapo moderatamente lungo e mesosoma con lunghezza e larghezza moderate.

Descrizione: La specie è meno termofila della maggior parte delle altre specie appartenenti al complesso, infatti si trova in luoghi in cui la temperatura media è di circa $13.5 \pm 2.8^\circ \text{C}$. La si può trovare spesso oltre il limite superiore della vegetazione, tipicamente in pascoli e prati steppici.

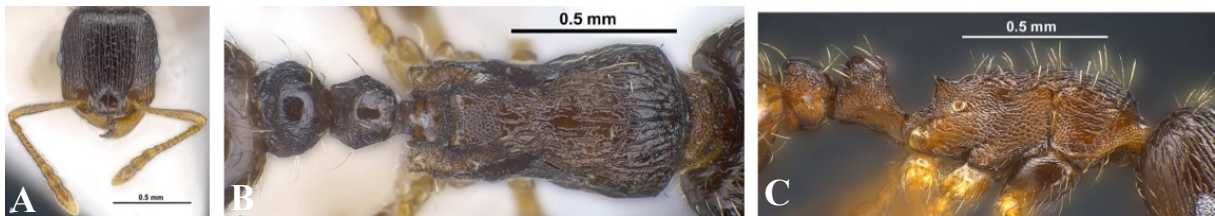


Fig.4 *T. caucasicum* fotografata in 3 visioni: visione frontale del capo (A), visione laterale (B) e visione dorsale (C) (fonte delle fotografie Wagner *et al.*, 2017).

***Tetramorium fusciclava* (Fig.5)**

Distribuzione: Specie paleartica distribuita in Italia.

Morfologia: Le operaie di questa specie sono piuttosto piccole e il loro colore va dal marrone al nerastro. Presentano la testa più piccola tra le specie del complesso, mentre gli occhi sono i più grandi tra le specie del complesso, lo scapo è moderatamente lungo, il mesosoma è corto ed è anche il più corto tra le specie del complesso.

Descrizione: La specie è tra le più termofile del proprio complesso, infatti vive in luoghi con temperatura media di circa $21.3 \pm 1.6^\circ \text{C}$. La specie preferisce le aree costiere e costruisce i propri nidi in: praterie, bordi dei campi di grano, spiagge e foreste di pini, soprattutto in presenza di suolo sabbioso.



Fig.5 *T. fusciclava* fotografata in 3 visioni: visione frontale del capo (A), visione laterale (B) e visione dorsale (C) (fonte delle fotografie Antweb.org, 2021).

Tetramorium hungaricum (Fig.6)

Distribuzione: Specie paleartica distribuita nella zona della Pannonia, i Balcani e l'Europa dell'est.

Morfologia: Le operaie di questa specie sono le più piccole tra quelle delle varie specie del complesso. Il loro colore va dal marrone al nerastro. Presentano capo moderatamente allungato, occhi grandi, scapo corto e un mesosoma stretto che è il più corto tra quelli delle specie del complesso.

Descrizione: La specie è tra le più termofile del complesso, infatti vive in luoghi in cui la temperatura è di circa $20.6 \pm 2.7^\circ \text{C}$. Tipicamente si può trovare in habitat come: prati aridi, praterie secche, arbusti pietrosi, fosse di ghiaia e boschi di querce.



Fig.6 *T. hungaricum* fotografata in 3 visioni: visione frontale del capo (A), visione laterale (B) e visione dorsale (C) (fonte delle fotografie Antweb.org, 2021).

***Tetramorium immigrans* (Fig.7)**

Distribuzione: Specie paleartica distribuita nella zona mediterranea, Europa dell'ovest, Europa centrale, Balcani, Europa dell'est, Anatolia e zona del Caucaso. La specie è stata anche introdotta nell'America del Nord e del Sud.

Morfologia: Le operaie di questa specie sono le più grandi tra quelle delle specie che appartengono a questo complesso. Il loro colore va dal marrone al nerastro, raramente possono essere rossastre. Presentano capo moderatamente allungato, occhi di grandezza media, scapo lungo e mesosoma moderatamente lungo e stretto.

Descrizione: La specie è tra le più termofile del complesso, infatti vive in luoghi con temperatura di circa $19.9 \pm 2.5^\circ \text{C}$. È una specie sinantropica, soprattutto in Europa centrale dove si può trovare presso: bordi delle strade, aree ruderali, parchi, giardini, marciapiedi, costruzioni ferroviarie, pozzi di pietra, balconi e interni degli edifici. Nella zona della Pannonia, in quella mediterranea e del Caucaso questa è la specie più comune nelle aree antropizzate e in habitat primari come: praterie aride e semi-aride, pietrose e sabbiose, spiagge, argini dei fiumi, pareti di roccia. I nidi di questa specie si possono trovare spesso nelle fessure di cemento, asfalto, rocce, sotto le rocce e creano delle piccole montagnole.



Fig.7 *T. immigrans* fotografata in 3 visioni: visione frontale del capo (A), visione laterale (B) e visione dorsale (C) (fonte delle fotografie Antweb.org, 2021).

***Tetramorium impurum* (Fig.8)**

Distribuzione: Specie paleartica distribuita della quale esiste un clade orientale che comprende Anatolia, Balcani, Italia, Europa centrale e parte nord del Benelux fino a 52° N e un clade occidentale che comprende: Iberia e parte ad ovest della Francia.

Morfologia: Le operaie di questa specie sono di medie dimensioni. Il loro colore va dal marrone chiaro al nerastro, però gli esemplari della specie che appartengono al clade orientale presentano un mesosoma più chiaro. Presentano capo moderatamente allungato, occhi che sono i più piccoli tra quelli delle varie specie del complesso, scapo moderatamente lungo e mesosoma corto e moderatamente largo.

Descrizione: La specie è meno termofila della maggior parte delle altre specie del complesso infatti, vive in luoghi che hanno una temperatura media di circa $14.1 \pm 2.7^\circ$ C. C'è una differenza di circa due gradi tra la temperatura media del clade orientale e occidentale. Gli esemplari del clade orientale in Europa centrale vivono nelle aree montane, ma anche nelle pianure, nell'Europa meridionale invece ad alta quota. Gli habitat tipici di questa specie sono: prati, praterie semi-secche, pascoli rocciosi, brughiere subalpine con arbusti nani, brughiere, fosse di ghiaia, cumuli di roccia, terrapieni stradali, trincee per le valanghe, foreste rocciose luminose (pino, abete rosso e larice). In Europa centrale si trova spesso dove c'è un suolo argilloso. Gli esemplari del clade occidentale abitano le aree sabbiose vicino alla costa, le sponde dei fiumi e le foreste di querce. Questa specie costruisce i propri nidi tipicamente sotto le rocce, però sono stati trovati anche piccoli cumuli di terra. La specie inoltre, è monoginica.



Fig.8 *T. impurum* fotografata in 3 visioni: visione frontale del capo (A), visione laterale (B) e visione dorsale (C) (fonte delle fotografie Antweb.org, 2021).

Tetramorium indocile (Fig.9)

Distribuzione: Specie paleartica distribuita in Iberia, Francia, Europa centrale, Italia, Balcani, Europa dell'est, Caucaso e Asia centrale.

Morfologia: Le operaie di questa specie sono tra le più piccole tra quelle delle specie appartenenti a questo complesso. Il loro colore va dal marrone al nerastro. Presentano capo moderatamente allungato, occhi di medie dimensioni, scapo moderatamente lungo e mesosoma con lunghezza e larghezza moderate.

Descrizione: La specie è moderatamente termofila e vive in luoghi che hanno una temperatura media di circa $15.6 \pm 3.2^\circ \text{C}$. Nell'Europa centrale si trova in habitat aridi come i prati incolti rocciosi ed esposti a sud nella secca valle alpina interna del Rodano vicino a Briga, i pascoli sabbiosi nei pressi di Malles in Val Venosta. La specie viene sostituita da *T. caespitum* nelle aree meno secche dell'Europa centrale. In Armenia si trova nei prati steppici montani, in Kirghizistan nei prati e nelle praterie secche, nelle brughiere di *Juniperus*, lungo le sponde dei fiumi, steppe pietrose e semideserti. Questa specie costruisce i propri nidi nel suolo e sotto le pietre.



Fig.9 *T. impurum* fotografata in 3 visioni: visione frontale del capo (A), visione laterale (B) e visione dorsale (C) (fonte delle fotografie Antweb.org, 2021).

Tetramorium sibiricum (Fig.10)

Distribuzione: Specie il cui areale di distribuzione è ristretto solo alla Siberia Centrale.

Morfologia: Le operaie di *T. sibiricum* si differenziano dalle operaie di *T. caespitum* e *T. indocile* in quanto possiedono uno scapo più lungo, una forma dell'occhio più allungata, una scultura postoculare più sviluppata ai lati della testa e postpeziolo piccioli e stretti. Solamente da *T. caespitum*, *T. sibiricum* si differenzia per le microsculture presente su primo tergite del gastro e dall'aver una distanza maggiore dalla punta della colonna vertebrale all'angolo dorsocaudale del lobo metapleurico. Mentre, solamente da *T. indocile* si differenzia per le setole pronotali più lunghe e il mesosoma allungato. Il colore del corpo è omogeneo e può variare dal marrone chiaro al marone scuro. I maschi e le regine non sono per ora stati osservati.

Descrizione: la specie riesce a sopravvivere alle temperature invernali della Siberia Centrale di -21°C e -24°C e la si ritrova in habitat caratterizzati da steppa rocciosa. Tutti i nidi fino ad ora ritrovati per questa specie sono stati osservati essere sotto le pietre.



Fig.10 *T. sibiricum* fotografata in 3 visioni: visione frontale del capo (A), visione laterale (B) e visione dorsale (C) (fonte delle fotografie Seifert, 2021).

Tetramorium staerckei (Fig.11)

Distribuzione: Specie paleartica distribuita nella zona della Pannonia, Balcani, sud della Russia e Asia centrale.

Morfologia: Le operaie di questa specie sono piuttosto grandi rispetto a quelle delle altre specie del complesso. Il loro colore va dal marrone al nerastro. Presentano il capo più allungato tra quelli delle altre specie appartenenti al complesso, occhi piuttosto grandi, lo scapo più lungo tra quelli delle specie del complesso e mesosoma largo oltre ad essere il più lungo tra quelli delle specie del complesso.

Descrizione: La specie è termofila e vive in luoghi con temperatura media di circa $18.1 \pm 3.1^\circ$ C. Evita le aree mediterranee, però si può trovare sulle coste del Mar Nero. In Europa i suoi habitat tipici sono: praterie secche e semi-secche, pascoli semi-aridi, i terrapieni stradali, vigneti incolti, cumuli di roccia, dune di sabbia ed eccezionalmente aree urbane. Si è visto che la specie può essere più tollerante al sale rispetto alle altre specie del complesso, infatti è la specie più comune nei campi salini in Romania. In Kirghizistan si trova in prati, steppe, aree semi-desertiche e boschetti. La specie costruisce i propri nidi nel suolo, spesso sotto le rocce, a volte i nidi sono coperti con dell'erba; possono esistere anche dei piccoli cumuli di terra (Wagner *et al.*, 2017).



Fig.11 *T. staerckei* fotografata in 3 visioni: visione frontale del capo (A), visione laterale (B) e visione dorsale (C) (fonte delle fotografie Wagner *et al.*, 201

Tetramorium tsushimae (Fig.12)

Distribuzione: Specie asiatica distribuita in Corea, Giappone, Cina e nel sud-est della Russia. La specie inoltre è una delle due, tra quelle appartenenti al complesso, a essere stata introdotta anche negli USA.

Ecologia: La specie costruisce i propri nidi sotterranei in praterie aperte, nidificando sotto pietre o alberi caduti. È possibile ritrovarla anche negli habitat urbani dove nidificata al di sotto di pietre.

Morfologia: Le operaie di questa specie sono tra le più grandi tra quelle delle varie specie del complesso. Il loro colore va da marrone a nero però è normale trovare esemplari più chiari tra quelli scuri.

Biologia: La specie è poliginica e, in base alla dimensione del territorio a disposizione, può avere un numero maggiore o minore di nidi aggregati. Le grandi colonie possono comprendere diverse centinaia di regine e milioni di operaie che abitano nidi multipli collegati l'uno all'altro da tunnel sotterranei. È una specie onnivora che si nutre di artropodi, semi e melata derivante da insetti (Sanada *et al.*, 2006; Steiner *et al.*, 2006; Steiner *et al.*, 2008; Park & Moon, 2020).



Fig.12 *T. tsushimae* fotografata in 3 visioni: visione frontale del capo (A), visione laterale (B) e visione dorsale (C) (fonte delle fotografie Antweb.org, 2021).

CAP 9 ~ RINGRAZIAMENTI

Ringrazio il Laboratorio di Mirmecologia dell'Università di Parma per avermi guidato lungo un percorso iniziato con la Tesi Magistrale e conclusosi con il Dottorato di Ricerca.

Voglio sentitamente ringraziare la Prof.ssa Alessandra Mori e le Dott.sse Cristina Castracani e Fiorenza Spotti per avermi dato la possibilità, il sostegno e la fiducia, per condurre questo progetto ampio e articolato sulla mirmecofauna di Parma e sulle specie del complesso *T. caespitum*. I miei ringraziamenti sono anche rivolti a tutto il grande lavoro di consultazione, consiglio e correzione sia della parte più applicativa, con l'attività di campo e gli esperimenti in laboratorio, e sia per l'enorme lavoro di correzione dell'elaborato scritto.

Ringrazio il Prof. Donato A. Grasso che durante la Tesi Magistrale mi ha fatto scoprire una tra le più complesse e spettacolari società animali esistenti al mondo. Ultimi, ma non per importanza, come non ringraziare per i loro consigli e la loro competenza in materia il Dottor. Daniele Giannetti e il Dottor. Enrico Schifani.

Ringrazio in modo particolare il Prof. Stefano Leonardi, ancora di salvezza e faro in quella coltre di nebbia che si chiama statistica. Grazie per tutte le consulenze e le indicazioni che sono state fondamentali per svolgere l'analisi dei dati.

Grazie a tutti voi per avermi guidata in quest'unica e complessa esperienza di formazione scientifica e personale che più brevemente chiamiamo "Dottorato di Ricerca".

Voglio ringraziare anche tutte quelle persone speciali che hanno avuto il grande coraggio di starmi accanto in questi tre anni e, in particolar modo, nell'ultimo mese prima della consegna della Tesi.

In ultimo, ringrazio anche me stessa per avermi confermato ancora una volta che, nonostante tutte le mie ansie e le mie insicurezze, se voglio, posso farcela.

GRAZIE!